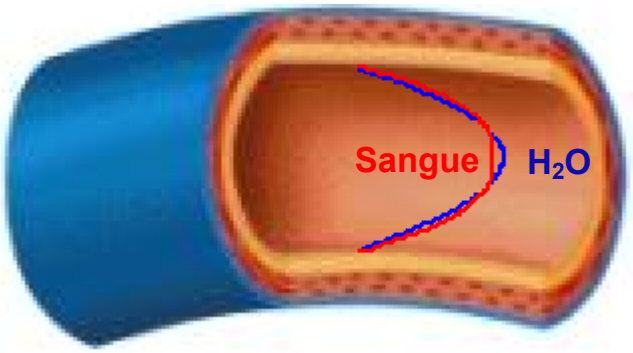
INSTITUTO SUPERIOR TÉCNICO
Universidade Técnica de Lisboa



Caracterização experimental de escoamentos de simuladores de sangue em microdispositivos de plataformas analíticas com recurso à técnica micro-PIV

André Filipe Nobre Alves da Silva

Dissertação para a obtenção do Grau de Mestre em

Engenharia Mecânica

Júri

Presidente: Prof. Doutor Luís Rego da Cunha de Eça

Orientador: Prof. Doutor Viriato Sérgio de Almeida Semião

Vogal: Prof. Doutor António Luís Nobre Moreira

Outubro de 2009

Agradecimentos

Expresso o meu sincero agradecimento ao Prof. Viriato Semião pela orientação desta dissertação, pelo apoio, dedicação e disponibilidade demonstrados durante o decurso desta e por ter proporcionado todas as condições e integração num excelente ambiente de trabalho.

Gostaria de manifestar a minha sincera gratidão ao aluno de doutoramento Gonçalo Silva pelo acompanhamento, apoio, paciência e boa-disposição em todas as fases de desenvolvimento da tese.

Um agradecimento também às alunas de doutoramento Mónica Faria, pela ajuda na pesquisa soluções para simuladores de sangue, e Vânia Silvério, pela ajuda na fase experimental e pelo material fornecido.

Um muito obrigado pela disponibilização de material e colaboração por parte do Prof. António Moreira, do Prof. Toste de Azevedo, do Prof. Vítor Geraldes, do Dr. Rui Neto e do aluno de mestrado Miguel Teixeira.

A todos os meus colegas de faculdade, agradeço, por todo o apoio dado ao longo destes últimos cinco anos da minha vida, pelas horas de trabalho mas também por todos os momentos de divertimento e de companheirismo.

A todos os meus verdadeiros amigos, que não enumerarei com medo de me esquecer de algum por lapso, deixo aqui aquele enorme abraço por tudo aquilo que nos une.

Uma palavra muito especial ao meu grande amigo Duarte Santos que faleceu durante a elaboração desta tese e sem a amizade do qual eu nunca seria a pessoa que sou hoje.

Na conclusão de mais uma importante tarefa a nível pessoal, tenho de agradecer aos meus pais e à minha avó materna pelo apoio incondicional transmitido em todas as fases da minha vida. Quero lhes agradecer principalmente o facto de não serem apenas família, mas amigos que estarão sempre presentes nos momentos mais importantes da minha vida.

Por fim, um agradecimento à Fundação para a Ciência e Tecnologia, pelo apoio financeiro através de uma bolsa de iniciação à investigação no âmbito do projecto PTDC/EME–MFE/64566/2006.

Resumo

O presente trabalho tem como principal objectivo a caracterização cinemática do escoamento de fluidos newtonianos, com diferentes viscosidades, e de simuladores de sangue não-newtonianos, com reologia pseudoplástica, no interior de microcanais característicos das plataformas *Lab-on-a-Chip* e *Lab-on-a-CD*. Para tal, recorreu-se à técnica de visualização micro-PIV medindo-se perfis de velocidade dos escoamentos, tendo estes sido comparados entre si, com soluções analíticas, quando existentes, e contrapostos com dados recolhidos da literatura.

De modo a caracterizar as soluções preparadas, cujo comportamento deve ser semelhante ao do sangue, recorreu-se a um viscosímetro. Foi também realizada a verificação e calibração das microbombas utilizadas no circuito microfluídico, garantindo o seu bom funcionamento para todas as viscosidades e reologias em estudo.

Da aplicação da técnica experimental micro-PIV num microcanal recto (escoamento laminar desenvolvido), concluiu-se que os fluidos newtonianos desenvolvem um perfil de velocidades parabólico, resultado em consonância com a solução analítica. No caso dos simuladores de sangue não-newtonianos, verificou-se a existência de um achatamento na zona central do perfil de velocidades, diminuindo este com o aumento do caudal e da taxa de deformação. O estudo do escoamento numa expansão (escoamento em desenvolvimento) mostrou, para baixos caudais, perfis de velocidades semelhantes nos fluidos newtonianos e um achatamento central do perfil para os simuladores de sangue não-newtonianos. Para os perfis de velocidade de caudais elevados verificou-se a existência de pontos de inflexão, a predominância da convecção sobre a difusão na transferência da quantidade de movimento e a influência dos gradientes de pressão adversos.

Palavras-chave: micro-PIV, micro-escoamento, simulador de sangue, fluido não-newtoniano.

Abstract

The current work aims at the experimental characterization of the kinematic properties of both newtonian and non-newtonian blood analogs microfluidic flows. The micro-PIV experimental technique was used to obtain two-dimensional velocity information of microscopic flow fields. To study the effects of the rheological properties of the fluid on the flow behavior, the measured velocity data were compared against each other, against hydrodynamic analytical solutions, or when such solutions were not available, against other experimental data present in the literature, providing further insight into the influence of the rheological structure of the fluid on the flow.

In order to obtain prepared solutions with rheological properties similar to those of blood, a parallel disk viscometer was used.

The results provided by the micro-PIV study revealed that for newtonian microfluidic flows the velocity profiles were always in good agreement with those predicted by the macroscale hydrodynamic solutions. The velocity profiles obtained for the non-newtonian fluids, compared against the newtonian ones, were flattener in the central region, showing however a flattening decrease with increasing volumetric flow rate. The same study conducted over an expansion geometry revealed that the velocity profiles for newtonian fluids, were similar for low flow rate values. For the non-newtonian fluid it was observed a flattening in the centre of the velocity profile. However, when considering high volumetric flow rates, it was observed that the existence of inflection points on the velocity profile and the effect of the convective momentum transfer mechanism dominating over molecular diffusion.

Keywords: micro-PIV, micro flow, blood analogs, non-newtonian fluids.

Lista de abreviaturas e símbolos

Abreviaturas:

CCD	Charge Coupled Device
CFD	Computational Fluid Dynamics
MEMS	Micro-Electro-Mechanical Systems
PDMS	Poly Dimethyl Siloxane
PIV	Particle Image Velocimetry
PMMA	Poly Methyl Methacrylate

Símbolos romanos:

A	área
d_e	dimensão efectiva de uma imagem adquirida
d_p	dimensão real do objecto a medir
D_h	diâmetro hidráulico
h	altura do canal
L	comprimento do canal
P	perímetro
Q	caudal
r	direcção radial
R	raio
Re	número de Reynolds
t	tempo
T	binário
$\bar{u}$	velocidade média
u	velocidade longitudinal
v_r	velocidade radial
v_θ	velocidade circunferencial
v_z	velocidade axial
V	volume
w	largura do canal
x	direcção longitudinal
y	direcção transversal
z	direcção vertical

Símbolos gregos:

Δp	diferencial de pressão
ΔF	força requerida à bomba
ϕ	função de correlação
$\dot{\gamma}^*$	taxa de deformação
μ	viscosidade dinâmica
η	viscosidade aparente
θ	direcção circunferencial
ν	viscosidade cinemática
ρ	massa volúmica
τ	tensão de corte

