

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**LUIZ FELIPE AGUINSKY**

**ELETROFORESE CAPILAR EM CAMPOS ELÉTRICOS ULTRA-FORTES**

Orientador: Prof. Dr. Tarso Benigno Ledur  
Kist

Porto Alegre  
2013

**LUIZ FELIPE AGUINSKY**

**ELETROFORESE CAPILAR EM CAMPOS ELÉTRICOS ULTRA-FORTES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade Federal do Rio Grande do Sul como exigência parcial para obtenção do título de Bacharel em Física.

Orientador: Prof. Dr. Tarso Benigno Ledur Kist

Porto Alegre  
2013

## RESUMO

O presente trabalho busca criar um equipamento constituído de reservatório de solução tampão com eletrodos e capilar com resfriamento na porção central, dentro do qual ocorrem campos elétricos ultra-fortes, até 3 vezes os valores encontrados na literatura. O aumento do campo elétrico é dado pelo resfriamento a temperaturas com valores negativos de uma porção de 1,5 cm do capilar. Esse resfriamento gera um estado estacionário entre o congelamento da solução tampão na vizinhança próxima às paredes do capilar e o aquecimento causado por efeito Joule no centro. Como consequência, cria-se uma redução do diâmetro do lúmen do capilar, o que por sua vez gera o aumento na resistência na porção resfriada. Ao aumento da resistência elétrica associa-se um maior campo elétrico, para um certo valor de corrente elétrica. Os resultados obtidos indicam a observação desse fenômeno. Estimou-se que os campos elétricos encontrados são da ordem de  $2 \frac{kV}{cm}$ .

Palavras-chave: eletroforese capilar por zona, obstrução do lúmen, campos elétricos ultra-fortes.

## ABSTRACT

The present work intends to create an experimental set-up made of buffer solution reservoirs with inserted electrodes and a capillary tube with cooled central portion, where ultra-strong electric field occur, up to 3 times the values found in literature. The increase in electric fields is given by cooling at sub-zero temperatures of a 1.5 cm portion of the capillary tube. This cooling generates a stationary state between the freezing of the buffer solution at close proximity with the capillary tube's interior walls and the Joule heating in its center. As a consequence, the effective diameter of the capillary tube is reduced, therefore increasing its electrical resistance only at the cooled portion. It is associated a increase in electric field to an increase in electric resistance, being given an electric current. The obtained results indicate the existance of this phenomenon. It is estimated that the electric fields have magnitude of around  $2 \frac{kV}{cm}$ .

Keywords: capillary zone electrophoresis, capillary cross-section obstruction, ultra-strong electric fields

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>5</b>
<b>1 APRESENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>7</b>
1.1 Eletroforese.....	7
1.2 Eletroosmose em um capilar.....	7
1.3 Efeitos térmicos em eletroforese capilar.....	8
1.3.1 Efeitos do resfriamento forçado.....	9
1.4 Aumento localizado do campo elétrico.....	10
<b>2 METODOLOGIA.....</b>	<b>11</b>
2.1 Montagem experimental.....	11
2.2 Procedimento experimental.....	12
<b>3 RESULTADOS ENCONTRADOS.....</b>	<b>14</b>
3.1 Sem refrigeração.....	14
3.2 Refrigeração a 4 °C.....	15
3.3 Resfriamento entre -10 °C e -20 °C.....	17
3.4 Evidências de congelamento.....	18
3.5 Obtenção dos valores de $d$ e $E$ .....	20
<b>4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>23</b>
4.1 Perspectivas futuras.....	23
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>25</b>

## INTRODUÇÃO

A Eletroforese Capilar (EC) é uma técnica de separação de moléculas (SKOOG et al., 2002) a qual vem sendo rapidamente desenvolvida desde sua invenção, nos anos 80. É uma técnica que é caracterizada pela facilidade de elaboração dos equipamentos aliada com grande resolução e ampla possibilidade de utilização. Dentre suas aplicações, há o sequenciamento de DNA.

Uma fronteira ainda em expansão do estudo da EC é estabelecer os limites superiores dos campos elétricos aplicados (BARANY, 2009). Os valores mais expressivos encontrados na literatura são da ordem de 600 V/cm (HENLEY e JORGENSON, 2012). Procura-se uma montagem experimental que permita explorar a ordem de kV/cm, ainda que numa fração pequena do capilar.

O aumento controlado do campo elétrico é obtido através do resfriamento de uma seção do capilar. A menor temperatura implica o aumento da resistência, o que por sua vez causa uma queda local de tensão maior e um campo elétrico mais intenso.

Sabe-se de trabalhos anteriores que o efeito Joule ocorre na eletroforese (WEINBERGER, 1993; KIST, 1993). Combinando o aquecimento causado por efeito Joule com resfriamento a baixas temperaturas próximas a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , um regime estacionário entre o congelamento e o aquecimento pode ser encontrado. O teste dessa hipótese é o ponto central do presente trabalho experimental. Este equilíbrio proporciona uma redução controlada do tamanho do lúmen do capilar, permitindo alcançar uma resistência, e logo um campo elétrico, próximo a limites teóricos como a ruptura dielétrica da solução tampão ou da capa de gelo formada na parede interna do capilar.

O presente trabalho explora as possibilidades supracitadas. Fez-se uma montagem contendo dois reservatórios com eletrodos e um capilar de aproximadamente 49,3 cm de comprimento no qual foi acoplado um sistema que permite o resfriamento de 1,5 cm da porção central do mesmo, através da passagem de uma mistura de água com etanol a temperaturas de aproximadamente  $-20^{\circ}\text{C}$ . Injetou-se somente a solução tampão no equipamento. Os ensaios foram realizados

medindo as correntes produzidas para diferentes diferenças de potencial elétrico aplicadas, com e sem resfriamento da porção central do capilar.

## 1 APRESENTAÇÃO TEÓRICA

### 1.1 Eletroforese

Métodos de separação de biomoléculas através de eletroforese existem desde o trabalho de Tiselius (1937). Sucessivos desenvolvimentos de aplicações deste fenômeno foram criadas até que, nas décadas de 1970 e 1980, Virtanen (1974) e Jorgenson (1982), com seu grupo, desenvolveu a técnica da Eletroforese Capilar (AQUINO NETO e NUNES, 2003).

O fenômeno da eletroforese ocorre quando um campo elétrico é aplicado em uma solução que contém moléculas dissolvidas. Nesta situação, observa-se empiricamente que (KIST, 1993) a velocidade média  $\vec{v}_e$  das partículas é linearmente dependente do campo elétrico aplicado. A constante de proporcionalidade, denominada *mobilidade eletroforética*  $\mu_e$ , é dependente da carga média das moléculas, do seu coeficiente de fricção e da viscosidade do meio. Portanto:

$$\vec{v}_e = \mu_e \vec{E}$$

### 1.2 Eletroosmose em um capilar

Os capilares de quartzo são formados por dióxido de silício, portanto as interfaces quartzo-ar possuem grupos silanol, que tem caráter ácido. Estes, quando em contato com soluções aquosas, se desprotonam gerando uma camada difusa de cátions junto à superfície. Como consequência, a aplicação de um campo elétrico ao longo do lúmen do capilar causa um arrasto destes cátions e o movimento da coluna de líquido do lúmen do capilar. Este movimento, que para o quartzo, sempre vai do eletrodo positivo para o negativo, se chama de *eletroosmose*. A descrição matemática desse fenômeno é bem estabelecida na literatura (KIST, 1993). Com efeito, descobre-se que a velocidade que caracteriza esse escoamento é constante

e igual à velocidade ao centro da coluna com a exceção dos pontos na vizinhança muito próximo da parede do capilar.

