

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA

**SIMULAÇÃO NUMÉRICA DE PROCESSOS DE SOLIDIFICAÇÃO EM
SISTEMAS BINÁRIOS APLICADOS À CRIOPRESERVAÇÃO DE
CÉLULAS**

por

Cristiano Vitorino da Silva

Dissertação para obtenção do Título de
Mestre em Engenharia

Porto Alegre, 16 de Fevereiro de 2001

SIMULAÇÃO NUMÉRICA DE PROCESSOS DE SOLIDIFICAÇÃO EM SISTEMAS BINÁRIOS APLICADOS À CRIOPRESERVAÇÃO DE CÉLULAS

por

Cristiano Vitorino da Silva

Dissertação submetida ao Corpo Docente do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, PROMEC, da Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do Título de

Mestre em Engenharia

Área de Concentração: Fenômenos de Transporte

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Andrade Bianchi

Aprovada por:

Prof. Dr. Paulo Otto Beyer (UFRGS/RS)

Profa. Dra. Rejane de Cesaro Oliveski (Unisinos/RS)

Prof. Dr. Sérgio Luiz Frey (UFRGS/RS)

Prof. Dr. Alberto Tamagna
Coordenador do PROMEC

Porto Alegre, 16 de Fevereiro de 2001

À

minha noiva **Elisa Mariel Schwan**,

meus pais **Hélio Vitorino da Silva** e **Nedi Ana da Silva**,

minhas irmãs **Vanessa Vitorino da Silva** e **Cristina Vitorino da Silva**,

que são a luz e alegria de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao amigo e professor orientador Marcus Vinicius Andrade Bianchi pela oportunidade de realização deste trabalho e pela forma tranqüila e segura de sua orientação.

Aos colegas André L. Schemes, Mariza Camargo, Patrícia Rodriguês, Antônio Flávio A. Rodrigês que enriqueceram-me tanto na formação pessoal quanto acadêmica e aos demais colegas que de forma direta ou indireta contribuíram na execução deste trabalho.

Aos amigos Maurício Metz e Luiz Carlos Lupatini Junior pela ajuda na edição deste trabalho, e também ao amigo Alexandre Stein pela colaboração na ativação dos programas executáveis.

Agradeço também ao Prof. Sandi I. S. de Sousa pelo incentivo e confiança depositada em minha pessoa durante o curso de mestrado.

À CAPES pelo suporte financeiro e ao PROMEC representado em seu corpo de funcionários e docentes.

A minha noiva Elisa M. Schwan cuja distância física não a impediu de estar sempre comigo.

Aos meus pais, Hélio e Nedi, e às minhas irmãs Vanessa e Cristina, sem os quais nada teria sentido.

16 de Fevereiro de 2001

RESUMO

SIMULAÇÃO NUMÉRICA DE PROCESSOS DE SOLIDIFICAÇÃO EM SISTEMAS BINÁRIOS APLICADOS À CRIOPRESERVAÇÃO DE CÉLULAS

A preservação e o armazenamento de células e tecidos têm sido utilizados largamente em pesquisa científica e aplicações clínicas. No entanto, há uma aparente contradição entre o conceito de preservação e as conclusões baseadas em resultados experimentais que materiais biológicos criopreservados podem ser danificados pelo próprio processo de preservação. A compreensão do processo de solidificação de soluções salinas é fundamental para a proposição de novos protocolos de criopreservação. No presente estudo, o congelamento de uma solução de cloreto de sódio a 1% em massa é simulado. As equações de conservação de massa, momentum, energia, e espécies químicas foram discretizadas e resolvidas numericamente utilizando-se o método dos volumes de controle para um domínio bidimensional que contém a parede da bolsa plástica e a solução salina. A perda de água da célula foi calculada a partir da história de temperatura e concentração durante o processo de solidificação e verificou-se que, dependendo da posição inicial da célula na bolsa, a célula tem probabilidades diferentes de sobreviver durante o processo.

Autor: Cristiano Vitorino da Silva

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Andrade Bianchi

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA

Dissertação de Mestrado em Engenharia

Porto Alegre, 16 de Fevereiro de 2001.

ABSTRACT

NUMERICAL SIMULATION OF THE SOLIDIFICATION OF BINARY SOLUTIONS APPLIED TO CRYOPRESERVATION OF BIOLOGICAL MATERIAL

Cryopreservation and banking of biological cells and tissue have been widely utilized in scientific research and clinical applications. However, there is an apparent contradiction between the concept of preservation and the experimental findings that the cryopreserved biological materials can be damaged by the cryopreservation process itself. Understanding of the solidification process of salt solutions is crucial to propose successful cryopreservation protocols. In the present study, freezing of a sodium chloride solution (1%) in a flat bag is simulated. Mass, momentum, energy, and species conservation equations were numerically solved using the control volume method in a two-dimensional domain. Then, using the temperature and salt concentration data calculated, the kinetics of water loss from a model cell is predicted. The results show that, depending on the initial position of the cell in the bag, the history of water loss varies, and so does the cell preservation.

Author: Cristiano Vitorino da Silva

Major Professor: Prof. Dr. Marcus Vinicius Andrade Bianchi

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA MECÂNICA

Master in Engineering Dissertation

Porto Alegre, February 16, 2001.

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Motivação	1
1.2	Revisão da Literatura	4
1.3	Objetivos	6
1.4	Organização do Trabalho	7
2	MODELO DE MISTURA PARA SOLIDIFICAÇÃO	9
2.1	Modelo de Mistura do <i>Continuum</i>	10
2.1.1	Conservação de Massa	12
2.1.2	Conservação de Momentum	13
2.1.3	Conservação de Energia	18
2.1.4	Conservação de Espécies Químicas	23
2.2	Modelo de Mudança de Fase	24
2.3	Considerações Finais Sobre o Modelo	26
3	CINÉTICA DA PERDA DE ÁGUA PARA CÉLULAS SUBMETIDAS A TEMPERATURAS ABAIXO DE ZERO	28
3.1	Pressão de Vapor Intra e Extra-Celular como uma Função da Temperatura	28
3.2	Taxa de Perda de Água (Desidratação)	30
3.3	Condutividade Hidráulica de Membranas Celulares	30
3.4	Variação do Volume de Água Intracelular com a Temperatura	31
3.5	Variação do Volume de Água Intracelular com o Tempo	32
3.6	Processo em Equilíbrio	33
3.7	Variação do Volume de Água Intracelular com o Tempo em Função da Diferença de Concentração de Solute Intra e Extracelular	33

3.8	Considerações Finais	34
4	DESCRIÇÃO DO PROBLEMA FÍSICO	36
4.1	O problema	36
4.1.1	Domínio	37
4.1.2	Condição Inicial e Condições de Contorno	38
4.2	Trajetória de uma Célula na Bolsa Plástica	38
4.3	Casos Estudados	39
4.4	Propriedades Termofísicas	41
4.5	Método Numérico	46
5	RESULTADOS	50
5.1	Observações Gerais	50
5.2	Processo de Solidificação	51
5.2.1	Caso I	52
5.2.2	Caso II	59
5.2.3	Caso III.....	64
5.3	Cinética da Perda de Água Através da Membrana Celular	69
5.3.1	Caso I	71
5.3.2	Caso II	77
5.3.3	Caso III.....	82
6	CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES.....	89
6.1	Conclusões.....	89
6.1.1	Processo de Solidificação.....	90
6.1.2	Cinética da Perda de Água Através da Membrana Celular	91
6.2	Recomendações.....	91
	ANEXOS	93
A	Propriedades Termofísicas e Grandezas Utilizadas na Resolução do Problema.....	93
B	Teste de Independência de Malha	96

C Validação do Código Computacional	101
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

LISTA DE SÍMBOLOS

Letras Romanas

A	Área superficial da membrana celular [μm^2]
a	Coefficiente linear da equação da reta $[-]$
B	Taxa de resfriamento [K/s]
b	Inclinação da reta $[-]$
B_x	Componente das forças de campo na direção x [$kg.s/m$]
B_y	Componente das forças de campo na direção y [$kg.s/m$]
$B_{k,x}$	Componente das forças de campo sobre a fase k [$kg.s/m$]
c_k	Calor específico da fase k [$J/kg.K$]
c_s	Calor específico da fase sólida [$J/kg.K$]
$\bar{c}$	Concentração molar de soluto [$mol/\mu m^3$]
C	Concentração da mistura [%]
c	Calor específico da mistura [$J/kg.K$]
C_k	Concentração da fase k [%]
C_l	Concentração no líquido [%]
C_s	Concentração no sólido [%]
c_α	Calor específico do sólido α [$J/kg.K$]
C_{eut}	Concentração do eutético [%]
c_e	Calor específico do sólido eutético [$J/kg.K$]
C_{in}	Concentração inicial [%]
$C_{l,e}$	Concentração de soluto extracelular [$mol/\mu m^3$]
$C_{l,i}$	Concentração de soluto intracelular [$mol/\mu m^3$]
c_l	Calor específico do líquido [$J/kg.K$]
D	Difusividade mássica de mistura [m^2/s]
D'	Difusividade da membrana [$\mu m^2/s$]

D_k	Difusividade mássica da fase k [m^2/s]
D_l	Difusividade mássica no líquido [m^2/s]
D_s	Difusividade mássica no sólido [m^2/s]
E^*	Energia de ativação da penetração de água [J/mol]
e_L	Espessura da parede da bolsa [m]
f_s	Fração mássica da fase sólida [%]
f_k	Fração mássica da fase k [%]
f_l	Fração mássica da fase líquida [%]
F_x	Componente das forças de contato da fase k [$kg.s/m$]
f_α	Fração mássica do sólido α [%]
f_e	Fração mássica do sólido eutético [%]
$\dot{G}_{k,x}$	Produção de momentum devido a interação entre as fases k [$kg.s/m$]
g	Aceleração da gravidade [m/s^2]
h	Entalpia da mistura [J/kg]
h_α^o	Entalpia do sólido α na temperatura de 0°C [J/kg]
h_e^o	Entalpia do sólido eutético na temperatura de 0°C [J/kg]
h_k	Entalpia da fase k [J/kg]
h_k^o	Entalpia da fase k na temperatura de 0°C [J/kg]
h_l	Entalpia da fase líquida [J/kg]
h_l^o	Entalpia do líquido na temperatura de 0°C [J/kg]
h_s	Entalpia da fase sólida [J/kg]
H	Solubilidade da membrana [$mol/\mu m^2$]
$\vec{i}$	Vetor unitário na direção x [—]
$\vec{J}_k$	Difusão de fluxo da fase k [—]
$\vec{j}$	Vetor unitário na direção y [—]
k_k	Condutividade térmica da fase k [$W/m.K$]
k_{eff}	Condutividade térmica efetiva [$W/m.K$]

$\vec{k}$	Vetor unitário na direção z $[-]$
K_o	Coefficiente de permeabilidade isotrópica $[m^2]$
K_x	Coefficiente de permeabilidade isotrópica na direção x $[m^2]$
K_y	Coefficiente de permeabilidade isotrópica na direção y $[m^2]$
l	Espessura da membrana $[\mu m]$
L_p	Condutividade hidráulica $[\mu m/s.Pa]$
L_p^g	Constante de permeabilidade hidráulica conhecida a uma temperatura conhecida T_g $[\mu m/s.Pa]$
$\dot{M}_k$	Taxa de produção de massa $[kg/m^2.s]$
M	Massa total $[kg]$
M_k	Massa da fase k $[kg]$
$\vec{n}$	Componente normal externa à superfície $[-]$
n_1	Número de moles de solvente intracelular (Água pura) $[mol]$
n_2	Número de moles de soluto intracelular (Sal) $[mol]$
P	Pressão de vapor de água em solução $[Pa]$
p	Pressão $[Pa]$
P^o	Pressão de vapor de água pura $[Pa]$
P_e	Pressão externa $[Pa]$
P_i	Pressão de vapor de água no protoplasma $[Pa]$
p_k	Componente isotrópica das forças de contato da fase k na direção x $[Pa]$
$\overline{R}$	Constante molar dos gases $[\mu m^3.Pa/mol.K]$
S_k	Termo de fonte da fase k $[-]$
S_ϕ	Termo de fonte da variável genérica $[-]$
t	Tempo $[s]$
T_k	Temperatura da fase k $[^\circ C]$
T_g	Temperatura onde se conhece a permeabilidade hidráulica $[K]$

T_{eut}	Temperatura do eutético [$^{\circ}C$]
T_{in}	Temperatura inicial [$^{\circ}C$]
T_{mo}	Temperatura de fusão da água pura [K]
u	Componente da velocidade da direção x [m/s]
u_k	Velocidade escalar da fase k na direção x [m/s]
u_r	Velocidade de referência [m/s]
$\vec{V}$	Vetor velocidade da mistura [m/s]
$\vec{V}_k$	Vetor velocidade da fase k [m/s]
$\vec{V}_s$	Vetor velocidade da fase sólida [m/s]
$\overline{v}_1^*$	Volume molar parcial referente as fases da membrana [$\mu m^3/mol$]
$\overline{v}_1^o$	Volume molar parcial referente ao solvente (água) [$\mu m^3/mol$]
$\overline{v}_1$	Volume molar parcial de água pura intracelular [μm^3]
v	Componente escalar da velocidade na direção y [m/s]
v_1^o	Volume molar da água pura [μm^3]
v_k	Velocidade escalar da fase k na direção y [m/s]
V_r	Vetor velocidade de referência [m/s]
w_k	Velocidade escalar da fase k na direção z [m/s]
x_1	Fração molar de soluto (sal) [$mol/\mu m^3$]
x_2	Fração molar de solvente (água) [$mol/\mu m^3$]
X_L	Largura do domínio de solução [m]
$x_{i,1}$	Fração molar de água intracelular [%]
Y_L	Altura da bolsa [m]
$\mathcal{V}$	Volume [m^3]
$\mathcal{V}_k$	Volume da fase k [m^3]
$\mathcal{V}_{in}$	Volume inicial [μm^3]
$\mathcal{V}_{iso}$	Volume isotônico [μm^3]
$\mathcal{V}_i$	Volume inicial atualizado [μm^3]

Letras Gregas

β_S	Coeficiente de expansão de variação de concentração de soluto $[-]$
β_T	Coeficiente de expansão térmica $[1/K]$
Δh_{lf}	Calor molar de fusão da água pura $[\mu m^3.Pa/mol]$
$\Delta h'_{lf}$	Calor latente de fusão do gelo $[J/kg]$
Δh_{ls}	Calor molar de sublimação $[\mu m^3.Pa/mol]$
Δh_{lv}	Calor molar de vaporização $[\mu m^3.Pa/mol]$
ΔP	Variação de pressão $[Pa]$
Δt	Intervalo de tempo $[s]$
Γ	Coeficiente de partição da variável genérica de transporte $[-]$
μ_k	Viscosidade da fase k $[Pa/s]$
μ_l	Viscosidade da fase líquida $[Pa/s]$
$\vec{\nabla}$	Operador vetorial $[-]$
ϕ	Variável genérica $[-]$
ϕ_k	Variável de transporte da fase k $[-]$
Π	Pressão osmótica $[Pa]$
Π_e	Pressão osmótica externa $[Pa]$
Π_i	Pressão osmótica interna $[Pa]$
$\bar{\rho}$	Densidade média $[kg/m^3]$
$\overline{\rho_k}$	Densidade parcial da fase k $[kg/m^3]$
ρ	Densidade da mistura $[kg/m^3]$
ρ_α	Densidade do sólido α $[kg/m^3]$
ρ_e	Densidade do sólido eutético $[kg/m^3]$
ρ_k	Densidade da fase k $[kg/m^3]$
$\vec{\sigma}_{k,x}$	Componente vetorial do tensor das tensões da fase k na direção x $[Pa]$

$\vec{\tau}_{k,x}$	Componente deviatória das forças de contato da fase k na direção x [Pa]
$\vec{\tau}_{k,x}^o$	Tensão viscosa [Pa]
ε_k	Fração volumétrica da fase k [%]
ε_α	Fração volumétrica do sólido α [%]
ε_e	Fração volumétrica do sólido eutético [%]
ε_l	Fração volumétrica do líquido [%]
ς	Coefficiente de variação de volume celular [μm^3]

ÍNDICE DE FIGURAS

1.1	Variação da resposta osmótica de uma célula suspensa em uma solução resfriada, como uma função da taxa de resfriamento.	2
1.2	Modificação do volume celular para uma hemácia conforme a concentração do meio externo [Junqueira e Carneiro, 1997].	3
2.1	Volume de controle na região bifásica [Bennon e Incropera, 1997].	11
2.2	Diagrama de fase de uma solução contendo cloreto de sódio mais água [Viskanta et al., 1997].	26
4.1	Esboço em corte de uma bolsa plástica utilizada no processo de resfriamento.	37
4.2	Quadro representativo dos casos resolvidos.	40
4.3	Carta de densidades para água salgada (ρ (temperatura, concentração de sal, pressão)) [Gebhart et al., 1988].	45
4.4	Detalhe da malha bidimensional sobre a bolsa plástica (100x90) Volumes.	48
5.1	Comportamento do processo de solidificação em $t = 150$ s para o caso I: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.	53
5.2	Comportamento do processo de solidificação em $t = 250$ s para o caso I: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.	54
5.3	Comportamento do processo de solidificação em $t = 400$ s para o caso I: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.	56
5.4	Distribuição de temperaturas em função da posição horizontal em $y/Y_L = 0,5$ para o caso I.	57

5.5	Distribuição da concentração de soluto no líquido em função da posição horizontal em $y/Y_L = 0,5$ para o caso I.	58
5.6	Variação da temperatura com o tempo em $y/Y_L = 0,5$ para o caso I.	58
5.7	Variação da concentração de sal no líquido com o tempo em $y/Y_L = 0,5$ para o caso I.	59
5.8	Comportamento do processo de solidificação em $t = 50s$ para o caso II: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.	61
5.9	Distribuição de temperaturas em função da posição horizontal em $y/Y_L = 0,5$ para o caso II.	62
5.10	Distribuição da concentração de soluto no líquido em função da posição horizontal em $y/Y_L = 0,5$ para o caso II.	62
5.11	Variação da temperatura com o tempo em $y/Y_L = 0,5$ para o caso II.	63
5.12	Caso II: Variação da concentração de sal no líquido com o tempo em $y/Y_L = 0,5$ para o caso II.	63
5.13	Localização das frentes <i>solidus</i> e <i>liquidus</i> durante o processo de solidificação, para os casos I e II.	64
5.14	Comportamento do processo de solidificação em $t = 150s$ para o caso III: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.	66
5.15	Comportamento do processo de solidificação em $t = 250s$ para o caso III: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.	67
5.16	Comportamento do processo de solidificação em $t = 400s$ para o caso III: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.	68
5.17	Dependência do volume de água intracelular com a temperatura durante o processo de criopreservação para várias taxas de resfriamento.	72
5.18	Trajetória das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso I, referente à posição inicial $y/Y_L = 0,32$	73

5.19	Trajectoria das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso I, referente à posição inicial $y/Y_L = 0,65$.	75
5.20	Dependência do volume de água intracelular com o tempo na posição inicial $y/Y_L = 0,32$, para o caso I.	76
5.21	Dependência do volume de água intracelular com o tempo na posição inicial $y/Y_L = 0,65$, para o caso I.	76
5.22	Variação de volume celular dentro da bolsa, relacionadas as suas posições iniciais, ao final do processo de resfriamento para o caso I.	78
5.23	Trajectoria das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso II, referentes à posição inicial $y/Y_L = 0,32$.	79
5.24	Trajectoria das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso II, referentes à posição inicial $y/Y_L = 0,65$.	80
5.25	Dependência do volume de água intracelular com o tempo na posição inicial $y/Y_L = 0,32$, para o caso II.	81
5.26	Variação de volume celular dentro da bolsa, relacionadas as suas posições iniciais, ao final do processo de resfriamento para o caso II.	83
5.27	Trajectoria das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso III, referente à posição inicial $y/Y_L = 0,32$.	84
5.28	Trajectoria das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso III, referente à posição inicial $y/Y_L = 0,32$.	85
5.29	Dependência do volume de água intracelular com tempo na posição inicial $y/Y_L = 0,32$, para o caso III.	86
5.30	Dependência do volume de água intracelular com o tempo na posição inicial $y/Y_L = 0,65$, para o caso III.	87
5.31	Variação de volume celular dentro da bolsa, relacionadas as suas posições iniciais, ao final do processo de resfriamento para o caso III.	88
B.1	Função de corrente para caso II em um tempo de $t = 10$ s, com uma malha de (50×50) volumes.	97
B.2	Função de corrente para o caso II em um tempo de $t = 10$ s, com uma malha de (80×80) volumes.	98

B.3	Função de corrente para o caso II em um tempo de $t = 10$ s, com uma malha de (100×80) volumes	99
B.4	Função de corrente para caso II em um tempo de $t = 10$ s, com uma malha de (100×90) volumes	100
C.1	Problema clássico de convecção natural em uma cavidade quadrada: (a) Função de corrente, (b) Isotermas.	102

ÍNDICE DE TABELAS

4.1	Dimensões do domínio	38
4.2	Condições de contorno.....	39
4.3	Propriedades termofísicas da fase líquida [Zaytsev e Azeyev, 1992].	41
4.4	Propriedades termofísicas das fases sólidas (Alpha e Eutética) [Bianchi, 1997].	42
4.5	Grandezas utilizadas no problema de solidificação [Bianchi, 1997].	42
4.6	Grandezas utilizadas para a cinética de perda de água das células [Mazur, 1963; Mazur, 1990].....	43
5.1	Posição inicial das células em análise sobre o domínio.	70
A.1	Propriedades termofísicas da fase líquida com unidades dimensionais originais [Zaytsev e Azeyev, 1992].....	93
A.2	Propriedades termofísicas das fases sólidas (Alpha e Eutética) com unidades dimensionais originais [Bianchi, 1997].	94
A.3	Grandezas utilizadas no problema de solidificação com unidades dimensionais originais [Bianchi, 1997].	94
A.4	Grandezas utilizadas para a cinética de perda de água das células com unidades dimensionais originais [Mazur, 1963; Mazur, 1990].....	95

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

Processos de solidificação são bastante estudados nas mais variadas áreas de interesse. Estes processos podem acontecer tanto artificialmente como naturalmente, e possuem uma grande variedade de aplicações. Na indústria siderúrgica, por exemplo, o processo de solidificação de metais é de fundamental importância, pois é ele que controla a qualidade e as características dos produtos. Além disso, uma série de processos naturais incluem solidificação, tais como a formação de icebergs, rochas vulcânicas, granizo entre outros.

1.1 Motivação

A solidificação de misturas, que é o caso mais frequente em processos de solidificação, é muito mais complexa do que a solidificação de substâncias puras. O processo ocorre em uma faixa de temperaturas e não a uma determinada temperatura fixa. Além disso, há outros fatores a se considerar associados com a formação da *mushy region* (região bifásica), tais como fenômenos de macro e micro segregação de solutos, escoamento num meio poroso, e outros.

A preservação e o armazenamento de células biológicas (hemáceas, espermatozóides, e outras células) vêm sendo muito usado em pesquisa científica e clínica. No entanto, há uma contradição entre o conceito de preservação e as conclusões de resultados experimentais que mostram que materiais criopreservados podem ser danificados durante o próprio processo de preservação. Quando as células são resfriadas a aproximadamente -5°C , tanto a célula quanto o material extracelular permanecem líquidos e super-resfriados. Entre -5°C e -15°C gelo se forma fora da célula, mas seu interior permanece super-resfriado, provavelmente porque a membrana da célula bloqueia o crescimento de cristais de gelo no citoplasma

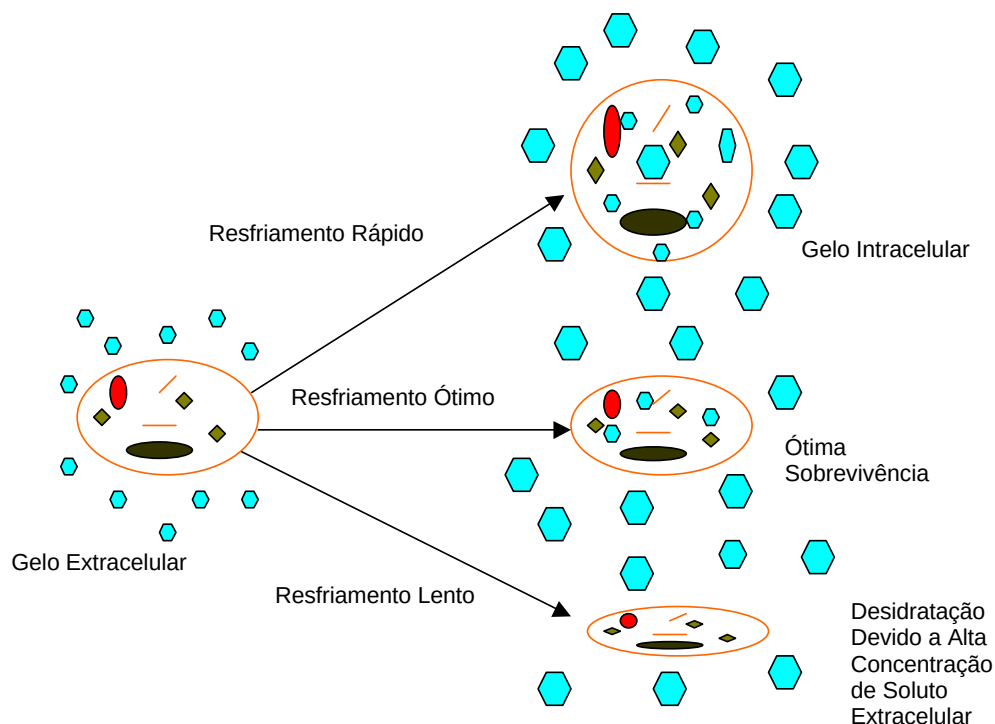


Figura 1.1 – Variação da resposta osmótica de uma célula suspensa em uma solução resfriada, como uma função da taxa de resfriamento.

[Lunardini, 1981]. A água super-resfriada no interior da célula tem, por definição, um potencial químico maior do que o da água na solução extracelular parcialmente congelada: assim a água que difunde da célula osmoticamente congela externamente à mesma. O que acontece depois depende da taxa de resfriamento da célula. Se a célula é resfriada muito rapidamente, a água intracelular não difunde tão rapidamente para o meio externo de forma a manter o equilíbrio; a célula se torna cada vez mais super-resfriada e, eventualmente, gelo intracelular se forma ocasionando a morte da célula. Se, por outro lado, a célula é resfriada muito lentamente, a contração (devida à desidratação) e a exposição da célula por longo período de tempo a altas concentrações de eletrólitos (devidas à precipitação de gelo externo) antes que a concentração eutética seja atingida também pode danificar a célula [Mazur, 1984].

A Figura 1.1 representa o comportamento celular durante o processo de criopre-

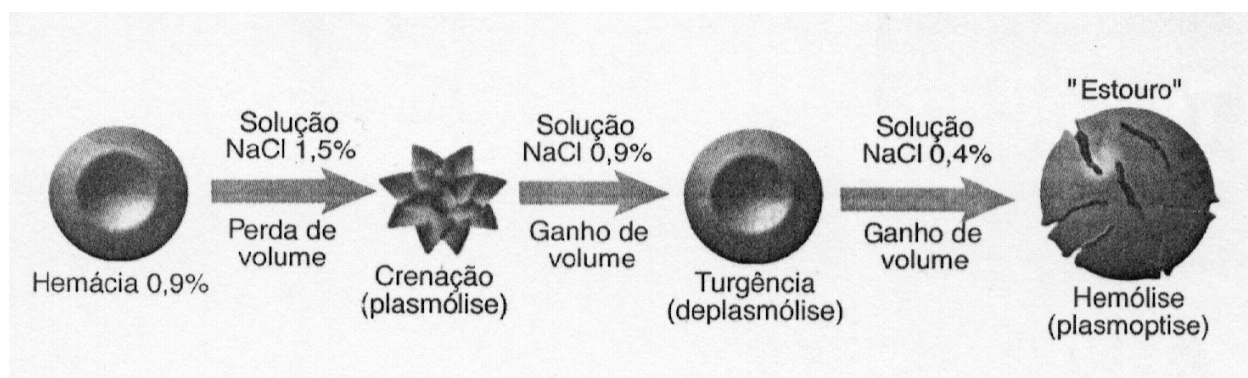


Figura 1.2 – Modificação do volume celular para uma hemácia conforme a concentração do meio externo [Junqueira e Carneiro, 1997].

servação. Observa-se que se a taxa de resfriamento for muito rápida ocorre uma grande formação de cristais de gelo intracelular, que ao crescerem acabam rompendo a membrana celular, destruindo a célula. Se o resfriamento for muito lento, o tempo em que a célula permanece sob o meio hipertônico permite que ocorra uma perda de água intracelular, e se esta quantidade de água for muito excessiva a célula também acaba morrendo por crenação (desidratação).

Outro problema pode ocorrer, se o meio onde as células estão suspensas for hipotônico. Neste caso ocorre o contrário, o fluxo de água seria do meio para a célula, também destruindo a célula por hemólise (ruptura). A Figura 1.2 mostra o comportamento de uma célula sanguínea (hemácia) colocada em meio hipertônico, hipotônico e isotônico, sendo que esta têm um comportamento semelhante no caso de resfriamento muito lento. A situação em meio hipotônico, embora prejudicial à célula, não ocorre durante a solidificação de soluções salinas.

O procedimento correto para se preservar células seria determinar taxas ótimas de resfriamento, para que a célula não perca muita água, nem rompa por excessiva formação de cristais de gelo intracelular. Seria então importante tentar determinar nesta área de pesquisa processos ótimos para se criopreservar células, obtendo-se a maior sobrevivência celular.

Crioprotetores são substâncias utilizadas para se evitar a formação de gelo dentro da célula, prevenindo assim a sua morte. Glicerol é, por exemplo, adicionado à solução salina a fim de deprimir o ponto de fusão da solução. Embora bastante eficiente, o uso de

crioprotetores pode causar danos à célula, devido à sua toxicidade. Assim, a utilização destes não será considerada neste trabalho.

1.2 Revisão da Literatura

Devido ao grande interesse em se modelar processos de solidificação, inúmeros autores que trabalham nesta área têm desenvolvido vários modelos matemáticos, capazes de simular o comportamento desses processos. Existem modelos capazes de simular a solidificação de substâncias puras as quais solidificam a uma temperatura fixa. Existem também modelos para substâncias multicomponentes que solidificam em uma faixa de temperaturas. Muitas vezes a solidificação pode ser estimulada a ocorrer de maneira a se formar uma frente de solidificação. Com isso existe também a necessidade de se ter modelos capazes de descrever este tipo de processo.

Existem modelos matemáticos já derivados, capazes de prever processos de solidificação de sistemas multicomponentes. Uma revisão de alguns destes modelos tais como os baseados na teoria de mistura, modelo *continuum* de mistura, e modelo da média no volume, são apresentados por Viskanta [1990], onde são feitas comparações e comentários sobre as limitações de cada um destes modelos.

Um dos modelos mais utilizados, devido à sua maior simplicidade, é o modelo baseado na teoria de mistura do *continuum*, derivado por Bennon e Incropera [1987]. O trabalho desenvolvido por Christenson et al. [1989] apresenta um estudo numérico utilizando o modelo de mistura do *continuum* Bennon e Incropera [1987] para o processo de solidificação de uma substância multicomponente de cloreto de amônia e água em uma cavidade retangular. Comparando os resultados obtidos por Bennon e Incropera [1987], com os obtidos experimentalmente por Christenson e Incropera [1989], obtem-se uma boa concordância.

Em outro trabalho, Prescott et al. [1991] desenvolveram um estudo sobre processos de solidificação baseado na teoria de mistura do *continuum*, fazendo uma comparação com o método da média no volume, particularmente sobre as equações de momentum, comprovando a validação do modelo de mistura.

Prakash e Voller [1989] apresentaram alguns aspectos numéricos para a solução das equações do modelo de mistura do *continuum* em problemas envolvendo mudança de fase de sólido para líquido em materiais multicomponentes.

Quanto à aplicação de processos de solidificação em criopreservação de tecidos, os trabalhos disponíveis assumem a existência de uma taxa de resfriamento constante incidindo sobre as células. Viskanta et al. [1997] mostraram que mesmo considerando uma taxa de resfriamento constante externa à bolsa, a taxa de resfriamento local não é a mesma para todo o domínio, e que células em diferentes posições na bolsa sofrem diferentes variações de volume celular.