Índice

Agradecimentos i
Resumo ii
Abstract iii
Lista de abreviaturas e símbolos iv
Índice v
Lista de figuras vii
Lista de tabelas ix
Capítulo 1 Introdução 1
1.1 Âmbito do trabalho 1
1.2 Revisão bibliográfica 3
1.2.1 Caracterização de escoamentos à micro-escala com base em propriedades médias globais e com recurso à técnica micro-PIV 3
1.2.2 Propriedades do sangue e do seu escoamento 4
1.2.3 Caracterização de escoamentos de sangue e seus simuladores reológicos à micro-escala com recurso à técnica micro-PIV 10
1.3 Contribuições do trabalho 14
1.4 Estrutura da dissertação 16
Capítulo 2 Experimental 17
2.1 Princípios e particularidades da técnica experimental micro-PIV 17
2.2 Instalação experimental 19
2.2.1 Sistema de iluminação 20
2.2.2 Sistema óptico 21
2.2.3 Componentes microfluídicos 22
2.2.3.1 Microcanais 22
2.2.3.2 Partículas traçadoras 23
2.2.4 Sistema de sincronização 24
2.2.5 Microbomba 24
2.2.6 Algoritmos de correlação e validação 25
2.3 Procedimento experimental 28
2.3.1 Preparação dos fluidos estudados 28
2.3.2 Caracterização dos fluidos estudados 29
2.3.3 Verificação e calibração das microbombas 31
2.3.4 Micro-PIV 34

2.4 Erros associados aos procedimentos aplicados 37
2.4.1 Erros associados à verificação das microbombas 37
2.4.2 Erros associados à técnica micro-PIV 38
Capítulo 3 Apresentação e discussão de resultados dos resultados 39
3.1 Caracterização dos fluidos estudados 39
3.2 Caracterização dos escoamentos dos fluidos estudados com recurso à técnica micro-PIV 45
3.2.1 Resultados experimentais dos escoamentos de fluidos newtonianos em microcanais rectos…… 45
3.2.2 Resultados experimentais do escoamento de simuladores de sangue em microcanais rectos……. 51
3.2.3 Resultados experimentais do escoamento de fluidos newtonianos numa expansão horizonta.l 57
3.2.4 Resultados experimentais do escoamento de simuladores não-newtonianos numa expansão horizontal 66
Capítulo 4 Conclusões e trabalho futuro 69
4.1 Síntese Conclusiva 69
4.2 Sugestão de trabalho futuro 70
Referências 72
Anexo 1 - Resultados da verificação e calibração das microbombas I
Anexo 2 - Modelos matemáticos de simulação reológica do sangue II

Lista de figuras

Figura 1.1 – Comportamento reológio de diferentes tipos de fluido e sua classificação. 5
Figura 1.2 - Esquema de um fluido dilatante: (a) em repouso; (b) em movimento sob acção de tensões de corte. 5
Figura 1.3 - Comportamento da viscosidade aparente de um fluido pseudoplástico com a variação da taxa de deformação. 6
Figura 1.4 - Variação da visco-elasticidade do sangue humano com a taxa de deformação, a 2Hz e 22ºC. 8
Figura 1.5 - Variação da viscosidade aparente do sangue com a percentagem de eritrócitos. 9
Figura 1.6 - Variação da visco-elasticidade do sangue humano com a taxa de deformação por diluição da percentagem de eritrócitos de 46% para 31% por adição de três diferentes soluções, traduzindo-se na diluição do plasma original em 50%. 9

Figura 2.1 – Esquema da instalação experimental com a técnica micro-PIV utilizada..... 17
Figura 2.2 – Diferença de iluminação do escoamento (a) Técnica PIV; (b) Técnica micro-PIV. 19
Figura 2.3 - Instalação experimental utilizada. 20
Figura 2.4 - (a) Corpo do laser; (b) Cabeça do laser. 20
Figura 2.5 - Identificação dos *chips* com os microcanais em estudo; *Chip* R1 – microcanais rectos A e B; *Chip* R2 – microcanal Recto A; *Chip* S1 – microcanal com expansão C. 22
Figura 2.6 – Definição de eixos dos microcanais em estudo. 23
Figura 2.7 - Identificação das dimensões características dos microcanais utilizados. 23
Figura 2.8 – Microbombas utilizadas(a) Microbomba *New Era Pump Systems Inc.*, modelo NE-1000; (b) Microbomba *Chemyx Syringe Pump Company*, modelo Nexus 5000. 24
Figura 2.9 – Aplicação da *average-correlation*. (a) Resultado da *average-correlation* para um par de imagens; (b) Resultado da *average-correlation* para 101 pares de imagens. 26
Figura 2.10 - Viscosímetro *Brookfield Engineering*, modelo *DVII+PRO*®. 29
Figura 2.11 – Exemplo de resultados da caracterização dos simuladores de sangue no *software Rheocalc*®. 30
Figura 2.12 - Caudais debitados pelas microbombas: 18 caudais impostos para cada fluido, (a) fluido Agua_Pura, (b) fluido Sol_Agua_Glic20,8, (c) fluido Sol_Agua_Glic41, (d) fluido Sol_Agua_Glic52, (e) fluido Sol_Agua_Xant0,025, (f) Sol_Agua_Glic35_Xant0,02. 32
Figura 2.13 – Variação da força requisitada à microbomba com a viscosidade para diferentes caudais; (a) Caudal de 50 µl/minuto; (b) Caudal de 100 µl/minuto; (c) Caudal de 200 µl/minuto; (d) Caudal de 1000 µl/minuto. 34
Figura 2.14 – Campo de vectores resultante da aplicação do processamento dos dados adquiridos num ensaio. 36

Figura 3.1 – Representação esquemática do funcionamento do viscosímetro. 39
Figura 3.2 – Variação da viscosidade dos fluidos newtonianos com a taxa de deformação..... 41
Figura 3.3 – Variação de viscosidade de simuladores de sangue não-newtonianos com a taxa de deformação. 42
Figura 3.4 - Variação da tensão de corte de fluidos newtonianos com a taxa de deformação. 43
Figura 3.5 - Variação da tensão de corte de simuladores de sangue não-newtonianos com a taxa de deformação. 44
Figura 3.6 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 100 µl/minuto. 47

Figura 3.7 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 1000 µl/minuto. 48
Figura 3.8 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 50 µl/minuto. 49
Figura 3.9 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 200 µl/minuto. 49
Figura 3.10 – (a) Campo de velocidades tridimensional; (b) Vista lateral do campo de velocidades. . 51
Figura 3.11 – Perfis de velocidade adimensionais dos simuladores em estudo para um escoamento num microcanal de secção circular. 52
Figura 3.12 - Perfis de velocidade de simuladores de sangue não-newtonianos para um caudal de 50 µl/minuto. 53
Figura 3.13 - Perfis de velocidade de simuladores de sangue não-newtonianos para um caudal de 100 µl/minuto. 54
Figura 3.14 - Perfis de velocidade de simuladores de sangue não-newtonianos para um caudal de 200 µl/minuto. 55
Figura 3.15 - Perfis de velocidade de simuladores de sangue não-newtonianos para um caudal de 1000 µl/minuto. 55
Figura 3.16 – Expansão e planos em estudo. 58
Figura 3.17 – Perfis de velocidade do fluido newtoniano Agua_Pura em diferentes planos da expansão em estudo para um caudal de 1000 µl/minuto. 58
Figura 3.18 - Perfis de velocidade de simuladores de sangue newtonianos para um caudal de 100 µl/minuto numa expansão no plano A. 59
Figura 3.19 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 100 µl/minuto numa expansão no plano B. 60
Figura 3.20 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 100 µl/minuto numa expansão no plano C. 61
Figura 3.21 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 1000 µl/minuto numa expansão no plano C. 62
Figura 3.22 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 1000 µl/minuto numa expansão no plano D. 63
Figura 3.23 – Campo de vectores na expansão em estudo para o fluido Agua_Pura com um caudal de 100 µl/minuto. Vector de referência: 30 mm/s. 63
Figura 3.24 - Campo de vectores na expansão em estudo para o fluido Sol_Agua_Glic41 com um caudal de 100 µl/minuto. Vector de referência: 30 mm/s. 64
Figura 3.25 - Campo de vectores na expansão em estudo para o fluido Agua_Pura com um caudal de 1000 µl/minuto. Vector de referência: 300 mm/s. 65
Figura 3.26 - Campo de vectores na expansão em estudo para o fluido Sol_Agua_Glic41 com um caudal de 1000 µl/minuto. Vector de referência: 300 mm/s. 65
Figura 3.27 – Comparação de perfis de velocidade de um fluido newtoniano e um simulador de sangue não-newtoniano para um caudal de 100 µl/minuto no plano B da expansão em estudo. 66
Figura 3.28 - Comparação de perfis de velocidade de um fluido newtoniano e um simulador de sangue não-newtoniano para um caudal de 100 µl/minuto no plano C da expansão em estudo. 67
Figura 3.29 - Comparação de perfis de velocidade de um fluido newtoniano e um simulador de sangue não-newtoniano para um caudal de 1000 µl/minuto no plano C da expansão em estudo. 67
Figura 3.30 - Comparação de perfis de velocidade de um fluido newtoniano e um simulador de sangue não-newtoniano para um caudal de 1000 µl/minuto no plano D da expansão em estudo. 68