Essa “velocidade eletrosmótica” é dada aproximadamente por:

$$v_{eo} \approx \frac{E_z \epsilon \Psi_0}{\eta}$$

Sendo  $E_z$  o campo elétrico aplicado,  $\epsilon$  a permissividade elétrica do meio,  $\Psi_0$  a diferença de potencial eletrostático na superfície e  $\eta$  a viscosidade da solução. Com isso, podemos definir uma *mobilidade eletrosmótica* à semelhança daquela calculada na seção 1.1:

$$\mu_{eo} \equiv \frac{v_{eo}}{E_z} \text{ de forma que } \vec{v}_{eo} = \mu_{eo} \vec{E}$$

Esta característica de constância de velocidade ao longo de praticamente todo o capilar é o que dá à EC muitas de suas boas características analíticas. Os solutos podem ser mais precisamente separados, já que serão todos conduzidos à mesma velocidade pelo fluxo eletrosmótico, independentemente de suas características ou de sua posição radial no capilar (AQUINO NETO e NUNES, 2003).

### 1.3 Efeitos térmicos em eletroforese capilar

Efeitos térmicos possuem papel central na EC. O próprio uso de tubos capilares é consequência deles: esses possuem uma grande relação área/volume, o que permite eficiente resfriamento.

A principal fonte de aquecimento do capilar é o efeito Joule. A literatura debate amplamente esse efeito (DANIELI, 2005), sendo notável a contribuição de Weinberger (1993). Ele propõe que o calor gerado no interior do capilar segue a seguinte relação:

$$\frac{dH}{dt} = \frac{IV}{LA}$$

Sendo  $H$  o calor gerado por unidade de volume,  $I$  a corrente elétrica medida em ampère,  $V$  a diferença de potencial medida em volts,  $L$  o comprimento do capilar em metros e  $A$  a área da seção transversal do capilar em metros quadrados.

Disto, obtém-se a diferença de temperatura entre o centro do lúmen e a parte mais externa:

$$\Delta T = 0,24 \frac{W a^2}{4K}$$

Com  $W$  o calor gerado por volume,  $a$  o raio do capilar e  $K$  a condutividade térmica do conjunto. A partir disto, calcula-se que, para um tubo capilar de 2mm de diâmetro interno e valores típicos ( $1,8 \times 10^8 W/m^3$ ) de geração volumétrica de calor, o gradiente de temperatura é de 75°C. Porém, para um capilar de 50 micrômetros, esta diferença é de apenas 0,05°C.

### 1.3.1 Efeitos do resfriamento forçado

O efeito mais óbvio do resfriamento de uma seção do capilar é a redução da corrente elétrica. Quanto menor a temperatura, menor a mobilidade dos íons presentes na solução (KIST, 1993); portanto, maior a resistência. Considera-se a seguinte relação simplificada para a resistividade:

$$\rho(T) = \beta \rho_0 T$$

Tal que  $\rho(T)$  é a resistividade elétrica medida em  $\Omega m$ ,  $T$  a temperatura em kelvin,  $\rho_0$  a resistividade medida na temperatura do laboratório ( $294K$ ) e  $\beta$  uma constante de proporcionalidade com unidade de  $K^{-1}$ .

Além disso, é possível forçar um resfriamento tão intenso que a própria solução entra em congelamento. Porém, o aquecimento Joule, como já discutido, é muito presente em EC. No trabalho realizado por Danieli (2005), mostra-se que a temperatura é mais alta quanto mais próximo do centro do capilar. Logo, pode-se criar uma situação na qual ocorra o congelamento da solução na vizinhança da parede interna do capilar. Porém, o aquecimento gerado pela corrente no centro impede o colapso total do lúmen, gerando assim uma redução no raio do capilar. Se obtido tal regime estacionário, o resultado é um enorme aumento da resistência, já que essa é proporcional ao inverso da área da seção transversal do capilar.

Portanto, pode-se esperar um regime estacionário no qual o campo elétrico seja muito intenso na porção resfriada com o colapso parcial do lúmen do capilar.

É possível estimar o diâmetro  $d$  não colapsado do capilar, conhecida a resistividade  $\rho_0$  à temperatura do laboratório, a resistividade  $\rho(T) = \rho_T$  na temperatura no interior da seção resfriada do capilar, a resistência total  $R$  do sistema na situação estacionária, a área  $A$  da seção transversal do capilar, o comprimento total  $L$  e o comprimento  $l$  da seção resfriada. O equipamento pode ser pensado como um circuito de resistências em série, portanto somadas (HALLIDAY et al., 2007):

$$R = \frac{L-l}{A} \rho_0 + \frac{4l}{\pi d^2} \rho_t$$

Naturalmente:

$$d = \sqrt{\frac{4l\rho_t}{\pi} \frac{1}{R - \frac{L-l}{A} \rho_0}}$$

#### 1.4 Aumento localizado do campo elétrico

Ao resfriar-se somente uma seção do capilar, há um grande aumento da resistência elétrica nessa mesma seção. Sabe-se da teoria dos circuitos (HALLIDAY et al., 2007) que a cada resistência está associada uma queda de potencial, já que a corrente é a mesma em todos os pontos de um circuito de resistência em série. A resistência da seção resfriada é dada por:

$$R_c = R - \frac{L-l}{A} \rho_0$$

Sendo conhecida a corrente  $i$  que passada pelo sistema; pela lei de Ohm, a queda de tensão na seção é dada por:

$$\Delta V = R_c i$$

Usualmente, aproxima-se que o campo elétrico é constante dentro do sistema de eletroforese (AQUINO NETO e NUNES, 2005). Daí obtemos o campo elétrico  $E$ :

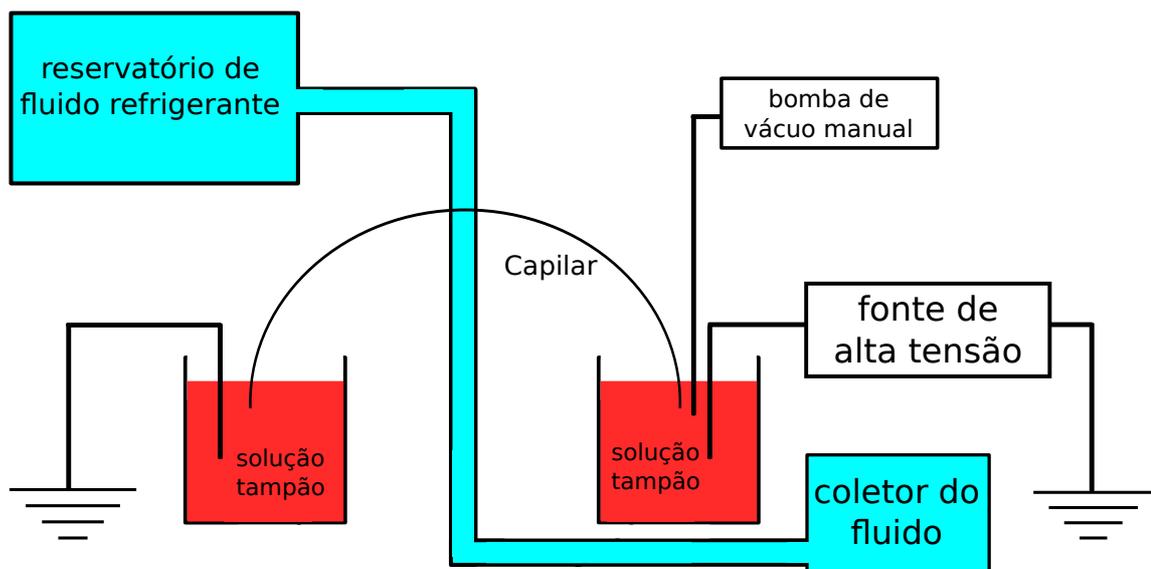
$$E = \frac{\Delta V}{l} = \frac{R_c i}{l}$$