Mazur [1963] desenvolveu um estudo detalhado sobre processo de perda de água das células a baixas temperaturas, fazendo uma derivação do modelo de transporte de água através da membrana celular como uma função da temperatura. Ele apresentou também um modelo linear para a permeabilidade da membrana também como função da temperatura.

Mazur [1990] estabeleceu alguns protocolos para criopreservar determinados tipos de células. Seu estudo experimental analisa a taxa de perda de água, formação de cristais intracelulares, e crescimento destes cristais para várias condições de resfriamento, e também para várias concentrações de agentes crioprotetores. Seus protocolos envolvem técnicas de resfriamento e posterior reaquecimento, verificando o nível de sobrevivência das células.

Mazur [1990] faz também comentários e experimentos sobre as aproximações com relação a área superficial das células, energia de ativação, permeabilidade da membrana e sobre o processo de vitrificação.

Em outro trabalho Karlsson e Toner [1996] aplicaram o modelo teórico de perda de água através da membrana. Também realizaram estudos sobre nucleação e crescimento de cristais, para prever o comportamento de células de ratos durante o processo de criopreservação. O volume instantâneo e composição do citosol das células durante uma taxa contínua de resfriamento na presença de glicerol foi simulado usando o modelo de transporte de água. A teoria clássica de nucleação foi utilizada para prever as taxas de nucleação de gelo. Uma difusão limitada não isotérmica de crescimento de cristais foi usada para computar a cinética de cristalização.

Toner et al. [1990] apresentaram a derivação de um modelo físico químico baseado na teoria clássica de nucleação heterogênea, para analisar a formação de gelo sobre células biológicas durante o resfriamento. De acordo com este modelo, a formação de gelo intracelular pode ser caracterizada pela membrana plasmática via efeitos de gelo externo sobre esta, chamada superfície de nucleação catalisada, ou por partículas intracelulares, chamada volu-

me de nucleação catalisadora, sendo estas dependentes das condições de resfriamento. Eles então acoplaram o modelo de formação de gelo intracelular com o modelo que descreve a cinética do transporte de água, para prever o estado termodinâmico do citoplasma.

Também Toner et al. [1992] investigaram a resposta celular de hepatócitos isolados de ratos durante o processo de resfriamento, para várias condições químicas e físicas, com o uso de observações criomicroscópicas e um modelo teórico de transporte. Usando o criomicroscópio eles puderam determinar a quantidade de desidratação celular que ocorre durante o processo de criopreservação para diferentes taxas de resfriamento, e também a formação de gelo intracelular.

Mais recentemente, Viskanta et al. [1997] apresentaram uma simulação de processos de solidificação de uma solução de cloreto de sódio em água a 1% em peso, colocados em uma bolsa plástica de parede plana. Com a obtenção dos resultados de temperatura e concentração de sal, utilizaram o modelo desenvolvido por Mazur [1963] para calcular a cinética de transporte de água predizendo o comportamento do volume celular. A resolução deste problema foi feita sobre um domínio unidirecional, incluindo a bolsa, desprezando efeitos de convecção natural para diferentes taxas de resfriamento. Neste trabalho não foi assumida a simplificação de que a taxa de resfriamento imposta na parede da bolsa é a mesma que incide sobre as células dentro da solução.

1.3 Objetivos

Dando continuidade ao trabalho desenvolvido por Viskanta et al. [1997], o presente trabalho estende a solução do processo de solidificação de soluções salinas para um domínio bidimensional, introduzindo a solução das equações de momentum na direção x e y . Uma equação para a perda de água das células, que pode ser resolvida a partir da solução das equações de conservação do modelo de solidificação, é desenvolvida levando-se em conta a história de concentrações e temperaturas dentro e fora da célula.

O presente trabalho têm, portanto, os seguintes objetivos:

1. Desenvolver o modelo de solidificação de soluções salinas em domínio bidimensional, considerando a existência de escoamentos devido a gradientes de temperatura e concentração

2. Desenvolver uma equação de transporte de água através da membrana celular a fim de se determinar as taxas de variação de volume da célula como função da história de concentração e temperatura.
3. Implementar um algoritmo de resolução das equações de conservação em regime transiente, para a solução do modelo de solidificação de soluções salinas junto ao código computacional desenvolvido por Patankar [1980].
4. Desenvolver um procedimento de solução da taxa de variação de volume celular a partir das condições impostas à célula.
5. Resolver o problema para alguns casos de interesse.

1.4 Organização do Trabalho

O presente capítulo serviu para dar a motivação para a realização do estudo que aqui se apresenta.

No Capítulo 2, está apresentada a derivação completa do modelo matemático de solidificação baseado na teoria de mistura do *continuum*, com as equações de conservação de massa, energia, quantidade de movimento em x e y , e espécies químicas. Está também apresentado o modelo de mudança de fase.

O Capítulo 3 apresenta a derivação do modelo para a cinética da perda de água, e também um estudo sobre a cinética do fluxo de solvente através de uma membrana semipermeável. Neste capítulo também está desenvolvido um modelo matemático da variação de volume como função das concentrações intra e extracelular.

O Capítulo 4 apresenta a modelagem física do problema de solidificação de soluções salinas, e de cinética de perda de água das células a baixas temperaturas. São apresentadas também as condições iniciais, e de contorno inerentes ao problema assim como as propriedades termofísicas e grandezas utilizadas para a resolução do problema. Estão também apresentados alguns detalhes do método numérico utilizado na resolução das equações de transporte e de fluxo de água através da membrana celular.

Os resultados obtidos para o problema de solidificação e cinética de perda de água das células a baixas temperaturas são apresentados no Capítulo 5. Primeiramente, foi resolvido o problema de solidificação para algumas taxas de resfriamento, e a seguir então foi

resolvido o problema da cinética da perda de água das células em temperaturas abaixo de 0°C.

Finalmente, no Capítulo 6 são apresentadas as conclusões e as sugestões para possíveis continuações deste trabalho.

CAPÍTULO 2

MODELO DE MISTURA PARA SOLIDIFICAÇÃO

A obtenção da solução de qualquer problema físico requer a habilidade da criação de um modelo matemático correspondente. O modelo matemático deve ser tal que possa ser resolvido com tempos de computação não-proibitivos e que os resultados obtidos bem representem o fenômeno físico em questão [Maliska, 1993].

Modelos matemáticos têm sido usados extensivamente nas últimas duas décadas para simular numericamente processos físicos. O desenvolvimento de computadores de alta velocidade com grande capacidade de memória e de algoritmos numéricos têm contribuído muito para este crescimento. Problemas para os quais não havia solução, mesmo em geometrias e casos simples, estão agora sendo resolvidos para modelos e geometrias muito mais próximas da realidade.

Simulações numéricas fornecem, não apenas distribuições detalhadas das diferentes variáveis, as quais são muito difíceis (ou virtualmente impossíveis) de serem obtidas experimentalmente, mas também permitem uma seleção independente de características específicas de transporte do sistema estudado. Estas variáveis são limitadas experimentalmente pela seleção de materiais, tamanho do aparato experimental, variação de temperatura e outras características que são difíceis de serem reproduzidas em laboratório. Novos processos de manufatura podem ser simulados numericamente com o objetivo de fornecer dados sobre sua eficácia antes de consumir recursos significativos na construção de protótipos.

Devido à absorção e rejeição de calor latente, problemas de mudança de fase são não-lineares, e soluções exatas são limitadas a uma pequena classe de problemas envolvendo substâncias puras em domínios unidimensionais finitos ou semi-infinitos [Carslaw e Jaeger, 1959; Özisik, 1993].

Vários modelos numéricos têm sido propostos para estudar processos de solidificação em ligas binárias. A modelagem de processos de solidificação é uma área de pesquisa em expansão e a literatura tem mostrado um crescimento exponencial. Os modelos de solidificação de ligas binárias podem ser divididos em dois grupos: 1) aqueles baseados na teoria de mistura, e 2) aqueles baseados na teoria da média no volume. Beckermann e Viskanta [1993] apresentaram a revisão do modelamento matemático para transporte de massa, momentum, calor e espécies químicas ocorrendo durante solidificação de ligas metálicas contrastando as diferenças entre as duas aproximações.

Na teoria de mistura, é assumido que a região bifásica tem algumas propriedades macroscópicas e a derivação das equações de conservação é mais simples do que a derivação baseada no modelo de média no volume. Bennon e Incropera [1987] apresentaram um conjunto de equações para descrever o problema de solidificação de sistemas binários, incluindo os efeitos de empuxo devido a presença de gradientes térmicos e de soluto, utilizando a teoria de mistura. A técnica da média no volume, por outro lado, é motivada por teorias gerais de fluxo através de meios porosos e de outros sistemas multifásicos [Drew, 1983]. A maior diferença entre estas aproximações é que ao se utilizar a média no volume, as equações macroscópicas são rigorosamente derivadas de equações microscópicas, enquanto na teoria de mistura assume-se a validade de algumas relações contínuas sobre escala macroscópica [Beckermann e Viskanta, 1993].

Prescott et al. [1991] mostraram que ambas as aproximações resultam nas mesmas equações macroscópicas. Mais recentemente, Prescott e Incropera [1996] apresentaram uma revisão avaliando o modelo matemático de transferência de calor e de massa em solidificação de ligas. Os autores apresentaram uma perspectiva histórica de modelos de solidificação e suas equações.

Neste capítulo as equações de conservação de massa, momentum, energia, e espécies químicas são obtidas a partir dos princípios fundamentais aplicados a um volume de controle infinitesimal utilizando o modelo de mistura [Bennon e Incropera, 1987].

2.1 Modelo de Mistura do *Continuum*

Assumindo um pequeno volume de controle, conforme mostrado na Figura 2.1. Nele há um número de fases k .

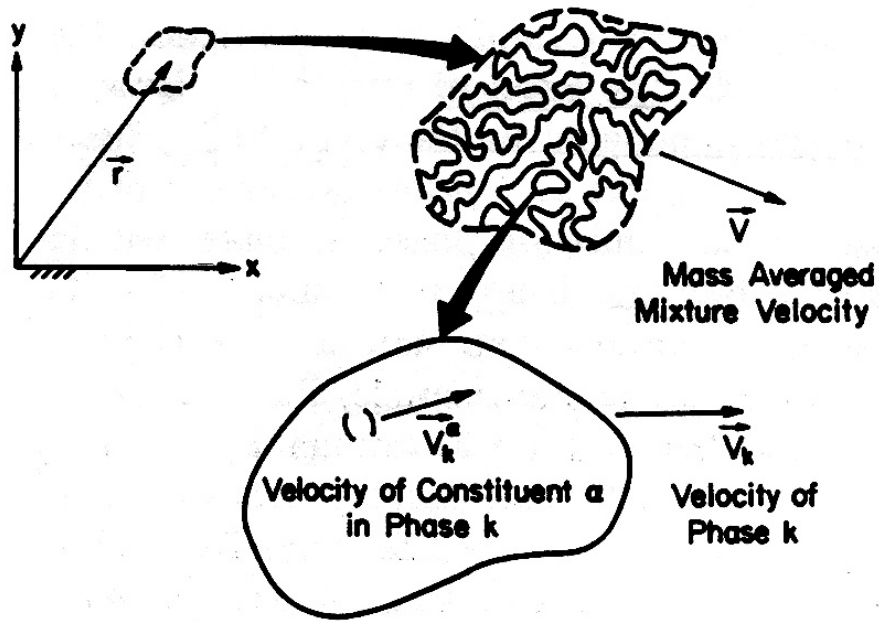


Figura 2.1 – Volume de controle na região bifásica [Bennon e Incropera, 1997].

Definem-se ε_k a fração volumétrica da fase k e f_k a fração mássica da fase k como

$$\varepsilon_k = \frac{\mathcal{V}_k}{\mathcal{V}}, \quad (2.1)$$

e

$$f_k = \frac{M_k}{M}. \quad (2.2)$$

Por definição é fácil mostrar que

$$\sum_k \varepsilon_k = \sum_k f_k = 1. \quad (2.3)$$

A densidade da fase k é definida como

$$\rho_k = \frac{M_k}{\mathcal{V}_k}, \quad (2.4)$$

e a densidade parcial da fase k é igual a

$$\overline{\rho}_k = \frac{M_k}{\mathcal{V}}. \quad (2.5)$$

Combinando as equações (2.1), (2.4) e (2.5), pode-se encontrar a relação entre a massa específica e as frações volumétrica e mássica da fase k , como

$$\rho f_k = \rho_k \varepsilon_k = \overline{\rho}_k. \quad (2.6)$$

A conservação de uma variável ϕ genérica no volume de controle considerado pode ser escrita como

$$\frac{\partial}{\partial t} \int_{\mathcal{V}} \overline{\rho}_k \phi_k d\mathcal{V} + \int_A \left(\overline{\rho}_k \phi_k \vec{V}_k \right) \cdot \vec{n} dA = - \int_A \left(\varepsilon_k \vec{J}_k \right) \cdot \vec{n} dA + \int_{\mathcal{V}} \varepsilon_k S_k d\mathcal{V}. \quad (2.7)$$

Aplicando o teorema da divergência de Gauss para as integrais de área, e a regra de Leibnitz para o primeiro termo do lado esquerdo da igualdade:

$$\int_{\mathcal{V}} \frac{\partial}{\partial t} (\overline{\rho}_k \phi_k) d\mathcal{V} + \int_{\mathcal{V}} \vec{\nabla} \cdot \left(\overline{\rho}_k \vec{V}_k \phi_k \right) d\mathcal{V} = - \int_{\mathcal{V}} \vec{\nabla} \cdot \left(\varepsilon_k \vec{J}_k \right) dV + \int_{\mathcal{V}} \varepsilon_k S_k d\mathcal{V}. \quad (2.8)$$

Resolvendo a equação integrando-se sobre um volume de controle infinitesimal, o resultado é a equação de conservação da variável genérica ϕ na fase k em um campo contendo um número arbitrário de fases

$$\frac{\partial}{\partial t} (\overline{\rho}_k \phi_k) + \vec{\nabla} \cdot \left(\overline{\rho}_k \vec{V}_k \phi_k \right) = - \vec{\nabla} \cdot \left(\varepsilon_k \vec{J}_k \right) + \varepsilon_k S_k. \quad (2.9)$$

A equação (2.9) é uma equação de conservação genérica. A escolha da variável ϕ , do fluxo $\vec{J}_k$, e do termo de fonte S_k , determinará que princípio de conservação ela estará representando. A seguir, estes termos serão escolhidos a fim de determinar as equações de conservação de massa, momentum, energia, e espécies químicas.

2.1.1 Conservação de Massa

A fim de obter-se a equação de conservação de massa, substituem-se na equação (2.9) os seguintes termos

$$\begin{aligned} \phi_k &= 1, \\ \vec{J}_k &= 0, \\ S_k &= \dot{M}_k, \end{aligned} \quad (2.10)$$

obtendo-se

$$\frac{\partial}{\partial t}(\overline{\rho_k}) + \vec{\nabla} \cdot (\overline{\rho_k} \vec{V}_k) = \varepsilon_k \dot{M}_k. \quad (2.11)$$

Definindo-se a densidade da mistura como

$$\rho = \sum_k \overline{\rho_k}, \quad (2.12)$$

e a velocidade média de massa de mistura como

$$\vec{V} = \frac{1}{\rho} \sum_k \overline{\rho_k} \vec{V}_k = \sum_k f_k \vec{V}_k, \quad (2.13)$$

e lembrando que o somatório das gerações de massa das fases é nulo

$$\sum_k \varepsilon_k \dot{M}_k = 0, \quad (2.14)$$

a equação (2.11) fica:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V}) = 0. \quad (2.15)$$

2.1.2 Conservação de Momentum

A velocidade da fase k é um vetor tridimensional. Ao se aplicar o princípio de conservação de momentum, derivam-se equações de conservação em cada uma das três direções do sistema de coordenadas. Ao se derivar as equações, é necessário definir um sistema particular de coordenadas. Uma vez que o sistema mais conveniente para a aplicação do presente trabalho é o cartesiano, a velocidade da fase k é expressa como

$$\vec{V}_k = u_k \cdot \vec{i} + v_k \cdot \vec{j} + w_k \cdot \vec{k}. \quad (2.16)$$

Para a direção x , partindo da equação (2.9), assume-se

$$\begin{aligned} \phi_k &= u_k, \\ \vec{J}_k &= -\sigma_{k,x}, \\ S_k &= \rho_k B_{k,x} \dot{G}_{k,x}, \end{aligned} \quad (2.17)$$

resultando em:

$$\frac{\partial}{\partial t} (\bar{\rho}_k u_k) + \vec{\nabla} \cdot (\bar{\rho}_k \vec{V}_k u_k) = \vec{\nabla} \cdot (\varepsilon_k \vec{\sigma}_{k,x}) + \bar{\rho}_k B_{k,x} + \varepsilon_k \dot{G}_{k,x}. \quad (2.18)$$

O vetor fluxo $\vec{\sigma}_{k,x}$ representa a componente do tensor das tensões geral da fase k na direção x , enquanto $B_{k,x}$, representa a componente x das forças de campo sobre a fase k , e $\dot{G}_{k,x}$, a produção de momentum devida à interação entre as fases, tais como arraste e levantamento. A equação governamental de momento contínuo na direção x pode ser obtida somando a equação (2.18) para cada uma das fases:

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} \left(\sum_k \bar{\rho}_k u_k \right) + \vec{\nabla} \cdot \left(\sum_k \bar{\rho}_k \vec{V}_k u_k \right) = \vec{\nabla} \cdot \left(\sum_k \varepsilon_k \vec{\tau}_{k,x} \right) - \frac{\partial}{\partial x} \left(\sum_k \varepsilon_k p_k \right) \\ + \sum_k \bar{\rho}_k B_{k,x} + F_x, \end{aligned} \quad (2.19)$$

onde o vetor fluxo $\vec{\sigma}$ foi decomposto em componentes isotrópicas e deviatórias:

$$\vec{\sigma}_{k,x} = -p_k \vec{i} + \vec{\tau}_{k,x}, \quad (2.20)$$

e

$$F_x = \sum_k \varepsilon_k \dot{G}_{k,x}. \quad (2.21)$$

Decompondo o segundo membro do lado esquerdo da igualdade, que representa fluxo advectivo, em componentes que representam contribuição do movimento médio de mistura e movimento relativo da fase, escreve-se:

$$\sum_k \bar{\rho}_k \vec{V}_k u_k = \rho \vec{V} u + \sum_k \bar{\rho}_k (\vec{V}_k - \vec{V})(u_k - u), \quad (2.22)$$

onde a componente x da velocidade média de mistura é

$$u = \frac{1}{\rho} \sum_k \bar{\rho}_k u_k = \sum_k f_k u_k, \quad (2.23)$$

e a componente x da força de campo de mistura é definida como

$$B_x = \frac{1}{\rho} \sum_k \bar{\rho}_k B_{k,x} = \sum_k f_k B_{k,x}. \quad (2.24)$$

Portanto, a equação (2.19) pode ser escrita como:

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho u) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} u) = \vec{\nabla} \cdot \sum_k \varepsilon_k \vec{\tau}_{k,x} - \vec{\nabla} \cdot \sum_k \overline{\rho_k} (\vec{V}_k - \vec{V}) (u_k - u) \\ - \frac{\partial}{\partial x} \sum_k \varepsilon_k p_k + \rho B_x + F_x. \end{aligned} \quad (2.25)$$

Neste estágio da formulação uma atenção especial deve ser dada à natureza da fase para o vetor tensão $\vec{\tau}_{k,x}$. É importante reconhecer que $\vec{\tau}_{k,x}$ inclui tensões resultantes da interação da fase com ela mesma. O efeito de interação entre as fases é acomodado na quantidade F_x . A especificação de $\vec{\tau}_{k,x}$ requer a priori que se admita a continuidade de cada fase de mistura. A fase é considerada contínua se dois pontos quaisquer dentro de uma fase possam ser unidos por uma curva contínua somente dentro da fase.

Se cada fase de mistura é considerada como contínua (por exemplo, como um fluxo através de uma matriz sólida permeável), relações constitutivas são obtidas para descrever $\vec{\tau}_{k,x}$. Considerando que o fluido seja Newtoniano, e que a dilatação das fases k seja representada por $\vec{\nabla} \cdot (\varepsilon_k \vec{V}_k) / \varepsilon_k$, segue que, para cada fase contínua, o vetor de tensão média é expresso como:

$$\varepsilon_k \vec{\tau}_{k,x} = \mu_k \vec{\nabla} (\varepsilon_k u_k) - \frac{2}{3} \mu_k \vec{\nabla} \cdot (\varepsilon_k \vec{V}_k) \vec{i} + \vec{\tau}_{k,x}^o, \quad (2.26)$$

onde $\vec{\tau}_{k,x}^o$ representa a tensão viscosa não incluída em $\mu_k \vec{\nabla} \varepsilon_k u_k$. Em coordenadas cartesianas este termo pode ser escrito como

$$\vec{\tau}_{k,x}^o = \mu_k \left[\frac{\partial}{\partial x} (\varepsilon_k u_k) \vec{i} + \frac{\partial}{\partial y} (\varepsilon_k v_k) \vec{j} + \frac{\partial}{\partial z} (\varepsilon_k w_k) \vec{k} \right]. \quad (2.27)$$

Se a viscosidade da fase é assumida como constante, é possível mostrar que

$$\vec{\nabla} \cdot \left(\sum_k \left[\vec{\tau}_{k,x}^o - \frac{2}{3} \mu_k \vec{\nabla} \cdot (\varepsilon_k \vec{V}_k) \vec{i} \right] \right) = \sum_k \frac{\partial}{\partial x} \left[\frac{1}{3} \mu_k \vec{\nabla} \cdot (\varepsilon_k \vec{V}_k) \right]. \quad (2.28)$$

Substituindo as equações (2.26) e (2.28) na equação (2.25), segue que:

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho u) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} u) = \vec{\nabla} \cdot \left(\sum_k \mu_k \vec{\nabla} \cdot (\varepsilon_k u_k) \right) - \vec{\nabla} \cdot \left(\sum_k \overline{\rho_k} (\vec{V}_k - \vec{V}) (u_k - u) \right) \\ - \frac{\partial p}{\partial x} + \rho B_x + F_x, \end{aligned} \quad (2.29)$$

onde

$$p = \sum_k \left[\varepsilon_k p_k - \frac{1}{3} \mu_k \vec{\nabla} \cdot (\varepsilon_k \vec{V}_k) \right]. \quad (2.30)$$

A prescrição da força de interação entre as fases F_x requer uma consideração sobre a morfologia da região multifásica. Especificamente a lei de Darcy sugere que a força de interação entre as fases é proporcional à velocidade superficial do líquido com relação à velocidade do sólido poroso [Nield e Bejan, 1992],

$$F_x = \frac{\mu_l}{K_x} (\varepsilon_l u_r), \quad (2.31)$$

onde K_x representa a coeficiente de permeabilidade isotrópica o qual influencia no transporte de momentum na direção x , e $u_r = u_l - u_s$ representa a componente x da velocidade relativa da fase. Se mais adiante é assumido que a densidade das fases é constante, a matriz sólida está livre de tensões internas $\vec{\nabla}(\varepsilon_s u_s) = 0$ e esta velocidade relativa transforma-se em uma velocidade prescrita $\vec{V}_s$. Considerando também que as tensões viscosas resultantes dos gradientes de densidades locais são desprezíveis $\vec{\nabla}(\rho/\rho_l) = 0$, a equação (2.31) pode ser substituída dentro da equação (2.29). Invocando as identidades

$$\varepsilon_l = \frac{\rho}{\rho_l} f_l, \quad (2.32)$$

e

$$f_l u_r = u - u_s, \quad (2.33)$$

é possível escrever que

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho u) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} u) = \vec{\nabla} \cdot \left(\mu_l \frac{\rho}{\rho_l} \vec{\nabla} u \right) &- \frac{\mu_l}{K_x} \frac{\rho}{\rho_l} (u - u_s) \\ &- \vec{\nabla} \cdot (\rho f_s f_l \vec{V}_r u_r) - \frac{\partial p}{\partial x} + \rho B_x. \end{aligned} \quad (2.34)$$

O terceiro termo do lado direito da equação (2.34) representa a estabilidade das forças de inércia como uma consequência de variações na velocidade das fases relativas. Esta contribuição inercial aparece apenas na região multifásica, onde a permeabilidade é extremamente pequena e a contribuição é desprezível quando comparada às forças de Darcy

[Bennon e Incropera, 1987]. Então, a expressão final para conservação de momento contínuo pode ser escrita como

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho u) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} u) = \vec{\nabla} \cdot \left(\mu_l \frac{\rho}{\rho_l} \vec{\nabla} u \right) - \frac{\mu_l}{K_x} \frac{\rho}{\rho_l} (u - u_s) - \frac{\partial p}{\partial x} + \rho B_x. \quad (2.35)$$

Observe que K_x é nulo para a fase sólida e é igual a 1 na fase líquida (fora da região bifásica). Expandindo os operadores divergente e gradiente em duas dimensões em coordenadas cartesianas, admitindo densidade uniforme em todas as fases, e considerando que a fase sólida (α e eutético) seja uma matriz rígida e estacionária

$$\vec{V}_s = 0, \quad (2.36)$$

e considerando que a aceleração da gravidade é normal à direção x

$$B_x = 0, \quad (2.37)$$

escreve-se

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho_l u) + \frac{\partial}{\partial x}(\rho_l u u) + \frac{\partial}{\partial y}(\rho_l v u) = \mu_l \left(\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} \right) - \frac{\mu_l}{K_x} (u) - \frac{\partial P}{\partial x}. \quad (2.38)$$

Devido à equação (2.36) as velocidades da mistura podem ser escritas da seguinte forma

$$u = \sum_k \varepsilon_k u_k = \varepsilon_l u_l, \quad (2.39)$$

$$v = \sum_k \varepsilon_k v_k = \varepsilon_l v_l. \quad (2.40)$$

De maneira análoga, pode se obter a equação de momentum na direção y para a velocidade v equivalente à equação (2.35):

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho v) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} v) = \vec{\nabla} \cdot \left(\mu_l \frac{\rho}{\rho_l} \vec{\nabla} v \right) - \frac{\mu_l}{K_y} \frac{\rho}{\rho_l} (v - v_s) - \frac{\partial p}{\partial y} + \rho B_y. \quad (2.41)$$

Assumindo válida a aproximação de Boussinesq, e desprezando a variação de densidade, mantendo-a igual a do líquido, exceto para os termos de empuxo, é possível escrever o termo de empuxo da equação (2.41) da seguinte forma [Gebhart et al., 1988]

$$\rho B_y = \rho g [\beta_T (T - T_{in}) + \beta_S (C_l - C_{in})]. \quad (2.42)$$

Assim, a equação (2.41) se torna

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho_l v) + \frac{\partial}{\partial x}(\rho_l uv) + \frac{\partial}{\partial y}(\rho_l vv) &= \mu_l \left(\frac{\partial^2 v}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial y^2} \right) - \frac{\mu_l}{K_y} v - \frac{\partial P}{\partial y} \\ &- \rho g [\beta_T (T - T_{in}) + \beta_S (C_l - C_{in})]. \end{aligned} \quad (2.43)$$

A permeabilidade na região bifásica que aparece nas equações do momentum em x e y é baseada na equação de Kozeny-Carmam:

$$K_x = K_y = K_o \left[\frac{\varepsilon_l^3}{(1 - \varepsilon_l)^2} \right], \quad (2.44)$$

onde K_o é uma constante que depende da morfologia da região multifásica.

2.1.3 Conservação de Energia

A fim de se obter a equação de conservação de energia, definem-se

$$\begin{aligned} \phi_k &= h_k, \\ \vec{J}_k &= -k_k \vec{\nabla} T_k, \\ \varepsilon_k S_k &= 0. \end{aligned} \quad (2.45)$$

Na ausência de fonte térmica, escreve-se

$$\frac{\partial}{\partial t}(\overline{\rho}_k h_k) + \vec{\nabla} \cdot (\overline{\rho}_k \vec{V}_k h_k) = \vec{\nabla} \cdot (\varepsilon_k k_k \vec{\nabla} T_k). \quad (2.46)$$

A condutividade térmica efetiva da mistura depende da morfologia dos cristais que formam a região bifásica [Bianchi e Viskanta, 1999]. Assumindo que os cristais crescem de forma celular (ausência de braços secundários nos dendritos), as resistências térmicas no sólido e no líquido que formam a região bifásica se encontram em paralelo, de forma que

$$k_{\text{eff}} = \sum_k \varepsilon_k k_k. \quad (2.47)$$

Assumindo que exista equilíbrio termodinâmico local entre as fases, escreve-se

$$T = T_k. \quad (2.48)$$

Substituindo (2.48) e (2.6) no lado esquerdo da igualdade de equação (2.46) e (2.47)

no lado direito, obtem-se

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho f_k h_k) + \vec{\nabla} \cdot (\rho f_k \vec{V}_k h_k) = \vec{\nabla} \cdot (k_{\text{eff}} \vec{\nabla} T). \quad (2.49)$$

O termo advectivo pode ser decomposto em contribuições devido ao movimento médio da mistura e movimento relativo das fases

$$\sum_k \bar{\rho}_k \vec{V}_k h_k = \rho V h + \sum_k \bar{\rho}_k (\vec{V}_k - \vec{V}) (h_k - h), \quad (2.50)$$

onde a entalpia da mistura é definida como

$$h = \sum_k f_k h_k. \quad (2.51)$$

Utilizando a equação (2.51), escreve-se para o primeiro termo da equação (2.49)

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho f_k h_k) = \frac{\partial}{\partial t} (\rho h). \quad (2.52)$$

Substituindo as equações (2.52) e (2.50), na equação (2.49) obtem-se

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho h) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} h) = \vec{\nabla} \cdot (k_{\text{eff}} \vec{\nabla} T) - \vec{\nabla} \cdot \left[\sum_k \bar{\rho}_k (\vec{V}_k - \vec{V}) (h_k - h) \right], \quad (2.53)$$

ou, para o caso especial de um sistema bifásico sólido líquido, a equação (2.53) se transforma em

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho h) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} h) = \vec{\nabla} \cdot (k_{\text{eff}} \vec{\nabla} T) - \vec{\nabla} \cdot \left[f_s \rho (h_l - h_s) (\vec{V} - \vec{V}_s) \right]. \quad (2.54)$$

Uma vez que todas as fases são líquida e sólidas, é possível desprezar as variações de densidade em cada uma das fases. Assim, para substâncias incompressíveis, a entalpia de cada fase é somente função da temperatura [Moran e Shapiro, 1996]

$$dh = c dT. \quad (2.55)$$

Note que a equação (2.54) apresenta temperatura e entalpia como variáveis. É preciso portanto eliminar uma delas, uma vez que elas são dependentes. A relação entre a

temperatura e a entalpia pode ser escrita como

$$\vec{\nabla}T = \frac{1}{c_k}\vec{\nabla}h_k = \frac{1}{c_s}\vec{\nabla}h + \frac{1}{c_s}\vec{\nabla}(h_s - h), \quad (2.56)$$

obtendo-se

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho h) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} h) = \vec{\nabla} \cdot \left(\frac{k_{\text{eff}}}{c_s} \right) \vec{\nabla} h &+ \vec{\nabla} \cdot \left(\frac{k_{\text{eff}}}{c_s} \right) \vec{\nabla} \cdot (h_s - h) \\ &- \vec{\nabla} \cdot \left[f_s \rho (h_l - h_s) (\vec{V} - \vec{V}_s) \right]. \end{aligned} \quad (2.57)$$

O termo de armazenamento da equação (2.57) pode ser escrito, utilizando-se a entalpia de mistura, equação (2.51)

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho h) = \frac{\partial}{\partial t} \left(\sum_k f_k \rho h_k \right) = \frac{\partial}{\partial t} \left(\sum_k \varepsilon_k \rho_k h_k \right). \quad (2.58)$$

Assumindo que a interface não seja plana durante o processo de solidificação de uma mistura binária, há três fases distintas: líquido, sólido primário (fase α), e eutético. O termo de armazenamento pode ser escrito como

$$\frac{\partial}{\partial t}(\rho h) = \frac{\partial}{\partial t} [\rho f_l h_l + \rho f_\alpha h_\alpha + \rho f_e h_e]. \quad (2.59)$$

A partir da equação (2.55) a entalpia de uma fase k pode ser definida como

$$h_k = \int_0^T c_k dT + h_k^o, \quad (2.60)$$

de forma que

$$h_l = \int_0^T c_l dT + h_l^o = c_l T + h_l^o, \quad (2.61)$$

$$h_\alpha = \int_0^T c_\alpha dT + h_\alpha^o = c_\alpha T + h_\alpha^o, \quad (2.62)$$

$$h_e = \int_0^T c_e dT + h_e^o = c_e T + h_e^o, \quad (2.63)$$

onde h_l^o , h_e^o e h_α^o são as entalpias das fases sólida, líquida e eutética referenciadas em $T = 0^\circ\text{C}$.

