

FÁBIO ADHEMAR DA SILVA RAHAL



**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MÉTODO PARA
MEDIÇÃO DE VAZÃO EM MICROCANAIS EMPREGANDO
INDICADORES DE pH**

CURITIBA

2017

FÁBIO ADHEMAR DA SILVA RAHAL

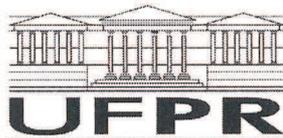
**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MÉTODO PARA
MEDIÇÃO DE VAZÃO EM MICROCANAIS EMPREGANDO
INDICADORES DE pH**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Engenharia e Ciência dos Materiais, Programa Interdisciplinar de Pós-Graduação em Engenharia, Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Cyro Ketzer Saul

CURITIBA

2017



TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **FABIO ADHEMAR DA SILVA RAHAL** intitulada: **DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE MÉTODO PARA MEDIÇÃO DE VAZÃO EM MICROCANAIS EMPREGANDO INDICADORES DE PH**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO.

CURITIBA, 19 de Abril de 2017.

CYRO KETZER SAUL

Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

RODRIGO PERITO CARDOSO

Avaliador Interno (UFPR)

CHRISTIAN JOHANN LOSSO HERMES

Avaliador Interno (UFPR)

JACOBUS WILLIBRORDUS SWART

Avaliador Externo (UNICAMP)

MARIO RICARDO GONGORA RUBIO

Avaliador Externo (IPT)

Eu creio em mim mesmo, creio nos que trabalham comigo, creio nos meus amigos e creio na minha família. Creio que Deus me emprestará tudo que necessito para triunfar, contanto que eu me esforce para alcançar com meios lícitos e honestos. Creio nas orações e nunca fecharei meus olhos para dormir, sem pedir antes a devida orientação a fim de ser paciente com os outros e tolerante com os que não acreditam no que eu acredito. Creio que o triunfo é resultado de esforço inteligente, que não depende da sorte, da magia, de amigos, companheiros duvidosos ou de meu chefe. Creio que tirarei da vida exatamente o que nela colocar. Serei cauteloso quando tratar os outros, como quero que eles sejam comigo. Não caluniarei aqueles que não gosto. Não diminuirei meu trabalho por ver que os outros o fazem. Prestarei o melhor serviço de que sou capaz, porque jurei a mim mesmo triunfar na vida, e sei que o triunfo é sempre resultado do esforço consciente e eficaz. Finalmente, perdoarei os que me ofendem, porque compreendo que às vezes ofendo os outros e necessito de perdão.

Mahatma Gandhi

TABELA DE FIGURAS

Figura 1– Valores das dimensões relevantes dos canais e de vazões associadas aos sensores, com destaque (linha tracejada) nos valores relacionados aos sensores microfluídicos. FONTE: O autor (2017).	21
Figura 2 – Em (a) é apresentada uma configuração completa contendo um sistema de bombeamento e aquisição de dados, um reservatório de líquido, o sensor microfluídico de vazão e a plataforma microfluídica (adaptado da referência [23]). Em (b) é mostrada uma foto de um SMV comercial da empresa Sensirion, destacando as suas dimensões (adaptado da referência [24]).	22
Figura 3 – Classificação dos SMV segundo os princípios envolvidos nas medidas da vazão. FONTE: O autor (2017).	24
Figura 4 – Ilustração do princípio de funcionamento de um SMV térmico que utiliza o método anemométrico. FONTE: O autor (2017).	26
Figura 5 – Acima uma ilustração do princípio de funcionamento de um SMV térmico que utiliza o método calorimétrico. FONTE: O autor (2017). Abaixo uma imagem dos componentes de um SMV térmico real (adaptado da referência [36])	27
Figura 6 - Ilustração do princípio de funcionamento de um SMV térmico que utiliza o método tempo de voo (TOF). FONTE: O autor (2017).	28
Figura 7 – Em (a) é apresentada uma imagem de um SMV térmico multimodo e em (b) um desenho esquemático do referido dispositivo (adaptado da referência [41])	30
Figura 8 – Ilustração da configuração de um SMV térmico comercial. FONTE: O autor (2017).	31
Figura 9- Ilustrações e imagens de diferentes SMV mecânicos (adaptados das referências [56], [28] e [57])	33
Figura 10 - Ilustrações e imagens de diferentes SMV mecânicos (adaptados das referências citadas no texto).....	35
Figura 11 – Em (a) é ilustrado o princípio de funcionamento de um sensor de vazão que utiliza o efeito Coriolis e em (b) é mostrada uma imagem de um sensor microfabricado, para aplicações em microfluídica e que utiliza o mesmo princípio (Adaptado da referência [64]).	36
Figura 12 – Imagem de um pesquisador com um SMV micro Coriolis em mãos (Imagem adaptada do site do fabricante [66]).	37
Figura 13 – Ilustração de princípios de funcionamento de SMV que utiliza (a) medidas elétricas de admitância e (b) de variação de resistência elétrica associada à composição do fluido. Adaptados respectivamente das referências [13] e [27].	38
Figura 14 – Ilustrações de alguns SMV que utilizam marcadores eletroquímicos (a) referente ao trabalho de Richter e colaboradores [68], (b) referente ao trabalho de Wu & Sansen [69] e (c) referente ao trabalho de Poghossian & Yoshinobu [32] (adaptados).	41
Figura 15 – (a) Ilustração do processo de oxidação e redução da Hexamina de Rutênio (III) utilizada em um SMV desenvolvido por Amatore e colaboradores [19] e (b) simulação por método de elementos finitos realizada no trabalho de Kjeang e colaboradores [70], adaptados.	42

Figura 16 – Ilustração do princípio de funcionamento de um sistema de medição de vazão empregando uma solução que altera sua fluorescência em função da temperatura [71].	44
Figura 17- (a) Uma ilustração da sequência de imagens utilizada na técnica da μ PIV [31], (b) uma imagem de micropartículas fluorescentes em meio aquoso [72] e (c) um exemplo de montagem experimental utilizada na μ PIV [20].	45
Figura 18 – A figura ilustra o processo de determinação da vazão utilizando o deslocamento de bolhas de ar dentro de um microcanal (Adaptado de [74]).	46
Figura 19 – (a) Ilustração de um SMV que combina princípios térmicos (anemométrico) e ópticos (adaptado da referência [75]) e (b) a ilustração de outro SMV que combina princípios térmico (calorimétrico) com princípios de detecção óptica (adaptado da referência [30]).	48
Figura 20 – Ilustração do método TOF. FONTE: O autor (2017).	50
Figura 21 – (a) Micrografia de um dispositivo que emprega o método TOF e utiliza um aquecedor e vários sensores suspensos (adaptado da referência [77]) e (b) Micrografia SMV térmico que utiliza uma cavidade de isolamento térmico (Adaptada da referência [43]).	51
Figura 22 – A linha tracejada representa o sinal de excitação elétrica aplicada no gerador para gerar uma variação de concentração na solução e a linha cheia representa o sinal detectado no receptor. Adaptado da referência [14].	53
Figura 23 - Ilustração do perfil de velocidade nas proximidades do eletrodo (emissor) e da espessura da região de alteração δS para $PeH \gg 1$ (Adaptado da referência [80]).	54
Figura 24 – Resultados de simulações computacionais por método de elementos finitos para um sensor atuando em diferentes condições de escoamento, caracterizadas pelo número de Peclet PeH . (Adaptado da referência [80]).	56
Figura 25 – Ilustração forma de um pulso de marcador que se propaga no interior de um microcanal, em diferentes instantes de tempo. Adaptado das referências [81] e [84].	58
Figura 26 – Ilustração do processo de detecção do pulso. FONTE: O autor (2017).	61
Figura 27- Sinais detectados em um SMV térmico que emprega o método TOF e utiliza dois sensores consecutivos ao longo do microcanal (Adaptado da referência [77]).	62
Figura 28 - Sinais detectados em um SMV térmico que emprega o método TOF para vários valores de vazões impostas, destacando-se o pico de cada curva (Adaptado da referência [47]).	63
Figura 29 – Ilustração da posição relativa entre o sensor e o emissor de luz, os eletrodos e o canal microfluídico. FONTE: O autor (2017).	67
Figura 30 – Desenho esquemático dos processos eletroquímicos envolvidos na geração do sinal óptico utilizado no método de medição de vazão desenvolvido neste trabalho de doutorado. FONTE: O autor (2017).	69
Figura 31– Etapas do funcionamento: (a) antes, (b) durante e (c) depois da aplicação do pulso de tensão nos eletrodos. (d) Apresenta o pulso de tensão nos eletrodos e da intensidade luminosa detectada no sensor de luz em função do tempo. FONTE: O autor (2017).	70
Figura 32– Plataforma microfluídica. FONTE: O autor (2017).	72
Figura 33 – Camadas que compõem a plataforma microfluídica. FONTE: O autor (2017).	73

Figura 34 – Etapas do processo de construção dos eletrodos metálicos sobre a camada e PMMA. FONTE: O autor (2017).	77
Figura 35 – Em ambas as fotos são mostrados dois eletrodos de Platina com 100 nm de espessura com uma camada de adesão de Cromo de 20 nm. Em (a) os eletrodos antes do teste e em (b) os mesmos eletrodos após os testes. FONTE: O autor (2017).	78
Figura 36 - Etapas do processo de construção dos eletrodos metálicos adaptado para a utilização do adesivo dupla face. FONTE: O autor (2017).	79
Figura 37 – Etapas da montagem das camadas que compõem a plataforma microfluídica. FONTE: O autor (2017).	80
Figura 38 – Detalhes da geometria da plataforma microfluídica e definição das dimensões relevantes. FONTE: O autor (2017).	81
Figura 39 – Imagem SMV utilizada na determinação das dimensões dos componentes através do software ImageJ. FONTE: O autor (2017).	82
Figura 40 – Em (a) o módulo contendo o emissor de luz (LED) e em (b) o módulo contendo o sensor de luz. FONTE: O autor (2017).	83
Figura 41 – Sensor de luz ambiente TEMT6000 (Sparkfun electronics) [99]. FONTE: O autor (2017).	83
Figura 42 – Em (a) é apresentado um esquema da integração dos módulos do emissor de luz (parte superior), do sensor de luz (parte inferior) e a plataforma microfluídica (intermediária). Em (b) é mostrado um dispositivo completamente integrado. FONTE: O autor (2017).	84
Figura 43 - Visão dos detalhes internos do sistema integrado. Essa figura possibilita observar a posição do sensor e do emissor de luz em relação aos eletrodos e ao canal microfluídico. FONTE: O autor (2017).	84
Figura 44 – Ilustração de um Arduino UNO R3 [100].	85
Figura 45 – Esquema das funções desempenhadas pela plataforma Arduino no SMV de vazão. FONTE: O autor (2017).	86
Figura 46 - Ilustração das funções executadas pela IDE do Arduino (em laranja) e das funções executadas pelo LabView (em vermelho) durante o funcionamento do sensor de vazão. FONTE: O autor (2017).	87
Figura 47 – Interface gráfica para controle e visualização do comportamento do sistema criada com o software Labview. FONTE: O autor (2017).	88
Figura 48 – Montagem experimental para os testes de vazão. FONTE: O autor (2017).	90
Figura 49 - Bomba de infusão Harvard Apparatus 11 plus [101].	91
Figura 50 – Procedimento para determinação do tempo de voo com base nas medidas realizadas durante a operação do SMV. FONTE: O autor (2017).	93
Figura 51 - Relação entre o tempo de voo (ms) e a vazão imposta ($\mu\text{l}/\text{min}$) para o dispositivo 1 ($H = 75 \mu\text{m}$ e $L_c = 1 \text{ mm}$).	96
Figura 52 – Sobreposição dos gráficos de tempo de voo (ms) em função vazão imposta ($\mu\text{l}/\text{min}$) para os testes envolvendo a variação da largura dos canais.	97
Figura 53 – Detalhes do gráfico apresentado na Figura 52 para o intervalo (a) de 0-10 $\mu\text{l}/\text{min}$ e (b) de 10-40 $\mu\text{l}/\text{min}$.	98

Figura 54 - Sobreposição dos gráficos de tempo de voo (ms) em função vazão imposta ($\mu\text{l}/\text{min}$) para os testes envolvendo a variação da altura dos canais.	99
Figura 55 - Detalhes do gráfico apresentado na Figura 54 para o intervalo de 40-160 $\mu\text{l}/\text{min}$	100
Figura 56 – Relação entre o tempo de voo e a vazão imposta para valores de vazão inferiores a 5 $\mu\text{l}/\text{min}$	102
Figura 57 – Comparação das faixas de vazão entre sensores comerciais (azul), sensores TOF apresentados na literatura (vermelho e amarelo) e os sensores desenvolvidos neste trabalho de doutorado (entre as linhas tracejadas). As faixas de vazão foram extraídas das tabelas que constam no ANEXO I.	103
Figura 58 – Gráficos do tempo de voo em função da vazão imposta e o ajuste de curvas (a) para o dispositivo 1, (b) para o dispositivo 2 e (c) para o dispositivo 3.	106
Figura 59 - Gráficos do tempo de voo em função da vazão imposta para o dispositivo 4 com tempos de duração de pulso iguais 500, 700 e 1000 ms.	107
Figura 60 – Gráfico do tempo de voo em função da velocidade média do escoamento, para o dispositivo com canal de altura igual a 300 μm	109
Figura 61 – Gráfico do tempo de voo em função da vazão imposta no microcanal obtido para o dispositivo com altura de canal igual a 300 μm . Este gráfico foi obtido através da simulação no Excel e utilizando a equação (23). No mesmo gráfico, os dados experimentais obtidos para o mesmo dispositivo são apresentados, a título de comparação.	111
Figura 62 – Gráfico da velocidade do pulso de marcador em função da velocidade média do escoamento do fluido no microcanal. Em (a) são apresentados os gráficos para cada um dos dispositivos e em (b) o mesmo gráfico, mas destacando-se a região onde os valores das velocidades são mais baixos.	112
Figura 63 - Gráfico do tempo de voo em função da vazão imposta no microcanal obtido para o dispositivo com altura de canal igual a 300 μm . Este gráfico foi obtido através da simulação no Excel e utilizando a equação (24) para dois diferentes valores de u_{ax} . No mesmo gráfico, os dados experimentais também são apresentados, a título de comparação.	113
Figura 64 – Em (a) é apresentada uma vista lateral do microcanal, dos eletrodos e da área de detecção do sensor óptico. A vista lateral em (a) corresponde a região central do microcanal destacado nas figuras (b) e (c).	114
Figura 65 – Pulsos de concentração de OH – obtidos através da simulação com o Comsol Multiphysics para o dispositivo com altura igual a 300 μm na faixa de vazão entre 5 – 200 $\mu\text{l}/\text{min}$	116
Figura 66 - Gráficos do tempo de voo em função da vazão obtidos através da simulação no COMSOL utilizando os parâmetros do anexo IV. São apresentados os gráficos para três diferentes canais com alturas iguais a 300, 150 e 75 μm e larguras iguais a 3 mm. Os dados experimentais referentes a cada um dos dispositivos também são apresentados a título de comparação.	117
Figura 67 – As figuras acima mostram o perfil de concentração de OH ⁻ nas proximidades do eletrodo gerador (cátodo) em diferentes instantes de tempo (a) 1s, (b) 2s e (c) 3s após o início da simulação, para o canal de 75 μm de altura.	119

Figura 68 - As figuras acima mostram o perfil de concentração de OH ⁻ nas proximidades do eletrodo gerador (cátodo) em diferentes instantes de tempo (a) 1s, (b) 2s e (c) 3s após o início da simulação, para o canal de 150 μm de altura.	120
Figura 69 - As figuras acima mostram o perfil de concentração de OH ⁻ nas proximidades do eletrodo gerador (cátodo) em diferentes instantes de tempo (a) 1s, (b) 2s e (c) 3s após o início da simulação, para o canal de 300 μm de altura.	121
Figura 70 – Perfil de concentração de OH ⁻ no instante em que o máximo passa pela região de detecção, simuladas no COMSOL para o canal de 75 μm de altura. São apresentadas três situações com diferentes valores de vazão onde (a) corresponde a um valor próximo ao limite inferior, (b) um valor intermediário e em (c) um valor próximo ao limite superior.	123
Figura 71 - Perfil de concentração de OH ⁻ no instante em que o máximo passa pela região de detecção, simuladas no COMSOL para o canal de 150 μm de altura. São apresentadas três situações com diferentes valores de vazão onde (a) corresponde a um valor próximo ao limite inferior, (b) um valor intermediário e em (c) um valor próximo ao limite superior.	124
Figura 72 - Perfil de concentração de OH ⁻ no instante em que o máximo passa pela região de detecção, simuladas no COMSOL para o canal de 300 μm de altura. São apresentadas três situações com diferentes valores de vazão onde (a) corresponde a um valor próximo ao limite inferior, (b) um valor intermediário e em (c) um valor próximo ao limite superior.	125
Figura 73 – (a) Gráficos da variação de concentração ao longo de uma linha vertical com altura igual à do canal (300 μm), posicionada na posição central da região de detecção do sensor óptico. Cada uma das curvas corresponde a um valor de vazão na faixa de 5 – 200 μl/min. Em (b) é apresentada uma parte da camada de difusão, onde na posição central está a linha de referência e as duas linhas mais externas limitam a região de detecção do sensor óptico. A seta em (b) indica a posição de referência considerada para estimar a altura da camada de difusão. A situação em (b) está associada ao valor de vazão igual a 150 μl/min.	126
Figura 74 – Gráfico da altura do pulso de marcado em função da vazão imposta no microcanal. No mesmo gráfico são apresentados os valores medidos nessa pesquisa, através da simulação no COMSOL e os valores calculados utilizando a equação (8).	127
Figura 75 – Gráfico apresentando sucessivos sinais detectados pelo SMV no teste de estabilidade utilizando o dispositivo 4 com $t_p = 500$ ms, $Dt = 30$ s e $Q = 5 \mu\text{l}/\text{min}$	148
Figura 76 - Sinais registados pelo SMV para diferentes valores de vazão imposta. Neste teste foi utilizado o dispositivo 3 com um tempo de pulso igual a 1000 ms.	149
Figura 77 – Detalhes da malha utilizada na simulação com o COMSOL.	152
Figura 78 - Perfil de velocidade de escoamento do fluido em regime estacionário, para uma vazão imposta de 30 μL/min.	153
Figura 79 – Forma do pulso de tensão utilizado na simulação com o COMSOL.	154

LISTA DE SÍMBOLOS

ρ - Massa específica

\vec{u} - Velocidade

\bar{u} - Velocidade escalar média associada ao escoamento

μ - Coeficiente de viscosidade absoluta ou viscosidade dinâmica

p - Pressão

Re - Número de Reynolds

Pe - Número de Peclet

D_h - Diâmetro hidráulico

R_h - Resistência hidráulica

Q - Vazão

V - Diferença de potencial elétrico

t_p - Duração temporal do pulso de tensão

Dt - Intervalo de tempo entre os pulsos de tensão consecutivos

L_c - Largura do canal microfluídico

C_c - Comprimento do canal microfluídico

L_e - Largura do eletrodo

C_e - Comprimento do eletrodo

D_{es} - Distância entre o eletrodo e o sensor

D_{ee} - Distância entre os eletrodos

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

SMV	Sensor microfluídico de vazão
μTAS	Micro Total Analysis System
LOC	Lab on a Chip
PDMS	Polidimetilsiloxano
PMMA	Polimetilmetacrilato
PEEK	Polyether ether ketone
EDL	Electric double layer
CC	Corrente contínua
CCD	Charge-coupled device
ISFET	Ion-sensitive field-effect transistor
PIV	Particle image velocimetry
TOF	Time of flight
FBG	Fiber Bragg grating
LED	Light Emitting Diode
IDE	Integrated Development Environment
EPH	Eletrodo padrão de hidrogênio

RESUMO

O controle e o monitoramento da vazão são características fundamentais em determinadas aplicações das plataformas microfluídicas. Nestes sistemas, as medidas de vazão são realizadas em canais de dimensões micrométricas e usualmente na faixa de 10^{-9} a 10^{-3} litros por minuto. A literatura relata a existência de uma diversidade de sensores microfluídicos de vazão (SMV). Os sensores relatados com maior frequência empregam princípios térmicos em seus funcionamentos. As restrições associadas aos SMV, tanto os apresentados na literatura quanto os disponíveis comercialmente, em conjunto com a crescente evolução dos sistemas *Lab-on-Chip*, resultam no aumento da demanda por novos SMV. Este trabalho apresenta o desenvolvimento de um SMV cujo funcionamento envolve uma combinação de princípios eletroquímicos e ópticos. O dispositivo mede o tempo de voo (sigla em inglês - TOF) ao monitorar opticamente uma perturbação eletroquímica produzida no fluido que contém uma substância indicadora de pH (vermelho de fenol). Na construção do SMV foi empregado o PMMA (polimetilmetacrilato) como material estruturante e filmes adesivos, com espessuras da ordem de micrometros, na definição dos canais microfluídicos. O sistema de controle e aquisição de dados foi desenvolvido a partir de uma plataforma de prototipagem eletrônica aberta (Arduíno UNO R3). A caracterização do SMV foi efetuada medindo o tempo de voo em função da vazão imposta pelo sistema de bombeamento. Foram utilizados canais com larguras variando de 1 a 3 mm e alturas entre 75 e 300 μm . A variação na altura do microcanal mostrou ter uma maior influência sobre a sensibilidade dos dispositivos. Os SMV desenvolvidos neste trabalho possibilitaram realizar medidas de vazão entre 0,7-150 $\mu\text{l}/\text{min}$, com resoluções variando de 0,1 $\mu\text{l}/\text{min}$ a 10 $\mu\text{l}/\text{min}$. Com base nas análises dos resultados obtidos no processo de caracterização dos dispositivos, uma função que correlaciona o tempo de voo com a vazão imposta no microcanal foi proposta. Além da vazão e dos fatores geométricos, esta função leva em consideração outros três fatores: o tempo de *delay* (t_d), termo de velocidade associado à difusão na direção axial (u_{ax}) e o coeficiente de proporcionalidade entre a velocidade média no microcanal e a velocidade média do pulso de marcador (c). A validação desta função foi realizada através de simulações numérica (Excel) e de elementos finitos (Comsol). A função proposta nesta pesquisa se destaca por possibilitar a descrição do tempo de voo de um pulso de marcador em situações onde o mesmo não atinge o topo do canal ($Gz > 1$) e também no caso onde os efeitos da difusão são comparáveis a velocidade de propagação ($\bar{u} \sim u_{ax}$).

ABSTRACT

Flow rate control and monitoring are key parameters in certain microfluidic platforms applications. In those systems, flow rate measurements are usually performed in micrometric channels ranging from 10^{-9} to 10^{-3} liters per minute. The literature reports the existence of a variety of microfluidic flow rate sensors (SMV in portuguese). The most common being those employing thermal principles of operation. The restrictions associated with available SMV and the growing Lab-on-Chip systems trends yield the development of new SMVs. This work presents the development of a SMV whose operation involves a combination of electrochemical and optical principles. The device measures the Time of Flight (TOF) by optically monitoring an electrochemical disturbance produced in the fluid. The polymer PMMA (polymethylmethacrylate) was employed in the SMV construction as the structural material. Adhesive films with thicknesses in the order of microns were used to define the channels height and also for sealing. The control system and data acquisition were developed by mean of an open source electronic prototyping platform (Arduino UNO R3). The SMV characterization was performed by measuring the TOF in function of the flow rate imposed by the pumping system. Initially the relationship between the sensor dimensions and the measurement sensitivity was investigated. Channels of 1, 2 and 3 mm width and $75 \mu m$ height were used for characterization. Channels of 3 mm width and height varying from 75 to $300 \mu m$ were also used. It was found that the height of the microchannel has a direct effect on the device sensitivity. The SMV developed in this work proved to be able to perform flow rate measurements ranging from 0.7 to $150 \mu l/min$ with resolutions ranging from 0.1 to $10 \mu l/min$. Through the analyses of results obtained during the devices' characterization, a function that correlates time of flight with the imposed flow rate was proposed. Besides flow rate and geometric factors, this function takes into account three others factors: the delay time (t_d), the axial diffusion velocity (u_{ax}) and the proportionality coefficient between the microchannel mean velocity and the maker pulse mean velocity (c). The proposed function validation was performed through numeric and finite element simulations. The goal of this proposed function is to describe the time of flight in conditions where de maker pulse does not reach the microchannel top ($Gz > 1$) and also when the diffusion effects are comparable to the mean velocity ($\bar{u} \sim u_{ax}$).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS	16
1.2. ORGANIZAÇÃO DA TESE.....	19
2. SENSORES MICROFLUÍDICOS DE VAZÃO	20
2.1. O QUE É UM SENSOR MICROFLUÍDICO DE VAZÃO (SMV)?	20
2.2. FUNCIONAMENTO	23
2.2.1. <i>Classificação</i>	24
2.3. ESTADO DA ARTE.....	26
2.3.1. <i>SMV térmicos</i>	26
2.3.2. <i>Sensores comerciais</i>	30
2.3.3. <i>SMV mecânicos</i>	32
2.3.3.1. Elemento móvel (<i>Cantilever</i>).....	32
2.3.3.2. Sensores de vazão por pressão diferencial	34
2.3.3.3. SMV Coriolis	36
2.3.4. <i>SMV elétricos</i>	37
2.3.5. <i>Utilização de Marcadores</i>	39
2.3.5.1. Eletroquímicos	39
2.3.5.2. Corantes (tintas e indicadores).....	43
2.3.5.3. Microesferas (velocimetria óptica)	44
2.3.5.1. Bolhas.....	46
2.3.6. <i>SMV híbridos</i>	46
3. MÉTODO DO TEMPO DE VOO (TOF)	49
3.1. DESCRIÇÃO DO MÉTODO DO TEMPO DE VOO TOF	49
3.2. TOF TÉRMICO VS ELETROQUÍMICO	50
3.3. MÉTODO DO TEMPO DE VOO EMPREGANDO MARCADORES ELETROQUÍMICOS.....	53
3.3.1. <i>Geração do pulso de concentração</i>	53
3.3.2. <i>Propagação do pulso de concentração</i>	57
3.3.3. <i>Detecção do pulso de concentração</i>	60
3.3.4. <i>Expressão analítica para o tempo e voo t_v</i>	64

3.4. OBJETIVOS	66
4. RESULTADOS.....	67
4.1. DESCRIÇÃO DO PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO	67
4.2. CONSTRUÇÃO DOS SMVS	71
4.2.1. <i>Indicadores de pH e sensores ópticos</i>	71
4.2.2. <i>Projeto e construção da plataforma microfluídica</i>	72
4.2.2.1. Estrutura PMMA	73
4.2.2.2. Definição dos canais microfluídicos	73
4.2.2.3. Processo de tratamento (limpeza) do PMMA	74
4.2.2.4. Deposição dos eletrodos	75
4.2.2.5. Fechamento dos dispositivos.....	79
4.2.2.6. Dimensões nominais e posicionamento dos componentes	80
4.2.3. <i>Dimensões do SMV</i>	81
4.2.4. <i>Sistema de controle e aquisição de dados</i>	82
4.2.4.1. Hardware	82
4.2.4.2. Software	87
4.3. CARACTERIZAÇÃO DOS SMV	90
4.3.1. <i>Montagem experimental</i>	90
4.3.1.1. Bomba de infusão.....	91
4.3.2. <i>Determinação do tempo de voo</i>	93
4.4. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMENTO DOS SMVS EM RELAÇÃO AS DIMENSÕES DOS CANAIS	94
4.4.1. <i>Faixa de vazão e a largura do canal</i>	94
4.4.2. <i>Faixa de vazão e a altura do canal</i>	99
4.4.3. <i>Limite inferior de vazão</i>	101
4.4.4. <i>Resolução das medidas</i>	102
4.5. ANÁLISES E SIMULAÇÕES RELACIONADAS AO TEMPO DE VOO DO PULSO DE MARCADOR E SUA DISTRIBUIÇÃO EM RELAÇÃO AO CANAL	104
4.5.1. <i>Análise das curvas de tempo de voo em função da vazão imposta</i>	104
5. CONCLUSÃO	132
REFERÊNCIAS.....	135
ANEXOS	145

1. INTRODUÇÃO

1.1. CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A microfluídica é um campo multidisciplinar de pesquisa e tecnologia que envolve o transporte, o processamento e a análise de fluidos em estruturas de dimensões micrométricas [1]. Os estudos nesta área viabilizaram o desenvolvimento de tecnologias que permitem o controle preciso de escoamentos envolvendo valores muito pequenos de vazões (mililitros a nanolitros por minuto). Estas tecnologias microfluídicas, por sua vez, têm contribuído de maneira significativa para o avanço em aplicações dentro de diversas áreas como a biologia, química, medicina, materiais, dentre outras.

O início da microfluídica, na década de 80, foi marcado pelo desenvolvimento de dispositivos independentes como microbombas, microválvulas e sensores microfluídicos de vazão, que forneceram a base para a manipulação precisa e automatizada de volumes muito pequenos de fluidos. Entretanto, a microfluídica ganhou grande destaque e passou a ser amplamente difundida com o desenvolvimento dos primeiros *Micro Total Analysis System* (μ TAS) ou *Lab on a Chip* (LOC). Estas plataformas microfluídicas combinam a manipulação precisa de fluidos com processos de preparação (amostras e reagentes) e sistemas de detecção, também em escala reduzida, compondo verdadeiros laboratórios miniaturizados [2].

As plataformas microfluídicas surgem como alternativa aos métodos convencionais de manipulação de fluidos (manuais ou automatizados) utilizados em laboratórios, oferecendo novas possibilidades. Dentre as principais vantagens citadas na literatura estão: as dimensões reduzidas das plataformas microfluídicas (portabilidade em alguns casos); o reduzido consumo de reagentes e amostras; a alta capacidade de paralelização de processos; o reduzido tempo de resposta; alta sensibilidade; e a possibilidade de automação completa dos processos [3].

Ao longo do desenvolvimento da microfluídica diversos tipos de plataformas foram propostos e desenvolvidos. Estas plataformas podem ser classificadas de acordo com princípio de condução do fluido no sistema, que pode ser: por capilaridade, por diferença de pressão, por força centrífuga, eletrocinética ou acústica

[2]. A condução de fluidos por pressão é o princípio mais importante e frequentemente utilizado nas plataformas microfluídicas. Neste caso, é necessária a utilização de sistemas auxiliares como bombas de seringa, microbombas ou reservatórios elevados (colunas de fluido) no fornecimento de vazão [3].

O monitoramento e o controle da vazão são requisitos em grande parte das plataformas microfluídicas conduzidas por pressão e fundamentais em determinadas aplicações. Exemplos destas aplicações incluem as plataformas microfluídicas utilizadas na produção de materiais de dimensões micrométricas e submicrométricas como micropartículas, microesferas, microbolhas, microcápsulas [4]. O controle preciso da vazão é crucial e influencia diretamente no processo formação destas estruturas. Uma pequena variação na vazão pode levar a alterações significativa na forma, taxa de formação e na dispersão em relação ao tamanho das estruturas produzidas [5][6].

Em plataformas microfluídicas aplicadas na citometria de fluxo o monitoramento contínuo dos valores de vazão é necessário para determinar a concentração de células na solução de transporte [7]. O controle preciso da vazão também possui grande relevância nas plataformas microfluídicas aplicadas em: processos de separação de células, apresentando relação direta com a eficiência do processo[8][9]; reações químicas controladas, associado ao fornecimento de volumes precisos de reagentes e a taxa de reação em microrreatores [10]; geração de gradientes de concentração, influenciando a faixa de concentração fornecida pelo dispositivo [11]; injeção e dosagem precisa de fluidos [12].

Os sensores microfluídicos de vazão (SMV) são componentes chave no monitoramento e o controle da vazão em sistemas microfluídicos. Estes sensores podem ser utilizados como dispositivos independentes, quantificando e monitorando os valores de vazão em determinados pontos de uma plataforma microfluídica, ou utilizados em conjunto com atuadores (microbombas ou microválvulas), formando sistemas de controle de vazão em malha fechada [12].

O desenvolvimento dos SMV deve levar em consideração as características do escoamento em sistemas microfluídicos, o processo de miniaturização (compatibilidade com as dimensões dos sistemas microfluídicos) e, em muitos casos, necessidades específicas das aplicações em que serão empregados (resistência

química, biocompatibilidade, etc.). A combinação de todos estes aspectos é o principal desafio no desenvolvimento dos SMV [13].

Com a redução nas dimensões dos sistemas, os fenômenos de superfície (capilaridade, tensão superficial e forças viscosas) tornam-se mais significativos do que os fenômenos de volume (forças inerciais), conferindo aos escoamentos microfluídicos características distintas dos escoamentos macroscópicos. A principal delas é a predominância do regime laminar. O número de Reynolds nos sistemas microfluídicos é tipicamente inferior a 100 [14].

Grande parte dos sensores utilizados na medição de vazão em canais microfluídicos são miniaturizações e adaptações de métodos macroscópicos, tais como a anemometria térmica, a força de arraste sobre elementos móveis e a velocimetria por imagem de partículas [13]. Porém, com a redução de escala alguns métodos inviáveis na escala macroscópica, tornam-se acessíveis fornecendo novas alternativas para a determinação da vazão, por exemplo a utilização de medidas de admitância elétrica [15].

O desenvolvimento dos métodos para a medição de vazão em sistemas microfluídicos tem-se baseado na busca por sensores que possibilitem medir vazões cada vez menores (inferiores a microlitros por minuto), com boa resolução e ampla faixa de medição. Atualmente, muitos dispositivos estão relatados na literatura e alguns disponíveis comercialmente. Entretanto, a grande e crescente gama de aplicações em que os sensores de vazão são necessários tem gerado uma demanda contínua de novos tipos de sensores. Além dos parâmetros de operação mencionados (limite inferior de medida, faixa de medida e resolução), a simplificação no processo de construção, a facilidade de implementação, redução de custos e a compatibilidade de dimensões com as plataformas microfluídicas, são algumas das características que ainda necessitam de melhorias.

Inicialmente nessa tese serão abordados alguns conceitos gerais relacionados aos sensores microfluídicos de vazão e também uma revisão bibliográfica contendo os principais dispositivos e métodos relatados na literatura. Estas informações servirão tanto para situar o leitor quanto para definir as lacunas no estado da arte e, conseqüentemente, os objetivos dessa pesquisa de doutorado. Na seqüência a organização dessa tese é apresentada.

1.2. ORGANIZAÇÃO DA TESE

Essa tese foi estruturada na forma de capítulos. O capítulo 1 apresenta uma breve introdução sobre o tema abordado na pesquisa de doutorado. No capítulo 2 são apresentadas algumas definições, os principais pontos do estado da arte relacionado ao desenvolvimento dos sensores microfluídicos de vazão. No capítulo 3, são abordados pontos específicos relacionados ao método utilizado nessa pesquisa (o método do tempo de voo). No final do capítulo 3, após definidas as lacunas no estado da arte, são descritos os objetivos gerais e específicos desta tese. No capítulo 4 são apresentados detalhadamente todos os resultados obtidos. Neste capítulo, inicialmente são tratados pontos relativos ao processo de construção dos sensores microfluídicos de vazão. Na sequência, são descritos os detalhes da montagem experimental utilizada nos testes, dos procedimentos experimentais executados e dos métodos de análises utilizados. Os testes e as simulações realizadas, bem como os resultados obtidos e as discussões também são apresentados no capítulo 4. Por fim, no capítulo 5 é realizada a conclusão da tese. Todos os livros e artigos, citados em ordem numérica ao longo do texto, são mostrados no capítulo referências. Anexos constam no final dessa tese.

2. SENSORES MICROFLUÍDICOS DE VAZÃO

2.1. O QUE É UM SENSOR MICROFLUÍDICO DE VAZÃO (SMV)?

Um sensor de vazão é um dispositivo que pode conter diversos componentes e cuja finalidade é fornecer um sinal elétrico diretamente relacionado à vazão de um fluido que escoar por um conduto [16]. Esta é uma definição geral que serve tanto para os sensores aplicados a escoamentos na escala macroscópica, aqui denominados sensores convencionais, quanto para os sensores microfluídicos de vazão (SMV).

Os SMV são sensores de vazão para aplicações específicas em escoamentos laminares, característicos da microfluídica, onde há predominância das forças viscosas em relação às forças inerciais ($Re < 100$). Neste caso, sensores convencionais que funcionam com base em princípios inerciais, como sensores de deslocamento positivos, são ineficientes [14].

Os baixos valores assumidos pelo número de Reynolds e a predominância do regime laminar do escoamento estão diretamente relacionados às dimensões da seção transversal do canal, onde a medida de vazão é realizada, à faixa de vazão e à viscosidade dinâmica (μ) do fluido envolvido. Dentre estas características, as dimensões dos canais e os valores de vazões são utilizados para delinear a diferença entre os sensores microfluídicos de vazão (SMV) e os sensores de vazão convencionais. Os critérios e valores apresentados neste trabalho têm como única finalidade fornecer um ponto de referência ao leitor e não a pretensão de estabelecer limites.

Os SMV são desenvolvidos para realizar medidas em canais com diâmetros hidráulicos (D_H) inferiores a $200 \mu m$ [17]. Em geral, são microcanais de seção transversal retangular, com largura (w) entre $10 \mu m$ e 2 mm e altura (h) entre $10 \mu m$ e $500 \mu m$ [18][19][20]. O comprimento (l) dos microcanais relatados na literatura varia de milímetros a centímetros, mas esta medida não é levada em consideração nos critérios de classificação pois não é determinante na definição do perfil do escoamento.

A faixa de vazão na qual os SMV são empregados envolve valores inferiores a 10 ml/min [13]. Porém, a maioria dos sensores microfluídicos relatados na literatura

opera na faixa de vazão entre $0,1 \mu\text{l}/\text{min}$ e $1000 \mu\text{l}/\text{min}$. ($1 \text{ ml}/\text{min}$) Estes valores de vazão, em geral, estão abaixo do valor mínimo detectável pelos sensores convencionais ou são valores nos quais os sensores apresentam uma elevada imprecisão nas medidas. Em situações que envolvam vazões acima de $10 \text{ ml}/\text{min}$ e canais com valores de diâmetro hidráulico superiores a 2 mm , os sensores convencionais são adequados [21].

A Figura 1 ilustra as informações a respeito das dimensões relevantes dos canais e dos valores de vazão, destacando os valores que característicos para os SMV.

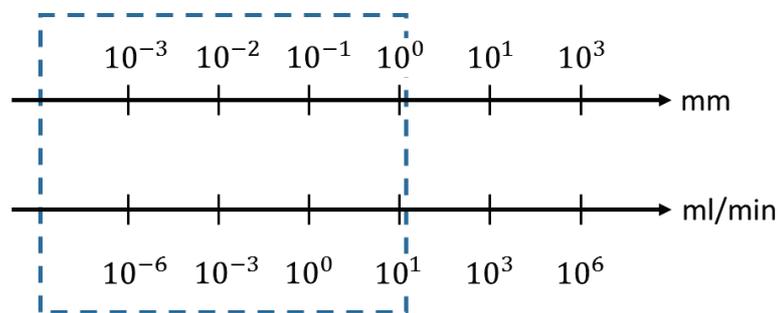


Figura 1– Valores das dimensões relevantes dos canais e de vazões associadas aos sensores, com destaque (linha tracejada) nos valores relacionados aos sensores microfluídicos. FONTE: O autor (2017).

As dimensões totais dos dispositivos não são utilizadas para classificá-los como sensores microfluídicos de vazão. Por exemplo, a maioria dos dispositivos comerciais tem dimensões grandes se comparadas as das plataformas microfluídicas (Figura 2). No entanto, trabalhos acadêmicos destacam a necessidade de SMV com dimensões totais reduzidas de modo que possam ser integrados as plataformas microfluídicas sem comprometer a miniaturização das mesmas [22]. Esse é um dos desafios no desenvolvimento dessa categoria de sensores.

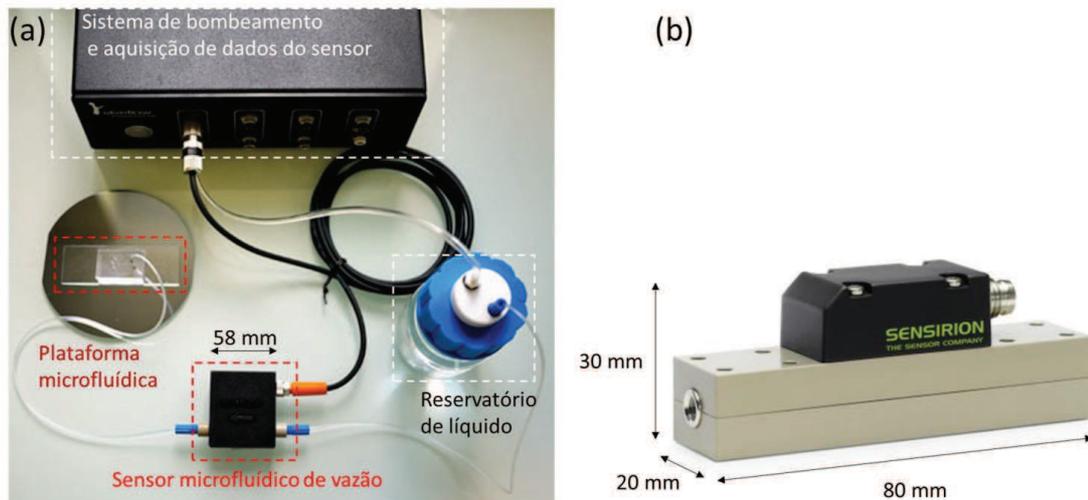


Figura 2 – Em (a) é apresentada uma configuração completa contendo um sistema de bombeamento e aquisição de dados, um reservatório de líquido, o sensor microfluídico de vazão e a plataforma microfluídica (adaptado da referência [23]). Em (b) é mostrada uma foto de um SMV comercial da empresa Sensirion, destacando as suas dimensões (adaptado da referência [24]).

Os SMV não comerciais, relatados em trabalhos acadêmicos, envolvem dimensões menores e enfatizam a compatibilidade de dimensões e a integração com os sistemas microfluídicos. Entretanto, grande parte destes dispositivos desconsidera os equipamentos auxiliares, fundamentais para o funcionamento do sensor (ou método) proposto, como fontes de tensão, medidores, sistemas ópticos, dentre outros, comprometendo a miniaturização do sistema microfluídico.

As características dos fluidos envolvidos no escoamento, da mesma forma que nos sensores convencionais, influenciam no funcionamento dos SMV. Os sistemas microfluídicos podem envolver escoamentos de gases ou líquidos. O presente trabalho tem como foco os SMV aplicados na medida de vazão de líquidos. Neste caso, os escoamentos ainda podem envolver um único líquido, dois ou mais líquidos diferentes em confluência num mesmo canal ou ainda líquidos com materiais em suspensão como microgotas ou micropartículas (gotículas de óleo ou materiais biológicos, por exemplo) [14].

Conhecer as características do líquido é fundamental tanto na escolha de um sensor adequado para determinadas aplicações quanto no desenvolvimento de novos SMV. Em geral, o funcionamento dos SMV é dependente das propriedades físico-químicas dos fluidos, principalmente da viscosidade e das propriedades térmicas (condutividade e capacidade térmica).

Outra característica importante em relação aos SMV é o tipo de escoamento envolvido. Os escoamentos em sistemas microfluídicos podem ser estacionários ou pulsados (oscilatórios). Nos escoamentos estacionários a vazão se mantém constante em relação ao tempo enquanto nos escoamentos pulsados a vazão apresenta uma dependência temporal (periódica ou não). O tipo de escoamento é definido pelo sistema de bombeamento utilizado. Nas plataformas microfluídicas conduzidas por pressão os sistemas de bombeamentos mais utilizados são as bombas de seringa (infusão), as microbombas e os reservatórios elevados (colunas de fluido) [2].

As bombas de seringa são dispositivos robustos, precisos e capazes de fornecer vazões em uma ampla faixa de valores. Também são dispositivos de comportamento bem conhecido e de ampla disponibilidade comercial. Estas características certamente contribuíram para o fato das bombas de seringa serem amplamente utilizadas na microfluídica. Entretanto, o escoamento pulsado associado ao bombeamento pode afetar negativamente alguns sistemas microfluídicos sensíveis a pequenas variações na vazão. Este é o caso das plataformas de produção de microgotas, onde o escoamento pulsado contribui para a polidispersão no tamanho das estruturas produzidas [25] e também dos sensores microfluídicos de vazão podendo resultar em imprecisões nas medidas.

2.2. FUNCIONAMENTO

A maneira mais prática e amplamente utilizada nos SMV para determinar a vazão é utilizando a medida da velocidade (média) associada ao escoamento [13]. Conhecida a área da seção transversal (A) e a velocidade média (\bar{u}), num determinado ponto do microcanal, a vazão volumétrica (Q) pode ser calculada pela equação a seguir:

$$Q = \int_A u \, dA = \bar{u}A \quad (1)$$

Onde

$$\bar{u} = \frac{1}{A} \int_A u \, dA \quad (2)$$

Para determinar a velocidade são utilizados transdutores. No entanto, a velocidade não é determinada diretamente. Os transdutores medem grandezas associadas ao escoamento que possuem relação com a velocidade. Estas grandezas podem ser associadas a interações diretas entre o fluido e o transdutor ou a interações entre um sinal gerado no escoamento, na forma de marcadores, e o transdutor.

2.2.1. Classificação

Os SMV são classificados de acordo com o princípio utilizado nas medidas de vazão que podem envolver grandezas: térmicas, mecânicas, ópticas, elétricas e eletroquímicas (Figura 3). Cada uma destas classes pode apresentar diferentes métodos de operação. Por exemplo, os SMV térmicos possuem três métodos mais comuns: a anemometria (fio ou filme aquecido), a calorimetria e o tempo de voo (sigla em inglês TOF, *time-of-flight*) [26][27].

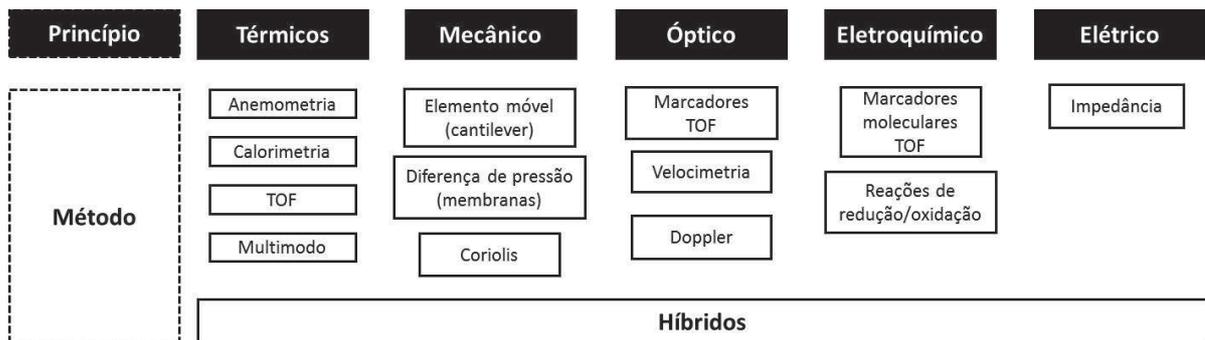


Figura 3 – Classificação dos SMV segundo os princípios envolvidos nas medidas da vazão. FONTE: O autor (2017).

Além da classificação quanto ao princípio de funcionamento, os sensores microfluídicos de vazão podem ser classificados como obstrutivos ou não-obstrutivos em relação a influência dos mesmos na resistência hidráulica do sistema. Sensores obstrutivos introduzem uma resistência hidráulica¹ adicional e significativa ao sistema microfluídico, podendo resultar em alterações nas características do escoamento.

¹ Nas plataformas microfluídicas conduzidas por pressão, valores elevados de resistência hidráulica resultam na necessidade de utilizar pressões mais elevadas. Em determinados casos, o aumento na pressão requerida para manter um determinado valor de vazão, devido ao aumento na resistência hidráulica do sistema, é alto a ponto de inviabilizar a utilização do sensor.

Para os não-obstrutivos, essa resistência adicional é pouco significativa, sendo desprezível em alguns casos, o que torna essa classe de sensores mais interessante para a maioria das aplicações [13].

As propriedades do fluido e do escoamento, bem como o princípio utilizado na medição e principalmente os aspectos relacionados à construção dos dispositivos, são fatores que definem as características de funcionamento dos SMV. As características de funcionamento, ou especificações, são especialmente úteis no processo de comparação de desempenho entre dispositivos. No caso dos SMV, as características relatadas com maior frequência na literatura, a título de comparações, são: a faixa de medição da vazão [28][29][30] - com ênfase no limite inferior de medição e na amplitude da faixa; a resolução (variação mínima detectável na medida); a repetitividade (precisão); a exatidão e o tempo de resposta [31][32].

Algumas características adicionais destacadas com importantes para o sucesso da aplicação dos SMV incluem: a compatibilidade de dimensões e facilidade de integração com sistemas microfluídicos [33]; a utilização de processos de fabricação simples [34] [35] e utilizando materiais de baixo custo [36]; procedimentos simples e baixa necessidade de equipamentos auxiliares para aquisição e análises de dados.

2.3. ESTADO DA ARTE

Nessa seção do trabalho serão apresentados os principais SMV relatados na literatura desde o início do seu desenvolvimento. O objetivo é apresentar de forma breve as características do funcionamento e as principais vantagens e desvantagens associadas à cada categoria de sensores. Há um destaque para os sensores térmicos e mecânicos, por serem os mais estudados e servirem de base para muitos dos dispositivos recentes. No anexo I deste trabalho encontra-se uma tabela com os principais sensores microfluídicos de vazão apresentados na literatura e algumas de suas características.

2.3.1. SMV térmicos

Desde o desenvolvimento dos primeiros SMV na década de 80 até os dias atuais, a categoria dos sensores que utilizam princípios térmicos tem sido a mais estudada e relatada na literatura. Os SMV térmicos são classificados com base no método de funcionamento sendo os três principais a anemometria de filme aquecido (*hot-film*), a calorimetria (ou difusão térmica) e o tempo de voo (TOF) [26]. Estes métodos envolvem a transferência de calor, por convecção forçada, entre um componente resistivo (fio ou filme) aquecido, denominado aquecedor, e o fluido que escoou nas suas proximidades.

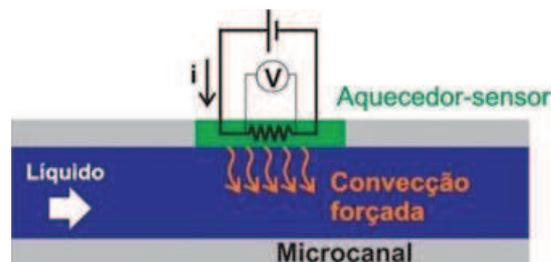


Figura 4 – Ilustração do princípio de funcionamento de um SMV térmico que utiliza o método anemométrico. FONTE: O autor (2017).