## 2 METODOLOGIA

### 2.1 Montagem Experimental

O protótipo utilizado neste trabalho foi construído artesanalmente na UFRGS, com recursos do Laboratório de Métodos IB-UFRGS, da oficina mecânica do Laboratório de Laser e Óptica do IF-UFRGS e da própria oficina mecânica do IF-UFRGS. A figura abaixo ilustra a montagem usada nos experimentos:

Diagrama 1 - Montagem Experimental



As extremidades do capilar de  $43,4\text{cm}$  de comprimento,  $375\mu\text{m}$  de diâmetro externo e  $50\mu\text{m}$  de diâmetro interno ficam mergulhadas no interior de recipientes de vidro. No recipiente da esquerda, além do capilar, é inserido um eletrodo de aço conectado a uma fonte de alta tensão. À direita, existe também um eletrodo de aço aterrado e uma saída para uma bomba de vácuo manual, adaptada de uma seringa. O recipiente da direita possui uma vedação rudimentar realizada com silicone, de forma que, quando a bomba succiona, haja o deslocamento de fluido do recipiente da esquerda para o da direita.

O capilar é passado pelo interior de uma mangueira transparente de plástico. Duas mangueiras de silicone foram acopladas nas extremidades da mangueira transparente. Uma das mangueiras possui um engate rápido que se acopla com o reservatório de líquido refrigerante. A outra despeja o líquido diretamente em um balde coletor.

A mangueira por onde passa o capilar é presa firmemente com lacres de vinil na mesa de acrílico onde ocorre o experimento. Como a mesa é elevada e a mangueira, consegue-se posicionar um estereomicroscópio para acompanhar o fluxo no interior do segmento refrigerado do capilar.

Um ventilador portátil foi instalado para forçar ar no equipamento. Isso se dá para que a temperatura da camada de ar em contato com a superfície externa do capilar seja sempre a temperatura ambiente. De tal forma, evita-se o aquecimento dessa camada, o que dificultaria o resfriamento do capilar e a repetibilidade do experimento.

Dentre os diversos tipos de eletroforese, nos quais as diferenças principais são a solução tampão e o preenchimento da coluna, escolheu-se a variação mais simples, a *eletroforese capilar por zona (ECZ)* ou *eletroforese capilar em solução livre*. Nessa variação, somente solução tampão aquosa é utilizada como preenchimento da coluna capilar.

A coleta de dados foi realizada através da própria fonte de alta tensão, a qual informa a voltagem aplicada e também a corrente no sistema. A precisão do equipamento é  $\pm 0.01kV$  e  $\pm 0.1\mu A$ . Outras informações importantes foram obtidas de dois termômetros, um suspenso no ar para medição da temperatura ambiente e outro submerso no líquido refrigerante para medição da temperatura do mesmo.

## **2.2 Procedimento experimental**

Preparou-se uma solução tampão Tetraborato de Sódio em água destilada de molaridade  $50mM$ . Essa foi, em seguida, quatro vezes diluída até uma molaridade

de 3,  $12mM$ . Por final, adicionou-se ácido sulfúrico até que a solução apresentasse um valor de pH igual a 2.

Escolheu-se essa mistura pois testes anteriores somente com Tetraborato de Sódio não permitiam o congelamento do capilar. Sem adicionar o ácido sulfúrico, o pH da solução é próximo de 9, permitindo o movimento do líquido por eletroosmose, conforme descrito no subcapítulo 1.2. Tal movimento aparenta ser veloz o suficiente para impedir o congelamento do líquido nas paredes do capilar. O pH mais baixo da solução escolhida impede a eletroosmose pois desta forma os íons de hidrogênio associam-se novamente com os átomos de oxigênio na superfície interna do capilar. Assim, não há mais acúmulo de cargas que permita o escoamento eletrosmótico.

A solução ácida foi, então, adicionada a ambos os recipientes de vidro, no qual é submerso o capilar, através de uma unidade filtrante. Para que ocorra o preenchimento da coluna capilar, aplicou-se sucção na bomba de vácuo. Aplicando-se uma voltagem no sistema, percebeu-se o preenchimento da coluna assim que o amperímetro acusara corrente.

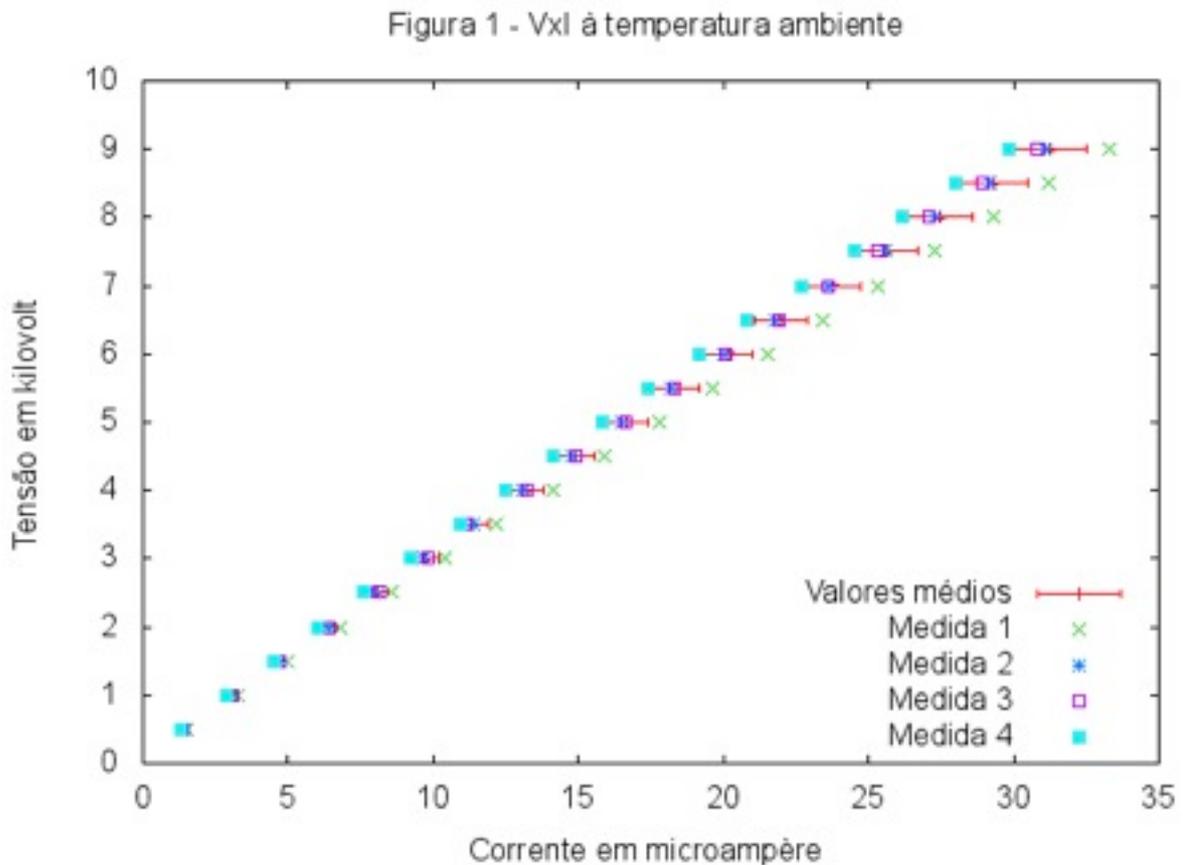
Com isso, o experimento pôde ser realizado em três configurações: a temperatura ambiente (aproximadamente  $22^{\circ}C$ ), com resfriamento utilizando uma mistura de água com gelo a  $4^{\circ}C$  e com resfriamento utilizando uma mistura de etanol e água entre  $-10^{\circ}C$  e  $-20^{\circ}C$ . Em todos os casos o ventilador portátil estava ligado, ou seja, o experimento foi realizado em condições de ar forçado para as duas porções não resfriadas do capilar. Em cada situação de temperatura, elaborou-se uma tabela de dados de corrente observada para uma diferença de potencial aplicada. Durante cada observação, a temperatura do líquido refrigerante foi controlada com um termômetro submerso no reservatório.