Baseado na teoria de mistura é possível escrever para as frações mássica e volumétrica,

$$\sum_k \varepsilon_k = \varepsilon_\alpha + \varepsilon_l + \varepsilon_e = 1, \quad (2.64)$$

$$\sum_k f_k = f_\alpha + f_l + f_e = 1. \quad (2.65)$$

Lembrando que o calor específico da mistura é

$$c = f_l c_l + f_\alpha c_\alpha + f_e c_e, \quad (2.66)$$

pode-se escrever que

$$\rho h = \rho c T + \rho f_l h_l^o - \rho f_l h_\alpha^o + \rho f_e h_e^o - \rho f_e h_\alpha^o, \quad (2.67)$$

As variações de entalpia de todas as fases envolvidas à temperatura de referência de 0°C,

$$h_l^o - h_\alpha^o = \Delta h_{l \rightarrow \alpha}, \quad (2.68)$$

$$h_e^o - h_\alpha^o = \Delta h_{e \rightarrow \alpha}, \quad (2.69)$$

e então substituindo a expressão (2.6), juntamente com as equações (2.68) e (2.69) na equação (2.67), e recolocando novamente na equação (2.57) obtém-se

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t} (\rho c_\alpha T) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} h) &= \vec{\nabla} \cdot (k_{\text{eff}} T) - \vec{\nabla} \cdot \left[f_\alpha \rho (h_l - h_\alpha) (\vec{V} - \vec{V}_\alpha) \right] - \rho_l \Delta h_{l \rightarrow \alpha} \frac{\partial \varepsilon_l}{\partial t} \\ &- \rho_l \Delta h_{e \rightarrow \alpha} \frac{\partial \varepsilon_e}{\partial t} - \frac{\partial}{\partial t} [f_l \rho (c_l - c_\alpha) T] \\ &- \frac{\partial}{\partial t} [f_e \rho (c_e - c_\alpha) T]. \end{aligned} \quad (2.70)$$

Expandindo os operadores em duas dimensões mantendo a densidade constante com as coordenadas espaciais, assumindo a equação (2.55), lembrando que $\rho f_\alpha = \rho_\alpha \varepsilon_\alpha$, $\rho f_l = \rho_l \varepsilon_l$, $\rho f_e = \rho_e \varepsilon_e$, considerando ainda que as densidades sejam constantes e iguais à da fase líquida,

obtem-se

$$\begin{aligned}
\frac{\partial}{\partial t} (\rho_l c_\alpha T) + \frac{\partial}{\partial x} (\rho_l u c T) + \frac{\partial}{\partial y} (\rho_l v c T) = & k_{\text{eff}} \left[\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} \right] \\
& - \frac{\partial}{\partial x} [\varepsilon_\alpha \rho_l (h_l - h_\alpha) (u - u_\alpha)] \\
& - \frac{\partial}{\partial y} [\varepsilon_\alpha \rho_l (h_l - h_\alpha) (v - v_\alpha)] - \rho_l \Delta h_{l \rightarrow \alpha} \frac{\partial \varepsilon_l}{\partial t} \\
& - \rho_l \Delta h_{l \rightarrow e} \frac{\partial \varepsilon_e}{\partial t} - \frac{\partial}{\partial t} [\varepsilon_l \rho_l (c_l - c_\alpha) T] \\
& - \frac{\partial}{\partial t} [\varepsilon_e \rho_l (c_e - c_\alpha) T]. \tag{2.71}
\end{aligned}$$

Na equação (2.71) alguns termos na representação de entalpia ainda estão presentes. A partir das equações (2.61) e (2.62), as entalpias do líquido e do sólido- α podem ser escritas como

$$h_\alpha = c_\alpha T, \tag{2.72}$$

$$h_l = c_l T + [(c_\alpha - c_l) T_e + \Delta h'_{lf}], \tag{2.73}$$

sendo presumido que $h_\alpha|_{T=0} = 0$ e $(h_l - h_\alpha)|_{T=0} = \Delta h'_{lf}$. Como o calor específico da mistura pode ser também expresso em função das frações volumétricas,

$$c = c_\alpha + \varepsilon_l (c_l - c_\alpha) + \varepsilon_e (c_e - c_\alpha), \tag{2.74}$$

pode-se substituir as expressões (2.73) referentes as entalpias, usando também a equação (2.74) para c , e obter a equação final para conservação de energia:

$$\begin{aligned}
\frac{\partial}{\partial t} (\rho_l c_\alpha T) + \frac{\partial}{\partial x} (\rho_l c_\alpha u T) + \frac{\partial}{\partial y} (\rho_l c_\alpha v T) = & k_{\text{eff}} \left[\frac{\partial^2 T}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 T}{\partial y^2} \right] \\
& - \frac{\partial}{\partial x} [\varepsilon_l \rho_l (c_l - c_\alpha) u T] - \frac{\partial}{\partial x} [\varepsilon_e \rho_l (c_e - c_\alpha) u T] \\
& - \frac{\partial}{\partial y} [\varepsilon_l \rho_l (c_l - c_\alpha) v T] + \frac{\partial}{\partial y} (\varepsilon_e \rho_l (c_e - c_\alpha) v T) \\
& - \frac{\partial}{\partial x} [\varepsilon_\alpha \rho_l (h_l - h_\alpha) (u - u_\alpha)] - \frac{\partial}{\partial y} [\varepsilon_\alpha \rho_l (h_l - h_\alpha) (v - v_\alpha)] \\
& - \rho_l \Delta h_{l \rightarrow \alpha} \frac{\partial \varepsilon_l}{\partial t} - \rho_l \Delta h_{e \rightarrow \alpha} \frac{\partial \varepsilon_e}{\partial t} - \frac{\partial}{\partial t} [\varepsilon_l \rho_l (c_l - c_\alpha) T] \\
& - \frac{\partial}{\partial t} [\varepsilon_e \rho_l (c_e - c_\alpha) T]. \tag{2.75}
\end{aligned}$$

2.1.4 Conservação de Espécies Químicas

Partindo da equação (2.9) , e assumindo:

$$\begin{aligned}\phi_k &= C_k, \\ J_k &= -\rho_k D_k \vec{\nabla} C_k, \\ \varepsilon_k S_k &= 0,\end{aligned}\tag{2.76}$$

na ausência de geração de espécies, escreve-se

$$\frac{\partial}{\partial t} \left(\sum_k \bar{\rho}_k C_k \right) + \vec{\nabla} \cdot \left(\sum_k \bar{\rho}_k \vec{V}_k C_k \right) = \vec{\nabla} \cdot \left(\sum_k \varepsilon_k \rho_k D_k \vec{\nabla} C_k \right).\tag{2.77}$$

Utilizando as definições para as variáveis de mistura

$$C = \sum_k f_k C_k,\tag{2.78}$$

$$D = \sum_k f_k D_k.\tag{2.79}$$

O termo advectivo da equação (2.77) pode ser rescrito como

$$\sum_k \bar{\rho}_k V_k C_k = \rho V C + \sum_k \bar{\rho}_k (V_k - V) (C_k - C),\tag{2.80}$$

e utilizando as equações (2.78) e (2.6) no termo de armazenamento da equação (2.77) obtem-se

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho f_k C_k) = \frac{\partial}{\partial t} (\rho C).\tag{2.81}$$

Substituindo as equações (2.80) e (2.81) na equação (2.77) pode-se escrever

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho C) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} C) = \vec{\nabla} \cdot \left(\sum_k \rho f_k D_k \nabla C_k \right) - \vec{\nabla} \cdot \left(\sum_k \bar{\rho}_k (\vec{V}_k - \vec{V}) (C_k - C) \right).\tag{2.82}$$

Substituindo a identidade

$$\vec{\nabla} C_l = \vec{\nabla} C + \vec{\nabla} (C_l - C),\tag{2.83}$$

a equação (2.77) pode ser escrita como

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho C) + \vec{\nabla} \cdot (\rho \vec{V} C) = \vec{\nabla} \cdot (\rho D \vec{\nabla} C) &+ \vec{\nabla} \cdot [\rho D \vec{\nabla} (C_l - C)] \\ &- \vec{\nabla} \cdot [f_s \rho (C_l - C_s)(\vec{V} - \vec{V}_s)]. \end{aligned} \quad (2.84)$$

A difusão de sal na fase sólida pode ser desprezada se comparada à difusão na fase líquida,

$$D_l \gg D_s, \quad (2.85)$$

de forma que o coeficiente de difusividade mássica da mistura pode ser escrito como

$$D = f_l D_l = \rho_l \varepsilon_l D_l. \quad (2.86)$$

Além disto, o coeficiente de partição da mistura utilizada no presente trabalho (solução salina) é muito pequeno, de forma que a concentração de soluto no sólido é zero

$$C_s = 0. \quad (2.87)$$

Expandindo os operadores gradientes e divergentes em duas dimensões, admitindo que a densidade seja constante e igual à densidade do líquido e assumindo que o sólido seja uma matriz estacionária, a equação final para a conservação de espécies químicas se torna

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial t}(\rho_l C) + \frac{\partial}{\partial x}(\rho_l u C) + \frac{\partial}{\partial y}(\rho_l v C) = \rho_l \varepsilon_l D_l \left[\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} \right] &+ \frac{\partial^2}{\partial x^2} [\rho_l \varepsilon_l D_l (C_l - C)] \\ &+ \frac{\partial^2}{\partial y^2} [\rho_l \varepsilon_l D_l (C_l - C)] \\ &- \frac{\partial}{\partial x} [\varepsilon_\alpha \rho_l C_l u] \\ &- \frac{\partial}{\partial y} [\varepsilon_\alpha \rho_l C_l v]. \end{aligned} \quad (2.88)$$

2.2 Modelo de Mudança de Fase

As frações volumétricas das fases ε_k são variáveis desconhecidas nas equações de conservação de massa, momentum em x , momentum em y , energia, e espécies químicas além das variáveis dependentes principais tais como a temperatura e a concentração de líquido. As quantidades remanescentes nas equações de transporte podem ou ser determinadas pelas

variáveis dependentes principais e frações volumétricas das fases ou são dadas como propriedades termofísicas. Três equações adicionais são necessárias para resolver as frações volumétricas de líquido, sólido primário- α , e composição eutética da fase sólida. Uma das relações é por definição, equação (2.3),

$$\sum_k \varepsilon_k = 1.$$

As outras duas são obtidas do diagrama de fase e constituem um modelo de mudança de fase. Se a solidificação ocorre em uma taxa muito lenta, equilíbrio local pode ser assumido no diagrama de fase usado, figura 2.2. Se o sistema considerado é um sólido eutético, a primeira relação é

$$T = T_{eut}, \quad (2.89)$$

para

$$C_l = C_{eut}. \quad (2.90)$$

A outra relação necessária para resolver as frações volumétricas é a relação entre a temperatura de *liquidus* e a concentração de *liquidus* no diagrama de fase, a qual pode ser relacionada por

$$T_{liq} = T_{liq}(C_l). \quad (2.91)$$

A relação funcional da temperatura de *liquidus* depende do sistema considerado. A linha *liquidus* no diagrama de fase (Figura 2.2) na região de interesse pode ser aproximada como uma equação de segundo grau do tipo [Gebhart et al., 1988],

$$\frac{T_{liq}}{C_{liq}} = -0,0200545T_{liq}^2 + 10,148752T_{liq} - 570,36121. \quad (2.92)$$

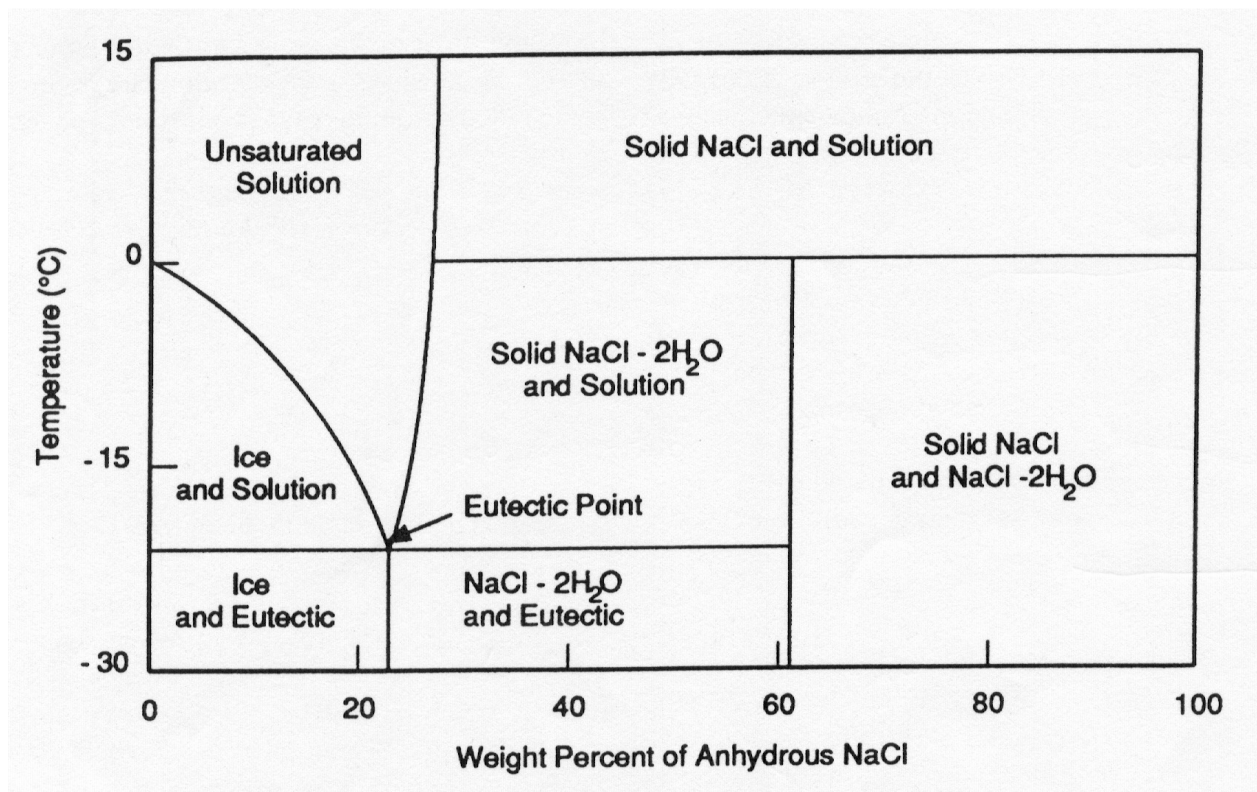


Figura 2.2 – Diagrama de fase de uma solução contendo cloreto de sódio mais água [Viskanta et al., 1997].

2.3 Considerações Finais Sobre o Modelo

As equações obtidas no presente capítulo são válidas somente considerando as hipóteses simplificadoras utilizadas na derivação das mesmas. Apenas para facilitar a identificação destas hipóteses pelo leitor, elas são repetidas a seguir:

1. Propriedades termofísicas de cada fase constantes
2. Escoamento laminar
3. Comportamento Newtoniano da fase líquida
4. Escoamento na região bifásica seguindo a lei de Darcy
5. Permeabilidade isotrópica
6. Aproximação de Boussinesq para o termo de empuxo

7. Equilíbrio termodinâmico local
8. Condutividade térmica efetiva calculada pelo modelo de resistências em paralelo
9. Difusão de espécies desprezível na fase sólida
10. Coeficiente de partição da mistura igual a zero

As equações (2.38) , (2.43) , (2.88) e (2.75) são resolvidas para o problema descrito no Capítulo 4, e os resultados são apresentados no Capítulo 5.

CAPÍTULO 3

CINÉTICA DA PERDA DE ÁGUA PARA CÉLULAS SUBMETIDAS A TEMPERATURAS ABAIXO DE ZERO

Um dos objetivos do presente trabalho é aumentar o entendimento do processo de perda de água que acontece com células quando submetidas à solidificação em uma solução salina. O transporte de água através da membrana celular foi modelado por diversos autores [Cussler, 1997; Mazur, 1963; Mazur, 1984; Mazur, 1990]. No presente capítulo as equações de difusão de água através da membrana celular são derivadas e um modelo para a variação do volume da célula devido às perdas de água é proposto. Este modelo depende dos potenciais químicos interno e externo à célula, que por sua vez dependem do histórico de temperaturas e concentrações internas e externas à célula e dos coeficientes de transporte de massa na membrana.

3.1 Pressão de Vapor Intra e Extra-Celular como uma Função da Temperatura

Assume-se que o protoplasma seja uma solução diluída ideal, de forma que pode-se aplicar a lei de Raoult [Mazur, 1963] para se calcular a pressão de vapor de água no protoplasma como

$$P_i = P^o x_{i,1}. \quad (3.1)$$

Tomando o logaritmo de ambos os lados e diferenciando com relação à temperatura, é possível mostrar que

$$\frac{d}{dT} \ln(P_i) = \frac{d}{dT} \ln(P^o) + \frac{d}{dT} \ln(x_{i,1}). \quad (3.2)$$

Utilizando a lei de Clausius-Clapeyron [Moran e Shapiro, 1996],

$$\frac{d}{dT} \ln(P^o) = \frac{\Delta h_{lv}}{RT^2}, \quad (3.3)$$

é possível mostrar que

$$\frac{d}{dT} \ln(P_i) = \frac{\Delta h_{lv}}{RT^2} + \frac{d}{dT} \ln(x_{i,1}). \quad (3.4)$$

A variação da pressão de vapor sobre o gelo no meio externo à célula é dada por

$$\frac{d}{dT} \ln(P_e) = \frac{\Delta h_{ls}}{RT^2}. \quad (3.5)$$

Se o meio externo contém soluto, como é o caso de água deionizada, algum líquido estaria presente na solução em temperatura abaixo do ponto de eutético. Deve-se assumir que tal solução permanece em equilíbrio com o gelo de forma que sua pressão de vapor seria também P_e e obedeceria a equação (3.5).

Subtraindo a equação (3.4) da equação (3.5), lembrando que $\Delta h_{ls} - \Delta h_{lv} = \Delta h_{lf}$, escreve-se

$$\frac{d}{dT} \ln\left(\frac{P_e}{P_i}\right) = \frac{\Delta h_{lf}}{RT^2} + \frac{d}{dT} \ln(x_{i,1}). \quad (3.6)$$

Por outro lado,

$$x_{i,1} = \frac{n_1}{n_1 + n_2} = \frac{n_1 \bar{v}_1}{n_1 \bar{v}_1 + n_2 \bar{v}_1} = \frac{\mathcal{V}}{\mathcal{V} + n_2 \bar{v}_1}. \quad (3.7)$$

Substituindo a equação (3.7) na equação (3.6), e também substituindo $\bar{v}_1$ por v_1^0 , que é o volume molar da água pura, e levando em conta a diferenciação indicada, e ainda assumindo v_1^0 e n_2 como constantes, escreve-se

$$\frac{d}{dT} \ln\left(\frac{P_e}{P_i}\right) = \frac{\Delta h_{lf}}{RT^2} - \left[\frac{n_2 v_1^0}{(\mathcal{V} + n_2 v_1^0)} \frac{1}{\mathcal{V}} \right] \frac{d\mathcal{V}}{dT}. \quad (3.8)$$

A equação (3.8) permite calcular a razão entre a pressão de vapor da água super-resfriada dentro da célula com relação à água em equilíbrio termodinâmico fora da célula, como uma função do volume de água intracelular e temperatura.

3.2 Taxa de Perda de Água (Desidratação)

A vazão volumétrica de água deixando a célula, que é igual à taxa pela qual o volume de água intracelular varia, pode ser escrita como

$$\frac{dV}{dt} = L_p A (\Pi_i - \Pi_e). \quad (3.9)$$

A pressão osmótica, Π , é uma função da pressão de vapor:

$$\Pi \bar{v}_1 = \bar{R}T \ln \frac{P^o}{P}. \quad (3.10)$$

Substituindo esta pressão de vapor equivalente para Π_e e Π_i , na equação (3.9) e substituindo $\bar{v}_1$ por v_1^0 , obtém-se

$$\frac{dV}{dt} = \frac{L_p A \bar{R}T}{v_1^0} \left(\ln \frac{P_e}{P_i} \right). \quad (3.11)$$

3.3 Condutividade Hidráulica de Membranas Celulares

Segundo estudos feitos por Mazur [1963] o coeficiente de permeabilidade pode ser correlacionado com a temperatura utilizando-se uma relação linear para temperaturas acima de 0°C, da seguinte forma

$$\ln L_p = a + bT. \quad (3.12)$$

Se o coeficiente de permeabilidade hidráulica, L_p^g , a uma temperatura T_g for conhecido, é possível escrever

$$L_p = L_p^g \exp [b(T - T_g)]. \quad (3.13)$$

Mais recentemente, Mazur [1990] expressou empiricamente esta relação do coeficiente de permeabilidade L_p com a temperatura segundo uma relação de Arrhenius, sendo esta válida para temperaturas também abaixo de 0°C

$$L_p = L_p^g \exp \left[\frac{-E^*}{\bar{R}} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_g} \right) \right]. \quad (3.14)$$

Segundo Mazur [1990], seria necessária uma outra equação expressando uma relação funcional entre o coeficiente de permeabilidade hidráulica L_p , e osmolaticidade total da solução. Ele então sugere como um meio apropriado para enfocar a dependência de L_p sobre a osmolaticidade de penetração de soluto, usar o valor de L_p^g nas equações de L_p como sendo a metade do valor medido experimentalmente na ausência de permeabilidade para o soluto.

Por outro lado, é possível ainda desenvolver um estudo para determinar matematicamente uma equação para L_p . O coeficiente de permeabilidade hidráulica para solvente L_p para uma membrana pode ser expresso da seguinte forma [Cussler, 1997]

$$L_p = \frac{D'H \left(\overline{v}_1^0 - \overline{v}_1^* \right)}{RTl}. \quad (3.15)$$

Então a equação que representa a perda de água através de uma membrana é escrita como

$$\frac{d\mathcal{V}}{dt} = L_p A \Delta P, \quad (3.16)$$

onde ΔP é a diferença de pressão na membrana. Esta diferença de pressão é devida a efeitos mecânicos e osmóticos. Se esta diferença de pressão for apenas osmótica

$$\Delta P = (\Pi_i - \Pi_e), \quad (3.17)$$

obtem-se a equação (3.9).

3.4 Variação do Volume de Água Intracelular com a Temperatura

A partir da equação (3.11), aplicando-se a regra da cadeia, é possível eliminar a dependência temporal, obtendo-se

$$\frac{v_1^o B}{L_p A \overline{R} T} \frac{d\mathcal{V}}{dT} = \ln \left(\frac{P_e}{P_i} \right), \quad (3.18)$$

onde a taxa de resfriamento é escrita como,

$$B = \frac{d\mathcal{V}}{dt}. \quad (3.19)$$

Substituindo as equações (3.12) e (3.8) em (3.18), escreve-se

$$\frac{d}{dT} \left\{ \frac{v_1^o B}{L_p^g A \bar{R} T} \exp \left[\frac{E^*}{\bar{R}} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_g} \right) \right] \frac{d\mathcal{V}}{dT} \right\} = \frac{\Delta h_{lf}}{\bar{R} T^2} - \left[\frac{n_2 v_1^o}{(\mathcal{V} + n_2 v_1^o)} \frac{1}{\mathcal{V}} \right] \frac{d\mathcal{V}}{dT}. \quad (3.20)$$

Analisando o lado esquerdo da equação (3.20), tem-se a derivada de um produto. É possível mostrar que

$$\left[T e^{\left[\frac{E^*}{\bar{R}} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_g} \right) \right]} \right] \frac{d^2 \mathcal{V}}{dT^2} - \left[\left(\frac{E^*}{\bar{R} T} + 1 \right) e^{\left[\frac{E^*}{\bar{R}} \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_g} \right) \right]} - \frac{A \bar{R} L_p^g n_2}{B (\mathcal{V} + n_2 v_1^o)} \frac{T^2}{\mathcal{V}} \right] \frac{d\mathcal{V}}{dT} = \frac{\Delta h_{lf} A L_p^g}{v_1^o B}. \quad (3.21)$$

3.5 Variação do Volume de Água Intracelular com o Tempo

Pode-se obter uma equação para a desidratação da célula a partir da integração da equação (3.6). Integrando entre os seguintes limites:

$$\int_{P_i}^{P^o} d \ln (P_i) = \frac{\Delta h_{lf}}{\bar{R}} \int_T^{T_{mo}} \frac{1}{T^2} dT + \int_{x_{i,1}}^1 d \ln (x_{i,1}). \quad (3.22)$$

Pode-se integrar nestes limites, considerando que $T_{mo} = 273,15 K$, e assumindo neste caso que a fração de água dentro da célula é 1, ou seja 100%, e ainda a pressão tanto interna quanto externa como sendo iguais à pressão parcial da água pura P^o . Obtem-se portanto, utilizando-se da equação (3.7),

$$d \ln \left(\frac{P_e}{P_i} \right) = \frac{\Delta h_{lf}}{\bar{R}} \left[\frac{1}{T_{mo}} - \frac{1}{T} \right] - \ln \left(\frac{\mathcal{V}}{\mathcal{V} + v_1^o} \right). \quad (3.23)$$

Utilizando a equação (3.11) e substituindo a equação (3.23) em (3.11):

$$\frac{d\mathcal{V}}{dt} = \frac{L_p A \bar{R} T}{v_1^o} \left(\frac{\Delta h_{lf}}{\bar{R}} \left[\frac{1}{T_{mo}} - \frac{1}{T} \right] - \ln \left[\frac{\mathcal{V}}{\mathcal{V} + n_2 v_1^o} \right] \right). \quad (3.24)$$

Substituindo a equação (3.12) na equação (3.24) acima:

$$\frac{d\mathcal{V}}{dt} = L_p^g e^{\left(-\frac{E^*}{\bar{R}} \left[\frac{1}{T} - \frac{1}{T_g} \right] \right)} \frac{A \bar{R} T}{v_1^o} \left(\frac{\Delta h_{lf}}{\bar{R}} \left[\frac{1}{T_{mo}} - \frac{1}{T} \right] - \ln \left[\frac{\mathcal{V}}{\mathcal{V} + n_2 v_1^o} \right] \right). \quad (3.25)$$

3.6 Processo em Equilíbrio

Deve-se considerar também o caso de processo em equilíbrio. Este processo representa a fração de água que permanece na célula em uma dada temperatura se o resfriamento fosse infinitamente lento. Isto é, este caso representa a fração de água que permanece na célula, e que está em equilíbrio com o gelo externo em uma temperatura constante, perdendo água o suficiente para trazer o protoplasma para o ponto de resfriamento termodinâmico.

A equação que descreve este equilíbrio do conteúdo de água pode ser derivada da equação (3.21) fazendo $B \rightarrow 0$. Porém pode ser mais facilmente derivada da equação (3.6). Para se ter a condição de equilíbrio, escreve-se

$$P_i = P_e. \quad (3.26)$$

Com isso a equação (3.6) se torna:

$$\frac{d}{dT} \ln(x_{i,1}) = \frac{\Delta h_{lf}}{RT^2}. \quad (3.27)$$

Integrando entre os seguintes limites:

$$\int_{x_{i,1}}^1 d \ln(x_{i,1}) = \frac{\Delta h_{lf}}{R} \int_T^{T_{mo}} \frac{1}{T^2} dT. \quad (3.28)$$

Fazendo a integração, substituindo $x_{i,1}$ da equação acima pela relação dada pela equação (3.7), e substituindo $\bar{v}_1$ por v_1^o :

$$\ln \left(\frac{\mathcal{V}}{\mathcal{V} + n_2 v_1^o} \right) = \frac{\Delta h_{lf}}{R} \left[\frac{1}{T_{mo}} - \frac{1}{T} \right]. \quad (3.29)$$

3.7 Variação do Volume de Água Intracelular com o Tempo em Função da Diferença de Concentração de Solute Intra e Extracelular

Segundo Cussler [1997], a pressão osmótica e a concentração de soluto podem ser relacionadas da seguinte forma

$$\bar{v}_1 \Pi = -\bar{R}T \ln(1 - x_1) \cong \bar{R}T x_2, \quad (3.30)$$

onde os termos de maior ordem da expansão de $\ln x_2$ foram desprezados. Considerando

uma solução diluída ideal [Cussler, 1997] podemos escrever o volume molar parcial de soluto como sendo o inverso da sua concentração molar (3.31). Assumindo que a concentração de soluto seja baixa, pode-se multiplicar esta concentração molar c de soluto pela fração molar de solvente x_2 , simplesmente passando o volume molar de soluto $\bar{v}_1$ para o lado direito da equação (3.30), obtendo-se aproximadamente a concentração mássica de solvente, ou, um menos a concentração mássica de soluto, que está representado na equação (3.31).

$$\bar{v}_1 \approx \frac{1}{\bar{c}} \longrightarrow \bar{c}x_2 \approx (1 - C_l), \quad (3.31)$$

logo a equação (3.30) acima fica

$$\Pi = \bar{R}T(1 - C_l). \quad (3.32)$$

Escrevendo a equação (3.32) para os meios interno e externo à célula,

$$\Pi_i = \bar{R}T(1 - C_{l,i}), \quad (3.33)$$

$$\Pi_e = \bar{R}T(1 - C_{l,e}), \quad (3.34)$$

e substituindo na equação (3.9), obtem-se

$$\frac{d\mathcal{V}}{dt} = L_p A \bar{R}T [(1 - C_{l,i}) - (1 - C_{l,e})], \quad (3.35)$$

onde a concentração de soluto intracelular $C_{l,i}$ pode ser considerada constante para cada tipo de célula, e a concentração de soluto extracelular $C_{l,e}$ é consequência dos fenômenos físicos que ocorrem no meio externo. No presente trabalho esta concentração é determinada pelo processo de solidificação.

3.8 Considerações Finais

Segundo Viskanta et al. [1997] a maior causa da perda de água das células ocorre devido à diferença de concentrações intra e extracelulares e taxa de resfriamento real que inside sobre as células. As equações (3.21) e (3.13) propostas por Mazur [1963] não expõe de maneira explícita esta dependência, e consideram que a taxa de resfriamento externa à bolsa é imposta diretamente sobre as células. Viskanta et al. [1997] apresentam resultados

utilizando as equações propostas por Mazur [1963] mostrando que mesmo sendo constante a taxa de resfriamento sobre a bolsa, e não existindo convecção natural, a variação do volume celular não é a mesma para células em diferentes posições no domínio.

No presente trabalho usar-se-á equação (3.35) para resolver a variação de volume celular devido a perda de água sofrida pelas células, quando estas são resfriadas a temperaturas abaixo de 0°C .

CAPÍTULO 4

DESCRIÇÃO DO PROBLEMA FÍSICO

Nos dois capítulos anteriores as equações de conservação foram desenvolvidas para resolver o problema de solidificação de misturas binárias e a perda de água de uma célula num meio salino. No presente capítulo o problema físico resolvido nesta dissertação é descrito. Apresentam-se então a geometria do domínio, as condições de contorno, as propriedades termofísicas dos materiais envolvidos, e os detalhes importantes da solução numérica utilizada.

4.1 O problema

Considera-se uma bolsa plástica retangular, na qual se encontra uma solução de cloreto de sódio em água, contendo células em suspensão. A fim de preservar as células presentes na solução, a bolsa é resfriada externamente com uma taxa de resfriamento controlada. O processo de solidificação se inicia, desprezando-se efeitos de não-equilíbrio, e eventualmente toda a solução já completamente solidificada, incluindo as células presentes na bolsa, atingem temperaturas baixas o suficiente para que virtualmente não haja reações químicas. Neste ponto, as células podem ficar armazenadas por períodos longos até a necessidade de se utilizá-las, quando a bolsa é então aquecida e a solução e as células descongeladas.

O foco do presente trabalho é o processo de solidificação e as consequências deste na sobrevivência das células. O problema então é, dada a geometria da bolsa, calcular a distribuição de temperaturas e concentrações, e também campo de velocidades para se saber a posição das células a cada instante, para se poder determinar a taxa de perda de água das células, e com isso o nível de sobrevivência das mesmas dentro da bolsa. Em termos matemáticos isso vai requerer a solução das equações desenvolvidas no Capítulo 2, para as quais é necessário definir as condições iniciais e de contorno.