No método denominado anemometria de filme aquecido, o componente resistivo é aquecido continuamente, com a passagem de uma corrente elétrica, e a sua temperatura é monitorada (Figura 4). Esta temperatura depende da taxa de transferência de calor entre o aquecedor e o fluido, que por sua vez está relacionada com a velocidade do escoamento. A temperatura é determinada através das medidas

de resistência elétrica ou tensão sobre o aquecedor. Neste caso o componente resistivo é ao mesmo tempo aquecedor e sensor de temperatura [37].

No método denominado calorimetria, o elemento resistivo também é aquecido continuamente e são utilizados pelo menos dois sensores de temperatura, um posicionado antes e outro após o aquecedor, conforme a Figura 5. Este método leva em consideração a simetria do perfil de temperatura ao redor do aquecedor. Em uma situação onde não há escoamento do fluido, devido ao perfil simétrico da transferência de calor, ambos os sensores de temperatura registram valores iguais. Quando há escoamento de fluido pelo canal é observada uma assimetria no perfil da temperatura ao redor do aquecedor, associada à velocidade do escoamento. A velocidade do escoamento, e conseqüentemente a vazão, pode ser determinada com base nas diferenças de temperatura registradas pelos sensores. Esse método, ao contrário da anemometria, possibilita realizar medidas de vazão em ambos os sentidos de escoamento.

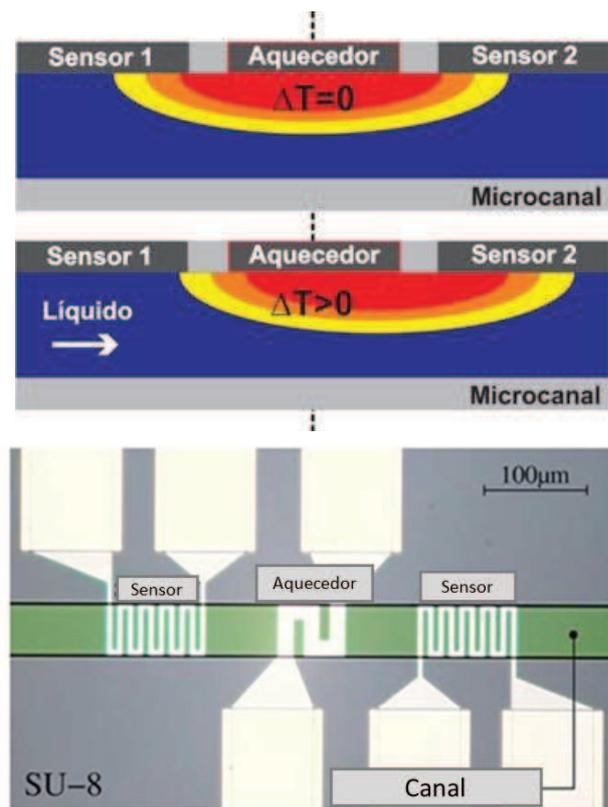


Figura 5 – Acima uma ilustração do princípio de funcionamento de um SMV térmico que utiliza o método calorimétrico. FONTE: O autor (2017). Abaixo uma imagem dos componentes de um SMV térmico real (adaptado da referência [36])

O método denominado tempo de voo (TOF) utiliza pelo menos um sensor de temperatura posicionado após o aquecedor. A transferência de calor do aquecedor para o fluido, neste caso, não é realizada de maneira contínua, mas sim na forma de um pulso de curta duração temporal. A variação de temperatura, gerada pela transferência de calor, percorre o canal no sentido do escoamento sendo detectada na forma de um pulso térmico pelo sensor de temperatura (Figura 6). O tempo necessário para que um pulso térmico gerado no aquecedor percorra uma distância conhecida ao longo do canal é monitorado. Essa informação é utilizada para determinar a velocidade média em um trecho do canal possibilitando a obtenção do valor da vazão.

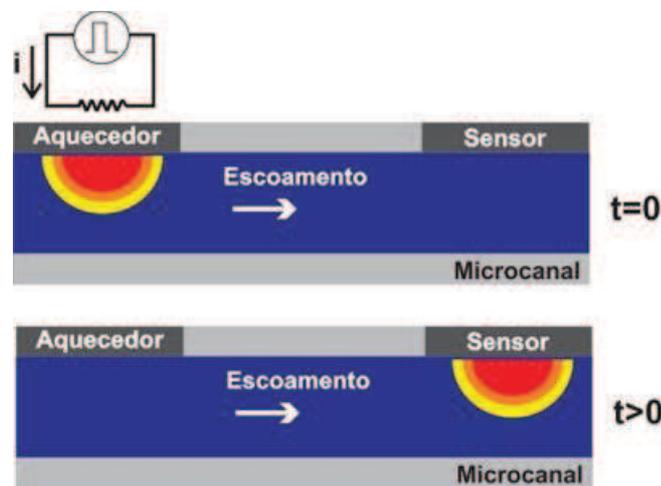


Figura 6 - Ilustração do princípio de funcionamento de um SMV térmico que utiliza o método tempo de voo (TOF). FONTE: O autor (2017).

A anemometria de filme aquecido é o método de operação mais simples e foi empregado em um dos primeiros trabalhos relacionados aos SMV, apresentado em 1985 [38]. Além da simplicidade, outra característica de destaque é a amplitude da faixa de vazão associada à este método [39][40]. A aplicação deste método é mais frequente em medidas de vazões superiores a $10 \mu\text{l}/\text{min}$ se estendendo a $500 \mu\text{l}/\text{min}$ [41][42].

O método denominado calorimétrico se destaca por apresentar alta sensibilidade e boa resolução em medidas envolvendo valores muito pequenos de vazão. Entretanto, apresenta uma amplitude de faixa de vazão inferior à dos outros métodos térmicos (considerando sistemas com dimensões similares). São relatados na literatura dispositivos com resoluções de até $5 \text{ nl}/\text{min}$, por outro lado, estes

dispositivos apresentam uma limitada amplitude na faixa de vazão compreendendo valores entre 50 nl/min a $2 \text{ } \mu\text{l/min}$, por exemplo [43]. A aplicação deste método é mais frequente em medidas de vazões entre $0,03 \text{ } \mu\text{l/min}$ e $30 \text{ } \mu\text{l/min}$ [44][45].

Os SMV térmicos desenvolvidos para medidas muito baixas de vazão (inferiores a $1 \text{ } \mu\text{l/min}$) e com resoluções da ordem de nl/min , têm como pontos desfavoráveis a necessidade de utilizar canais de dimensões muito reduzidas [22], gerando um aumento na resistência hidráulica do sistema, e a necessidade de utilização de componentes suspensos e cavidades para isolamento térmico, que tornam o processo de fabricação complexo [46].

O método menos explorado nos SMV térmicos é o tempo de voo. Este método se destaca pela sua menor dependência das propriedades térmicas dos fluidos em relação aos outros métodos (anemometria e calorimetria), o que resulta em uma maior facilidade de calibração do sensor [47]. Entretanto, como requer pulsos envolvendo temperaturas mais altas, este método é mais indicado para vazões maiores no intuito de evitar um aquecimento indesejado do dispositivo. A aplicação desse método é mais frequente em medidas de vazões entre 5 e $500 \text{ } \mu\text{l/min}$ [47]–[50].

As características de funcionamento como a vazão mínima detectável, amplitude da faixa de vazão e a resolução de medida dos sensores térmicos, envolvendo qualquer um dos referidos métodos, também são dependentes de fatores geométricos dos dispositivos como a largura e altura do canal e a distância entre os componentes (aquecedores e sensores de temperatura). Diversos trabalhos, tanto teóricos quanto experimentais, têm sido realizados buscando a otimização destes fatores geométricos [29], [42], [51], [52].

Levando em consideração que as características de funcionamento dependem tanto dos métodos empregados quanto dos fatores geométricos dos SMV, alguns trabalhos propuseram a construção de dispositivos que utilizam arranjos com múltiplos aquecedores e sensores de temperatura ao longo de um microcanal. Essa configuração possibilita selecionar diferentes distâncias entre os componentes (aquecedores e sensores) e operar utilizando diferentes métodos em um mesmo dispositivo [45], [49], [53]. Esse tipo de SMV térmico, denominado neste trabalho de multimodo, possibilita explorar as vantagens de cada um dos métodos citados e tem sido utilizado principalmente para obtenção de uma maior amplitude de faixa de vazão. Um exemplo é apresentado no trabalho de Meng e colaboradores. onde o SMV

térmico desenvolvido (Figura 7) possibilita selecionar entre os métodos anemometria, calorimetria e TOF e operar em diferentes faixas de vazões [37].

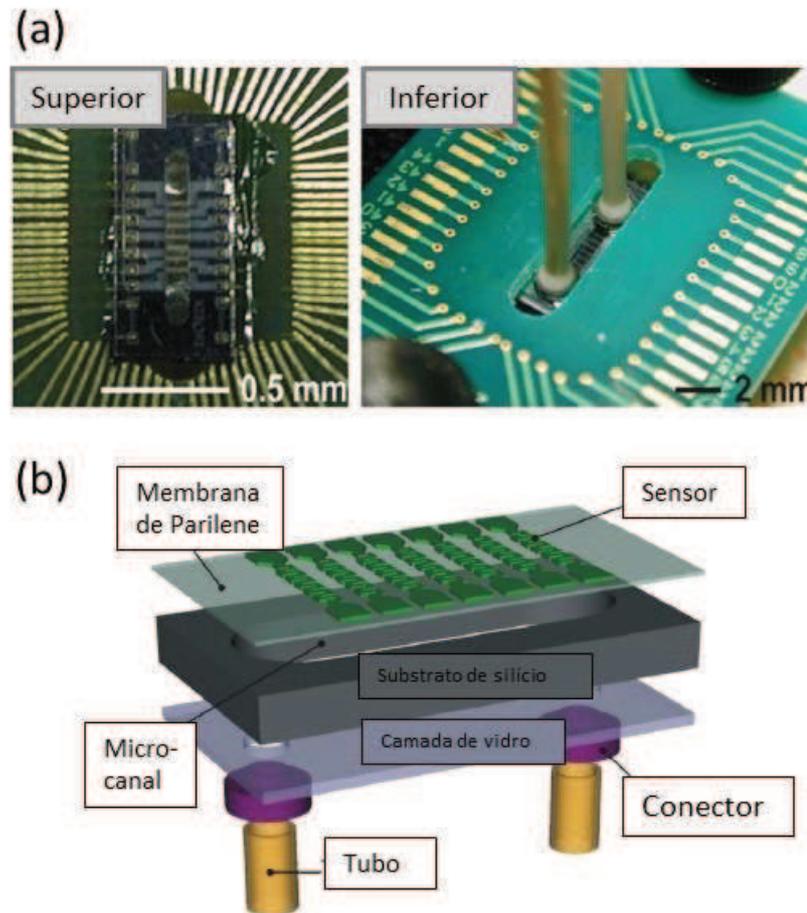


Figura 7 – Em (a) é apresentada uma imagem de um SMV térmico multimodo e em (b) um desenho esquemático do referido dispositivo (adaptado da referência [41])

De modo geral, os SMV térmicos apresentam vantagens como a não utilização de peças móveis e boa compatibilidade dimensional com sistemas microfluídicos, sendo facilmente integráveis aos mesmos. Dentre as desvantagens estão a deriva (*drift*) nas medidas ao longo do tempo de operação, devido à degradação dos transdutores, e a necessidade de caracterização (e calibração) do sensor de acordo com as características térmicas do fluido analisado.

2.3.2. Sensores comerciais

Dentre os SMV disponíveis comercialmente há uma predominância na utilização do princípio térmico. Em relação aos métodos, os sensores comerciais

utilizam principalmente a calorimetria e a anemometria. A configuração mais comum envolve um aquecedor e dois sensores, localizados respectivamente antes e depois do aquecedor, dispostos ao longo do canal [13]. No anexo I deste trabalho encontra-se uma tabela com os principais sensores microfluídicos de vazão comerciais disponíveis atualmente no mercado e algumas de suas características.

Uma característica de destaque dos SMV térmicos comerciais é a utilização de capilares de seção transversal circular na condução dos fluidos ao invés dos microcanais com seção retangular, frequentemente utilizados em trabalhos acadêmicos. Os capilares são preferencialmente feitos de materiais que apresentam boa condutividade térmica e resistência química. Dentre os mais comuns estão o aço inoxidável, a sílica fundida, o PEEK (*Polyether ether ketone*) e o Quartzo [43], [54]. O diâmetro interno dos capilares varia entre $25\ \mu\text{m}$ e $1,8\ \text{mm}$, dependendo da faixa de vazão característica do SMV (tipicamente entre $0,05\text{-}5000\ \mu\text{l}/\text{min}$) [23].

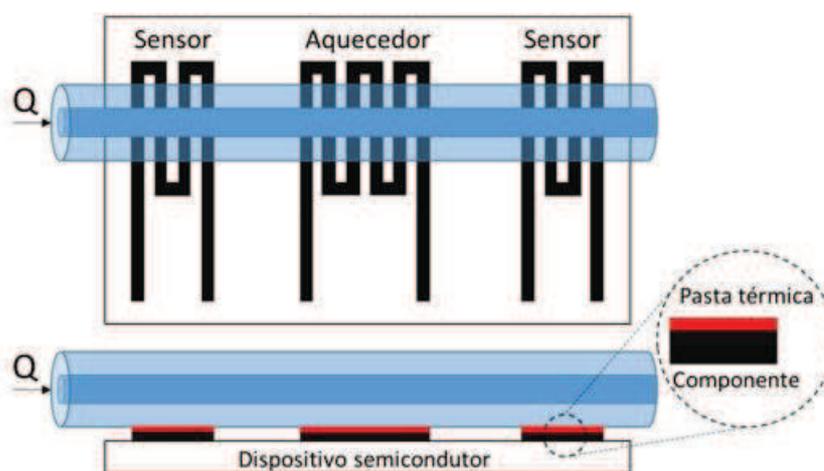


Figura 8 – Ilustração da configuração de um SMV térmico comercial. FONTE: O autor (2017).

A Figura 8 ilustra o funcionamento de um SMV térmico descrito na patente US6813944 B2 (2004), pertencente à empresa Sensirion AG [55]. Neste caso, o aquecedor e os sensores são integrados em um dispositivo semicondutor e este é acoplado a parte externa de um capilar. Para otimizar o contato térmico entre os componentes (aquecedor e sensores) são utilizadas camadas adesivas ou pastas com alta condutividade térmica. O fato dos componentes não estarem em contato direto com o fluido evita a formação de camadas de passivação e possíveis danos aos mesmos. Um SMV com características similares ao da referida patente é apresentado no trabalho de Weiping e colaboradores [54].

2.3.3. SMV mecânicos

O princípio de funcionamento de um SMV mecânico, envolve a interação entre o fluido e uma estrutura mecânica colocada sob a influência do escoamento. A deformação resultante da ação da força de arrasto sobre a estrutura é diretamente correlacionada com a velocidade do escoamento. Esse método foi proposto como uma alternativa aos métodos térmicos com a vantagem de não alterar as propriedades dos fluidos devido a variações na temperatura [56].

2.3.3.1. Elemento móvel (*Cantilever*)

Um exemplo de estrutura mecânica utilizada é o *cantilever*. Essa estrutura é colocada perpendicular ao escoamento e deflete em função da força de arrasto. Diferentes técnicas têm sido propostas para medir esta deflexão e incluem a utilização de transdutores piezoresistivos (Figura 9a) [56] e, em alguns trabalhos mais recentes, a utilização de princípios ópticos. No trabalho de Liem & Wollmer utilizou-se uma fibra óptica modificada como *cantilever* (Figura 9b). A variação da intensidade de um feixe de luz que atravessa pelo interior da fibra e chega a um detector é utilizada para determinar a deflexão [28]. Já no trabalho de Noeth e colaboradores, a deflexão do *cantilever* é determinada utilizando um feixe de laser que reflete sobre uma superfície acoplada ao *cantilever*. O feixe refletido é detectado por um fotodiodo sensível a posição e sua variação é correlacionada com a deflexão do *cantilever* (Figura 9c) [57].

Os SMV mecânicos se destacam pela linearidade no processo de transdução, pelo reduzido tempo de resposta e pela ampla faixa de vazão [57]. Por outro lado, esta categoria de dispositivos apresenta baixa sensibilidade, comprometendo a resolução nas medidas de vazão. Para os SMV mecânicos, na maioria dos casos, a menor variação de vazão detectável é próxima a $2 \mu\text{l}/\text{min}$ [58], enquanto para os SMV térmicos esse valor pode chegar a $5 \text{ nl}/\text{min}$. Com base nesta limitação os SMV mecânicos são aplicados em sistemas envolvendo vazões superiores a $5 \mu\text{l}/\text{min}$.

O SMV apresentado no trabalho de Noeth e colaboradores é uma exceção e possibilita realizar medidas com resolução de $3 \text{ nl}/\text{min}$. O ponto negativo deste

dispositivo é seu elevado caráter obstrutivo que pode inviabilizar sua utilização com sensor de vazão em determinadas aplicações² [59].

A utilização de peças móveis, o complexo processo de fabricação, a influência da viscosidade do líquido no funcionamento (relação com a força de arrasto) e a propensão a falhas na presença de material particulado são fatores que podem restringir a utilização desse tipo de sensor [60].

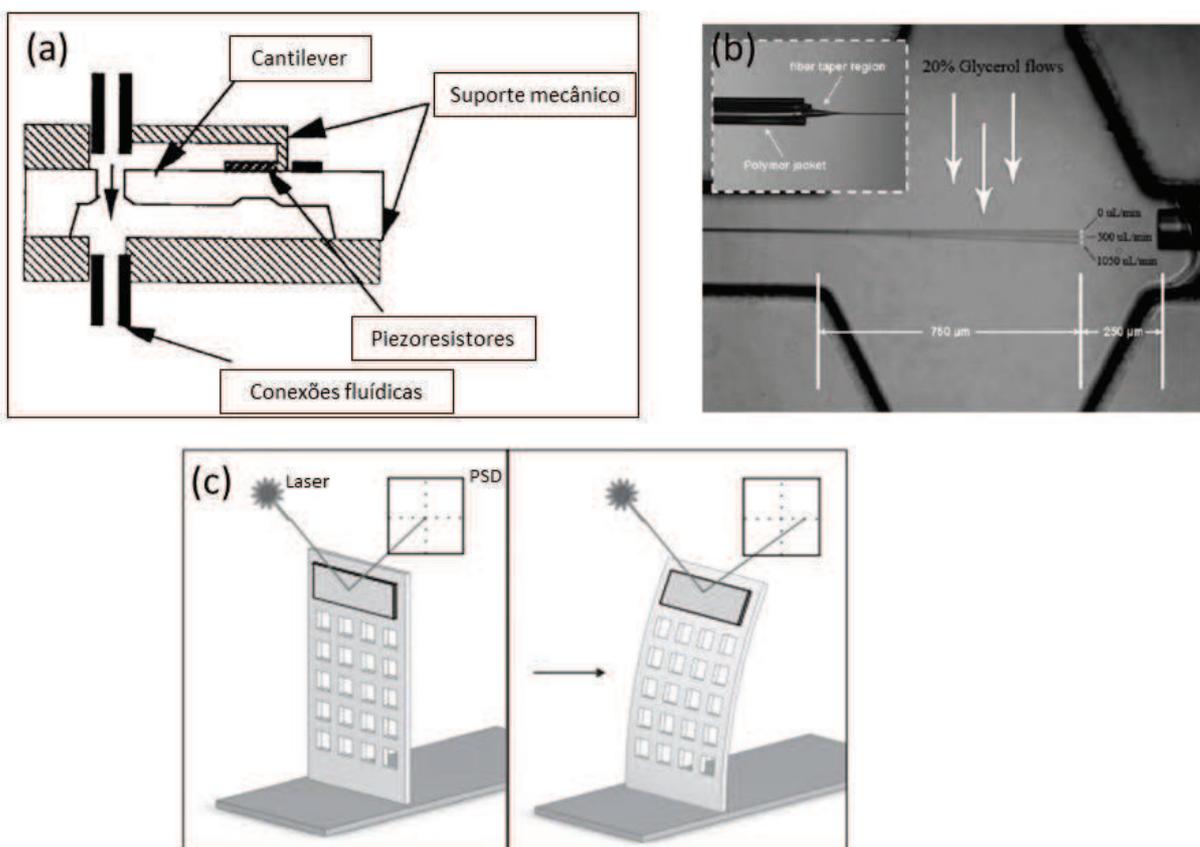


Figura 9- Ilustrações e imagens de diferentes SMV mecânicos (adaptados das referências [56], [28] e [57])

² No trabalho de Noeth e colaboradores (2011) os autores propuseram um dispositivo para medição de vazão. Entretanto no trabalho publicado pelos mesmos em 2013 [59], devido ao grande caráter obstrutivo do dispositivo, os autores propuseram o mesmo dispositivo como um medidor de flutuações nos valores de vazão, aplicável em calibrações de sistemas de bombeamento.

2.3.3.2. Sensores de vazão por pressão diferencial

Devido ao fato do escoamento em microcanais ser predominantemente laminar, a diferença de pressão ao longo de um canal, com dimensões da seção transversal constantes, é proporcional a velocidade do escoamento e pode ser expressa da maneira a seguir [13]:

$$\Delta p = 32 \frac{\mu L}{D_h^2} \bar{u}, \quad (3)$$

onde L é o comprimento do canal, D_h é o diâmetro hidráulico³, μ é a viscosidade dinâmica e \bar{u} é a velocidade média do escoamento. Essa relação direta entre a diferença de pressão entre dois pontos e a velocidade é utilizada em certos tipos de SMV denominados sensores de pressão diferencial. Nesse caso, são utilizados dois transdutores de pressão posicionados ao longo do microcanal.

Um dos primeiros SMV a utilizar este método para medição de vazões em líquidos foi apresentado no trabalho de Boillat e colaboradores, em 1995 [61]. O SMV desenvolvido utilizava transdutores piezoresistivos e era capaz de medir vazões entre 0,8 e 330 $\mu\text{l}/\text{min}$ com uma resolução de aproximadamente 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ (Figura 10 a). Outros trabalhos utilizaram configurações semelhantes mas transdutores diferentes como membranas capacitivas [62] e materiais piezelétricos [63] (Figura 10 b-c). O sensor apresentado por Kuoni e colaboradores era capaz de detectar vazões entre 0,5 e 5 $\mu\text{l}/\text{min}$ com uma resolução de 0,5 $\mu\text{l}/\text{min}$ (Figura 10 c) [63].

³ $D_h = \frac{4A}{P}$, onde A é a área da seção transversal e P é o perímetro da seção transversal do conduto.

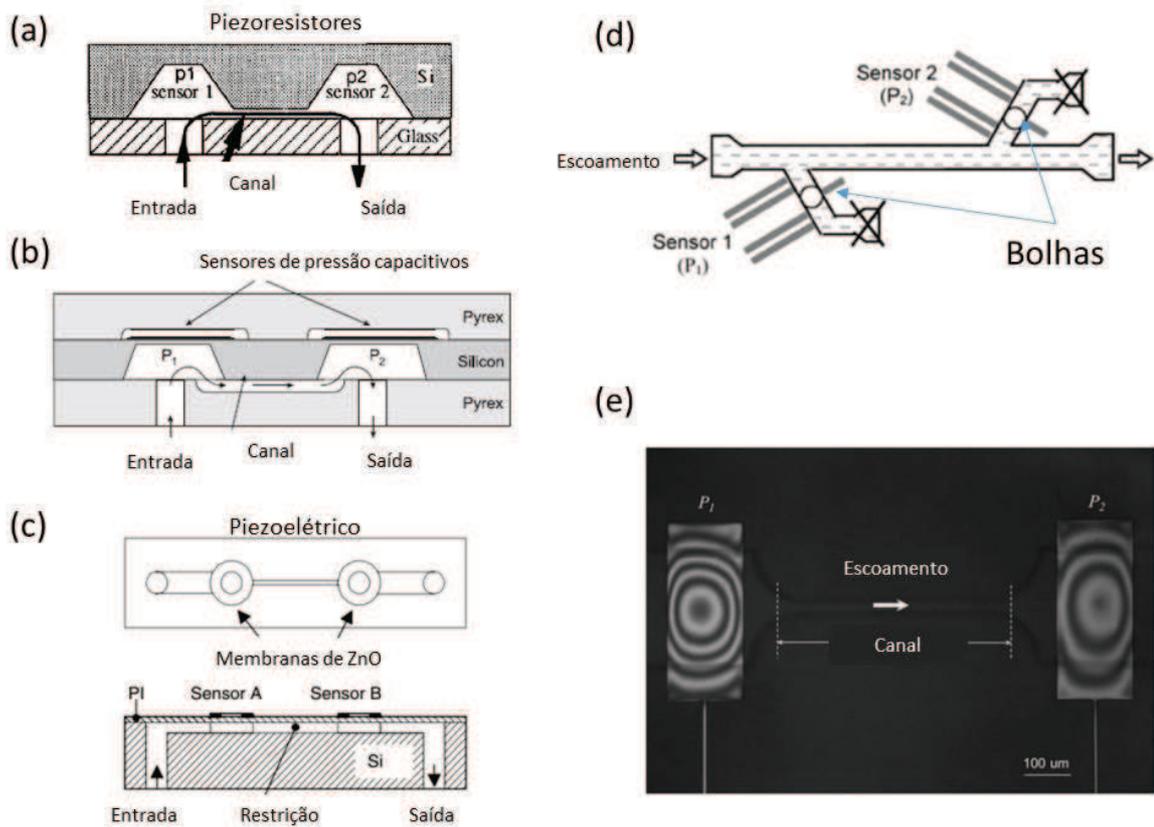


Figura 10 - Ilustrações e imagens de diferentes SMV mecânicos (adaptados das referências citadas no texto)

Posteriormente, na busca por sensores capazes de realizar medidas de vazões ainda menores e com melhor resolução, transdutores mais sensíveis e baseados em diferentes princípios foram propostos, dentre eles: a utilização de bolhas como transdutores de pressão (Figura 10 d) [33] e a utilização de medidas ópticas de interferência para monitorar a deformação das membranas (Figura 10 e) [35][3]. Em um trabalho mais recente, realizado por Cheri e colaboradores, o processo de transdução de pressão foi realizado monitorando-se o deslocamento de membranas finas de PDMS utilizando interferometria de Fabry-Perot. Neste trabalho, foram relatadas medidas de vazões entre $1 - 10 \mu\text{l}/\text{min}$ com uma resolução de $0,08 \mu\text{l}/\text{min}$. Entretanto, estes métodos ópticos envolvem um complexo processo de aquisição de dados [3].

De modo geral, os SMV de pressão diferencial são aplicados em vazões superiores a $1 \mu\text{l}/\text{min}$, se destacando pela linearidade do sinal obtido e pela reduzida influência nas propriedades físico-químicas do fluido (pouco invasivo). Dentre as

desvantagens estão a forte dependência da sensibilidade do sensor com a viscosidade do fluido [61], a necessidade de canais de restrição de escoamento (aumento na resistência hidráulica) e fabricação complexa associada aos elementos móveis.

2.3.3.3. SMV Coriolis

Além dos SMV térmicos, outra categoria de sensores de vazão aplicáveis a microfluídica e que também dispõe de versões comerciais, são os sensores de vazão que utilizam o princípio de Coriolis. Estes sensores, denominados micro Coriolis, são versões miniaturizadas e adaptada dos análogos macroscópicos.

Uma das configurações possíveis dos SMV micro Coriolis, envolve um tubo de forma retangular colocado para oscilar em torno de um determinado eixo. A Figura 11, ilustra o funcionamento de um dispositivo no qual o tubo oscila em torno do eixo-x. A passagem de um fluido pelo interior do tubo resulta no surgimento de uma força inercial, denominada Força de Coriolis, na direção do eixo-z. Esta força, por sua vez, faz com que o tubo realize um movimento oscilatório em torno do eixo y. A amplitude desse movimento, resultante da Força de Coriolis, é proporcional a vazão mássica no interior do tubo [64][65]. Estes dispositivos também podem realizar medidas de densidade do fluido e desta forma a vazão volumétrica pode ser determinada.

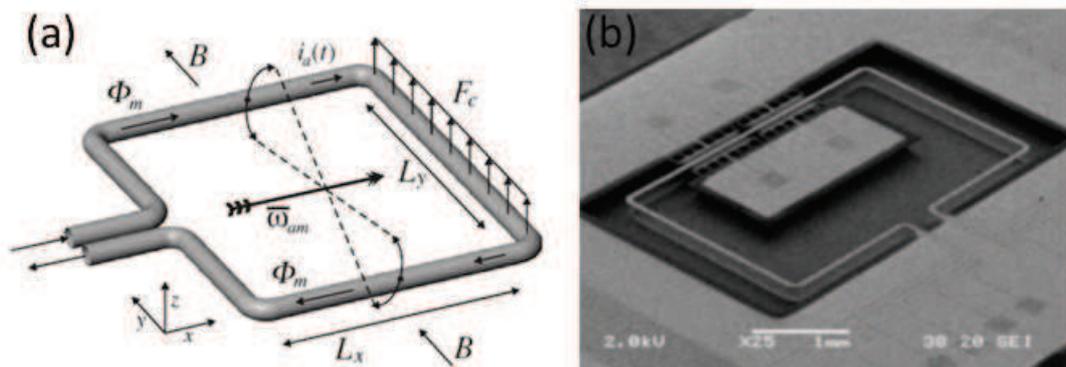


Figura 11 – Em (a) é ilustrado o princípio de funcionamento de um sensor de vazão que utiliza o efeito Coriolis e em (b) é mostrada uma imagem de um sensor microfabricado, para aplicações em microfluídica e que utiliza o mesmo princípio (Adaptado da referência [64]).

Alguns trabalhos relataram o desenvolvimento de SMV micro Coriolis capazes de realizar medidas de vazões entre 0,033 e 18 $\mu\text{l}/\text{min}$ [64][65]. Já os dispositivos disponíveis comercialmente são capazes de realizar medidas de vazões entre 0,8 e

3300 $\mu\text{l}/\text{min}$. A principal vantagem desse método é a reduzida dependência das propriedades (viscosidade, condutividade térmica, etc) dos fluidos envolvidos nas medidas. Este método também está associado a uma ampla faixa de vazão com precisão e repetitividade superiores aos SMV térmicos comerciais. Como desvantagens destacam-se a complexidade na fabricação e as grandes dimensões dos dispositivos Figura 12.



Figura 12 – Imagem de um pesquisador com um SMV micro Coriolis em mãos (Imagem adaptada do site do fabricante [66]).

Os estudos relacionados aos sensores térmicos e mecânicos predominaram até por volta do ano 2000. Posteriormente, observa-se um crescimento no número de estudos propondo novos princípios de funcionamento para os SMV que incluem: medidas elétricas, utilização de marcadores, medidas eletroquímicas e híbridos (combinação de mais de um princípio, por exemplo térmico e óptico). O desenvolvimento de SMV utilizando estes outros princípios tem como principal motivação a necessidade de superar as desvantagens associadas aos SMV térmicos e mecânicos e também suprir demandas de aplicações específicas, nas quais estes não são adequados (em plataformas microfluídicas para aplicações biológicas, por exemplo).

2.3.4. SMV elétricos

Alguns SMV relatados na literatura utilizam medidas associadas a propriedades elétricas do sistema na determinação da vazão. Um exemplo que se

enquadra nessa categoria foi apresentado por Collins & Lee, em 2004. O princípio de funcionamento deste sensor relaciona a velocidade de escoamento de um líquido (eletrólito) com a dupla camada elétrica (sigla em inglês EDL) formada na interface eletrodo-líquido (Figura 13 a). O monitoramento da dupla camada elétrica é realizado através da medida de admitância elétrica do sistema. Nesse trabalho foi demonstrada a capacidade do dispositivo de medir vazões entre $0,05$ e $35 \mu\text{l}/\text{min}$ com uma resolução mínima igual a $0,05 \mu\text{l}/\text{min}$. Entretanto a aplicação deste método se restringe a escoamentos envolvendo fluidos com alta condutividade elétrica [15].

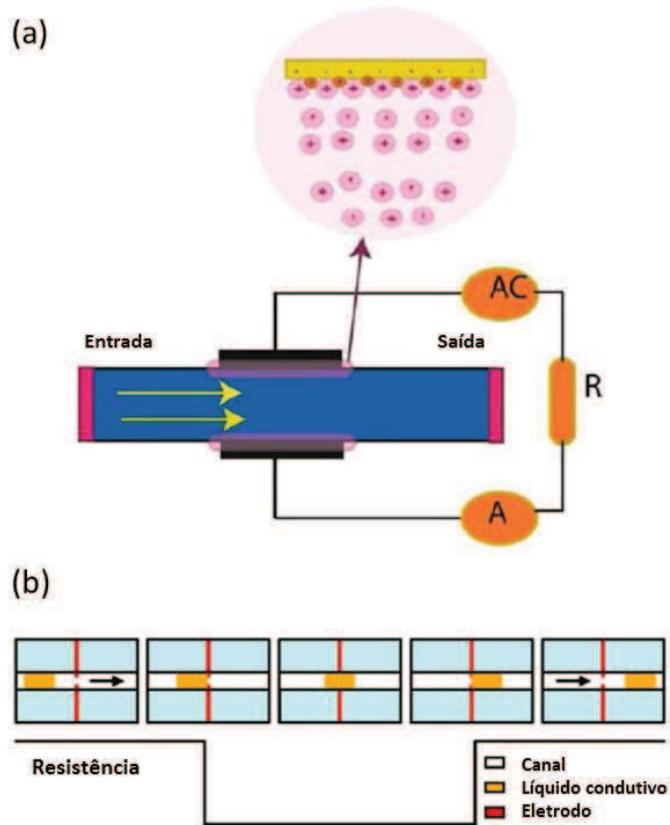


Figura 13 – Ilustração de princípios de funcionamento de SMV que utiliza (a) medidas elétricas de admitância e (b) de variação de resistência elétrica associada à composição do fluido. Adaptados respectivamente das referências [13] e [27].

Outro exemplo de SMV baseado em medidas elétricas foi relatado no trabalho de Yu e colaboradores, em 2012. O princípio de funcionamento deste sensor leva em consideração a variação da resistência elétrica em um ponto do microcanal, contendo um par de eletrodos em contato com o fluido, gerada pela passagem de um “segmento” de fluido com condutividade elétrica diferente a do fluido principal (Figura

13 b). A variação da resistência elétrica é monitorada através de medidas de impedância do sistema e a vazão é determinada com base no tempo de passagem do segmento de fluido condutor pelos eletrodos. Apesar dos autores citarem este dispositivo como um SMV, o mesmo foi desenvolvido com o objetivo de medir o volume de líquido que passa pelo sistema. Neste caso, não foram relatados valores referentes a faixa de vazão ou resolução, apenas à caracterização com relação a capacidade do dispositivo em medir com precisão pequenos volumes de líquidos (~10 μ l) [27], [67].

2.3.5. Utilização de Marcadores

Outra alternativa em relação aos princípios mencionados é a utilização de marcadores no escoamento dos líquidos. No presente trabalho são denominados marcadores qualquer substância na forma de partículas, moléculas ou íons que injetados no escoamento de um líquido possam ser detectados por sensores (transdutores) específicos e utilizados na determinação da velocidade associada ao escoamento. Alguns SMV foram propostos e desenvolvidos utilizando este princípio. Os tipos de marcadores relatados na literatura incluem: íons (H^+), moléculas (O_2 , OH^- , *etc.*), corantes (tintas termo sensíveis), bolhas de gás e microesferas (fluorescentes). Dentre as vantagens associadas a este princípio estão a não dependência de processos térmicos nem de peças móveis, o que implica diretamente na simplificação do processo de fabricação do SMV.

2.3.5.1. Eletroquímicos

Os marcadores eletroquímicos são substâncias (íons ou moléculas) injetadas no fluido através de reações eletroquímicas. A variação na concentração destas espécies químicas em uma dada parte do microcanal é monitorada e correlacionada com a velocidade de escoamento.

Um dos primeiros registros da utilização de marcadores eletroquímicos em SMV data de 1991 e foi realizado por Richter e colaboradores. Neste trabalho, íons gerados no fluido, através da aplicação de uma tensão de 300 V (corrente contínua), foram utilizados como marcadores. A diferença de tempo (tempo de voo) entre a geração dos íons em um eletrodo (Figura 14 a) e a detecção de um pico de corrente,

registrado no momento em que estes íons chegavam a um dos coletores, está relacionada com a velocidade de escoamento e conseqüentemente com a vazão do fluido. Foram relatadas vazões na faixa de 8 - 42 $\mu\text{l}/\text{min}$ com resolução estimada de 5 $\mu\text{l}/\text{min}$. A utilização de valores relativamente altos de tensão e a dependência da condutividade elétrica do fluido são pontos negativos associados ao dispositivo proposto neste trabalho [68].

Em 2002, Wu e colaboradores apresentaram um sensor com funcionamento semelhante ao descrito acima, entretanto utilizando especificamente moléculas de oxigênio como marcadores. Nesse caso, a geração das moléculas de oxigênio ocorre por eletrólise e sensores amperométricos são utilizados para detectar a variação na concentração de oxigênio no escoamento (Figura 14 b). A tensão aplicada nos eletrodos, para geração de moléculas oxigênio, foi de 2 V e na forma de um pulso de duração temporal igual a 100 ms. O dispositivo desenvolvido nesse trabalho se mostrou apto a medir vazões entre 1 e 15 $\mu\text{l}/\text{min}$ com uma resolução mínima estimada em 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ [69].

Poghossian & Yoshinobu, em 2003, utilizaram como marcadores íons H⁺, produzidos por eletrólise, e a alteração nas concentrações destes íons eram detectadas por sensores de pH (ISFET) colocados ao longo do canal, no sentido do escoamento (Figura 14 c). A faixa de vazão relatada para este sensor foi de 100-600 $\mu\text{l}/\text{min}$ com uma resolução estimada em 5 $\mu\text{l}/\text{min}$. Este dispositivo apresenta um ponto desfavorável relacionado à dificuldade de integração dos sensores ISFET ao canal microfluídico [32].

Também foi relatado na literatura o uso de soluções líquidas com composições química específicas no processo de medição de vazões em microcanais. Nesse caso, uma determinada substância é misturada a um fluido principal. Uma excitação externa gera uma variação de alguma propriedade da substância adicionada, como a concentração ou alguma propriedade óptica, por exemplo. Essa variação de propriedades, por sua vez, é utilizada como um sinal no processo de medição da velocidade associada ao escoamento. A substância adicional contida na solução faz o papel do marcador.

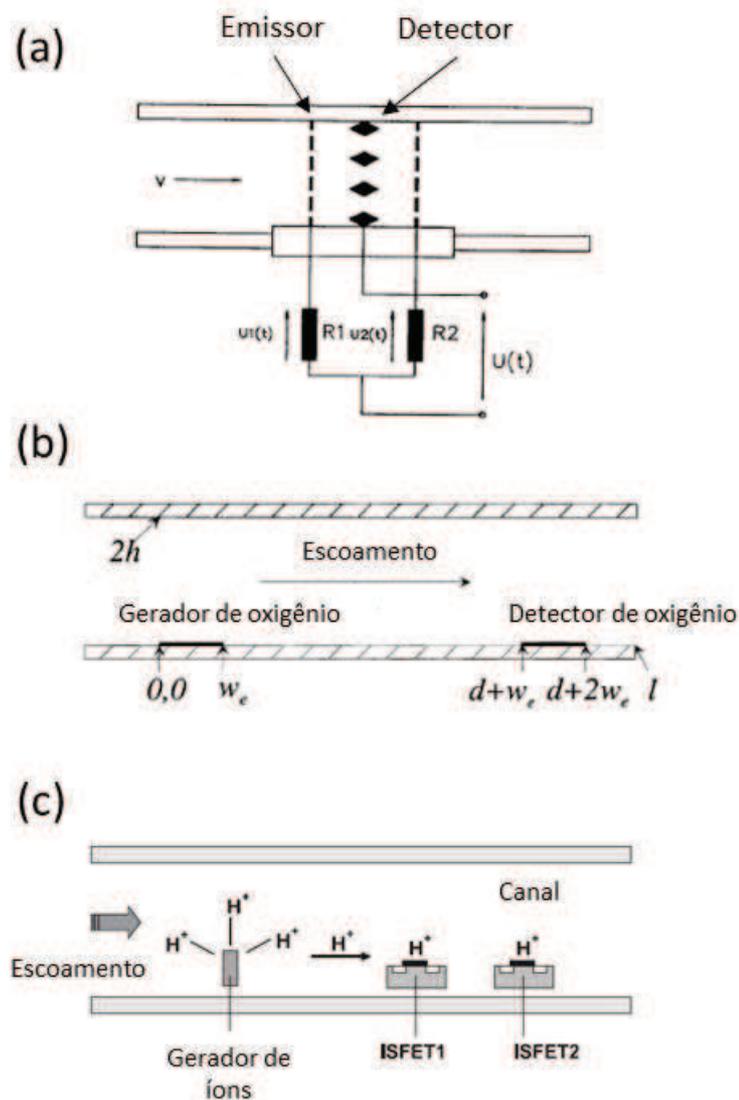


Figura 14 – Ilustrações de alguns SMV que utilizam marcadores eletroquímicos (a) referente ao trabalho de Richter e colaboradores [68], (b) referente ao trabalho de Wu & Sansen [69] e (c) referente ao trabalho de Poghossian & Yoshinobu [32] (adaptados).

Em 2004, Amatore e colaboradores empregaram uma solução aquosa contendo Hexamina de Rutênio (III) $Ru(NH_3)_6^{+3}$. Esta substância foi escolhida devido à sua reversibilidade nos processos de oxidação e redução. Neste trabalho a Hexamina de Rutênio (III) contida na solução é submetida a uma reação de redução ao passar por um eletrodo, denominado gerador (ou emissor), resultando numa variação de concentração. Em seguida, ao passar por um segundo eletrodo, denominado coletor (Figura 15 a), ocorre uma reação de oxidação da substância anteriormente reduzida. A variação de corrente elétrica no coletor, associada ao processo de oxidação, é monitorada. Utiliza-se a diferença de tempo (tempo de voo)

entre o pulso de tensão que gera a redução da espécie química e a variação de corrente elétrica detectada no coletor para determinar a velocidade média de escoamento no microcanal. A faixa de vazão relatada neste trabalho foi de 0,3 - 7,8 $\mu\text{l}/\text{min}$, com uma resolução mínima estimada em 0,5 $\mu\text{l}/\text{min}$ [19].

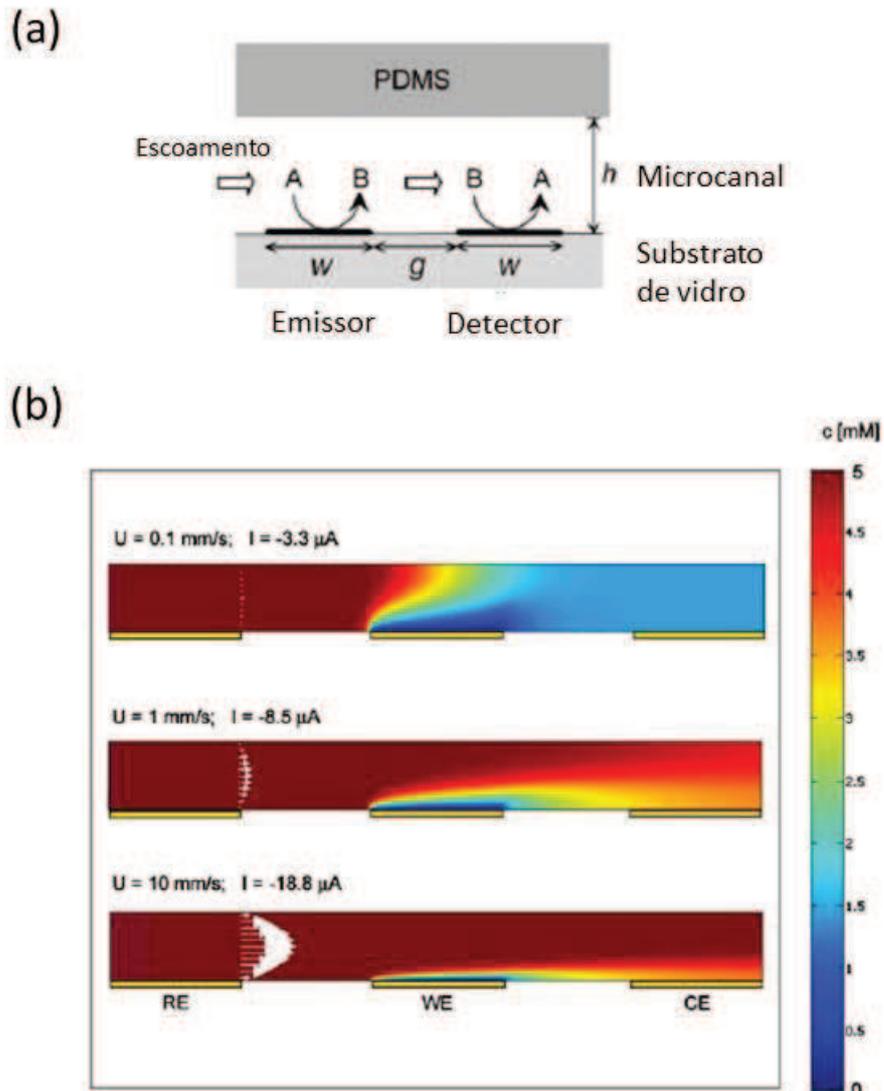


Figura 15 – (a) Ilustração do processo de oxidação e redução da Hexamina de Rutênio (III) utilizada em um SMV desenvolvido por Amatore e colaboradores [19] e (b) simulação por método de elementos finitos realizada no trabalho de Kjeang e colaboradores [70], adaptados.

Em 2007, Kjeang e colaboradores também utilizaram uma solução contendo Hexamina de Rutênio (III). Entretanto, a velocidade de escoamento foi correlacionada com a taxa de redução da Hexamina de Rutênio (III) no eletrodo de trabalho (Figura 15 b). Nesse caso, o monitoramento da corrente elétrica, associada a taxa de redução, é realizado no próprio eletrodo em que ocorre a redução da espécie química. Esse

processo pode ser interpretado como uma análogo eletroquímico da anemometria térmica. A faixa de vazão relatada neste trabalho foi de 6 - 300 $\mu\text{l}/\text{min}$, com uma resolução mínima estimada em 6 $\mu\text{l}/\text{min}$ [70].

Em geral, os SMV que utilizam marcadores eletroquímicos se destacam pela simplicidade das estruturas envolvidas e por não necessitarem dos complexos processos de isolamento como nos sensores térmicos. Entretanto, o funcionamento depende da composição da solução utilizada, inclusive das concentrações adequadas de determinadas substâncias, restringindo a aplicação a fluidos (soluções) específicos.

2.3.5.2. Corantes (tintas e indicadores)

Uso de soluções líquidas com composições químicas específicas, ou seja soluções com substâncias extras adicionadas a um fluido principal, não se limitou aos sensores que empregam métodos eletroquímicos na geração e detecção dos sinais. Em 2006, Fu e colaboradores propuseram medir a vazão em microcanais utilizando uma solução contendo rodamina B, uma substância na qual a fluorescência varia em função da temperatura. Nesse sistema, um pulso de temperatura é aplicado na solução, por um aquecedor em contato térmico. A variação da fluorescência, devido a variação de temperatura, é monitorada utilizando uma câmera CCD acoplada a um microscópio de fluorescência. A medida da velocidade associada ao escoamento é realizada através da análise das imagens obtidas em diferentes instantes de tempo (Figura 16). Foram relatadas neste trabalho uma faixa de vazão de 8 - 11 $\mu\text{l}/\text{min}$ uma resolução de 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ [71]. Apesar de ser uma forma abordagem inédita na literatura, a faixa de vazão detectável é muito pequena se comparada a outros trabalhos. A necessidade de equipamentos como uma câmera CCD e um microscópio de fluorescência e uma trabalhosa análise de imagens para determinar a velocidade de escoamento, complementam os pontos desfavoráveis.

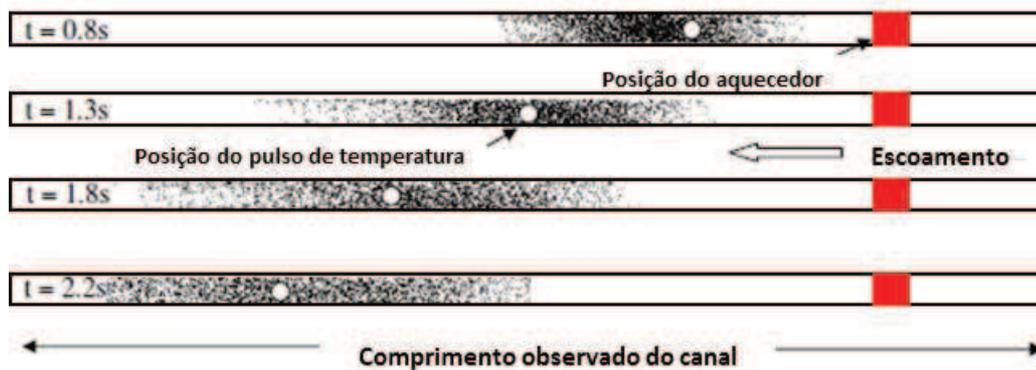


Figura 16 – Ilustração do princípio de funcionamento de um sistema de medição de vazão empregando uma solução que altera sua fluorescência em função da temperatura [71].

2.3.5.3. Microesferas (velocimetria óptica)

Ainda em relação ao emprego de marcadores na medição de vazão em sistemas microfluídicos é importante destacar a utilização de micropartículas em suspensão e a técnica denominada velocimetria por imagem de partícula. A velocimetria por imagem de partícula (sigla em inglês PIV) é uma técnica na qual a determinação da velocidade do escoamento em um canal é realizada com base em imagens sequenciais de partículas (marcadores) injetadas no fluido e que escoam junto com o mesmo (Figura 17 a). Esta técnica, já utilizada na caracterização de escoamentos na escala macrométrica, foi adaptada para ser empregada na microfluídica e denominada microvelocimetria por imagem de partícula (sigla em inglês μ PIV) [72].

A μ PIV utiliza micropartículas fluorescentes (poliestireno, látex ou sílica) com diâmetros entre de 200 nm a 1 μ m. Em uma descrição geral, as micropartículas são excitadas por uma fonte de luz com comprimento de onda específico e a fluorescência destas é captada por um sistema óptico que inclui lentes, filtros e uma câmera CCD (Figura 17b-c). Várias imagens são obtidas e análise é feita em um computador utilizando softwares específicos. Atualmente existem inúmeras variações desta técnica que visam otimizar o contraste e o tempo de aquisição das imagens [72].

Essa técnica é especialmente adequada para estudos detalhados sobre o escoamento em microcanais, pois permite obter informações sobre a distribuição de velocidades (perfil) numa dada região de interesse. Porém, alguns trabalhos relatam a utilização da μ PIV especificamente para determinação da vazão em microcanais

[20]. Foi demonstrado que utilizando sistemas de μ PIV é possível medir valores muito baixos de vazão, chegando a ordem de nanolitros por minuto [31], e que esta técnica é versátil e pode ser empregada em uma ampla faixa de vazão [73].