Notou-se que, mesmo com os valores medidos indicando fortemente o congelamento, tal fenômeno não é visível mesmo com o uso do estereomicroscópio. Portanto, após uma inesperada ruptura do capilar, esse foi substituído por outro revestido com uma camada de poliimida. A baixa condutividade térmica do novo capilar ajudou a estabilizar o funcionamento do sistema, porém ainda assim permitia o congelamento. O revestimento também aumentou consideravelmente a resistência mecânica, impedindo outras rupturas.

### 3 RESULTADOS ENCONTRADOS

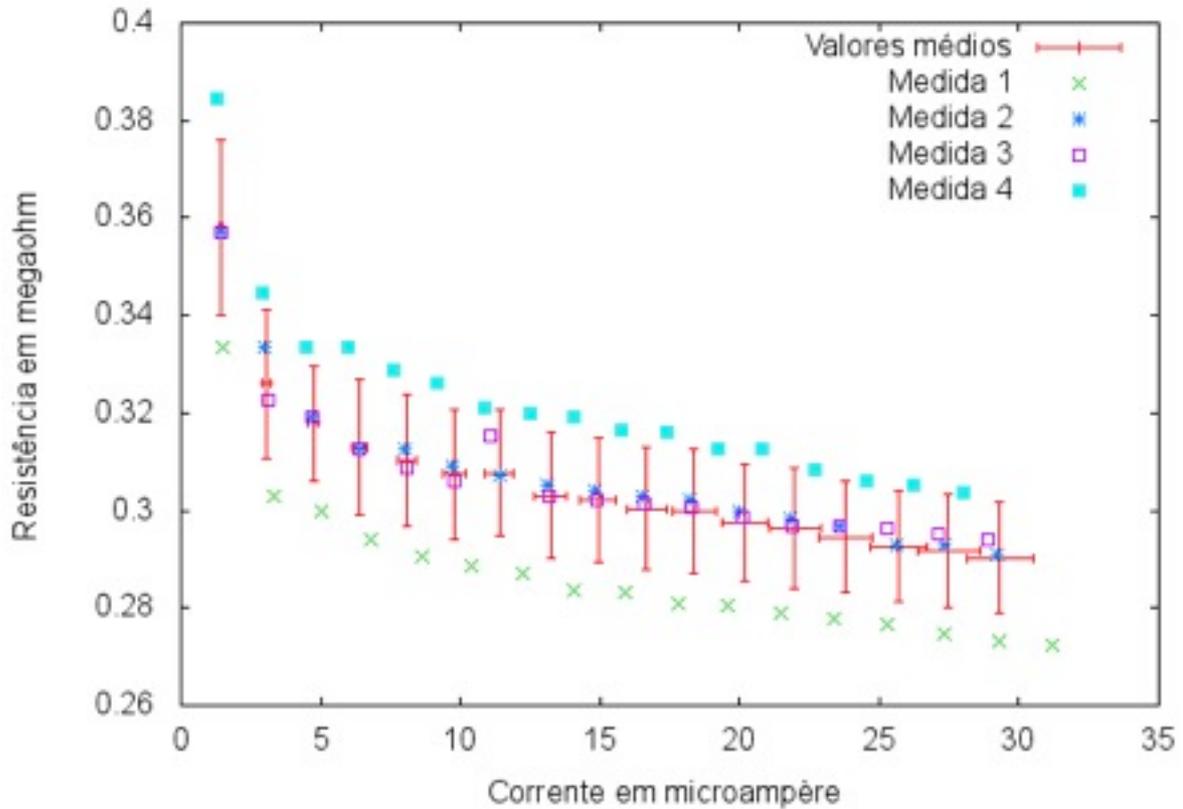
#### 3.1 Sem refrigeração

Realizou-se 4 medidas em 3 dias distintos. Em todas as medidas a temperatura no laboratório foi a mesma, 22 °C. Com os dados, montou-se um gráfico de corrente por voltagem de cada medida e para os valores médios. Conforme Figura 1:



Pôde-se também obter, a partir do gráfico acima, uma figura da resistência em função da corrente. Para isto, utilizou-se a Lei de Ohm. Cada ponto no gráfico representa os valores de corrente e resistência para cada tensão dada.

Para obter-se a informação da resistividade do sistema à temperatura ambiente, foi necessário calcular um valor médio para todas as correntes de resistência. Da análise da Figura 2, tira-se que a resistência a baixas temperaturas é não é tão estável quanto a altas temperaturas, portanto os primeiros dois pontos foram descartados no cálculo da média. Obteve-se um valor de resistência de  $R_{amb} = 301k\Omega \pm 15$ .