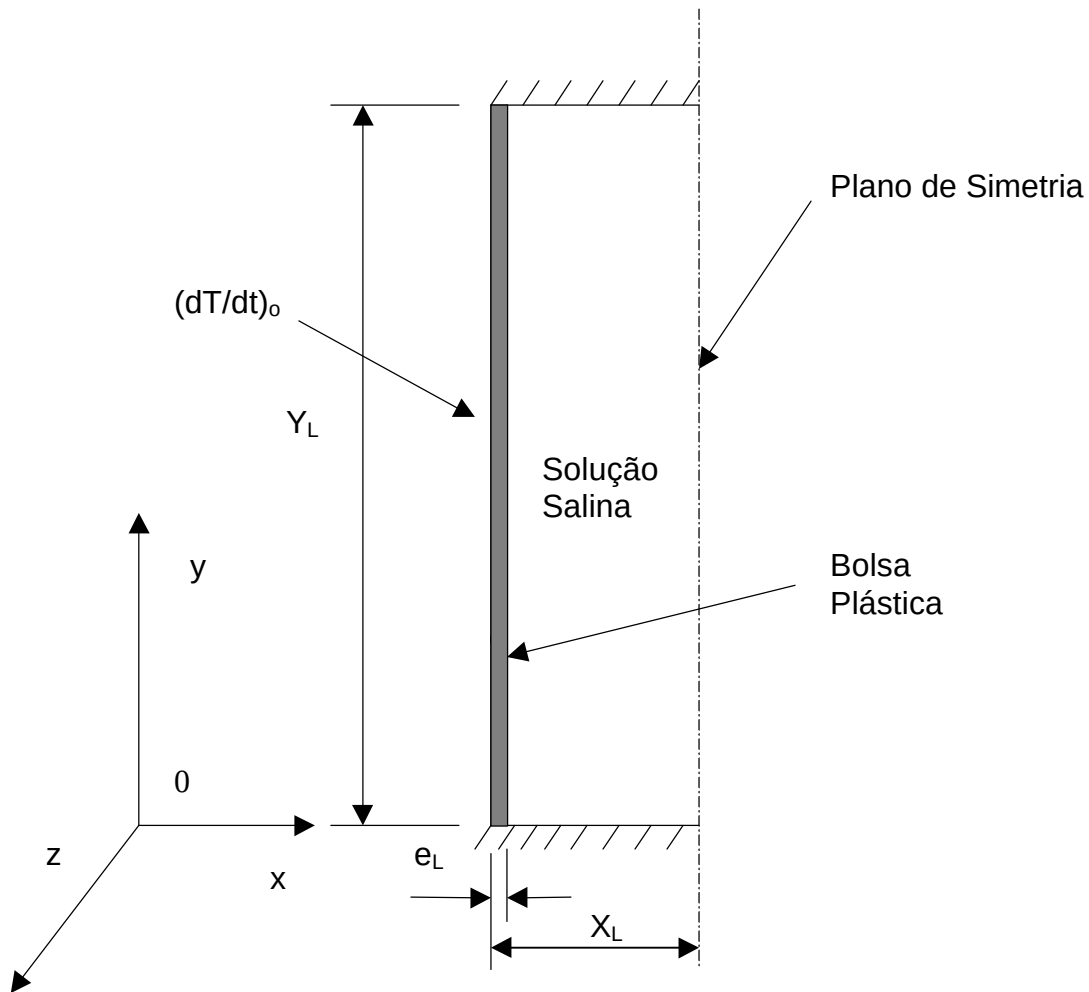


Figura 4.1 – Esboço em corte de uma bolsa plástica utilizada no processo de resfriamento.

Além disto, as propriedades termofísicas da solução e do transporte através da membrana celular são necessárias para completar o problema. No final do capítulo, detalhes da simulação numérica são apresentados.

4.1.1 Domínio

Idealiza-se a bolsa plástica onde estão depositadas as células como sendo uma cavidade bidimensional simétrica na direção x , de largura $2X_L$ e altura Y_L , como está mostrado na Figura 4.1.

Assume-se o domínio de cálculo como sendo apenas uma das metades da bolsa,

Tabela 4.1 – Dimensões do domínio

X_L (m)	Y_L (m)	e (m)
$9,5 \times 10^{-3}$	0,1	5×10^{-4}

sendo a parede da bolsa, de espessura e_L , também parte integrante da resolução do problema, juntamente com a solução aquosa de cloreto de sódio onde estão as células. As dimensões do domínio estão apresentadas na Tabela 4.1.

4.1.2 Condição Inicial e Condições de Contorno

No instante inicial, considera-se que a solução esteja estacionária, com uma temperatura e concentração conhecidas. Além disto, considera-se que as células possuam o mesmo volume inicial conhecido. As condições iniciais podem ser escritas:

Em $t = 0$ s:

$$\vec{V} = 0. \quad (4.1)$$

$$T = T_{\text{in}}, \quad (4.2)$$

$$C = C_{\text{in}}, \quad (4.3)$$

$$\mathcal{V} = \mathcal{V}_{\text{in}}. \quad (4.4)$$

A taxa de resfriamento é imposta em $x = 0$, enquanto nas outras três faces não há fluxo de calor. Não há fluxo de espécies químicas em nenhuma das faces do sistema considerado. Nas três paredes é imposta a condição de não-deslizamento, enquanto no eixo de simetria não há velocidade horizontal e a componente vertical é simétrica. Na Tabela 4.2 estão sumarizadas todas as condições de contorno do problema estudado.

4.2 Trajetória de uma Célula na Bolsa Plástica

Uma vez determinado o campo de velocidades, pode-se estabelecer qual a trajetória percorrida por uma determinada célula dentro da bolsa e estabelecer qual foi a sua história de temperaturas e concentrações. Para calcular a trajetória feita pelas células dentro da bolsa, assumiu-se no presente trabalho que as células, devido às suas pequenas dimensões, se

Tabela 4.2 – Condições de contorno.

$x = 0$ $0 \leq y \leq Y_L$	$x = X_L$ $0 \leq y \leq Y_L$	$y = 0$ $0 \leq x \leq X_L$	$y = Y_L$ $0 \leq x \leq X_L$
$u = 0$	$u = 0$	$u = 0$	$u = 0$
$v = 0$	$\frac{\partial v}{\partial x} = 0$	$v = 0$	$v = 0$
$T = \left(\frac{dT}{dt}\right)_o t + T_{in}$	$\frac{\partial T}{\partial x} = 0$	$\frac{\partial T}{\partial y} = 0$	$\frac{\partial T}{\partial y} = 0$
$\frac{\partial C}{\partial x} = 0$	$\frac{\partial C}{\partial x} = 0$	$\frac{\partial C}{\partial y} = 0$	$\frac{\partial C}{\partial y} = 0$

movem juntamente com a solução salina, desconsiderando a existência de qualquer resistência ao escoamento imposta pelas mesmas. No tempo $t = 0$, a posição e velocidades das células são conhecidas (condições iniciais). A trajetória de uma determinada célula pode então ser calculada, marcando-se no tempo a partir da posição inicial, até sua posição de parada quando a solução congela sobre ela, utilizando-se as expressões a seguir:

$$x(t + \Delta t) = x(t) + \Delta t u(x(t), y(t)), \quad (4.5)$$

$$y(t + \Delta t) = y(t) + \Delta t v(x(t), y(t)), \quad (4.6)$$

onde, x e y , são as coordenadas de uma determinada célula em um determinado instante de tempo, e Δt é um pequeno incremento de tempo.

4.3 Casos Estudados

Os casos estudados no presente trabalho foram baseados nas situações reais de crio-preservação de células em bolsas. Foram escolhidos três casos para verificar os efeitos de variação da temperatura inicial e taxa de resfriamento, uma vez que está sendo introduzido o efeito de escoamento em relação ao trabalho de Viskanta et al. [1997]. A Figura 4.2 apresenta os três casos estudados.

Os resultados apresentados neste trabalho estão sempre referenciados pela Figura 4.2, ou seja, caso I, caso II e caso III.

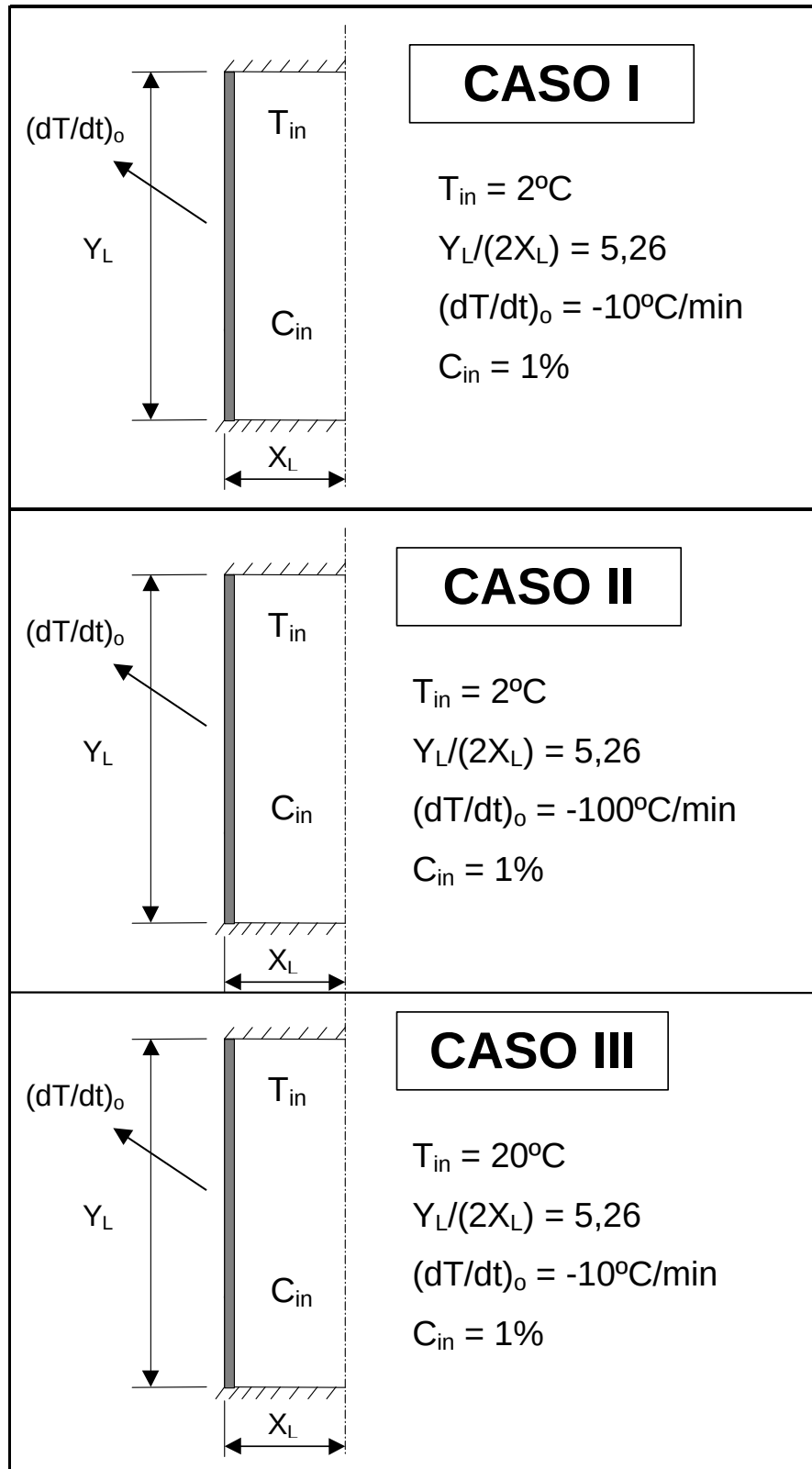


Figura 4.2 – Quadro representativo dos casos resolvidos.

Tabela 4.3 – Propriedades termofísicas da fase líquida [Zaytsev e Azeyev, 1992].

Propriedades	Fase Líquida
c_l (J/kg.K)	3911
ρ_l (kg/m ³)	1007
k_l (W/m.K)	0,562
D_l (m ² /s)	$1,611 \times 10^{-9}$
μ_l (Pa/s)	$1,814 \times 10^{-3}$

4.4 Propriedades Termofísicas

Resultados de simulação, e qualidade do modelamento dependem das propriedades termofísicas utilizadas na simulação [Bianchi, 1997]. Overfelt [1994] estudou a sensibilidade dos modelos de solidificação às propriedades termofísicas. Ele concluiu que os dados utilizados em análises de solidificação disponíveis na literatura contém uma incerteza considerável nos seus resultados que, conseqüentemente, têm seu uso limitado. Bianchi [1997] discutiu o problema de obtenção de propriedades termofísicas para a simulação de processos de solidificação de soluções aquosas de cloreto de amônia, mas as dificuldades se aplicam ao problema do presente trabalho.

As propriedades termofísicas de soluções salinas, incluindo as de NaCl, foram compiladas por Zaytsev e Aseyev [1992], de forma que todas as propriedades, excetuando-se os coeficientes de expansão, foram retirados desta referência e estão apresentados na Tabela 4.3.

As propriedades das fases sólida e eutética foram obtidas de fontes diversas [Bianchi, 1997] e estão apresentadas na Tabela 4.4 e Tabela 4.5.

As propriedades e grandezas utilizadas para a resolução da equação de perda de água pelas células também foram compiladas de várias fontes [Viskanta et al., 1997] e estão sumarizadas na Tabela 4.6.

As propriedades e grandezas com as unidades dimensionais originais estão expostas em Anexo A.

Tabela 4.4 – Propriedades termofísicas das fases sólidas (Alpha e Eutética) [Bianchi, 1997].

Propriedades	Fase Alpha (Gelo)	Fase Eutética
ρ (kg/m ³)	1530	1530
c (J/kg.K)	1945	1690
k (W/m.K)	2,285	1,910
$\Delta h_{l \rightarrow \alpha}$ (J/kg)	$333,7 \times 10^2$	—
$\Delta h_{e \rightarrow \alpha}$ (J/kg)	—	62,29

Tabela 4.5 – Grandezas utilizadas no problema de solidificação [Bianchi, 1997].

Propriedades e Grandezas	Magnitude
Δh_{ef} (J/kg)	$333,4 \times 10^2$
β_T (1/K)	$1,968 \times 10^{-5}$
β_S (-)	$-7,968 \times 10^{-3}$
K_0 (m ²)	5×10^{-11}
g (m/s ²)	9,81
T_{eut} (°C)	21,1
T_{in} (°C)	2
C_{eut} (%)	23,3
C_{in} (%)	1

Tabela 4.6 – Grandezas utilizadas para a cinética de perda de água das células [Mazur, 1963; Mazur, 1990].

Propriedades e Grandezas	Magnitude
$\bar{R}$ ($\mu\text{m}^3.\text{Pa}/\text{mol.K}$)	$83,144 \times 10^{-5}$
v_1^0 ($\mu\text{m}^3/\text{mol}$)	$18,0 \times 10^{-12}$
A (μm^2)	3,04
E^* (J/mol)	58,61
$\mathcal{V}$ (μm^3)	2,775
$\mathcal{V}_{iso}$ (μm^3)	$4,2 \times 10^{-1}$
L_p^g ($\mu\text{m}/\text{s.Pa}$)	$1,095 \times 10^{-7}$
T_g (K)	273,15
T_{mo} (K)	273,15
n_2 (mol)	$2,1 \times 10^{-16}$

No problema de solidificação estudado a única força motriz para que ocorra escoamento de fluido é a variação de densidade que existirá dentro da bolsa devido a gradientes de temperatura e de concentração de soluto [Gebhart et al., 1988; Incropera e DeWitt, 1996].

A maneira encontrada para expressar esta variação de densidade na solução, foi fazer a aproximação de que a densidade varia linearmente com ambos temperatura e concentração de soluto, e introduzir nos termos de empuxo das equações do modelo de mistura, os coeficientes de expansão térmica, e de expansão devido a concentração de soluto, que podem ser determinados da seguinte maneira:

$$\beta_T = -\frac{1}{\rho} \left(\frac{\partial \rho}{\partial T} \right)_{P,C}, \quad (4.7)$$

$$\beta_S = -\frac{1}{\rho} \left(\frac{\partial \rho}{\partial C} \right)_{P,T}. \quad (4.8)$$

Porém é sabido que em se tratando de água pura ou salinizada, existe a presença de um fato muito importante, que ocorre em uma pequena faixa de temperaturas, no qual uma

forte não linearidade aparece. Este fenômeno é caracterizado como “inversão de densidade,” e no caso de água pura, este ponto extremo ocorre sobre a temperatura de 3.98°C [Gebhart et al., 1988]. Porém, segundo Gebhart et al. [1988], este extremo também surge em água salina até um nível de concentração de cerca de 26%, e a pressões até aproximadamente 3×10^7 Pa (300 bars) para sistemas permanecendo em equilíbrio local termodinâmico, e podendo para condições de não equilíbrio ser encontrado bem acima destes limites de salinidade e pressão. Há correlações empíricas que podem expressar o comportamento desta variação de densidade com temperatura, salinidade e pressão. Estas correlações estão desenhadas em uma carta para algumas faixas de salinidade e pressões como função da temperatura, e podem ser visualizadas na Figura (4.3). Se observarmos esta figura podemos ter uma noção de como se apresenta a variação de densidade para água pura, e também para soluções de baixa concentração. Pode-se verificar também que à medida que o nível de salinidade aumenta para uma mesma pressão (Exemplo: 1×10^5 Pa (1 bar)), a faixa de temperatura onde ocorre a inversão se torna cada vez mais restrita.

A inversão de densidade se situa numa pequena faixa de temperaturas e concentrações, na região das pontas dos dendritos (linha *liquidus*). Uma vez que esta faixa é estreita, a inversão de densidade não será considerada no presente trabalho.

Pode-se então determinar os coeficientes a partir das expressões utilizando os dados da Figura (4.3).

Para o cálculo dos coeficientes de expansão térmica pode-se usar as seguintes aproximações para as equações de β_T e β_S , equações (4.7) e (4.8):

$$\beta_T \approx -\frac{1}{\bar{\rho}} \left(\frac{\Delta \rho}{\Delta T} \right)_{P,C} \approx -\frac{1}{\bar{\rho}} \left(\frac{\rho_2 - \rho_1}{T_2 - T_1} \right)_{P,C}, \quad (4.9)$$

$$\beta_S \approx -\frac{1}{\bar{\rho}} \left(\frac{\Delta \rho}{\Delta C} \right)_{P,T} \approx -\frac{1}{\bar{\rho}} \left(\frac{\rho_2 - \rho_1}{C_2 - C_1} \right)_{P,T}, \quad (4.10)$$

onde,

$$\bar{\rho} = \frac{\rho_1 + \rho_2}{2}. \quad (4.11)$$

Segundo a figura 4.3, usando as expressões (4.9) e (4.10) para temperatura de 2°C, e pressão de 1×10^5 Pa (1 bar) pode-se obter o coeficiente de expansão de soluto. O mesmo se

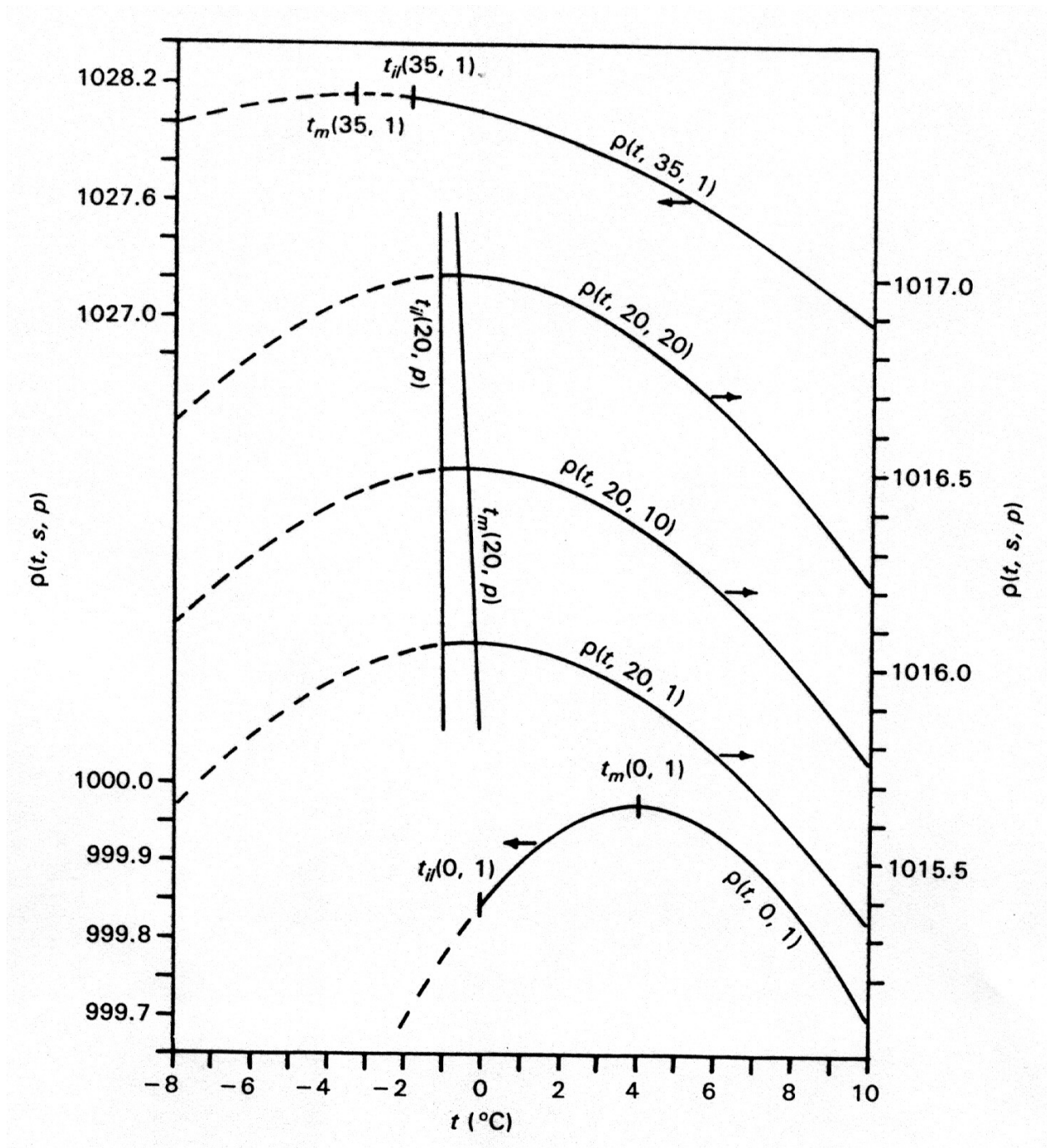


Figura 4.3 – Carta de densidades para água salgada (ρ (temperatura, concentração de sal, pressão)) [Gebhart et al., 1988].

faz para uma concentração de 1% e pressão de 1×10^5 Pa (1 bar), e encontra-se o coeficiente de expansão térmica.

4.5 Método Numérico

O sistema de equações diferenciais parciais constituindo da conservação de massa, momentum, energia, e espécies químicas é parabólico no tempo e elíptico no espaço. Esquemas numéricos têm sido empregados, onde as equações diferenciais são aproximadas por equações algébricas e o domínio discretizado. Um sistema não linear de equações algébricas tem que ser resolvido, e as equações são discretizadas através do método dos volumes de controle [Patankar, 1980]. Então as equações de conservação de espécies e energia são acopladas com o modelo de mudança de fase, e a equação de energia acoplada também com as equações de momentum, através dos termos de empuxo. A resolução do algoritmo para os valores nodais das frações volumétricas também necessita ser desenvolvida.

A natureza do problema transiente estudado demanda um esquema de marcha no tempo, que envolve um esforço equivalente ao da tarefa de resolver uma sucessão de problemas em estado estacionário através do método dos volumes de controle [Patankar, 1980]. O procedimento para determinar os valores nodais das variáveis físicas em um determinado instante de tempo, para as equações algébricas com valor nodal conhecido em um passo de tempo anterior, é repetido sucessivamente. Um esquema completamente implícito foi desenvolvido para tratar o processo de marcha no tempo. A forma generalizada da equação de conservação é

$$\frac{\partial}{\partial t} (\rho\phi) + \vec{\nabla} \cdot (\rho\vec{V}\phi) = \vec{\nabla} \cdot (\Gamma\vec{\nabla} \phi) + S_\phi, \quad (4.12)$$

onde ϕ representa algum campo de variáveis (temperatura, concentração, ou velocidade). A equação (4.12) é integrada no espaço e no tempo para cada volume, ficando a escolha das equações algébricas aplicável ao domínio de solução. Detalhes deste procedimento podem ser encontrados em Patankar [1980].

Para problemas altamente não lineares, Patankar [1980] recomenda o uso de sub-relaxações. Estas são freqüentemente empregadas para evitar divergência na solução de equações fortemente não lineares. Para os resultados numéricos os quais estão presentes no

Capítulo 5, os valores dos fatores de relaxações usados na resolução das equações de energia, espécies e momentum foram de 0,5, 0,7, e 0,5 respectivamente. Foi utilizado um coeficiente de subrelaxação para a correção da pressão de 0,8. O sistema de equações algébricas em volumes finitos obtida pelo procedimento de discretização foi resolvida usando o *TDMA* – *Tri-Diagonal Matrix Algorithm* – linha por linha, fazendo ainda uso da técnica de correção em bloco [Patankar, 1980]. O acoplamento velocidade-pressão foi resolvido pelo algoritmo *SIMPLE* – *Semi-Implicit Method for Pressure Linked Equations* também apresentado por Patankar [1980].

Após determinados os campos de temperatura, velocidade e concentração de líquido, as frações volumétricas são atualizadas através do modelo de equações de mudança de fase. Quando as frações volumétricas de uma fase são atualizadas para um campo de temperatura e concentração não convergidos, o cálculo iterativo de atualização das frações volumétricas das fases não é estável. Um algoritmo é introduzido para atualizar as frações volumétricas e determinar a posição da interface *solidus-liquidus*. Detalhes desta sequência de cálculos pode ser encontrado em Prakash e Voller [1989].

O procedimento iterativo para calcular a temperatura, concentração de líquido, velocidades, e frações volumétricas para cada passo de tempo requer uma série de iterações até que um critério de convergência esteja satisfeito. Foi utilizado um critério de convergência relativo de 1×10^{-8} para a temperatura, e 1×10^{-4} para as frações volumétricas em todos os volumes do domínio. Foi utilizado um incremento temporal constante de 1 s, 0.5 s, e 1 s para os casos I, II, e III respectivamente.

O tamanho do domínio computacional utilizado para todas as simulações foi escolhido em função de limitações de tamanho de memória, e tempo computacional. Após alguns testes, uma malha bidimensional contendo 100 volumes na direção x sendo 10 sobre a bolsa, e 90 volumes na direção y foi escolhido e usado, ver detalhe na Figura 4.4.

A discretização dos termos de fonte da equação de conservação de espécies foi baseada no trabalho de Prakash e Voller [1989]. Já para as equações de energia e momentum os termos de fonte foram discretizados em diferenças finitas, segundo Patankar [1980].

A equação de cinética de perda de água, (3.35), foi integrada utilizando-se a regra

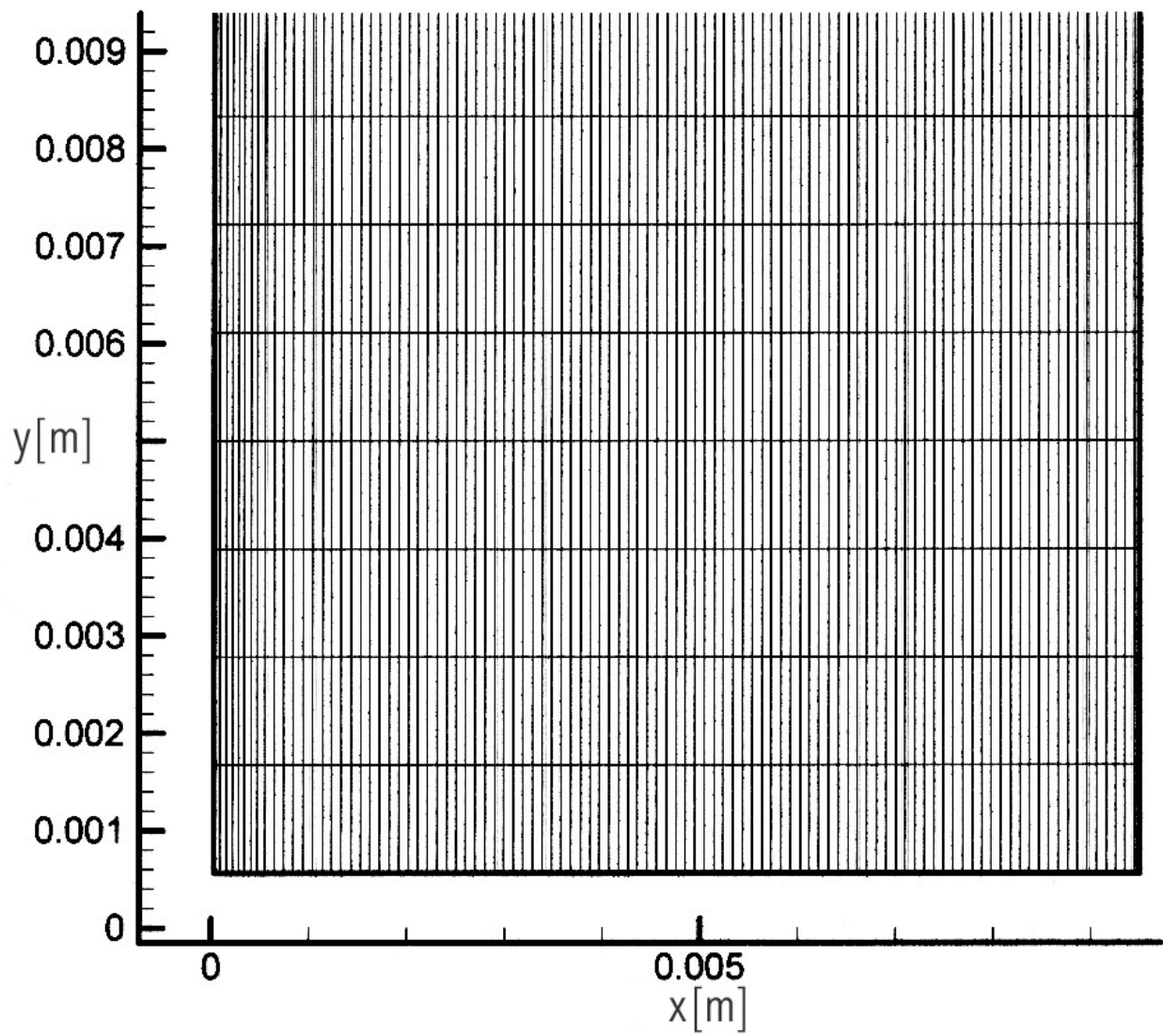


Figura 4.4 – Detalhe da malha bidimensional sobre a bolsa plástica
(100x90) Volumes.

do trapézio [Hoffman, 1992].

$$\mathcal{V} = \mathcal{V}_i + \frac{1}{2}\Delta t(\varsigma^i + \varsigma^{i+1}) \quad (4.13)$$

onde,

$$\varsigma = L_p A \overline{RT}((1 - C_{l,i}) - (1 - C_{l,e})) \quad (4.14)$$

O superíndice i significa tempo atual, e o superíndice $i + 1$ o tempo à frente.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS

O procedimento numérico descrito anteriormente no Capítulo 4 é usado para obter a solução do processo de solidificação de uma mistura de cloreto de sódio mais água, aplicado à criopreservação de células calculando a variação de volume celular durante o processo. Foram resolvidos três casos diferentes, variando taxa de resfriamento e temperatura inicial. As predições numéricas deste trabalho podem ser usadas, não apenas para validar o uso de diferentes modelos de solidificação e criopreservação, mas também para obter um melhor entendimento destes fenômenos.

Neste capítulo, estão apresentados resultados de temperatura, concentração de sal, vetores velocidade, função de corrente, frente de solidificação, variação de volume celular, e posições destas células com o tempo para algumas células escolhidas para análise.