Lista de tabelas

Tabela 1.1 – Dimensões e concentrações dos principais constituintes do sangue 7

Tabela 2.1 – Características técnicas do sistema de iluminação laser. 21
Tabela 2.2 – Características técnicas do conjunto de objectivas. 21
Tabela 2.3 – Características técnicas da câmara CCD. 22
Tabela 2.4 – Características das microbombas utilizadas. 24
Tabela 2.5 – Soluções utilizadas nos ensaios experimentais com a técnica micro-PIV (percentagens em massa). 28
Tabela 2.6 – Concentração de partículas traçadoras para os simuladores de sangue em estudo. 29
Tabela 2.7 - Procedimento de caracterização dos simuladores de sangue. 30

Tabela 3.1 – Cálculo do número de Reynolds dos escoamentos dos fluidos newtonianos em estudo. 50
Tabela 3.2 – Cálculo do achatamento do perfil de velocidades. 56
Tabela 3.3 - Cálculo do número de Reynolds dos escoamentos dos simuladores de sangue em estudo. 57
Tabela 3.4 – Características geométricas dos planos em estudo na expansão. 58

Capítulo 1

Introdução

1.1 Âmbito do trabalho

A tendência da evolução tecnológica registada ao longo das últimas décadas, que está relatada na mais recente literatura e que tem registo nas aplicações práticas a que recorremos no dia-a-dia, materializa-se na alteração de estruturas, componentes, procedimentos e hábitos. Uma das suas vertentes regista a miniaturização de um vasto leque de sistemas (electrónicos, mecânicos, térmicos, fluídicos, entre outros). Seguindo esta corrente, a mecânica dos fluidos desenvolve actualmente um ramo com o objectivo específico de compreender o comportamento dos fluidos à escala microscópica, tendo surgido inúmeros estudos visando a compreensão dos fenómenos microfluídicos em escoamentos em canais com dimensão característica compreendida entre 1 e 1000 μm [1].

Na literatura relacionada com a miniaturização de sistemas, existem duas terminologias decorrentes da utilização do sintagma micro. Em sentido mais estrito, *e.g.*, microcanal, refere componentes com dimensões submilimétricas. Porém, quando utilizado em sentido mais lato, *e.g.*, microfabricação [2], reporta à utilização de ferramentas desenvolvidas pela indústria electrónica, que foram expandidas para outros campos de aplicação, como são exemplos os MEMS (*Micro-Electro-Mechanical Systems*).

Estes sistemas utilizam novos materiais, processos ou técnicas de fabrico, criando-se novas soluções para diferentes ramos da ciência como a electrónica, a biotecnologia ou a medicina [3].

Na área da microfluídica, uma das importantes aplicações é o estudo de sistemas associados a análises clínicas, com uma série de benefícios incontornáveis em termos da melhoria da qualidade de vida e da simplificação de processos [4]. É o caso das plataformas *Lab-on-a-Chip* e *Lab-on-a-CD*, que são sistemas microfluídicos integrados e consistem numa série de componentes agrupados em sequência determinada numa dessas plataformas, onde se efectuam escoamentos de muito pequenas quantidades de fluidos para o estudo da sua constituição e análise.

Os microcomponentes presentes nestes sistemas (canais rectos, curvas, válvulas, bifurcações, zonas de detecção, depósitos, entre outros) podem ser fabricados em diferentes materiais (vidro, silicone, metal, polímeros, entre outros) apresentando como principais características uma elevada razão superfície/volume e o requisito de pequenos volumes de reagentes e amostras, o que lhes confere um excelente desempenho e elevada fiabilidade. O fluido (água ou matéria biológica

como ADN ou sangue) é introduzido e transportado por acção de uma força externa, executando um circuito específico para mistura e análise. Os escoamentos nestes sistemas ocorrem a baixas velocidades em regime laminar [3].

Devido à sua relevância, um dos fluidos que mais tem sido alvo de estudo e simulação é o sangue. O sangue é um fluido complexo, constituído predominantemente por plasma, no qual se encontram em suspensão partículas como plaquetas, leucócitos (glóbulos brancos) e eritrócitos (glóbulos vermelhos). As partículas que se encontram em maior quantidade no sangue são os eritrócitos (98%), desempenhando estes um papel fundamental na definição do comportamento físico do sangue, diferenciado com os valores de tensão de corte. É a presença e comportamento destes componentes que faz do sangue um fluido não-newtoniano, ou seja, um fluido cuja viscosidade varia com a taxa de deformação. As variações na resistência do escoamento do sangue estão relacionadas com a tendência dos eritrócitos em se agregar ou desagregar, explicando em parte a redução ou aumento das tensões de corte [5]. Outros fenómenos que fazem variar a viscosidade do sangue são as resistências criadas ao escoamento do plasma por parte da camada de células endoteliais ou pelas irregularidades dos vasos sanguíneos [6], pelo efeito de Fåhraeus–Lindqvist que está relacionado com o alinhamento das células no escoamento [7] e pelo efeito de Fåhraeus que se relaciona com a diminuição dinâmica da quantidade de eritrócitos bem como o papel da sedimentação em veias pequenas [5 – 8].

No desenvolvimento do trabalho experimental decidiu-se não recorrer a sangue mas sim a um simulador que permitisse modelar as principais características reológicas e propriedades daquele fluido, como a viscosidade e a massa volúmica. Desenvolveu-se então uma solução constituída por água, glicerina e goma *xanthan*.

A caracterização de micro-escoamentos baseada nas suas propriedades médias globais, especialmente para fluidos newtonianos, como a água, tem sido alvo de vários estudos [9, 10]. Porém, a ausência de consenso sobre a origem de alguns fenómenos observados suscitou o desenvolvimento de técnicas mais avançadas, como a técnica micro-PIV (micro *Particle Image Velocimetry)*. A sua aplicação para caracterização de escoamentos de fluidos newtonianos e não-newtonianos providenciou informações bastante importantes no que se refere aos perfis de velocidade e aos factores que os influenciam [11 – 13].

De modo a tentar interpretar-se os resultados experimentais, compreendendo o comportamento dos fluidos em situações complexas, surgiram trabalhos em que a análise recorre a métodos numéricos [14, 15].

É no âmbito da caracterização do escoamento do sangue em microcomponentes de *Lab-on-a-CD* ou *Lab-on-a-Chip* que se insere o presente trabalho. Pretende-se, com o esforço de investigação que suportou o presente trabalho, quantificar experimentalmente, recorrendo à técnica micro-PIV, o escoamento em microcomponentes típicos das plataformas supracitadas de fluidos newtonianos e não-newtonianos, que possam, de alguma forma, ser simuladores do sangue ou que são fluidos de referência.

1.2 Revisão bibliográfica

A revisão bibliográfica elaborada, que aqui se sintetiza, encontra-se dividida em três secções. A primeira reporta os primeiros estudos efectuados sobre escoamentos que basearam as suas análises nas propriedades médias globais dos escoamentos bem como aqueles que adoptaram técnicas mais avançadas de caracterização cinemática de escoamentos como a técnica micro-PIV. Na secção seguinte são descritas as propriedades do sangue e do seu escoamento, atendendo aos trabalhos experimentais com recurso a diferentes técnicas de caracterização. A última secção relata os trabalhos efectuados com recurso a métodos avançados de visualização e análise de escoamentos de fluidos newtonianos e não-newtonianos, particularmente do sangue e seus simuladores.

1.2.1 Caracterização de escoamentos à micro-escala com base em propriedades médias globais e com recurso à técnica micro-PIV

Com a emergente necessidade de compreensão dos fenómenos regentes dos escoamentos à micro-escala, visando aperfeiçoar e proliferar a evolução das tecnologias de equipamentos como os MEMS, foi necessário recorrer a novos métodos de medição e visualização dos escoamentos.

Um dos primeiros trabalhos desenvolvido nesta área [9], estudou experimentalmente o escoamento de água em microcanais de secção recta circular com diâmetros entre 50 μm e 254 μm e de diferentes materiais (aço inoxidável e sílica fundida), através da medição de quedas de pressão. Os resultados obtidos indicaram que o gradiente de pressão necessário para a ocorrência de escoamento é superior ao previsto pela teoria convencional, sendo a diferença entre resultados experimentais e teóricos mais acentuada para maiores números de Reynolds e para menores dimensões do microcanal. Os autores do estudo apresentaram como possível explicação para os fenómenos registados a diminuição do número de Reynolds de transição para regime turbulento ou os efeitos superficiais criados pela rugosidade relativa da parede. Uma série de estudos que se lhe seguiram reforçaram a ideia de que, quanto menor as dimensões do canal, maiores as discrepâncias entre os valores teóricos e os obtidos experimentalmente [10, 16].