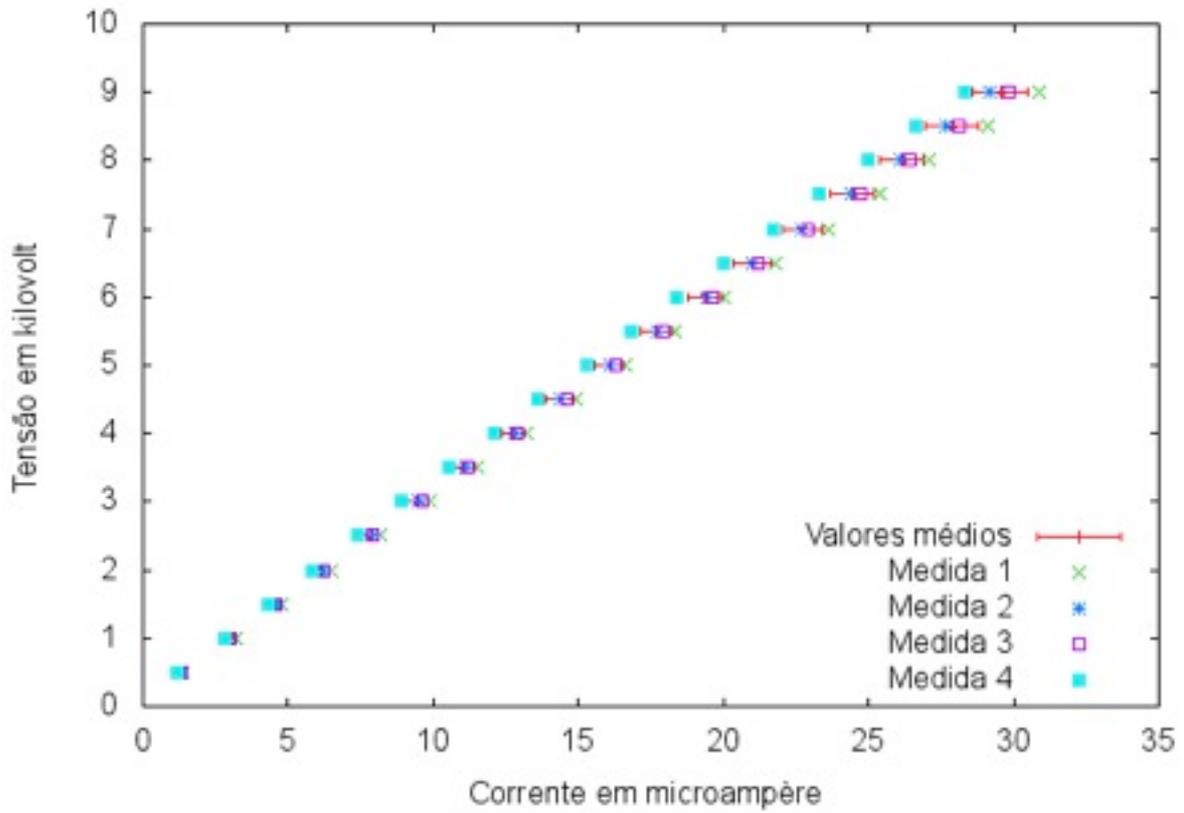
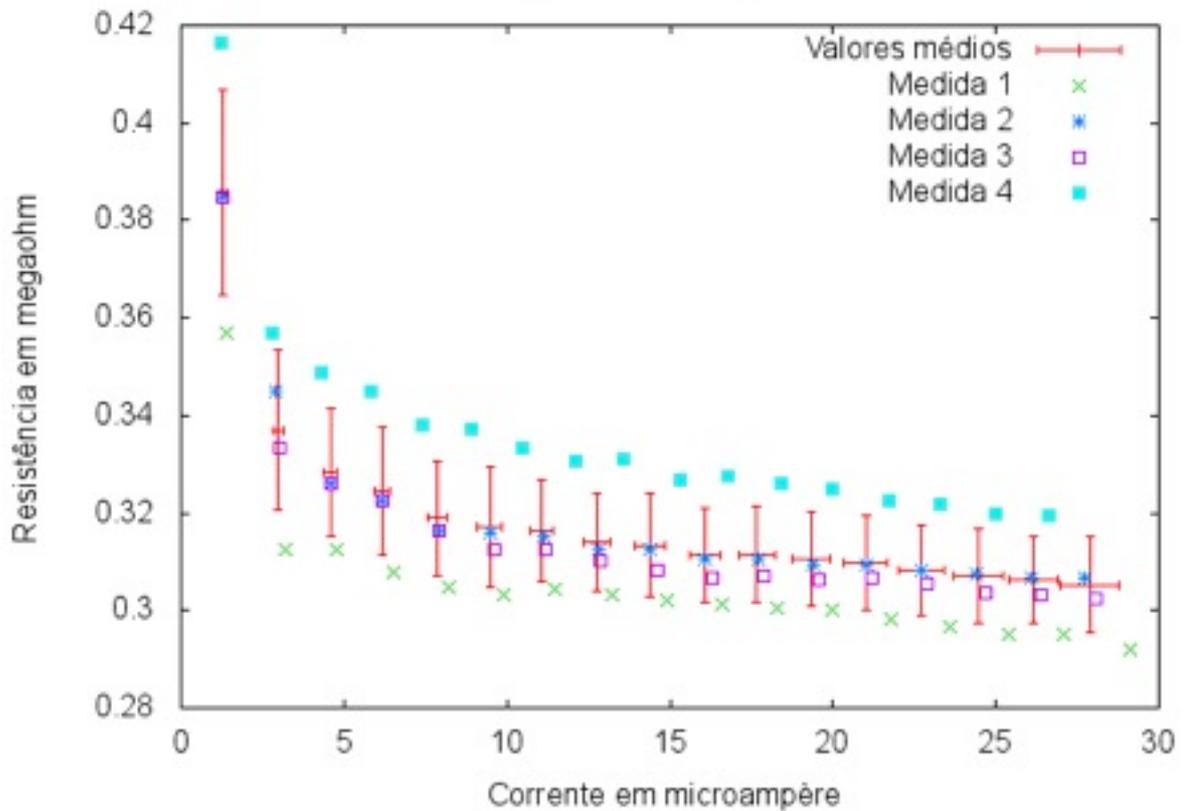
Figura 2 -  $R_{xl}$  à temperatura ambiente

Com os valores de resistência, obteve-se o valor da resistividade  $\rho_{amb}$  à temperatura ambiente a partir da própria definição de resistividade. Tira-se que  $\rho_{amb} = 2,70\Omega m \pm 0,15$ .

### 3.2 Refrigeração a 4 °C

Para esta configuração, obteve-se também um gráfico de tensão por corrente. A partir desse, construiu-se um gráfico de resistência por corrente com o uso da Lei de Ohm. Descartando-se novamente os primeiros dois pontos, constata-se um valor de resistência de  $R_4 = 313k\Omega \pm 15$ .

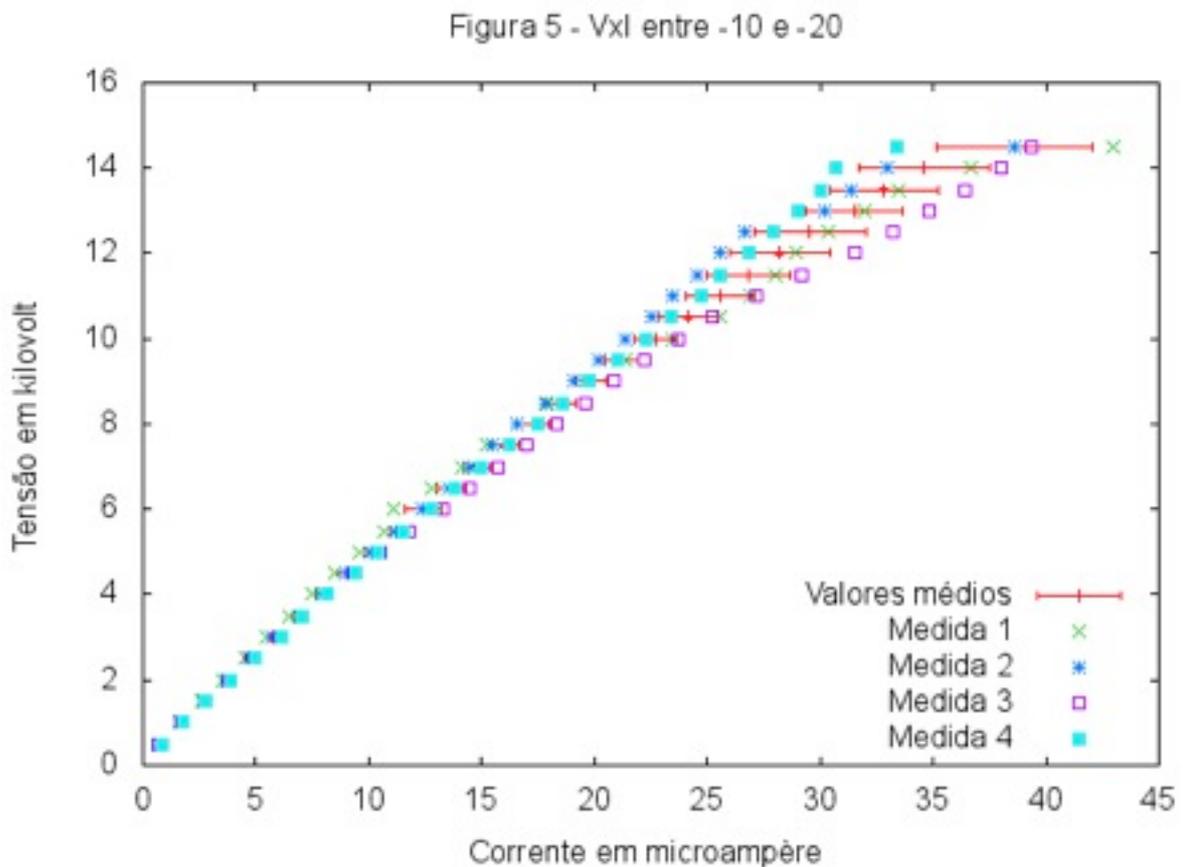
Utilizando a aproximação que todo o aumento da resistência é causado pelo resfriamento da porção central de 1,5 cm do capilar, calculou-se o valor da resistividade na mesma porção.