5.1 Observações Gerais

Para todos os casos é de fundamental importância verificar o posicionamento das células a cada instante de tempo, pois uma determinada célula pode percorrer um determinado caminho dentro da bolsa, e outra célula um caminho diferente, e com isso passar por histórias de temperaturas e concentrações também diferentes e terem logicamente, níveis de desidratação diferenciados.

Outro fator que deve ser analisado é a posição e espessura da região bifásica, pois nesta região é que estão as maiores variações de concentração do domínio. Ainda como uma discussão sobre a espessura da região bifásica, deve-se verificar se ela está evoluindo de forma unidirecional, ou se devido a fluxos advectivos ela apresenta alguma deformação. Isso afetaria diretamente na variação do volume celular para diferentes posições no domínio, o

que implicaria em variadas regiões com diferentes níveis de sobrevivência.

As dimensões dos vetores velocidade não deve ser comparada entre os casos, devido ao fato de a escala não ser a mesma para todos. Deve-se comparar apenas as dimensões relativas destes vetores para um mesmo caso.

Primeiramente serão analisados os resultados inerentes ao processo de solidificação da solução salina dentro da bolsa para cada caso. Uma vez que a perda de água é um processo desacoplado da solução do problema de solidificação, os resultados de variação de volume celular são apresentados no final do capítulo.

Devido à simetria, distribuições bidimensionais de temperatura, concentração, velocidades, e função de corrente somente serão apresentadas para metade da solução salina. Assim, a posição $x/X_L = 1$ se refere à linha de simetria ou centro da bolsa.

Os resultados foram expostos de modo que se possam comparar todos os casos. Foram feitos gráficos em duas dimensões mostrando isolinhas de concentração e temperatura, campo de velocidades, função de corrente e região bifásica para determinados tempos, e também variação de posicionamento e volume celular de algumas células. Utilizou-se o caso I como base para comparação entre os casos resolvidos.

Devido à inexistência de trabalhos experimentais em domínios tão pequenos, a validação dos resultados aqui apresentados se torna impossível. Quanto ao processo de perda de água da célula, não foi localizado nenhum trabalho resolvendo numericamente a taxa de perda de água sofrida por células em uma cavidade bidimensional, como função direta da variação de concentração do meio.

O tempo computacional requerido para os casos estudados possui uma ordem de grandeza equivalente a dias, sendo as referências de tempo apresentadas neste capítulo sempre relacionadas ao tempo físico real do processo envolvido.

5.2 Processo de Solidificação

Uma vez que a solução das equações de conservação é desacoplado do modelo de perda de água, as distribuições de temperatura, concentração, e velocidades são apresentadas na presente seção.

5.2.1 Caso I

Neste caso, a temperatura inicial da solução é de 2°C , e a taxa de resfriamento na parede externa da bolsa é de $-10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Note que a concentração inicial de todos os casos estudados é de 1%. Para esta simulação o tempo final de solidificação ficou aproximadamente em 436 segundos, sendo calculado com um passo de tempo constante e igual a 1 segundo.

A Figura 5.1 mostra qualitativamente o comportamento do processo de solidificação para o tempo de 150 s. Neste estágio, uma grande recirculação se apresenta em todo o domínio, onde não há fase sólida (Figura 5.1.a e 5.1.b). Próximo à parede vertical, já existe uma porção de sólido (ver a linha *liquidus* na Figura 5.1.d) em quase metade do domínio. Embora a temperatura da parede (-23°C) já seja inferior à temperatura do eutético ($-21,1^{\circ}\text{C}$), a espessura de plástico funciona como um isolante térmico, causando um forte gradiente de temperatura no polietileno. É possível notar que na maior parte do domínio as velocidades são verticais, de forma que a linha *liquidus* se mantém plana, como pode ser visto na Figura 5.1.d. Apenas próximo às paredes horizontais há componentes não verticais da velocidade. As isothermas e as isoconcentrações são verticais e acopladas entre si, uma vez que a difusividade de espécies químicas é pequena se comparada à difusividade térmica.

A Figura 5.2 mostra a situação para o tempo de 250 s. Note que neste momento já existe fase eutética precipitada, uma vez que a linha *solidus* já percorreu parte do domínio, como pode ser visto na Figura 5.2.d. Como a fase líquida, fora da região bifásica, tem uma espessura muito reduzida, as velocidades são bem menores se comparadas às mostradas na Figura 5.1.a. É possível verificar que a recirculação envolve a região bifásica, que tem uma permeabilidade menor, de forma a também diminuir a magnitude das velocidades. Note que no interior da região bifásica o líquido tem velocidade, mas com uma magnitude muito inferior. Como seria de esperar, o problema é unidirecional, ou seja, as linhas *liquidus* e *solidus* são planas.

A Figura 5.3 mostra a situação para o tempo de 400 s. Neste ponto, há líquido somente em metade do domínio e há sólido em todo o domínio, uma vez que apenas duas regiões se fazem presentes: região completamente solidificada e região bifásica, conforme pode ser constatado a partir da Figura 5.3.d. O escoamento é bastante fraco, devido à baixa permeabilidade da região bifásica. Uma vez que os vetores velocidade são tão pequenos, o cálculo da linha de corrente ficou comprometido, como pode ser visto a partir da Figura

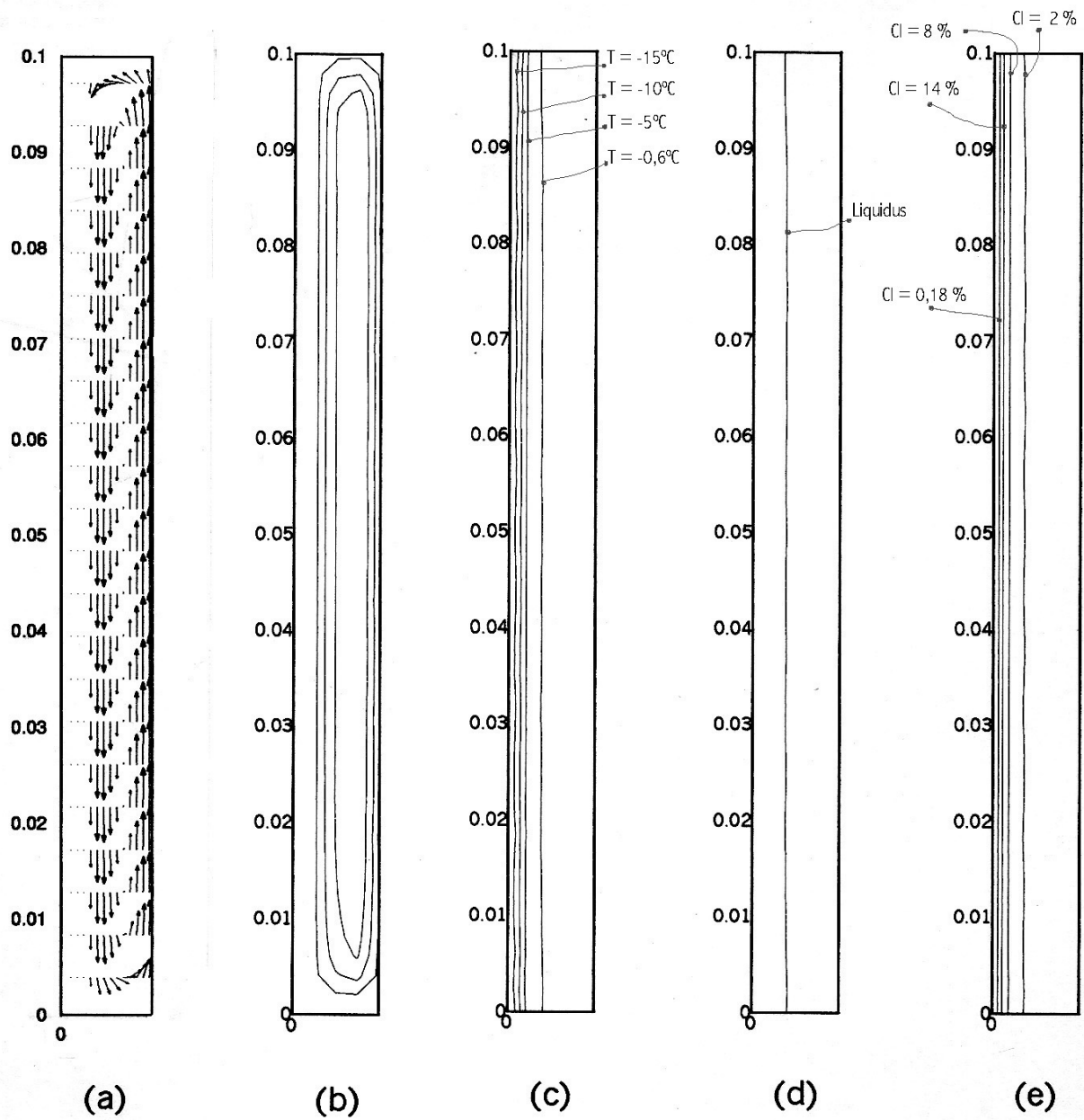


Figura 5.1 – Comportamento do processo de solidificação em $t = 150$ s para o caso I: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.

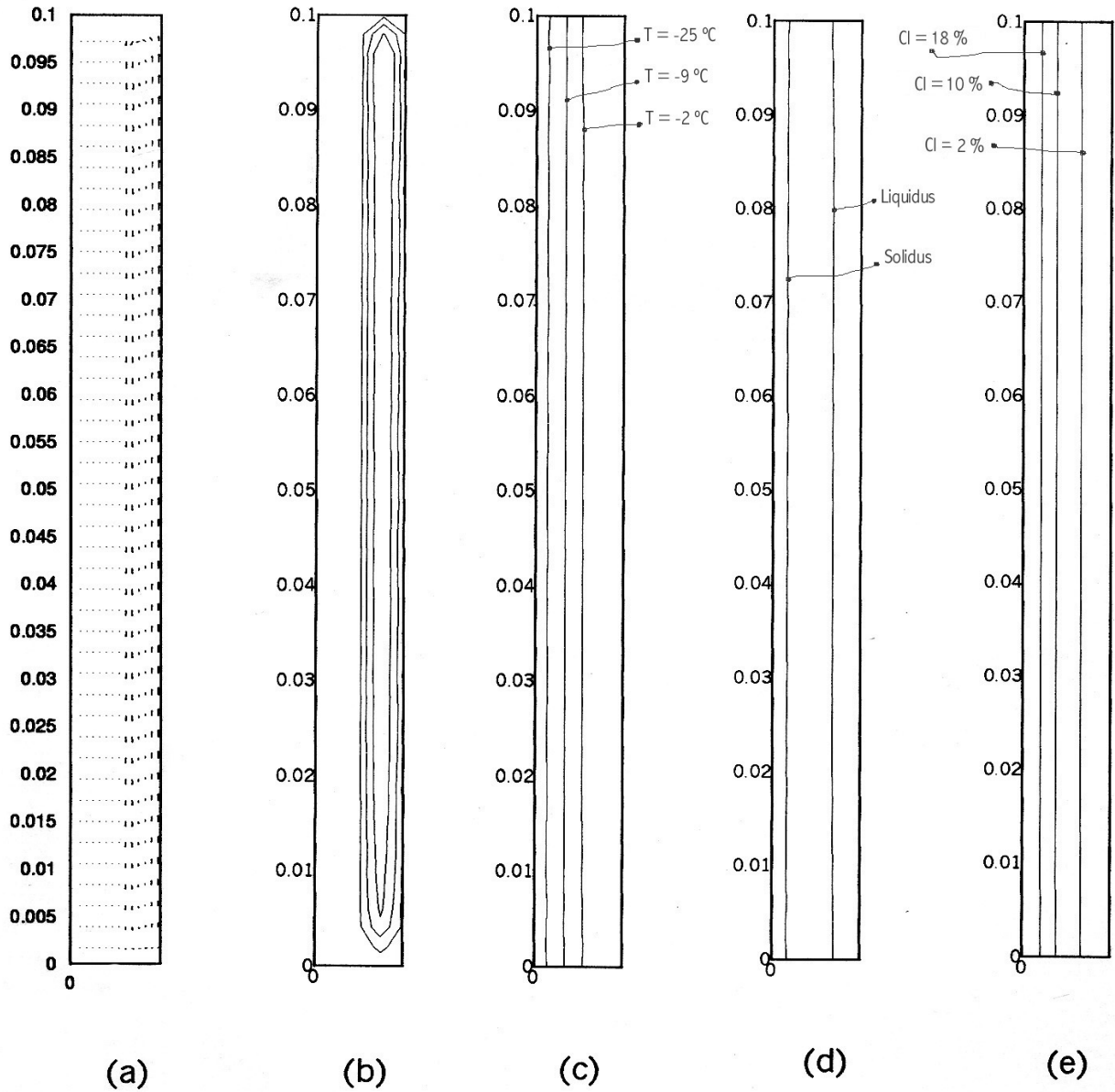


Figura 5.2 – Comportamento do processo de solidificação em $t = 250$ s para o caso I: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.

5.3.b.

A Figura 5.4 mostra a distribuição de temperatura na bolsa incluindo o polietileno com a posição para cinco instantes do processo. Uma vez que o processo é praticamente unidirecional, basta analisar uma determinada posição vertical. Neste caso, escolheu-se a altura média do domínio, $y/Y_L = 0,5$. Note que há uma significativa variação através do polietileno em $0 \leq x/X_L \leq 0,068$ e que o gradiente de temperatura não é contínuo na interface do material da bolsa com a solução salina. Isto é devido ao fato de que a condutividade térmica do polietileno é diferente da condutividade térmica da solução. O gradiente de temperatura através do plástico se torna maior no decorrer do tempo. Note também que para $t = 150$ s, outra variação na inclinação está evidente em $x/X_L = 0,3$. Esta inclinação representa a interface sólido líquido, onde estão localizadas as pontas das dendritas. A variação na inclinação é devida às diferentes propriedades termofísicas da região líquida e região bifásica.

A distribuição da concentração de sal com a posição horizontal da bolsa em função do tempo está ilustrada na Figura 5.5. Quando a solução começa a congelar, a precipitação de gelo faz aumentar a concentração de sal no líquido. Assim, dentro da região bifásica, a concentração de sal aumenta até a transformação eutética. A concentração de sal no líquido varia da concentração inicial, 1%, na região líquida à concentração de eutético, 23%, na linha *solidus*. Decorridos 50 s, a concentração aumenta para aproximadamente 2% em $x/X_L = 0,068$. Note que para $x/X_L \leq 0,068$, não há líquido porque esta é a localização da parede da bolsa. Existem cristais sólidos apenas no pequeno intervalo onde a concentração é maior do que a inicial. Após 150 s, há fase sólida presente até $x/X_L = 0,3$, e nenhuma transformação eutética ocorreu. Assim, a máxima concentração de sal na região bifásica é de aproximadamente 13%. A concentração de sal no líquido junto à bolsa atinge a de eutético somente 255 s após o início do processo, de forma que em 50 e 150 s não há região completamente solidificada no domínio. Por outro lado, é possível verificar que sólido eutético está presente na bolsa em 300 e 400 s. Note que não faz sentido se referir à concentração de sal para o sólido, de forma que as curvas de concentração somente devem ser consideradas a partir do ponto em que elas decrescem da concentração de eutético. Note também em $t = 400$ s que a alta concentração de sal, está variando de 1% no centro da bolsa ($x/X_L = 1$) para 23% na interface *solidus* ($x/X_L = 0,5$). O severo aumento na concentração de líquido

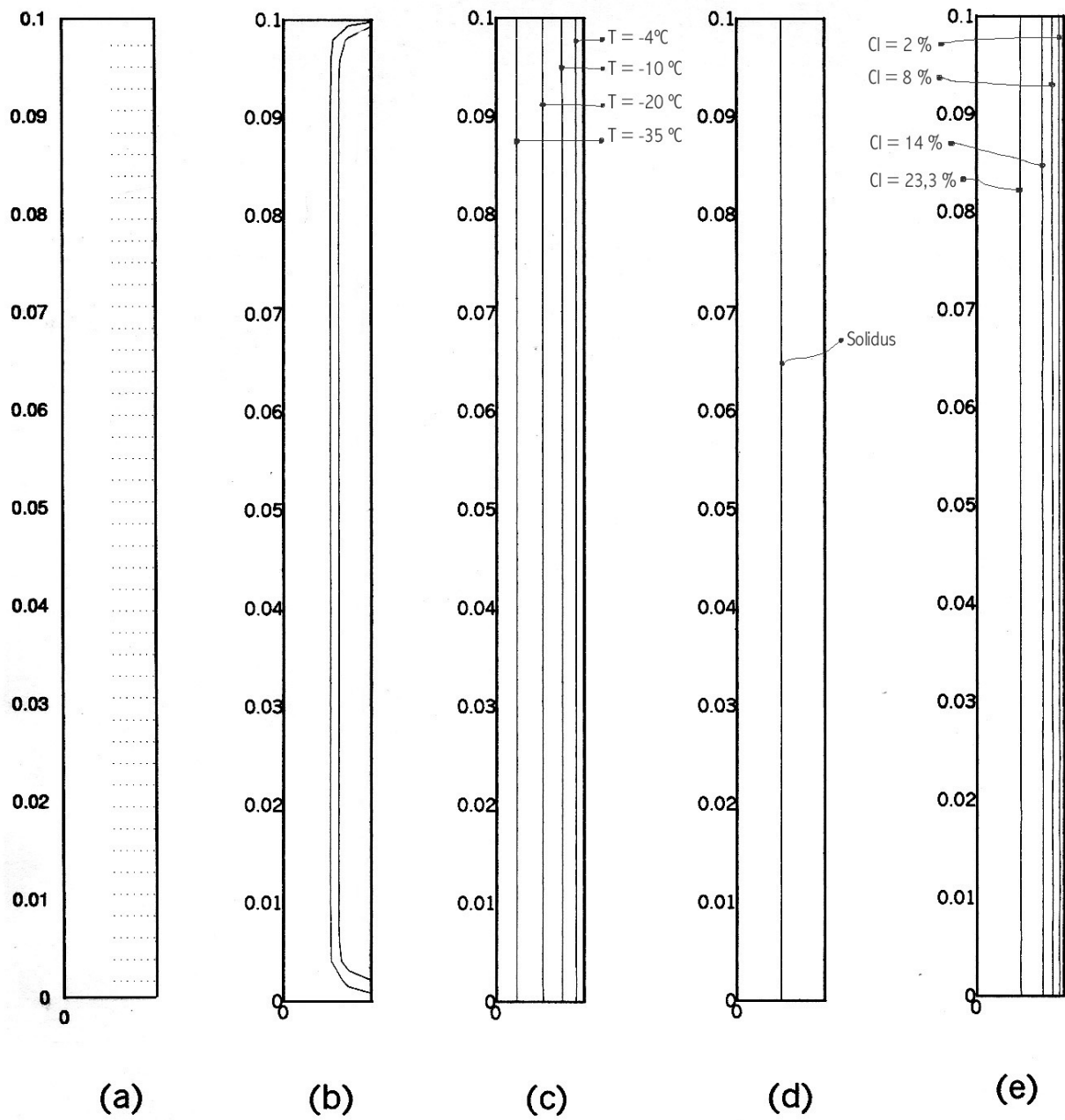


Figura 5.3 – Comportamento do processo de solidificação em $t = 400$ s para o caso I: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.

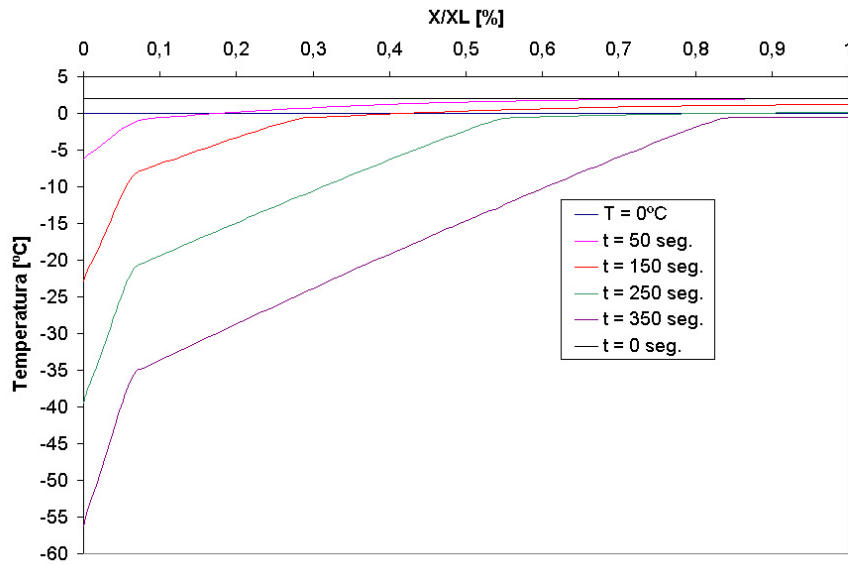


Figura 5.4 – Distribuição de temperaturas em função da posição horizontal em $y/Y_L = 0,5$ para o caso I.

perto da parede da bolsa é esperado, pois esta é a localização onde os primeiros cristais de gelo nucleiam.

As variações de temperatura com o tempo estão ilustradas na Figura 5.6. Para cada posição no domínio, é possível verificar que a temperatura decresce rapidamente até a temperatura *liquidus* ($-0,63^\circ\text{C}$ para concentrações iniciais de 1%), e depois, durante a precipitação de cristais, a queda de temperatura é menos acentuada inicialmente, aumentando novamente mais próximo da temperatura do eutético. No ponto sobre o eixo de simetria, porém, a queda de temperatura é bastante acentuada depois que a linha *liquidus* atinge esta posição. É evidente que o perfil de temperaturas depende da localização na bolsa.

A Figura 5.7 mostra os perfis de concentrações para as mesmas localizações ilustradas na Figura 5.6 respectivamente. A concentração aumenta devido à redistribuição de soluto de maneira similar para as quatro posições mostradas na figura. As últimas duas posições (Posição (82, 45) e Posição (100, 45)) apresentam uma abrupta variação na inclinação para a variação de concentração. A concentração de sal no centro da bolsa ($x/X_L = 1$) revela um perfil muito diferente, uma vez que nesta posição a variação na concentração é acelerada até alcançar a concentração eutética. Este aumento mais rápido de concentração ocorre porque a partir do momento que a linha *liquidus* atinge o eixo de simetria, aumentando a taxa de

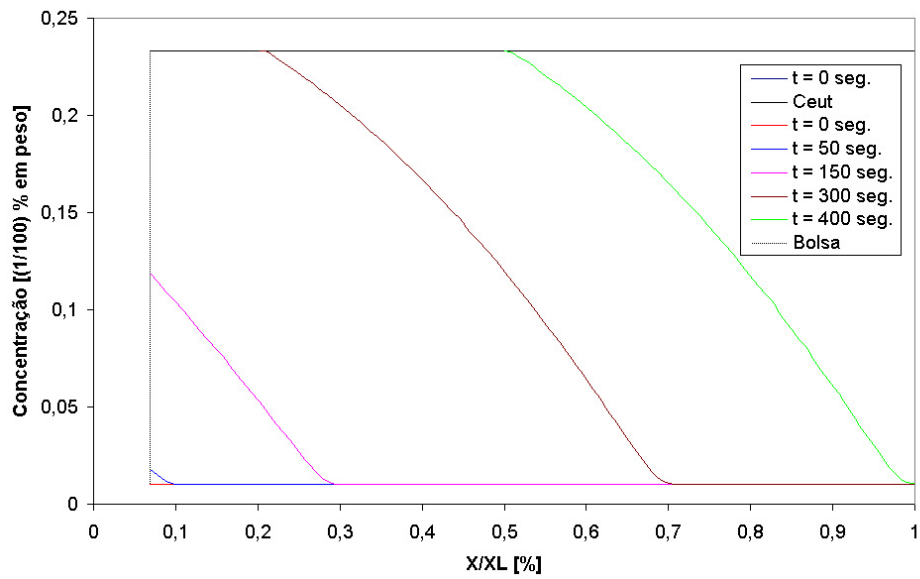


Figura 5.5 – Distribuição da concentração de soluto no líquido em função da posição horizontal em $y/Y_L = 0,5$ para o caso I.

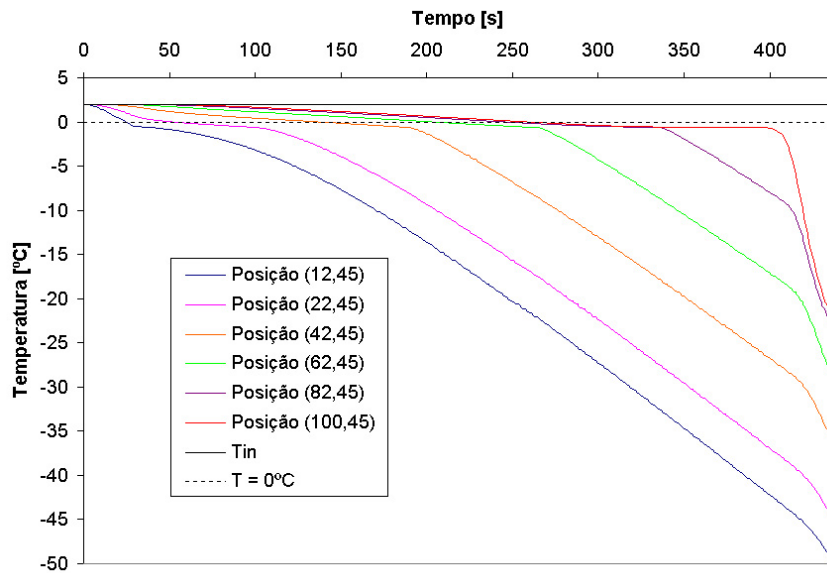


Figura 5.6 – Variação da temperatura com o tempo em $y/Y_L = 0,5$ para o caso I.

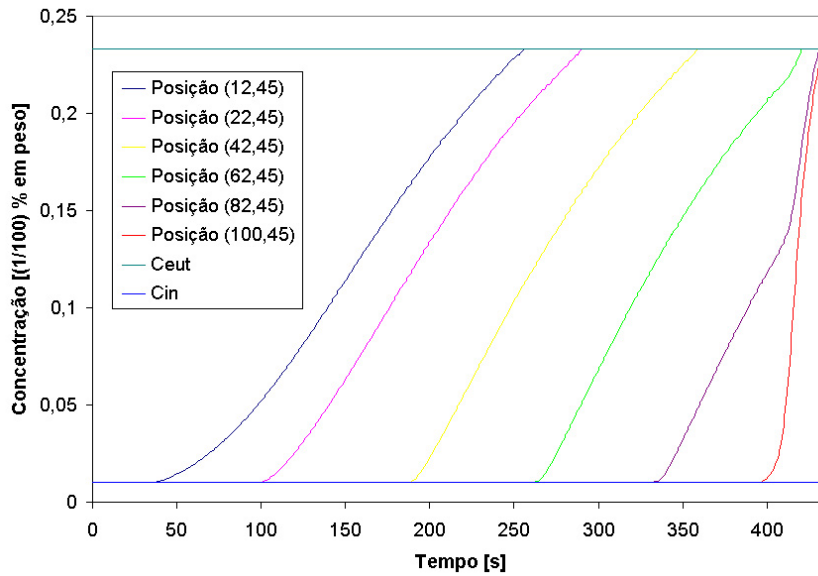


Figura 5.7 – Variação da concentração de sal no líquido com o tempo
em $y/Y_L = 0,5$ para o caso I.

resfriamento local, que controla o perfil de concentrações. A ausência da fase líquida aumenta a condutividade térmica, diminuindo a resistência à condução de calor, que é dominante.

5.2.2 Caso II

Neste caso, a temperatura inicial da solução é de 2°C , e a taxa de resfriamento na parede externa da bolsa é de $-100^\circ\text{C}/\text{min}$. Para esta simulação o tempo final de solidificação ficou aproximadamente 143 segundos, sendo calculado com um passo de tempo constante e igual a 0,5 segundos.

Os resultados obtidos são muito semelhantes aos resultados do caso anterior, mudando somente o tempo de solidificação, que é muito mais curto. Se no caso anterior o problema era unidirecional, é de se esperar que neste caso também o seja, uma vez que a taxa de resfriamento é muito maior. As linhas *liquidus* e *solidus* percorrem o domínio de forma muito mais rápido, de forma que advecção se torna menos importante. A discussão das figuras que seguem pode, então, ser resumida para se evitar repetições do que já foi mencionado para o caso anterior.

A Figura 5.8, mostra qualitativamente o comportamento do processo de solidificação para o tempo de 50 s. Uma diferença existente entre os casos I e II, pode ser visualizada se

analisarmos as Figuras 5.2.d e 5.8.d. Nestas figuras pode se ver observar que a linha *solidus*, para ambos os casos, ocupa praticamente a mesma posição na bolsa, embora os tempos não sejam equivalentes. Porém para o caso II a espessura da região bifásica é quase a metade da espessura mostrada na Figura 5.2.d do caso I. Isso justamente ocorre devido à diferença entre as taxas de resfriamento, que alteram a taxa de transferência de calor, e por sua vez a velocidade de resfriamento e velocidade de avanço da frente de solidificação.

A Figura 5.9 mostra a distribuição de temperaturas em função da posição horizontal na bolsa incluindo o material plástico. Note que as curvas desta figura possuem o mesmo perfil das curvas apresentadas na Figura 5.4, porém a magnitude das temperaturas alcançadas no processo são praticamente quatro vezes maiores nas proximidades da parede da bolsa. Pode-se verificar também as mesmas regiões distintas na inclinação das curvas, devido as diferenças entre as propriedades termofísicas das diferentes fases, e da bolsa plástica.

As variações de concentração com a posição na bolsa está ilustrada na Figura 5.10. Nesta figura pode-se observar que a inclinação das curvas é bem mais acentuada do que as curvas apresentadas na Figura 5.5, mostrando que a espessura da região bifásica é realmente menor. Verifica-se na Figura 5.10 para $t = 50$ s que a espessura varia de $0,12 \leq x/X_L \leq 0,31$, enquanto que na Figura 5.4 para $t = 300$ s, que equivalem praticamente à mesma posição da interface *solidus* dentro da bolsa, uma espessura variando de $0,19 \leq x/X_L \leq 0,7$. Para a taxa de resfriamento de $-100^\circ\text{C}/\text{min}$, pode-se verificar que nos tempos iniciais a concentração logo atinge a concentração de eutético (23%), enquanto que para o caso I este tempo foi bem maior.

As variações de temperatura em função do tempo, para algumas posições na bolsa, estão ilustradas na Figura 5.11. Os perfis de temperatura apresentam aproximadamente o mesmo comportamento dos perfis apresentados na Figura 5.6, porém com níveis de temperatura muito mais baixos.

As variações de concentração em função do tempo, para algumas posições na bolsa, estão ilustradas na Figura 5.11. Para os perfis de concentração o comportamento também se assemelha muito aos ilustrados na Figura 5.7, mas com uma inclinação bem mais acentuada, novamente demonstrando que a espessura da região bifásica é mais fina para taxa de resfriamento de $-100^\circ\text{C}/\text{min}$.