Apesar das vantagens associadas à μ PIV, esta técnica envolve uma grande quantidade de equipamentos caros e sofisticados para aquisição de dados, um complexo procedimento para análise e tratamento dos dados através de softwares e uma reduzida capacidade de miniaturização e adequação aos sistemas microfluídicos. Estes fatores restringem a utilização desta técnica de medida de vazão em grande parte das possíveis aplicações dos SMV.

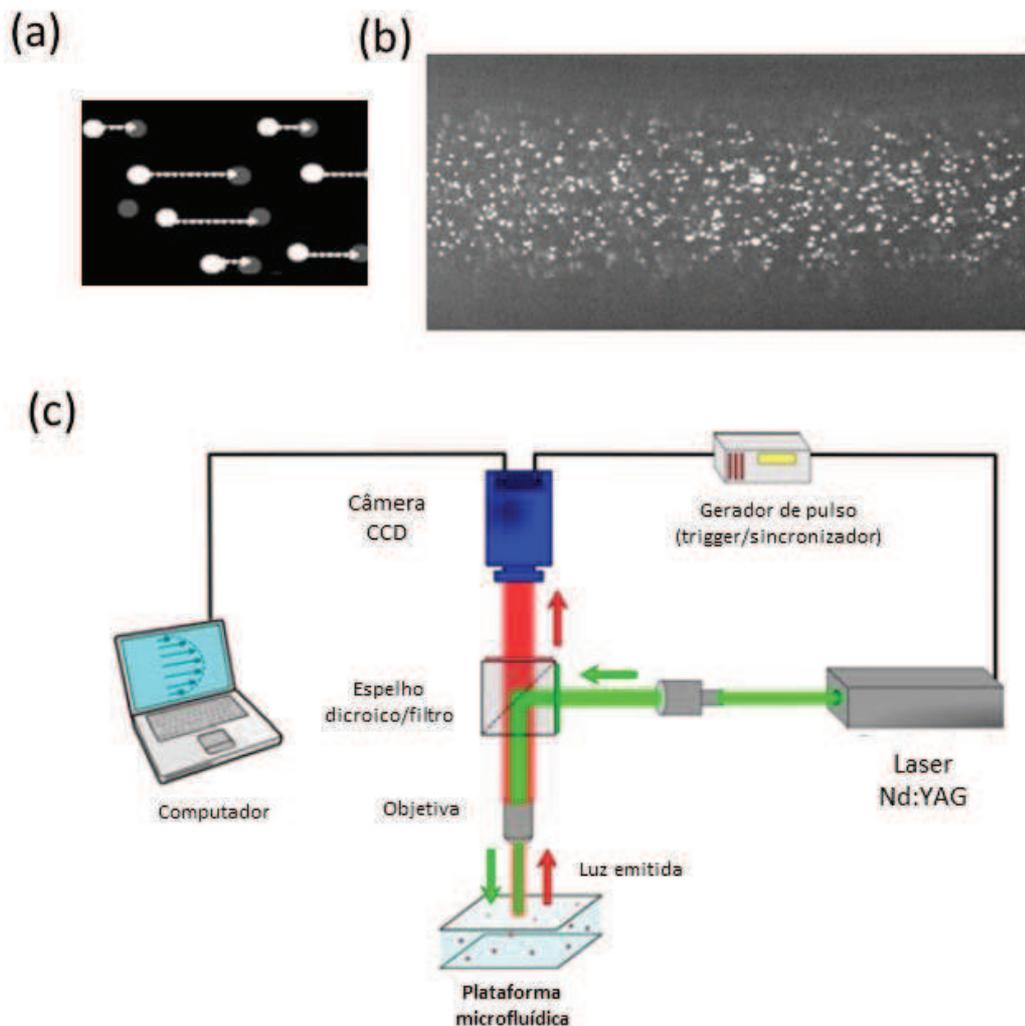


Figura 17- (a) Uma ilustração da sequência de imagens utilizada na técnica da μ PIV [31], (b) uma imagem de micropartículas fluorescentes em meio aquoso [72] e (c) um exemplo de montagem experimental utilizada na μ PIV [20].

2.3.5.1. Bolhas

Um SMV que contrasta em meio aos outros relatados na literatura foi publicado por Lippman e colaboradores, em 2012. Este sensor emprega bolhas de ar como marcadores. As bolhas têm tamanhos controlados e são geradas termicamente, resultantes do contato entre a água e o aquecedor integrado ao sistema. A velocidade do escoamento é determinada com base no intervalo de tempo que a bolha leva para percorrer uma distância conhecida no microcanal (Figura 17). A detecção da bolha é realizada utilizando eletrodos aquecidos (anemometria) e com base na variação de resistência elétrica gerada pela passagem da mesma. Este dispositivo demonstrou capacidade de realizada medidas de vazões na faixa de 1-100 $\mu\text{l}/\text{min}$ com resolução mínima estima em 0,5 $\mu\text{l}/\text{min}$ [74]. O SMV proposto nesse trabalho envolve um processo simples de fabricação e aquisição de dados associados a uma faixa de vazão e resolução adequados a muitas aplicações. Entretanto a inserção de bolhas em um canal microfluídico é um processo muito obstrutivo e em muitas das plataformas microfluídicas as bolhas são extremamente indesejáveis.

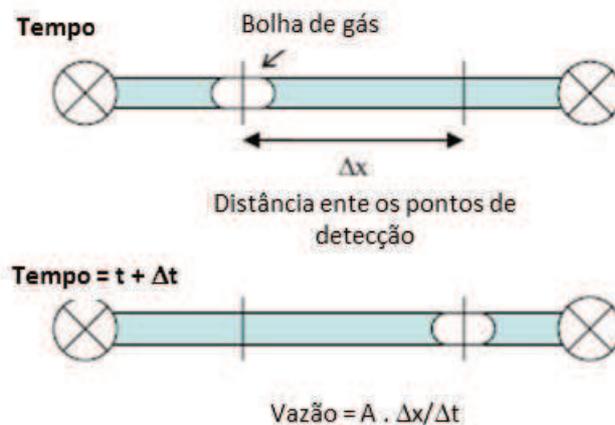


Figura 18 – A figura ilustra o processo de determinação da vazão utilizando o deslocamento de bolhas de ar dentro de um microcanal (Adaptado de [74]).

2.3.6. SMV híbridos

Analisando a evolução nos estudos relacionados aos SMV é possível observar que há uma tendência no desenvolvimento de novos dispositivos de envolverem mais de um princípio físico (ou químico) em seu funcionamento. Nesta tese, como mencionado anteriormente, estes dispositivos são denominados híbridos.

Em especial a combinação entre princípios térmicos e ópticos tem sido relatada com frequência.

Liu e colaboradores desenvolveram um sensor do tipo anemométrico, mas nesse caso uma fibra óptica dopada com Co^{2+} e contendo grades de Bragg (sigla em inglês FBG) foi utilizada como aquecedor e transdutor. Um feixe de laser incide sobre a fibra gerando um aumento na temperatura que por sua vez é monitorada através de medidas ópticas (Figura 19 a). Dois capilares, em contato térmico com a fibra aquecedor/sensor, conduzem o líquido e da mesma forma que os sensores anemométricos, a temperatura de equilíbrio está relacionada com a velocidade do escoamento e conseqüentemente com a vazão. Foi relatada para este dispositivo uma faixa de vazão de 6-66 $\mu\text{l}/\text{min}$ com uma resolução estimada em 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ [75]. O complexo processo de fabricação e principalmente a necessidade de equipamentos auxiliares como fontes de laser e um interrogador óptico são pontos negativos associados à este trabalho.

Um sensor calorimétrico, que também envolve a combinação de princípios térmicos e ópticos, é apresentado no trabalho de Hoera e colaboradores. Nesse sistema, a parte inferior do microcanal é recoberta com material que possui fluorescência dependente da temperatura (Figura 19 b). Um elemento resistivo (filme metálico) é utilizado como aquecedor e a diferença de temperatura entre duas regiões (denominadas regiões de interesse), nas adjacências do resistor, é monitorada através da variação da fluorescência. A fluorescência é captada através de um microscópio específico com uma câmera CCD acoplada. A análise e correlação com a velocidade é realizada através das imagens e utilizando softwares específicos. Apesar da grande necessidade de equipamentos auxiliares (microscópio de fluorescência, fontes, filtros, câmera CCD), este sistema se destaca pela capacidade de medir vazões muito baixas e possuir uma ampla faixa de vazão com valores entre 10 nl/min e 500 $\mu\text{l}/\text{min}$ [30].

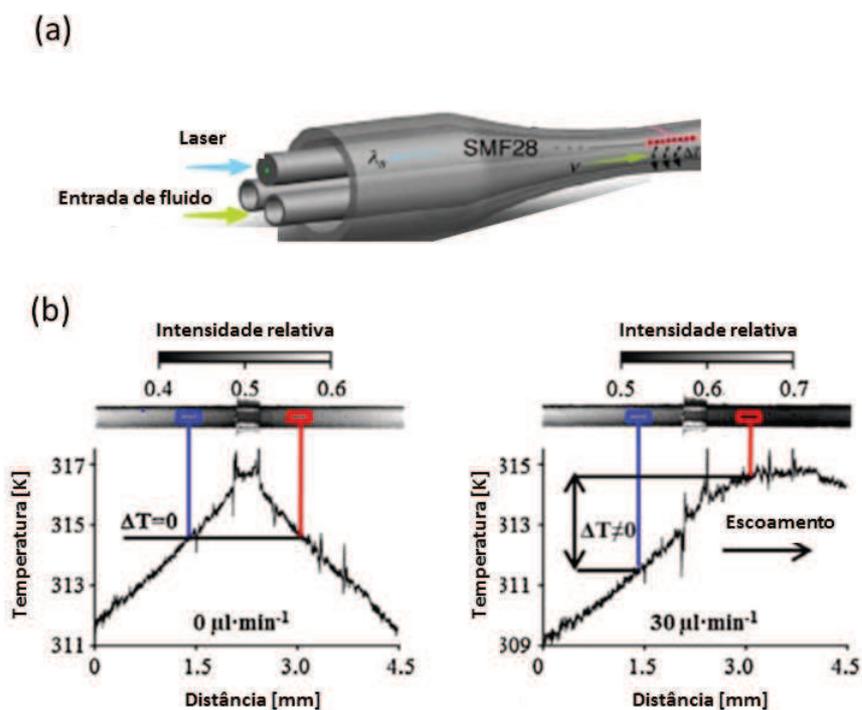


Figura 19 – (a) Ilustração de um SMV que combina princípios térmicos (anemométrico) e ópticos (adaptado da referência [75]) e (b) a ilustração de outro SMV que combina princípios térmico (calorimétrico) com princípios de detecção óptica (adaptado da referência [30]).

Em síntese, os SMVs e os procedimentos que constam da literatura têm-se utilizado de diferentes princípios e métodos para a realizar a medida de vazão em sistemas microfluídicos. Buscou-se nesse capítulo apresentar algumas das informações relevantes sobre cada um dos princípios utilizados e dos dispositivos já desenvolvidos. Foram destacadas as características de funcionamento como a faixa de vazão e o limite inferior de vazão, bem como características relacionadas aos processos de construção dos dispositivos e de aquisição de dados. Ressaltou-se que ainda há uma predominância dos sensores que empregam princípios térmicos, entretanto outros princípios como a utilização de marcadores eletroquímicos têm surgido com uma alternativa. Por fim, observou-se que os trabalhos mais recentes na literatura apresentam uma tendência na utilização de diferentes princípios nos mesmo dispositivo, aqui denominados SMV híbridos. Estes sensores visam, aproveitar as vantagens de cada um dos princípios e minimizar os pontos negativos. A seguir serão abordados pontos pertinentes ao método estudado nessa pesquisa que é o método do tempo de voo.

3. MÉTODO DO TEMPO DE VOO (TOF)

Dentre todos os métodos de medidas de vazão em canais microfluídicos apresentados, o tempo de voo se destaca por características como:

- A reduzida influência das propriedades do fluido como a viscosidade dinâmica e condutividade térmica;
- Possibilitar a utilização de diferentes tipos de marcadores, se adequando as necessidades de aplicações específicas;
- Utilizar o tempo como grandeza mensurável, simplificando o processo de aquisição de dados;
- Processo simples de fabricação, não utilizar peças móveis.

Com base nestas características, o método do tempo de voo foi selecionado para aplicação nos SMV desenvolvidos nessa pesquisa de doutorado e que serão apresentados posteriormente. A seguir o método do tempo de voo e alguns SMV que o utilizam serão abordados com mais detalhes.

3.1. DESCRIÇÃO DO MÉTODO DO TEMPO DE VOO TOF

A Figura 20 ilustra o funcionamento de um SMV que utiliza o método TOF. Nesta representação, um pulso de marcador é gerado em um componente denominado gerador. Este pulso é conduzido pelo escoamento sujeito a uma velocidade média \bar{u} na direção do eixo x . Após um intervalo de tempo $\Delta t = t_v$, definido como tempo de voo, o pulso é detectado por um componente, denominado receptor, situado a uma distância Δx . O tempo de voo é então correlacionado com a vazão do fluido no microcanal.

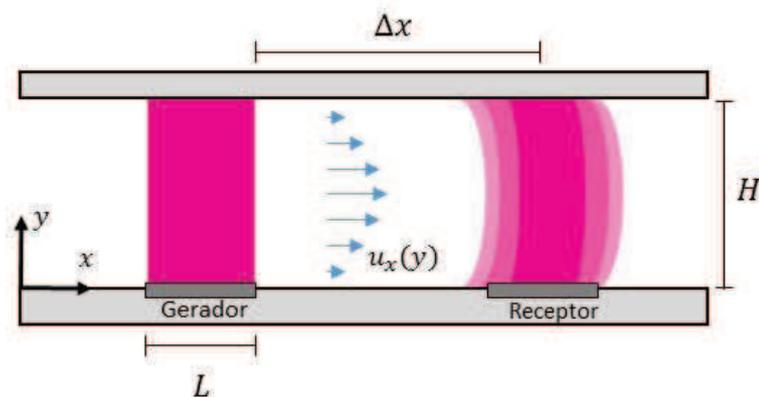


Figura 20 – Ilustração do método TOF. FONTE: O autor (2017).

3.2. TOF TÉRMICO VS ELETROQUÍMICO

Em uma definição mais ampla referente ao método TOF, temos que qualquer variação detectável nas propriedades do fluido pode ser utilizada como um marcador. Nesse contexto, os tipos mais comuns de marcadores são as variações de temperatura, na forma de pulsos térmicos, e as variações locais de concentrações iônicas ou moleculares, na forma de pulsos de concentração.

O método do TOF, empregando um pulso térmico, foi utilizado em um dos primeiros SMV relatado na literatura em 1982. No referido trabalho, os autores destacam que a escolha desse método foi motivada devido a menor influência das propriedades dos fluidos (principalmente a viscosidade, a condutividade térmica e a capacidade calorífica) nas medidas de vazão, quando comparado aos outros métodos. Nesse caso, os SMV podem operar com diferentes líquidos sem grandes variações nos valores medidos de vazão [76].

Uma das desvantagens do TOF térmico é que fatores como a difusão térmica axial, a dispersão de Taylor e a condução de calor através das paredes do microcanal fazem com que o pulso térmico seja rapidamente dissipado, comprometendo a intensidade do sinal no sensor de temperatura [77]. Para compensar essa redução uma alternativa é aumentar os valores de temperatura do pulso aplicado.

A primeira consequência do emprego de valores mais altos de temperatura nos pulsos é aquecimento do sistema, que resulta em imprecisões nas medidas e restringe a utilização desse tipo de sensor a vazões mais altas (maiores que $10 \mu\text{l}/\text{min}$, por exemplo). A elevação na temperatura também pode resultar na ebulição

do fluido em contato com o aquecedor, implicando no surgimento de bolhas, ou ainda em alterações nas características físico-químicas do fluido ou de algum material em suspensão, principalmente no caso de materiais biológicos [47].

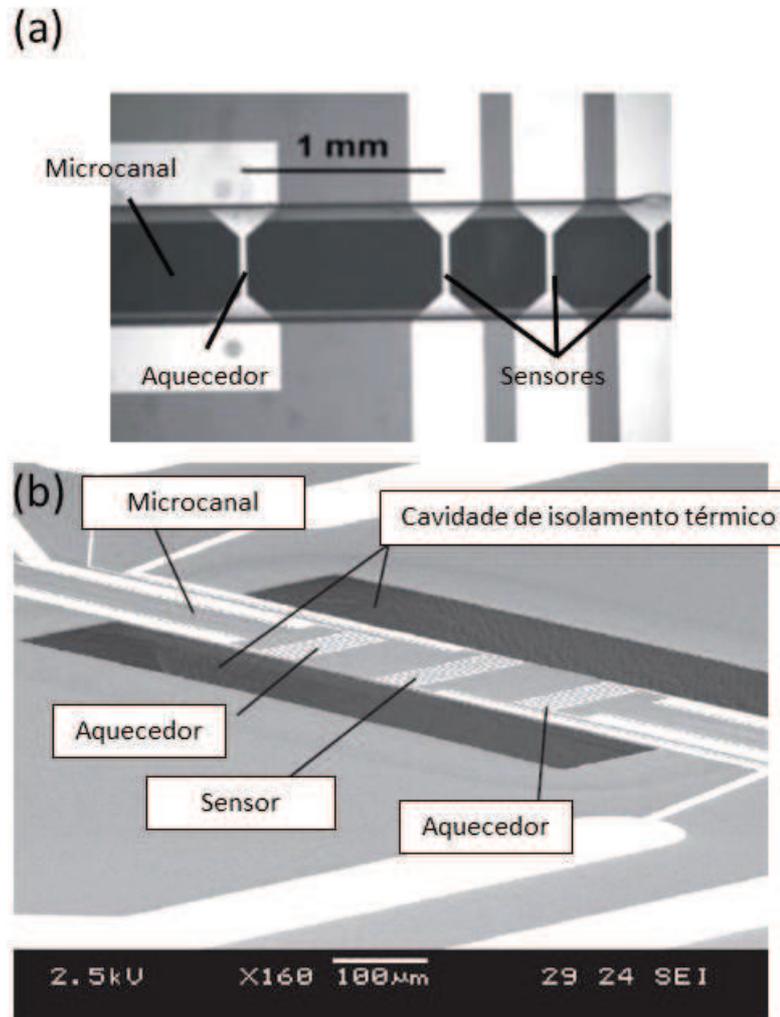


Figura 21 – (a) Micrografia de um dispositivo que emprega o método TOF e utiliza um aquecedor e vários sensores suspensos (adaptado da referência [77]) e (b) Micrografia SMV térmico que utiliza uma cavidade de isolamento térmico (Adaptada da referência [43]).

Para minimizar a dissipação dos pulsos térmicos nos microcanais, e viabilizar o uso de pulsos com temperaturas menores, são necessárias alterações estruturais nos dispositivos que incluem a utilização de aquecedores e sensores suspensos no microcanal (Figura 21 a) ou ainda cavidades de isolamento térmico (Figura 21 b). A necessidade dessas alterações torna o processo de fabricação mais complexo.

A utilização de íons e moléculas como marcadores surgiu como uma alternativa ao uso dos pulsos térmicos. As principais vantagens na utilização deste

outro tipo de marcador incluem o menor efeito da difusividade dos marcadores nas medidas de vazão, pois os coeficientes de difusão dos íons e moléculas em geral são menores do que a difusão térmica; e o fato destes marcadores permanecem dentro do microcanal, ou seja, a condução dos íons ou moléculas através das paredes ser desprezível. Isso resulta em sinais com menor dissipação, maior facilidade de medição e numa simplificação no processo de fabricação, por não necessitar das estruturas de isolamento térmico [69].

Os sensores (receptores) utilizados na medição dos pulsos de concentração em geral são sensores amperométricos e, assim como o eletrodos geradores, também estão em contato com a solução líquida [78]. Uma consequência dessa configuração é que a aplicação de tensão no processo de geração do pulso pode interferir no funcionamento dos sensores utilizados na detecção do mesmo (receptores do sinal). Para minimizar essa interferência é necessário que a distância entre o gerador e o receptor (transdutor) seja relativamente grande. A título de comparação, para SMV TOF térmicos estas distâncias em geral são inferiores a 1 mm (Figura 21 a) enquanto nos SMV TOF eletroquímicos estas distâncias são superiores a 10 mm [69][32]. Com o aumento da distância o tempo de resposta do sensor passa a ser muito elevado (superior a 1 minuto por medida)[14], principalmente para medidas de vazões inferiores a 5 $\mu\text{l}/\text{min}$, comprometendo o desempenho deste tipo de sensor e restringindo suas aplicações.

Nessa pesquisa de doutorado foi desenvolvido um SMV que utiliza princípios eletroquímicos na geração do sinal, mas contorna o problema da interferência elétrica entre o gerador e o receptor do sinal, empregando outro princípio na detecção do sinal. A seguir serão apresentados alguns conceitos e detalhes relacionados à cada uma das etapas envolvidas no funcionamento dos sensores TOF que empregam marcadores eletroquímicos.

3.3. MÉTODO DO TEMPO DE VOO EMPREGANDO MARCADORES ELETROQUÍMICOS

3.3.1. Geração do pulso de concentração

Nos SMV que empregam marcadores eletroquímicos, o gerador é composto por pelo menos um par de eletrodos (eletrodo de trabalho e contra-eletrodo) em contato com o fluido. Uma diferença de potencial aplicada nos eletrodos resulta em reações eletroquímicas entre a superfície destes e o fluido. A forma mais simples de excitação é a aplicação de uma diferença de potencial com valor constante durante um intervalo de tempo pré-definido, ou seja, um sinal retangular, como mostrado na Figura 22.

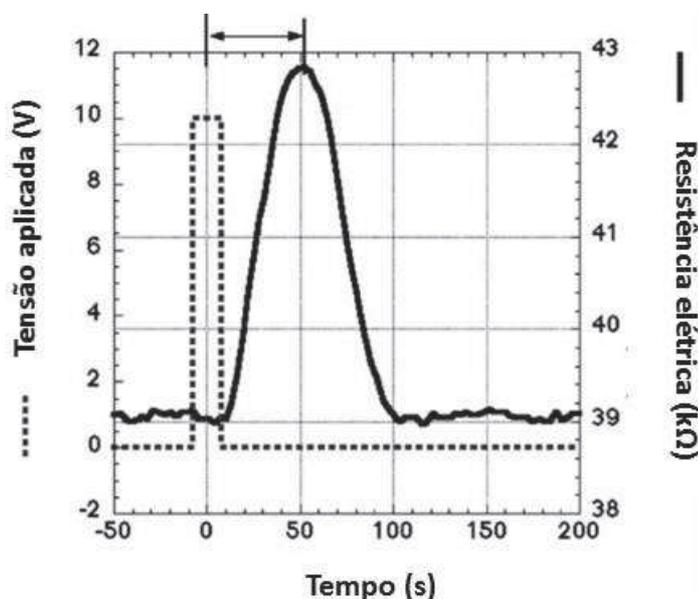


Figura 22 – A linha tracejada representa o sinal de excitação elétrica aplicada no gerador para gerar uma variação de concentração na solução e a linha cheia representa o sinal detectado no receptor. Adaptado da referência [14].

O fluido que escoar pelo microcanal é uma solução que contém pelo menos uma determinada espécie química de interesse a uma concentração inicial c_0 . Com as reações eletroquímicas, a concentração da espécie química de interesse nas proximidades da superfície do eletrodo é alterada. A distribuição espacial da variação de concentração, nas proximidades da superfície do eletrodo gerador, é denominada região de alteração ou camada de difusão.

O perfil da camada de difusão de espécies químicas $c(x,y)$ depende de alguns fatores como as características do transporte das espécies químicas na região da superfície reativa e as dimensões dos componentes do sistema [79]. Uma das situações apresentadas na literatura e de interesse para este trabalho de doutorado, considera o transporte de espécies químicas entre uma superfície reativa e o fluido, em estado estacionário, limitado por difusão e sob influência de um escoamento de Hagen-Poiseuille (Figura 23).

O transporte de espécies químicas entre uma superfície reativa e um fluido é caracterizado utilizando-se escalas de tempo características e parâmetros adimensionais como o número de Péclet e o número de Graetz⁴, que serão descritos a seguir.

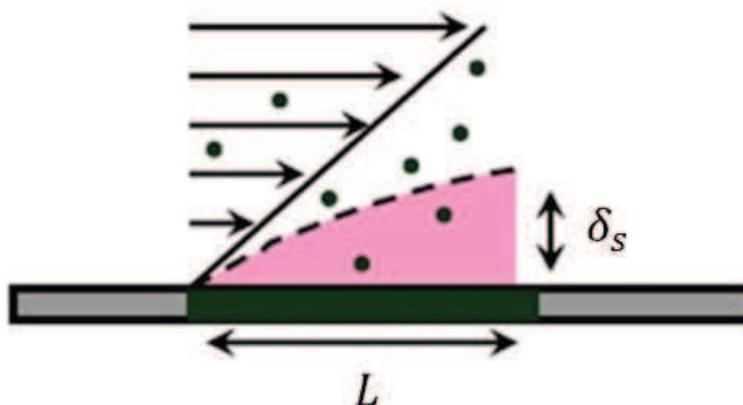


Figura 23 - Ilustração do perfil de velocidade nas proximidades do eletrodo (emissor) e da espessura da região de alteração δ_s para $Pe_H \gg 1$ (Adaptado da referência [80]).

O número de Graetz relaciona o transporte de espécies na direção radial, devido à efeitos difusivos, com a transferência de espécies na direção axial, devido a efeitos advectivos. Entretanto, é comum na literatura a interpretação mais simplificada do número de Graetz como uma relação entre as escalas de tempo associadas aos processos difusivos, na direção radial, e advectivos, na direção axial. Assim, torna se útil a definição de alguns tempos característicos para o sistema como o tempo de difusão na direção radial [81]:

⁴ Trata-se do número de Graetz para o transporte de espécies químicas. Essa descrição adicional serve para diferenciar do número de Graetz originalmente proposto para situações envolvendo o transporte de calor entre uma superfície sólida e o fluido. Esta descrição adicional será suprimida visando facilitar a leitura.

$$t_H = \frac{H^2}{D}, \quad (4)$$

e o tempo associado a advecção na direção axial:

$$t_L = \frac{L}{\bar{u}}, \quad (5)$$

onde H e L são respectivamente os comprimentos característicos na direção radial e axial, D é o coeficiente de difusão da espécie química em relação ao fluido e \bar{u} é a velocidade média associada ao escoamento. Com base nisso o número de Graetz pode ser escrito da seguinte forma:

$$Gz = \frac{t_H}{t_L} = \frac{\frac{H^2}{D}}{\frac{L}{\bar{u}}} = \frac{\bar{u}H^2}{DL} \quad (6)$$

A equação (6) ainda pode ser escrita da seguinte forma:

$$Gz = \frac{\bar{u}H}{D} \frac{H}{L} = Pe_H \frac{H}{L} \quad (7)$$

A equação (7) mostra que o número de Graetz ainda pode ser expresso como o produto entre um outro número adimensional denominado de número de Péclet⁵ (Pe_H) e a razão entre dois os comprimentos característicos adotados para o sistema ($\frac{H}{L}$). Essa razão será denominada razão de aspecto.

Para $Gz < 1$, o tempo difusivo é menor que o tempo advectivo ($t_H < t_L$) e as espécies químicas atingem o topo do canal (H) antes de percorrerem a distância L na direção do escoamento (Figura 24 a). Nesse caso, a camada de difusão é limitada pela altura do canal [80].

Para $Gz = 1$, o tempo difusivo é igual ao tempo advectivo e as espécies químicas atingem o topo do canal ao percorrerem uma distância igual ao comprimento L (Figura 24 b) [80].

Para $Gz > 1$, o tempo advectivo é menor que o tempo difusivo ($t_L < t_H$) e as espécies químicas não atingem o topo do canal (H) durante o escoamento ao longo

⁵ O número de Péclet para espécies químicas Pe_H , também envolve uma relação entre as escalas de tempo associadas aos efeitos difusivos e convectivos no transporte de espécies químicas. Entretanto, o número de Péclet utiliza apenas um comprimento característico como referência, em geral na direção radial (H).

da distância L , resultando em uma camada de difusão caracterizada por uma espessura δ (Figura 24 c) [80].

Vale destacar que um dado valor assumido pelo número de Graetz pode corresponder a mais de uma situação. Isso pode ser observado comparando os itens (c) e (d) da Figura 24. Neste caso, para uma análise mais detalhada torna-se adequado expressar as condições do sistema em termos do número de Péclet (Pe_H) e da razão de aspecto ($\frac{H}{L}$).

Na situação considerada na Figura 24 d, a espessura média da camada de difusão pode ser estimada da seguinte forma [82]:

$$\delta = 1,022h \left(\frac{L}{H} \frac{1}{Pe_H} \right)^{1/3} = 1,022h \left(\frac{1}{Gz} \right)^{1/3} \quad (8)$$

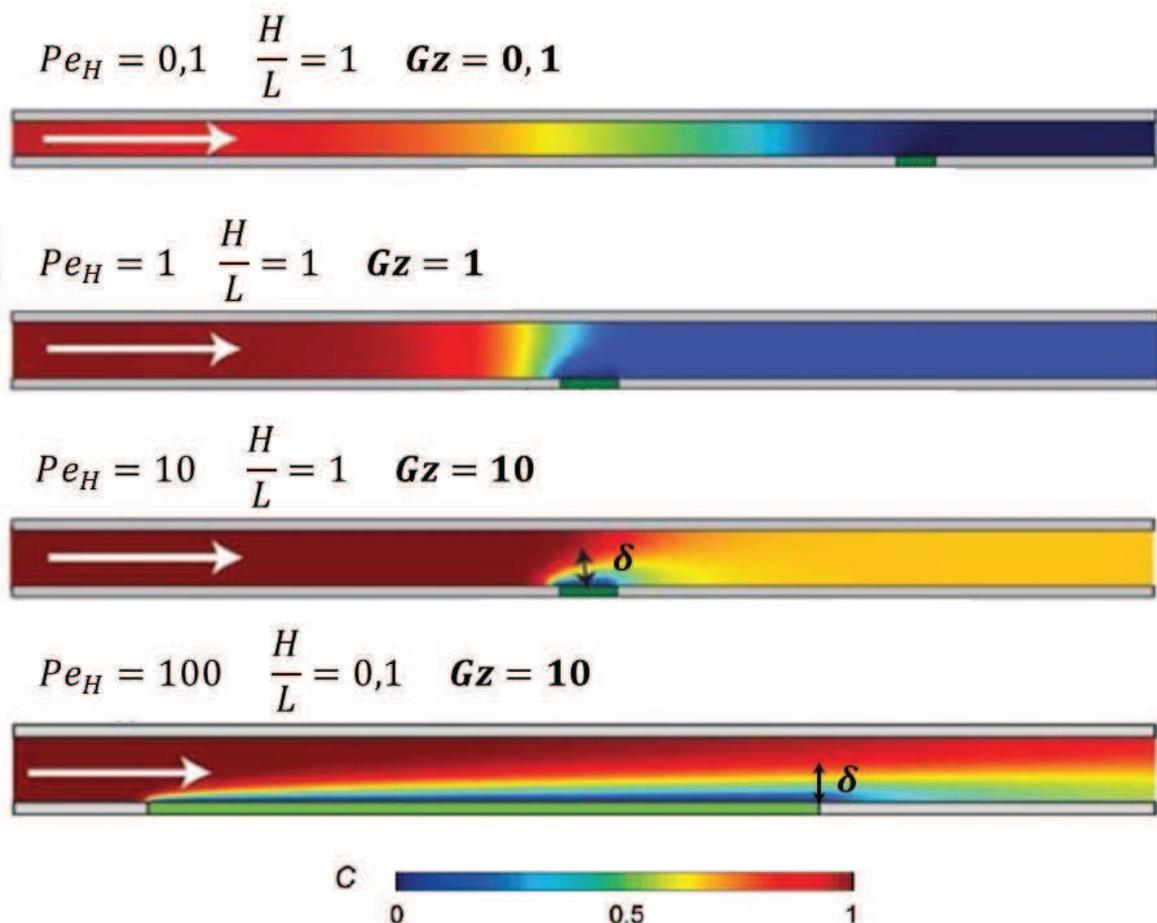


Figura 24 – Resultados de simulações computacionais por método de elementos finitos para um sensor atuando em diferentes condições de escoamento, caracterizadas pelo número de Péclet Pe_H . (Adaptado da referência [80]).

Apesar da condição estacionária em relação ao transporte de espécies químicas, a situação ilustrada na Figura 24 e os conceitos apresentados nesta parte do trabalho são importantes para a compreensão dos processos envolvidos na geração dos pulsos de concentração. A seguir serão feitas algumas considerações a respeito da propagação do pulso de concentração dentro do microcanal.

3.3.2. Propagação do pulso de concentração

Uma importante característica na propagação de um pulso de marcador ao longo do canal é a dispersão. Em escoamentos laminares e conduzidos por pressão (escoamentos de Poiseuille), a dispersão é resultante da interação entre efeitos advectivos e difusivos, que atuam sobre um pulso de marcador durante sua propagação ao longo do canal [83]. O exemplo ilustrado na Figura 25 permite observar com mais detalhes este efeito da dispersão na propagação pulso de marcador. Neste exemplo, um pulso é inserido em um microcanal e considera-se que o mesmo tem a forma de uma faixa estreita que se estende ao longo da altura (Figura 25 a).

Em um escoamento de Poiseuille e considerando a condição de não deslizamento nas paredes, a velocidade do escoamento (u_x) apresenta um perfil parabólico e, com base no sistema de referência da Figura 20, pode ser descrita da forma a seguir [80]:

$$u_x(y) = \frac{6Q}{W_c H^3} y(H - y), \quad (9)$$

onde Q é a vazão volumétrica, W_c e H são respectivamente a largura e a altura do canal.

O perfil de velocidade no interior do canal tende a deformar o pulso inicial conferindo-lhe a forma parabólica (Figura 25 b). Na ausência de efeitos difusivos, o pulso seria deformado continuamente até se extinguir. Entretanto, observa-se que a difusão dos marcadores na direção radial tende a inibir a deformação causada pela advecção na direção axial. Nessa difusão radial, o material do pulso que está na região mais central do canal tende a difundir em direção as paredes, enquanto o material mais próximo as paredes tendem a difundir na direção oposta (Figura 25 c). Quanto

maior o coeficiente de difusão associado aos marcadores menor é a deformação no pulso proveniente da advecção [81].

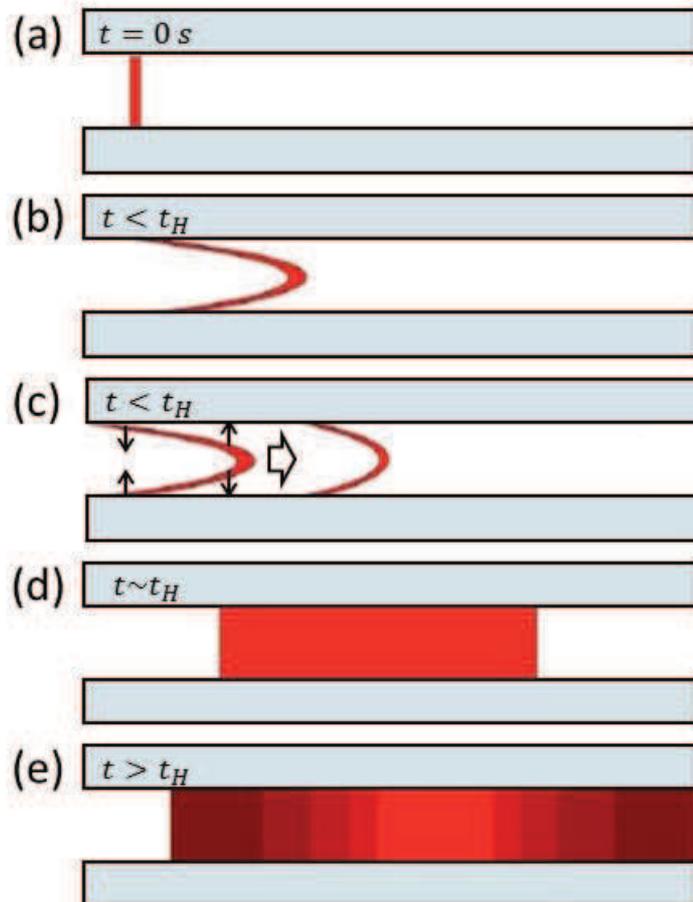


Figura 25 – Ilustração forma de um pulso de marcador que se propaga no interior de um microcanal, em diferentes instantes de tempo. Adaptado das referências [81] e [84].

Ainda em relação ao exemplo da Figura 25, é possível observar que a forma do pulso de marcador varia em função do tempo. Nesse caso, é utilizado como referência o tempo característico⁶ $t_H = \frac{H^2}{D}$, onde H é a altura do canal e D é o coeficiente de difusão molecular, ou difusividade, do marcador em relação ao meio. A forma parabólica do pulso de marcador ilustrada na Figura 25 b é válida para $t \ll t_H$. Para $t \sim t_H$ a difusão molecular deforma o pulso parabólico (Figura 25 c), que assume a forma de um *plug* com uma largura muito superior a largura inicial da faixa em $t = 0$

⁶ O tempo característico $t_H = \frac{H^2}{D}$ é definido como o tempo necessário para que um marcador com difusividade D percorra uma distância H , considerando apenas efeitos difusivos ao longo da dimensão de referência.

s. A partir deste ponto, ou seja para $t > t_H$, a largura do pulso na direção axial aumenta continuamente (Figura 25 d) como resultado de uma combinação de efeitos advectivos e difusivos. Este fenômeno é descrito pelo modelo de Taylor-Aris, onde o coeficiente de difusão molecular é substituído pelo coeficiente de dispersão D_{ax} , ou difusividade axial efetiva⁷, dado por [81]:

$$D_{ax} = D + \frac{\bar{u}^2 H^2}{210D} \quad (10)$$

Para expressar os efeitos da dispersão em escoamentos laminares em microcanais alguns autores utilizam outros parâmetros adimensionais como o número de Bodenstein (Bo) [85]:

$$Bo = \frac{\bar{u}L}{D_{ax}}, \quad (11)$$

onde L é um comprimento característico ao longo da direção do escoamento. O número de Bodenstein é a relação entre o tempo de difusão axial t_{ax}

$$t_{ax} = \frac{L^2}{D_{ax}}, \quad (12)$$

e o tempo de advecção $t_L = \frac{L}{\bar{u}}$, apresentando anteriormente.

Quando o número de Bodenstein assume valores baixos ($Bo < 10$), a difusão axial tem grande influência na propagação do pulso. Por outro lado, a medida que o número de Bodenstein assume valores mais altos, a advecção passa a predominar sobre os efeitos da difusão axial. Para $Bo > 100$ a difusão axial pode ser desconsiderada [85].

A utilização do número de Bodenstein é restrita a situação ilustrada na Figura 25 d, ou seja, $t \gg t_H$. Em geral, este parâmetro adimensional é utilizado em sistemas onde o pulso de marcador percorre uma distância muito longa até chegar a região de detecção [86]. Em situações onde $t \sim t_H$, ou ainda $t < t_H$, utiliza-se com certa

⁷ O coeficiente de dispersão mostrado na equação (4) é um caso específico para canais retangulares rasos [84].

frequência o número de Peclét Pe_H . Neste caso, considera-se se os efeitos advectivos predominam sobre os efeitos da difusão na direção axial quando $Pe_H \gg 1$ [84].

As informações e exemplos apresentados até o momento servem de base para compreender a relação entre os efeitos envolvidos tanto na geração quanto os envolvidos na propagação do pulso de marcador no microcanal, com as medidas do tempo de voo nos SMV. A seguir serão apresentadas algumas informações a respeito do processo de detecção dos pulsos de concentração.

3.3.3. Detecção do pulso de concentração

O sinal detectado no coletor está associado à variação de concentração média das espécies químicas (analitos) em um determinado ponto do sistema e para um determinado intervalo de tempo. Este sinal possui uma forma diferente do sinal de excitação devido as características do processo de formação do pulso, como pode ser observado na Figura 22. Em geral, todo sinal detectado possui uma região de valor máximo (pico) bem definida (Figura 26). Entretanto o sinal não é necessariamente simétrico em torno da região de máximo. O intervalo de tempo entre o início da detecção do sinal até a detecção do pico é menor do que o intervalo de tempo entre a detecção do pico e o final da detecção do sinal (retorno ao valor de referência).

A Figura 26 mostra uma ilustração do processo de detecção do pulso no coletor. A parte do pulso mais próxima a posição central do canal, região onde a velocidade de escoamento é maior, é a primeira a ser detectada (em $t = t_0$). Na sequência, a parte do pulso na região entre a posição central e o emissor é detectada, atingindo o valor máximo coletor. E por fim, a parte do pulso mais próxima ao emissor, e com menor velocidade, é detectada. Isso explica a assimetria do sinal detectado no coletor.

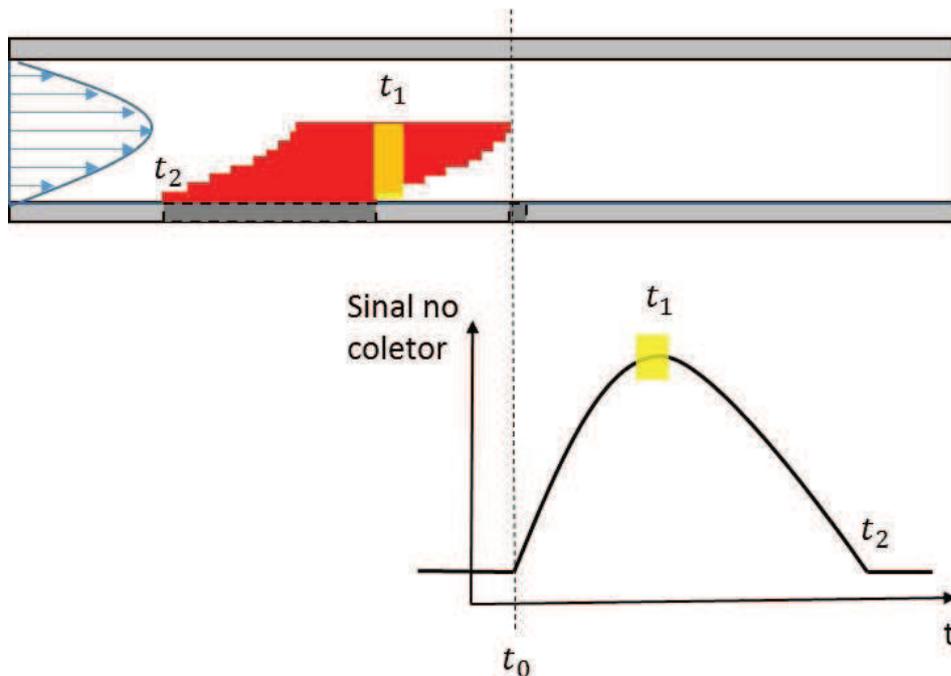


Figura 26 – Ilustração do processo de detecção do pulso. FONTE: O autor (2017).

Além dos efeitos do perfil de velocidade no canal, a forma do pulso também varia com o tempo devido a influência do processo de difusão. A variação na forma do pulso é analisada com base na variação do sinal detectado no coletor. Uma das maneiras de observar a variação na forma do pulso em função do tempo é utilizando dois ou mais coletores ao longo do canal. A Figura 27 mostra a detecção de um pulso de marcador (térmico) por dois coletores consecutivos, para diferentes valores de vazão (200 e 1000 $\mu\text{l}/\text{min}$) [77]. Nesta figura é possível observar que o sinal registrado no segundo coletor tem uma menor intensidade e uma maior largura, para ambos os casos analisados. Este efeito é mais pronunciado para vazões menores, onde intervalo de tempo entre a geração e a detecção, em cada um dos coletores, é maior.

Em qualquer SMV TOF a variação da forma do pulso em função do tempo pode ser observada. Essa variação está diretamente relacionada ao tempo de voo. Em um SMV TOF o tempo de voo é diferente para cada valor de vazão, logo a forma do sinal detectado também será diferente. Isso pode ser observado na Figura 28. Novamente é possível observar que sinais associados aos pulsos com menores tempos de voo (altas vazões) são mais estreitos e apresentam maior intensidade, enquanto os sinais associados à pulsos com tempos de voos maiores (vazões menores) são mais largos e de menor intensidade. Para reduzir o efeito da forma do

pulso (difusão) nas medidas de vazão, utiliza-se como referência o ponto de maior intensidade (pico) para a determinação do tempo de voo.

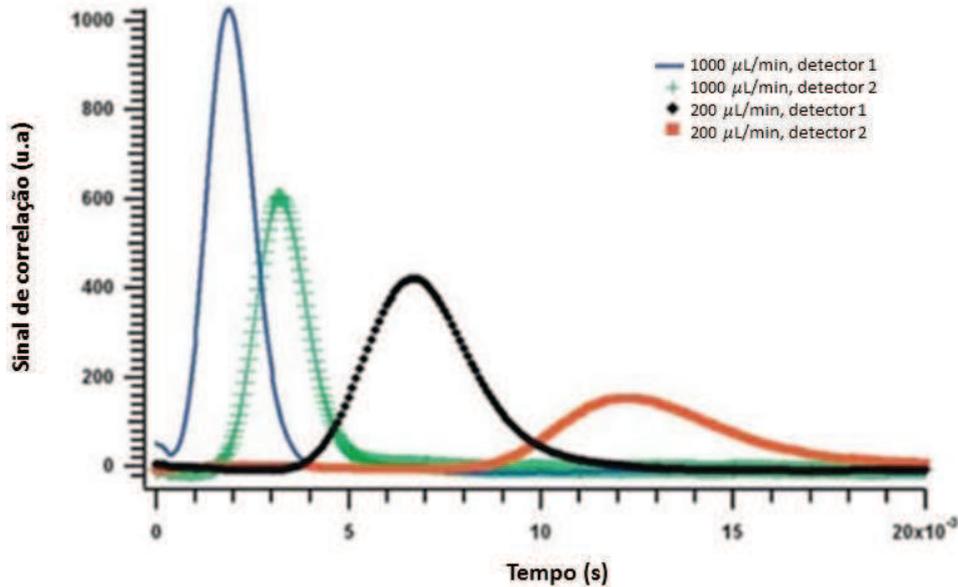


Figura 27- Sinais detectados em um SMV térmico que emprega o método TOF e utiliza dois sensores consecutivos ao longo do microcanal (Adaptado da referência [77]).

Para uma análise mais detalhada a respeito da propagação da variação local de concentração de analito (pulso) é preciso levar em consideração a equação para transporte de espécies em escoamentos. A concentração de um marcador que difunde e está sobre efeito da convecção resultante do escoamento, obedece a seguinte equação diferencial parcial

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\nabla^2 c - \vec{u} \cdot \nabla c, \quad (13)$$

onde c é a concentração da espécie considerada e D é o coeficiente de difusão da espécie em um meio, e \vec{u} é a velocidade associada ao escoamento do fluido. O lado esquerdo da equação (13) representa a variação local de concentração em função do tempo e o lado direito representa o transporte (da variação local de concentração) devido aos efeitos da difusão e da advecção.

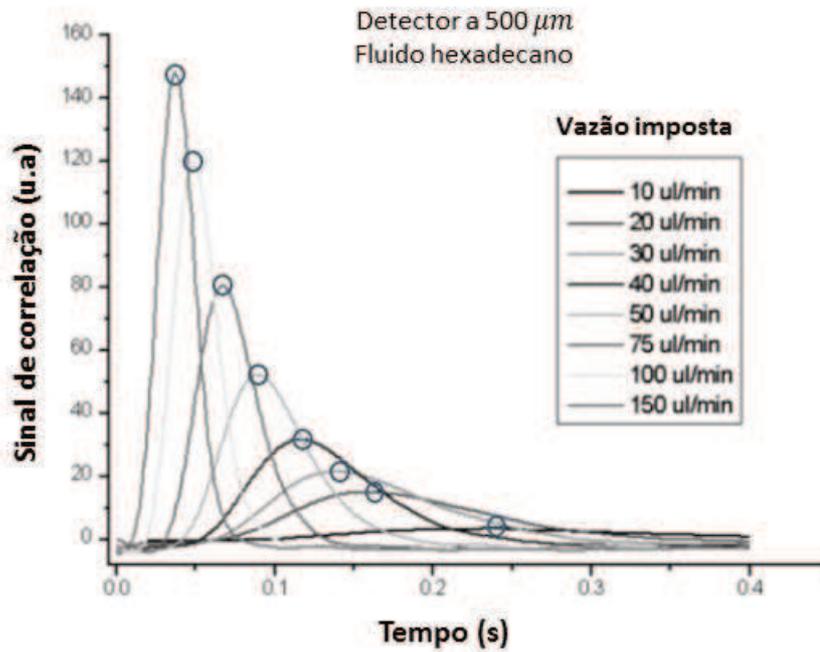


Figura 28 - Sinais detectados em um SMV térmico que emprega o método TOF para vários valores de vazões impostas, destacando-se o pico de cada curva (Adaptado da referência [47]).

Um dos raros casos em que a equação (13) possui solução analítica é o transporte de uma variação de concentração sobre a influência de um escoamento de Poiseuille em um canal de seção transversal circular. Nesse caso, a equação (13) pode ser escrita como [83]:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{D}{r} \left(\frac{\partial}{\partial r} r \frac{\partial c}{\partial r} \right) - \left(u_x \frac{\partial c}{\partial z} \right) \quad (14)$$

Algumas condições assumidas para a equações (14) incluem [83]:

O perfil de velocidade em função da posição radial:

$$u_r = 2u \left[1 - \left(\frac{r}{R} \right)^2 \right], \quad (15)$$

onde u é a velocidade máxima no centro do canal e R é o raio do tubo.

A concentração inicial dada por uma função delta:

$$c = \left(\frac{M}{\pi R^2} \right) \delta(z), \quad (16)$$

onde M é a quantidade total de analito no pulso.

E que o transporte de massa considera a difusão radial e a convecção na direção axial como fenômenos independentes, sendo esta condição válida quando

$$7,2 \left(\frac{LD}{R^2u} \right) \gg 1, \quad (17)$$

onde L é o comprimento do tubo. Esta condição é válida para tubos longos e finos.

A partir da solução da equação diferencial parcial, equação (14), com base nas condições iniciais especificadas, é possível obter uma equação que descreve a concentração média do pulso na seção transversal de tubo [83]:

$$\bar{c} = \frac{M/A}{\sqrt{4\pi D_{ax}t}} e^{-(z-ut)^2/4D_{ax}t}, \quad (18)$$

onde z é a distância ao longo do tubo, u é a velocidade do fluido e t é o tempo. O coeficiente de dispersão é dado por [83]:

$$D_{ax} = \frac{(Ru)^2}{48D} \quad (19)$$

Apesar da solução analítica apresentada na equação (18) se restringir ao caso e de um canal com seção transversal circular, comparando a forma do pulso de concentração descrito por esta equação com os pulsos de concentração obtidos experimentalmente para canais de seção transversal retangulares, observa-se que estes são muito semelhantes. Isto sugere que uma equação similar a equação (18), considerando as diferenças geométricas, pode ser utilizada para descrever os pulsos de concentração em canais de seção retangular.