Figura 3 -  $V_{xl}$  a 4 grausFigura 4 -  $R_{xl}$  a 4 graus

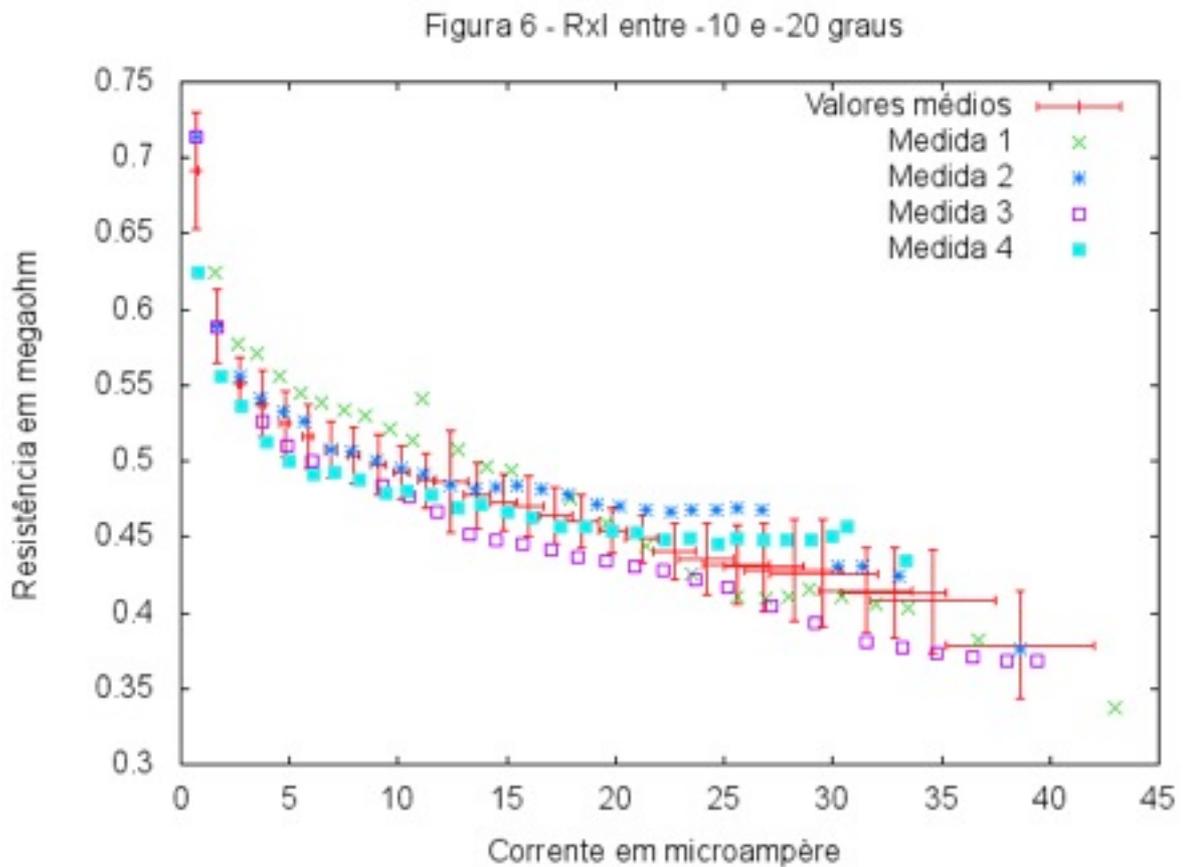
Encontrou-se  $\rho_4 = 6,19\Omega m \pm 6,65$  . Como era de se esperar, como os valores de  $R_{amb}$  e  $R_4$  são estatisticamente indistinguíveis, não há também distinção entre  $\rho_{amb}$  e  $\rho_4$ . Embora esse resultado pareça alarmante, ele pode ser interpretado como evidência a favor do congelamento, como será explanado em subcapítulo posterior.

### 3.3 Resfriamento entre -10 °C e -20 °C

Na figura 5 encontram-se já indicativos que há uma mudança de comportamento a temperaturas negativas. Embora as barras de erro tenham aumentado, já há indícios de um comportamento diferente do ôhmico para o sistema.



A partir dessas informações, construiu-se outra vez um gráfico da resistência pela corrente no sistema.



Nota-se que a resistência varia muito mais bruscamente com a variação da corrente, indicando maior presença de efeitos térmicos gerados por aquecimento Joule. Além disso, há um aumento considerável da resistência total do sistema, em um contraste com o resfriamento a 4 °C.

### 3.4 Evidências de congelamento

Sempre que o líquido refrigerante a -20 °C era posto a circular quando a corrente estava ajustada a valores baixos ou nulos, ocorria a súbita obstrução do lúmen, acusada por valores nulos de corrente elétrica. Mas sempre que se iniciava com uma tensão aplicada no sistema de 14,5 kV antes da abertura do registro do reservatório de fluido refrigerante, então sempre pode-se observar a corrente conforme mostrado no gráfico 5.

Ainda assim, se as medições são realizadas muito rapidamente e o fluido segue muito próximo de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , é possível que subitamente ocorra a obstrução do capilar, como ilustra a tabela 1.

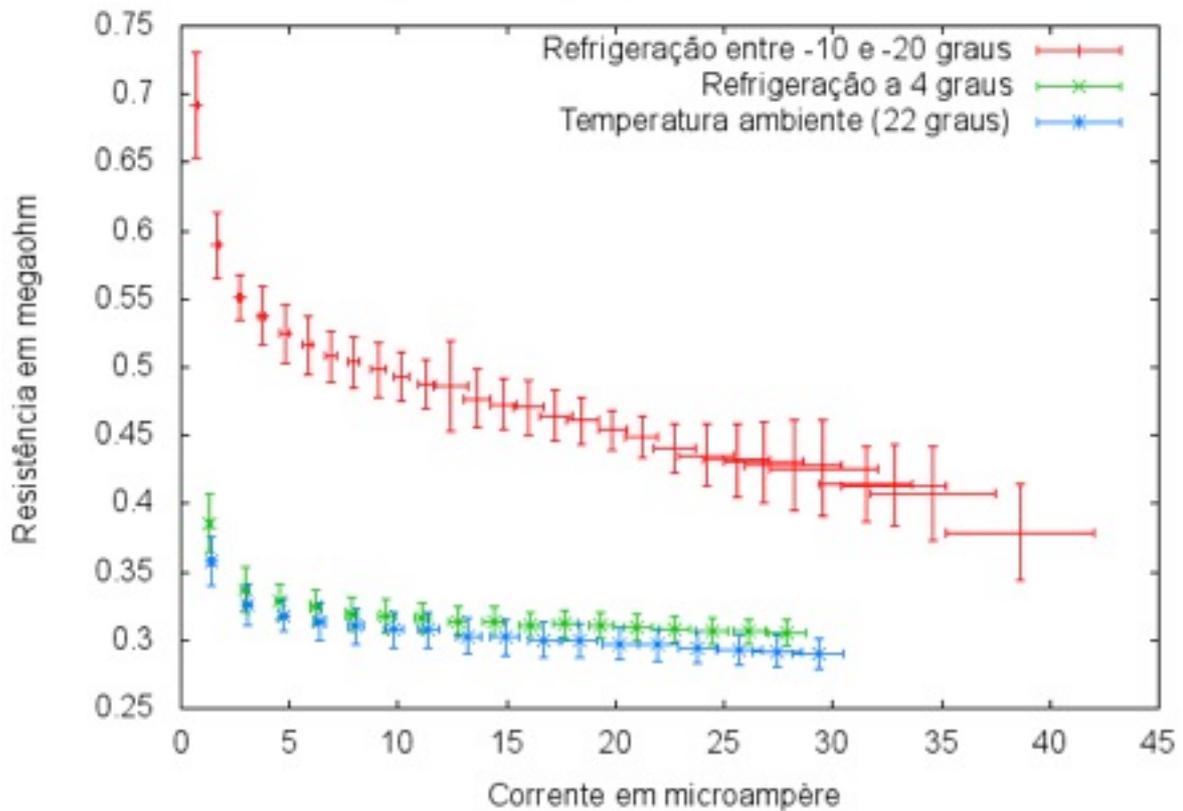
Tabela 1 - medição na qual ocorre obstrução do capilar