As posições das interfaces *liquidus* e *solidus* para os dois primeiros casos analisados

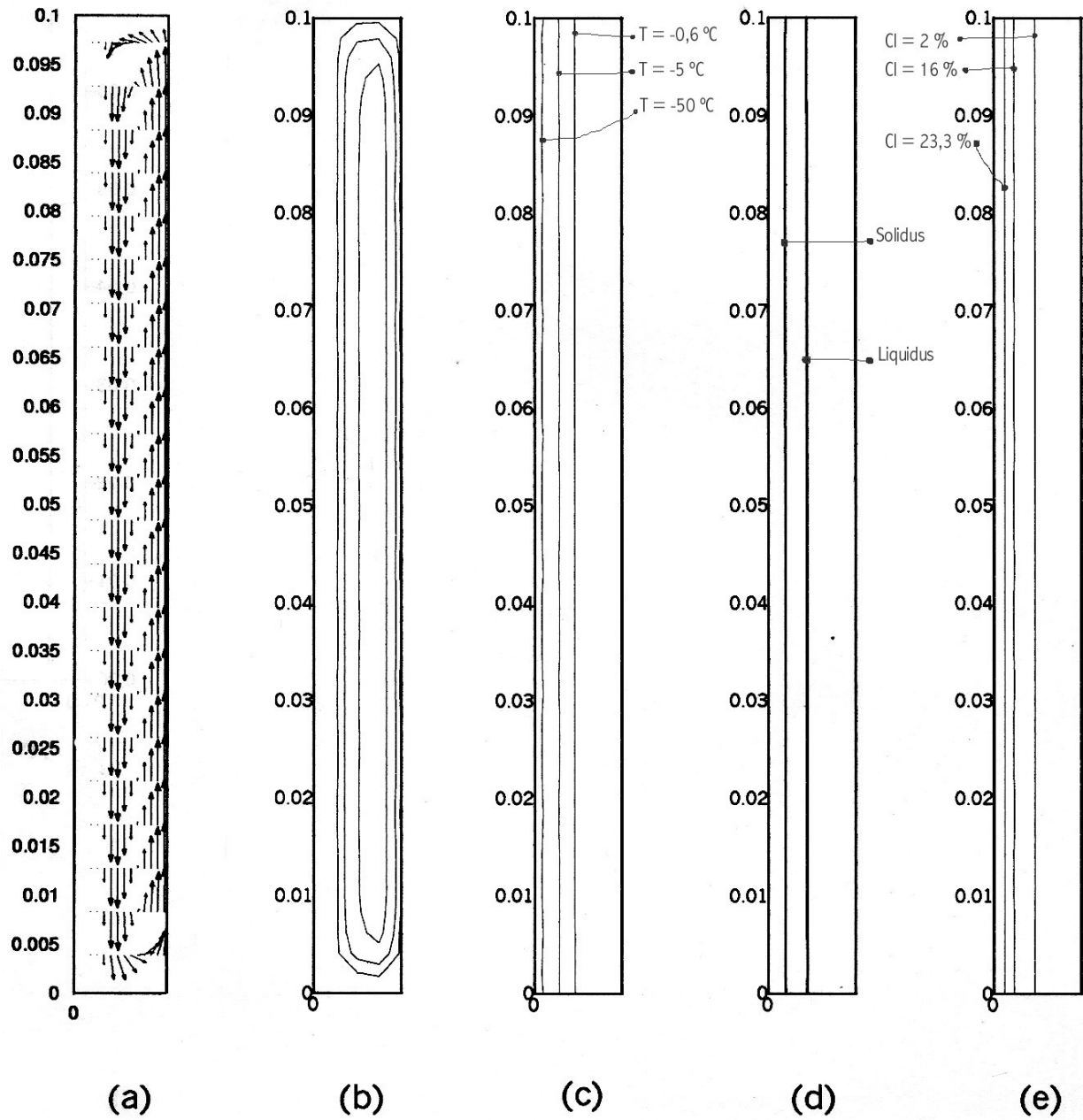


Figura 5.8 – Comportamento do processo de solidificação em $t = 50s$ para o caso II: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.

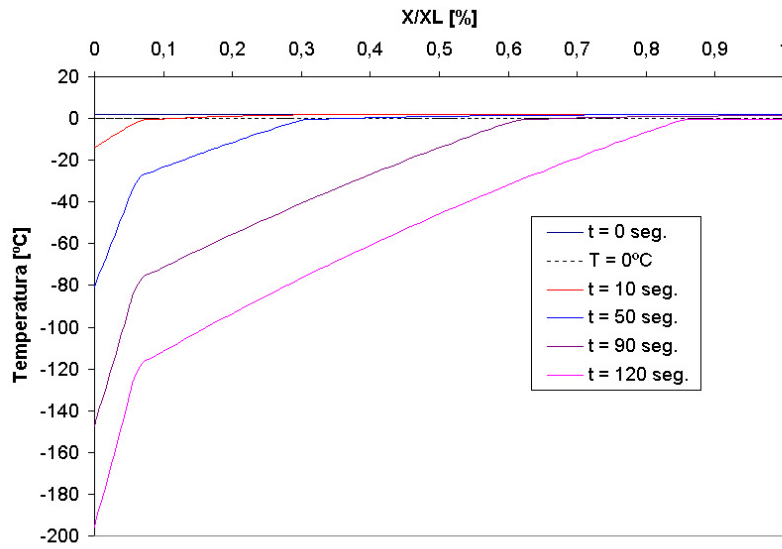


Figura 5.9 – Distribuição de temperaturas em função da posição horizontal em $y/Y_L = 0,5$ para o caso II.

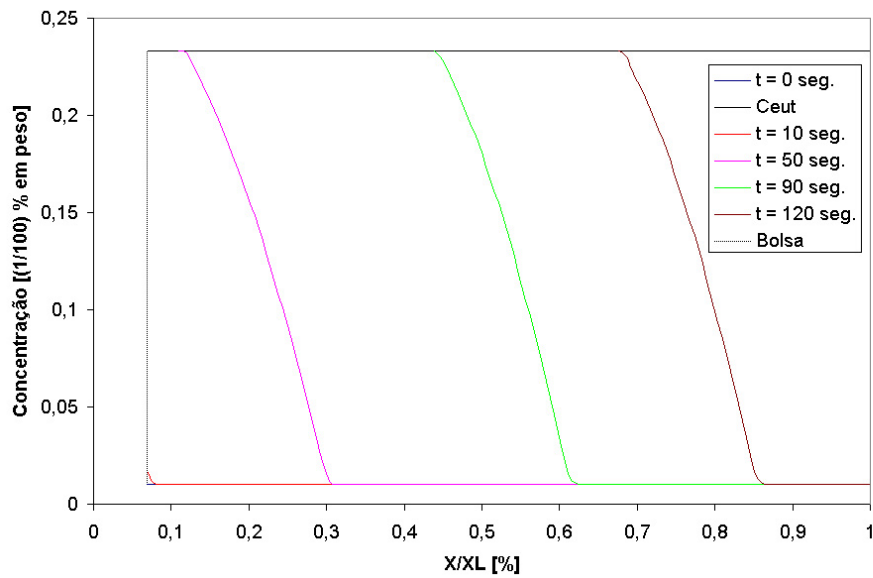


Figura 5.10 – Distribuição da concentração de soluto no líquido em função da posição horizontal em $y/Y_L = 0,5$ para o caso II.

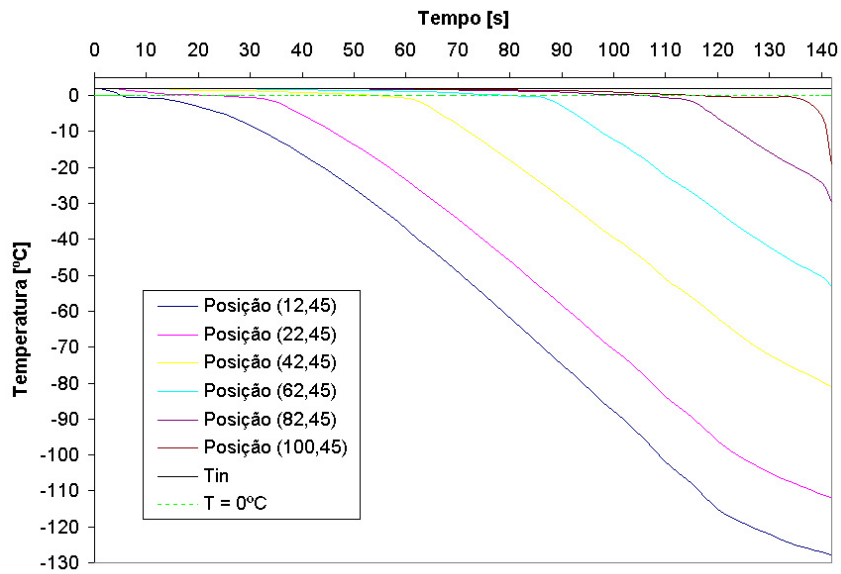


Figura 5.11 – Variação da temperatura com o tempo em $y/Y_L = 0,5$ para o caso II.

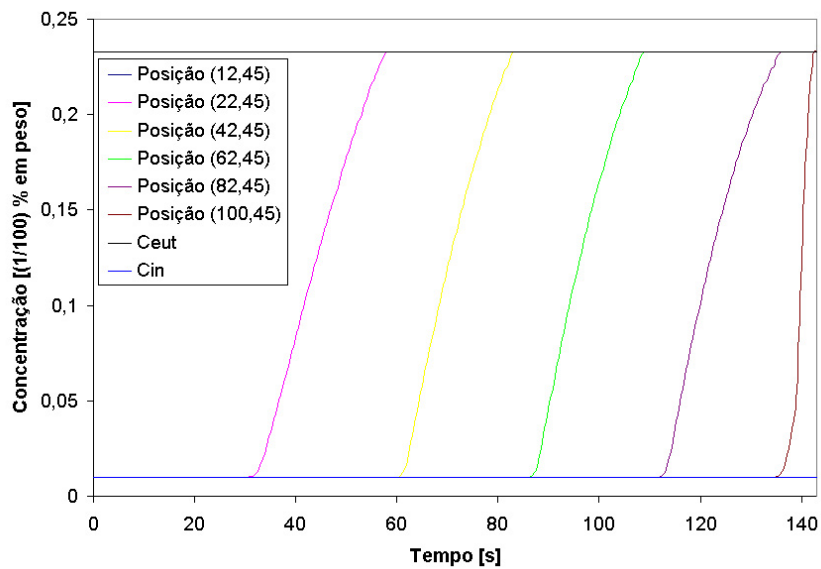


Figura 5.12 – Caso II: Variação da concentração de sal no líquido com o tempo em $y/Y_L = 0,5$ para o caso II.

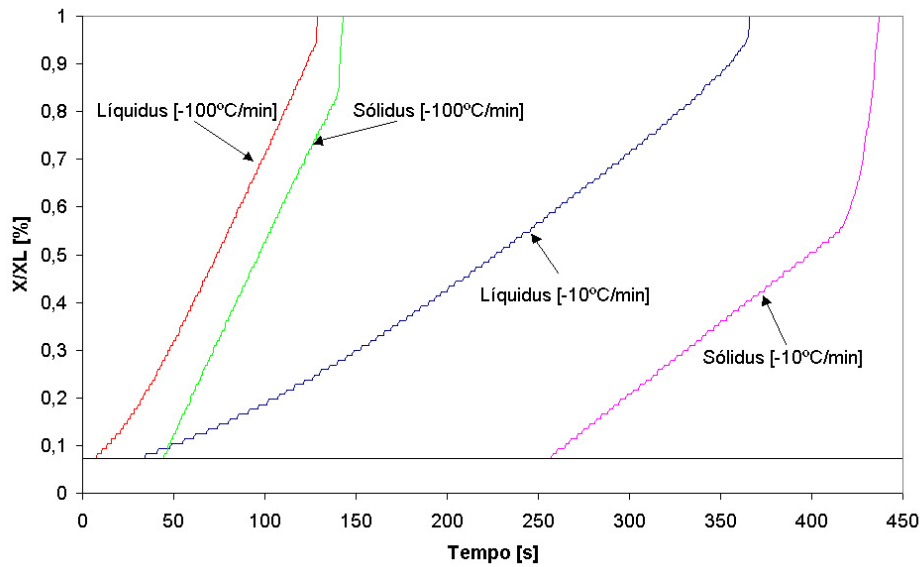


Figura 5.13 – Localização das frentes *solidus* e *liquidus* durante o processo de solidificação, para os casos I e II.

no resfriamento de soluções de cloreto de sódio mais água à 1% em peso, com taxas de resfriamento de $-10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ e $-100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ estão ilustradas na Figura 5.13. Os resultados mostram que para taxa de resfriamento de $-100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ a espessura da região bifásica é muito menor do que para taxa de $-10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.

Os resultados obtidos aqui para os casos I e II são idênticos aos apresentados por Viskanta et al. [1997], embora haja uma desprezível diferença na espessura do domínio considerado. Os resultados daquela referência foram obtidos com um código computacional muito mais simples que o usado no presente trabalho, uma vez que o domínio utilizado era unidimensional e as equações de conservação de massa e momentum não eram resolvidas. Isto mostra que, para os casos I e II, não havia necessidade de se utilizar um modelo bidimensional.

5.2.3 Caso III

Neste caso, escolheu-se uma temperatura inicial da solução de 20°C , mantendo-se a taxa de resfriamento na parede externa da bolsa de $-10^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Para esta simulação o tempo final de solidificação ficou aproximadamente 549 segundos, sendo calculado com um passo de tempo constante e igual a 1 segundo. A simulação foi interrompida quando o ponto médio da linha de simetria atingiu a transformação eutética.

A Figura 5.14 mostra qualitativamente o comportamento do processo de solidificação para o tempo de 150 s. Embora pareçam verticais na maior parte do domínio, as velocidades junto ao polietileno tem um componente horizontal na direção positiva de u . Observe também que os perfis de velocidade são diferentes dependendo da altura no domínio (Figura 5.14.a). Como a advecção se torna importante devido à maior diferença de temperatura, note que para este caso começam a aparecer deformações nas isothermas e linha *liquidus* (Figuras 5.14.c, e 5.14.d). A inclinação que aparece nestas figuras, é resultado da ação dos termos de empuxo. Devido à interação de líquido mais quente com a região bifásica no alto do domínio, a espessura desta região é menor naquela localidade do que seria se não houvesse escoamento. Note que na Figura 5.14.c as duas isothermas mais à direita estão ainda na região líquida, uma vez que a temperatura *liquidus* é de $-0,63^{\circ}\text{C}$. É evidente, então, que há um resfriamento local nesta região devido ao escoamento que vem da região bifásica, que se encontra mais fria do que o líquido. É possível verificar que este mesmo escoamento altera o perfil de concentrações na Figura 5.14.d.

A Figura 5.15 mostra qualitativamente uma sequência do processo de solidificação ilustrando seu comportamento para o tempo de 250 s. Observando a Figura 5.15.a pode-se notar que existe uma redução na magnitude dos vetores velocidade na parte inferior do domínio. Há uma recirculação que vai se restringindo à parte superior do domínio. Esta recirculação pode ser observada a partir das linhas de corrente (Figura 5.15.b). Para este instante a inclinação nas isothermas, isoconcentrações, e linha *liquidus* (Figuras 5.15.c, 5.15.d, e 5.15.e) já começa a ficar mais visível se comparado ao tempo anterior (Figura 5.14).

A Figura 5.16 mostra a situação para o tempo de 400 s. Neste intervalo aparecem três regiões distintas dentro da bolsa: região completamente solidificada, região bifásica, e região líquida, conforme pode ser constatado a partir da Figura 5.3.d. Observe que para este instante o escoamento é menos intenso, devido à baixa permeabilidade da região bifásica. Pode-se observar mais nitidamente a formação da recirculação na posição superior da bolsa (Figura 5.16.a e Figura 5.16.b). Note que as Figuras 5.16.c, 5.16.d e 5.16.e apresentam isothermas, linhas *liquidus* e *solidus*, e isoconcentrações não-verticais, principalmente na parte superior do domínio. Esta deformação é causada justamente pela presença da recirculação que se formou nesta região.

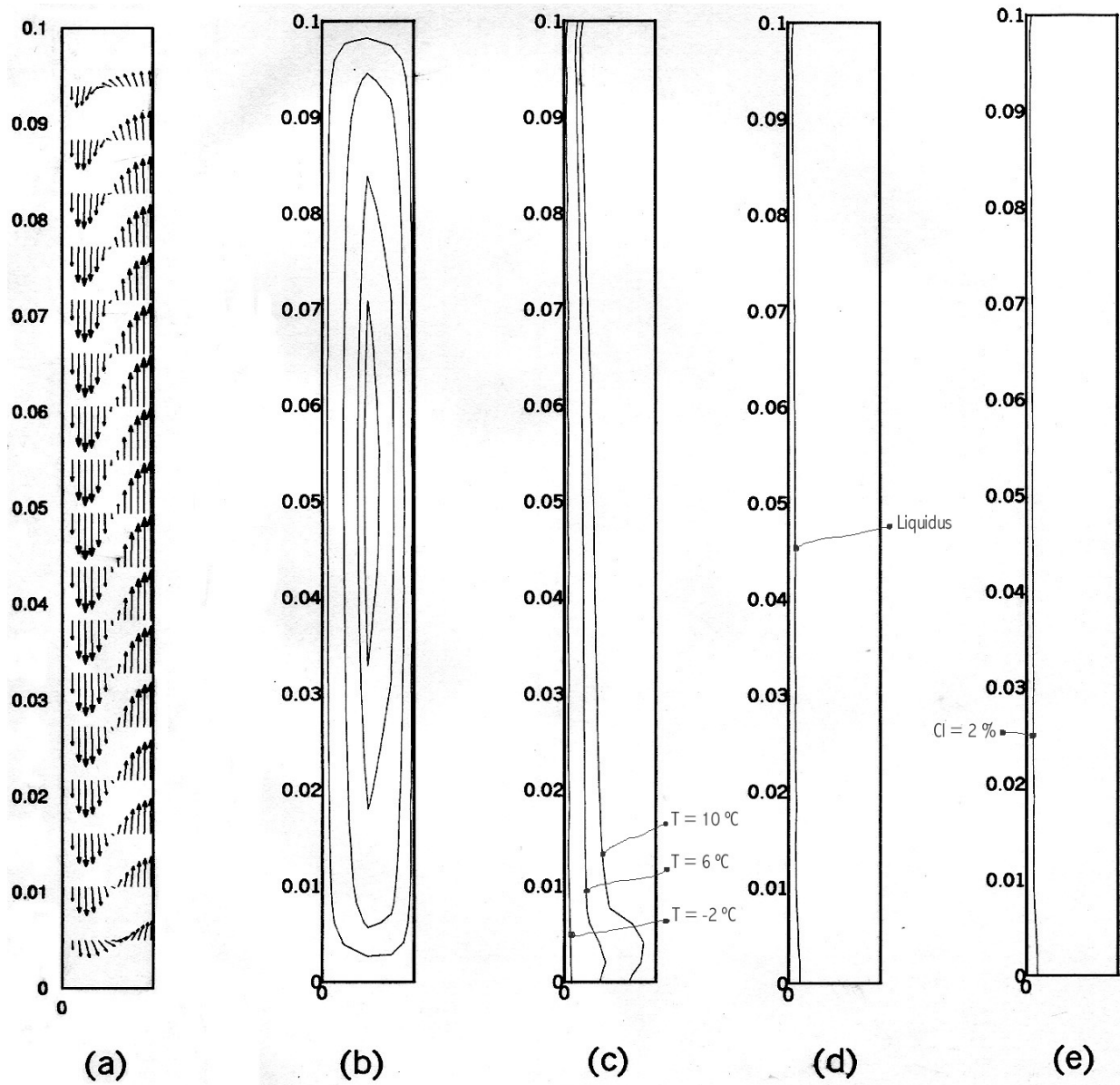


Figura 5.14 – Comportamento do processo de solidificação em $t = 150s$ para o caso III: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.

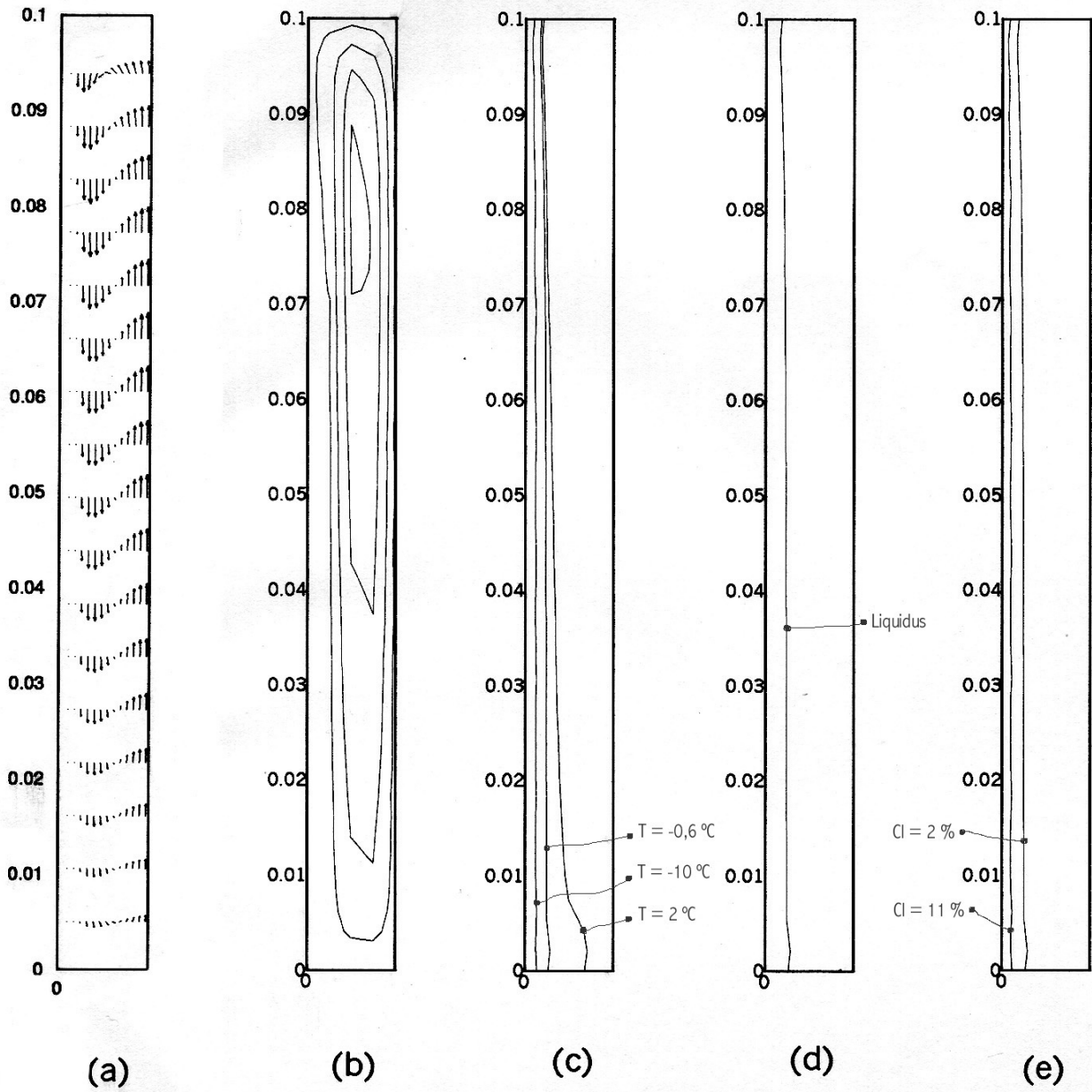


Figura 5.15 – Comportamento do processo de solidificação em $t = 250s$ para o caso III: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.

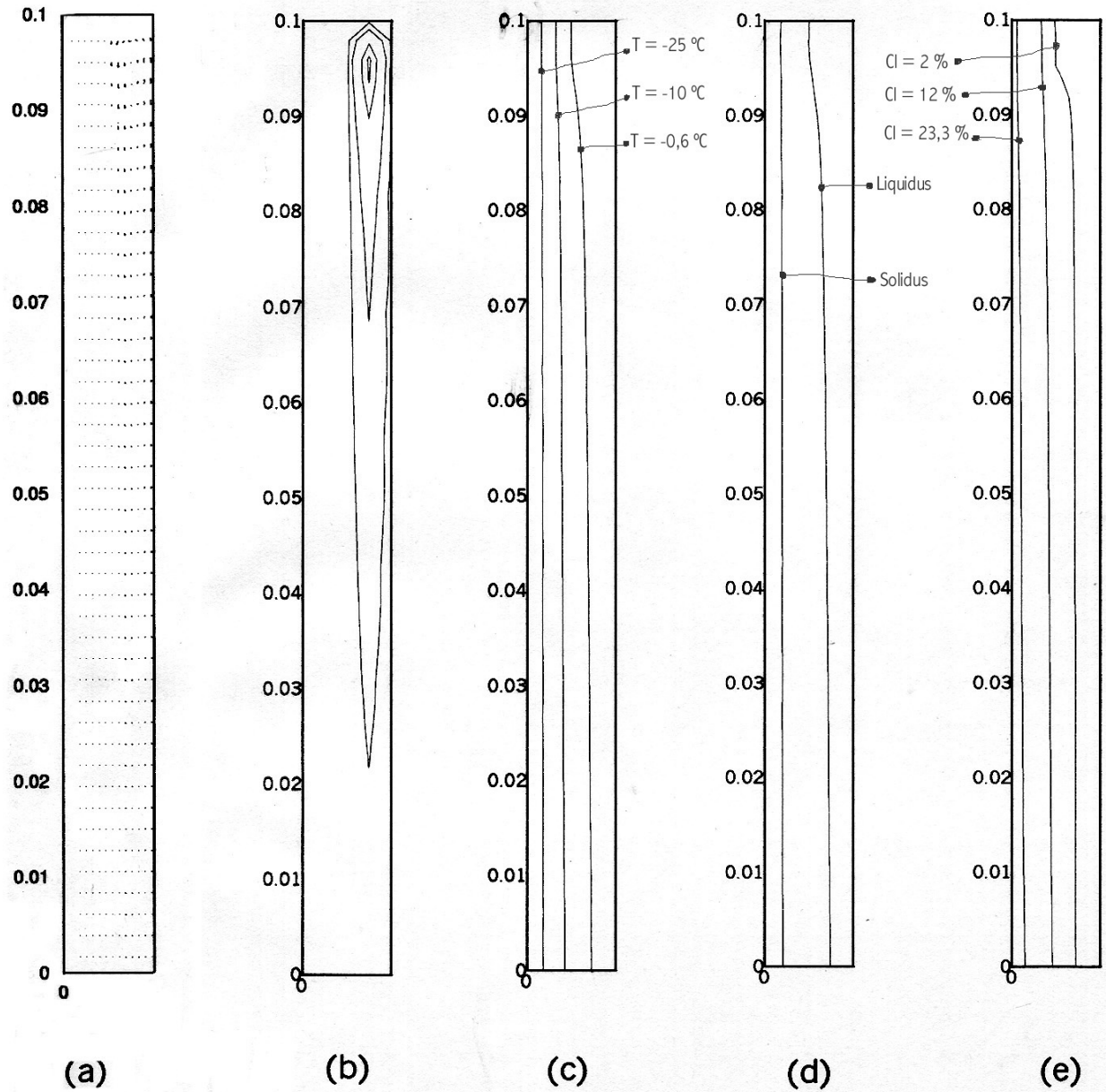


Figura 5.16 – Comportamento do processo de solidificação em $t = 400s$ para o caso III: (a) Vetores velocidade, (b) Função de corrente, (c) Isotermas, (d) Posição da região bifásica, (e) Isoconcentrações.

5.3 Cinética da Perda de Água Através da Membrana Celular

A formação de gelo intracelular e o severo encolhimento das células, ambos os quais dependem da cinética da perda de água, podem danificar as células [Mazur, 1963; Mazur, 1984; Pitt e Steponkus, 1989; Mazur, 1990; Muldrew e McGann, 1990; Toner et al., 1990]. Viskanta et al. [1997] utilizaram o modelo de perda de água proposto por Mazur [1963] para calcular a variação de volume de células expostas ao processo de solidificação. No presente trabalho, algumas das situações estudadas por Viskanta et al. [1997] foram avaliadas, utilizando-se porém a equação (3.35), que mostra explicitamente a dependência da variação de volume com as concentrações externas e internas da célula, e não leva em conta condições de não equilíbrio.

Os resultados apresentados na seção anterior são necessários para a obtenção da concentração de sal no meio externo à célula. Fazendo o uso do modelo de equações obtido no Capítulo 3, juntamente com os parâmetros apresentados na tabela 4.6, e as condições extracelulares obtidas com as equações do Capítulo 4, obtém-se ilustrações da variação do posicionamento, e volume celular de algumas células escolhidas para análise. Para analisar a trajetória das células na bolsa e variação de volume celular, marcou-se a posição inicial de algumas células sobre o domínio, e verificou-se a trajetória destas células durante o processo. A tabela 5.1 mostra a posição inicial escolhida para todos os casos.

Mazur [1963] apresentou alguns resultados para variação do volume celular com a variação de temperatura utilizando o modelo de equações derivado no Capítulo 3, equações (3.13) e (3.21), para algumas taxas de resfriamento ($-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$, $-10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, $-100^{\circ}\text{C}/\text{min}$). Estes resultados estão ilustrados na Figura 5.17. Verifique que nesta figura os níveis de desidratação atingem um mesmo valor ao final no processo para ambas as taxas de resfriamento, porém a variação do volume celular não é a mesma para estas taxas com relação a uma mesma variação de temperatura. Para uma taxa de resfriamento de $-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ com uma pequena variação de temperatura as células apresentam uma grande variação de volume, enquanto que para as taxas maiores é necessário uma maior variação de temperaturas para se obter uma variação volumétrica equivalente. Ou seja quanto mais lento for o processo de resfriamento mais rapidamente ocorre o fluxo de água das células para o meio [Mazur, 1963; Mazur, 1984; Mazur, 1990; Toner et al., 1990].

Os valores calculados se estendem até que a solução, juntamente com as célula,

Tabela 5.1 – Posição inicial das células em análise sobre o domínio.

Coordenadas da Célula	x/X_L	y/Y_L
(22, 15)	0,181	0,15
(42, 15)	0,387	0,15
(62, 15)	0,593	0,15
(62, 15)	0,799	0,15
(22, 30)	0,181	0,316
(42, 30)	0,387	0,316
(62, 30)	0,593	0,316
(82, 30)	0,799	0,316
(22, 60)	0,181	0,65
(42, 60)	0,387	0,65
(62, 60)	0,593	0,65
(82, 60)	0,799	0,65
(22, 75)	0,181	0,816
(42, 75)	0,387	0,816
(62, 75)	0,593	0,816
(82, 75)	0,799	0,816

atinjam uma condição de super-resfriamento, e este super-resfriamento pode ser representado pelo número de graus de temperatura em que dada curva é deslocada à direita da curva de equilíbrio (curva Eq. da Figura 5.17), para uma dada temperatura abaixo de zero. A curva chamada “Eq.” mostra o conteúdo de água em que o modelo celular pode permanecer em equilíbrio com o gelo extracelular, e pode ser calculada pela equação (3.29). Por causa do alto grau de super-resfriamento, e grande quantidade de formação de gelo extracelular, uma formação de gelo ocorreria também dentro das células durante o processo de resfriamento [Mazur, 1984; Mazur, 1990; Toner et al., 1990]. Do ponto de vista criobiológico, a formação de gelo intracelular pode danificar as células. Porém o propósito deste trabalho é apenas demonstrar que a perda de água das células é uma função da variação de temperatura e concentrações do meio, não levando em conta a formação de gelo intracelular, nem a

existência de super-resfriamento.

A variação do volume celular com o tempo, como uma função da variação da temperatura, concentrações intra e extracelulares, e posicionamento das células foi resolvida utilizando-se para isso o modelo de equações derivado no Capítulo 2 (equações (3.14) e (3.35)), juntamente com o campo de temperaturas, concentrações, e velocidades obtidos na seção anterior. Na sequência deste trabalho estão apresentados os resultados da variação do volume celular para os três casos em estudo.

Considerou-se a concentração intracelular como variável. Como assumiu-se que não há fluxo de soluto através da membrana, a quantidade de sal dentro da célula permanece constante. Como a cada passo de tempo tem-se o novo volume celular atualizado, pode-se sempre calcular a nova concentração interna.

5.3.1 Caso I

Uma vez que a solidificação neste caso é unidirecional, esperam-se apenas pequenas diferenças nas variações de volume calculadas para células que se encontram inicialmente na mesma posição x/X_L .

A Figura 5.18 mostra a trajetória das células apresentadas na Tabela 5.1 para o caso I, referente à posição vertical inicial $y/Y_L = 0,32$. Pode-se observar que existe uma variação considerável da posição das células na direção y a partir da posição inicial (Tabela 5.1). Já na direção x tem-se para a célula (42,30) um deslocamento quase despercebido com relação à variação de deslocamento na direção y , enquanto que para as demais células analisadas nesta figura não existe variação de posicionamento no sentido horizontal da bolsa. Note que as células (22,30), (42,30) e (62,30) possuem uma trajetória descendente, enquanto que a célula e (82,30) possui uma trajetória inversa. As células mais distantes da parede fria têm um movimento ascendente, enquanto as mais próximas têm um movimento descendente na maior parte do tempo de solidificação.