3.3.4. Expressão analítica para o tempo e voo t_v

Na literatura referente aos SMVs TOF são poucos os trabalhos que apresentam uma expressão analítica relacionando o tempo de voo com a vazão imposta no microcanal. De modo geral, o tempo de voo é descrito da seguinte forma [87]:

$$t_v = \frac{A\Delta x}{Q} + t_d, \quad (20)$$

onde Δx é a distância entre dois pontos de referência na direção do escoamento e t_d é uma constante relacionada aos processos de formação e detecção do pulso de marcador, denominada tempo de *delay* [76]. No entanto, a equação (20) se restringe a condição em que o pulso de marcador se desloca com uma velocidade igual a velocidade média do escoamento ($t_v \gg t_H$ ou $Gz \ll 1$) e os efeitos advectivos predominam sobre os efeitos difusivos na direção axial ($Pe_H \gg 1$).

Para uma descrição mais geral da relação entre o tempo de voo e a vazão imposta no microcanal que contemple outras condições de escoamento, é necessário levar em consideração os efeitos da difusão axial e das características do dispositivo, como as dimensões do canal e a disposição dos componentes.

3.4. OBJETIVOS

Com base na revisão bibliográfica apresentada foram identificadas lacunas no estado da arte em relação aos sensores microfluídicos de vazão que serviram de motivação e colaboraram para definição dos objetivos dessa pesquisa de doutorado.

Como objetivo geral definiu-se o desenvolvimento de um SMV-TOF que combina marcadores eletroquímicos, indicador de pH e detecção óptica. As características definidas para o sensor visam contornar as principais desvantagens e limitações associadas aos atuais dispositivos da mesma categoria.

Para atingir o objetivo geral foram definidos os seguintes objetivos específicos:

- A construção dos dispositivos utilizando-se de métodos de prototipagem rápida e o desenvolvimento de técnicas que simplifiquem o processo;
- A construção de um sistema de aquisição de dados que atenda às necessidades da pesquisa e ao mesmo tempo possa ser utilizado como uma alternativa aos sistemas usuais relatados na literatura;
- A caracterização dos dispositivos visando determinar as características de funcionamento como a sensibilidade e a resolução das medidas de vazão, bem com os valores limites que definem a faixa de vazão;
- A análise dos resultados experimentais obtidos, principalmente das curvas que relacionam o tempo de voo com a vazão imposta no microcanal, com o objetivo de definir os principais fatores que podem afetar as medidas de vazão nestes dispositivos;
- A proposta e a validação de uma função que descreva a relação entre o tempo de voo e a vazão, de forma mais geral, incluindo as situações onde o pulso de marcador não atinge o topo do canal e a velocidade associada a difusão na direção axial é comparável a velocidade média do escoamento.
- A utilização de simulação computacional pelo método de elementos finitos que permita estudar de forma mais detalhada pontos relacionados à formação do pulso de marcador nos eletrodos e a altura do mesmo em relação ao canal.

4. RESULTADOS

4.1. DESCRIÇÃO DO PRINCÍPIO DE FUNCIONAMENTO

Optou-se por inicialmente descrever as principais características de funcionamento do método de determinação de vazão, proposto nesse trabalho, no intuito de facilitar a compreensão da descrição do processo de desenvolvimento do sensor. Apresentando o funcionamento, é possível justificar alguns detalhes importantes na construção dos dispositivos como, por exemplo, a posição relativa dos componentes.

O método de medição de vazão proposto envolve ao menos uma entrada de fluido, um canal de dimensões mili/micrométricas, uma saída de fluido, um par de eletrodos condutores (em contato com o fluido), um sensor de luz, um emissor de luz (LED) e uma solução aquosa contendo um indicador de pH e um eletrólito suporte⁸. A Figura 29 apresenta de maneira esquemática uma das possíveis configurações do SMV.

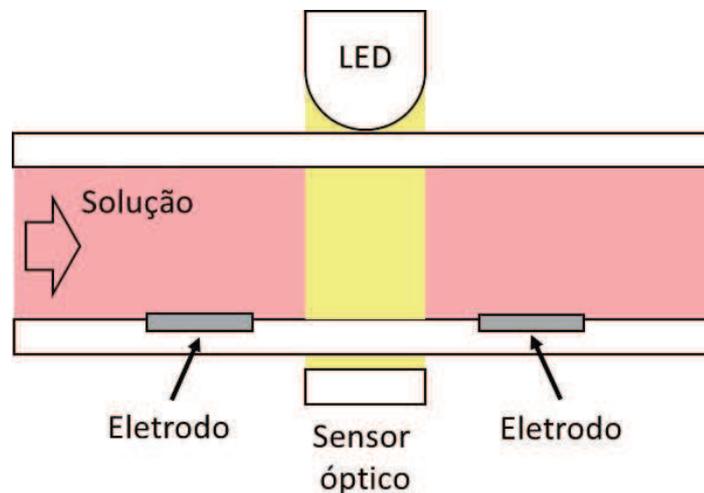


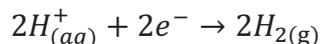
Figura 29 – Ilustração da posição relativa entre o sensor e o emissor de luz, os eletrodos e o canal microfluídico. FONTE: O autor (2017).

⁸ A composição da solução aquosa será apresentada posteriormente na seção relacionada à construção dos dispositivos.

O princípio de funcionamento do método proposto neste trabalho é composto de duas etapas sendo estas a geração de um sinal óptico na solução e a detecção do mesmo.

A etapa de geração do sinal óptico envolve a aplicação de uma diferença de potencial entre os eletrodos, que estão dentro do canal e em contato com a solução (Figura 29). Esta diferença de potencial dá origem a reações eletroquímicas na interface metal/solução de cada um dos eletrodos. É importante ressaltar que apesar da solução aquosa utilizada conter um indicador de pH⁹ e um eletrólito de suporte¹⁰ (NaOH), assume-se que estas substâncias não participam das reações eletroquímicas. Além disso, solução utilizada tem pH neutro (pH = 7). O eletrólito suporte adicionado à solução tem como única função gerar um aumento na condutividade elétrica da mesma.

A Figura 30 ilustra as reações eletroquímicas em cada um dos eletrodos e a geração do sinal óptico. O eletrodo conectado ao polo negativo da fonte é denominado cátodo. Com a aplicação da diferença de potencial ocorre neste eletrodo a redução dos íons H^+ [88]:



Como o pH da solução é neutro, inicialmente tem-se que a concentração dos íons H^+ e OH^- são iguais. A redução dos íons H^+ , descrita na reação acima, gera uma diminuição na concentração dos íons H^+ e, conseqüentemente, a concentração de OH^- passa a ser maior. Isto resulta em um aumento local do pH (pH > 7) que, por sua vez, resulta em uma mudança de coloração da solução. Nesse caso o indicador de pH adquire a coloração característica para um meio básico (Figura 30).

⁹ O indicador de pH utilizado na solução aquosa, bem como suas características, será apresentado posteriormente na seção relacionada à construção dos dispositivos.

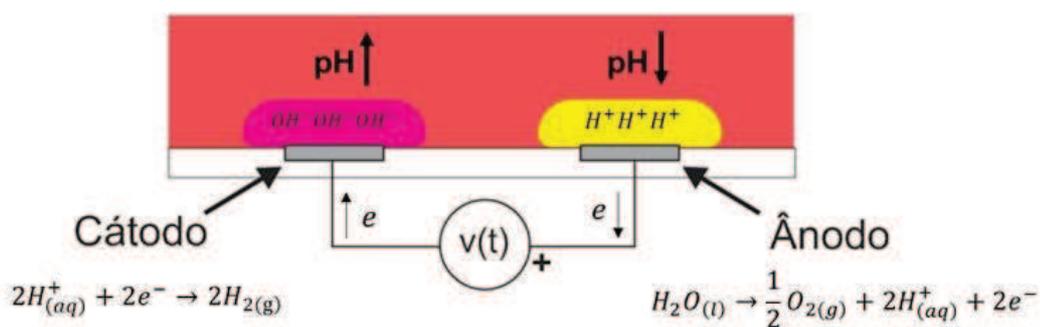
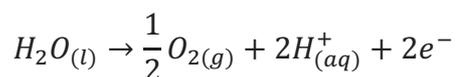


Figura 30 – Desenho esquemático dos processos eletroquímicos envolvidos na geração do sinal óptico utilizado no método de medição de vazão desenvolvido neste trabalho de doutorado. FONTE: O autor (2017).

O outro eletrodo, conectado ao polo positivo da fonte, é denominado ânodo e nele ocorre o processo de redução da água [88]:



Com base na reação descrita acima, a região nas proximidades do ânodo apresenta um aumento na concentração de íons H^+ . Este aumento também gera uma alteração local do pH. Entretanto, como o pH diminui ($pH < 7$), o indicador de pH adquire a coloração característica para um meio ácido (Figura 30).

As alterações na coloração da solução se deslocam pelo canal seguindo o escoamento do fluido. A passagem da alteração de coloração pela região entre o LED e o sensor de luz (Figura 29) é registrada por este último como uma variação de intensidade luminosa (sinal).

As etapas relacionadas ao princípio de funcionamento do método proposto neste trabalho são ilustradas na Figura 31. A Figura 31a é uma vista superior da configuração mostrada na Figura 29. A Figura 31 a representa o instante anterior a aplicação do pulso de tensão nos eletrodos. A Figura 31 b representa o instante de tempo em que o pulso de tensão nos eletrodos é aplicado e o surgimento das alterações de coloração na superfície dos mesmos (setas). A Figura 31 c ilustra o sistema no instante de tempo em que a alteração de coloração, gerada no cátodo, chega ao sensor óptico e é detectada pelo mesmo.

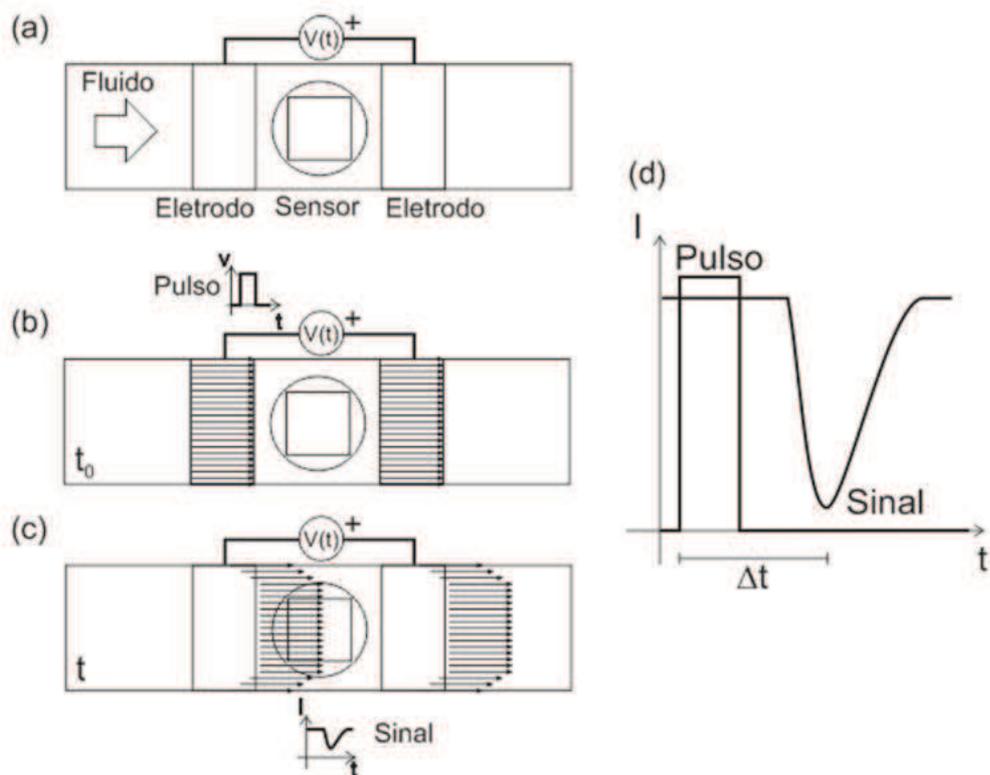


Figura 31– Etapas do funcionamento: (a) antes, (b) durante e (c) depois da aplicação do pulso de tensão nos eletrodos. (d) Apresenta o pulso de tensão nos eletrodos e da intensidade luminosa detectada no sensor de luz em função do tempo. FONTE: O autor (2017).

O intervalo de tempo Δt (Figura 31d) entre a geração da alteração de coloração da solução, em um dos eletrodos, e a detecção dessa alteração pelo sensor de luz é a grandeza de interesse. Esse intervalo de tempo, denominado tempo de voo, é correlacionado com a vazão volumétrica do fluido que escoava pelo canal. Nessa pesquisa, a diferença de tempo será calculada utilizando como valor inicial o instante associado ao início do pulso de tensão e como valor final o instante associado ao valor máximo (pico) da variação de intensidade detectado pelo sensor de luz (Figura 31d).

4.2. CONSTRUÇÃO DOS SMVS

4.2.1. Indicadores de pH e sensores ópticos

Indicadores de pH ou Indicadores ácido-base são substância que apresentam alterações de cor de acordo com o pH do meio em que estão inseridas. Estes indicadores são ácidos ou bases fracas que podem ser dissolvidas tanto em soluções aquosas quanto em solventes orgânicos [89].

Na microfluídica, os indicadores de pH têm sido utilizados em sensores ópticos de pH. Estes sensores correlacionam quantitativamente os valores de pH com as propriedades ópticas do meio em um determinado ponto do sistema. O indicador de pH é o componente chave para converter a variação de pH do meio em uma variação de propriedade óptica que, por sua vez, é detectada por um transdutor e convertido em um sinal mensurável. Dentre as propriedades ópticas que podem ser utilizadas para tal finalidade, as mais comuns são a absorbância, a fluorescência e a refletância [90].

Os sensores ópticos de pH, também denominados sensores colorimétricos de pH, têm sido utilizados no monitoramento contínuo do pH em sistemas biológicos (cultura celular) [91][92], em sistemas envolvendo reações químicas controladas e em sistemas para análises de condições ambientais [93] [94].

O Vermelho de Fenol ($C_{19}H_{14}O_5S$) é um dos indicadores de pH que tem sido utilizado em trabalhos envolvendo dispositivos microfluídicos. Este é um indicador de pH reversível, que apresenta uma transição gradual do amarelo ao vermelho-magenta ao longo da faixa de pH de 6,6 a 8,0 e picos absorção em 430 nm e 560 nm [92]. Essa faixa de viragem é compatível com os valores ideais de pH associados à muitos sistemas biológicos, próximos a 7,4, e por esse motivo o vermelho de fenol é frequentemente utilizado em cultura de células [95]. Devido alta sensibilidade para pequenas variações de pH, a solução de vermelho de fenol foi escolhida para a aplicação no método desenvolvido nesse trabalho de doutorado.

A solução contendo o indicador de pH utilizada nos testes foi preparada dissolvendo 0,1 g de Vermelho de Fenol em 14,20 ml de Hidróxido de Sódio¹¹ (0,02 M) e completado até um volume total de 250 ml com água deionizada. O pH final da solução foi ajustado em $7,00 \pm 0,05$ através da adição de NaOH (0,02 M). Este valor de pH da solução foi monitorado com o auxílio de um medidor de pH da marca MS TECNOPON modelo mPA210. A solução contendo o indicador de pH de acordo com as especificações descritas será denominada solução de referência.

4.2.2. Projeto e construção da plataforma microfluídica

A plataforma microfluídica compreende a parte do sistema que contém os canais microfluídicos, as entradas e saídas de fluidos e os eletrodos. Conectores fazem a integração entre a plataforma e os dispositivos auxiliares como microbombas e reservatórios de descarte (Figura 32).

Nesse trabalho a estrutura da plataforma microfluídica foi construída empregando a técnica montagem por camadas ou *layer-by-layer*. Essa técnica envolve a sobreposição de diversas camadas (Figura 33), cada uma com sua especificidade, para formar um dispositivo. Esta é uma técnica simples e especialmente interessante na construção de dispositivos para provas de conceito, pois tem como principal vantagem a redução no tempo de prototipagem.

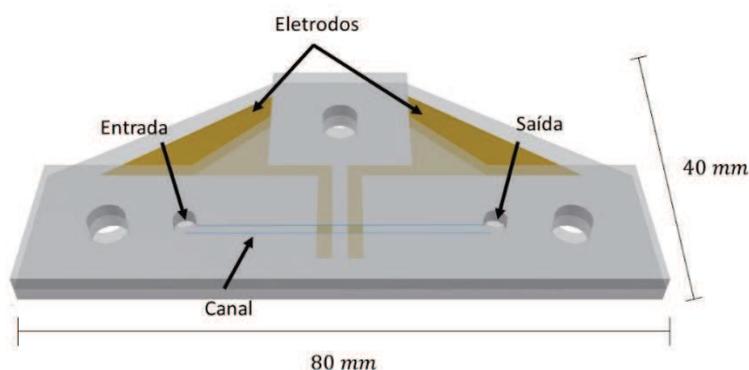


Figura 32– Plataforma microfluídica. FONTE: O autor (2017).

¹¹ Nos testes iniciais foram utilizados o Cloreto de Sódio (NaCl) como eletrólito suporte. Os testes do sensor utilizando NaCl não apresentaram variações significativas se comparados com os testes utilizando NaOH. Entretanto, como existe a possibilidade dos íons Cl^- provenientes da dissolução do sal na água reagirem com o ouro (material que compõe os eletrodos), optou-se por utilizar o NaOH como eletrólito suporte.

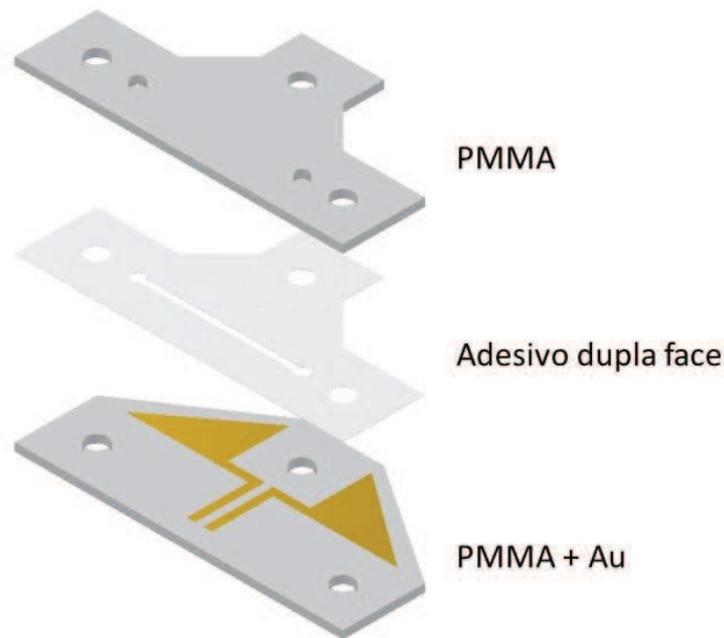


Figura 33 – Camadas que compõem a plataforma microfluídica. FONTE: O autor (2017).

4.2.2.1. Estrutura PMMA

O material selecionado para compor a estrutura foi o PMMA (polimetilmetacrilato) devido às suas características ópticas (transparência), boa rigidez mecânica e a adequação ao processo de corte a laser. Foram utilizadas chapas de PMMA com 2 mm de espessura para construção das camadas superior e inferior (Figura 33). Os cortes para definição da geometria e formação dos orifícios nas camadas de PMMA foram feitos utilizando uma fresadora que emprega um laser de CO_2 de 30 W (Gravograph LS100).

4.2.2.2. Definição dos canais microfluídicos

Grande parte dos dispositivos microfluídicos utilizam processos de litografia (em substratos como vidro e silício) ou litografia leve (em polímeros) para definir os canais microfluídicos. Estes processos, apesar de precisos são relativamente demorados, dependem de insumos caros e em muitos casos necessitam de condições especiais de preparo como salas limpas e iluminação específica, por exemplo.

Os canais microfluídicos são construídos em uma camada de adesivo dupla face. A forma e a largura do canal são definidas através de cortes utilizando uma

plotter de recorte (Silhouette Portrait). A altura do canal, por sua vez, é definida pela espessura do adesivo. Além de definir a altura do canal, a camada de adesivo dupla face é utilizada para integrar as outras camadas que formam o canal (uma superior e uma inferior), provendo a adesão e evitando vazamentos.

Com base nas informações acima é possível concluir que a escolha adequada do adesivo é uma parte relevante do trabalho. Pontos considerados na seleção dos materiais foram:

- A espessura na ordem de micrometros;
- A boa aderência ao PMMA, para evitar vazamentos;
- Boa estabilidade dimensional;
- Disponibilidade comercial e custo.

Os adesivos selecionados para esta aplicação e suas principais características são apresentadas na Tabela 1.

TABELA 1 - PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS DOS ADESIVOS SELECIONADOS PARA APLICAÇÃO NA CONSTRUÇÃO DOS DISPOSITIVOS DESENVOLVIDOS NESTE TRABALHO

Marca/Modelo	Espessura nominal (μm)	Composição
3M YR-9767	50 ± 5	Adesivo acrílico reforçado com fibra de vidro
Drytac Facemount®	75 ± 5	Adesivo acrílico/PET/Adesivo acrílico
Alltak dupla face	110 ± 10	Adesivo acrílico/PVC/Adesivo acrílico

Foram realizados alguns testes preliminares e o adesivo da marca Drytac foi escolhido para a aplicação nos dispositivos por apresentar transparência e adesão ao PMMA superiores aos demais adesivos. Diferentes espessuras para o adesivo selecionado foram obtidas através da sobreposição de camadas.

4.2.2.3. Processo de tratamento (limpeza) do PMMA

Após o corte das camadas de PMMA na fresadora a laser as mesmas foram lavadas em água corrente para remover o excesso de material na superfície acumulado no processo. Na sequência os *liners*¹² são removidos e as camadas são

¹² Camadas de proteção que acompanham os materiais vindos de fábrica.

colocadas é um recipiente contendo uma solução de 50 % água bidestilada e 50 % de álcool isopropílico e colocadas em banho ultrassônico por 10 min. Após este processo, as camadas são lavadas com água bidestilada e secas em uma estufa a 40 °C. Este procedimento de limpeza foi estabelecido especialmente para a camada inferior da plataforma microfluídica (Figura 33) onde são depositados os eletrodos.

4.2.2.4. Deposição dos eletrodos

Na maioria dos SMV, os componentes utilizados como aquecedores, sensores de temperatura, eletrodos e contra-eletrodos são construídos utilizando a deposição de filmes metálicos. Devido ao contato direto destes componentes com o fluido durante a operação dos SMV, os materiais mais empregados na construção dos mesmos são metais nobres como a platina (Pt) e ouro (Au). As principais vantagens na utilização destes materiais são sua alta resistência química e à oxidação [41].

Um processo frequentemente utilizado na construção dos eletrodos é o *lift-off* [96]. Neste processo o perfil dos eletrodos é definido em uma máscara removível. Esta máscara é posicionada sobre o substrato e o metal é depositado. Após a deposição do metal sobre o conjunto (máscara e substrato) a máscara é removida permanecendo apenas o eletrodo metálico sobre o substrato.

Outro aspecto importante na construção dos dispositivos é a adesão dos eletrodos ao substrato. A aderência de filmes metálicos em PMMA, por exemplo, é muito baixa. Esta baixa adesão pode resultar problemas na construção dos eletrodos (principalmente eletrodos de pequenas dimensões), como o desprendimento dos mesmos no processo de *lift-off* [97]. Nesse caso, é comum a adição de uma camada intermediária, denominada camada de adesão, para promover uma melhor aderência entre o metal e o substrato.

Em substratos como silício e vidro é comum a utilização de uma camada de adesão composta por outros metais como o cromo (Cr) e o titânio (Ti). Em geral, a estas camadas de adesão tem espessuras de 20-50 nm, enquanto os eletrodos apresentam espessuras entre 100-200 nm [69][70][74]. A Tabela 2 apresenta exemplos de materiais utilizados como substratos, camadas de adesão e eletrodos em SMV.

Em substratos poliméricos, o processo de adesão dos eletrodos pode necessitar de etapas adicionais. No caso do PMMA, a adição de outros metais como camada de adesão pode não ser suficiente para evitar o desprendimento do eletrodo, devido à baixa adesão com o substrato. Uma alternativa citada na literatura é a deposição de uma camada adicional de outro material polimérico que apresente melhor adesão ao metal. Exemplos de materiais poliméricos empregados são o parilene C e o SU-8 [98][97].

TABELA 2 - INFORMAÇÕES DA LITERATURA SOBRE MATERIAIS UTILIZADOS COMO SUBSTRATOS, CAMADAS DE ADESÃO E ELETRODOS EM SMV

Substrato	Camada de adesão (material/espessura)	Eletrodo (material/espessura)	Referência
Silício	Ti 50 nm	Pt 100 nm	[69]
Vidro	Cr 20 nm	Au 150 nm	[70]
Silício	Cr 20 nm	Au 200 nm	[74]
PMMA	Parilene C	Au 150 nm	[98]
PMMA	SU8 20 μm + Ti 50 nm	Pt 100 nm	[97]

Nessa pesquisa de doutorado, os eletrodos foram construídos sobre camadas de PMMA utilizando-se a técnica *lift-off*. As etapas do processo estão ilustradas na Figura 34.

Inicialmente tem-se a camada de PMMA previamente limpa de acordo com o procedimento descrito anteriormente (Figura 34 a). Na sequência, uma máscara¹³ de vinil adesivo contendo o perfil do eletrodo é sobreposta à camada de PMMA (Figura 34 bc). O conjunto é colocado em uma metalizadora (Sputter Coater Cressington 208HR) onde uma camada de 60 nm de ouro é depositada (Figura 34 d). Após o processo de deposição, a máscara é removida (Figura 34e) e o material condutor permanece apenas na região exposta (Figura 34 f).

¹³ A máscara utilizada inicialmente foi um vinil adesivo (marca Sillhouette®) onde o contorno dos eletrodos foi recortado utilizando a plotter de recorte.

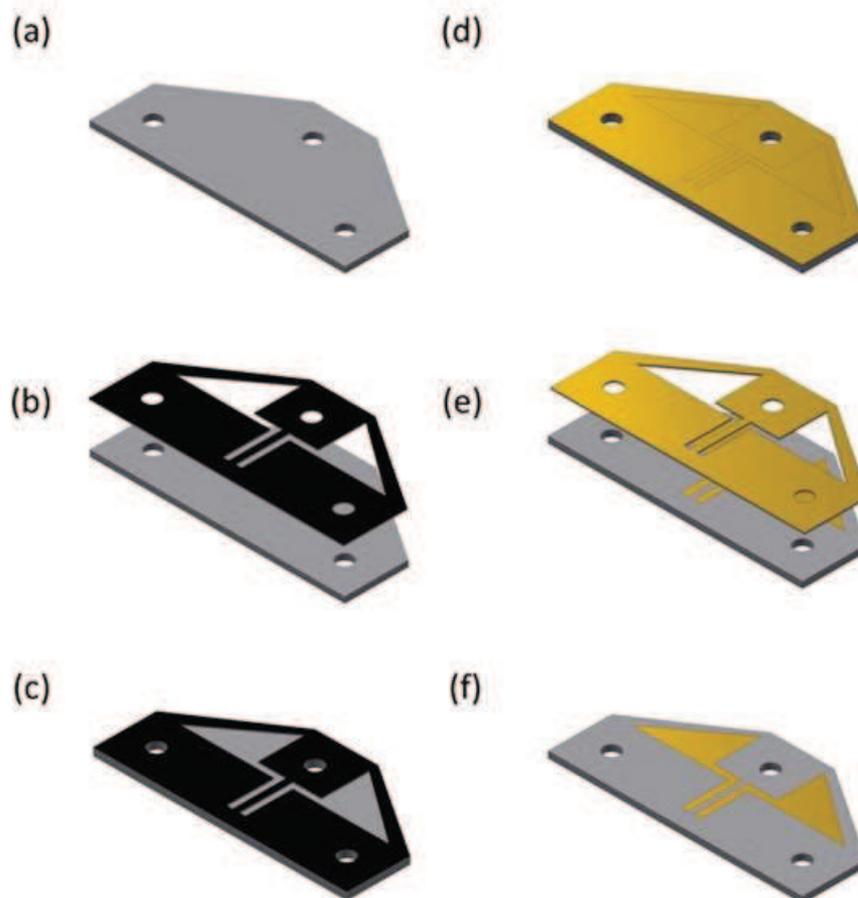


Figura 34 – Etapas do processo de construção dos eletrodos metálicos sobre a camada e PMMA. FONTE: O autor (2017).

Devido às dimensões relativamente grandes dos eletrodos utilizadas nesta pesquisa (menores dimensões da ordem de 2 mm), as primeiras deposições foram realizadas sem camadas de adesão. Os eletrodos não apresentaram danos visíveis após o processo de remoção da máscara. Entretanto, durante os testes iniciais do SMV, os eletrodos foram danificados (Figura 35).

Posteriormente, diversos processos visando melhorar a adesão do eletrodo ao PMMA foram testados como: a adição de camada de adesão metálica com Cr (20-50 nm); o tratamento a plasma de O_2 e a exposição prévia do substrato a vapores de solventes orgânicos (clorofórmio). Porém, nenhum destes procedimentos foi suficiente para contornar esta limitação.

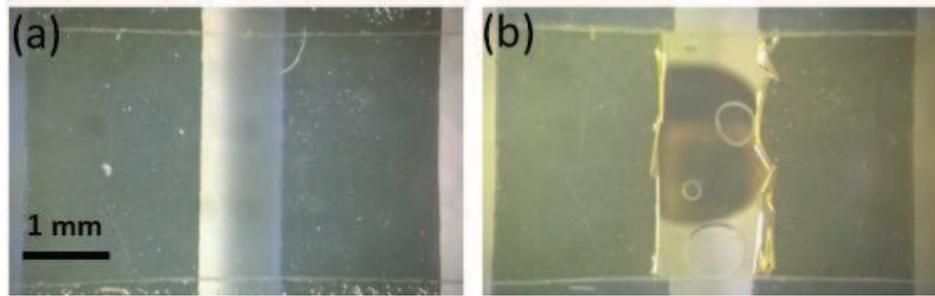


Figura 35 – Em ambas as fotos são mostrados dois eletrodos de Platina com 100 nm de espessura com uma camada de adesão de Cromo de 20 nm. Em (a) os eletrodos antes do teste e em (b) os mesmos eletrodos após os testes. FONTE: O autor (2017).

A alternativa encontrada nessa pesquisa para superar a limitação referente a falta de adesão dos eletrodos de Au no substrato de PMMA foi adicionar uma camada de adesivo dupla face transparente (Drytac Facemount®), o mesmo utilizado para a definição dos canais microfluídicos. A escolha deste adesivo foi baseada na sua qualidade superior em relação a transparência, visando não comprometer as medidas ópticas.

A utilização do adesivo dupla face resultou em algumas alterações no processo de construção dos eletrodos. Inicialmente, o perfil dos eletrodos é recortado no próprio *liner* de proteção do adesivo e a parte interna é retirada (Figura 36a). O *liner* da parte inferior do adesivo é retirado por completo e este é posicionado sobre a camada de PMMA (Figura 36bc). O conjunto é colocado na metalizadora, onde a camada de ouro de 100 nm de espessura é depositada (Figura 36d). E por fim, o restante do *liner* (máscara) é retirado (Figura 36e). Esse procedimento resolveu completamente as limitações referentes a adesão dos eletrodos.

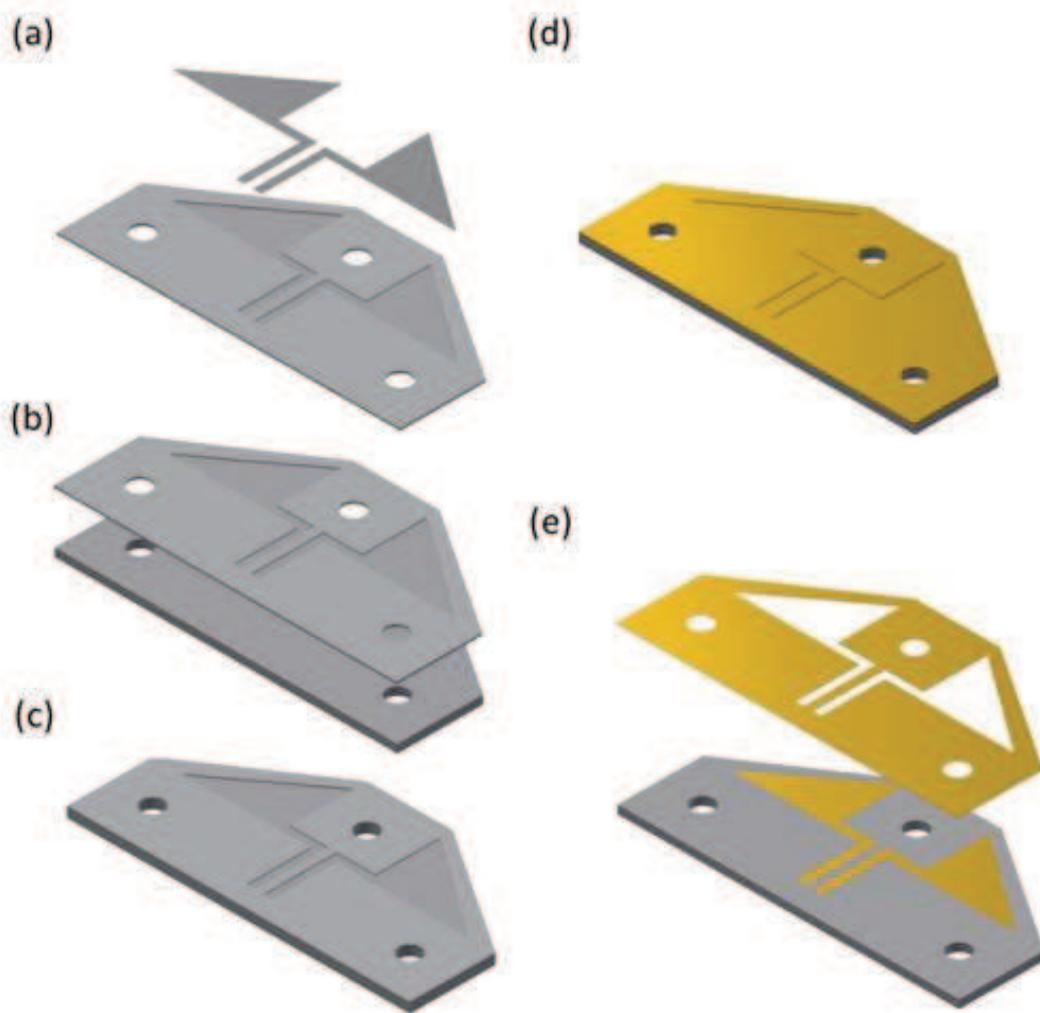


Figura 36 - Etapas do processo de construção dos eletrodos metálicos adaptado para a utilização do adesivo dupla face. FONTE: O autor (2017).

4.2.2.5. Fechamento dos dispositivos

Construídas as camadas, segue a etapa de montagem da plataforma microfluídica, que é basicamente o empilhamento das mesmas. Em cada uma das camadas são feitos orifícios de diâmetros pré-definidos (Figura 37). Parafusos contendo uma base de apoio são passados pelos orifícios com a finalidade de promover o alinhamento das camadas.

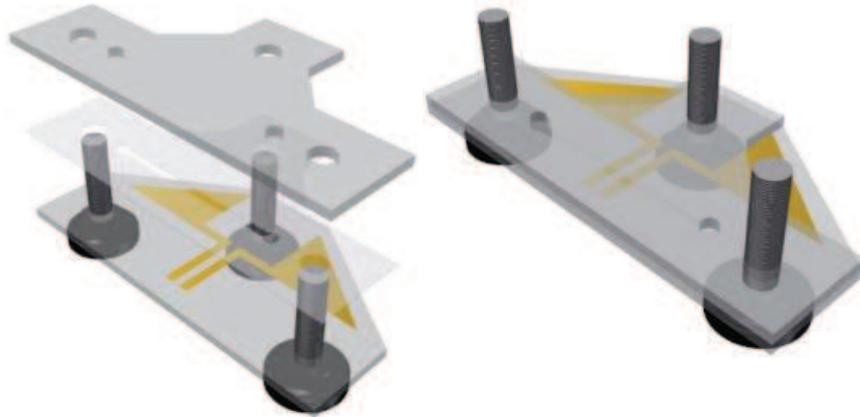


Figura 37 – Etapas da montagem das camadas que compõem a plataforma microfluídica. FONTE: O autor (2017).

4.2.2.6. Dimensões nominais e posicionamento dos componentes

Na figura 38 são apresentadas algumas das dimensões características da plataforma microfluídica desenvolvida. A Figura 38a destaca a largura L_C e o comprimento C_C do canal. Detalhes da parte central do dispositivo são apresentados na Figura 38b, onde C_e é o comprimento do eletrodo, L_e é a largura do eletrodo, D_{ee} é a distância entre os eletrodos e D_{es} é a distância entre a extremidade de um eletrodo e a posição média entre os dois eletrodos. Nesta posição média entre os eletrodos é colocado o sensor óptico para detecção do sinal.

É importante destacar nesta configuração, que apenas as áreas expostas dos eletrodos dentro do canal microfluídico contribuem para o processo de geração do sinal óptico. Sendo assim, a largura do eletrodo (L_e) é igual à largura do canal (L_c).

No processo de caracterização dos dispositivos desenvolvidos foram utilizadas plataformas microfluídicas com diferentes larguras e alturas de canais. As demais dimensões foram mantidas constantes e seus respectivos valores são:

$$C_C = 40 \text{ mm}; C_e = 2 \text{ mm}; D_{ee} = 1,5 \text{ mm}; D_{es} = 0,75 \text{ mm}$$

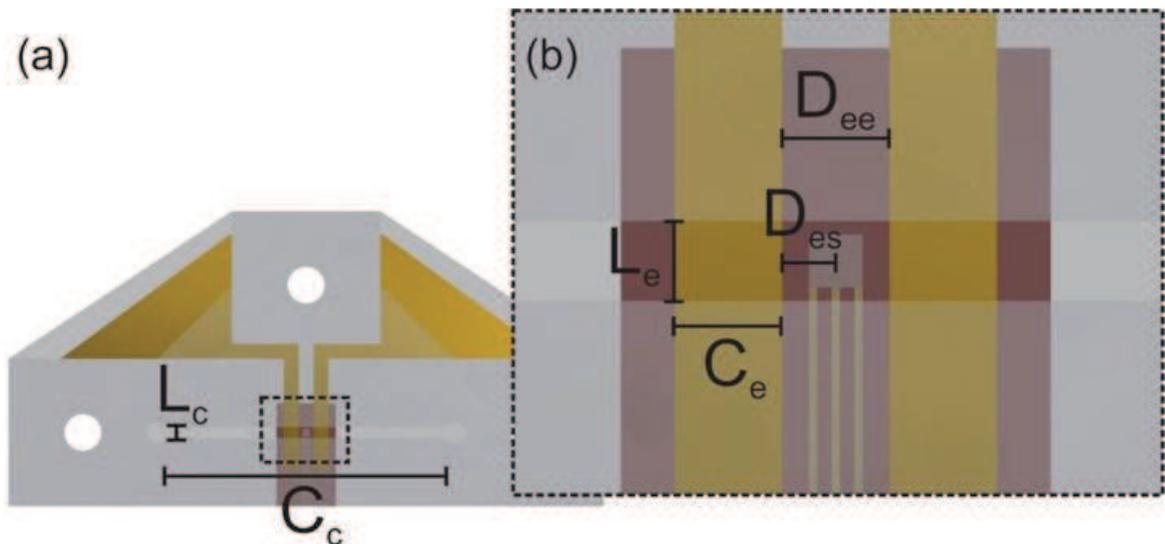


Figura 38 – Detalhes da geometria da plataforma microfluídica e definição das dimensões relevantes. FONTE: O autor (2017).

4.2.3. Dimensões do SMV

A medição das dimensões do SMV foi realizada através do software ImageJ. Nesse software define-se uma linha com comprimento real conhecido como uma linha de referência. O software associa o comprimento desta linha de referência à uma quantidade de pixels da imagem e define uma escala comprimento/pixel. Na sequência são traçadas linhas entre os pontos em que se deseja medir a distância, o software realiza a contagem dos pixels e converte para unidade de comprimento com base na escala previamente definida.

Nesse procedimento, a largura do eletrodo a esquerda na Figura 39 (denominado eletrodo 1) foi adotada como referência. A largura do eletrodo 1 foi previamente medida através de perfilometria resultando em um valor igual a $2,0 \pm 0,1 \text{ mm}$. As medidas realizadas, e marcadas na Figura 39, são apresentadas na Tabela 3. Adotou-se o erro da medida de referência como erro das demais medidas realizadas.

Comparando o valor da largura medida para o sensor óptico na Tabela 3 e o valor nominal (fornecida pelo fabricante) de $1,0 \pm 0,1 \text{ mm}$, é possível concluir que o procedimento de medição adotado fornece resultados satisfatórios.

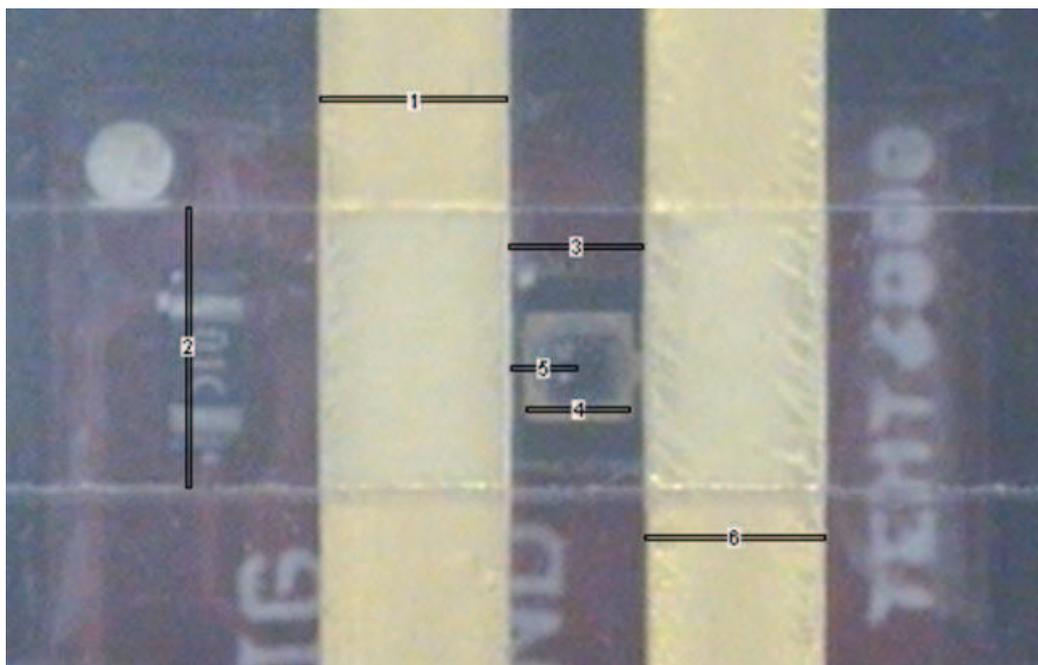


Figura 39 – Imagem SMV utilizada na determinação das dimensões dos componentes através do software ImageJ. FONTE: O autor (2017).

TABELA 3 – RESULTADOS DAS MEDIDAS DE DIMENSÕES DOS COMPONENTES DO SMV APRESENTADO NA FIGURA 39

Medida	Descrição	Valor obtido
1	Largura do eletrodo 1	$2,0 \pm 0,1 \text{ mm}$
2	Largura do canal	$3,0 \pm 0,1 \text{ mm}$
3	Distância entre eletrodos	$1,4 \pm 0,1 \text{ mm}$
4	Largura sensor óptico	$1,0 \pm 0,1 \text{ mm}$
5	Distância eletrodo-sensor	$0,7 \pm 0,1 \text{ mm}$
6	Largura do eletrodo 2	$2,0 \pm 0,1 \text{ mm}$

4.2.4. Sistema de controle e aquisição de dados

4.2.4.1. Hardware

Para detectar a variação de coloração na solução de referência foi desenvolvido um sistema de aquisição composto por: um emissor de luz; um sensor de luz e uma plataforma de prototipagem eletrônica (Arduíno UNO R3).

O emissor de luz utilizado foi um LED amarelo âmbar (TLYH156P) que apresenta um pico de emissão no comprimento de onda de 590 nm, largura da banda de emissão de 15 nm e ângulo de abertura de $\sim 30^\circ$. O LED foi acoplado à uma estrutura de PMMA

(Figura 40 a) para o correto posicionamento em relação ao sensor de luz. Essa estrutura que contém o emissor de luz será aqui denominada, módulo do emissor de luz. A luz do LED, posicionado em oposição ao sensor de luz, é utilizada como sinal luminoso de referência.

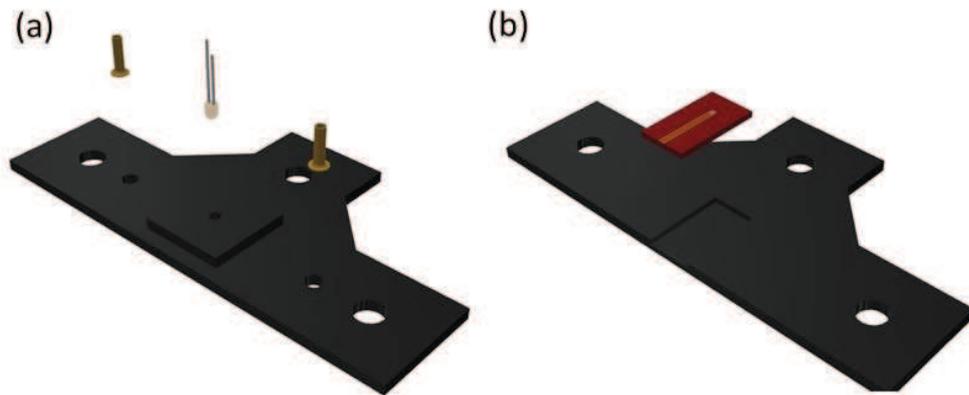


Figura 40 – Em (a) o módulo contendo o emissor de luz (LED) e em (b) o módulo contendo o sensor de luz. FONTE: O autor (2017).

O sensor de luz utilizado foi um sensor de luz ambiente (*breakout board Ambient light sensor TMT6000*) comercializado pela empresa Sparkfun Electronic (Figura 41). Este sensor é um fototransistor planar sensível ao espectro visível que apresenta um pico de sensibilidade em 570 nm. O sensor de luz também foi acoplado a uma estrutura de PMMA (Figura 40 b) que permite o correto posicionamento do mesmo em relação ao microcanal e aos eletrodos. Essa estrutura que contém o sensor de luz será denominada, módulo do sensor de luz.

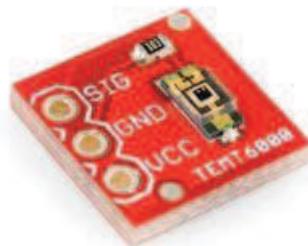


Figura 41 –Sensor de luz ambiente TMT6000 (Sparkfun electronics) [99]. FONTE: O autor (2017).

Tanto na estrutura do módulo do emissor quanto na do sensor de luz foram utilizados PMMA com pigmentação preta para minimizar a interferência da luz ambiente (externa). Lembrando que para a estrutura da plataforma microfluídica

utilizou-se o PMMA transparente devido a necessidade de uma janela óptica entre o emissor e o sensor de luz.

Já a Figura 42 mostra a integração da plataforma microfluídica com os módulos do emissor de luz e do sensor de luz formando o SMV completo. Na Figura 43 é possível observar com mais detalhes a disposição do sensor e do emissor de luz em relação aos eletrodos e ao canal microfluídico.

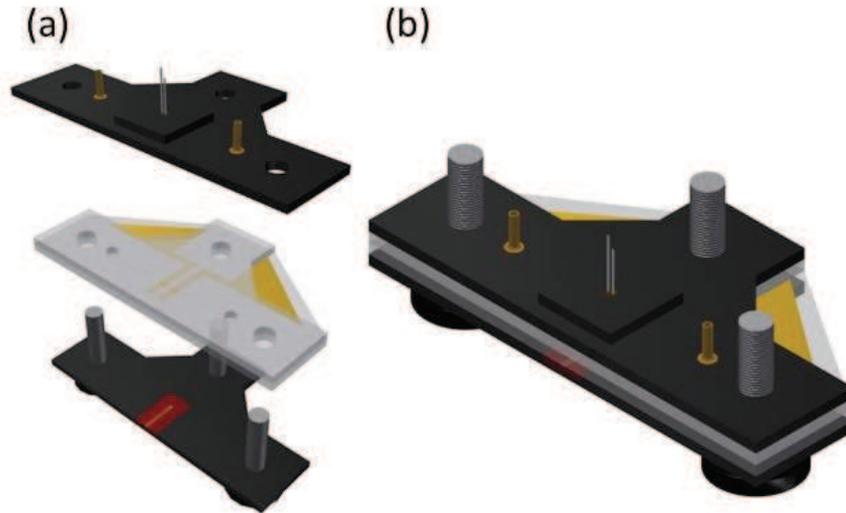


Figura 42 – Em (a) é apresentado um esquema da integração dos módulos do emissor de luz (parte superior), do sensor de luz (parte inferior) e a plataforma microfluídica (intermediária). Em (b) é mostrado um dispositivo completamente integrado. FONTE: O autor (2017).

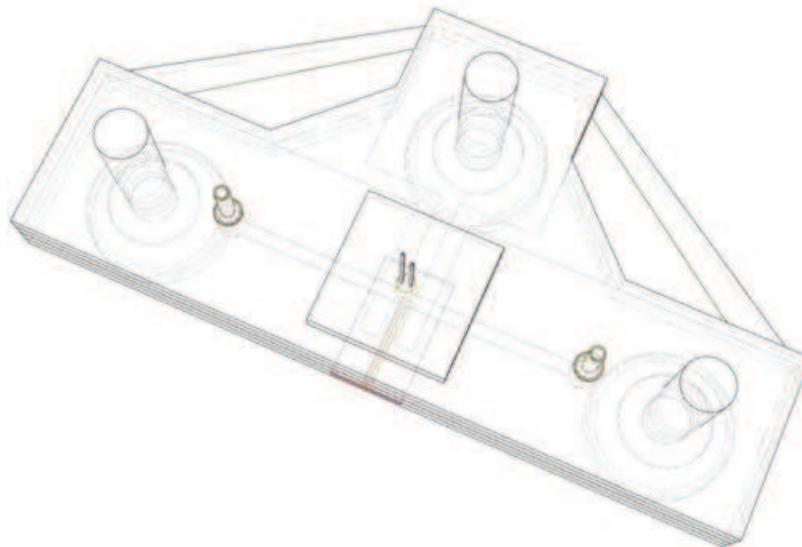


Figura 43 - Visão dos detalhes internos do sistema integrado. Essa figura possibilita observar a posição do sensor e do emissor de luz em relação aos eletrodos e ao canal microfluídico. FONTE: O autor (2017).