O estudo de revisão de Hetsroni, *et al.* [17] repetiu algumas condições de ensaio experimental de outros investigadores, tendo obtido resultados semelhantes aos previstos pela teoria macroscópica para regime laminar. Outros autores obtiveram resultados que os levaram a rejeitar a hipótese de transição precoce para regime turbulento, alertando para os efeitos da região de entrada na queda de pressão, factor que deveria ser considerado para canais com pequena relação comprimento/diâmetro [18].

A necessidade de aprofundar o conhecimento nesta área levou ao desenvolvimento de novas técnicas para determinação das propriedades dos escoamentos. A evolução centrou-se então na adaptação de conceitos e técnicas já utilizadas com sucesso à macro-escala, estando entre estas a técnica PIV (*Particle Image Velocimetry*).

Um dos primeiros trabalhos desenvolvidos visando a utilização da técnica micro-PIV para caracterização cinemática de um micro-escoamento [19] consistiu no registo do movimento de micro-

esferas traçadoras, fluorescentes, de poliestireno e com 300 nm de diâmetro em torno de um cilindro com aproximadamente 30 μm. A iluminação foi garantida recorrendo a uma lâmpada de mercúrio e a resolução espacial foi de 6,9 x 6,9 x 1,5 μm^3. Este trabalho foi a base para a aplicação da técnica aos estudos subsequentes de escoamentos em microcanais, como o caso de um microcanal circular com diâmetro de 236 μm, usando partículas traçadoras com dimensão característica de 10 μm, e resolução espacial da ordem dos 26,2 μm na direcção radial [20]; ou o estudo de microcanais estreitos de secção rectangular com dimensões 30 x 300 x 25000 μm^3, recorrendo a um sistema de iluminação laser Nd:YAG, com uma câmara CCD (*Charge Coupled Device*) de alta resolução [21].

Com a técnica micro-PIV estabelecida e capaz de fornecer resultados com elevada precisão e fiabilidade, começaram a surgir estudos com o objectivo de responder às questões deixadas em aberto pelas análises com base em medições das propriedades médias e globais do escoamento. Alguns resultados obtidos em diversos estudos em microcanais rectos de secção rectangular constante registaram transições para o regime turbulento (definido no ponto onde se verificam flutuações significativas da velocidade na região central do escoamento), bem como de desvio relativamente à solução de Hagen-Poiseuille, um pouco elevadas, mas dentro dos valores habituais da teoria macroscópica [11, 22].

Outros resultados confirmaram a necessidade de tomar em consideração os parâmetros geométricos e a rugosidade quando se estudam escoamentos à micro-escala. Estes estudos basearam-se no campo de velocidades tridimensional, obtido pela reconstrução dos vários perfis (bidimensionais) medidos com a técnica do micro-PIV em planos paralelos. Após a obtenção do campo tridimensional, este foi integrado com o objectivo de realizar balanços de massa e de quantidade de movimento. Os resultados experimentais foram então comparados com os valores do caudal imposto na bomba de seringa que promovia o escoamento e com os perfis obtidos por simulação computacional, confirmando a fiabilidade do método utilizado. Da comparação destes salientou-se também a importância dos parâmetros testados (rugosidade e parâmetros geométricos) no desenvolvimento dos escoamentos [23, 24].

Ressalta da análise anterior que não há total consenso na comunidade científica sobre o efeito das irregularidades superficiais na perda de carga em escoamentos laminares em microcanais. Se bem que essas irregularidades têm a ver com limitações das tecnologias de fabrico, é seguramente importante compreender os mecanismos físicos que regem o excesso de perda de carga ou a precocidade da transição para regime turbulento dos escoamentos em microcanais com rugosidade acentuada.

1.2.2 Propriedades do sangue e do seu escoamento

Numa vasta gama das aplicações microfluídicas, os fluidos utilizados comportam-se como fluidos não-newtonianos, cuja taxa de deformação depende, de forma não-linear, da tensão aplicada como se mostra na figura 1.1 [25]. Como se pode observar nesta figura, associada ao comportamento do fluido newtoniano está a relação linear entre a tensão de corte e a taxa de deformação, passando

a curva pela origem do gráfico, o que traduz o facto do valor da constante de proporcionalidade, a viscosidade do fluido, ser constante no tempo.

Quando a curva que caracteriza o comportamento de um fluido possui um declive variável ou tem ordenada na origem não-nula, não se pode definir uma constante de proporcionalidade. Assim, o valor da relação entre a tensão de corte e a taxa de deformação (que define a viscosidade aparente do fluido) é variável, a uma temperatura e pressão constantes, sendo dependente das condições de escoamento como a geometria ou a história cinemática do fluido. Estes fluidos são denominados por fluidos não-newtonianos e podem demonstrar comportamentos distintos, saindo do balanço entre a viscosidade e a elasticidade a relação entre deformação e tensão. Estes fluidos podem então ser classificados segundo o seu comportamento, em fluidos dilatantes, pseudoplásticos ou viscoplásticos.

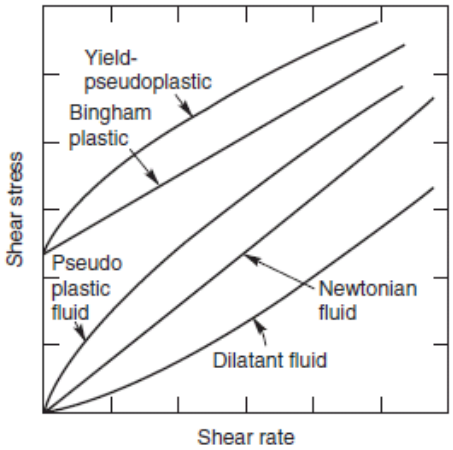


Figura 1.1 – Comportamento reológio de diferentes tipos de fluido e sua classificação [25].

Um fluido dilatante (ver figura 1.2 que esquematiza o seu comportamento) é um material cuja viscosidade aparente aumenta com o aumento da taxa de deformação. O efeito dilatante ocorre quando partículas agrupadas de forma compacta são misturadas com líquido de modo a que este preencha os interstícios entre elas. A baixas velocidades, o líquido funciona como um lubrificante de cada partícula, facilitando o escoamento que se dá de forma fácil. Para velocidades elevadas, o líquido não consegue preencher os referidos interstícios pois as partículas tendem a dilatar, aumentando assim o atrito que, tem como consequência directa, o aumento da viscosidade [26].

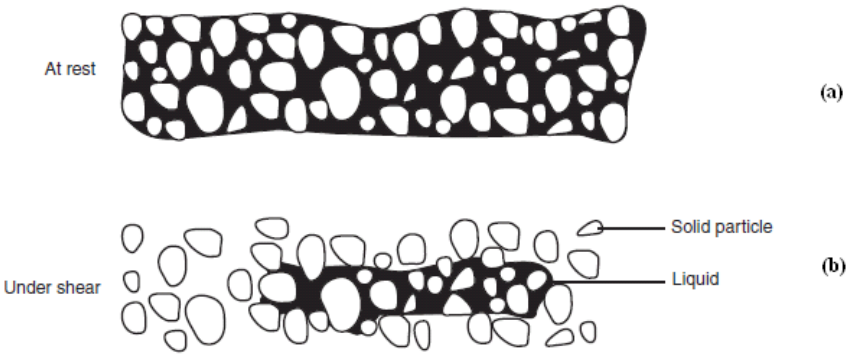


Figura 1.2 - Esquema de um fluido dilatante: (a) em repouso; (b) em movimento sob acção de tensões de corte [25].

Um fluido pseudoplástico (ver figura 1.3) é um fluido para o qual a viscosidade aparente diminui com o aumento da taxa de deformação. A muito baixas e muito altas taxas de deformação, a maioria das soluções exibe um comportamento newtoniano, ou seja, a razão entre a tensão de corte e a taxa de deformação apresenta um comportamento linear, passando o traçado pela origem. O valor correspondente à viscosidade aparente a baixas taxas de deformação é denominado por viscosidade a tensão nula (μ_0), enquanto que, para elevadas taxas de deformação é apelidado de viscosidade a tensão infinita (μ_∞). Assim, a viscosidade aparente de um fluido pseudoplástico diminui de μ_0 para μ_∞ com o aumento da taxa de deformação.