Tensão (kV)	Corrente (uA)
14.5	36.2
14.0	31.2
13.5	29.7
13.0	28.4
12.5	27.0
12.0	25.5
11.5	24.2
11.0	22.7
10.5	21.4
10.0	20.4
9.5	19.2
9.0	18.3
8.5	17.3
8.0	16.4
7.5	15.3
7.0	14.2
6.5	13.1
6.0	12.0
5.5	11.0
5.0	9.9
4.5	8.8
4.0	0.1
3.5	0.0
3.0	0.0
2.5	0.0
2.0	0.0
1.5	0.0
1.0	0.0
0.5	0.0

A figura 7 apresenta o aumento na resistência elétrica total quando o resfriamento é a temperaturas negativas. Se o aumento da resistência fosse devido somente à redução na mobilidade, esperaria-se que esse aumento fosse semelhante ao que ocorre no resfriamento a 4 graus. Para explicar esse fenômeno, é necessário levar em conta algum outro fenômeno além da redução da mobilidade.

Por fim, a hipótese do colapso do lúmen do capilar e os resultados obtidos no cálculo do diâmetro remanescente não colapsado do capilar, calculados no subcapítulo seguinte, são coerentes.

Figura 7 - Comparação entre as resistências

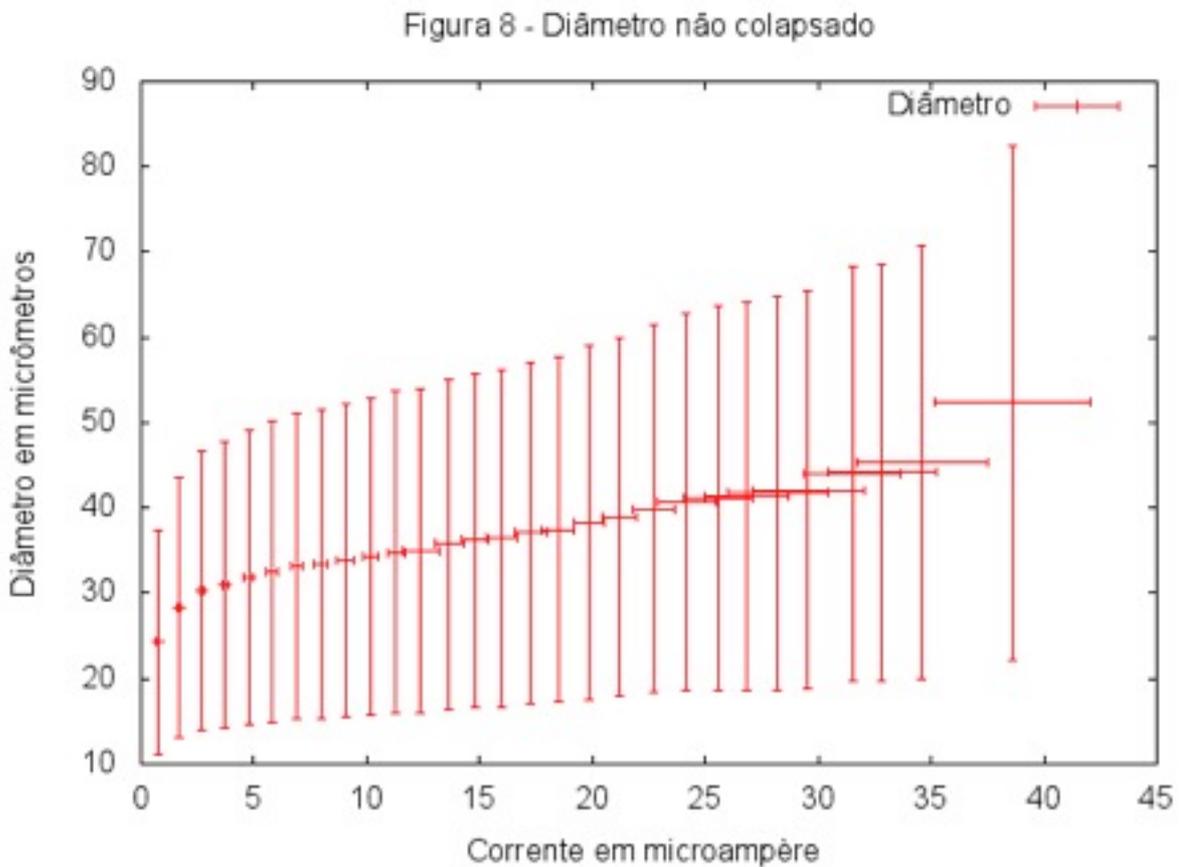


### 3.5 Obtenção dos valores de $d$ e $E$

Utilizando-se das equações obtidas no subcapítulo 1.3.1, dos dados de resistividade, do comprimento e seção transversal do capilar e dos dados da figura 6, é possível estimar a evolução do diâmetro interno não colapsado  $d$  do capilar. Para este cálculo, aproxima-se que a resistividade  $\rho(T) = \rho_4$ . Isso é razoável pois, havendo condução elétrica, a solução tampão deve estar próxima da sua temperatura de congelamento. Por sua vez, a temperatura de congelamento de água destilada é próxima a 4 °V.

A elevada imprecisão pode ser explicada por um conjunto de fatores. Os reservatórios de solução tampão podem estar desnivelados, causando assim um escoamento no capilar. O resfriamento pode gerar partículas de tetraborato de sódio ao longo do lúmen, já que a solubilidade dos sais em água é muito baixa próximo da

temperatura de congelamento. A presença do reservatório de líquido refrigerante afeta a temperatura no arredor do experimento. Por final, a cada ensaio existe uma variação significativa de vazão e de temperatura do líquido refrigerante.