A construção em módulos, como ilustrada na Figura 42, possibilita que cada uma das partes possa ser trocada individualmente. Essa característica foi considerada importante para o presente trabalho tendo em vista a necessidade de se realizar testes com diferentes parâmetros de construção. Um exemplo são os testes que envolvem canais com diferentes larguras. Neste caso troca-se apenas a plataforma microfluídica, mantendo os módulos do emissor e sensor de luz. A construção de um sistema completo (plataforma, LED e sensor de luz) para cada um dos testes os tornaria demorados e dispendiosos.

Os sensores microfluídicos de vazão, apesar de serem miniaturizados, muitas vezes depende de equipamentos externos no controle e aquisição de dados (fontes de tensão, medidores e etc.) que acabam prejudicando esse aspecto.

No desenvolvimento do sistema de controle e aquisição de dados optou-se pela utilização de uma plataforma de prototipagem eletrônica Arduino modelo UNO R3. O Arduino é uma plataforma eletrônica programável, que pode ser utilizada para diversas funções como receber informações de sensores, controlar atuadores (motor, LED e etc.) e processar informações. Esta plataforma é constituída basicamente por: um microcontrolador, entradas e saídas (digitais e analógicas), uma porta de comunicação USB e uma entrada para alimentação externa. A programação é feita no próprio software da plataforma (IDE – Integrated Development Enviroment) e utiliza uma linguagem de programação semelhante ao C/C++ [100].

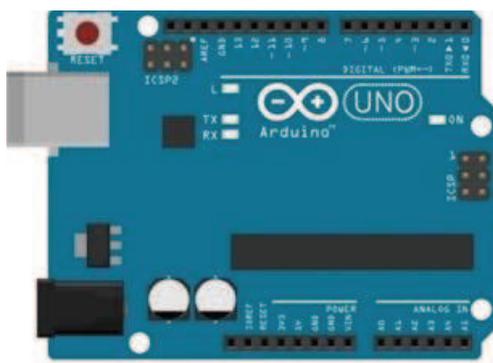


Figura 44 – Ilustração de um Arduino UNO R3 [100].

A utilização desse tipo de plataforma apresenta vantagens como: a versatilidade, pois permite o controle do sistema e a aquisição dos dados em um único dispositivo; dimensões reduzidas, desejáveis em sistemas microfluídicos; facilidade de implementação e baixo custo (~ R\$ 50,00).

No sensor de vazão desenvolvido, o Arduino é utilizado simultaneamente nas seguintes funções (esquematizadas na Figura 45):

- Fornecimento contínuo de tensão ao emissor de luz (LED);
- Fornecimento do pulso de tensão aos eletrodos, para gerar as alterações locais de coloração do fluido de referência;
- Leitura da tensão fornecida aos eletrodos, que fornece informação referente ao tempo (inicial) da geração das alterações de coloração do fluido de referência;
- Fornecimento contínuo de tensão ao sensor de luz, para o funcionamento do mesmo;
- Leitura da tensão de saída do sensor de luz, que fornece informações referentes ao tempo (final) de detecção das alterações de coloração do fluido de referência;
- Comunicação com computador, para receber os comandos relacionados ao pulso de tensão e enviar os dados das leituras realizadas.

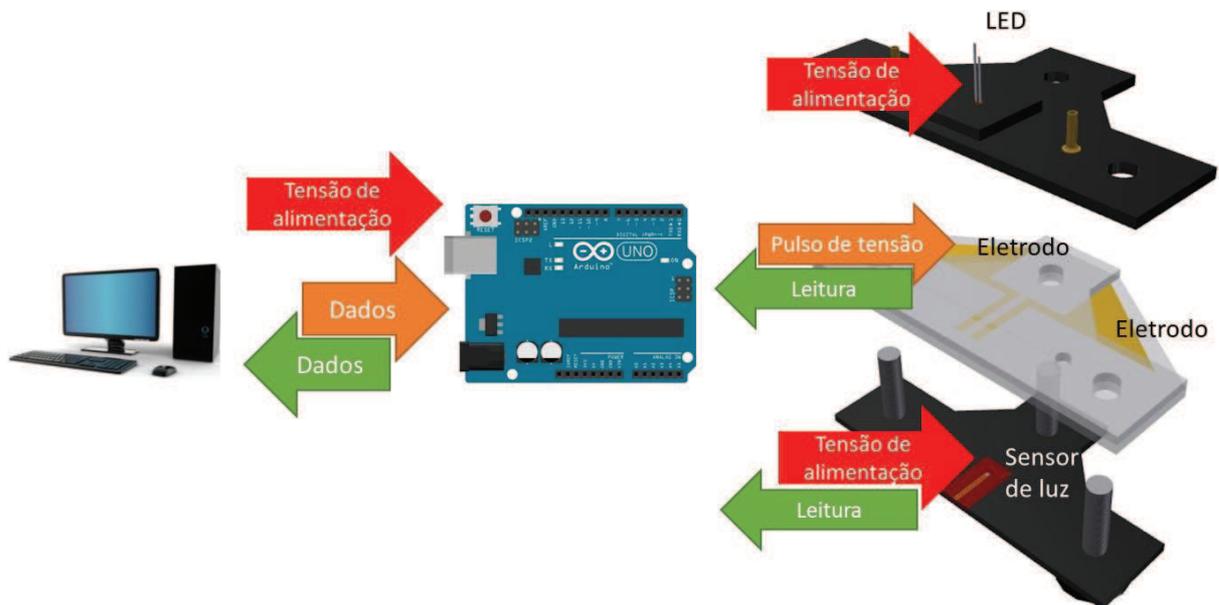


Figura 45 – Esquema das funções desempenhadas pela plataforma Arduino no SMV de vazão. FONTE: O autor (2017).

A conexão entre o Arduino e o computador é feita através da porta USB. Esta conexão permite o fornecimento de tensão necessária para o funcionamento do Arduino e a transferência de dados entre este e o computador, simultaneamente.

4.2.4.2. Software

Para coordenar todas essas ações relacionadas ao funcionamento do SMV e a aquisição de dados foi necessária uma programação combinada envolvendo a IDE do Arduíno o software Labview.

Uma vez definida a programação na IDE, esta fica armazenada no Arduíno e é executada continuamente enquanto o mesmo estiver ligado. Desse modo, o Arduíno pode operar de maneira autônoma, ou seja, sem a necessidade de comandos externos. Essa característica da sua programação foi utilizada para definir os comandos executados continuamente no funcionamento do sensor de vazão, que são:

- O fornecimento de tensão para o LED e para o sensor de luz;
- As leituras da tensão fornecida para os eletrodos e da tensão de saída do sensor de luz;
- E a comunicação do Arduíno com computador (Labview).

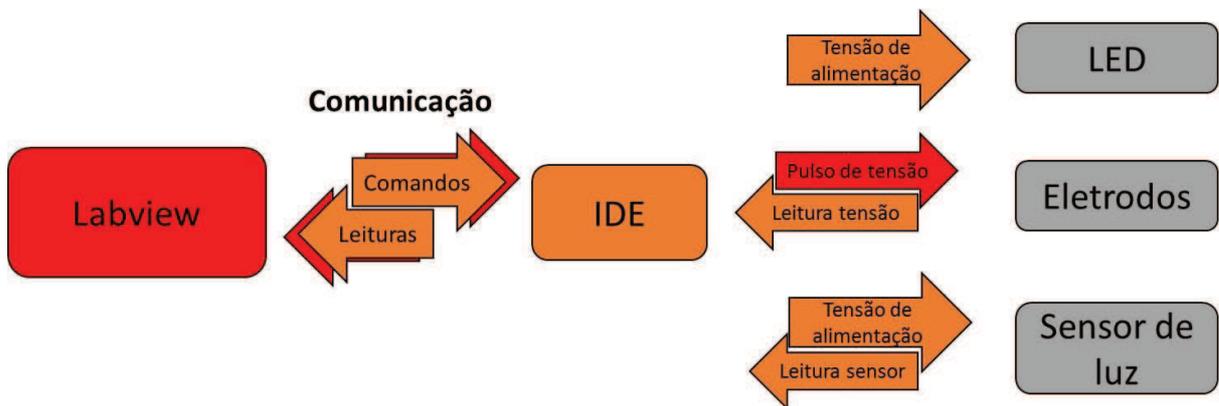


Figura 46 - Ilustração das funções executadas pela IDE do Arduíno (em laranja) e das funções executadas pelo LabView (em vermelho) durante o funcionamento do sensor de vazão. FONTE: O autor (2017).

O Labview, instalado no computador, foi programado para desempenhar as seguintes funções:

- Iniciar a comunicação com o Arduíno através da porta USB;
- Fornecer o comando para o início e o final do pulso de tensão;
- Receber continuamente os dados de tensão enviados pelo Arduíno;
- Processar continuamente os dados;
- Apresentar os dados na interface gráfica, em tempo real.

A Figura 46 apresenta uma ilustração da operação combinada entre a IDE e o Labview e suas respectivas funções. As funções destacadas na cor laranja são referentes as realizadas pela IDE, enquanto as destacadas em vermelho são referentes as funções realizadas pelo Labview.

Tanto o ajuste dos parâmetros relacionados ao pulso de tensão (duração temporal, intervalo entre pulsos) quanto a visualização dos dados do SMV de vazão em tempo real durante os testes, são realizados através de uma interface gráfica (Figura 47) criada utilizando o Labview. Esta é uma das principais vantagens na utilização desse software nessa pesquisa.

A interface gráfica foi elaborada de modo que a duração temporal de cada pulso (t_p) e o intervalo de tempo (Dt) entre cada pulso pudesse ser alterado facilmente durante a operação do sensor de vazão. Outra característica implementada na interface foi a visualização através de gráficos dinâmicos dos valores de tensão aplicada (V_p) nos eletrodos e da tensão de saída do sensor (V_s) de luz, ambos em função do tempo. Na Figura 47 é possível observar três gráficos: a tensão aplicada nos eletrodos em função do tempo; a tensão de saída do sensor de luz em função do tempo e ambos os valores de tensão em função do tempo.

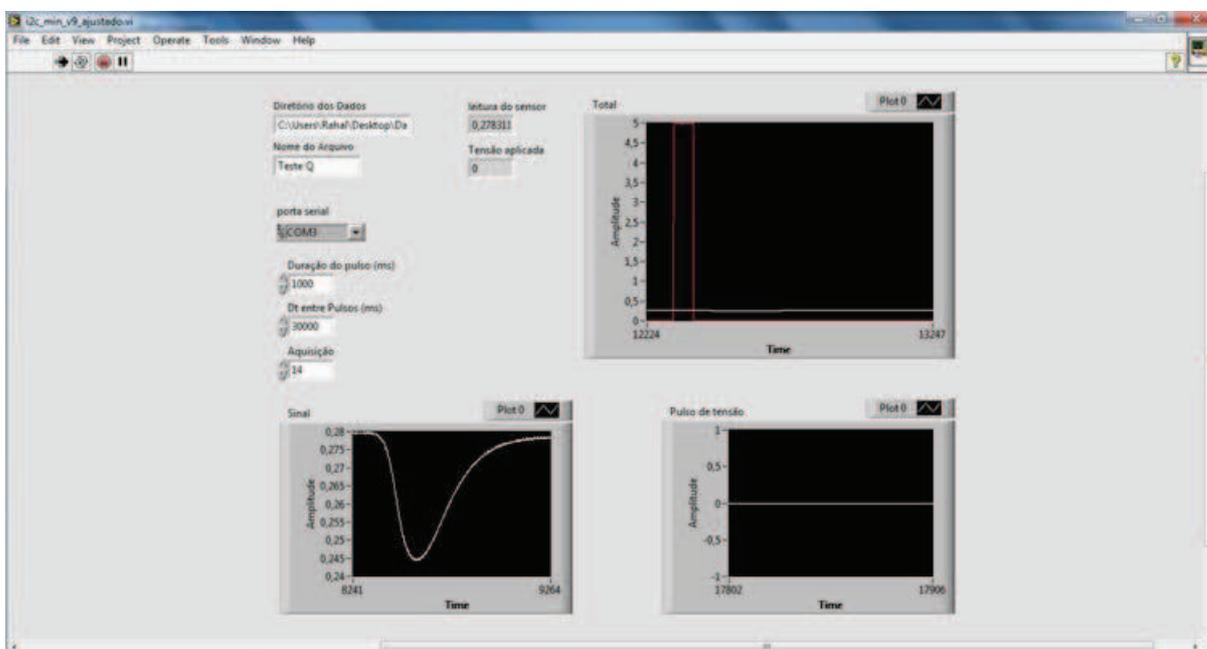


Figura 47 – Interface gráfica para controle e visualização do comportamento do sistema criada com o software Labview. FONTE: O autor (2017).

Para uma versão comercial de um sensor de vazão, o controle do pulso de tensão nos eletrodos poderia ser realizado direto pelo Arduino, através de comandos pré-definidos na IDE. Neste caso, a visualização gráfica dos valores de tensão também é dispensável e todo o cálculo referente ao valor da medida de vazão também poderia ser realizado pelo Arduino. No entanto, essa pesquisa tem como objetivos a prova de conceito e a caracterização dos dispositivos, sendo assim as funções de controle e visualização associadas à interface tornam-se indispensáveis.

4.3. CARACTERIZAÇÃO DOS SMV

4.3.1. Montagem experimental

Todos os testes realizados com os SMV utilizaram a montagem experimental da Figura 48.

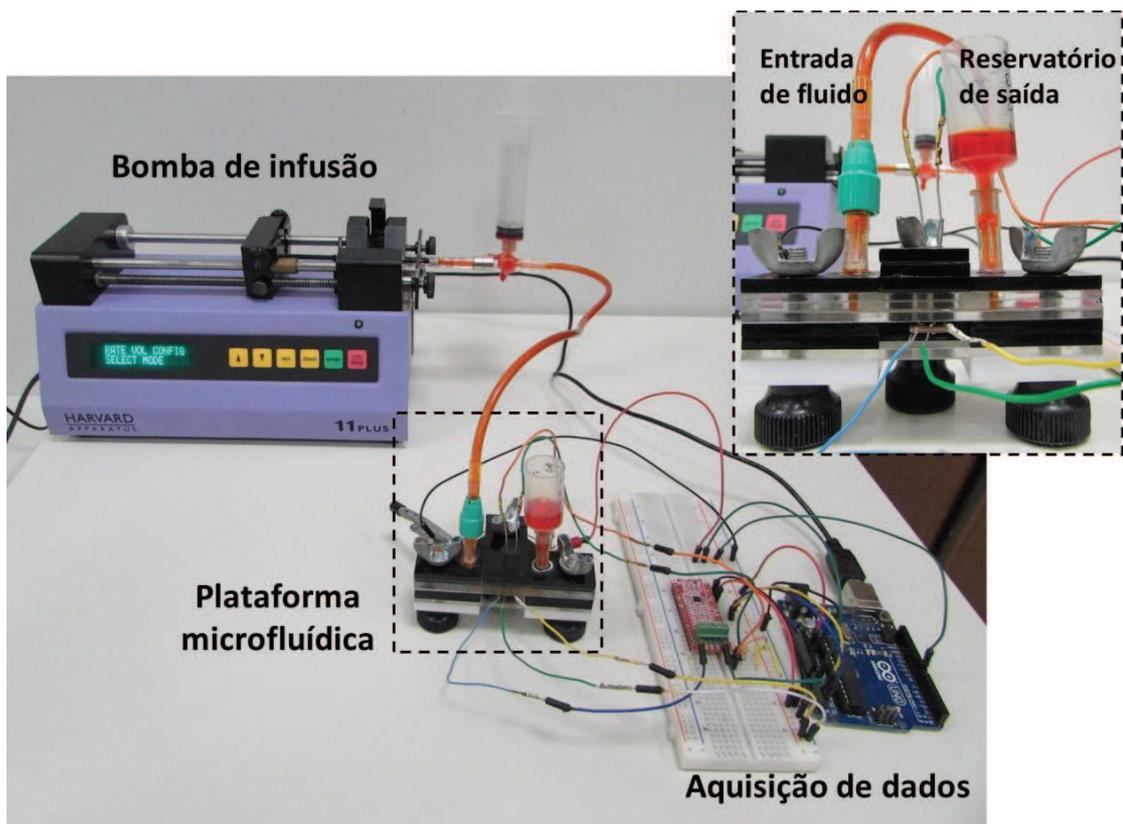


Figura 48 – Montagem experimental para os testes de vazão. FONTE: O autor (2017).

Uma seringa de vidro Hamilton Gastight (50-500 µl), contendo a solução com o indicador de pH é acoplada a bomba de infusão. A calibração da bomba é realizada de forma automática, necessitando apenas fornecer o diâmetro interno da seringa. Um tubo flexível e transparente de PVC (Cloro de Polivinila) com diâmetro interno de 1,5 mm faz a ligação entre a seringa e o sensor microfluídicos de vazão. A saída do SMV é conectada diretamente a um reservatório com 10 mm de diâmetro.

A bomba de infusão é ligada até que o fluido preencha completamente o sistema e atinja uma determinada marca no reservatório. Nessa etapa é fundamental que não haja bolhas de ar no sistema, pois estas podem comprometer o funcionamento do sensor.

4.3.1.1. Bomba de infusão

A caracterização dos SMV desenvolvidos depende da utilização de um sistema de bombeamento que forneça vazões da ordem de microlitros por minuto, com boa precisão e reprodutibilidade. Para tal fim, foi utilizada uma bomba de infusão Harvard Apparatus 11 plus (Figura 49) que possui um motor de passo de precisão. As principais informações a respeito do funcionamento dessa bomba de infusão são apresentadas na Tabela 4.

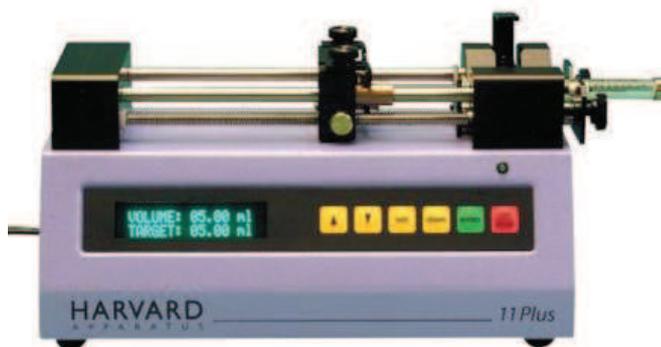


Figura 49 - Bomba de infusão Harvard Apparatus 11 plus [101].

Uma característica importante desse tipo de sistema de bombeamento é que a faixa de vazão depende do volume da seringa utilizada. Por exemplo, utilizando uma seringa de 50 μl de volume interno a faixa de vazão nominal fornecida pela bomba será de 0,0025 $\mu\text{l}/\text{min}$ a 39,52 $\mu\text{l}/\text{min}$. Outros valores de volumes de seringas e suas respectivas faixas de vazões nominais são apresentados na Tabela 5. Estes valores são fornecidos pelo fabricante da bomba de infusão.

A faixa de vazão para cada seringa está diretamente relacionada a taxa de passo do motor. Por exemplo, para a bomba utilizada neste trabalho o valor mínimo de vazão, para qualquer volume de seringa, está associado a uma taxa mínima de 0,036 passos por segundo (Tabela 4). Para o valor máximo de vazão, também relacionado a qualquer volume de seringa, o motor de passo funciona a uma taxa máxima de 200 passos por segundo.

Uma das vantagens desse tipo de bomba de infusão é que, para determinados valores de vazão, a taxa de passo é alta a ponto das flutuações nos valores de vazão (pulsção devido aos passos) não influenciarem o escoamento. No entanto, essa taxa de passo, na qual a pulsção torna-se insignificante não é fornecida pelo fabricante.

TABELA 4 – PARÂMETROS DA BOMBA DE INFUSÃO HARVARD APPARATUS 11 PLUS

Seringas	0,5 μ l – 50/60 ml
Faixa de vazão	0,0014 μ l/h – 26,55 ml/min
Precisão	0,5 %
Reprodutibilidade	0,1%
Calibração	Automática, através da entrada do diâmetro interno da seringa
Ângulo de passo	0,9° (400 passos por volta completa)
Avanço linear	0,8 μ m por passo
Taxa de passo	0,012 (1 passo a cada 83,3 s) até 200 passos por segundo

FONTE: Manual da bomba de infusão Harvard Apparatus 11 plus [101].

TABELA 5 – RELAÇÃO ENTRE O VOLUME DAS SERINGAS E A FAIXA DE VAZÃO NOMINAL PARA A BOMBA DE INFUSÃO HARVARD APPARATUS 11 PLUS

Volume (μ l)	Faixa de vazão nominal (μ l/min)
500	0,0242 - 395,7
50	0,0025 - 39,52
10	0,0005 - 7,883

FONTE: Manual da bomba de infusão Harvard Apparatus 11 plus [101].

Após alguns testes iniciais, o valor mínimo da taxa de passo para o funcionamento adequado do SMV foi estimado em 3 passos por segundo. Independente do volume da seringa, a vazão máxima sempre está associada a máxima taxa de passo da bomba que é de 200 passos por segundo (fornecido pelo fabricante). Utilizando esta relação de proporcionalidade com o valor mínimo estimado da taxa de passo é possível estimar a vazão mínima fornecida pelo sistema de bombeamento adequada ao funcionamento do SMV. A Tabela 6 apresenta a relação entre o volume da seringa e a correspondente faixa de vazão adequada ao funcionamento dos SMVs desenvolvidos.

TABELA 6 - RELAÇÃO ENTRE VOLUME DA SERINGA E A FAIXA DE VAZÃO ADEQUADA COMPATÍVEL COM O FUNCIONAMENTO DO SMV.

Volume (μ l)	Faixa de vazão (μ l/min)
500	5,94 - 395,70
50	0,59 - 39,52
10	0,12- 7,88

4.3.2. Determinação do tempo de voo

A determinação do valor do tempo de voo é feita através do software Origin 8.0, onde são plotados os valores das tensões associadas aos pulsos de tensão aplicados nos eletrodos e a leitura da saída do sensor de luz em função do tempo, em um mesmo gráfico.

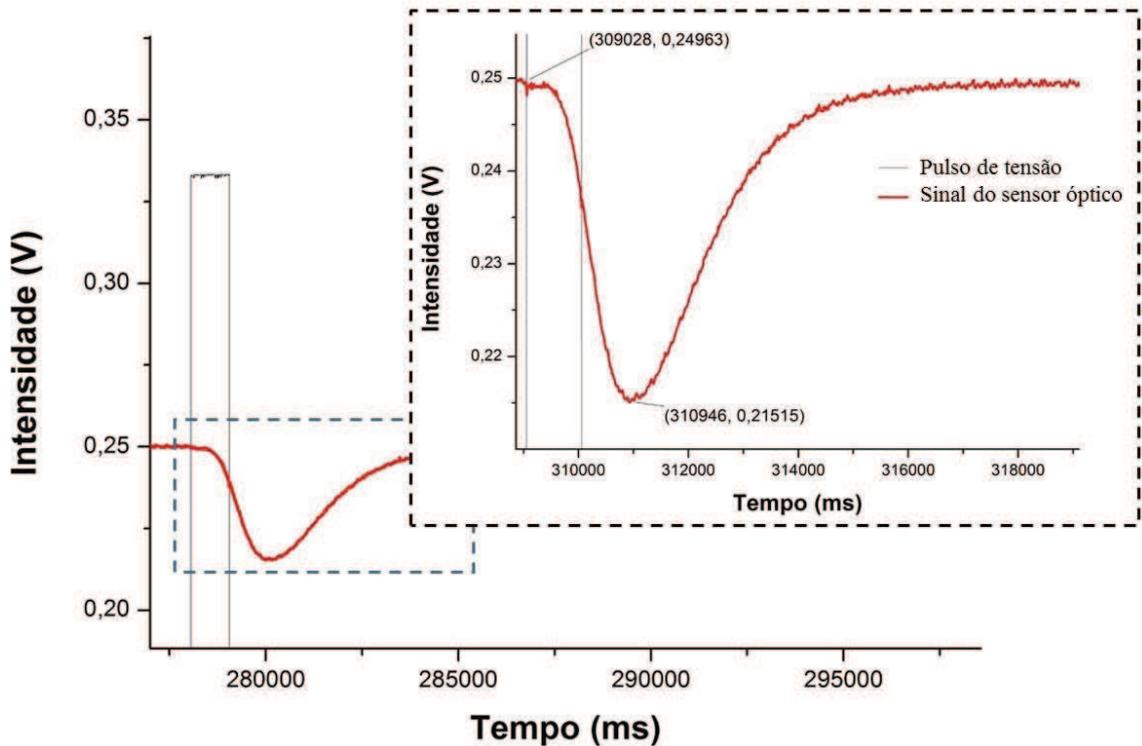


Figura 50 – Procedimento para determinação do tempo de voo com base nas medidas realizadas durante a operação do SMV. FONTE: O autor (2017).

Para viabilizar a comparação entre as medidas adotou-se um procedimento padrão para a determinação do tempo de voo, através do gráfico. O tempo inicial foi definido como o valor associado ao início do pulso de tensão nos eletrodos (Figura 50). O tempo final foi definido como o valor associado ao instante onde a intensidade da tensão de saída do sensor de óptico atinge o valor mínimo. O tempo de voo, por sua vez é definido pela diferença entre o valor de tempo final e o valor de tempo inicial. O tempo de voo medido é correlacionado com o valor de vazão imposto pelo sistema de bombeamento, no instante em que os pulsos foram registrados.

4.4. CARACTERÍSTICAS DE FUNCIONAMENTO DOS SMVS EM RELAÇÃO AS DIMENSÕES DOS CANAIS

Foram realizados testes utilizando dispositivos com diferentes valores de largura e altura de canal. Estes testes visaram investigar os efeitos das variações de dimensões dos canais nas medidas do tempo de voo.

4.4.1. Faixa de vazão e a largura do canal

Inicialmente a altura do canal foi mantida fixa em $75 \mu m$ e a largura dos canais foi variada. Os valores referentes à largura do canal para cada dispositivo são apresentados na Tabela 7.

TABELA 7 – VALORES DE LARGURA DE CANAL UTILIZADOS NA CARACTERIZAÇÃO DOS SMV DESENVOLVIDOS.

Dispositivo	Altura do canal	Largura do canal
1	$75 \mu m$	1 mm
2	$75 \mu m$	2 mm
3	$75 \mu m$	3 mm

Para viabilizar uma análise comparativa entre os dispositivos da Tabela 7, todos foram submetidos as mesmas condições de testes. Estas condições são apresentadas na Tabela 8.

TABELA 8 – PARÂMETROS UTILIZADOS NA CARACTERIZAÇÃO DOS DISPOSITIVOS COM CANAIS DE LARGURAS DIFERENTES.

Parâmetros dos testes	
Volume da seringa	
500 μl	$Q > 15 \mu l/min$
50 μl	$Q < 15 \mu l/min$
Pulso de tensão	
V_p	$4,750 \pm 0,001 V$
t_p	$1000 \pm 10 ms$
Dt_p	30 s

Foram realizadas três medidas de tempo de voo para cada valor de vazão imposta pelo sistema de bombeamento, no intuito de viabilizar a análise do desvio

padrão experimental associado ao teste. Como exemplo, a Tabela 9 mostra os resultados para o dispositivo 1 (canal com altura igual a $75 \mu m$ e largura igual a $1 mm$).

TABELA 9 – RESULTADOS OBTIDOS PARA O DISPOSITIVO 1 NO TESTE DE VAZÃO.

Vazão ($\mu l/min$)	Medida 1 (ms)	Medida 2 (ms)	Medida 3 (ms)	Média (ms)	Desvio Padrão experimental	Desvio Percentual
1	4172	3920	3906	3999,3	122,2	3,1%
2	2786	2548	2699	2677,7	98,3	3,7%
3	1946	1974	2002	1974,0	22,9	1,2%
4	1666	1764	1778	1736,0	49,8	2,9%
5	1582	1582	1596	1586,7	6,6	0,4%
6	1498	1429	1429	1452,0	32,5	2,2%
7	1414	1400	1400	1404,7	6,6	0,5%
8	1331	1330	1344	1335,0	6,4	0,5%
9	1358	1275	1261	1298,0	42,8	3,3%
10	1260	1246	1288	1264,7	17,5	1,4%
15	1134	1120	1218	1157,3	43,3	3,7%
20	1092	1106	1120	1106,0	11,4	1,0%
25	1064	1106	1064	1078,0	19,8	1,8%
30	1036	1106	1078	1073,3	28,8	2,7%
35	1022	1050	1050	1040,7	13,2	1,3%
40	1022	1022	1022	1022,0	0,0	0,0%

Com base nos resultados da Tabela 9 foi construído um gráfico (Figura 51) do tempo de voo médio em função da vazão imposta pelo sistema de bombeamento. O mesmo procedimento foi realizado para os demais dispositivos e seus respectivos gráficos são apresentados na Figura 52.

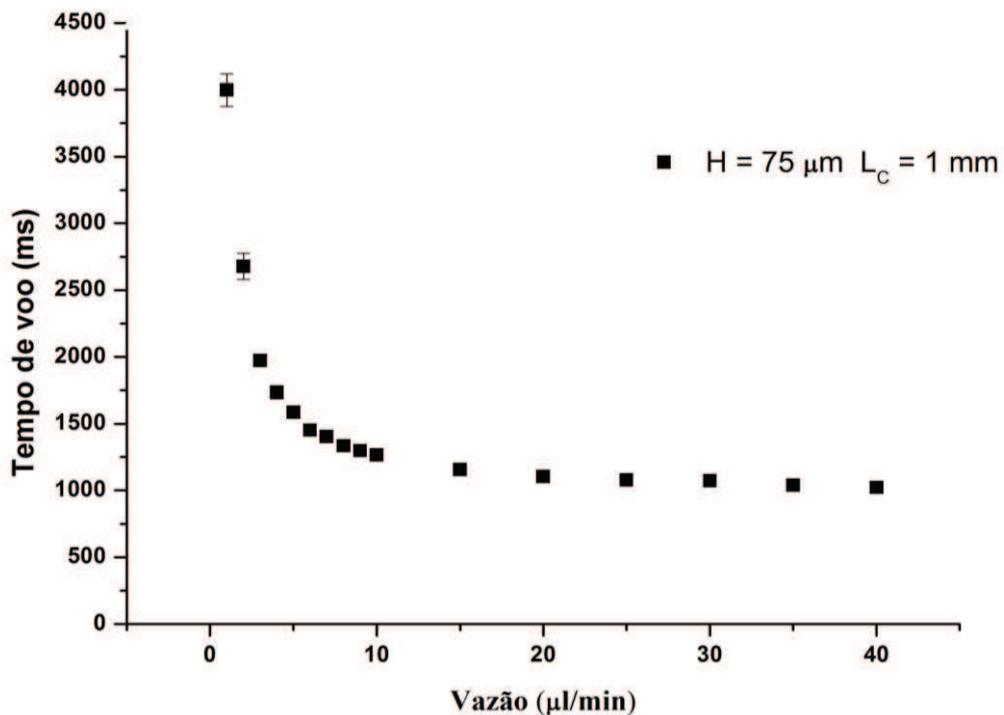


Figura 51 - Relação entre o tempo de voo (ms) e a vazão imposta (µl/min) para o dispositivo 1 (H = 75 µm e L_c = 1 mm).

A sensibilidade dos SMV desenvolvidos nessa pesquisa é definida pela variação da medida do tempo de voo em relação à variação da vazão imposta:

$$S = -\frac{dt_v}{dQ} \quad (21)$$

Em um determinado ponto do gráfico, que relaciona o tempo de voo com a vazão imposta, a sensibilidade do sensor está associada a inclinação da reta tangente ao ponto considerado. Com base nisso, é possível observar na Figura 51 que a sensibilidade do SMV é maior para vazões mais baixas e decresce com o aumento da vazão. Esse comportamento é típico dos SMV que utilizam o método TOF.

Na Figura 52, os gráficos referentes aos testes envolvendo dispositivos com larguras diferentes estão sobrepostos. Neste gráfico é possível observar que as medidas de tempo de voo e a sensibilidade dos sensores variam em função da largura do canal. Para facilitar a análise do gráfico, a Figura 52 foi separada em duas partes apresentadas nas Figura 53 a e b.

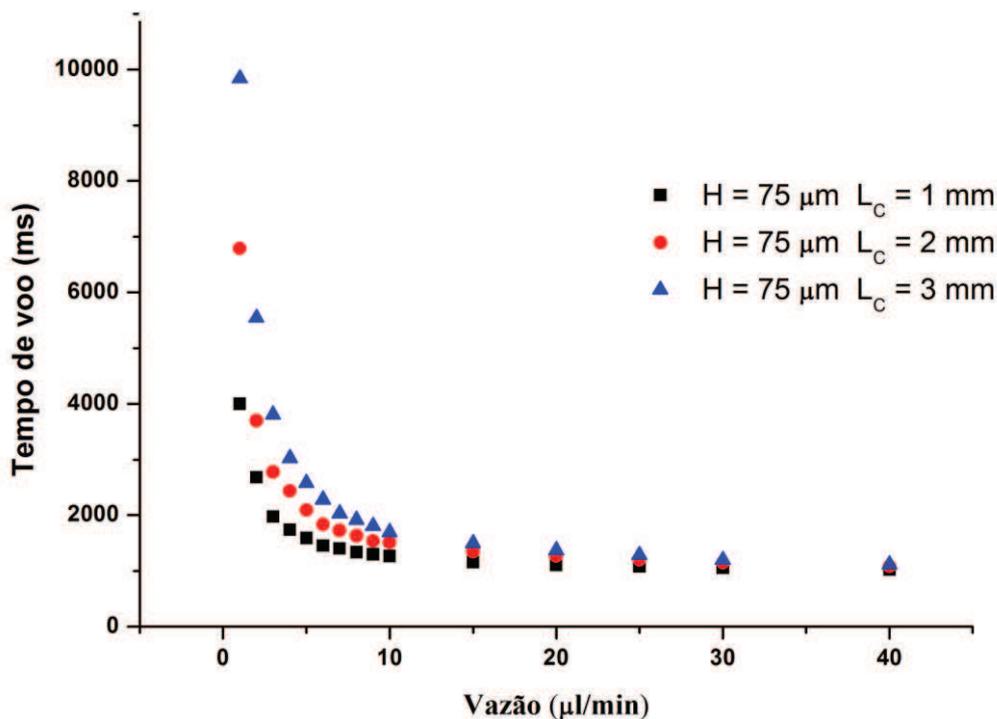


Figura 52 – Sobreposição dos gráficos de tempo de voo (ms) em função vazão imposta (μl/min) para os testes envolvendo a variação da largura dos canais.

Na Figura 53 a, observa-se que a sensibilidade do dispositivo 1 decai mais rapidamente do que a sensibilidade dos dispositivos 2 e 3. Na Figura 53 b, mesmo com um aumento na variação da vazão imposta, o dispositivo 1 apresenta uma sensibilidade muito reduzida.

De modo quantitativo, o limite de sensibilidade dos dispositivos foi definido com base nas características do sistema de aquisição de dados utilizado neste trabalho. A sensibilidade mínima para os dispositivos foi definida em $S = 5 \frac{ms}{\mu l/min}$, ou seja, quando uma variação de vazão imposta igual a $10 \mu l/min$ resulta em uma variação de tempo igual a 50 ms. Esta sensibilidade mínima é utilizada para definir o limite superior de medição de vazão para cada um dos dispositivos. Neste caso, os limites superiores de vazão obtidos para os dispositivos com canais de larguras iguais a 1, 2 e 3 mm foram respectivamente 15, 30 e $40 \mu l/min$.

Vale destacar que a sensibilidade mínima pode ser aumentada, utilizando sistemas de aquisição de dados mais sofisticados. Entretanto, isso pode resultar no aumento dos custos e do volume total do sistema de aquisição, indo na contramão do que se propõe nessa pesquisa de doutorado.

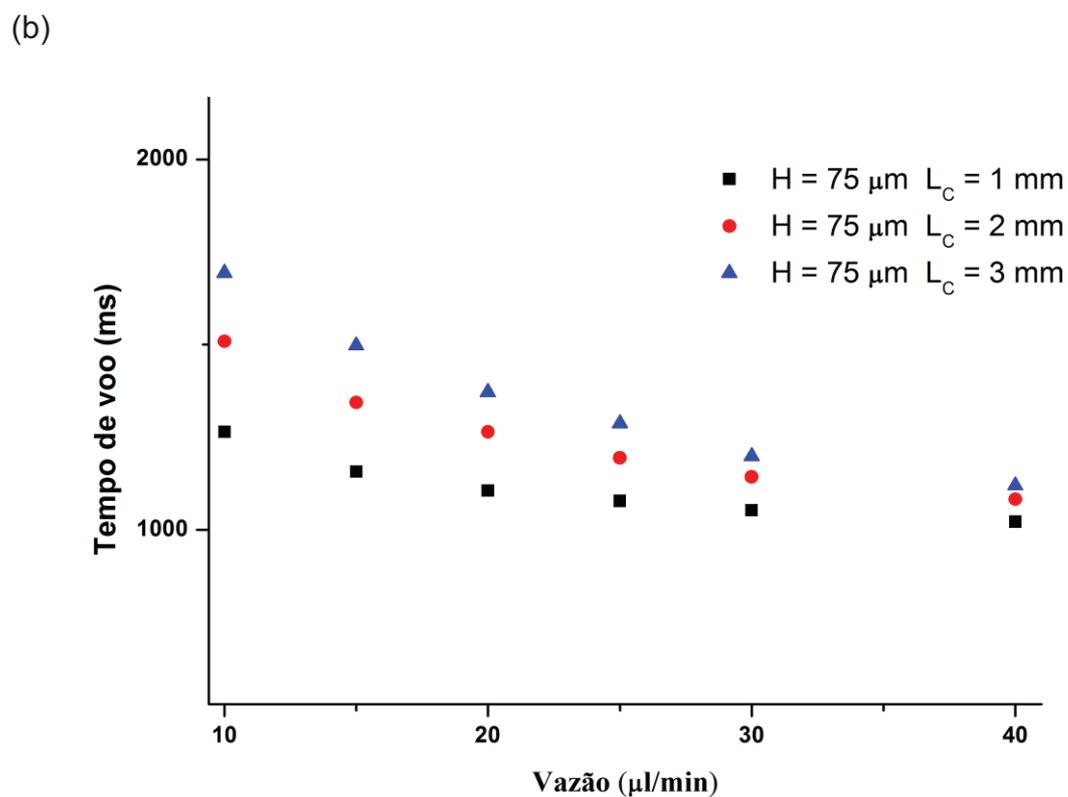
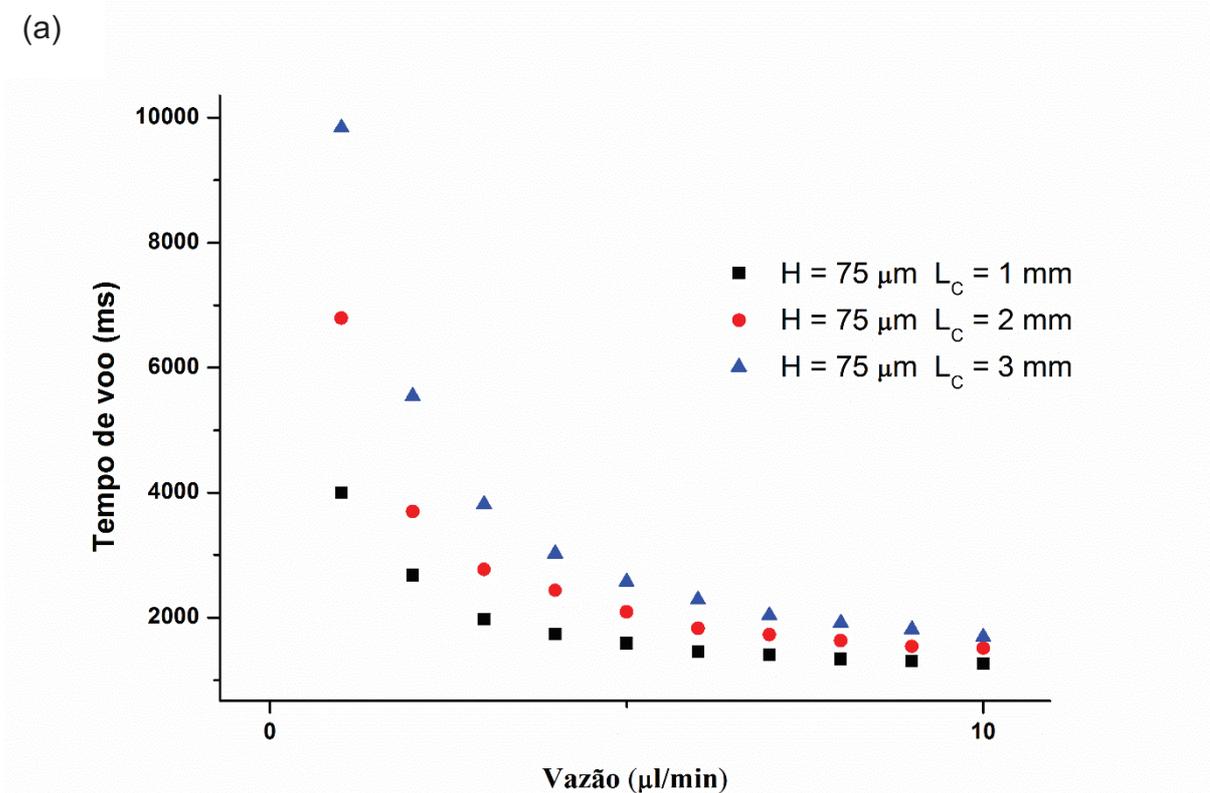


Figura 53 – Detalhes do gráfico apresentado na Figura 52 para o intervalo (a) de 0-10 $\mu\text{l}/\text{min}$ e (b) de 10-40 $\mu\text{l}/\text{min}$.

4.4.2. Faixa de vazão e a altura do canal

Para analisar a influência da altura do canal nas medidas de tempo de voo a largura do canal foi mantida constante em 3 mm. Os valores referentes à altura do canal para cada dispositivo são apresentados na Tabela 10.

TABELA 10 – VALORES DE ALTURA DE CANAL UTILIZADOS NA CARACTERIZAÇÃO DOS SMV DESENVOLVIDOS.

Dispositivo	Altura	Largura do canal
3	75 μm	3 mm
4	150 μm	3 mm
5	300 μm	3 mm

As condições de testes foram mantidas iguais aos dos testes anteriores (Tabela 8). Os resultados para os testes relacionados à variação de altura dos canais são apresentados na Figura 54.

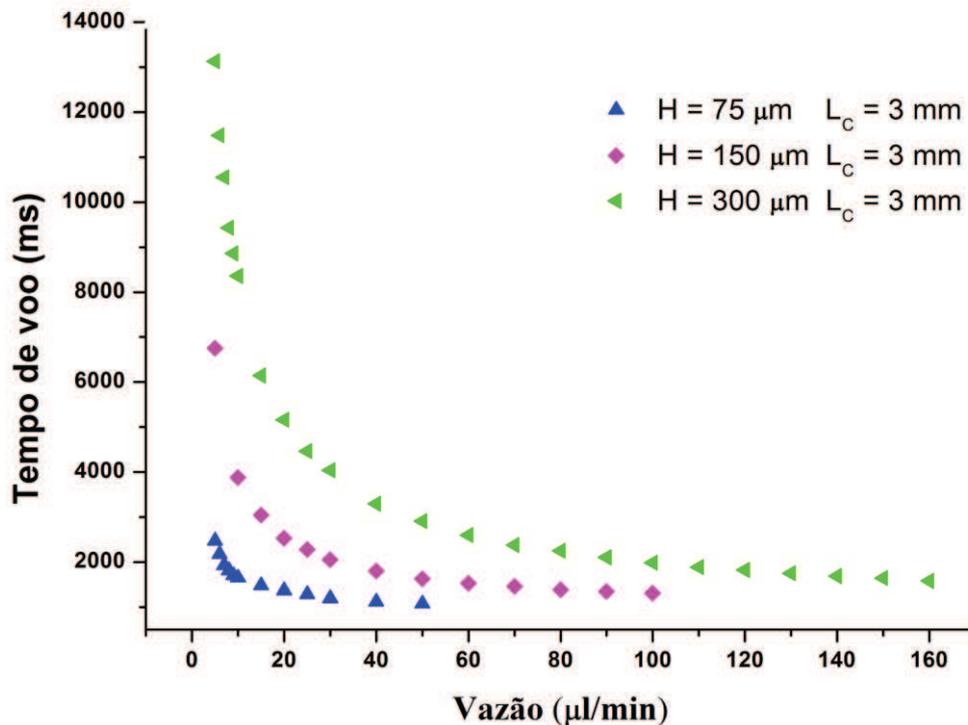


Figura 54 - Sobreposição dos gráficos de tempo de voo (ms) em função vazão imposta (µl/min) para os testes envolvendo a variação da altura dos canais.

No gráfico apresentado na Figura 54 é possível observar que a variação da altura também afeta os valores de tempo de voo. Com base no valor de sensibilidade mínima definido anteriormente, o limite superior para medida de vazão obtido para o dispositivo com altura de canal igual a $150\ \mu\text{m}$ (dispositivo 4) foi igual a $80\ \mu\text{l}/\text{min}$. Ainda com base no gráfico da Figura 54, nota-se que o dispositivo com canal de altura igual a $300\ \mu\text{m}$ (dispositivo 5) apresenta uma sensibilidade superior aos demais. O limite de detecção para este dispositivo é de $150\ \mu\text{l}/\text{min}$ (Figura 55).

De modo geral, conclui-se que as dimensões dos canais influenciam nas medidas de tempo de voo, na sensibilidade e, conseqüentemente, nos limites de detecção do sensor (limite máximo de detecção de vazão). A variação de altura do canal apresentou efeitos mais significativos nas medidas de vazão do que a variação na largura do mesmo. Isto sugere que o perfil velocidade na direção da altura do canal é um fator predominante no funcionamento dos SMV desta categoria.

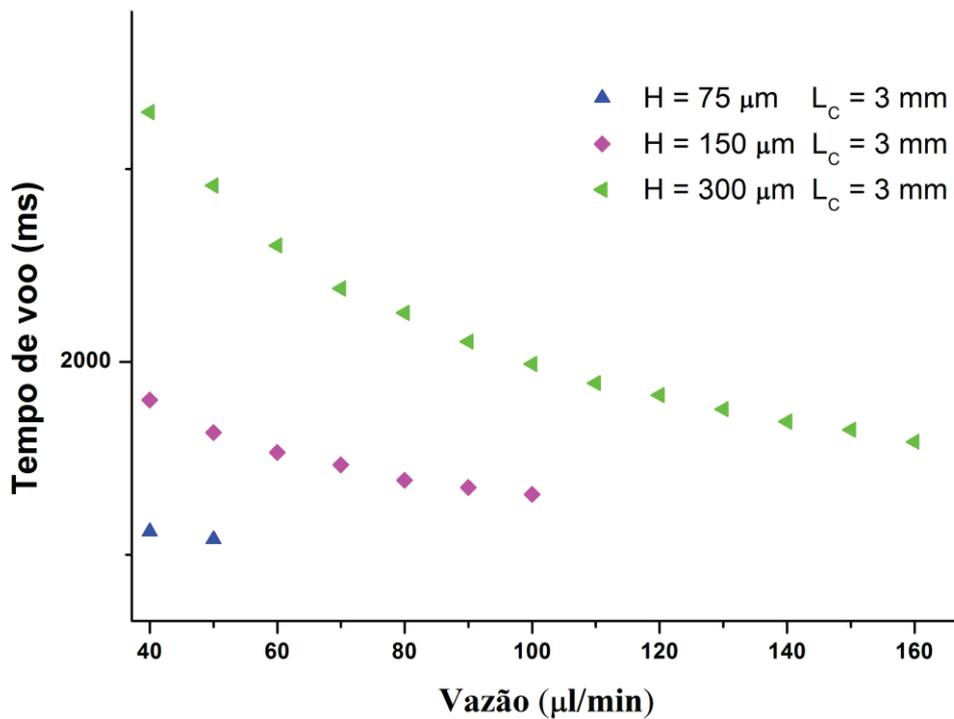


Figura 55 - Detalhes do gráfico apresentado na Figura 54 para o intervalo de 40-160 µl/min.

4.4.3. Limite inferior de vazão

Para investigar sobre o limite inferior de vazão, o dispositivo canal de largura igual a 1 mm e altura 75 μm (dispositivo 1) foi selecionado e algumas alterações nas condições dos testes foram realizadas. Neste teste, os valores de vazão impostas foram de 5 a 0,5 $\mu\text{l}/\text{min}$. Para cada valor de vazão foram realizadas cinco medidas de tempo de voo. Apenas a seringa com volume interno igual a 50 μl foi utilizada nessa etapa. Os resultados deste teste estão apresentados na Tabela 11.

TABELA 11 - RESULTADOS OBTIDOS PARA O DISPOSITIVO 1 NO TESTE DE BAIXAS VAZÕES.

Vazão ($\mu\text{l}/\text{min}$)	Medida 1 (ms)	Medida 2 (ms)	Medida 3 (ms)	Medida 4 (ms)	Medida 5 (ms)	Média (ms)	Desvio Padrão experimental n=5	Desvio Percentual
0,5	12734	10314	9814	8722	11032	10523	1337,0	12,7
0,6	7942	8384	8935	9618	5544	8085	1388,5	17,2
0,7	5740	6568	6424	6132	6818	6336	371,7	5,9
0,8	5662	5112	4981	4984	5698	5287	324,2	6,1
0,9	4928	4788	4788	4928	4312	4749	227,2	4,8
1	4214	3935	4172	3920	3906	4029	134,6	3,3
2	2548	2699	2338	2422	2408	2483	127,5	5,1
3	1974	2002	1932	1918	1946	1954	30,2	1,5
4	1764	1778	1652	1610	1639	1689	68,8	4,1
5	1582	1596	1498	1512	1554	1548	38,2	2,5

Com base nos resultados da Tabela 11 foi construído o gráfico da Figura 56. A partir deste gráfico foi possível concluir que o SMV é capaz de medir vazões da ordem de 0,5 $\mu\text{l}/\text{min}$. Entretanto, definiu-se como limite inferior da medida da vazão o valor de 0,7 $\mu\text{l}/\text{min}$, pois abaixo deste valor o desvio padrão percentual é superior a 10%. Esse aumento no desvio padrão para vazões inferiores a 0,7 $\mu\text{l}/\text{min}$ está associado ao início do regime pulsado do sistema de bombeamento. O limite inferior para os dispositivos com a mesma altura de canal (75 μm) e com larguras iguais a 2 e 3 mm foram obtidos utilizando o mesmo critério (desvio padrão > 10%), sendo os valores obtidos respectivamente iguais a 1 e 1,5 $\mu\text{l}/\text{min}$.