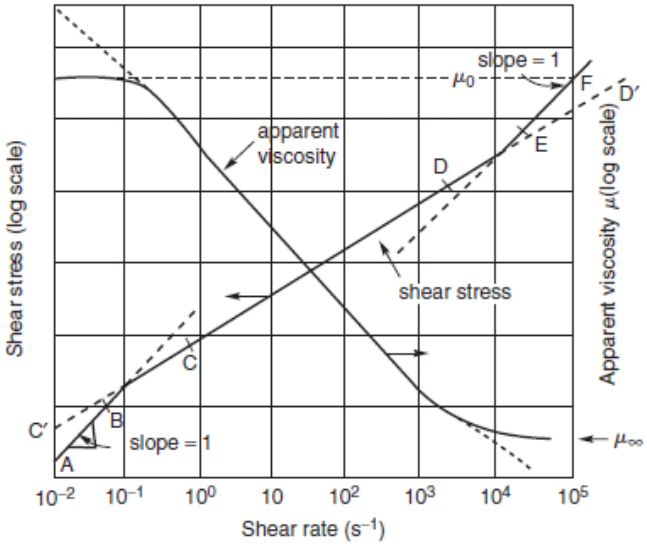


Figura 1.3 - Comportamento da viscosidade aparente de um fluido pseudoplástico com a variação da taxa de deformação [25].

O comportamento dos fluidos viscoplásticos é caracterizado pela existência de uma tensão de cedência que tem de ser excedida para que o fluido se deforme ou inicie o seu escoamento. Até se atingir esse valor, o fluido deforma-se elasticamente. Quando a tensão aplicada atinge o valor da tensão de cedência, o comportamento da curva poderá ser linear ou não-linear [25].

A importância de conhecer as propriedades dos fluidos não-newtonianos em escoamentos foi atestada, entre outros, por Darhuber e Troian [27]. De facto, só o conhecimento das características, particularidades, fenómenos e comportamentos hidrodinâmicos, permite tirar pleno partido das suas potencialidades e adequá-los às funções a que se destinam.

Atendendo à temática do presente trabalho, interessa realçar, de entre os fluidos não-newtonianos, o comportamento do sangue.

O sangue é um fluido que transporta oxigénio, dióxido de carbono, nutrientes, sais e hormonas de e para as células. Nos seres vertebrados, o sangue é constituído por plasma, no qual se encontram diferentes tipos de células como os eritrócitos (glóbulos vermelhos), os leucócitos (glóbulos brancos) e as plaquetas. O plasma constitui cerca de 55% do volume do sangue, sendo constituído maioritariamente por água (90% do volume) com substâncias dissolvidas como proteínas, glicose, iões minerais, hormonas, oxigénio e dióxido de carbono (tabela 1.1). Do ponto de vista

reológico, os constituintes mais importantes são o plasma e os eritrócitos, representando estes últimos 96% dos sólidos presentes no sangue, tendo um papel importante na definição das propriedades do escoamento [28].

Tabela 1.1 – Dimensões e concentrações dos principais constituintes do sangue [29, 30].

	Composição	Concentração
Plasma	Água	
	Proteínas	Albumina: 4,5 - 5,7 x 10^{-5} g.μL^{-1} [29] Globulina: 1,3 - 2,5 x 10-5 g.μL^{-1} [29] Fibrogénio: 1,3 - 2,5 x 10-5 g.μL^{-1} [29]
	Sais, gases dissolvidos, glicose, iões minerais, proteínas	
Constituintes Celulares	Eritrócitos (7 μm) [30]	3,6 - 5,4 x 10^{6} μL^{-1} [30]
	Leucócitos (8 - 20 μm) [30]	5 - 10 x 10^{6} μL^{-1} [30]
	Plaquetas (1 - 2 μm) [30]	1,5 - 4 x 10^{6} μL^{-1} [30]

Em estudos iniciais, os investigadores conceptualizaram o sangue como sendo um fluido viscoso, assumindo que a viscosidade controlava as propriedades do escoamento [31]. Porém, é mais preciso analisar o sangue como uma suspensão fluidizada de células elásticas [32]. Thurston [33] foi o primeiro investigador a medir as propriedades visco-elásticas que controlam o escoamento pulsado do sangue. A visco-elasticidade reflecte os efeitos cumulativos de vários parâmetros como, por exemplo, a viscosidade do plasma (que é um fluido newtoniano) e a deformabilidade e agregação dos eritrócitos.

Na sequência do trabalho anterior foi desenvolvida uma investigação intensiva sobre a temática da visco-elasticidade do sangue, bem como dos factores que a afectam. Esta investigação criou bases firmes para o crescente interesse no assunto por parte de fisiologistas e investigadores de medicina clínica. Também os estudos sobre os eritrócitos, certas proteínas do plasma e de fluidos de controlo clinicamente relevantes se revelaram bastante importantes. Os estudos na área da visco-elasticidade contribuíram para a compreensão da influência desta em patologias como enfartes do miocárdio, doença vascular periferal, cancro e diabetes [34 – 36].

A visco-elasticidade varia principalmente com os eritrócitos, que ocupam metade do volume do sangue, sendo a sua elasticidade o principal factor de determinação da visco-elasticidade do sangue. Quando os eritrócitos se encontram em repouso tendem a agregar-se de um modo bastante compacto. Porém, e de modo a que o escoamento do sangue se possa dar sem constrangimentos de maior, o tamanho desses agregados deve ser reduzido. As forças que trabalham na desagregação das células provocam também deformações elásticas e mudanças de orientação das células, originando armazenamento de energia elástica em micro-estruturas celulares do sangue. Com o escoamento, a movimentação das estruturas celulares requer um fornecimento de energia contínuo, energia essa que é de seguida dissipada através de fricção viscosa. Estes efeitos tornam o sangue num fluido visco-elástico, exibindo propriedades elásticas e viscosas [32]. Uma falha na desagregação ou deformação das células resulta numa deficiente injecção de camadas de sedimentos e, como a agregação [37, 38] e deformabilidade [39, 40] são factores chave da visco-

elasticidade do sangue, a contribuição da organização estrutural das células deve ser devidamente considerada na variação das propriedades visco-elásticas do sangue.

Analisando a figura 1.4, que contém uma análise do comportamento visco-elástico do sangue com a variação da taxa de deformação, constata-se que, atendendo à agregação, orientação e deformação dos eritrócitos, se pode dividir o referido comportamento do sangue em três regiões.

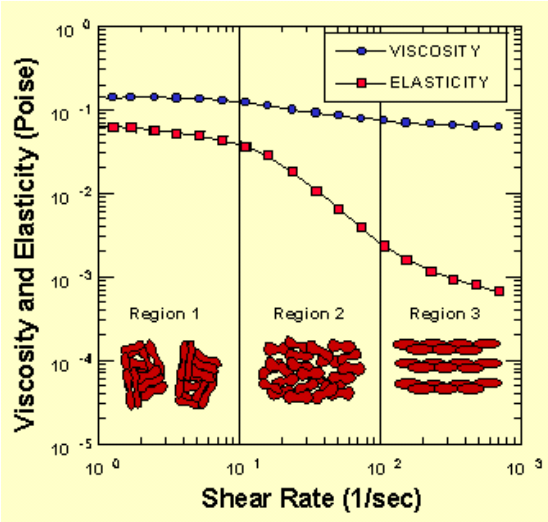


Figura 1.4 - Variação da visco-elasticidade do sangue humano com a taxa de deformação, a 2Hz e 22ºC [32].

Na região 1, onde as células estão em elevado estado de agregação, quando a taxa de deformação aumenta, o estado de agregação diminui. Nesta gama de taxas de deformação, a visco-elasticidade é fortemente influenciada pela tendência de agregação dos eritrócitos. Na região 2, as células encontram-se desagregadas e as forças aplicadas conduzem a uma mudança de orientação. Quando aumenta a taxa de deformação aumenta também a influência da deformação criada pelas forças e diminuem a elasticidade do fluido (de forma acentuada) e a sua viscosidade (de forma ligeira). Na região 3, o aumento da tensão provoca a deformação das células, levando à formação de camadas que deslizam no plasma. Nesta região, a visco-elasticidade é bastante influenciada pela deformabilidade dos eritrócitos e as células com deformabilidade deficiente produzem visco-elasticidade dilatante, caracterizada pela elevada viscosidade e elasticidade na região de elevada taxa de deformação [41].