A Figura 5.19 mostra a trajetória das células apresentadas na Tabela 5.1 para o caso I, referente à posição vertical inicial $y/Y_L = 0,65$. Pode-se observar que existe um comportamento semelhante à trajetória apresentada pelas células na Figura 5.18. Um grande deslocamento na direção y , e praticamente nenhum movimento na direção x . As células mais próximas das paredes horizontais, não mostradas na figura, são as que têm o maior

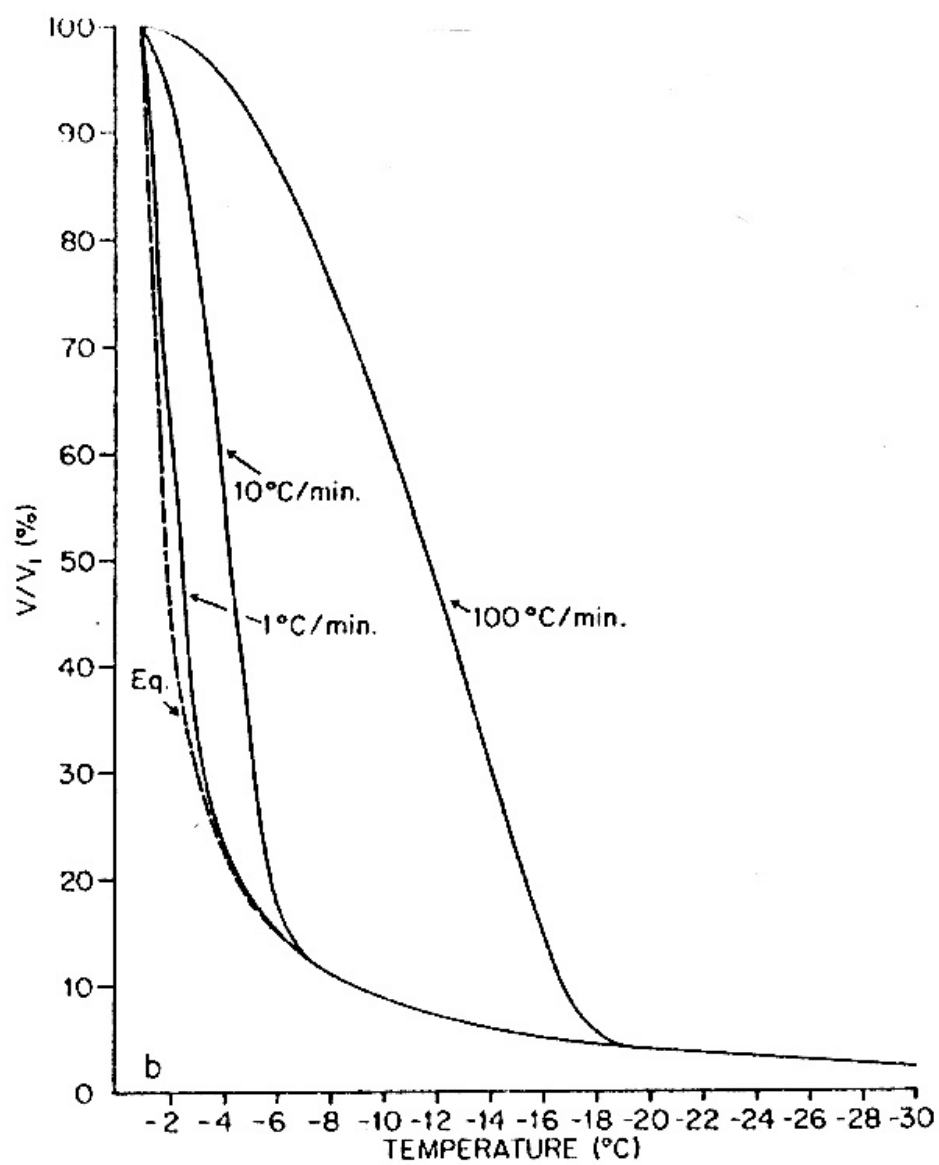


Figura 5.17 – Dependência do volume de água intracelular com a temperatura durante o processo de criopreservação para várias taxas de resfriamento.

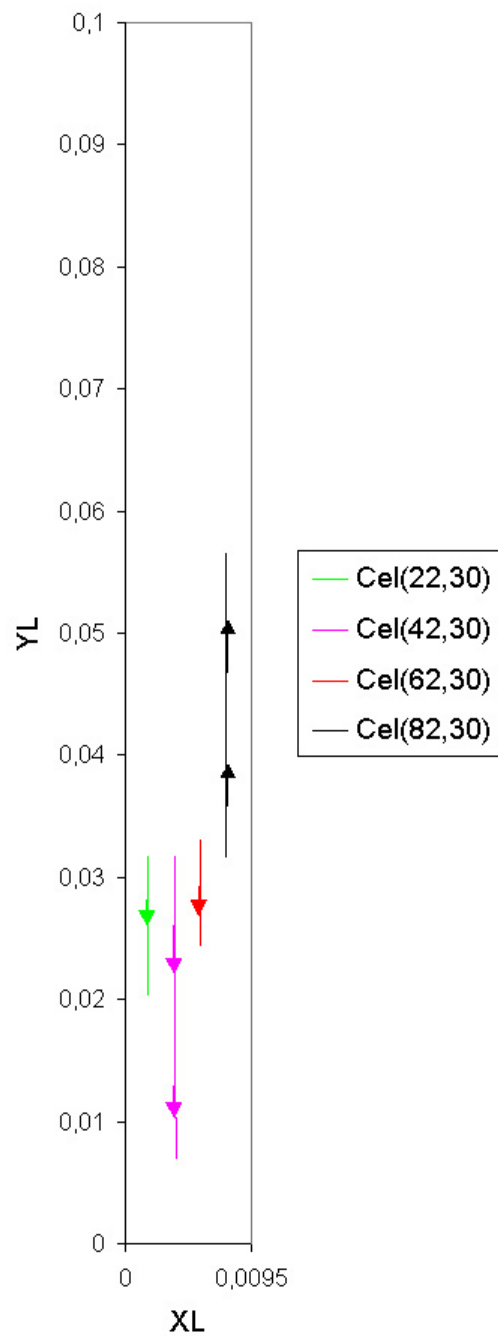


Figura 5.18 – Trajetória das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso I, referente à posição inicial $y/Y_L = 0,32$.

deslocamento horizontal.

A Figura 5.20 apresenta a variação do volume celular com o tempo, para as células apresentadas na Figura 5.18 referentes à posição $y/Y_L = 0,32$. Observando esta figura pode-se verificar que as duas células mais próximas da parede da bolsa, células (22,30) e (42,30), tiveram uma maior redução de volume, alcançando um volume final de cerca de 23% do volume inicial. Note que estas células possuem praticamente a mesma variação de volume. Isso ocorre por que a célula (42,30), ao se aproximar do fundo da bolsa, sofre um pequeno deslocamento no sentido horizontal da mesma, e este pequeno deslocamento é suficiente para que esta célula permaneça por mais alguns instantes em regiões com concentrações mais elevadas, próximas da concentração de eutético, e este pequeno intervalo de tempo acarreta numa considerável perda de água, atingindo um maior nível de desidratação. Já as células (62,30) e (82,30) tiveram uma menor redução de volume, ficando com um volume final equivalente a 50 e 70% do volume final, respectivamente. Isso pode ser explicado pelo fato da taxa de resfriamento local ser maior para as posições mais ao centro da bolsa ($x/X_L = 1$).

A Figura 5.21 apresenta a variação do volume celular com o tempo, para as células apresentadas na Figura 5.19 referentes à posição $y/Y_L = 0,65$. Observa-se com relação a esta figura que a maior variação de volume está correspondente à célula (22,60) que está mais próxima da parede vertical da bolsa, cerca de 23% do volume inicial, e vai diminuindo até aproximadamente 70% para a célula (82,60), que está mais ao centro. Para esta análise não mais aparecem células com mesmo nível de desidratação, ficando a variação de volume apenas em função da taxa de resfriamento local.

Como um resultado final do processo de criopreservação de células pode-se observar na Figura 5.22 como foi o comportamento geral das células em relação a variação do volume intracelular devido a perda de água sofrida durante o processo. Esta figura apresenta o volume final das células mostrado na posição inicial das células. Pode-se verificar que a variação de volume celular não é homogênea para as diferentes posições iniciais das células. É possível notar que para valores de y/Y_L entre 0,2 e 0,7, as variações no perfil de variação de volume são muito pequenas, como se mostrou nas Figuras 5.20 e 5.21. Por outro lado, fora deste intervalo vertical, nas partes inferiores e superiores a ele há diferenças maiores. É para estas células que os efeitos de advecção causada pela convecção natural são mais significativos. Na parte inferior, as células tendem a passar mais tempo por regiões de baixa concentração

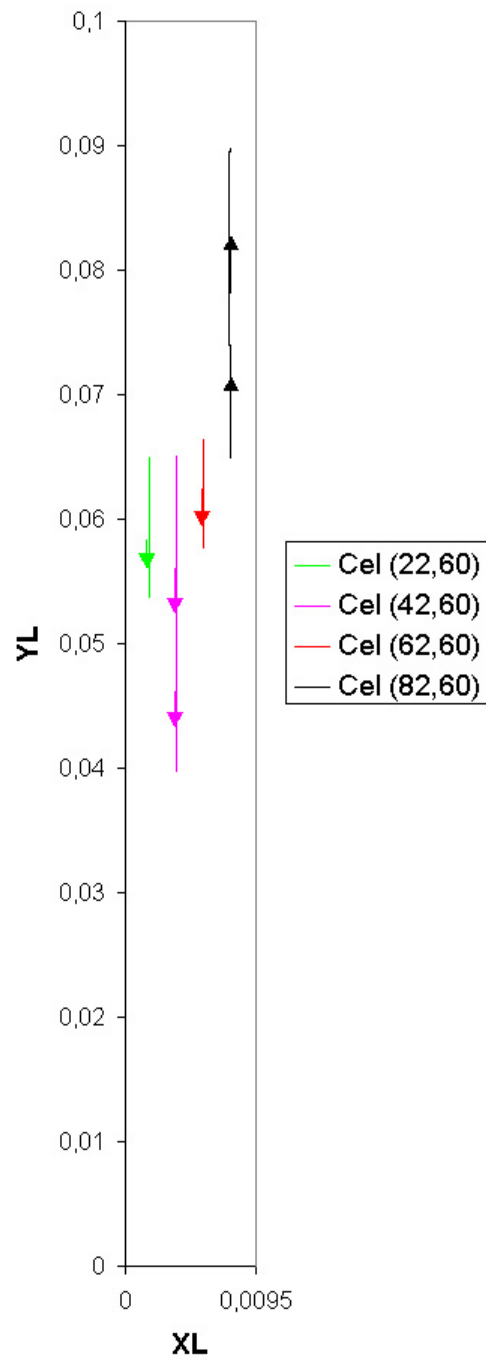


Figura 5.19 – Trajetória das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso I, referente à posição inicial $y/Y_L = 0,65$.

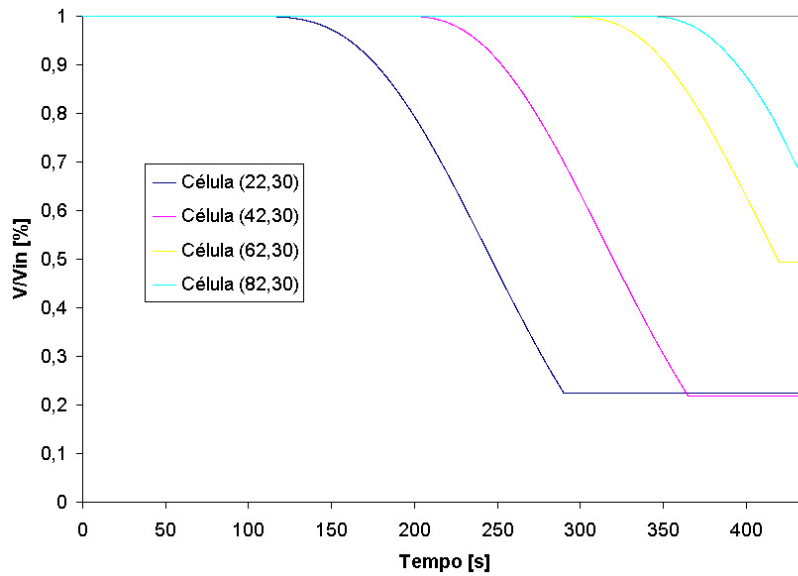


Figura 5.20 – Dependência do volume de água intracelular com o tempo na posição inicial $y/Y_L = 0,32$, para o caso I.

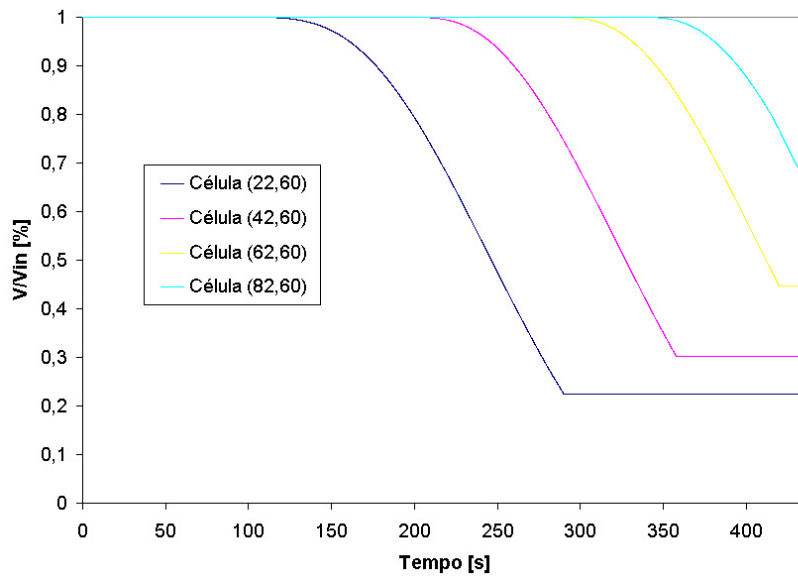


Figura 5.21 – Dependência do volume de água intracelular com o tempo na posição inicial $y/Y_L = 0,65$, para o caso I.

de sal, uma vez que elas acompanham o escoamento, primeiramente mais horizontal até fazer o contorno e subir ao longo do eixo de simetria. Esta região demora mais a solidificar. Assim, as perdas de água são menores, como pode ser visto pela maior região de tonalidade vermelha. Na parte superior, por outro lado, acontece o oposto, uma vez que as células que ali se encontram percorrem o domínio na direção da frente de solidificação. Como ali as concentrações são maiores, há uma maior perda de água, ocasionando na maior diminuição de volume, como pode ser constatado pela região mais azulada no alto à esquerda.

É importante frisar aqui que os efeitos de convecção natural, mesmo em domínios tão pequenos, podem ser significativos, embora as velocidades sejam pequenas. Para este caso, as variações não atingem todo o domínio, mas em cerca de 50% dele há modificações da variação de volume.

5.3.2 Caso II

A Figura 5.23 mostra a trajetória das células apresentadas na tabela 5.1 para o caso II, com relação à posição vertical inicial $y/Y_L = 0,32$. Verifica-se nesta figura um comportamento semelhante ao que ocorreu no caso I, porém com deslocamentos muito menores. Para as células analisadas nesta figura não aparece nenhum deslocamento no sentido horizontal da bolsa. A célula inicialmente na posição (62, 30) se desloca para cima inicialmente e depois para baixo no domínio.

A Figura 5.24 mostra a trajetória das células apresentadas na tabela 5.1 para o caso II, agora para a posição $y/Y_L = 0,65$. Observa-se que as células tiveram um comportamento semelhante ao das células mostradas na Figura 5.23. Ambas seguem uma trajetória reta e vertical, para cima ou para baixo, dependendo da posição inicial horizontal.

A Figura 5.25 apresenta a variação do volume celular com o tempo para as células apresentadas na Figura 5.23. Devido à variação de posicionamento na direção x ser desprezível para todas as células mostradas nas Figuras 5.23 e 5.24, e o processo de solidificação evoluir mais rapidamente e de forma unidirecional para este caso, pode-se dizer que o volume celular não muda com a variação da posição y no sentido da altura da bolsa. Então pode-se afirmar que todas as células possuem praticamente o mesmo comportamento das células ilustradas na Figura 5.25, a menos de pequenas exceções. Devido à pequena variação de deslocamento existente neste caso, pode-se afirmar que as variações de volume existentes para as células

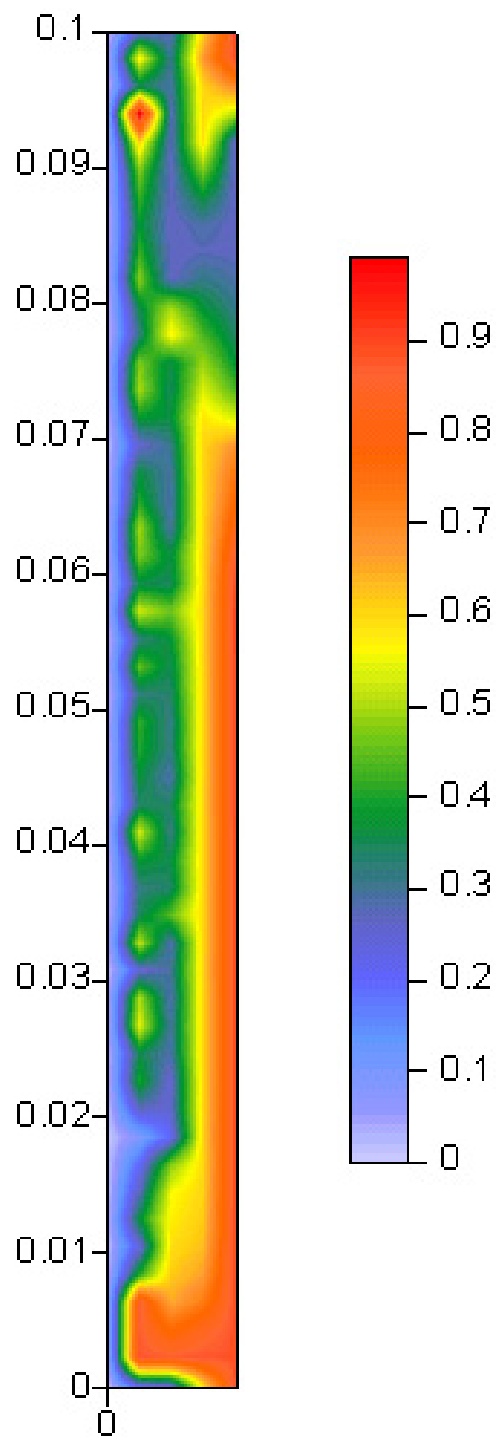


Figura 5.22 – Variação de volume celular dentro da bolsa, relacionadas as suas posições iniciais, ao final do processo de resfriamento para o caso I.

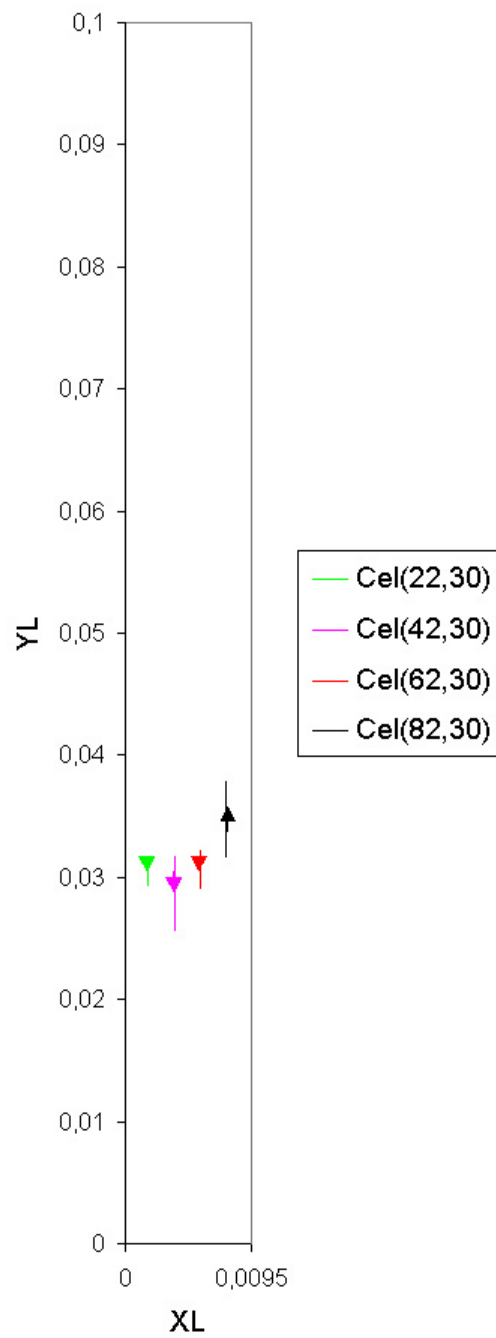


Figura 5.23 – Trajetória das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso II, referentes à posição inicial $y/Y_L = 0,32$.

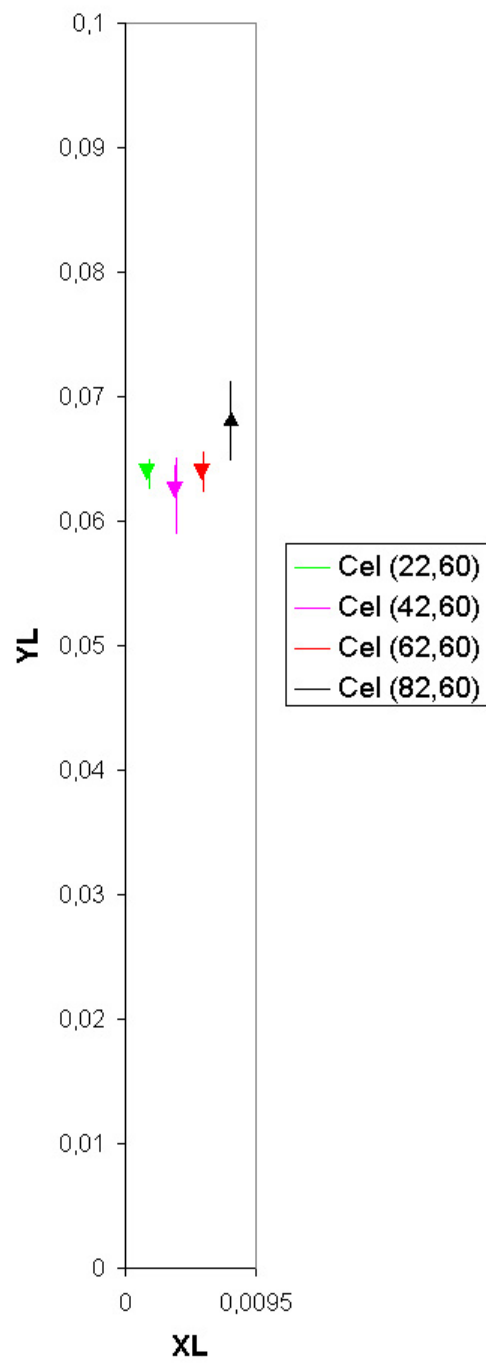


Figura 5.24 – Trajetória das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso II, referentes à posição inicial $y/Y_L = 0,65$.

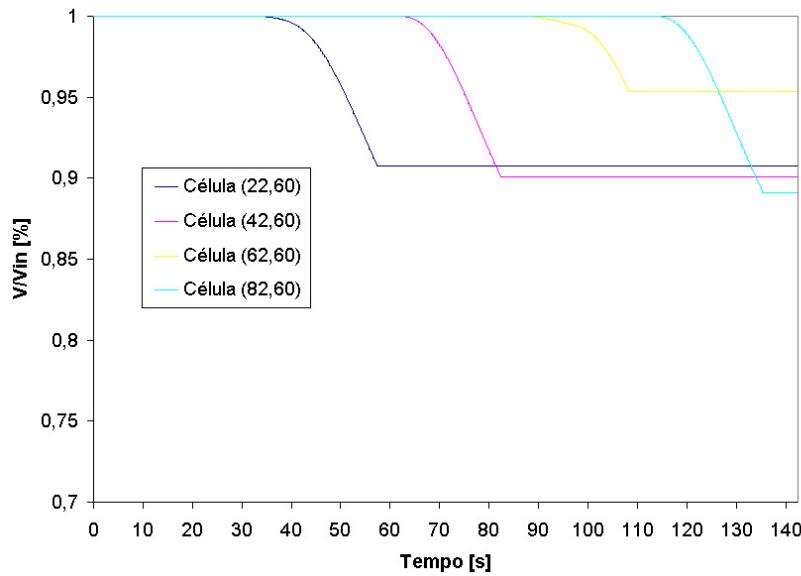


Figura 5.25 – Dependência do volume de água intracelular com o tempo na posição inicial $y/Y_L = 0,32$, para o caso II.

apresentadas nesta figura é unicamente dependente da taxa de resfriamento local. Note que neste caso o nível de variação de volume é bem menor se comparado ao caso I. Isso acontece pelo fato de que a taxa de resfriamento imposta sobre a bolsa é maior para o caso II, aumentando também a velocidade de resfriamento do processo, fazendo com que as células fiquem expostas a gradientes de concentração mais elevados por períodos de tempo menores. Segundo Mazur [1963] a taxa de variação de volume celular depende diretamente da taxa de resfriamento aplicada no processo, e por sua vez do tempo de solidificação. Quanto maior a taxa de resfriamento menor é a perda de água sofrida pelas células, e menor é a variação do volume celular. Note que a célula (42,30) possui uma variação de volume um pouco maior que a célula (22,30). Isso acontece pelo fato da frente de solidificação avançar muito rapidamente, fazendo com que a célula (22,30) congele antes da célula (42,30). Este efeito pode ser melhor visualizado quando se observam as células (62,30) e (82,30) onde a diferença de volume é maior. Note que quando a célula (22,30) já está solidificada, a célula (42,30) ainda nem entrou na região bifásica, e o mesmo ocorre sucessivamente com as demais células.

Na Figura 5.26 está ilustrado o comportamento da variação de volume celular a partir da perda de água sofrida pelas células considerando a posição inicial. Neste caso pode-se verificar mais claramente que as células tiveram uma menor variação de volume,

comparado com o caso I. Verifica-se também que o processo ocorre praticamente em regime unidirecional e os efeitos de convecção natural são desprezíveis.

5.3.3 Caso III

A Figura 5.27 mostra a trajetória das células apresentadas na Tabela 5.1 para o caso III, referente à posição vertical inicial $y/Y_L = 0,32$. Neste caso pode-se melhor verificar a influência da convecção natural no processo de resfriamento. Devido à magnitude das velocidades ser mais elevada, várias células praticamente atravessam toda a extensão da bolsa formando uma trajetória periférica, outras sobem e descem ficando bem mais clara a variação de posicionamento, tanto em x como em y .

Na Figura 5.28 está ilustrada a trajetória das células apresentadas na Tabela 5.1 para o caso III, referente à posição vertical inicial $y/Y_L = 0,65$. Pode-se observar também que existe uma grande variação de posicionamento, tanto na direção horizontal com na direção vertical. As Figuras 5.27 e 5.28 comprovam nitidamente a importância de se considerar convecção natural no processo.

A Figura 5.29 apresenta a variação do volume celular com o tempo para as células apresentadas na Figura 5.27, referentes à posição vertical inicial $y/Y_L = 0,32$. Analisando as Figuras 5.27 e 5.28 pode-se observar claramente que a variação de volume existente nas células analisadas não é mais função apenas da taxa de resfriamento local. Pois devido a grande movimentação apresentada por estas células, sendo que algumas percorrem praticamente quase todo o domínio, certamente que estas foram submetidas a vários gradientes de concentração e temperaturas. Verifica-se que as células ilustradas na Figura 5.29 atingem um nível de desidratação bem elevado, sendo que algumas destas células estudadas atingem até 20% do volume inicial. Pode-se considerar que este nível de desidratação é bastante prejudicial para as células, pois nestas circunstâncias fica muito difícil fazer com que estas posteriormente voltem ao seu volume normal quando reaquecidas.

A Figura 5.30 ilustra o comportamento da taxa de perda de água das células localizadas na posição vertical inicial $y/Y_L = 0,65$ como uma variação de volume celular com o tempo. Note que a célula (42,60) é a célula que possui maior variação de volume. Observe que na Figura 5.28 esta célula percorre um ciclo periférico completo dentro da bolsa, retornado praticamente à posição inicial. Provavelmente esta célula deve ter permanecido por um

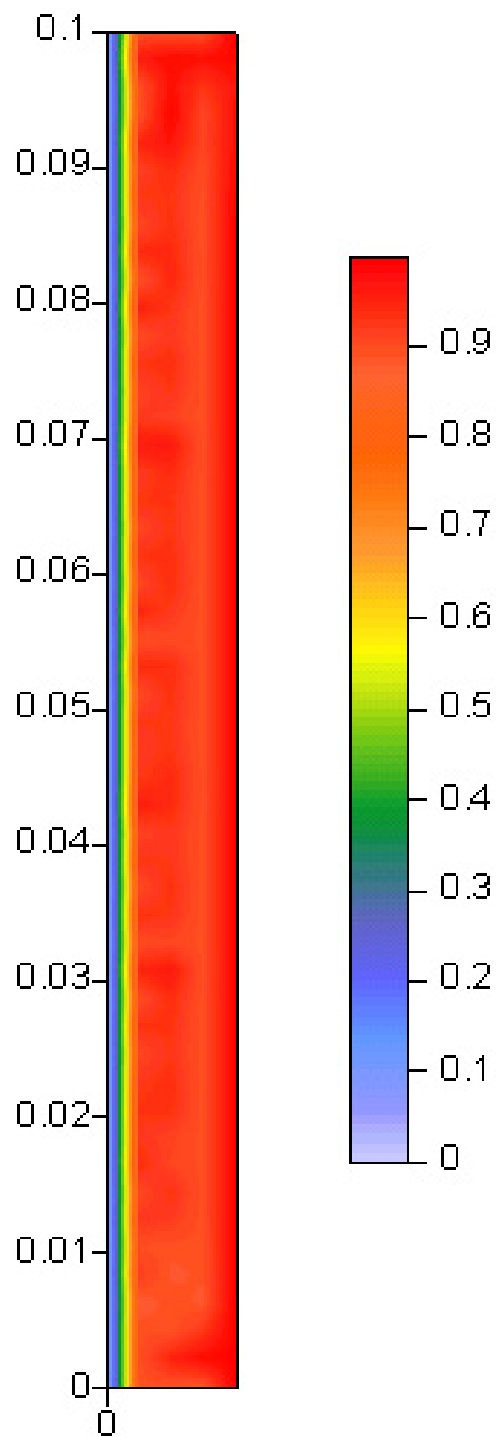


Figura 5.26 – Variação de volume celular dentro da bolsa, relacionadas as suas posições iniciais, ao final do processo de resfriamento para o caso II.

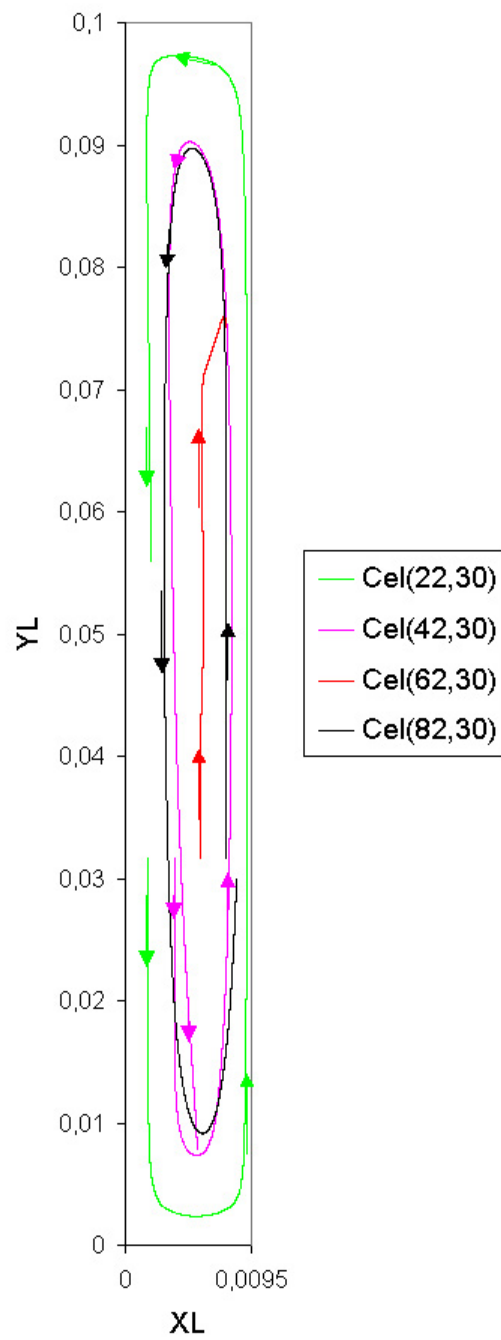


Figura 5.27 – Trajetória das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso III, referente à posição inicial $y/Y_L = 0,32$.