Um segundo critério utilizado para definir o limite inferior da medida de vazão foi o valor do tempo de voo. Para valores de vazões muito baixos (em relação à uma determinada faixa de vazão) o tempo de voo tende a assumir valores relativamente

altos. Como consequência, o intervalo de tempo necessário para que um pulso de marcador passe completamente pelo sensor óptico, e permita a realização de uma nova medida vazão, também aumenta. O valor máximo definido para o tempo de voo foi de 15 s, o que resulta em um intervalo de tempo entre medidas consecutivas de vazão de aproximadamente 1 minuto. O valor máximo definido para o tempo de voo foi utilizado para estimar o limite inferior da medida de vazão para os dispositivos com canais de alturas iguais a 150 e 300 μm . Nestes dispositivos, conforme a vazão é reduzida o tempo de voo ultrapassa o valor máximo definido antes de chegar nos valores de vazão onde o regime pulsado do sistema de bombeamento passa a influenciar as medidas. Os valores mínimos de vazão medidos pelos dispositivos de alturas 150 e 300 μm foram estimados em 2 e 5 $\mu\text{l}/\text{min}$, respectivamente.

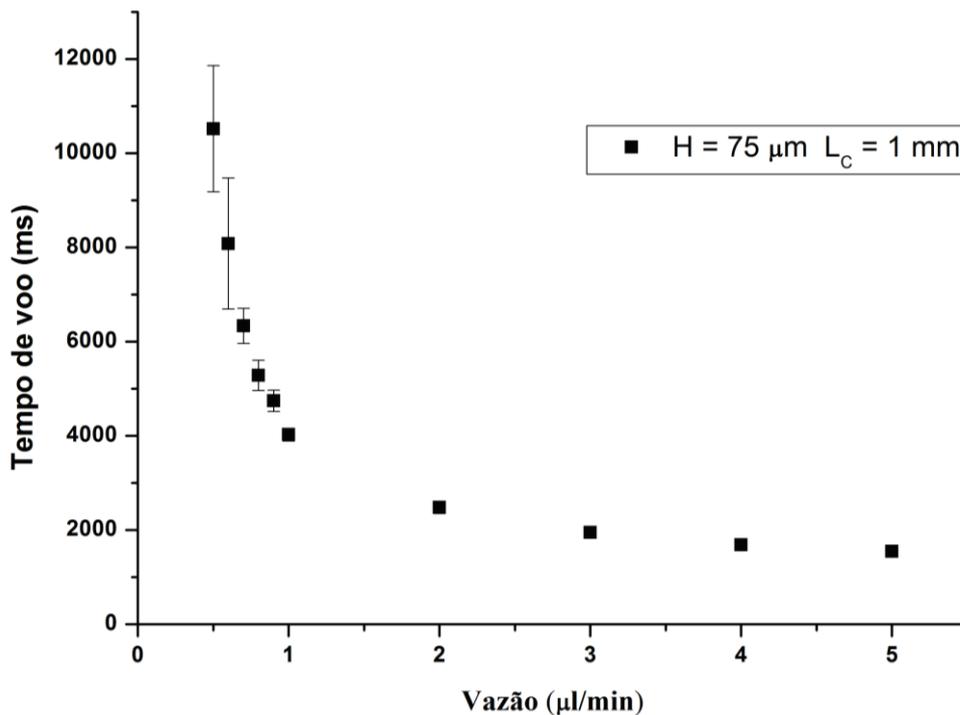


Figura 56 – Relação entre o tempo de voo e a vazão imposta para valores de vazão inferiores a 5 $\mu\text{l}/\text{min}$.

4.4.4. Resolução das medidas

A resolução das medidas é definida como a menor variação de vazão imposta que resulta em uma variação de tempo de voo detectável pelo SMV. A resolução está relacionada com a sensibilidade do sensor e também varia ao longo da faixa de vazão.

Por exemplo, o dispositivo 1 (Figura 56) apresenta uma resolução de aproximadamente $1 \mu\text{l}/\text{min}$ no intervalo de vazão imposta entre $5-1 \mu\text{l}/\text{min}$ e de $0,1 \mu\text{l}/\text{min}$ para vazões inferiores a $1 \mu\text{l}/\text{min}$. Para o dispositivo 5 (Figura 54), a resolução é de aproximadamente $1 \mu\text{l}/\text{min}$ no intervalo de vazão imposta entre $5-30 \mu\text{l}/\text{min}$, aumentando para $5 \mu\text{l}/\text{min}$ no intervalo de vazão entre $30-70 \mu\text{l}/\text{min}$ e para $10 \mu\text{l}/\text{min}$ no intervalo de vazão entre $70-150 \mu\text{l}/\text{min}$.

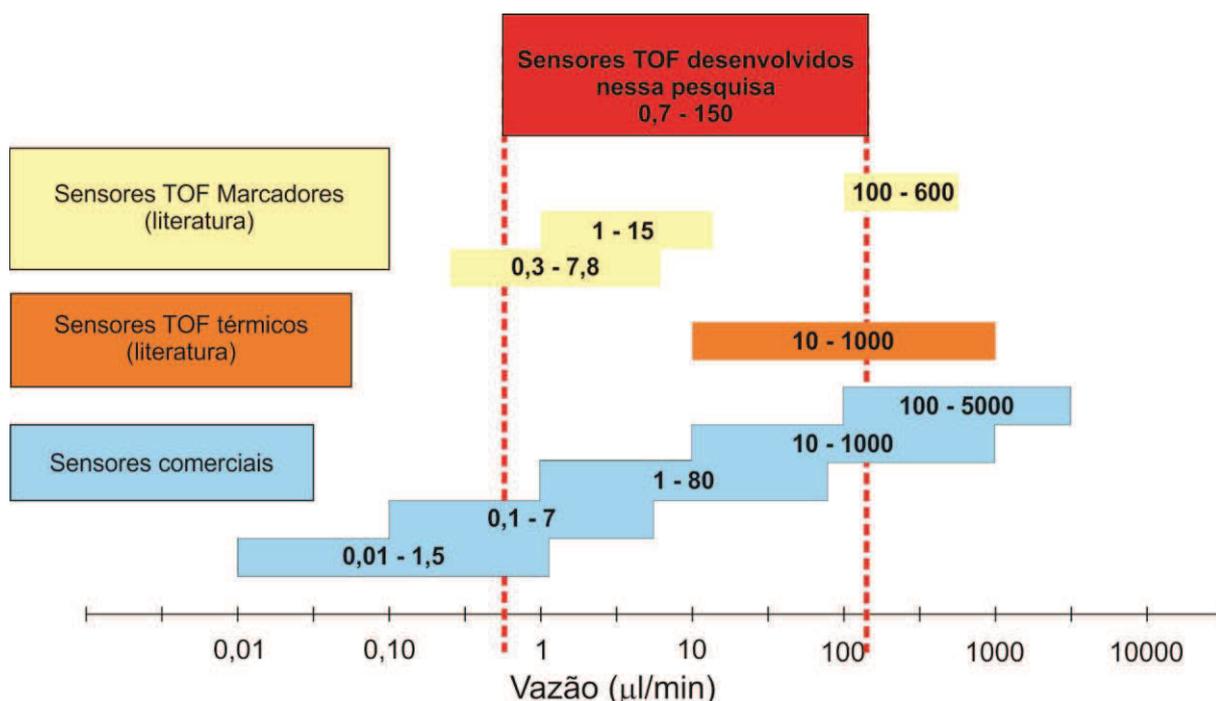


Figura 57 – Comparação das faixas de vazão entre sensores comerciais (azul), sensores TOF apresentados na literatura (vermelho e amarelo) e os sensores desenvolvidos neste trabalho de doutorado (entre as linhas tracejadas). As faixas de vazão foram extraídas das tabelas que constam no ANEXO I.

Com base nos resultados apresentados, conclui-se que os dispositivos desenvolvidos nesta pesquisa de doutorado são aplicáveis a uma faixa de vazão de $0,7 - 150 \mu\text{l}/\text{min}$. Esta faixa de vazão é compatível tanto com as dos SMV TOF apresentados na literatura quanto com a dos SMV disponíveis comercialmente (Figura 57). Vale destacar que as características de funcionamento dos sensores desenvolvidos podem ser otimizadas utilizando-se: ajustes nas dimensões e nas disposições dos componentes, técnicas mais sofisticadas de fabricação e equipamentos mais precisos na aquisição de dados. Entretanto, o processo de otimização está fora do escopo dessa pesquisa.

4.5. ANÁLISES E SIMULAÇÕES RELACIONADAS AO TEMPO DE VOO DO PULSO DE MARCADOR E SUA DISTRIBUIÇÃO EM RELAÇÃO AO CANAL

4.5.1. Análise das curvas de tempo de voo em função da vazão imposta

Com objetivo de investigar mais detalhadamente as características de funcionamento dos SMVs desenvolvidos, as curvas de tempo de voo em função da vazão impostas foram analisadas individualmente para cada dispositivo. Inicialmente, foram selecionadas as curvas dos dispositivos com altura de canal igual a $75 \mu m$ (dispositivos 1, 2 e 3) na faixa de vazão entre $1-40 \mu l/min$ (Figura 52). Para cada uma das curvas foram realizados ajustes, via software (Origin 8.0), utilizando a seguinte equação de referência:

$$y = a + bx^{-1}; \quad (22)$$

onde a e b são constantes. A equação de referência escolhida, tem a mesma forma da equação (20)¹⁴, que assume a condição $Pe_H \gg 1$. Comparando os termos das equações (20) e (22) temos que:

$$y = t_v; \quad x = Q; \quad a = t_d; \quad b = A\Delta x;$$

O ajuste das curvas para os dispositivos 1, 2 e 3, bem como as equações e seus coeficientes, são apresentadas respectivamente nas Figura 58 a, b, c. Uma vez conhecida a área da seção transversal (A) e o coeficiente b é possível determinar a distância percorrida pelo pulso (Δx), entre a emissão e a detecção, para cada um dos dispositivos. Estes valores foram calculados e estão apresentados na Tabela 12.

As distâncias Δx , na Tabela 12, apresentam valores próximos ao da distância nominal eletrodo-sensor $d_{es} = 0,75 \pm 0,1 mm$ e ao da distância medida $d_{es} = 0,70 \pm 0,1 mm$ (Tabela 3). Este resultado, apesar de esperado, contribui para a avaliação do processo de fabricação dos dispositivos, principalmente a respeito do alinhamento entre o sensor e o eletrodo. Além disso, este resultado mostra que a equação de

¹⁴ Equação (20): $t_v = \frac{A\Delta x}{Q} + t_d$

referência utilizada nos ajustes é adequada para descrever o comportamento destes dispositivos nessa faixa de vazão.

TABELA 12 – VALORES DOS COEFICIENTES B E DAS DISTÂNCIAS Δx PARA OS DISPOSITIVOS 1, 2 E 3.

	Coefficiente b (ms. $\frac{\mu m}{min}$)	Coefficiente b (m³)	A (m²)	Δx (m)	Δx (mm)
Dispositivo 1	3106,9	$5,18.10^{-11}$	$7,5.10^{-8}$	$6,90.10^{-4}$	0,69
Dispositivo 2	5787,7	$9,64.10^{-11}$	$1,5.10^{-7}$	$6,43.10^{-4}$	0,64
Dispositivo 3	8756,9	$1,46.10^{-10}$	$2,25.10^{-07}$	$6,49.10^{-4}$	0,65

Com relação a constante a das curvas ajustadas (Figura 58 a-c), os dispositivos 1, 2 e 3 apresentaram os respectivos valores 959,9, 923,6 e 929,1 ms. Como mencionado anteriormente, esta é uma constante de tempo (t_d) que pode estar relacionada ao processo de formação e detecção do pulso de marcador, segundo a literatura [76]. De fato, foi observado que os valores das constantes de tempo são próximos ao valor do tempo do pulso de tensão (t_p) aplicado nos eletrodos durante a formação do pulso de marcador (1000 ms).

Através dos gráficos (Figura 58 a-c) é possível observar que para valores de vazões mais elevados o tempo de voo de todos os dispositivos tendem a um mesmo valor, próximo a 1000 ms. Esta constante de tempo do SMV foi relatada na literatura para sensores TOF que empregavam pulsos térmicos. Até o momento, não há relatos da mesma em trabalhos envolvendo sensores TOF que empregam marcadores eletroquímicos.

No intuito de investigar um pouco mais sobre a constante de tempo t_d foram realizados testes de vazão com um mesmo dispositivo variando o tempo de duração do pulso (t_p). Para estes testes foi selecionado o dispositivo com altura de canal igual a $150 \mu m$ (dispositivo 4) e a faixa de vazão entre $5-80 \mu l/min$. Os tempos de pulsos utilizados foram 500, 700 e 1000 ms e os resultados são apresentados na Figura 59.

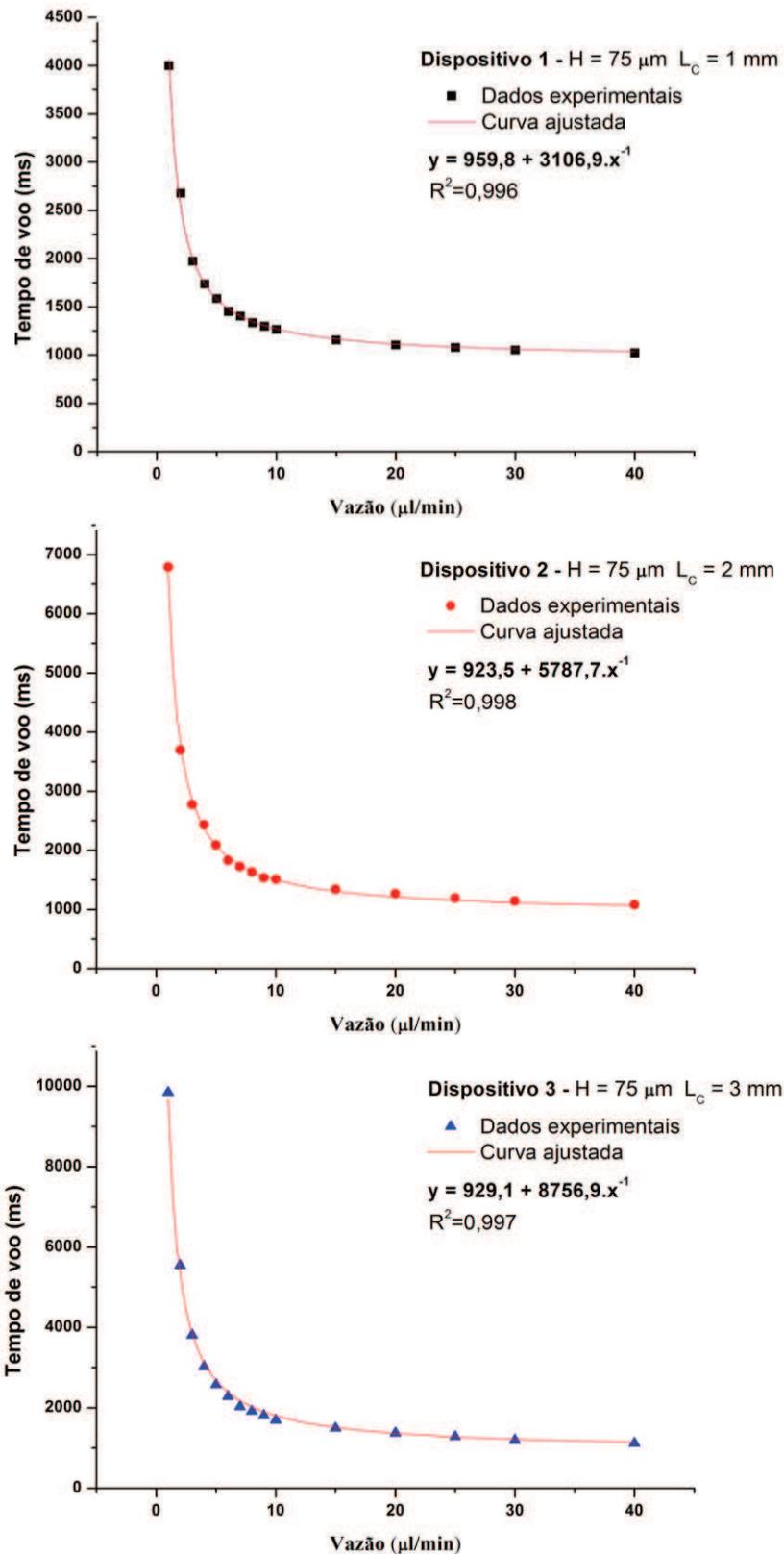


Figura 58 – Gráficos do tempo de voo em função da vazão imposta e o ajuste de curvas (a) para o dispositivo 1, (b) para o dispositivo 2 e (c) para o dispositivo 3.

Ao contrário da situação observada no gráfico da Figura 52, onde os diferentes dispositivos utilizam o mesmo tempo de pulso (1000 ms) e os tempos de voo convergem para este valor, na Figura 59 os tempos de voo apresentam diferentes valores de estabilização. Para cada um dos testes no gráfico da Figura 59 foi realizado um ajuste de curvas utilizando a mesma equação de referência (22). Através das equações ajustadas foi possível comprovar que o coeficiente a (constante de tempo t_d) está diretamente relacionada com a duração do pulso de tensão aplicado (t_p).

Outro resultado obtido através do gráfico na Figura 59 é que a variação na duração do tempo de pulso (no intervalo testado) aparentemente não resultou em alterações na sensibilidade do sensor.

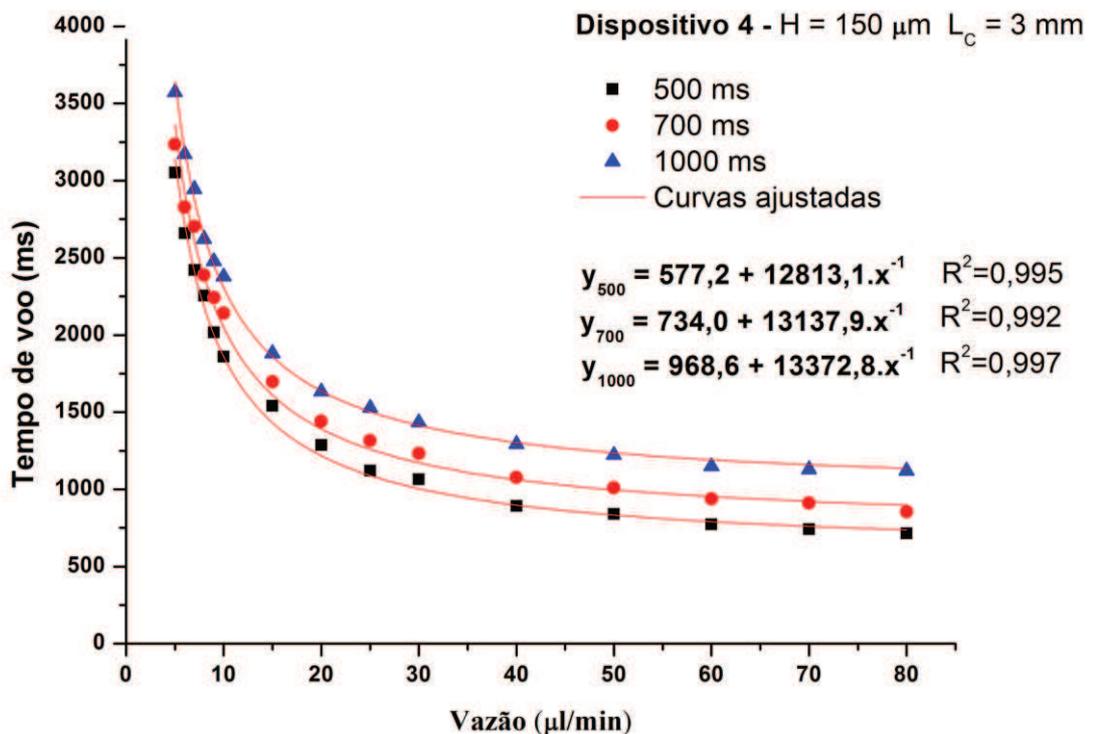


Figura 59 - Gráficos do tempo de voo em função da vazão imposta para o dispositivo 4 com tempos de duração de pulso iguais 500, 700 e 1000 ms.

Com base nos resultados apresentados, a equação de referência (22) utilizada para descrever a relação entre o tempo de voo e a vazão imposta, se mostrou adequada para os dispositivos de altura igual a 75 µm (dispositivos 1, 2 e 3), na faixa de vazão de analisada. Entretanto, esta equação não apresenta a mesma precisão na

descrição do tempo de voo em função da vazão para os dispositivos com canais de alturas iguais a $150 \mu m$ e $300 \mu m$ (dispositivos 4 e 5).

Para os dispositivos de altura igual a $75 \mu m$, a velocidade média do escoamento \bar{u} assume valores mais altos de modo que, mesmo para baixas vazões, os efeitos da difusão axial não são significativos ($\bar{u} \gg u_{ax}$). Além disso, para estes canais os valores do tempo característico t_H são menores, logo o pulso de marcador necessita de um tempo menor para atingir o topo do canal e a condição $Gz \leq 1$ prevalece ao longo da faixa de vazão. Nesse caso, o valor da velocidade média do pulso se aproxima da velocidade média do escoamento. Estes fatores justificam a validade da equação de referência utilizada para os dispositivos de altura igual a $75 \mu m$.

Para os dispositivos com microcanais de alturas maiores (150 e $300 \mu m$), a velocidade média do escoamento (\bar{u}) assume valores menores e a velocidade associada à difusão do pulso na direção axial (u_{ax}) passa a influenciar de modo significativo nas medidas de tempo de voo, principalmente para vazões próximas ao limite inferior da faixa de vazão. Esse efeito pode ser observado no gráfico da Figura 60. Este gráfico apresenta os dados experimentais obtidos para o dispositivo com canal de altura igual a $300 \mu m$. Inicialmente foi realizado um ajuste de uma curva utilizando a equação de referência (22) aos dados experimentais, mas apenas para valores mais altos de velocidade de escoamento ($Pe_H > 50$), representado pela curva em vermelho mais espessa. Em seguida esta curva foi extrapolada para valores mais baixos de velocidade de escoamento, dentro da faixa de operação.

Observou-se que a curva extrapolada, mostrada na Figura 60, discorda dos dados experimentais para baixas velocidades de escoamento (baixas vazões). Essa diferença foi associada ao efeito da difusão axial (u_{ax}) na velocidade do pulso de marcador. Para o dispositivo com canal de altura igual a $300 \mu m$, conclui-se que os efeitos da difusão passam a ser mais pronunciados para vazões inferiores a $20 \mu l/min$. Esse valor de vazão foi definido como limite de difusão Q_{dif} .

Utilizando o mesmo procedimento de extrapolação da curva ajustada para os demais dispositivos, diferentes valores para o limite de difusão (Q_{dif}) foram obtidos. Estes valores são apresentados na Tabela 13. Observou-se que apesar dos valores de Q_{dif} serem distintos para cada dispositivo, todos estão associados à valores de

tempo de voo muito próximos (Tabela 13). Isso sugere, que o limite de difusão está relacionado a um valor mínimo da velocidade de propagação do pulso, a partir do qual o valor da velocidade de difusão passa a ter uma influência significativa.

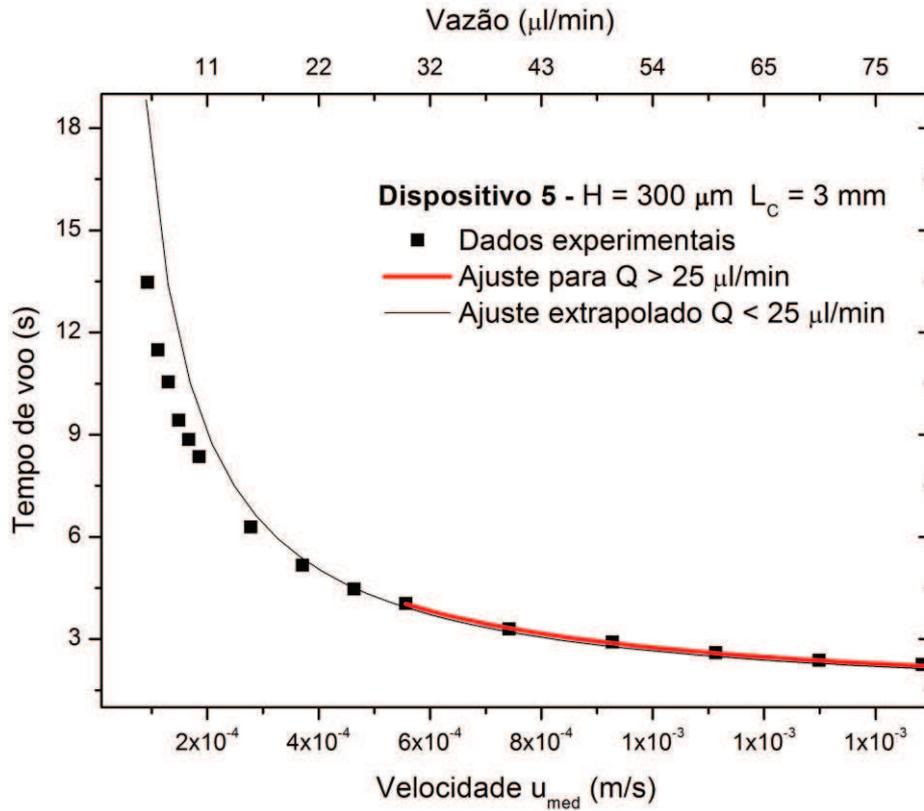


Figura 60 – Gráfico do tempo de voo em função da velocidade média do escoamento, para o dispositivo com canal de altura igual a $300 \mu\text{m}$.

Uma análise adicional relacionada ao limite de difusão é apresentada no anexo III. Esta análise foi realizada com base nas variações de intensidade do sinal associado ao pulso de marcador, para diferentes valores de vazão. Os resultados dessa outra análise indicam valores de Q_{dif} compatíveis com os apresentados na Tabela 13, para os dispositivos com alturas de canais iguais a $75 \mu\text{m}$.

TABELA 13 – VALORES DO LIMITE DE DIFUSÃO E DO VALOR DE TEMPO DE VOO

Dispositivo	1 ($75 \mu\text{m}$)	2 ($75 \mu\text{m}$)	3 ($75 \mu\text{m}$)	4 ($150 \mu\text{m}$)	5 ($300 \mu\text{m}$)
$Q_{dif} (\mu\text{l/min})$	0,7	1,3	2	7	20
t_v (s)	5,4	5,1	5,5	5,2	5,2

A velocidade associada à difusão axial (u_{ax}) foi determinada através dos dados apresentados no gráfico da Figura 60, para o dispositivo com canal de altura

igual a $300 \mu\text{m}$. Para cada valor de vazão na faixa de vazão entre $5\text{-}20 \mu\text{l}/\text{min}$, foi determinada a diferença entre o tempo de voo medido e o estimado através da extrapolação da curva ajustada (Δt_v). Dividindo a distância entre o eletrodo-gerador e o centro da região de detecção do sensor óptico (Δx) pela diferença de tempo de voo, obteve-se o valor de u_{ax} para cada um dos valores de vazão. Os valores encontrados para u_{ax} são próximos, sendo assim, esta foi considerada constante na referida faixa de vazão com um valor médio de aproximadamente $u_{ax} = 1,2 \cdot 10^{-5} \text{ m/s}$.

Uma estimativa numérica utilizando o software Excel 2013, foi realizada com o objetivo de obter mais detalhes a respeito dos efeitos da velocidade de difusão axial nas medidas de tempo de voo. Na referida simulação, utilizou-se uma equação semelhante a equação (22), mas que considera a velocidade de difusão axial:

$$t_v = \frac{\Delta x}{\frac{Q}{A} + u_{ax}} + t_d; \quad (23)$$

A simulação considerou o dispositivo com canal de altura igual a $300 \mu\text{m}$ e largura igual a 3 mm (dispositivo 5), $\Delta x = 0,675 \text{ mm}$, $t_d = 1000 \text{ ms}$ e o valor de u_{ax} em duas situações $u_{ax} = 0 \text{ m/s}$ e $u_{ax} = 1,2 \cdot 10^{-5} \text{ m/s}$. O tempo de voo foi calculado para diversos valores de vazão variando de 5 a $200 \mu\text{l}/\text{min}$. O resultado da etapa inicial da simulação é apresentado na Figura 61.

O resultado apresentado na Figura 61, apresenta uma grande discrepância com os dados experimentais. De modo geral, os valores de tempo de voo obtidos através da equação (23), tanto para $u_{ax} = 0 \text{ m/s}$ quanto para $u_{ax} = 1,2 \cdot 10^{-5} \text{ m/s}$, são inferiores aos valores medidos. Observou-se que este comportamento está associado à relação entre a velocidade média do escoamento do fluido e a velocidade média da propagação do pulso de marcador. Para os dispositivos com canais de alturas maiores (150 e $300 \mu\text{m}$), a condição $Gz > 1$ é predominante na maior parte da faixa de vazão, mesmo para vazões mais baixas, ou seja, o pulso de marcador não atinge o topo do canal antes de chegar a região de detecção. Assim, a velocidade média associada ao pulso difere da velocidade média do escoamento, assumindo valores inferiores.

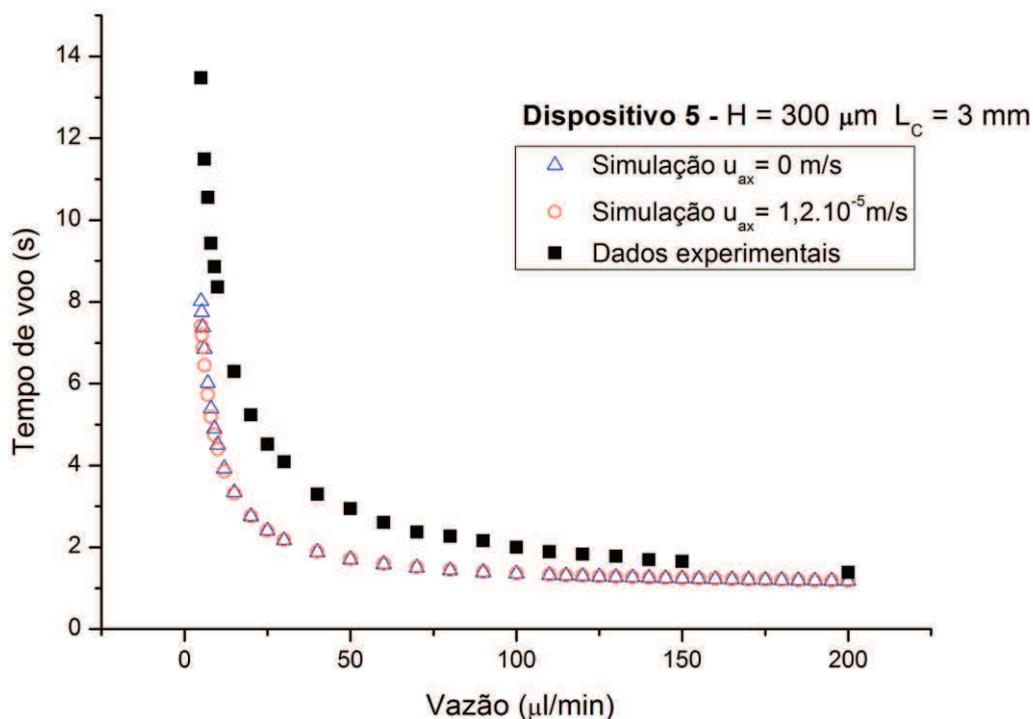


Figura 61 – Gráfico do tempo de voo em função da vazão imposta no microcanal obtido para o dispositivo com altura de canal igual a 300 μm. Este gráfico foi obtido através da simulação no Excel e utilizando a equação (23). No mesmo gráfico, os dados experimentais obtidos para o mesmo dispositivo são apresentados, a título de comparação.

No gráfico da Figura 62 são apresentadas as relações entre a velocidade média de propagação do pulso no canal, na região entre o eletrodo gerador e o detector, e a velocidade média de escoamento do fluido para os diferentes dispositivos desenvolvidos nesta pesquisa. Apenas para os canais com altura igual a 75 μm e para vazões próximas ao limite inferior, os valores das velocidades de propagação do pulso são aproximadamente iguais a velocidade média do escoamento no canal. Para os canais com alturas iguais a 150 e 300 μm, as velocidades de propagação do pulso são inferiores as velocidades médias de escoamento, mesmo para vazões próximas ao limite inferior (Figura 62 b). Neste caso, um coeficiente de proporcionalidade (*c*) entre a velocidade do pulso e a velocidade do escoamento foi adicionado a equação (23) sendo descrita da seguinte forma:

$$t_v = \frac{\Delta x}{c \frac{Q}{A} + u_{ax}} + t_d \quad (24)$$

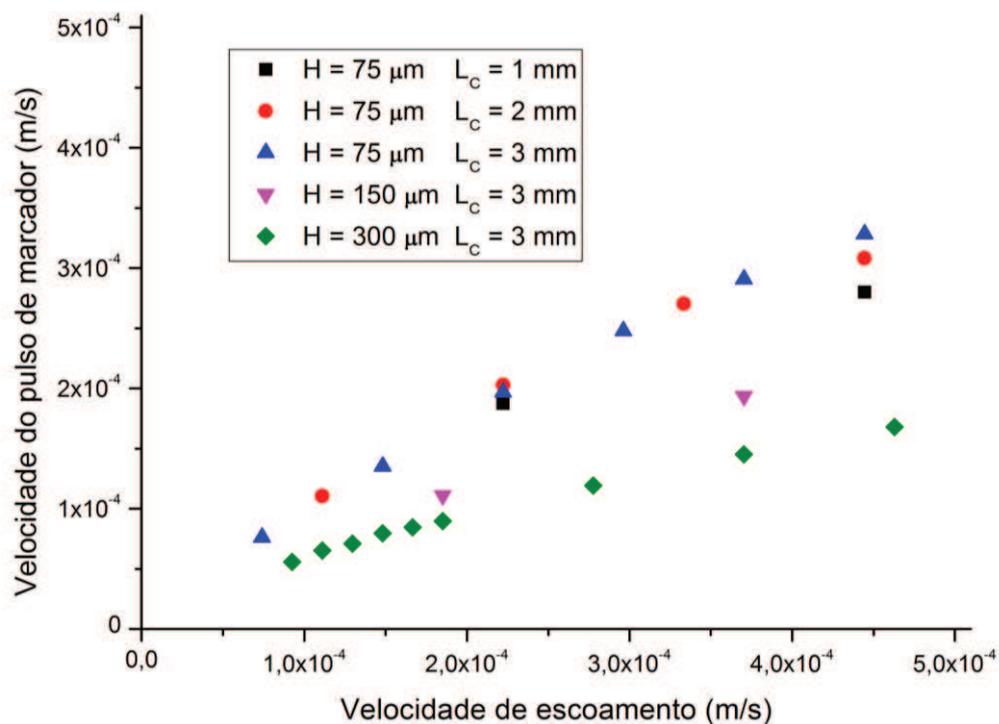
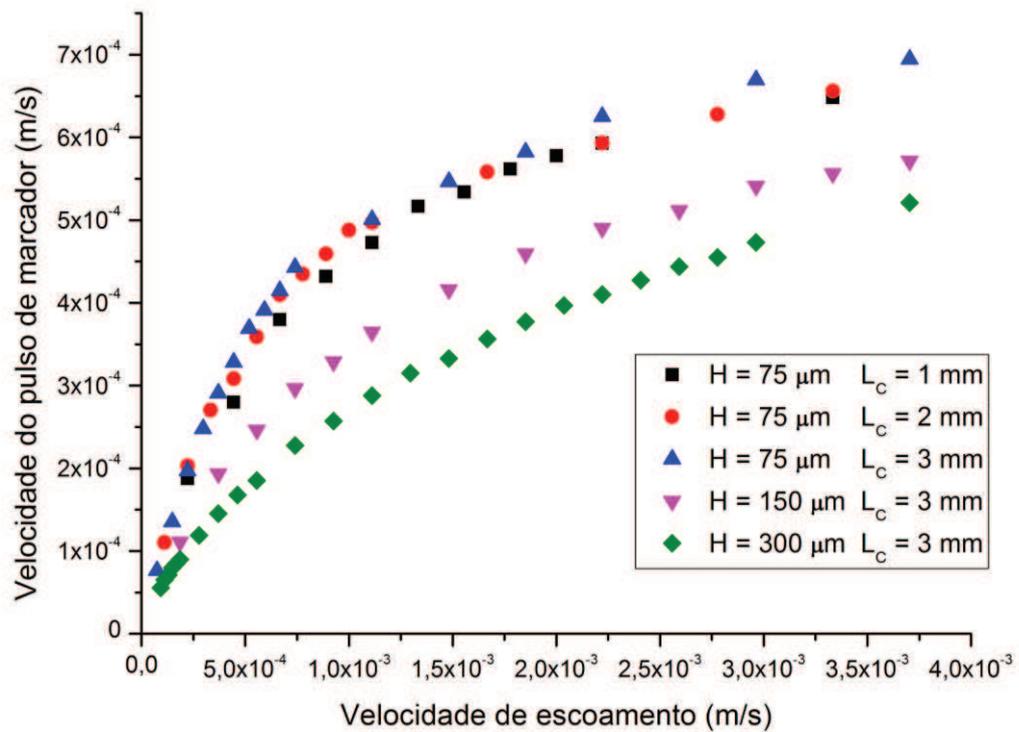


Figura 62 – Gráfico da velocidade do pulso de marcador em função da velocidade média do escoamento do fluido no microcanal. Em (a) são apresentados os gráficos para cada um dos dispositivos e em (b) o mesmo gráfico, mas destacando-se a região onde os valores das velocidades são mais baixos.

O coeficiente c foi definido como um parâmetro adimensional que indica a proporção da velocidade média do escoamento que efetivamente contribui para a propagação do pulso. Através das simulação no Excel, o valor do coeficiente c foi estimado para o dispositivo com canal de largura igual a 3 mm e altura igual a 300 μm (dispositivo 5). Para este dispositivo o valor obtido foi igual a 0,4. Na Figura 63, são apresentados os resultados das simulações para o dispositivo 5, considerando a equação (24) com valor de $c = 0,4$ em duas situações, $u_{ax} = 0 m/s$ e $u_{ax} = 1,2 \cdot 10^{-5} m/s$.

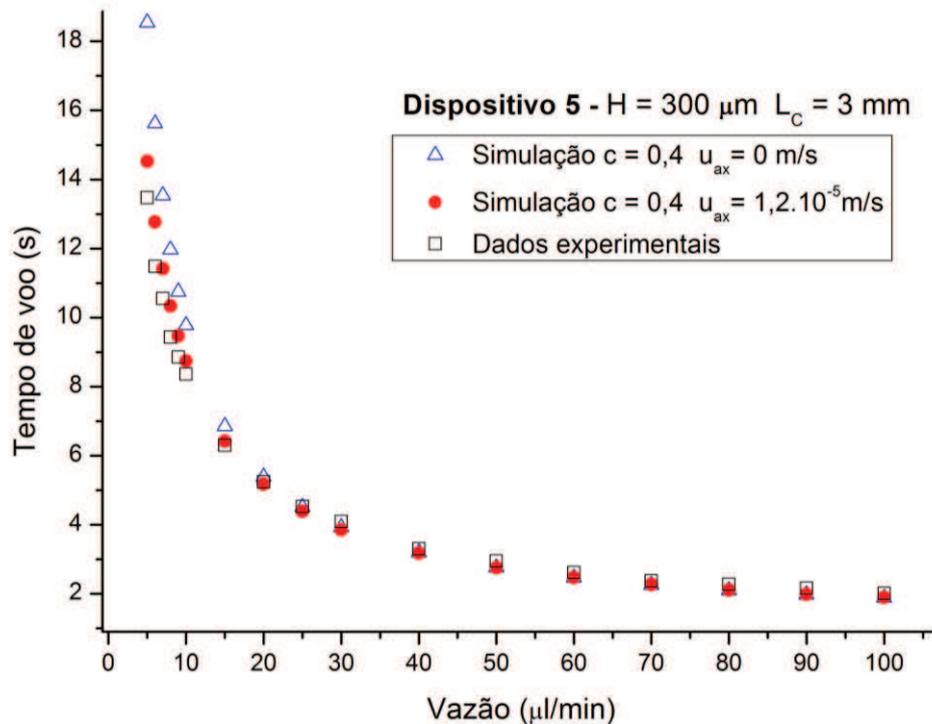


Figura 63 - Gráfico do tempo de voo em função da vazão imposta no microcanal obtido para o dispositivo com altura de canal igual a 300 μm . Este gráfico foi obtido através da simulação no Excel e utilizando a equação (24) para dois diferentes valores de u_{ax} . No mesmo gráfico, os dados experimentais também são apresentados, a título de comparação.

De acordo com a Figura 63, a equação (24) mostra-se mais adequada na descrição da relação entre o tempo de voo e a velocidade média do escoamento. Através do software Origin 8.0, foi realizado um ajuste da equação (24) com $c = 0,4$ e $u_{ax} = 1,2 \cdot 10^{-5} m/s$ aos dados obtidos experimentalmente, para o dispositivo com altura igual a 300 μm . Deste ajuste, obteve-se os valores das constantes $\Delta x = 6,75 \cdot 10^{-4} m = 0,670 mm$ e $t_d = 1,05 s$, que concordam de maneira satisfatória com os valores esperados ($\Delta x \sim 0,75 mm$ e $t_p \sim 1 s$).

Além das simulações numéricas utilizando o *Excel*, foram realizadas simulações utilizando o método de elementos finitos, através do software *Comsol Multiphysics*, com o objetivo de complementar as análises relacionadas ao funcionamento dos dispositivos desenvolvidos. Nestas simulações optou-se pela utilização de um modelo bidimensional (2D) como o apresentado Figura 64 a. Este modelo representa um corte transversal no meio do canal, indicado pela linha tracejada na Figura 64 b. Esta aproximação desconsidera as interações do fluido com as paredes laterais do canal. Entretanto, como a região de detecção do pulso está no centro do canal (em relação a sua largura, Figura 64 b) o modelo 2D é uma alternativa interessante, pois minimiza os recursos computacionais demandados pela simulação. Neste caso, a principal vantagem é a redução no tempo de simulação.

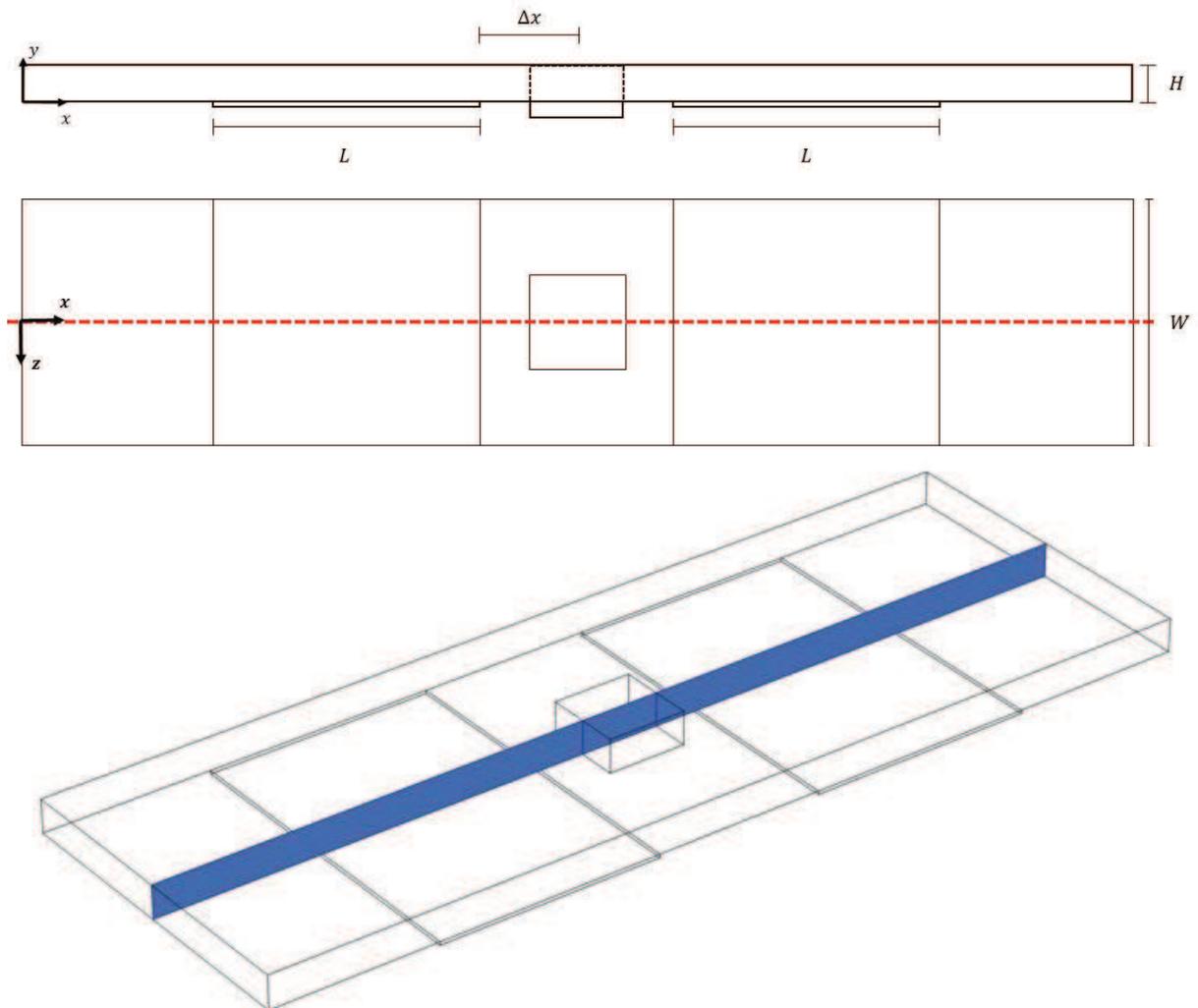


Figura 64 – Em (a) é apresentada uma vista lateral do microcanal, dos eletrodos e da área de detecção do sensor óptico. A vista lateral em (a) corresponde a região central do microcanal destacado nas figuras (b) e (c).

As simulações realizadas consideraram os seguintes fatores:

- A geometria, as dimensões e a disposição dos componentes iguais aos dos dispositivos desenvolvidos;
- A água deionizada como fluido principal da solução;
- As concentrações iniciais das espécies químicas OH^- e H^+ , de forma que o pH da solução fosse inicialmente neutro.
- O regime de escoamento de Stokes e as condições de não escorregamento nas paredes;
- A aplicação da diferença de potencial entre os eletrodos na forma de um sinal retangular composto por duas funções degrau;
- As reações eletroquímicas em cada um dos eletrodos utilizando o modelo de Butler-Volmer;
- As variações locais de concentração das espécies químicas na superfície dos eletrodos;
- O transporte das espécies químicas considerando os efeitos acoplados da advecção e da difusão pela Lei de Fick, e ainda da migração elétrica durante a aplicação da diferença de potencial entre os eletrodos.

A tabela com os parâmetros utilizados na simulação por método dos elementos finitos, assim como uma descrição mais detalhada é apresentada no anexo IV.

Na Figura 64 a, o fluido escoar no sentido da esquerda para a direita, o eletrodo à esquerda é o cátodo o eletrodo à direita é o ânodo, e a região entre as duas linhas verticais mais próximas do centro do canal é a área de medição do sensor óptico. A variação de concentração em função do tempo (pulso de concentração) é obtida através da integração da concentração na área de medição do sensor óptico para cada instante de tempo analisado na simulação. A Figura 65 apresenta as curvas associadas aos pulsos de concentração para o dispositivo com altura igual a $300 \mu m$, para diferentes valores de vazão na faixa de $5 - 200 \mu l/min$ obtidas através da simulação.

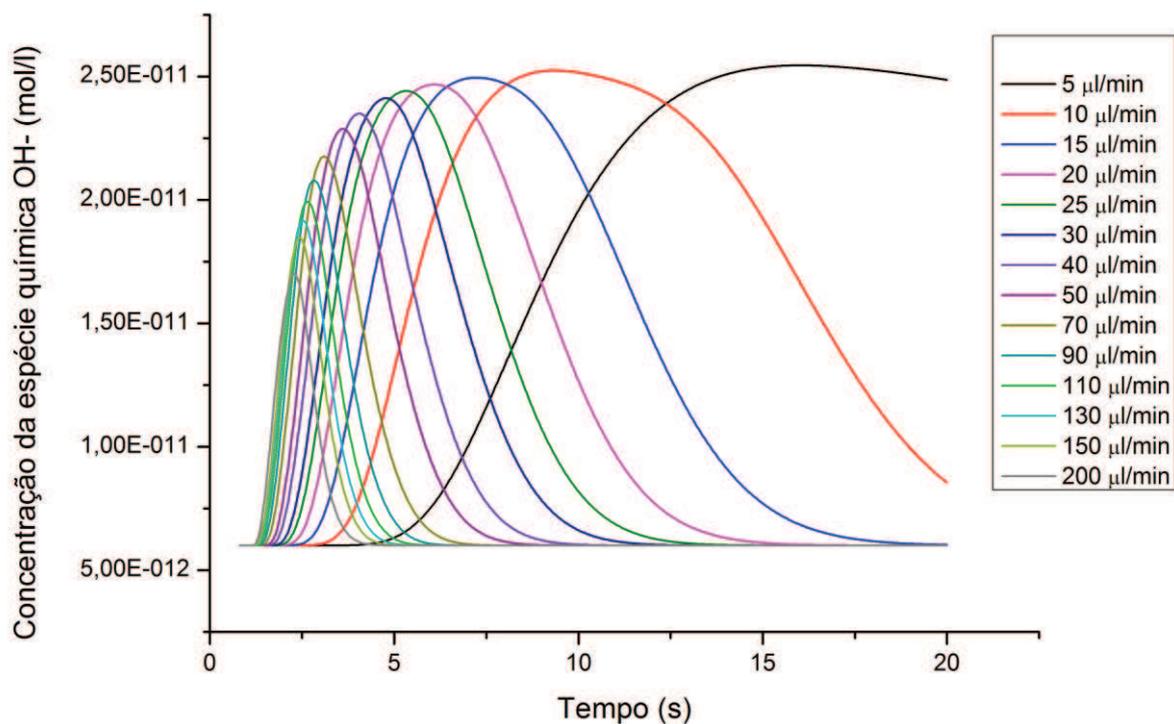


Figura 65 – Pulsos de concentração de OH^- obtidos através da simulação com o Comsol Multiphysics para o dispositivo com altura igual a $300\ \mu m$ na faixa de vazão entre $5 - 200\ \mu l/min$.