Globalmente, verifica-se que a viscosidade tem um valor constante para baixas taxas de deformação, decrescendo a partir daí até atingir uma nova plataforma constante para elevadas taxas de deformação. O fenómeno associado à diminuição da viscosidade de um líquido com o aumento da taxa de deformação denomina-se por *shear thinning*, caracterizando o comportamento visco-elástico.

Foi identificado um dos factores com maior preponderância na definição do comportamento do escoamento do sangue: a percentagem de eritrócitos. Como é possível constatar na figura 1.5, que mostra a variação da viscosidade aparente com a percentagem de eritrócitos, quanto maior for o valor dessa percentagem, maior será o valor da viscosidade aparente. De registar também que para uma percentagem de eritrócitos inferior a 8% o “sangue” (sendo então constituído maioritariamente

por plasma) apresentar um valor constante de viscosidade, ou seja, um comportamento newtoniano [42].

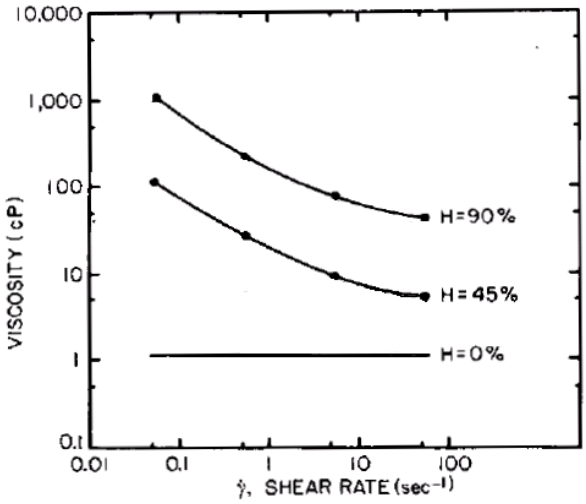


Figura 1.5 - Variação da viscosidade aparente do sangue com a percentagem de eritrócitos [28].

Outra análise efectuada, e que de resto viria somente confirmar uma suspeita relativamente à constituição do sangue, está relacionada com a relação entre a viscosidade aparente e as características do plasma. Modificações na pressão osmótica, pH, concentração de fibrogénio, proteínas e expansores de volume podem alterar drasticamente a visco-elasticidade do sangue [43, 44]. Da figura 1.6, que traduz essa alteração, e por comparação com a figura 1.4, que fornece o comportamento da viscosidade e elasticidade do sangue não alterado, é possível constatar que, com a diluição e respectiva diminuição da percentagem de eritrócitos de 46% (valor aproximado para os seres humanos) para 31%, os valores da viscosidade e elasticidade diminuem uma e duas ordens de grandeza, respectivamente [45].

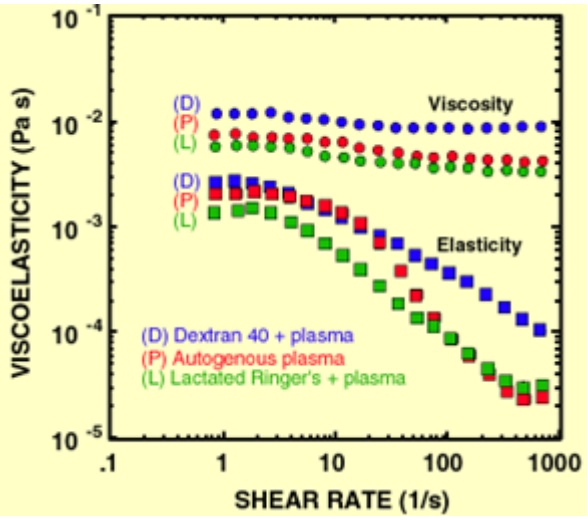


Figura 1.6 - Variação da visco-elasticidade do sangue humano com a taxa de deformação por diluição da percentagem de eritrócitos de 46% para 31% por adição de três diferentes soluções, traduzindo-se na diluição do plasma original em 50% [32].

O conhecimento das propriedades e comportamentos cinemáticos dos fluidos não-newtonianos, particularmente do sangue, vem sendo determinado desde há muito, estando patente o recurso a uma investigação a nível microscópico. Urge porém salientar, que quanto mais aprofundado for o seu estudo na determinação das variáveis que, por acção directa ou por interacção com algum dos fenómenos anteriormente descritos, influenciem o seu comportamento, maiores serão as perspectivas de uma elevada eficácia no diagnóstico de doenças associadas ao sistema circulatório e da evolução tecnológica na área da saúde.

1.2.3 Caracterização de escoamentos de sangue e seus simuladores reológicos à micro-escala com recurso à técnica micro-PIV

A bibliografia apresentada na presente secção resulta da aplicação de técnicas descritas na secção 1.2.1 visando o estudo de propriedades do sangue descritas na secção 1.2.2. Atendendo à sua importância para o desenvolvimento do trabalho vigente, a análise e exposição dos seus resultados será mais pormenorizada.

A necessidade de compreensão mais aprofundada dos fenómenos que envolvam escoamento sanguíneo, tendo em vista aplicações específicas e de utilidade generalizada, levou ao estudo intensivo dos escoamentos do sangue em microcanais. Historicamente, as técnicas mais utilizadas no estudo da microcirculação de sangue foram a fotometria [46, 47], a microscopia vídeo e posterior análise de imagem [48 – 51] e a anemometria laser-Dopler [52 – 54].

Porém, devido à falta de resolução espacial e precisão das velocidades medidas por estas técnicas, não foi possível chegar a um consenso no que se refere ao perfil de velocidades em microcanais. Enquanto alguns estudos apontavam para a existência de perfis parabólicos [54], outros sugeriam perfis rombos [55, 56]. Alguns trabalhos relataram também a existência de perfis rombos em diâmetros pequenos e velocidades extremamente baixas e perfis parabólicos em diâmetros superiores a 100 μm [52]. A falta de consenso evidenciou a necessidade de investigar a influência de todos os parâmetros do escoamento nos perfis de velocidade da microcirculação de sangue.

Posteriormente, e com as inovações registadas nas áreas da Óptica, capacidade computacional e processamento digital de imagens, surgiu a possibilidade de adaptar ao estudo do escoamento do sangue em microcanais a já referida técnica micro-PIV que, combinando a tradicional técnica PIV com um microscópio epifluorescente invertido, se apresenta como uma opção efectiva e já actualmente aplicada com bastante sucesso noutros estudos. Esta técnica apresentou algumas limitações ao nível do ruído presente na imagem pois, o facto de todo o escoamento ser iluminado faz com que a fracção de luz incidente fora da zona de registo de imagem degrade o campo de velocidades medido [57]. Não sendo esta uma limitação incontornável, vários autores desenvolveram os seus projectos demonstrando a fiabilidade da técnica micro-PIV na determinação dos perfis de velocidade do sangue devido à elevada resolução espacial e ao sistema de iluminação multi-ponto, tal como se descreve de seguida.

Bitsch, *et al.* [12] investigaram os perfis de velocidade em regime estacionário do escoamento de água com pequenas partículas em suspensão, bem como o do sangue, no qual os

eritrócitos funcionaram como partículas traçadoras. Os autores evidenciaram as limitações do sistema óptico utilizado, na resolução espacial normal ao plano focal. As observações registadas foram utilizadas para determinar uma função de Lorentz ponderada de correcção dos resultados experimentais tendo, esta última, determinado uma espessura de focagem de 4 μm e justificado o aumento de velocidade registado aquando da movimentação do plano de focagem para fora do canal fluídico. Foram utilizados microcanais com secção rectangular de 360 x 28 μm^2 tendo obtido, após ajuste através da referida função ponderada devido à limitada espessura focal do sistema micro-PIV utilizado, um campo de velocidades experimental tridimensional resultante da sobreposição de perfis bidimensionais captados a diferentes profundidades do canal. Este perfil, para o caso do escoamento da água, condiz com os perfis analíticos. No caso do sangue, o perfil de velocidade medido, em conjunto com um modelo de duas fases, indica que o sangue se escoa com um perfil uniforme.