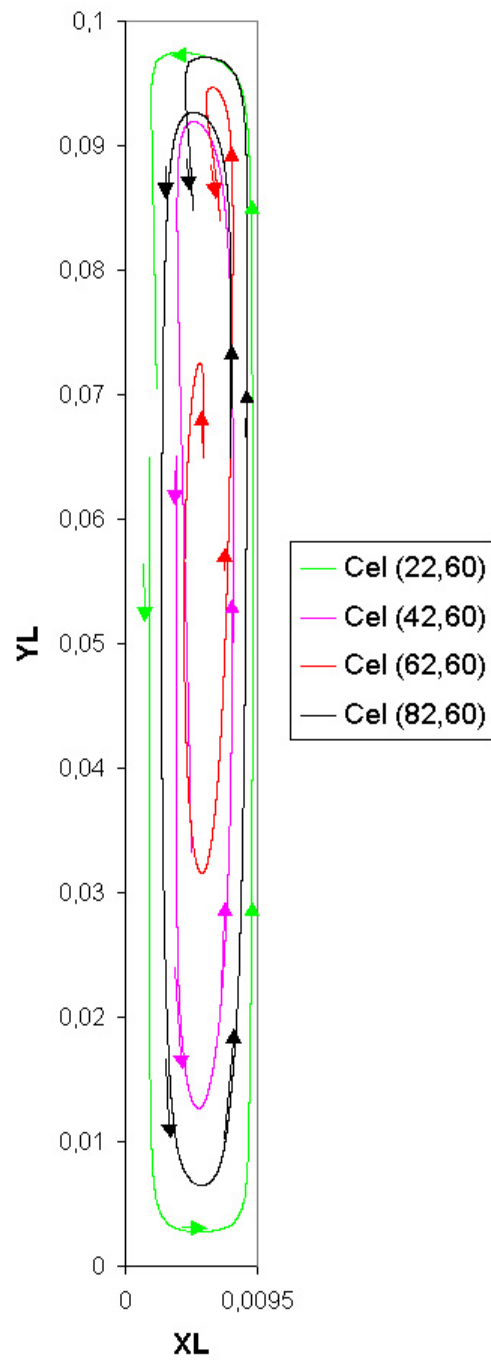


Figura 5.28 – Trajetória das células sobre o domínio durante o processo de resfriamento para o caso III, referente à posição inicial $y/Y_L = 0,32$.

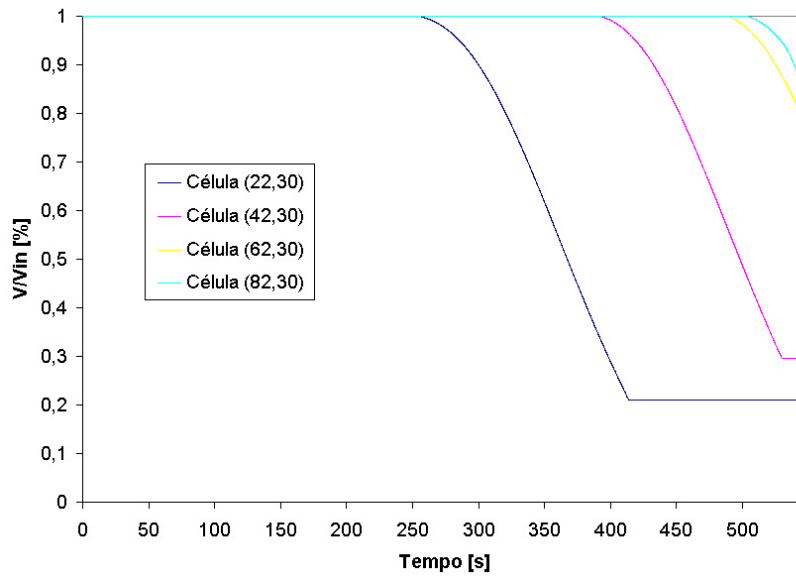


Figura 5.29 – Dependência do volume de água intracelular com tempo na posição inicial $y/Y_L = 0,32$, para o caso III.

período maior de tempo submetida a maiores gradientes de concentração promovendo um maior nível de desidratação.

Na Figura 5.31 está ilustrada a variação do volume celular para o caso III na posição inicial das células na bolsa. Embora haja semelhanças com a figura correspondente do caso I (Figura 5.22), há diferenças evidentes. Note primeiramente a região vermelha completamente envolvida por regiões onde a variação de volume foi maior, que se estende entre $0 < y/Y_L < 0,6$. Este volume de líquido teve uma variação de concentrações menor do que o restante do domínio, de forma que as taxas de perda de água foram consequentemente menores. Uma outra região na parte superior direita da bolsa também apresenta menores taxas de perda de água.

Este caso não representa a realidade de um processo de criopreservação, pois é muito simples resfriar solução até próximo da temperatura de fusão separadamente das células, para depois introduzi-las e iniciar o processo de congelamento. Porém serve para ilustrar o que aconteceria dentro da solução se as forças de empuxo fossem mais significativas no processo. Haveria uma maior movimentação dentro da bolsa, refundindo a solução em determinadas posições, fazendo com que as células entrem e saiam da região bifásica passando por diversos gradientes de concentração e temperatura, modificando seu volume durante todo o processo

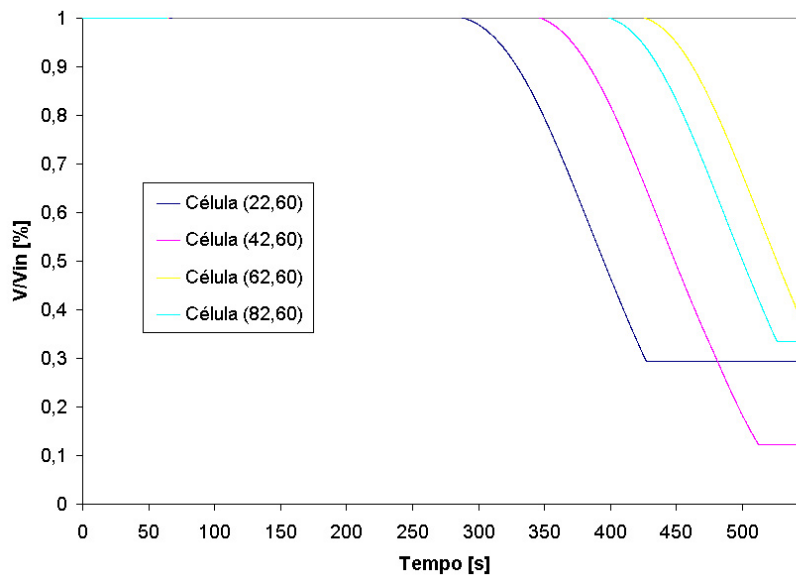


Figura 5.30 – Dependência do volume de água intracelular com o tempo na posição inicial $y/Y_L = 0,65$, para o caso III.

ficando mais difícil de se prever o nível de sobrevivência das células em função da posição inicial.

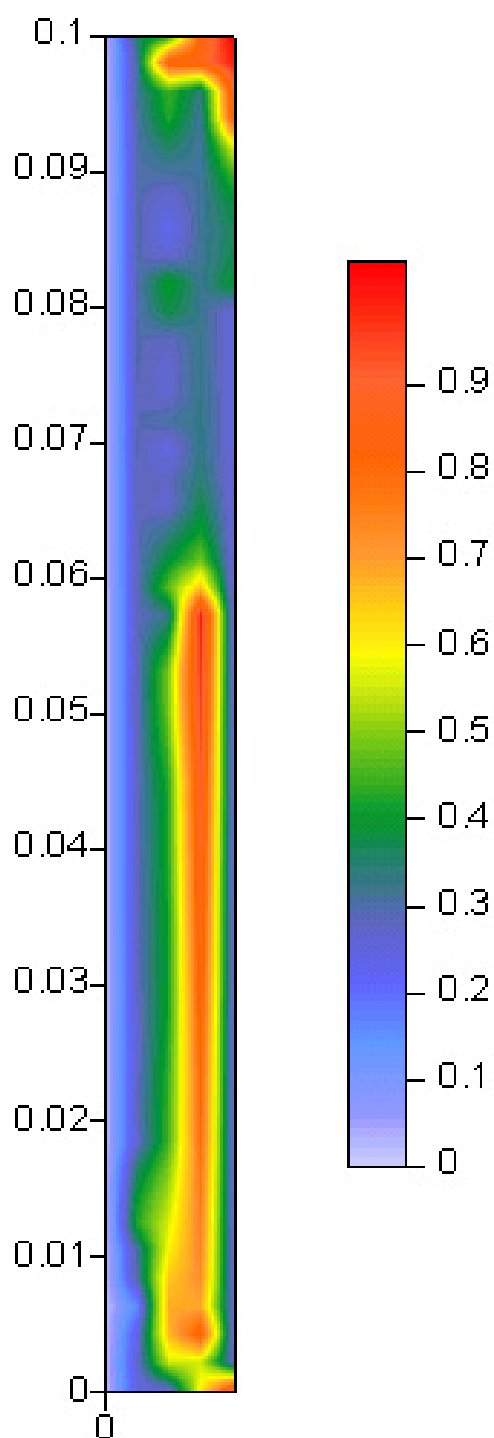


Figura 5.31 – Variação de volume celular dentro da bolsa, relacionadas as suas posições iniciais, ao final do processo de resfriamento para o caso III.

CAPÍTULO 6

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

6.1 Conclusões

O presente estudo foi desenvolvido para obter um maior entendimento dos fenômenos de transporte, e o comportamento das células, durante o processo de solidificação de soluções aquosas de cloreto de sódio aplicado em processos de criopreservação. Um estudo numérico das equações que modelam o processo de solidificação e também o fenômeno de fluxo de água que acontece através da membrana celular durante a criopreservação foi desenvolvido neste trabalho. Simulações numéricas foram feitas para tentar prever o comportamento do processo de solidificação que ocorre durante a criopreservação de células expostas em um meio inicialmente isotônico contendo uma solução aquosa de NaCl para algumas taxas de resfriamento e variação de temperatura inicial.

O modelamento matemático de transporte de calor e massa em soluções multicomponentes e sua relevante importância no desenvolvimento de procedimentos ótimos de criopreservação foram revisados e discutidos neste trabalho. Constatou-se a partir dos resultados apresentados que o modelamento teórico e as metodologias desenvolvidas por engenheiros é bastante útil na predição da variação do meio extracelular e a correspondente resposta das células em suspensão durante o processo de resfriamento. As considerações teóricas podem também ser estendidas ao estudo de processos de resfriamento em diferentes recipientes com diferentes soluções para a criopreservação.

6.1.1 Processo de Solidificação

Solidificação de uma solução aquosa de cloreto de sódio foi estudada dentro de uma bolsa plástica retangular, a qual foi resfriada lateralmente por imposição de uma taxa de resfriamento constante e uniforme para cada caso estudado. A influência da convecção natural durante o processo de criopreservação de células, juntamente com a distribuição de temperaturas e concentrações foram investigadas neste trabalho. Foram simulados numericamente, através de técnicas computacionais, alguns casos envolvendo diferentes taxas de resfriamento, e também diferentes temperaturas iniciais da solução salina para uma mesma concentração inicial.

Todas as investigações realizadas no presente trabalho têm como concentração inicial 1%, de forma que as conclusões abaixo apresentadas somente se aplicam para esta concentração inicial. Baseado nestas investigações do processo de solidificação, as seguintes conclusões podem ser apresentadas:

1. Para uma temperatura inicial de 2°C e para as duas taxas de resfriamento consideradas, -10 e $-100^{\circ}\text{C}/\text{min}$, os efeitos das forças de empuxo são praticamente inexistentes e o problema pode ser considerado como unidirecional. Com exceção dos campos de velocidade, as outras variáveis podem ser calculadas a partir de um modelo unidimensional, como foi realizado por Viskanta et al. [1997].
2. A espessura da região bifásica depende fortemente da taxa de resfriamento. Para taxa de resfriamento de $-100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ a espessura é bem menor do que para uma taxa de resfriamento de $-10^{\circ}\text{C}/\text{min}$.
3. A distribuição de concentração também é afetada pela taxa de resfriamento, pois esta é fortemente dependente da temperatura. Quanto se tem um menor gradiente de temperatura, tem-se uma maior região ocupada com solução salina de concentração diferente e maior que a inicial.
4. As forças de empuxo passam a ter alguma influência nas distribuições de temperatura e concentração quando a temperatura inicial é elevada para 20°C . Neste caso, as linhas *liquidus* e *solidus* deixam de ser verticais e há um acúmulo de líquido frio com maior concentração de sal na parte inferior do domínio. Uma solução considerando o domínio

unidimensional levaria a resultados questionáveis.

6.1.2 Cinética da Perda de Água Através da Membrana Celular

O problema de encolhimento por desidratação (crenação), que acontece devido ao fluxo de água através da membrana celular durante o processo de criopreservação de células foi estudado neste trabalho para os três casos previamente descritos. A partir da escolha de algumas células localizadas dentro do domínio, foram realizados cálculos da variação do volume devido ao fluxo de água, permitindo-se que as células percorressem juntamente com o escoamento de solução salina. Baseado nestes resultados pode-se escrever as seguintes conclusões:

1. Mesmo quando a advecção é desprezível, a variação do volume celular não é a mesma para todas as posições da bolsa. A taxa de resfriamento local varia para cada posição e é diferente da taxa de resfriamento imposta sobre a parede externa da bolsa seja constante. Esta conclusão é compatível com os resultados unidimensionais obtidos por Viskanta et al. [1997].
2. Quanto maior for a taxa de resfriamento menor é a variação do volume celular, e pode-se dizer que maior é o nível de sobrevivência das células na bolsa. Para ambos os casos as células mais ao centro da bolsa obtiveram uma menor perda de água.
3. Quanto maior a diferença de concentração intra e extracelular maior é o fluxo de água através da membrana das células.
4. Quanto maior o tempo de permanência das células em regiões de concentração mais elevada, maior é a variação de volume sofrida pelas mesmas.
5. Quando a advecção é importante, o escoamento leva as células a regiões com diferentes temperaturas e concentrações. Assim, a perda de água da célula depende fortemente da posição inicial da célula no domínio.

6.2 Recomendações

Um número de fenômenos físicos associados aos processos de solidificação de substâncias multicomponentes e criopreservação de células permanecem não resolvidos.

Algumas sugestões relativas às pesquisas futuras seguem baseado nas conclusões do presente trabalho:

1. Desenvolver um modelo de solidificação de uma solução ternária contendo, além de sal e água, um crioprotetor. Com tal modelo seria possível obter resultados mais realistas do processo de criopreservação, uma vez que na prática crioprotetores são bastante utilizados.
2. Resolver o problema utilizando condições de contorno de primeira espécie também no topo e na base da bolsa.
3. Construir aparatos experimentais e obter medições para se validar os resultados obtidos pelo modelo matemático. Várias técnicas não instrutivas têm sido desenvolvidas e usadas para determinar experimentalmente temperatura e/ou distribuições de concentração de soluto, estado da mudança de fase, e/ou resposta celular com a variação do meio local.
4. Desenvolver modelos de transferência de calor e massa em sistemas celulares complexos (i.e., tecidos ou órgãos) durante o processo de criopreservação, os quais envolvem espaços intra e intercelulares e sistemas cardiovasculares. Alguns estudos pioneiros têm sido conduzidos nesta área com o uso de várias aproximações [Diller, 1992; Mazur, 1990; Toner et al., 1990], os quais formam base para futuras investigações.
5. Incluir a dependência da densidade da solução com a temperatura e a concentração para se melhorar o modelo matemático para casos em que efeitos de advecção se tornam importantes.
6. Considerar efeitos de não-equilíbrio, uma vez que a solução salina resfria a estados metastáveis antes que o primeiro cristal de gelo nucleie.
7. Estender o presente modelo de solidificação para domínios tridimensionais. A vetorização do código computacional de solução também seria interessante para aumentar a velocidade de processamento.

ANEXO A

Propriedades Termofísicas e Grandezas Utilizadas na Resolução do Problema

As propriedades termofísicas, assim como as demais grandezas usadas na resolução dos problemas de solidificação e cinética da perda de água estão apresentadas nas Tabelas A.1, A.2, A.3, A.4 mantendo suas unidades dimensionais originalmente apresentadas na literatura.

Tabela A.1 – Propriedades termofísicas da fase líquida com unidades dimensionais originais [Zaytsev e Azeyev, 1992].

Propriedades	Fase Líquida
c_l (J/kg.K)	3911
ρ_l (kg/m ³)	1007
k_l (W/m.K)	0,562
D_l (m ² /s)	$1,611.10^{-9}$
μ_l (Pa/s)	$1,814.10^{-3}$

Tabela A.2 – Propriedades termofísicas das fases sólidas (Alpha e Eutética) com unidades dimensionais originais [Bianchi, 1997].

Propriedades	Fase Alpha (Gelo)	Fase Eutética
ρ (kg/m ³)	1530	1530
c (J/kg.K)	1945	1690
k (W/m.K)	2,285	1,910
$\Delta h_{l \rightarrow \alpha}$ (J/kg)	$333,7 \times 10^2$	—
$\Delta h_{e \rightarrow \alpha}$ (J/kg)	—	62,29

Tabela A.3 – Grandezas utilizadas no problema de solidificação com unidades dimensionais originais [Bianchi, 1997].

Propriedades e Grandezas	Magnitude
Δh_{ef} (J/kg)	$333,4 \times 10^2$
β_T (1/K)	$1,968 \times 10^{-5}$
β_S (-)	$-7,968 \times 10^{-3}$
K_0 (m ²)	5×10^{-11}
g (m/s ²)	9,81
T_{eut} (°C)	21,1
T_{in} (°C)	2
C_{eut} (%)	23,3
C_{in} (%)	1

Tabela A.4 – Grandezas utilizadas para a cinética de perda de água das células com unidades dimensionais originais [Mazur, 1963; Mazur, 1990].

Propriedades e Grandezas	Magnitude
$\bar{R}$ ($\mu\text{m}^3 \cdot \text{atm} / \text{mol} \cdot \text{K}$)	$82,057 \times 10^{-12}$
v_1^0 ($\mu\text{m}^3 / \text{mol}$)	$18,0 \times 10^{-12}$
A (μm^2)	3,04
E^* (cal/mol)	14
$\mathcal{V}$ (μm^3)	2,775
$\mathcal{V}_{iso}$ (μm^3)	$4,2 \times 10^{-1}$
L_p^g ($\mu\text{m} / \text{min} \cdot \text{atm}$)	$66,6 \times 10^{-2}$
T_g (K)	273,15
T_{mo} (K)	273,15
n_2 (mol)	$2,1 \times 10^{-16}$

ANEXO B

Teste de Independência de Malha

Baseado em análise feita na bibliografia constata-se que em praticamente todos os trabalhos encontrados os autores utilizam, em média, uma malha com (50×50) volumes. Por questões de verificação da influência da dimensão da malha sobre os resultados, foram feitos alguns testes para constatar qual o melhor tamanho de malha que deve ser usado na resolução do problema. A partir de testes feitos com uma discretização de uma malha inicialmente contendo (50×50) volumes, constatou-se que a utilização de uma malha com (100×90) volumes, levando em conta o tempo computacional, fornece dados bastante precisos.

Na Figura B.1 está apresentado o campo de função de corrente referente ao caso II, com o uso de uma malha de (50×50) volumes, em um tempo equivalente a 10 s.

Na Figura B.2 está apresentado o campo de função de corrente referente ao caso II, com o uso de uma malha de (80×80) volumes, em um tempo equivalente a 10 s.

Está ilustrado na Figura B.3 o campo de função de corrente referente ao caso II, agora com o uso de uma malha de (100×80) volumes, em um tempo equivalente a 10 s.

Finalmete na Figura B.4 está apresentado o campo de função de corrente, usando a malha discretizada neste trabalho, que possui (100×90) volumes. Pode-se observar que há uma pequena diferença entre os dois últimos testes. Como esta diferença é bastante pequena e também por questões de tempo computacional excessivo no caso de uma malha mais refinada, optou-se pelo uso da malha contendo as dimensões utilizadas na resolução do campo de função de corrente apresentado na Figura B.4. Note que as dimensões do domínio de cálculo são bastante reduzidas, e também que um refinamento de malha de (100×90) já requer um esforço computacional considerável.

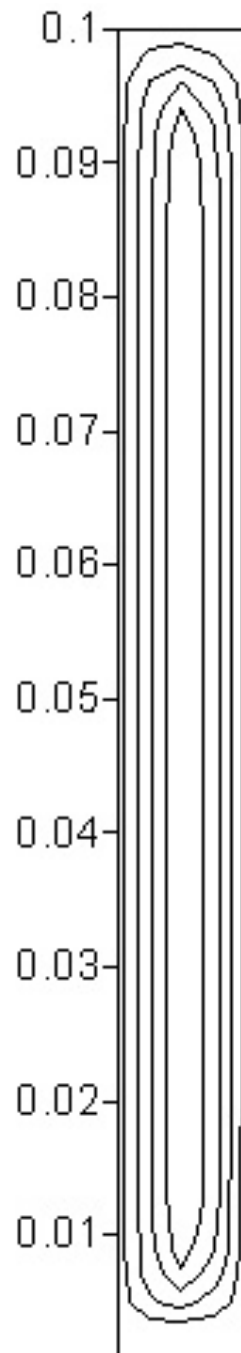


Figura B.1 – Função de corrente para caso II em um tempo de $t = 10$ s, com uma malha de (50×50) volumes



Figura B.2 – Função de corrente para o caso II em um tempo de $t = 10$ s, com uma malha de (80×80) volumes

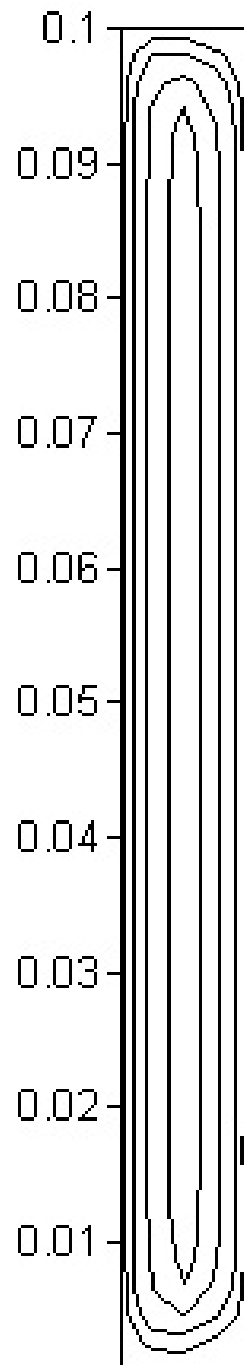


Figura B.3 – Função de corrente para o caso II em um tempo de $t = 10$ s, com uma malha de (100×80) volumes

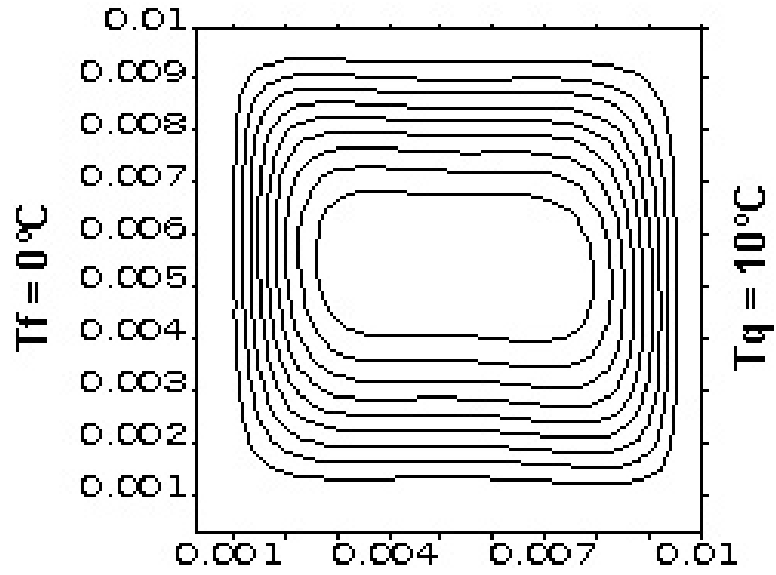


Figura B.4 – Função de corrente para caso II em um tempo de $t = 10$ s, com uma malha de (100×90) volumes

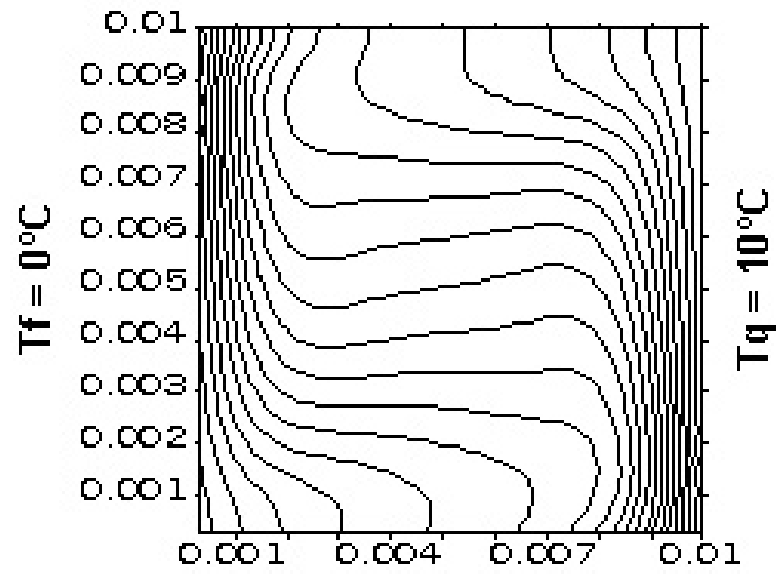
ANEXO C

Validação do Código Computacional

A validação do código computacional foi feita com a resolução de um problema clássico de convecção natural em uma cavidade retangular. O problema resolvido consiste em uma cavidade quadrada (razão de aspecto 1), perfeitamente isolada na base e no topo, contendo de um lado uma parede aquecida e do outro uma parede fria. Escolheram-se temperaturas acima do ponto de fusão da solução salina para o processo de solidificação não interferir nos resultados. Retirou-se também a condição de simetria em $x/X_L = 1$. O número de Rayleigh para as condições e propriedades usadas ficou abaixo de 1×10^6 , caracterizando processo em regime laminar [Incropera e DeWitt, 1996]. A Figura C.1 apresenta a distribuição de temperatura e função de corrente para o problema apresentado acima após atingir o regime permanente. Estes resultados, qualitativamente, possuem boa concordância com os resultados apresentados em Gebhart et al. [1988].



(a)



(b)

Figura C.1 – Problema clássico de convecção natural em uma cavidade quadrada: (a) Função de corrente, (b) Isotermas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Beckermann, C. e Viskanta, R. [1993]. Mathematical modeling of transport phenomena during alloy solidification, *Applied Mechanics Reviews* **46**(1): 1–27.

Bennon, W. D. e Incropera, F. P. [1987]. A continuum model for momentum, heat and species transport in binary solid-liquid phase change systems - I. model formulation, *International Journal of Heat and Mass Transfer* **30**: 2161–2170.

Bianchi, M. V. A. [1997]. *Crystal Morphology and Gas Evolution during Solidification Processes*, PhD thesis, Purdue University, West Lafayette, Indiana.

Bianchi, M. V. A. e Viskanta, R. [1999]. Effective thermal conductivity of the mushy region during solidification of aqueous solutions of ammonium chloride, *International Mechanical Engineering Congress and Exposition*.

Carslaw, H. S. e Jaeger, J. C. [1959]. *Conduction of Heat in Solids*, 2nd edn, Oxford Science Publications, Oxford.

Christenson, M. C., Bennon, W. D. e Incropera, F. P. [1989]. Solidification of an aqueous ammonium chloride solution in a rectangular cavity - (ii). comparison of predicted and measured results, *International Journal of Heat and Mass Transfer* **32**(1): 69–79.

Christenson, M. C. e Incropera, F. P. [1989]. Solidification of an aqueous ammonium chloride solution in a rectangular cavity - (i). experimental study, *International Journal of Heat and Mass Transfer* **32**(1): 47–68.

Cussler, E. L. [1997]. *Mass Transfer in Fluid Systems*, Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

Diller, K. R. [1992]. Modeling of bioheat transfer processes at high and low temperatures, *Advances in Heat Transfer* **22**: 157–357.

- Drew, D. A. [1983]. Mathematical modeling of two-phase flow, *Ann Rev Fluid Mech* **15**: 261–291.
- Gebhart, B., Jaluria, Y., Mahajan, R. L. e Sammakia, B. [1988]. *Buoyancy-Induced Flows and Transport*, Hemisphere, Washington.
- Hoffman, J. D. [1992]. *Numerical methods for engenirs and scientists*, McGraw-Hill, Inc.
- Incropera, F. P. e DeWitt, D. P. [1996]. *Fundamentals of Heat and Mass Transfer*, 4th edn, John Willey & Sons, New York.
- Junqueira, L. C. e Carneiro, J. [1997]. *Biologia Celular e Molecular*, 6th edn, Filiada.
- Karlsson, J. O. M. e Toner, M. [1996]. Long-term storage of tissues by cryopreservation: critical issues, *Biomaterials* **17**(3): 243–256.
- Lunardini, V. J. [1981]. *Heat Transfer in Cold Climates*, Liton, New York.
- Maliska, C. R. [1993]. *Transferência de Calor e Mecânica dos Fluidos Computacional*, Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, Brasil.
- Mazur, P. [1963]. Kinetics of water loss from cells at subzero temperatures and the likelihood of intracellular freezing, *J. Gen. Physiol.* **47**: 347–369.
- Mazur, P. [1984]. Freezing of living cells: Mechanisms and implications, *Cell Biophysics* **17**: 53–92.
- Mazur, P. [1990]. Equilibrium, quasi-equilibrium, and nonequilibrium freezing of mammalian embryos, *Am. J. Physiol.* **16**: C125–C142.
- Moran, M. J. e Shapiro, H. N. [1996]. *Fundamentals of Engineering Thermodynamics*, 3rd edn, John Wiley and Sons, New York.
- Muldrew, K. e McGann, L. E. [1990]. Mechanisms of intracellular ice formation, *Biophys. J.* **57**: 525–539.
- Nield, D. A. e Bejan, A. [1992]. *Convection in Porous Media*, Springer-Verlag, New York.

Overfelt, T. [1994]. A note on the sensitivity of solidification models to thermophysical properties, *Metallurgical and Materials Transactions B* **25B**: 154–157.

Özişik, M. N. [1993]. *Heat Conduction*, 2nd edn, Wiley Interscience, New York. Chap. 6.

Patankar, S. V. [1980]. *Numerical Heat Transfer and Fluid Flow*, Hemisphere, New York.

Pitt, R. E. e Steponkus, P. L. [1989]. Quantitative analysis of the probability of intracellular ice formation during freezing of isolated protoplasts, *Cryobiology* **26**: 44–45.

Prakash, C. e Voller, V. [1989]. On the numerical solution of continuum mixture model equations describing binary solid-liquid phase change, *Numerical Heat Transfer* **15**: 171–189.

Prescott, P. J. e Incropera, F. P. [1996]. Convection heat and mass transfer in alloy solidification, in D. Poulikakos (ed.), *Advances in Heat Transfer*, Academic Press, San Diego, California, pp. 231–338.

Prescott, P. J., Incropera, F. P. e Bennon, W. D. [1991]. Modeling of dendritic solidification systems: Reassessment of the continuum momentum equation, *International Journal of Heat and Mass Transfer* **34**(9): 2351–2359.

Toner, M., Cravalho, E. G. e Karel, M. [1990]. Thermodynamics and kinetics of intracellular ice formation during freezing of biological cells, *J. Appl. Phys.* **67**(3): 1582–1593.

Toner, M., Tompkins, R. G., Cravalho, E. G. e Yarmush, M. L. [1992]. Transport phenomena during freezing of isolated hepatocytes, *AIChE Journal* **38**(10): 1512–1522.

Viskanta, R. [1990]. Mathematical modeling of transport processes during solidification of binary systems, *JSME International Journal* **33**(3): 409–423.

Viskanta, R., Bianchi, M. V. A., Critser, J. K. e Gao, D. [1997]. Solidification processes of solutions, *Cryobiology* **34**: 348–362.

Zaytsev, I. D. e Aseyev, G. G. (eds) [1992]. *Properties of Aqueous Solutions of Electrolytes*, CRC Press, Boca Raton.