Assim como nas medidas experimentais, o tempo associado ao valor máximo de concentração (pico) é utilizado na determinação do tempo de voo. Com os valores de tempo de voo e seus respectivos valores de vazão, obtém-se um gráfico relacionando estas duas grandezas.

A Figura 66, apresenta a curva de tempo de voo em função da vazão obtida através da simulação no Comsol, para o dispositivo com altura igual a $300\ \mu m$ na faixa de vazão entre $5 - 200\ \mu l/min$. Na mesma figura são apresentados os dados obtidos experimentalmente. Comparando estes resultados concluiu-se que as simulações realizadas utilizando o método dos elementos finitos, concordam de maneira satisfatória com os dados experimentais, sendo adequadas para descrever o funcionamento do dispositivo analisado. Resultados com concordâncias semelhantes foram obtidos nas simulações para os dispositivos com alturas iguais a 150 e $75\ \mu m$.

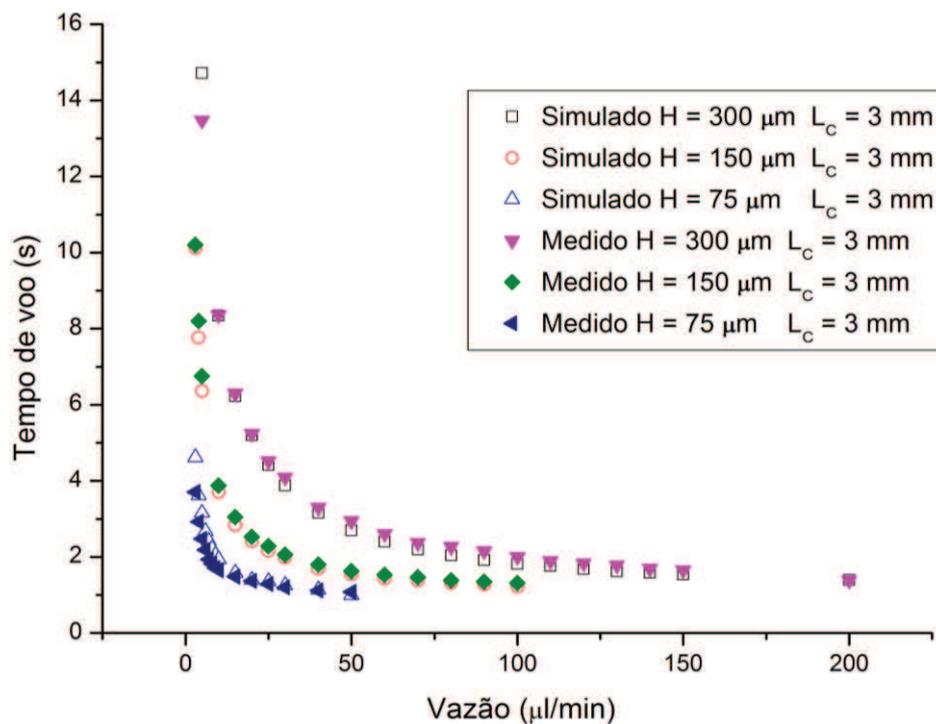


Figura 66 - Gráficos do tempo de voo em função da vazão obtidos através da simulação no COMSOL utilizando os parâmetros do anexo IV. São apresentados os gráficos para três diferentes canais com alturas iguais a 300, 150 e 75 µm e larguras iguais a 3 mm. Os dados experimentais referentes a cada um dos dispositivos também são apresentados a título de comparação.

As discrepâncias entre os valores simulados e os valores medidos experimentalmente são mais pronunciadas para vazões próximas ao limite inferior associado ao dispositivo. Estas discrepâncias estão relacionadas aos erros experimentais envolvidos tanto na fabricação como caracterização dos dispositivos. Para vazões mais baixas, pequenas variações nas dimensões podem resultar em variações mais significativas nos valores do tempo de voo.

Uma vez que o modelo utilizado na simulação com o Comsol se mostrou satisfatório para descrever o funcionamento dos dispositivos desenvolvidos, o mesmo foi utilizado para investigar outros detalhes pertinentes. Através das simulações no Comsol buscou-se obter mais informações a respeito do processo de formação do pulso de concentração e da sua propagação ao longo do canal até a região de detecção.

As figuras Figura 67, Figura 68 e Figura 69 mostram o perfil de concentração da espécie química de interesse (OH^-) nas proximidades do eletrodo gerador (cátodo) em diferentes instantes de tempo durante o processo de formação dos pulso de

marcador, simulados para os canais de 75, 150 e 300 μm de altura, respectivamente. Para facilitar a comparação entre estas figuras a vazão foi mantida em 5 $\mu\text{l}/\text{min}$. Cada uma das figuras apresenta três instantes de tempo. O tempo igual a 1 s corresponde ao instante inicial da aplicação do pulso de tensão e ao início da formação do pulso de marcador da espécie química. O tempo igual a 2 s corresponde ao final da aplicação do pulso de tensão, ou seja, ao instante em que as reações eletroquímicas cessam. Por fim, o tempo igual a 3 s, corresponde a um instante em que o pulso de marcador está sendo conduzido pelo canal sem a influência do campo elétrico associado ao pulso de tensão.

Comparando as figuras Figura 67 b, Figura 68 b e Figura 69 b, observa-se que durante a formação do pulso de marcador o mesmo apresenta uma maior intensidade na região próxima a uma das extremidades do eletrodo gerador (a direita). A passagem das espécies químicas que estavam inicialmente nesta região de maior concentração pela região de detecção do sensor óptico, resulta no máximo da curva de concentração em função do tempo registrado pelo sensor óptico (Figura 65). Neste caso, a distância de propagação do pulso Δx utilizada nessa pesquisa (Figura 64 a), que equivale a distância entre a extremidade do eletrodo gerador mais próxima a região de detecção do sensor óptico e o centro da região de detecção, se mostra adequada.

Outro ponto importante e que pode ser explorado através das simulações é a distribuição do pulso de marcador em relação à altura do canal. Através da comparação entre as figuras Figura 67 c, Figura 68 c e Figura 69 c, é possível observar que para um mesmo intervalo de tempo (1 s após o término do pulso de tensão) a altura do pulso em relação à altura do canal varia de forma significativa.

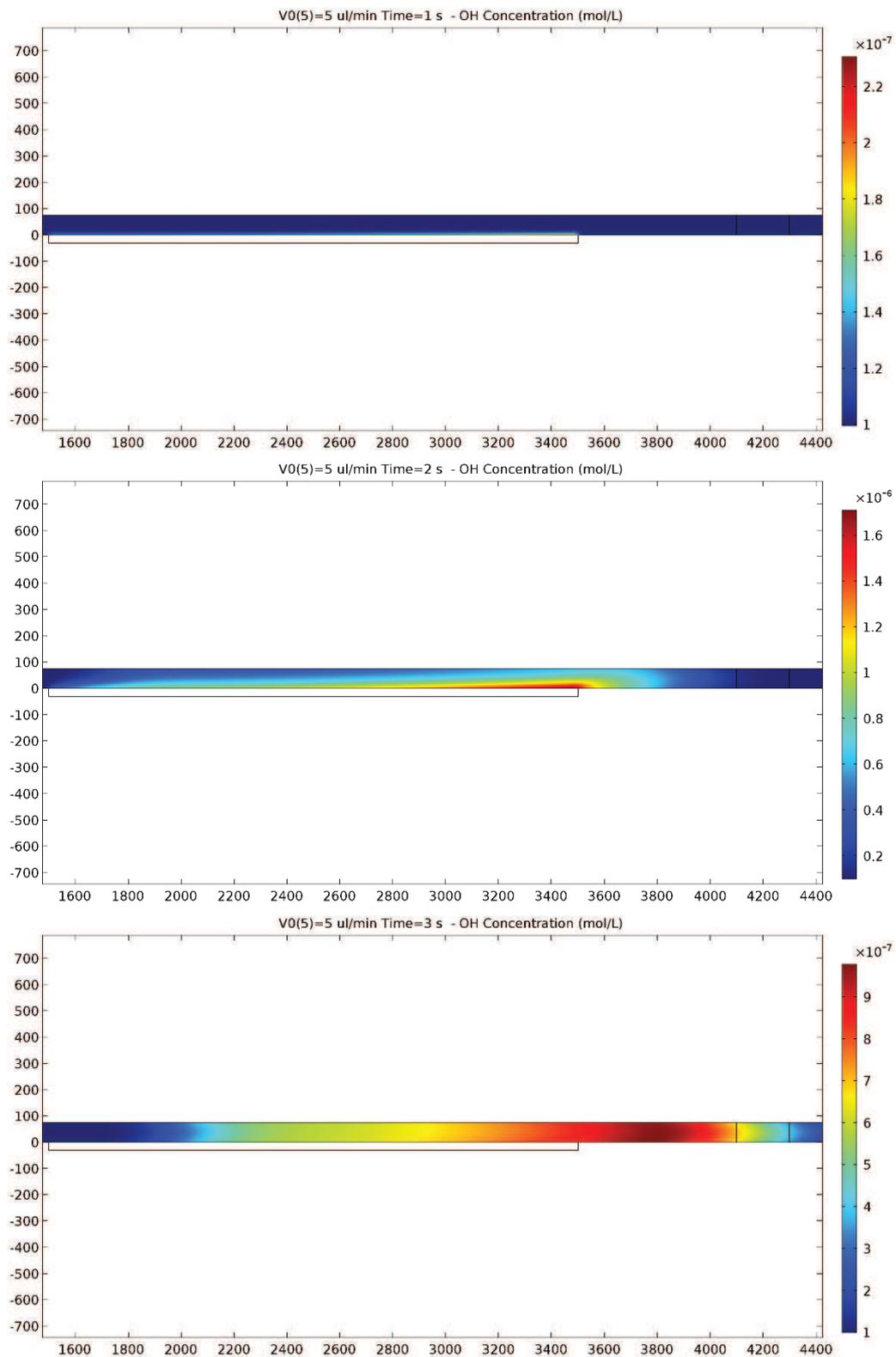


Figura 67 – As figuras acima mostram o perfil de concentração de OH⁻ nas proximidades do eletrodo gerador (cátodo) em diferentes instantes de tempo (a) 1s, (b) 2s e (c) 3s após o início da simulação, para o canal de 75 μm de altura.

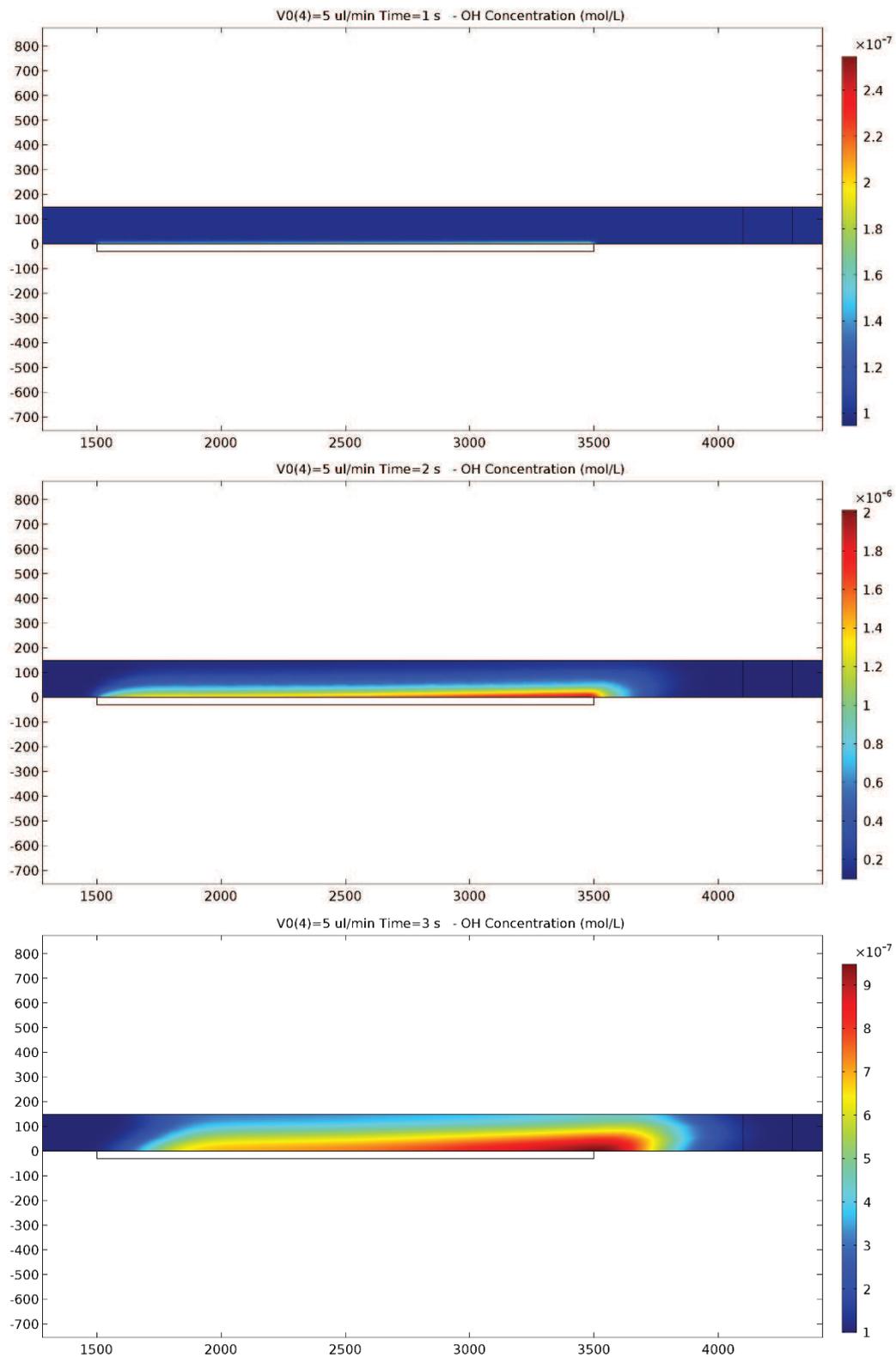


Figura 68 - As figuras acima mostram o perfil de concentração de OH^- nas proximidades do eletrodo gerador (cátodo) em diferentes instantes de tempo (a) 1s, (b) 2s e (c) 3s após o início da simulação, para o canal de $150 \mu\text{m}$ de altura.

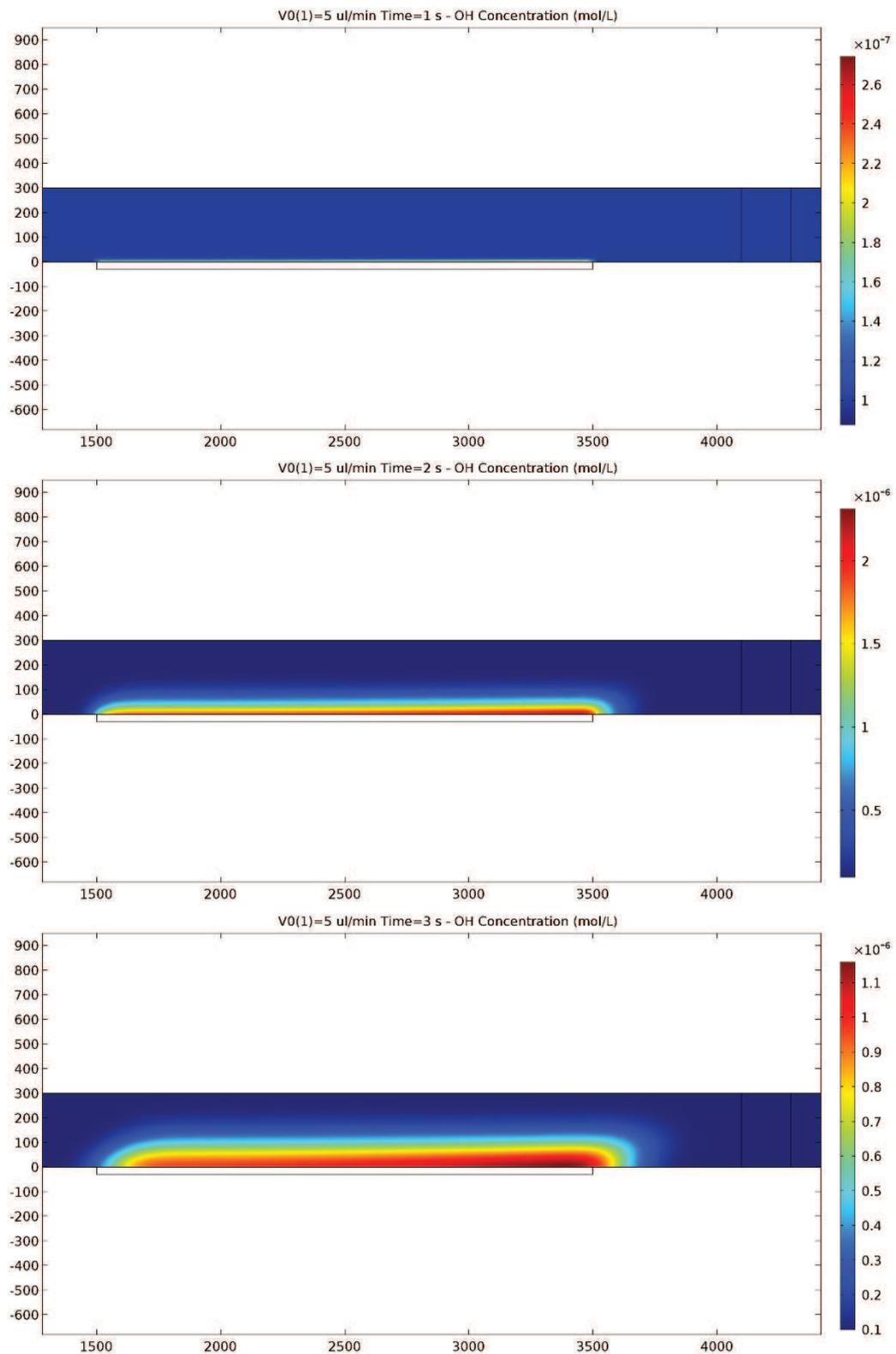


Figura 69 - As figuras acima mostram o perfil de concentração de OH^- nas proximidades do eletrodo gerador (cátodo) em diferentes instantes de tempo (a) 1s, (b) 2s e (c) 3s após o início da simulação, para o canal de 300 μm de altura.

Além da variação em relação ao tempo, a altura do pulso de concentração nos microcanais também varia em função da vazão imposta, devido à variação no perfil de velocidade. As figuras Figura 70, Figura 71 e Figura 72 mostram o perfil de concentração da espécie química de interesse (OH^-) no instante em que o máximo de concentração passa pela região de detecção do sensor ótico. Cada uma das figuras apresenta três situações com diferentes valores de vazões para cada altura de canal, em (a) um valor próximo ao limite inferior, em (b) um valor intermediário e em (c) um valor próximo ao limite superior da faixa de vazão de cada dispositivo.

Observa-se na Figura 70 que para o canal de menor altura ($75 \mu m$) o pulso de marcador atinge o topo canal antes de passar pela região de detecção do sensor ótico, mesmo nas situações onde a vazão assume valores mais altos dentro da sua faixa de operação (aproximadamente $30 \mu l/min$).

Para o canal com altura intermediária ($150 \mu m$, Figura 71), o pulso de marcador atinge o topo do canal antes de chegar a região de detecção, apenas para valores de vazão próximos ao limite inferior da sua faixa de operação (inferiores a $30 \mu l/min$). Em vazões superiores a $30 \mu l/min$, o pulso de marcador não chega ao topo do canal antes de passar pela região de detecção do sensor ótico, correspondendo as situações onde $Gz > 1$.

Na Figura 72, observa-se que para o canal de maior altura ($300 \mu m$) o pulso de marcador atinge o topo do canal apenas para vazões próximas ao limite inferior definido para este dispositivo ($5 \mu l/min$). Em quase toda a extensão da faixa de vazão deste dispositivo ($10 - 150 \mu l/min$) prevalece a condição $Gz > 1$.

A altura do pulso de marcador em função da vazão imposta no canal foi analisada de forma mais detalhada para o dispositivo de altura igual a $300 \mu m$. Neste caso, a medida da altura do pulso de marcador foi estimada para diferentes valores de vazão. Inicialmente esta análise considerou apenas valores de vazão superiores a $80 \mu l/min$, ou seja, a condição onde $Gz \gg 1$. Para estimar a altura do pulso de marcador foram gerados gráficos da concentração ao longo de uma linha vertical, posicionada na posição central da região de detecção do sensor ótico, para cada um dos valores de vazão (Figura 73).

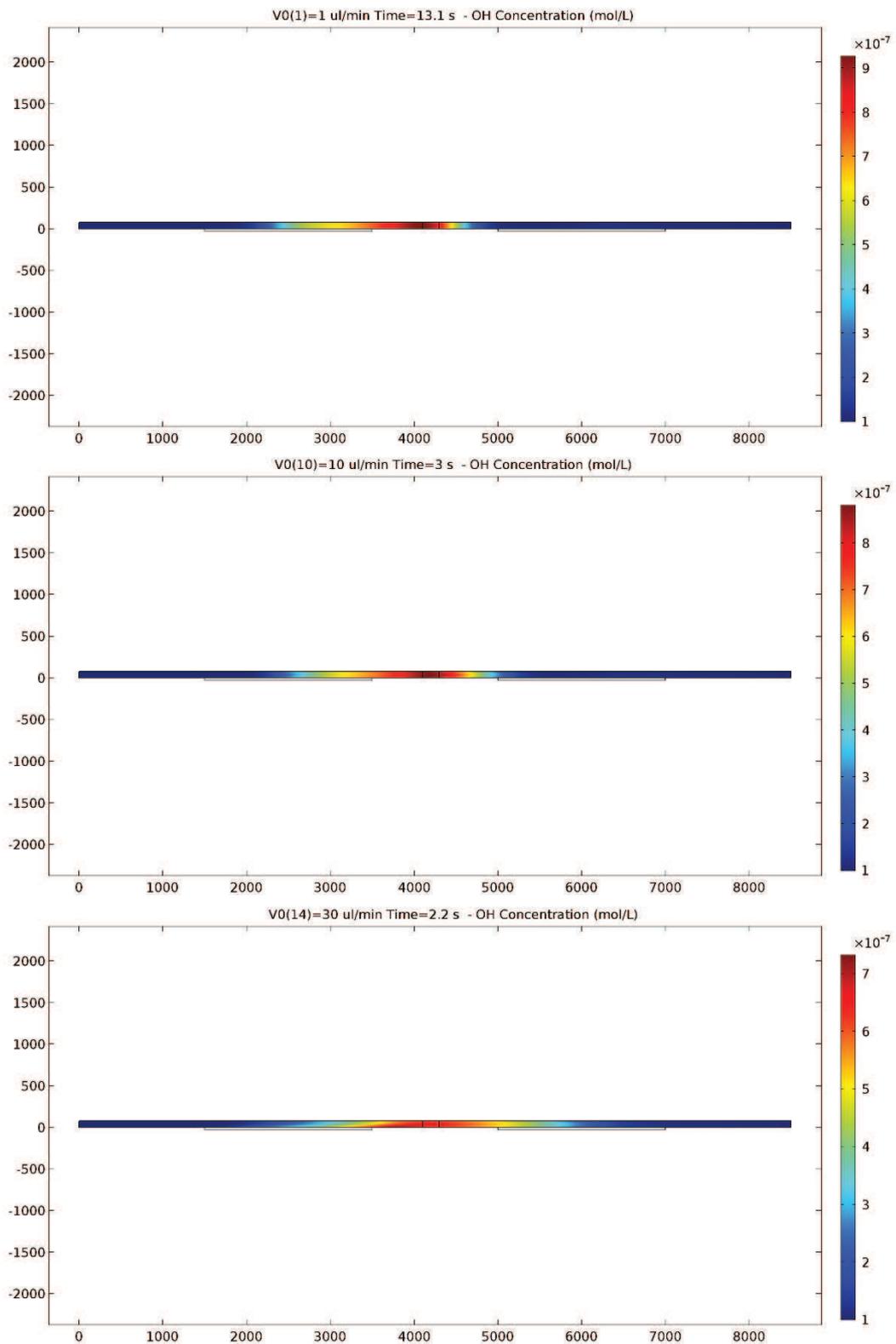


Figura 70 – Perfil de concentração de OH^- no instante em que o máximo passa pela região de detecção, simuladas no COMSOL para o canal de $75\ \mu\text{m}$ de altura. São apresentadas três situações com diferentes valores de vazão onde (a) corresponde a um valor próximo ao limite inferior, (b) um valor intermediário e em (c) um valor próximo ao limite superior.

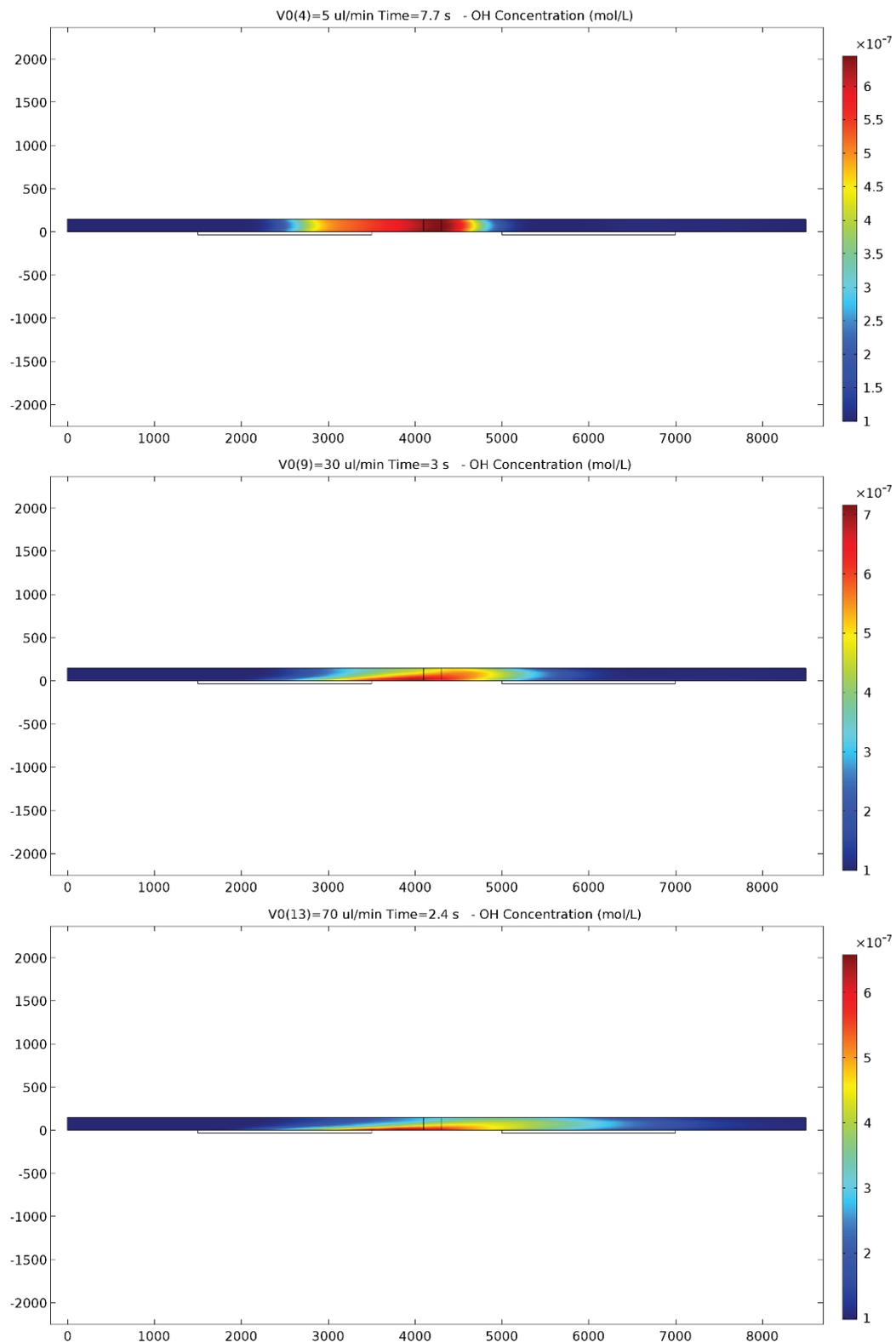


Figura 71 - Perfil de concentração de OH^- no instante em que o máximo passa pela região de detecção, simuladas no COMSOL para o canal de $150 \mu\text{m}$ de altura. São apresentadas três situações com diferentes valores de vazão onde (a) corresponde a um valor próximo ao limite inferior, (b) um valor intermediário e em (c) um valor próximo ao limite superior.

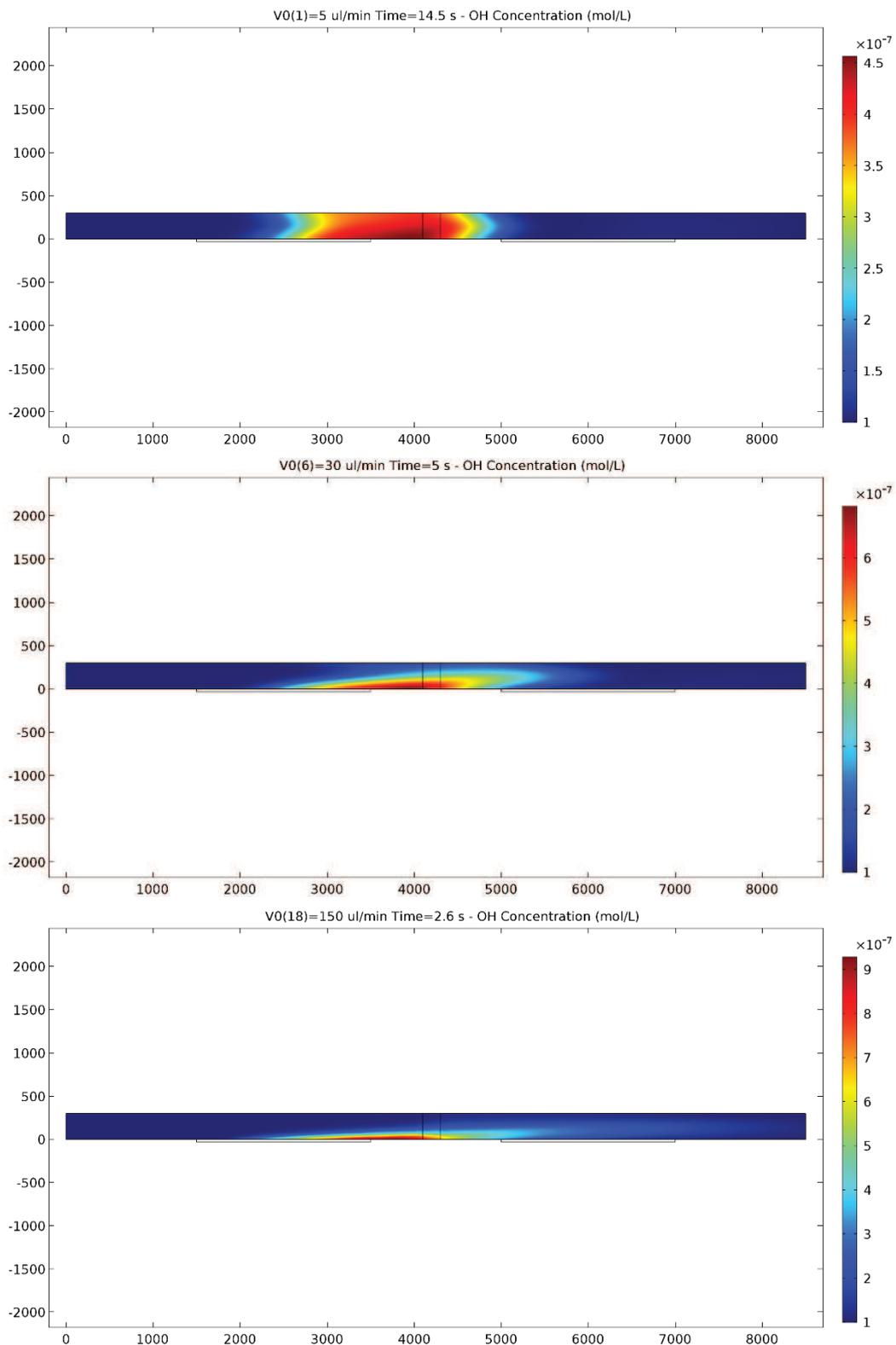


Figura 72 - Perfil de concentração de OH⁻ no instante em que o máximo passa pela região de detecção, simuladas no COMSOL para o canal de 300 μm de altura. São apresentadas três situações com diferentes valores de vazão onde (a) corresponde a um valor próximo ao limite inferior, (b) um valor intermediário e em (c) um valor próximo ao limite superior.

No procedimento para estimar a altura do pulso de marcador o valor de concentração igual a $3,0 \cdot 10^{-7} \text{ mol/l}$ foi utilizado como referência. O ponto na posição mediana da região de detecção do sensor ótico, que corresponde a este valor de concentração de referência, está indicado pela ponta da seta na Figura 73 b. Analisando a Figura 73 b observou-se que este ponto descreve de maneira satisfatória a altura do pulso de marcador na região de interesse. Então, para cada uma das curvas no gráfico da Figura 73 correlacionou-se o valor de concentração de referência com o valor da posição no eixo vertical correspondente. A Figura 74, apresenta o resultado deste procedimento onde a altura do pulso de marcador é correlacionada com a vazão imposta no canal.

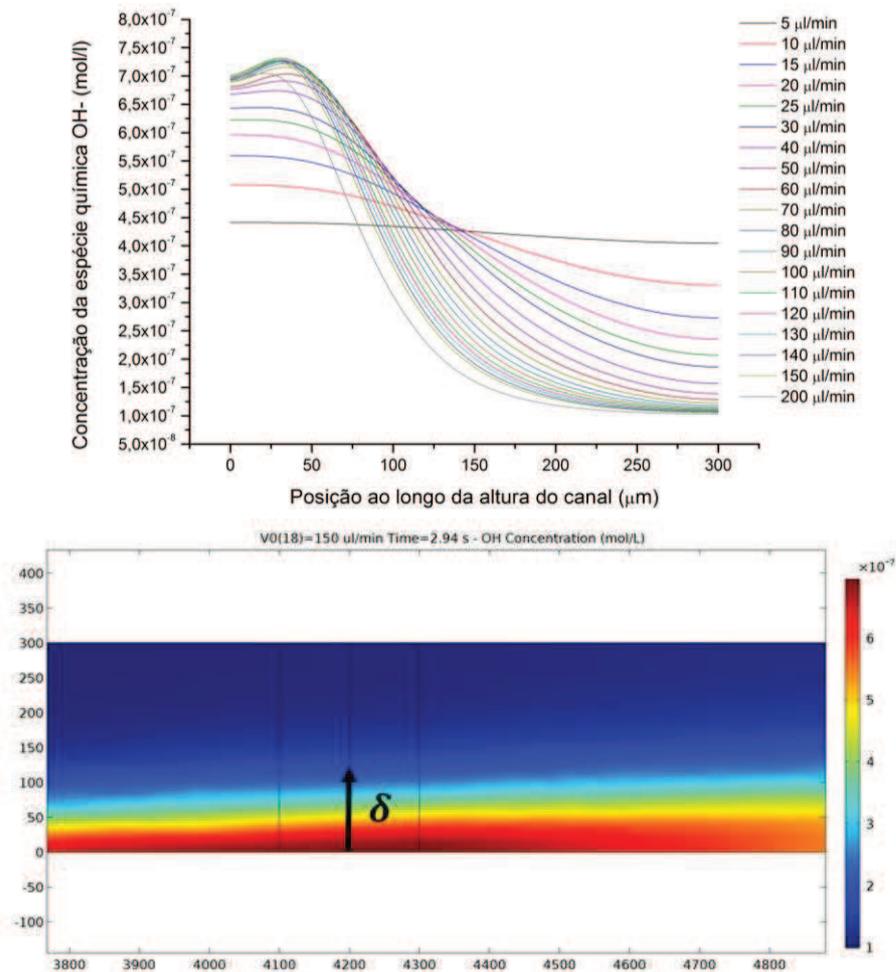


Figura 73 – (a) Gráficos da variação de concentração ao longo de uma linha vertical com altura igual à do canal (300 μm), posicionada na posição central da região de detecção do sensor ótico. Cada uma das curvas corresponde a um valor de vazão na faixa de 5 – 200 $\mu\text{l/min}$. Em (b) é apresentada uma parte da camada de difusão, onde na posição central está a linha de referência e as duas linhas mais externas limitam a região de detecção do sensor ótico. A seta em (b) indica a posição de referência considerada para estimar a altura da camada de difusão. A situação em (b) está associada ao valor de vazão igual a 150 $\mu\text{l/min}$.

Apesar da equação (8) ter sido proposta para estimar a espessura da camada de difusão apenas em situações onde as reações e o transporte de espécies encontram-se em regime estacionário, a mesma foi utilizada para estimar a altura do pulso de marcador nas condições associadas ao funcionamento dos dispositivos desenvolvidos nesta pesquisa de doutorado. Nessa estimativa, o valor da distância ao longo do canal (L) foi considerado igual a soma do comprimento do eletrodo (L_e) e da distância entre a extremidade do eletrodo e o início da área de detecção do sensor óptico (Δx). Com base na Figura 74, concluiu-se que os resultados obtidos utilizando a equação (8) concordam com os resultados obtidos através do procedimento descrito anteriormente (através dos gráficos de concentração). Posteriormente, estes resultados foram extrapolados para vazões inferiores a $80 \mu\text{l}/\text{min}$.

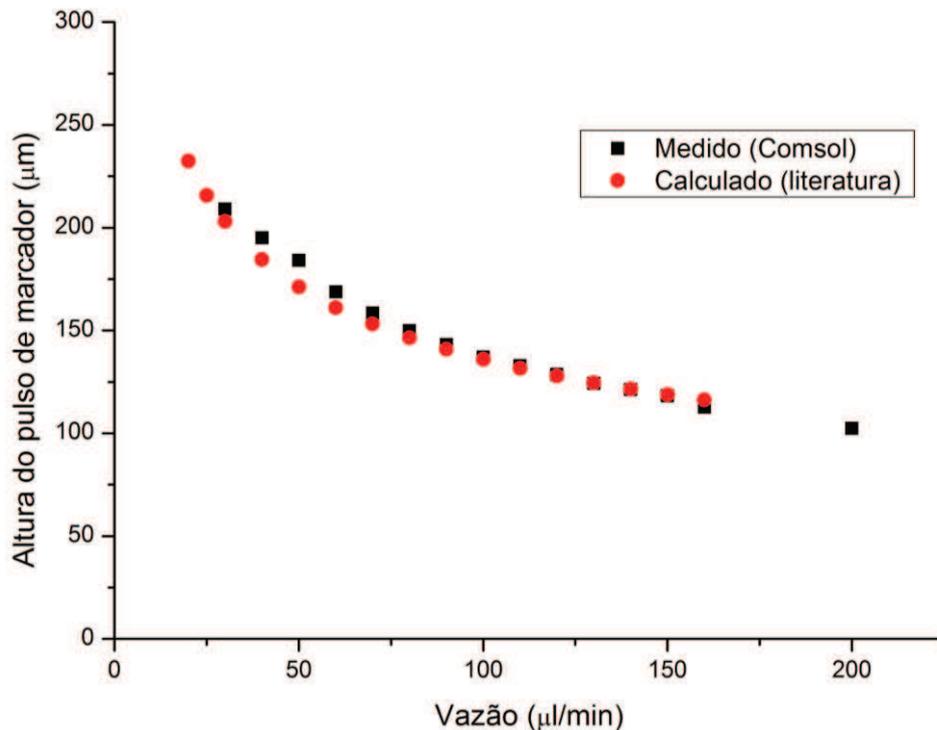


Figura 74 – Gráfico da altura do pulso de marcado em função da vazão imposta no microcanal. No mesmo gráfico são apresentados os valores medidos nessa pesquisa, através da simulação no COMSOL e os valores calculados utilizando a equação (8).

Um parâmetro denominado altura relativa do pulso h_{rel} foi definido para esta simulação da seguinte forma:

$$h_{rel} = \frac{\delta}{H}; \quad (25)$$

onde H é a altura total do canal e δ é a altura do pulso de marcador (ou o comprimento da camada de difusão). Os valores de h_{rel} foram calculados para cada valor de vazão, utilizando-se a equação (8) para a determinação dos respectivos valores de δ e os resultados são apresentados na Tabela 14. Por definição o valor máximo assumido por h_{rel} é igual a 1, o que corresponde a situação onde $H = \delta$. O valor médio do h_{rel} foi calculado utilizando apenas os valores correspondentes a $Gz > 1$. Neste caso o valor obtido foi $\bar{h}_{rel} = 0,5$. O mesmo procedimento foi realizado para os canais com alturas iguais a 150 e 75 μm e os resultados são apresentados respectivamente nas Tabela 15 e Tabela 16.

Para o dispositivo com altura igual a 150 μm , a condição $Gz > 1$ ocorre apenas para valores de vazão superiores a 30 $\mu l/min$ (Tabela 15). Logo, o valor de \bar{h}_{rel} foi calculado utilizando apenas os valores de h_{rel} correspondentes a vazões superiores a esta. Nesta situação o valor obtido foi $\bar{h}_{rel} = 0,7$.

No caso do dispositivo de altura igual a 75 μm , a condição $Gz > 1$ é satisfeita apenas para vazões próximas ao limite superior da faixa de vazão (Tabela 16). Sendo assim, a descrição da camada de difusão através da equação (8) não se mostra útil nesta situação. O valor médio da altura relativa obtido para esse canal foi $\bar{h}_{rel} = 0,99$.

TABELA 14 – VALORES ESTIMADO DE ALTURA DO PULSO DE MARCADOR E ALTURA RELATIVA PARA O DISPOSITIVO H = 300 μm .

Q ($\mu l/min$)	Pe_H	Gz	δ (μm)	h_{rel}
5	5,26	0,79	300	1
10	10,52	1,58	292,83	0,98
15	15,78	2,37	255,81	0,85
20	21,04	3,16	232,42	0,77
25	26,30	3,95	215,76	0,72
30	31,57	4,73	203,04	0,68
40	42,09	6,31	184,47	0,61
50	52,61	7,89	171,25	0,57
60	63,13	9,47	161,15	0,54
70	73,65	11,05	153,08	0,51
80	84,18	12,63	146,41	0,49
90	94,70	14,20	140,78	0,47
100	105,22	15,78	135,92	0,45
110	115,74	17,36	131,67	0,44
120	126,26	18,94	127,90	0,43
130	136,78	20,52	124,54	0,42
140	147,31	22,10	121,50	0,40
150	157,83	23,67	118,74	0,40
160	168,35	25,25	116,21	0,39
			\bar{h}_{rel}	0,50

TABELA 15 - VALORES ESTIMADO DE ALTURA DO PULSO DE MARCADOR E ALTURA RELATIVA PARA O DISPOSITIVO H = 150 μm .

Q ($\mu l/min$)	Pe_H	Gz	δ (μm)	h_{rel}
2	2,10	0,08	150	1
5	5,26	0,20	150	1
10	10,52	0,39	150	1
15	15,78	0,59	150	1
20	21,04	0,79	146,41	0,98
25	26,30	0,99	135,92	0,91
30	31,57	1,18	127,90	0,85
40	42,09	1,58	116,21	0,77
50	52,61	1,97	107,88	0,72
60	63,13	2,37	101,52	0,68
70	73,65	2,76	96,43	0,64
80	84,18	3,16	92,23	0,61
			\bar{h}_{rel}	0,70

TABELA 16 - VALORES ESTIMADO DE ALTURA DO PULSO DE MARCADOR E ALTURA RELATIVA PARA O DISPOSITIVO H = 75 μm .

Q ($\mu\text{l}/\text{min}$)	Pe_H	Gz	δ (μm)	h_{rel}
1	1,05	0,04	75	1
2	2,10	0,08	75	1
3	3,16	0,12	75	1
4	4,21	0,16	75	1
5	5,26	0,20	75	1
10	10,52	0,39	75	1
15	15,78	0,59	75	1
20	21,04	0,79	75	1
25	26,30	0,99	75	1
30	31,57	1,18	75	1
40	42,09	1,58	73,21	0,98
\bar{h}_{rel}				0,99

Os valores obtidos para a altura relativa média (\bar{h}_{rel}) do pulso de marcador para os canais com alturas de 300, 150 e 75 μm foram respectivamente iguais a 0,5, 0,7 e 0,99. Analisando estes valores observou-se que os mesmos são próximos aos valores do coeficientes de proporcionalidade (c) obtidos através da estimativa numérica para cada um dos respectivos canais (0,45, 0,7 e 1). Desta forma, concluiu-se que os coeficientes de proporcionalidade (c) apresentam de fato uma relação com a altura relativa média do pulso de marcador (\bar{h}_{rel}), como assumido inicialmente.

Em síntese, nessa pesquisa de doutorado foi proposta uma expressão analítica que descreve o tempo de voo de um pulso de marcador em função da vazão imposta, descrita pela equação (24), que não se restringe as condições em que $Gz \leq 1$ e $Pe_H \gg 1$. Nesta equação três termos foram identificados como fundamentais para a descrição correta do tempo de voo. Este termos são: o tempo de *delay*, o coeficiente de proporcionalidade (c) e o termo de velocidade associado à difusão na direção axial (u_{ax}). Foram apresentados métodos para estimar os valores de cada um dos termos mencionados. O tempo de *delay* foi determinado através das análises das curvas t_v em função de Q e observou-se que, dentro da faixa de vazão detectável, o mesmo apresenta valores próximos aos da duração temporal do pulso de tensão aplicado nos eletrodos. A velocidade de difusão (u_{ax}) também foi determinada através do ajuste das curvas de referência aos dados experimentais e da extrapolação destas curvas para valores mais baixos de vazão. Além disso, esse método possibilitou estimar os

valores de vazão, dentro das faixas de cada um dos dispositivos, a partir do qual os efeitos da difusão passam a ser significativos. O coeficiente de proporcionalidade (c) foi estimado para os dispositivos com diferentes alturas de canal, inicialmente utilizando uma estimativa numérica no Excel. Posteriormente, simulações utilizando o método de elementos finitos (Comsol) foram realizadas no intuito de obter mais detalhes a respeito do coeficiente (c). Com base nos resultados obtidos na simulação no Comsol, a altura relativa do pulso de concentração em função da vazão pôde ser analisada de maneira mais detalhada. Através desta análise foi possível estimar o valor do coeficiente (c) para diferentes canais. Estes valores, por sua vez, apresentam um bom grau de concordância com os valores obtidos inicialmente através da estimativa numérica. Por fim, observou-se que equação (24) proposta nesta pesquisa de doutorado em conjunto com os valores dos coeficientes obtidos, descrevem a relação entre o tempo de voo e a vazão imposta no microcanal de forma mais precisa, em comparação as demais equações propostas na literatura.

5. CONCLUSÃO

Nessa pesquisa de doutorado foi desenvolvido um SMV TOF que combina marcadores eletroquímicos, indicador de pH e detecção óptica. Esta combinação de características é inédita na literatura e possibilita contornar algumas dificuldades relacionadas aos sensores TOF.

Em relação aos materiais e procedimentos utilizados na fabricação dos SMV, as principais contribuições para o estado da arte foram: a utilização de camada adesiva para definição da altura do canal e fechamento do sistema microfluídicos; a deposição de eletrodos metálicos sobre a camada adesiva para contornar os problemas de adesão metal-polímero. A utilização de materiais de baixo custo relativo combinados a processos simples de fabricação é uma tendência na área microfluídica e as técnicas desenvolvidas e relatadas nesta pesquisa contribuem para o avanço nesse sentido.

No controle e aquisição de dados do SMV foi utilizada uma plataforma de prototipagem eletrônica Arduino Uno R3. A referida plataforma se mostrou adequada a aplicação fornecendo resultados satisfatórios. Apesar de ser utilizada em outras aplicações dentro da microfluídica até o momento não há relatos da utilização deste tipo de plataforma em SMV. Estas plataformas fornecem uma alternativa de baixo custo, se comparado com os equipamentos tradicionais utilizados no controle e aquisição de dados, e possuem dimensões reduzidas favorecendo a redução no volume total do sistema.

Referente a caracterização dos dispositivos, conclui-se as dimensões do canal microfluídico, largura e altura, influenciam diretamente na sensibilidade do SMV. A alteração na altura do microcanal resultou em uma variação mais acentuada na sensibilidade do sensor. Esse fato indica que o perfil de velocidade do escoamento, na direção da altura do no microcanal, é um fator predominante no funcionamento dos SMV que empregam o método TOF.

Verificou-se que a sensibilidade afeta diretamente a faixa de vazão detectável e a resolução das medidas dos SMV. As faixas de vazões obtidas dependem das dimensões dos canais e variaram entre $0,7 - 15 \mu\text{l}/\text{min}$ e $20 - 150 \mu\text{l}/\text{min}$. A resolução das medidas, por sua vez, apresentou uma variação progressiva de

0,1 $\mu\text{l}/\text{min}$ a 10 $\mu\text{l}/\text{min}$ ao longo da faixa de vazão dos dispositivos. A amplitude da faixa de vazão, a resolução das medidas e o valor mínimo de vazão detectável obtidos são comparáveis aos dos SMV TOF eletroquímicos relatados na literatura. Entretanto, os dispositivos desenvolvidos nessa pesquisa se destacam por possibilitar medidas em uma faixa de vazão ($\sim 15\text{-}100 \mu\text{l}/\text{min}$) não atendida pelos demais SMV da mesma categoria.

A repetitividade nas medidas de tempo de voo foi inferior a 5% para vazões superiores a 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ e de 5-10 % para vazões inferiores a este valor. A maior influência na repetitividade dos testes é atribuída as características do sistema de bombeamento utilizado no processo de caracterização.

Com base nas análises dos resultados obtidos no processo de caracterização dos dispositivos, uma função que correlaciona o tempo de voo com a vazão imposta no microcanal foi proposta (equação 24). Além da vazão e dos fatores geométricos, esta função leva em consideração outros três fatores: o tempo de *delay* (t_d), termo de velocidade associado à difusão na direção axial (u_{ax}) e o coeficiente de proporcionalidade entre a velocidade média no microcanal e a velocidade média do pulso de marcador (c). Buscou-se validar a utilização destes fatores na função proposta através de simulações computacionais numérica (Excel) e utilizando o método dos elementos finitos (Comsol). Comparando os dados obtidos experimentalmente com os resultados das simulações concluiu-se que a função proposta e os fatores associados a mesma são adequados para descrever o tempo de voo do pulso de marcador. A função proposta nesta pesquisa se destaca por possibilitar a descrição do tempo de voo de um pulso de marcador em situações onde o mesmo não atinge o topo do canal ($Gz > 1$) e também no caso onde a difusão passa a afetar a velocidade de propagação ($\bar{u} \sim u_{ax}$). Com auxílio das simulações computacionais pelo método de elementos finitos, alguns pontos relacionados à formação do pulso de marcador e também à sua altura em relação ao canal puderam ser observados e analisados com mais detalhes.