Um estudo idêntico [58] foi desenvolvido em microcanais de matriz polimérica PDMS (*Poly Dimethyl Siloxane*) de secção 300 x 45 μm^2, tendo os resultados do sangue sido contrapostos aos do fluido de teste, um soro fisiológico. O caudal analisado apresentava um valor constante, sendo também o escoamento caracterizado por um Re = 0,02. Os resultados obtidos para o sangue (com 20% de eritrócitos) demonstraram um perfil de velocidade rombo na zona central, justificado com o baixo valor da relação altura/largura (h/w=0,15) do canal em estudo. Para o soro fisiológico, os perfis experimentais obtidos apresentaram uma boa correspondência com as previsões do modelo teórico. A análise qualitativa das observações registadas indica que a interacção entre eritrócitos vizinhos, que por sua vez gera elevados valores de deformação na vizinhança das paredes, e as flutuações temporais dos conjuntos de células presentes no sangue podem desempenhar um papel importante no que se refere a efeitos de distúrbio hidrodinâmico, capaz de alterar efectivamente o perfil de velocidades do sangue. O trabalho subsequente destes autores [13], num microcanal de secção quadrada com 100 μm de lado, incidiu num estudo em que todos os registos foram efectuados no plano médio do microcanal a caudal constante e com baixo número de Reynolds (Re = 0,025). Dos fluidos em estudo (água, sangue com um volume de 9% e 17% de eritrócitos), a água e o sangue com um volume de 9% de eritrócitos apresentaram um perfil marcadamente parabólico, enquanto no sangue com um volume de 17% de eritrócitos, se detectou um ligeiro achatamento do perfil de velocidades, demonstrando que o formato efectivo deste depende do nível de eritrócitos presente.

Utilizando uma técnica micro-PIV de alta-velocidade, surgiu um trabalho [59] com o objectivo de medir velocidades dos eritrócitos (21%) e do plasma de forma independente, num escoamento com elevado caudal, contribuindo para a compreensão da reologia da microcirculação do sangue. O sistema de aquisição consistia num microscópio epifluorescente equipado com uma câmara de alta velocidade com um intensificador de sinal de imagem e dois conjuntos de filtros de cor. A técnica foi aplicada a um microcanal circular com 100 μm de diâmetro, tendo sido injectados eritrócitos com propriedades fluorescentes e partículas traçadoras fluorescentes com 1 μm de diâmetro. Como os dois conjuntos de partículas possuíam comprimentos de onda de emissão diferentes, foi possível captar os perfis de velocidade de forma independente. Os perfis de velocidade obtidos apresentam uma resolução espacial de 9,0 μm × 2,2 μm e uma temporal de 6000 Hz. Os resultados obtidos foram bastante úteis na compreensão de fenómenos como a migração dos

eritrócitos para a zona central dos microcanais quando as velocidades são elevadas ou a relação entre a deformação dos eritrócitos e a tensão de corte causada pelo escoamento do plasma.

Outro aspecto relevante das técnicas experimentais para estudo de micro-escoamentos refere-se aos materiais utilizados no fabrico dos microcanais.

Apesar dos resultados *in vitro* não representarem o escoamento real em veias e capilares, o recurso a canais poliméricos rectangulares para o estudo do escoamento do sangue fornece parâmetros experimentais fidedignos, traduzindo o seu comportamento microfluídico. Associado a isto, surge também em inúmeros trabalhos a referência à vantagem que advém da utilização de canais poliméricos, mormente PDMS, em detrimento dos microcanais de vidro na análise de escoamentos de sangue recorrendo à técnica micro-PIV. Os canais em vidro apresentam dificuldades especialmente ao nível de fabrico (dificuldade de fecho hermético das faces, limitações ao nível da profundidade e largura). A nível físico e bioquímico existem também factores que contribuem para a simulação do comportamento das células do sangue em microcapilares (nos microcanais de vidro as paredes não são elásticas e os canais são lisos e longos). Devido a isto, é vulgar recorrer-se a microcanais rectangulares em polímeros cravados com gravura litográfica de modo a produzir de forma aproximada e de um modo preciso e versátil os microcapilares [58].

Com o sucesso dos resultados obtidos *in vitro*, e na tentativa de compreender efectivamente o comportamento do escoamento do sangue em veias e capilares, surgiram estudos utilizando a técnica micro-PIV *in vivo*. Esta foi utilizada de modo a determinar o perfil de velocidades do escoamento, recorrendo simultaneamente a uma correlação de modo a reforçar a razão sinal/ruído e a um algoritmo de mudança de fase de modo a simular a evolução temporal do escoamento pulsado [60 – 62]. Assim, a tensão de corte local na parede pode ser calculada com base na derivada do perfil de velocidades junto à parede. Ambos os métodos forneceram resultados comparáveis, exceptuando uma estimativa por defeito no pico da sístole (período de contracção das câmaras cardíacas) no método do gradiente total, pois a resolução espacial revelou-se insuficiente. Estes estudos são fundamentais na compreensão da interacção mecânica e/ou bioquímica entre o sangue e os tecidos constituintes da parede, especialmente em segmentos de maior complexidade como secções curvas ou bifurcações, sendo então importante a escolha de planos adequados e de análises tridimensionais de perfis de velocidade.

De modo a aferir os mecanismos dominantes nos processos físicos geradores dos escoamentos de sangue e na ausência da possibilidade de obter soluções a partir de correlações, visto que muito do trabalho à micro-escala se encontra em fase de desenvolvimento e que a quantidade de variáveis envolvidas nos fenómenos em estudo é muito elevada, tem-se recorrido à modelação numérica, CFD (*Computacional Fluid Dynamics*). Foram desenvolvidos vários trabalhos nesta área baseados nos diferentes modelos matemáticos e computacionais descritivos do comportamento do sangue, especialmente no que se refere à variação da viscosidade com as condições de escoamento [63 – 65].

Porém, outras questões se levantam aquando do estudo do comportamento e propriedades do escoamento do sangue. Se por um lado a utilização do sangue garante que os escoamentos em estudo apresentam todas as características anteriormente descritas, a sua utilização levanta

questões não só de foro técnico (descritas no final da secção 1.2.2) mas também moral, ético e higiénico. Por um lado o sangue é um fluido opaco e, atendendo a que a grande maioria das técnicas de caracterização de escoamentos *in-vitro* requerem a utilização de fluidos transparentes, é então necessário recorrer a um fluido simulador de sangue com tais propriedades. Por outro lado a utilização de sangue humano tem também como desvantagens os problemas associados com a sua obtenção, manutenção e anti-coagulação, bem como com factores higiénicos.

A água foi o primeiro simulador de sangue utilizado. Porém, com uma viscosidade estável próxima de 1 cP (0,001 Pa.s), independente da taxa de deformação, a simulação do comportamento dinâmico do sangue não pode ser obtida de forma aproximada [66]. Outro simulador que tem sido utilizado de forma regular é a solução de glicerina (36% em volume) e água cuja viscosidade se aproxima duma viscosidade característica do sangue a 37ºC (3,5 cP) [67]. Porém, estes fluidos, ao apresentarem comportamento newtoniano não caracterizam de forma totalmente realista o comportamento reológico do sangue, pois a viscosidade destes não varia com a taxa deformação.

Como tal, seguiram-se estudos nos quais foram testadas soluções com constituintes não-newtonianos, disso sendo exemplo o estudo com recurso a uma solução aquosa de *separan* (polímero não-newtoniano) [68], ou a uma solução de água, glicerina e goma *xanthan* (polissacarídeo) [69]. A solução de *separan*, apesar de apresentar algumas propriedades reológicas semelhantes às do sangue apresenta um formato de escoamento distinto deste. Já o simulador com goma *xanthan* apresenta um comportamento viscoso semelhante àquele registado para o sangue com taxas de eritrócitos entre 20% e 80%, para taxas de deformação entre 1 e 1000 s^{-1}.

Outros estudos se seguiram utilizando os simuladores até agora referidos tendo, o estudo desenvolvido por Pohl, *et al.* [70], obtido resultados interessantes no teste de uma solução de *xanthan* e uma solução aquosa de *praestol* (poliacrilamido). Ambos os simuladores não-newtonianos demonstraram um comportamento viscoso semelhante, dependente da taxa de deformação, apresentando, porém, diferentes valores de perdas de carga nas válvulas testadas para os caudais impostos. Este facto foi justificado com as diferentes propriedades visco-elásticas das soluções em estudo.