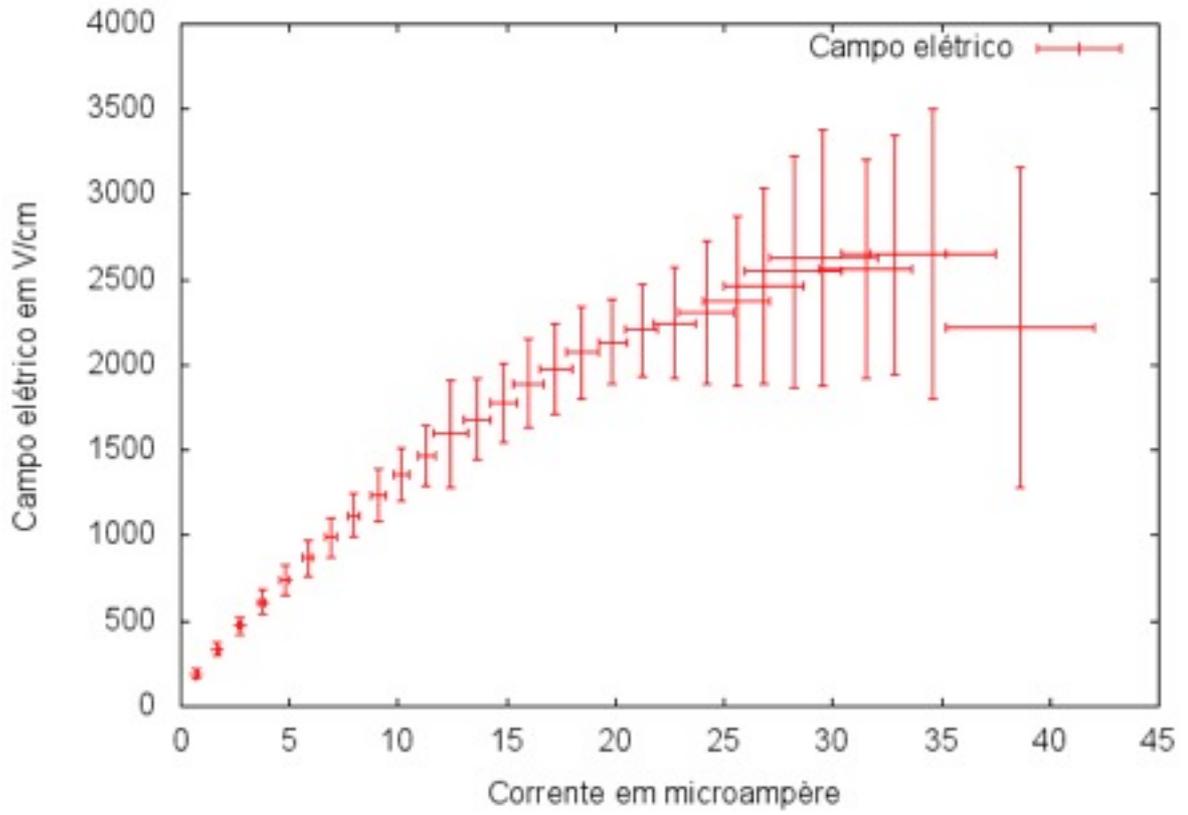
Lembra-se que o diâmetro interno do capilar é de  $50\mu m$ .

Mais significativamente, com o auxílio da equação obtida no subcapítulo 1.4, calculou-se o valor do campo na seção resfriada para cada valor de corrente elétrica (figura 9). Novamente, utiliza-se a aproximação de que todo o aumento na resistência é concentrado na porção central de 1,5 cm resfriada e de que, dentro dela, o campo elétrico é constante.

A título de ilustração, percebe-se que a cerca de  $25\mu A$ , o campo elétrico toma um valor de aproximadamente

. Mesmo considerando-se um valor de  $1900\frac{kV}{cm}$ , ainda é três vezes maior que os maiores valores encontrados na literatura (HENLEY e JORGENSON, 2012), de  $600\frac{kV}{cm}$ .

Figura 9 - Campo elétrico



## 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Durante a realização deste Trabalho de Conclusão de Curso, alcançou-se a criação de uma montagem inédita de na qual há um aumento localizado do campo elétrico. Porém, o layout ainda é muito rudimentar, o que se manifesta nos elevados valores de incerteza nas medidas realizadas.

Devido ao reduzido tempo disponível para obtenção dos dados, após as dificuldades na elaboração do equipamento, somente foram realizados 4 ensaios experimentais. Esse fato contribuiu para o aumento das já elevadas incertezas.

Apesar disso, os resultados apresentados indicam fortemente que a hipótese, de possibilidade de eletroforese com congelamento da solução próximo às paredes do capilar, é válida. Resta melhorar a montagem experimental para que se possa observar com mais detalhes e medidas mais precisas a proposta Eletroforese em Campos Elétricos Ultra-Altos.

O principal resultado obtido no Trabalho é os campos elétricos da ordem de 2kV/cm. Esse resultado é inédito na literatura e, se confirmado, irá permitir uma série de avanços na análise de biomoléculas, além de outros desdobramentos.

### 4.1 Perspectivas futuras

- Realização de mais ensaios experimentais, tendo em vista aumentar a validade estatística.
- Aperfeiçoar o controle sobre a temperatura do líquido refrigerante.
- Estabelecer as condições que maximizem o campo elétrico dentro da porção resfriada.
- Acoplar um microscópio de fase, ou alguma outra técnica, para observar diretamente o colapso do lúmen.
- Elaborar um modelo teórico ou computacional para o fenômeno do congelamento dentro do lúmen do capilar e compará-lo com os dados obtidos.
- Utilizar o sistema como indutor de reações químicas.

- Utilizar o sistema como indutor de desnaturação de proteínas.
- Adicionar ácidos nucleicos à solução tampão, tendo em vista observar a possível fragmentação dos mesmos.
- Explorar o regime não-linear em EC (BARANY, 2009).
- Submeter um artigo para publicação em periódico internacional.

## REFERÊNCIAS

- SKOOG, D. A. et al. **Princípio de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.
- SCHNITZER, O.; YARIV, E.. Strong-field electrophoresis. **Journal of Fluid Mechanics**, v. 701, p. 333-351, jun. 2012.
- BARANY, S. Electrophoresis in strong electric fields. **Advances in Colloid and Interface Science**, 2009.
- HENLEY, W. H.; JORGENSON, J. W. Ultra-high voltage capillary electrophoresis >300 kV: Recent advances in instrumentation and analyte detection. **Journal of Chromatography A**, 2012.
- KUMAR, A et al. Measurements of the fluid and particle mobilities in strong electric fields. **Physics of Fluids**, v. 18, 2012.
- HUTTERER, K. M.; JORGENSON, J. W. Ultrahigh-Voltage Capillary Zone Electrophoresis. **Analytical Chemistry**, v. 71, n. 7, p. 1293-1297, 1 abr. 1999.
- JORGENSON, J. W.; LUKACS, K. Zone Electrophoresis in open tubular glass capillaries. **Analytical Chemistry**, v. 53, pp. 11298-1302, 1982.
- KIST, T. B. L. **Eletroforese capilar de zona**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Física, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1993.
- DANIELI, R. **Transferência de calor e controle de temperatura em tubos capilares utilizados em eletroforese capilar**. Dissertação de Mestrado, Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2005.
- WEINBERGER, R. **Practical Capillary Electrophoresis**. 1. ed. San Francisco: Academic Press, 1993.
- TISELIUS, A. A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixture. **Trans. Faraday Soc.**, v.33, pp. 524-531.
- HALLIDAY, D. et al. **Fundamentos de Física: volume 3**. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.
- AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S. **Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins**. 1. ed. Rio de Janeiro: Interciência, 2003.
- VIRTANEN, R. Zone electrophoresis in a narrow-bore tube employing potentiometric detection: a theoretical and experimental study. **Finnish Academy of Technical Sciences**, 1974.