Por fim, conclui-se que essa pesquisa de doutorado atingiu os objetivos iniciais gerando contribuições ao estado da arte em diferentes pontos. Estas contribuições incluem: a prova de conceito de um novo método para medição de vazões em sistemas microfluídicos, simplificações nos processos de construção dos dispositivos e a utilização de sistemas de aquisição de dados alternativos, o

desenvolvimento de SMVs que atendem uma faixa de vazão até então não acessível aos demais dispositivos da mesma categoria, a proposta e validação de uma função que descreve a relação entre o tempo de voo e a vazão em situações mais gerais e a apresentação de detalhes a respeito do comportamento do pulso de marcador dentro dos microcanais através das simulações.

REFERÊNCIAS

- [1] G. M. Whitesides, "The origins and the future of microfluidics.," *Nature*, vol. 442, no. 7101, pp. 368–73, 2006.
- [2] D. Mark, S. Haeberle, G. Roth, F. von Stetten, and R. Zengerle, "Microfluidic lab-on-a-chip platforms: requirements, characteristics and applications.," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 39, no. 3, pp. 1153–82, 2010.
- [3] M. S. Cheri, H. Shahraki, J. Sadeghi, M. S. Moghaddam, and H. Latifi, "Measurement and control of pressure driven flows in microfluidic devices using an optofluidic flow sensor," *Biomicrofluidics*, vol. 8, no. 5, 2014.
- [4] K. S. Koppula, R. Fan, K. R. Veerapalli, and J. Wan, "Integrated microfluidic system with simultaneous emulsion generation and concentration," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 466, pp. 162–167, 2016.
- [5] H. Peng, Z. Xu, S. Chen, Z. Zhang, B. Li, and L. Ge, "An easily assembled double T-shape microfluidic devices for the preparation of submillimeter-sized polyacrylonitrile (PAN) microbubbles and polystyrene (PS) double emulsions," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 468, pp. 271–279, 2015.
- [6] M. S. Juliana, N. P. C. Natália, M. de O. Adriano, D. Silas, C. S. Antônio, and R. Góngora-Rubio, "Rifampicin Nanoprecipitation using Flow Focusing Microfluidic Device," *J. Nanomed. Nanotechnol.*, vol. 4, no. 4, pp. 4–9, 2013.
- [7] Y. Gong, M. Zhang, C. Gong, Y. Wu, Y. Rao, and X. Fan, "Sensitive optofluidic flow rate sensor based on laser heating and microring resonator," *Microfluid. N.*, pp. 1497–1505, 2015.
- [8] A. H. J. Yang and H. T. Soh, "Acoustophoretic sorting of viable mammalian cells in a microfluidic device," *Anal. Chem.*, vol. 84, no. 24, pp. 10756–10762, 2012.
- [9] Y. Sai, M. Yamada, M. Yasuda, and M. Seki, "Continuous separation of particles using a microfluidic device equipped with flow rate control valves," *J. Chromatogr. A*, vol. 1127, no. 1–2, pp. 214–220, 2006.
- [10] A. J. deMello, "Control and detection of chemical reactions in microfluidic systems," *Nature*, vol. 442, no. 7101, pp. 394–402, 2006.
- [11] Y. Zhou and Q. Lin, "Microfluidic flow-free generation of chemical concentration gradients," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 190, pp. 334–341, 2014.

- [12] Nam-Trung Nguyen and Steven T. Wereley, *Fundamentals and Applications of Microfluidics*, 2nd ed., vol. 1. Artech House, 2006.
- [13] Dongqing Li, *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*. New York: Springer, 2008.
- [14] S. Sengupta, B. Ziaie, and V. H. Barocas, "Lag-after-pulsed-separation microfluidic flowmeter for biomacromolecular solutions," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 99, no. 1, pp. 25–29, 2004.
- [15] J. Collins and A. P. Lee, "Microfluidic flow transducer based on the measurement of electrical admittance," *Lab Chip*, vol. 4, no. 1, pp. 7–10, 2004.
- [16] R. C. Baker, *Flow Measurement Handbook*, vol. 12. 2000.
- [17] S. G. Kandlikar and W. J. Grande, "Evolution of Microchannel Flow Passages: Thermohydraulic Performance and Fabrication Technology," in *Technology and Society and Engineering Business Management*, 2002, vol. 2002, pp. 59–72.
- [18] N. G. Green, S. Tao, D. Holmes, and H. Morgan, "Impedance based flow sensor," 2005, vol. 5836, pp. 634–641.
- [19] C. Amatore, M. Belotti, Y. Chen, E. Roy, C. Sella, and L. Thouin, "Using electrochemical coupling between parallel microbands for in situ monitoring of flow rates in microfluidic channels," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 573, no. 2, pp. 333–343, 2004.
- [20] H. Wang and Y. Wang, "Measurement of water flow rate in microchannels based on the microfluidic particle image velocimetry," *Measurement*, vol. 42, no. 1, pp. 119–126, 2009.
- [21] Bela G. Liptak, *Instrument Engineers' Handbook, Fourth Edition, Volume One: Process Measurement and Analysis*, 4th ed. CRC Press, 2003.
- [22] S. Wu, Q. Lin, Y. Yuen, and Y. Tai, "MEMS flow sensors for nanofluidic applications," *Sensors And Actuators*, vol. 89, pp. 152–158, 2001.
- [23] "Elveflow." [Online]. Available: <http://www.elveflow.com/microfluidic-flow-control-products/microfluidic-flow-control-module/microfluidic-liquid-mass-flow-sensors/>. [Accessed: 20-Jan-2016].
- [24] "Sensirion." [Online]. Available: <https://www.sensirion.com/products/precise-liquid-flow-sensors-for-low-flow-rates/>. [Accessed: 20-Jan-2016].

- [25] Z. Li, S. Y. Mak, A. Sauret, and H. C. Shum, "Syringe-pump-induced fluctuation in all-aqueous microfluidic system implications for flow rate accuracy.," *Lab Chip*, pp. 744–749, 2014.
- [26] N. T. Nguyen, "Micromachined flow sensors - a review," *Flow Meas. Instrum.*, vol. 8, no. 1, pp. 7–16, 1997.
- [27] H. Yu, D. Li, R. C. Roberts, K. Xu, and N. C. Tien, "A time-of-flight flow sensor for the volume measurement of trace amount of interstitial fluid," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 22, no. 5, p. 55009, 2012.
- [28] V. Lien and F. Vollmer, "Microfluidic flow rate detection based on integrated optical fiber cantilever.," *Lab Chip*, vol. 7, no. 10, pp. 1352–1356, 2007.
- [29] A. Petropoulos and G. Kaltsas, "Study and evaluation of a PCB-MEMS liquid microflow sensor," *Sensors (Switzerland)*, vol. 10, no. 10, pp. 8981–9001, 2010.
- [30] C. Hoera, M. M. Skadell, S. A. Pfeiffer, M. Pahl, Z. Shu, E. Beckert, and D. Belder, "A chip-integrated highly variable thermal flow rate sensor," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 225, pp. 42–49, 2016.
- [31] A. Plecis, L. Malaquin, and Y. Chen, "A method for fast monitoring of flow rates in microfluidic channels," *J. Appl. Phys.*, vol. 104, no. 12, 2008.
- [32] A. Poghosian and T. Yoshinobu, "Flow-velocity Microsensors Based on Semiconductor Field- effect Structures," pp. 202–212, 2003.
- [33] M. Sullivan and S. Z. Hua, "Electrolytic-Bubble-Based Flow Sensor for Microfluidic Systems," *J. Microelectromechanical Syst.*, vol. 16, no. 5, pp. 1087–1094, 2007.
- [34] J. T. W. Kuo, L. Yu, and E. Meng, "Micromachined Thermal Flow Sensors—A Review," *Micromachines*, vol. 3, no. 4, pp. 550–573, 2012.
- [35] W. Song and D. Psaltis, "Optofluidic membrane interferometer: An imaging method for measuring microfluidic pressure and flow rate simultaneously on a chip," *Biomicrofluidics*, vol. 5, no. 4, 2011.
- [36] L. Schöler, B. Lange, K. Seibel, H. Schäfer, M. Walder, N. Friedrich, D. Ehrhardt, F. Schönfeld, G. Zech, and M. Böhm, "Monolithically integrated micro flow sensor for lab-on-chip applications," *Microelectron. Eng.*, vol. 78–79, no. 1–4, pp. 164–170, 2005.
- [37] E. Meng, P.-Y. Li, and Y.-C. Tai, "A biocompatible Parylene thermal flow sensing array," *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 144, no. 1, pp. 18–28, May 2008.

- [38] K. Petersen, J. Brown, and W. Renken, "HIGH-PRECISION, HIGH-PERFORMANCE MASS-FLOW SENSOR WITH INTEGRATED LAMINAR FLOW MICRO-CHANNELS.," 1985, pp. 361–363.
- [39] F. Kohl, A. Jachimowicz, J. Steurer, R. Glatz, J. Kuttner, D. Biacovský, F. Olcaytug, and G. Urban, "A micromachined flow sensor for liquid and gaseous fluids," *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 41, no. 1–3, pp. 293–299, 1994.
- [40] N. T. Nguyen and R. Kiehnscherf, "Low-cost silicon sensors for mass flow measurement of liquids and gases," *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 49, no. 1–2, pp. 17–20, Jun. 1995.
- [41] E. Meng, P. Y. Li, and Y. C. Tai, "A biocompatible Parylene thermal flow sensing array," *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 144, no. 1, pp. 18–28, 2008.
- [42] G. P. Patsis, A. Petropoulos, and G. Kaltsas, "Modelling and evaluation of a thermal microfluidic sensor fabricated on plastic substrate," *Microsyst. Technol.*, vol. 18, no. 3, pp. 359–364, 2012.
- [43] M. Dijkstra, "Low-drift micro flow sensors," 2009.
- [44] T. S. J. Lammerink, M. Elwenspoek, and J. H. J. Fluitman, "Integrated micro-liquid dosing system," [1993] *Proc. IEEE Micro Electro Mech. Syst.*, 1993.
- [45] N. T. Nguyen and W. Dötzel, "Asymmetrical locations of heaters and sensors relative to each other using heater arrays: a novel method for designing multi-range electrocaloric mass-flow sensors," *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 62, pp. 506–512, 1997.
- [46] M. Dijkstra, M. J. de Boer, J. W. Berenschot, T. S. J. Lammerink, R. J. Wiegerink, and M. Elwenspoek, "Miniaturized thermal flow sensor with planar-integrated sensor structures on semicircular surface channels," *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 143, no. 1, pp. 1–6, 2008.
- [47] D. E. Angelescu, J. Jundt, J. Durivault, T. Desbarbieux, and B. Mercier, "Stochastic time-of-flight flow rate measurement for microfluidic applications," *SPIE Microfluid. BioMEMS, Med. Microsystems V*, vol. 6465, p. 64650X–64650X–11, 2007.
- [48] C. Yang and H. Sørensen, "Monolithic flow sensor for measuring millilitre per minute liquid flow," *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 33, no. 3, pp. 143–153, 1992.
- [49] M. Ashauer, H. Glosch, F. Hedrich, N. Hey, H. Sandmaier, and W. Lang,

- “Thermal flow sensor for liquids and gases based on combinations of two principles,” *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 73, no. 1–2, pp. 7–13, 1999.
- [50] D. D. Meng and C.-J. C. J. Kim, “Micropumping of liquid by directional growth and selective venting of gas bubbles.,” *Lab Chip*, vol. 8, no. 6, pp. 958–68, 2008.
- [51] A. Rasmussen, C. Mavriplis, M. E. Zaghoul, O. Mikulchenko, and K. Mayaram, “Simulation and optimization of a microfluidic flow sensor,” vol. 88, 2001.
- [52] F. Ender, H. Santha, and V. Szekely, “Optimization of microfluidic flow sensors for different flow ranges by FEM simulation,” in *33rd International Spring Seminar on Electronics Technology, ISSE 2010*, 2010, pp. 308–313.
- [53] A. Petropoulos, D. N. Pagonis, and G. Kaltsas, “A multi-range PCB-MEMS microfluidic flow sensor with adjustable sensitivity,” *Procedia Eng.*, vol. 25, pp. 799–802, 2011.
- [54] Y. Weiping, L. Chong, L. Jianhua, M. Lingzhi, and N. Defang, “Thermal distribution microfluidic sensor based on silicon,” *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 108, no. 1–2 SPEC. ISS., pp. 943–946, 2005.
- [55] F. Mayer, M. R. Hornung, and R. S. Vanna, “Flow sensor US Patent 4,478,077 B2,” 2004.
- [56] V. Gass, B. H. der Schoot, N. F. De Rooij, B. H. van der Schoot, and N. F. De Rooij, “Nanofluid handling by micro-flow-sensor based on drag force measurements,” *Micro Electro Mech. Syst. 1993, MEMS’93, Proc. An Investig. Micro Struct. Sensors, Actuators, Mach. Syst. IEEE.*, pp. 167–172, 1993.
- [57] N. Noeth, S. S. Keller, and A. Boisen, “Fabrication of a cantilever-based microfluidic flow meter with nL min⁻¹ resolution,” *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 21, no. 1, p. 15007, Jan. 2011.
- [58] D. a. Czaplewski, B. R. Ilic, M. Zalalutdinov, W. L. Olbricht, A. T. Zehnder, H. G. Craighead, and T. a. Michalske, “A Micromechanical Flow Sensor for Microfluidic Applications,” *J. Microelectromechanical Syst.*, vol. 13, no. 4, pp. 576–585, Aug. 2004.
- [59] N. Noeth, S. S. Keller, and A. Boisen, “Integrated cantilever-based flow sensors with tunable sensitivity for in-line monitoring of flow fluctuations in microfluidic systems.,” *Sensors (Basel)*, vol. 14, no. 1, pp. 229–244, 2013.

- [60] M. Sadegh Cheri, H. Latifi, J. Sadeghi, M. Salehi Moghaddam, H. Shahraki, and H. Hajghassem, "Real-time measurement of flow rate in microfluidic devices using a cantilever-based optofluidic sensor," *Analyst*, vol. 139, no. 2, pp. 431–438, 2014.
- [61] M. A. Boillat, A. J. van der Wiel, A. C. Hoogerwerf, and N. F. de Rooij, "A differential pressure liquid flow sensor for flow regulation and dosing systems," *IEEE Int. Conf. MEMS*, pp. 350–352, 1995.
- [62] R. E. Oosterbroek, T. S. J. Lammerink, J. W. Berenschot, G. J. M. Krijnen, M. C. Elwenspoek, and A. Van Den Berg, "Micromachined pressure/flow-sensor," *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 77, no. 3, pp. 167–177, 1999.
- [63] A. Kuoni, R. L. Holzherr, M. Boillat, and N. F. De Rooij, "Polyimide membrane with ZnO piezoelectric thin film pressure transducers as a differential pressure liquid flow sensor," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 13, no. 4, pp. S103–S107, 2003.
- [64] J. Haneveld, T. S. J. Lammerink, M. J. de Boer, R. G. P. Sanders, a Mehendale, J. C. Lötters, M. Dijkstra, and R. J. Wiegerink, "Modeling, design, fabrication and characterization of a micro Coriolis mass flow sensor," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 20, no. 12, p. 125001, 2010.
- [65] W. Sparreboom, J. van de Geest, M. Katerberg, F. Postma, J. Haneveld, J. Groenesteijn, T. Lammerink, R. Wiegerink, and J. Lötters, "Compact mass flow meter based on a micro coriolis flow sensor," *Micromachines*, vol. 4, no. 1, pp. 22–33, 2013.
- [66] "Bronkhorst." [Online]. Available: http://www.bronkhorst.com/en/products/liquid_flow_meters___controllers/. [Accessed: 20-Jan-2016].
- [67] H. Yu, D. Li, R. C. Roberts, K. Xu, and N. C. Tien, "A micro PDMS flow sensor based on time-of-flight measurement for conductive liquid," *Microsyst. Technol.*, vol. 19, no. 7, pp. 989–994, 2013.
- [68] A. Richter, K. A. Hofmann, A. Plettner, and H. Sandmaier, "The electrohydrodynamic micro flow meter," in *TRANSDUCERS '91: 1991 International Conference on Solid-State Sensors and Actuators. Digest of Technical Papers*, 1991, pp. 935–938.
- [69] J. Wu and W. Sansen, "Electrochemical time of flight flow sensor," in *Sensors and Actuators, A: Physical*, 2002, vol. 97–98, pp. 68–74.

- [70] E. Kjeang, B. Roesch, J. McKechnie, D. A. Harrington, N. Djilali, and D. Sinton, "Integrated electrochemical velocimetry for microfluidic devices," *Microfluid. Nanofluidics*, vol. 3, no. 4, pp. 403–416, 2007.
- [71] R. Fu and D. Li, "Flow velocity measurement in microchannels using temperature-dependent fluorescent dye," *Microfluid. Nanofluidics*, vol. 3, no. 1, pp. 27–32, 2007.
- [72] S. J. Williams, C. Park, and S. T. Wereley, "Advances and applications on microfluidic velocimetry techniques," *Microfluid. Nanofluidics*, vol. ill, pp. 1–18, 2010.
- [73] S. Khodaparast, N. Borhani, G. Tagliabue, and J. Thome, "A micro particle shadow velocimetry (μ PSV) technique to measure flows in microchannels," *Exp. Fluids*, vol. 54, no. 2, pp. 1–13, 2013.
- [74] J. M. Lippmann and A. P. Pisano, "Bubble time-of-flight: A simple method for measuring microliter per minute flows without calibration," *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 177, pp. 60–66, 2012.
- [75] Z. Liu, M.-L. V. Tse, A. P. Zhang, and H.-Y. Tam, "Integrated microfluidic flowmeter based on a micro-FBG inscribed in Co²⁺-doped optical fiber," *Opt. Lett.*, vol. 39, no. 20, pp. 5877–5880, 2014.
- [76] T. M. Jr and H. Small, "Thermal pulse time-of-flight liquid flow meter," *Anal. Chem.*, no. 12, pp. 907–910, 1982.
- [77] H. Berthet, J. Jundt, J. Durivault, B. Mercier, and D. Angelescu, "Time-of-flight thermal flowrate sensor for lab-on-chip applications.," *Lab Chip*, vol. 11, no. 2, pp. 215–223, 2011.
- [78] J. Wu and J. Ye, "Micro flow sensor based on two closely spaced amperometric sensors.," *Lab Chip*, vol. 5, no. 12, pp. 1344–7, 2005.
- [79] C. Amatore, N. Da Mota, C. Sella, and L. Thouin, "Theory and experiments of transport at channel microband electrodes under laminar flow. 3. Electrochemical detection at electrode arrays under steady state," *Anal. Chem.*, vol. 82, no. 6, pp. 2434–2440, 2010.
- [80] T. M. Squires, R. J. Messinger, and S. R. Manalis, "Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors.," *Nat. Biotechnol.*, vol. 26, no. 4, pp. 417–426, 2008.
- [81] Pradipta Kumar Panigrahi, *TRANSPORT PHENOMENA IN MICROFLUIDIC SYSTEMS*. John Wiley & Sons, 2016.

- [82] T. Holm, S. Sunde, F. Seland, and D. A. Harrington, "A semianalytical method for simulating mass transport at channel electrodes," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 745, pp. 72–79, 2015.
- [83] E. L. Cussler, *Diffusion: Mass Transfer in Fluid Systems*, vol. Second. 1997.
- [84] T. M. Squires, "Microfluidics Fluid physics at the nanoliter.pdf," vol. 77, no. July, 2005.
- [85] N. Kockmann, *Transport Phenomena in Micro Process Engineering*. Springer Berlin Heidelberg, 2008.
- [86] J. J. Benítez, J. Topolancik, H. C. Tian, C. B. Wallin, D. R. Latulippe, K. Szeto, P. J. Murphy, B. R. Cipriany, S. L. Levy, P. D. Soloway, and H. G. Craighead, "Microfluidic extraction, stretching and analysis of human chromosomal DNA from single cells," *Lab Chip*, vol. 12, no. 22, p. 4848, 2012.
- [87] A. S. Cubukcu, D. F. R. Romero, and G. A. Urban, "A dynamic thermal flow sensor for simultaneous measurement of thermal conductivity and flow velocity of gases," *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 208, pp. 73–87, 2014.
- [88] D. M. F. Santos, C. A. C. Sequeira, and J. L. Figueiredo, "Hydrogen production by alkaline water electrolysis," *Quim. Nova*, vol. 36, no. 8, pp. 1176–1193, 2013.
- [89] R. Sabnis, *Handbook of Acid-Base Indicators*. CRC Press, 2007.
- [90] F. I. A. Hulanicki, S. Glab, "Chemical sensors: definitions and classification," *Pure Appl. Chem.*, vol. 63, no. 9, pp. 1247–1250, 1991.
- [91] A. Funfak, J. Cao, O. S. Wolfbeis, K. Martin, and J. M. Köhler, "Monitoring cell cultivation in microfluidic segments by optical pH sensing with a micro flow-through fluorometer using dye-doped polymer particles," pp. 279–286, 2009.
- [92] M. Wu, J. Lin, and J. Wang, "Development of high throughput optical sensor array for on-line pH monitoring in micro-scale cell culture environment," pp. 265–273, 2009.
- [93] V. M. C. Rrolle, C. F. A. Floquet, A. J. K. Harris, M. C. Mowlem, R. R. G. J. Bellerby, and E. P. Achterberg, "Development of a colorimetric microfluidic pH sensor for autonomous seawater measurements," *Anal. Chim. Acta*, vol. 786, pp. 124–131, 2013.

- [94] I. M. Perez De Vargas Sansalvador, C. D. Fay, J. Cleary, A. M. Nightingale, M. C. Mowlem, and D. Diamond, "Autonomous reagent-based microfluidic pH sensor platform," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 225, pp. 369–376, 2016.
- [95] E. B. Magnusson, S. Halldorsson, R. M. T. Fleming, and K. Leosson, "Real-time optical pH measurement in a standard microfluidic cell culture system.," *Biomed. Opt. Express*, vol. 4, no. 9, pp. 1749–58, 2013.
- [96] J. Sim, D. Kwon, and J. Kim, "RSC Advances Acid-sensitive pH sensor using electrolysis and a micro fluidic channel for read-out ampli fi cation," pp. 39634–39638, 2014.
- [97] R. Vilares, C. Hunter, I. Ugarte, I. Aranburu, J. Berganzo, J. Elizalde, and L. J. Fernandez, "Fabrication and testing of a SU-8 thermal flow sensor," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 147, no. 2, pp. 411–417, 2010.
- [98] C. K. M. Fung, M. L. Y. Sin, T. K. F. Lei, W. W. Y. Chow, K. W. C. Lai, W. J. Li, and A. I. V. Characterization, "Flow Rate Measurement Inside Polymer Microfluidic Systems Using Carbon Nanotube Sensors," pp. 541–544, 2005.
- [99] "Sparkfun Electronics." [Online] .Available: <https://www.sparkfun.com/products/8688>. [Accessed: 10-Dec-2015].
- [100] "Arduíno." [Online]. Available: <https://www.arduino.cc>. [Accessed: 15-Feb-2016].
- [101] "Harvard Apparatus." [Online]. Available: http://www.instechlabs.com/Support/manuals/HA11_Plus_manual.pdf. [Accessed: 05-Aug-2016].
- [102] R. Ahrens and K. Schlote-Holubek, "A micro flow sensor from a polymer for gases and liquids," *J. Micromechanics Microengineering*, vol. 19, no. 7, p. 74006, 2009.
- [103] T. S. J. Lammerink, N. R. Tas, M. Elwenspoek, and J. H. J. Fluitman, "Micro-liquid flow sensor," *Sensors Actuators A. Phys.*, vol. 37–38, no. C, pp. 45–50, 1993.
- [104] J. Branbjerg, O. S. Jensen, N. G. Laursen, O. Leistiko, and H. Soeberg, "A micromachined flow sensor for measuring small liquid flows," *TRANSDUCERS '91: 1991 International Conference on Solid-State Sensors and Actuators. Digest of Technical Papers*. pp. 41–44, 1991.

- [105] D. E. Angelescu, J. Jundt, J. Durivault, T. Desbarbieux, and B. Mercier, "Stochastic time-of-flight flow rate measurement for microfluidic applications" vol. 6465, p. 64650X–64650X–11, 2007.
- [106] N. Nguyen and T. Truong, "Flow Rate Measurement in Microfluidics Using Optical Sensors," *Aerosp. Eng.*, pp. 28–31, 2005.
- [107] Y. Li, G. Yan, L. Zhang, and S. He, "Microfluidic flowmeter based on micro sandwiched Fabry-Perot interferometer," *Opt. Express*, vol. 23, no. 7, pp. 9483–9493, 2015.
- [108] "Dolomite." [Online]. Available: http://www.dolomitemicrofluidics.com/webshop/sensors-flow-sensors-c-51_52. [Accessed: 20-Jan-2016].
- [109] S. H. Lee and J. C. Rasaiah, "Proton transfer and the mobilities of the H⁺ and OH⁻ ions from studies of a dissociating model for water," *J. Chem. Phys.*, vol. 135, no. 12, 2011.

ANEXOS

ANEXO I

(Tabelas contendo informações sobre os principais SMV relatados na literatura e sensores disponíveis comercialmente)

EXEMPLOS DE SMV APRESENTADOS NA LITERATURA E SUAS PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS

Princípios	Faixa (µL/min)	Resolução mínima (µL/min)	Referência	Dimensões Altura x Largura (µm)	Limitações gerais
Térmico					
Anemometria (AN)	0,02 - 0,7	0,04	[22] 2001	2 x 20	Aquecimento do fluido, fabricação complexa devido a necessidade de isolamento térmico, dependência das propriedades térmicas do fluido, necessita caracterização e calibração do SMV para cada fluido a ser utilizado.
	50 - 150	NR	[98] 2005	300 x 4000	
	3 - 167	10	[102] 2009	240 x 400	
Calorimetria (CL)	10 - 200	NR	[48] 1990	300 x 1500	
	~1 - 30	NR	[103] 1993	500 x 1000	
	1 - 20	~1	[45] 1997	330 x 1800	
	0,03 - 1	~0,01	[36] 2005	15 x 50	
	0,04 - 0,7	~0,05	[46] 2008	15 x 80	
Time-of-flight (TOF)	100 - 500	NR	[48] 1990	300 x 1500	
	50 - 500	NR	[104] 1991	300 x 1500	
	25 - 650	NR	[105] 2007	100 x 500	
Multimodo					
CL + TOF	1,5 - 36 36 - 1440	NR	[49] 1999	400 x 600	
CL + TOF + AN	0,5 - 20 5 - 30 10 - 400	1	[37] 2008	500 x 1000	
CL + AN	3 - 100 50 - 500	3	[29] 2010	60 x 2000	
Mecânico					
Deflexão de parte móvel (cantilever)					
Piezoresistor	5 - 500	~10	[56] 1993	NR	Peças móveis, fabricação complexa, perturbação no escoamento, limitado a fluidos não particulados, dependência da viscosidade e densidade do fluido.
Placa	2,1 - 41,7	~ 2	[58] 2004	30 x 200	
Fibra óptica (cantilever)	30 - 1500	~7	[28] 2007	250 x 1000	
Membrana com orifícios e refletor acoplado	10 - 20 0,01 - 100	0,03 0,06	[57] 2011 [59] 2013	NR NR	

Diferença de pressão					
Piezoresistores/ membranas (capacitores)	30 - 270	5	[62] 1999	21 x 340	Alta resistência hidráulica adicionada, dependência da viscosidade do fluido.
Bolhas/Resistência elétrica	0,4 - 1,9	NR	[33] 2007	22 x 25	
Membrana/interferência óptica	0,02 - 0,16	NR	[35] 2011	20 x 30	
Coriolis					
	0,01 - 16	NR	[65] 2013	NR	Fabricação complexa, possui peças moveis e difícil integração a sistemas microfluídicos
Eletroquímico					
Marcador O ₂ TOF	1 - 15	~1	[69] 2002	10 x NR	Dependência da composição química do fluido, elevado tempo de resposta, interferência elétrica entre sistema de geração e recepção do sinal.
Marcador H ⁺ TOF	100 - 600	~5	[32] 2003	500 x 2000	
Marcador Ru(NH ₃) ₆ ⁺³ TOF	0,3 - 7,8	~0,5	[19] 2004	17 x 420	
Marcador Ru(NH ₃) ₆ ⁺³ AN	6 - 300	~6	[70] 2007	100 x 1000	
Óptico					
Micro Velocimetria por imagem de partículas	0,15 -15 85 - 540	NR ~5	[31] 2008 [73] 2013	5 x 50 5 x 500	Necessidade de equipamentos auxiliares como microscópio, câmera, laser, etc, comprometendo a miniaturização e a integração com sistemas microfluídicos.
Deslocamento de fluido em capilares	16 -100	NR	[106] 2005	530	Determina apenas vazão média. Não permite monitoramento contínuo.
Elétrico					
Admitância	0,05 - 35	0,05	[15] 2004	500 x 500	Dependência da composição química do fluido.
Recentes (híbridos)					
Térmico AN + óptico	18 - 69	~5	[75] 2014	40	Fabricação complexa, alta necessidade de equipamentos auxiliares não integráveis a sistemas microfluídicos.
Térmico AN + óptico	6 - 66	~1	[107] 2014	500	
Térmico CL + óptico	0,01 - 500	0,01 - 32	[30] 2015	27 x 135	

~ Valores não especificados, mas estimados com base nos dados relatados na publicação.

NR – Não relatado

PRINCIPAIS MARCAS E MODELOS DE SMV DISPONÍVEIS COMERCIALMENTE

Marca	Modelo				
Sensirion [24]	LG16-0025	LG16-0150	LG16-0430	LG16-1000	LG16-2000
Faixa de vazão ($\mu\text{l}/\text{min}$)	0,01-1,5	0,1-7	1-80	10-1000	100-5000
Exatidão	10% vm	5% vm	5% vm	5% vm	5% vm
Repetitividade	<1% vm	0,5%	0,5 % vm	0,5% vm	0,5 % vm
Dolomite [108]	3200100	3200099	3200098	3200097	3200096
Faixa de vazão ($\mu\text{l}/\text{min}$)	0,07-1,5	0,4-7	1-50	30-1000	200 – 5000
Exatidão	10% vm	5% vm	5% vm	5% vm	5% vm
Repetitividade	NR	NR	NR	NR	NR
Elvenflow [23]	MF1	MF2	MF3	MF4	MF5
Faixa de vazão ($\mu\text{l}/\text{min}$)	0,07-1,5	0,4-7	2-80	40-1000	200-5000
Exatidão	10% vm	5% vm	5% vm	5% vm	5% vm
Repetitividade	NR	NR	NR	NR	NR
Bronkhorst [66]	μ -Flow series L01/L02	Liquid-Flow series		Liquid-Flow Mini LM02	mini CORI-FLOW
		L10	L20		ML120
Faixa de vazão ($\mu\text{l}/\text{min}$)	0,08 - 2	4,1 – 83	33- 1600	0,025 - 100	0,8 – 3300
Exatidão	2% FS	1% FS	1% FS	2% FS	0, 2% vm
Repetitividade	0,2 % FS	0,2 % FS	0,2 % FS	0,2 % FS	0,05% vm

vm - valor medido

FS - fundo de escala

ANEXO II

(Resultados para o teste de estabilidade em relação ao tempo de uso do SMV)

Conforme o tempo de uso dos dispositivos, segundo relatado na literatura, é possível haver variações na intensidade do pulso relacionada à eventuais processos de degradação dos componentes (eletrodos). Desta forma, foram realizados testes para avaliar a estabilidade do SMV em relação ao tempo de operação. Para tal, foi escolhido o dispositivo com altura de canal igual a $150 \mu m$ e largura igual a 3 mm (dispositivo 4), um tempo de pulso igual a 500 ms, intervalo entre os pulsos de 30 s, uma vazão imposta de $5 \mu l/min$ e um tempo total de teste igual a 20 minutos (ininterruptos). O resultado é apresentado na Figura 75.

Esse teste foi repetido em mais duas datas diferentes com intervalos de 7 dias. Não houve variações superiores a 1 mV na intensidade dos sinais detectados em todos os testes, indicando que os SMV desenvolvidos apresentam uma estabilidade satisfatória em relação ao tempo de operação. Além disso, foi realizada uma inspeção (com um microscópio óptico) ao final dos testes e nenhum dano visível nos eletrodos foi identificado.

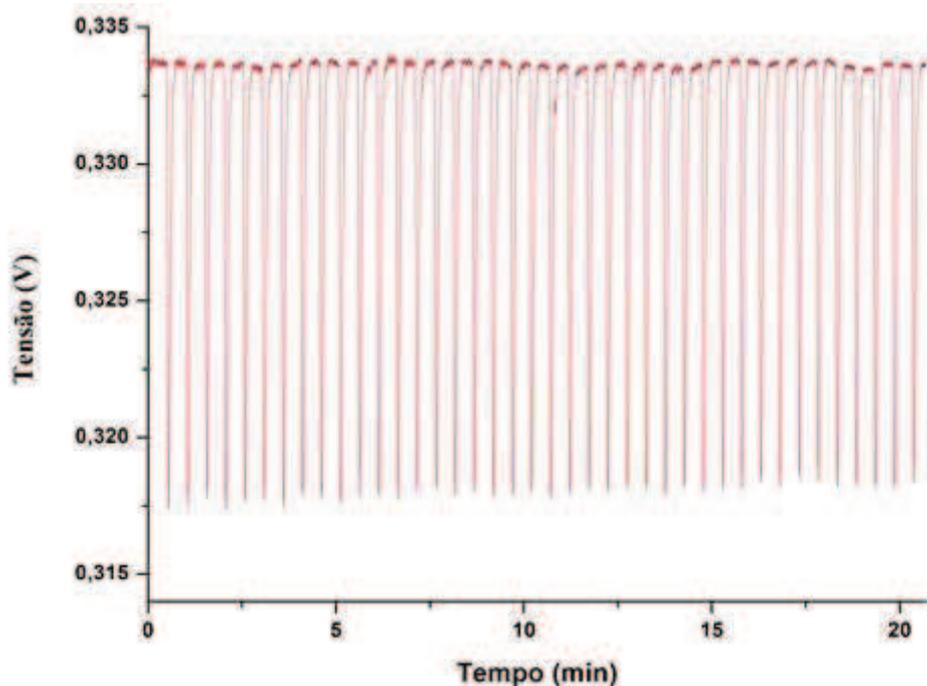


Figura 75 – Gráfico apresentando sucessivos sinais detectados pelo SMV no teste de estabilidade utilizando o dispositivo 4 com $t_p = 500 \text{ ms}$, $Dt = 30 \text{ s}$ e $Q = 5 \mu l/min$.

ANEXO III

(Análise da variação nas características do pulso de marcador para vazões próximas ao limite inferior)

A intensidade (amplitude) dos pulsos detectados pelo SMV não é considerada na medida de tempo de voo. Entretanto, observando a variação da intensidade do sinal é possível ter uma ideia dos efeitos difusivos na propagação do pulso de marcador ao longo do escoamento, contribuindo para a definição dos limites de operação do SMV.

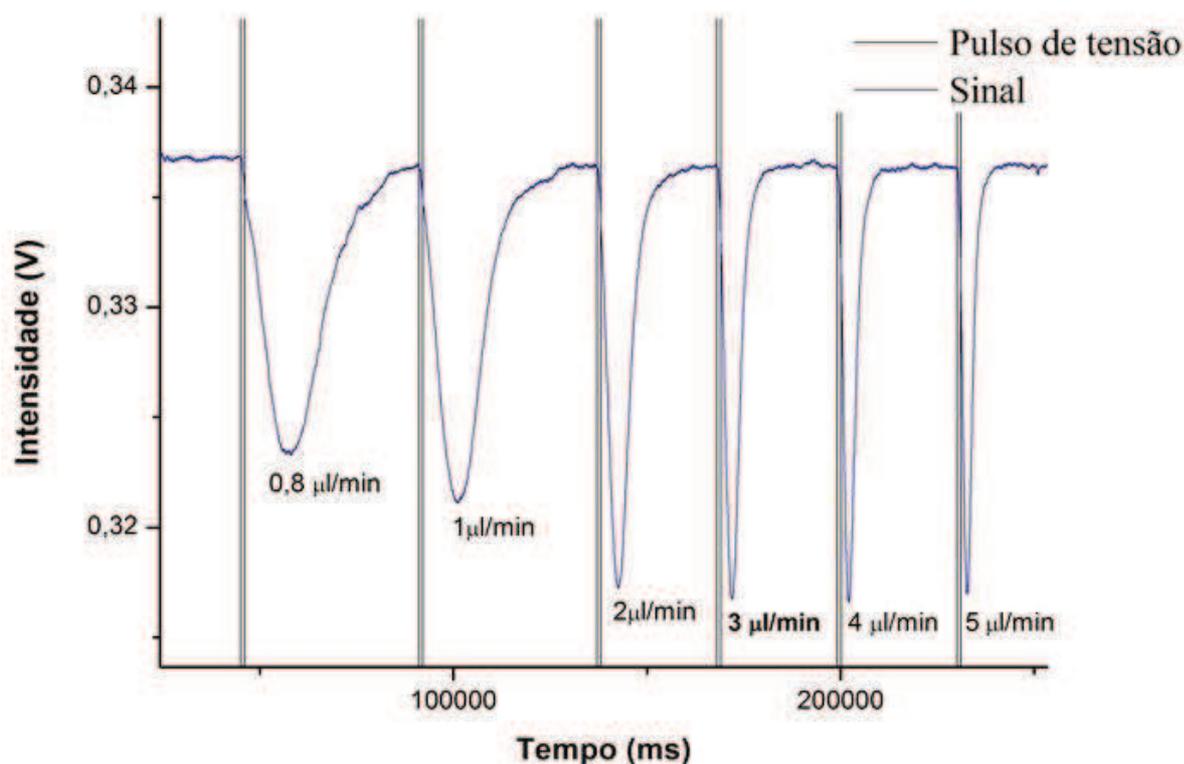


Figura 76 - Sinais registados pelo SMV para diferentes valores de vazão imposta. Neste teste foi utilizado o dispositivo 3 com um tempo de pulso igual a 1000 ms.

A Figura 76 apresenta alguns sinais detectados pelo SMV para diferentes valores de vazão. Neste caso, foi utilizado o dispositivo com canal de altura igual a 75 μm e largura igual a 3 mm (dispositivo 3), com um tempo de pulso igual a 1000 ms. Analisando a Figura 76, observou-se que para vazões superiores a 2 $\mu l/min$ os sinais não apresentam variações significativas na amplitude. Por outro lado, os sinais associados à vazões inferiores a 2 $\mu l/min$ apresentam variações perceptíveis. Esta redução na intensidade do sinal está relacionada aos efeitos da difusão do pulso de

marcador na direção do escoamento. Resultados similares foram obtidos para os outros dispositivos de mesma altura ($75 \mu m$). No entanto, os valores em que as variações na amplitude são perceptíveis foram diferentes, sendo $1,5 \mu l/min$ para o dispositivo com largura de canal igual a 2mm e $0,8 \mu l/min$ para o dispositivo com largura de canal igual a 1 mm. Os valores a partir dos quais a variação na amplitude dos sinais do pulso de marcadores tornam-se perceptíveis são compatíveis com os valores de limite de difusão (Q_{dif}) para a vazão, apresentados na Tabela 13.

ANEXO IV

(Parâmetros utilizados e detalhes a respeito da simulação realizada no Comsol Multiphysics)

Parâmetro*	Valor	Descrição
El	2 mm	Comprimento do eletrodo na direção x
Es	1,5 mm	Espaçamento entre os eletrodos
Cy	300 μm	Comprimento do canal na direção y
Cz	3 mm	Comprimento do canal na direção z
Sl	200 μm	Comprimento do sensor na direção y
Q	1 - 200 $\mu\text{L}/\text{min}$	Vazão imposta
C_init	$1 \cdot 10^{-7}$ mol/L	Concentração inicial de íons H^+ e OH^-
Ve	4,75 V	Amplitude do pulso de tensão
Dh	$9,31 \cdot 10^{-9}$ m^2/s [83]	Coefficiente de difusão do íon H^+
Doh	$2,12 \cdot 10^{-9}$ m^2/s [83]	Coefficiente de difusão do íon OH^-
Uh	$36,23 \cdot 10^{-8}$ $\text{m}^2/(\text{s} \cdot \text{V})$ [109]	Mobilidade do íon H^+
Uoh	$20,64 \cdot 10^{-8}$ $\text{m}^2/(\text{s} \cdot \text{V})$ [109]	Mobilidade do íon OH^-
sigma	122,8 $\mu\text{S}/\text{m}$	Condutividade do Eletrólito
i0	$1,5 \cdot 10^{-4}$ A/ m^2	Densidade de corrente de troca

*Os parâmetros que não apresentam referências foram obtidos experimentalmente ou estimados através de simulações.

Para a realização dessa simulação foram utilizadas três interfaces físicas no software *Comsol Multiphysics*:

- Escoamento de Stokes (Creeping Flow) - Utilizada para simular escoamento de fluidos com número de Reynolds muito baixos, para os quais o termo inercial na equação de Navier-Stokes pode ser ignorado. As equações resolvidas nessa interface são as equações de Stokes para a conservação do momento e a equação de continuidade para conservação da massa.
- Transporte de Espécies Diluídas - Utilizada para calcular o campo de concentração de um soluto diluído em um solvente. Os mecanismos de transporte podem ser a difusão pela Lei de Fick, advecção, quando acoplado a um campo de velocidades do fluido, e migração, quando acoplado a um campo elétrico.
- Distribuição de Corrente Secundária - Utilizada para modelagem de células eletroquímicas. Pode ser acoplada à interface de Transporte de

Espécies Diluídas para descrever distribuições de corrente dependentes da concentração. Nesta interface a Lei de Ohm é utilizada em combinação com um balanço de cargas para descrever a condução de correntes nos eletrodos e no eletrólito.

A simulação foi realizada utilizando o método de elementos finitos, conforme a malha que pode ser observada na Figura 77. Certas regiões da geometria tiveram o tamanho dos elementos refinados devido à física do problema e também devido ao estudo que foi realizado, são elas: a área do fluido próxima aos eletrodos (a), onde ocorrem as reações eletroquímicas e o consequente consumo e produção de espécies, as paredes do canal, onde a velocidade do fluido é próxima de zero, e a área de integração do sensor, onde desejamos realizar as medidas do pulso de concentração que se desloca pelo canal.

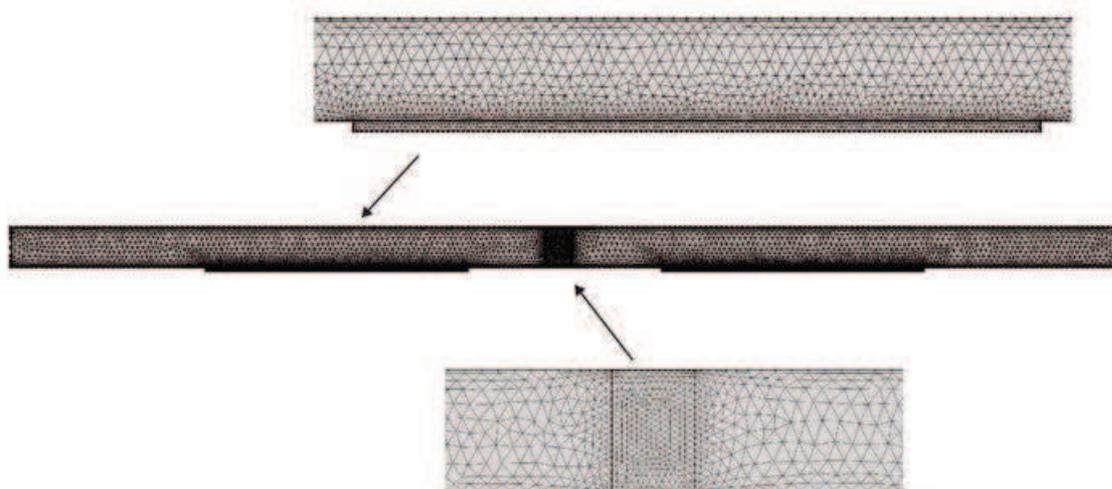


Figura 77 – Detalhes da malha utilizada na simulação.

A resolução do estudo foi separada em dois passos para otimizar os cálculos e reduzir os custos computacionais. Um primeiro passo estacionário calcula somente o campo de velocidades do fluido utilizando a interface de Fluxo de Stokes, que é seguido por um passo dependente do tempo, que calcula as físicas de Transporte de Espécies Diluídas e de Distribuição de Corrente Secundária de maneira acoplada, utilizando o resultado do campo de velocidades resolvido no passo estacionário. Tal desacoplamento entre as físicas é possível, pois a mudança na concentração das espécies químicas OH^- e H^+ devido às reações nos eletrodos, não gera alterações significativas na viscosidade do fluido, de maneira que o campo de velocidades é

independente das concentrações. A Figura 78 mostra o perfil de velocidade de escoamento do fluido no canal para uma vazão imposta de 30 $\mu\text{L}/\text{min}$ resolvido para o primeiro passo estacionário. O eletrodo à esquerda é o cátodo o eletrodo à direita é o ânodo, e a região entre as duas linhas verticais mais próximas do centro do canal é a área de medição do sensor óptico.

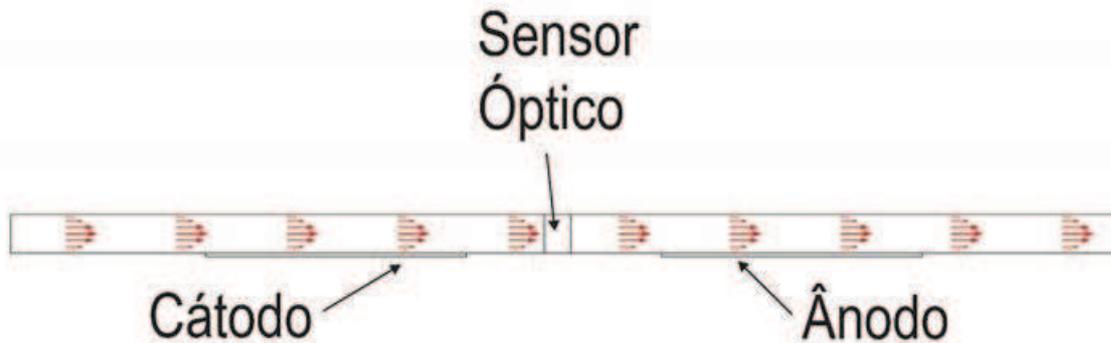


Figura 78 - Perfil de velocidade de escoamento do fluido em regime estacionário, para uma vazão imposta de 30 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Para resolver o estudo na condição dependente do tempo foi considerado que o cátodo se encontra aterrado, e que no ânodo é aplicado um pulso quadrado com amplitude $V_e = 4,75 \text{ V}$ entre 1 s e 2 s. Devido a problemas de convergência, após a aplicação do pulso não é mais possível retornar a tensão no ânodo para 0 V. Por isso foi considerado que a tensão no ânodo inicia em 0 V em $t = 0 \text{ s}$, vai a V_e em $t = 1 \text{ s}$ com uma função degrau suavizada e depois retorna para $1 \cdot 10^{-9} \text{ V}$ em $t = 2 \text{ s}$ com outra função degrau. A equação que define o pulso é dada por:

$$\text{Pulso} = \text{step1}(t[1/\text{s}]) * (t < 1.5[\text{s}]) + \text{step2}(t[1/\text{s}]) * (t \geq 1.5[\text{s}])$$

Onde:

$$\text{step1}(x) = \begin{cases} 0, & x < 1 \\ V_e, & x \geq 1 \end{cases}$$

$$\text{step2}(x) = \begin{cases} V_e, & x < 2 \\ 1 \cdot 10^{-9}, & x \geq 2 \end{cases}$$

A Figura 79 apresenta o gráfico do pulso de tensão em função do tempo de acordo com a equação anterior. Este pulso de tensão utilizado na simulação é muito semelhante ao pulso aplicado nos dispositivos construídos.

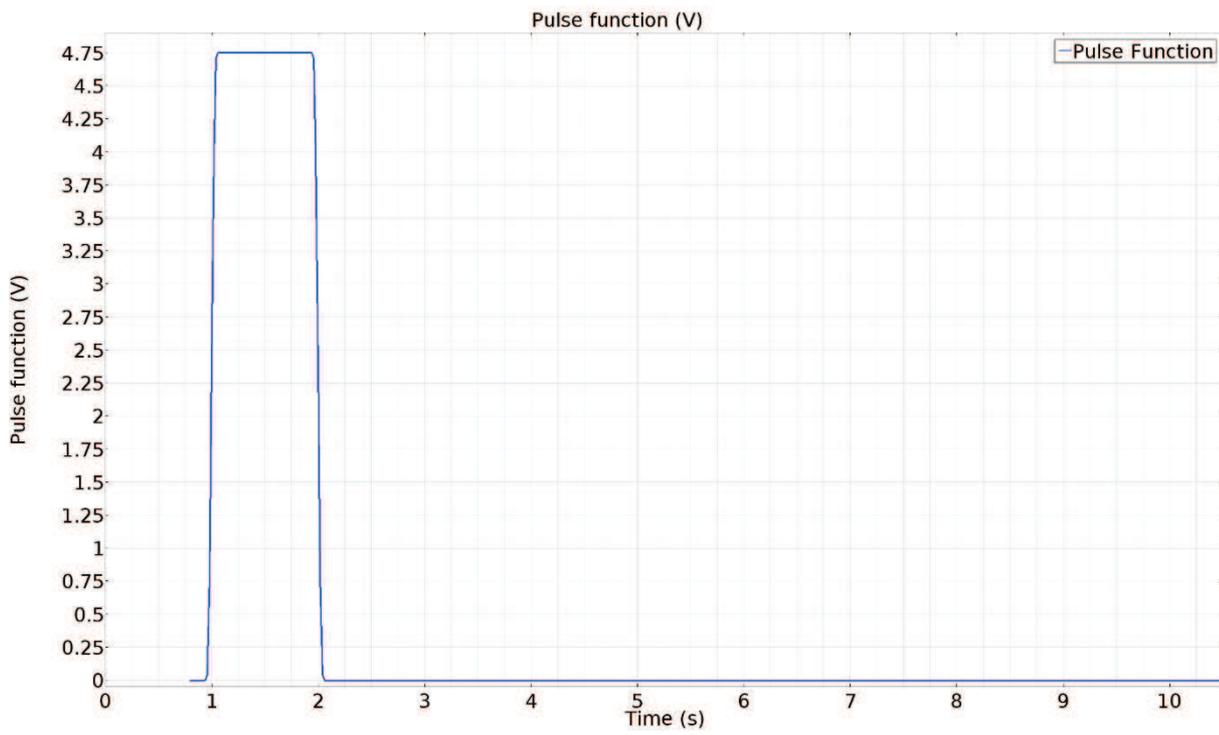


Figura 79 – Forma do pulso de tensão utilizado na simulação.