Os simuladores de sangue até agora descritos podem não representar exactamente o comportamento dinâmico do sangue, visto corresponderem a soluções homogéneas não-newtonianas e não a suspensões de partículas num fluido newtoniano. Para ultrapassar esta limitação, foram então testadas soluções de *dextran* (polissacarídeo) com a suspensão de partículas de poliestireno [71]. A estas foi adicionado cloreto de cálcio, cujo objectivo é reduzir a repulsão electrostática entre as partículas, permitindo deste modo a acção das forças de van der Waals, controlando a atracção das partículas de modo a simular a interacção e agregação dos glóbulos vermelhos. Registou-se que para este simulador as partículas se agregam a baixas taxas de deformação desagregando-se com o aumento desta. Porém, os autores concluíram que o comportamento deste tipo de simuladores não regista a influência da deformação dos eritrócitos verificada no caso do sangue, visto as partículas utilizadas serem rígidas. Para além disso, verificaram uma rápida deterioração dos canais em estudo devido à aglomeração de micropartículas junto às paredes, perturbando de forma clara o escoamento.

Deste modo, e atendendo às limitações associadas a cada simulador, verificou-se na bibliografia consultada uma tendência para o recurso de forma preferencial a soluções de água, glicerina e goma *xanthan* como simulador no estudo do comportamento do sangue. A goma *xanthan* apresenta também como vantagens o facto de ser um produto pouco dispendioso e de gerar soluções transparentes, condição ideal para a aplicação de técnicas de análise ópticas e indispensável à utilização da técnica micro-PIV [69].

Surgiram também estudos em que as soluções constituídas por água, glicerina e *xanthan* foram utilizadas no estudo de transferência de massa em oxigenadores de sangue tendo sido desenvolvidas correlações para a transferência de massa e para o factor de fricção [72, 73].

Da sequência dos trabalhos anteriores e das questões deles emergentes evidencia-se a necessidade de melhor caracterizar experimentalmente os escoamentos de fluidos não-newtonianos em microcanais, mormente o sangue e os seus simuladores, recorrendo à técnica micro-PIV.

1.3 Contribuições do trabalho

Após a elaboração da revisão bibliográfica, apresentada na secção 1.2, ficam patentes áreas cujo estudo e desenvolvimento, visando a aquisição de conhecimentos aplicáveis em tecnologias cuja utilidade para o ser humano se pode revelar fulcral, ainda se encontra por efectuar.

Como se conclui da bibliografia consultada, a tecnologia associada à técnica micro-PIV, enquanto modo de caracterização cinemática de escoamentos, encontra-se relativamente estabilizada. A exploração do conceito e da física a si associadas permitiu dissecar as suas principais limitações e fontes de erro bem como potenciar as investigações à micro-escala. A sua utilização na caracterização de escoamentos laminares permitiu registar a transição destes a regime turbulento [11], confirmar a validade da aplicação de teoria e equações desenvolvidas à macro-escala [22], bem como compreender a influência das geometrias e da rugosidade das paredes no desenvolvimento dos escoamentos à micro-escala [23, 24]. Neste trabalho ter-se-ão em conta os fenómenos anteriormente descritos, procurando identificar a sua influência nos resultados da caracterização cinemática do escoamento do sangue.

O estudo e compreensão das características e comportamento do sangue, enquanto suspensão fluidizada de partículas elásticas, há muito que vem sendo desenvolvido, com recurso ao mais variado tipo de experimentação e teorização [29 – 31]. A aquisição de conhecimentos relativamente à sua constituição, características, fenómenos e comportamentos cinemáticos do escoamento do sangue tem um papel fundamental de modo a potenciar a criação de toda uma tecnologia que sirva da melhor maneira possível o ser humano. O seu comportamento não-newtoniano, particularmente pseudoplástico, foi cedo identificado [33], sendo este predominantemente dependente da quantidade, taxa de agregação, alinhamento e deformação dos eritrócitos [32, 36 – 39]. Levantaram-se, porém, problemas éticos e higiénicos devido à utilização de sangue humano no estudo do comportamento cinemático do sangue pelo que surgiram então vários tipos de simulador. Nesta dissertação pretende-se preparar e caracterizar soluções de reologia

newtoniana e não-newtoniana que simulem os fenómenos e as características sanguíneas anteriormente descritos, de modo a estudar o seu comportamento cinemático.

Começaram então a surgir análises ao escoamento do sangue com recurso a técnicas de visualização avançadas como disso são exemplo a fotometria [46, 47], a microscopia vídeo [48 – 51] e a anemometria laser-Dopler [52 – 54]. Porém, a falta de resolução destes, levou ao aparecimento das primeiras aplicações da técnica micro-PIV no estudo do comportamento cinemático do sangue em microcanais. A fiabilidade da técnica micro-PIV na determinação dos perfis de velocidade do sangue, devido à sua elevada resolução espacial e ao sistema de iluminação multi-ponto, permitiu identificar perfis de escoamento achatados na zona central, estando o nível de achatamento relacionado com a quantidade de eritrócitos presente no sangue [13]. Foi também possível identificar, com recurso à técnica micro-PIV, a influência da desagregação e deformação dos eritrócitos na definição do escoamento para taxas de deformação mais elevadas [59]. Contudo, a grande maioria dos trabalhos desenvolvidos restringiram-se à análise do comportamento do sangue em microcanais com secção recta, desenvolvendo-se nesta tese análises em microcanais com expansão da área de passagem. Verifica-se também que ao nível do estudo das propriedades do sangue, com recurso a simuladores e utilizando técnicas experimentais avançadas de visualização de micro-escoamentos, a bibliografia existente é um pouco escassa, versando sobre esta componente parte do trabalho a desenvolver na presente dissertação.

Assim sendo, de modo a complementar os estudos cuja temática reporta à caracterização cinemática de escoamentos de fluidos newtonianos e não-newtonianos em microcomponentes característicos de *Lab-on-a-Chip* e de *Lab-on-a-CD*, o presente trabalho tem como principais objectivos:

- Preparar e caracterizar simuladores de sangue cujo comportamento reológico e modelação matemática se aproxime do seu comportamento a diferentes taxas de deformação e de eritrócitos.

- Estudar quantitativamente, com recurso a perfis de velocidade bidimensionais, e qualitativamente, com recurso à reconstrução do campo tridimensional de velocidades, o comportamento de fluidos newtonianos em regime estacionário, em escoamentos laminares desenvolvidos (num canal recto) e em desenvolvimento (numa expansão) que podem, em circunstâncias particulares, ser simuladores de sangue.

- Verificar quantitativamente o efeito da variação de viscosidade dos simuladores de sangue não-newtonianos com a variação da taxa de deformação nos perfis de velocidade bidimensionais em regime estacionário, em escoamentos laminares desenvolvidos (num canal recto) e em desenvolvimento (numa expansão).

- Analisar o efeito da viscosidade nos limites de estabilidade do escoamento em desenvolvimento através da análise do mapa de perfis de velocidade.

1.4 Estrutura da dissertação

O trabalho desenvolvido e aqui apresentado encontra-se dividido em quatro capítulos.

No primeiro e presente capítulo é feito um enquadramento do trabalho atendendo às suas aplicações microfluídicas, mormente na área da biomédica. É também efectuada uma análise e contextualização do sangue no que se refere às suas propriedades físicas e mecânicas, sendo ainda apresentada uma revisão bibliográfica visando o estabelecimento do conhecimento na área, efectuado com recurso a diferentes técnicas de caracterização cinemática de micro-escoamentos. Com base nestes, é então definida a contribuição deste trabalho.

O segundo capítulo contém uma descrição e análise do equipamento e *software* utilizados no desenvolvimento do trabalho experimental, bem como dos procedimentos experimentais adoptados na sua utilização. São também desenvolvidos processos de verificação e calibração do material, particularmente das microbombas.

No terceiro capítulo são apresentados e discutidos os resultados experimentais obtidos a partir da caracterização reológica dos simuladores de sangue utilizados, efectuada com recurso a um viscosímetro e respectivo *software*, bem como os resultados cinemáticos provenientes da análise do escoamento destes simuladores nos microcanais em estudo com recurso à técnica micro-PIV.

O quarto capítulo da dissertação apresenta as principais conclusões retiradas a partir do estudo desenvolvido assim como uma pequena proposta para trabalhos futuros.

Capítulo 2

Experimental

Neste capítulo são apresentados os princípios da técnica experimental utilizada no desenvolvimento deste trabalho. Apresentam-se também a instalação experimental, com uma descrição dos seus principais constituintes, e os principais procedimentos experimentais adoptados na aplicação da técnica.

2.1 Princípios e particularidades da técnica experimental micro-PIV

A técnica experimental à qual se recorreu para a realização do trabalho experimental é a técnica micro-PIV (ver figura 2.1), sendo esta uma adaptação para a micro-escala da técnica PIV (*Particle Imaging Velocimetry*).

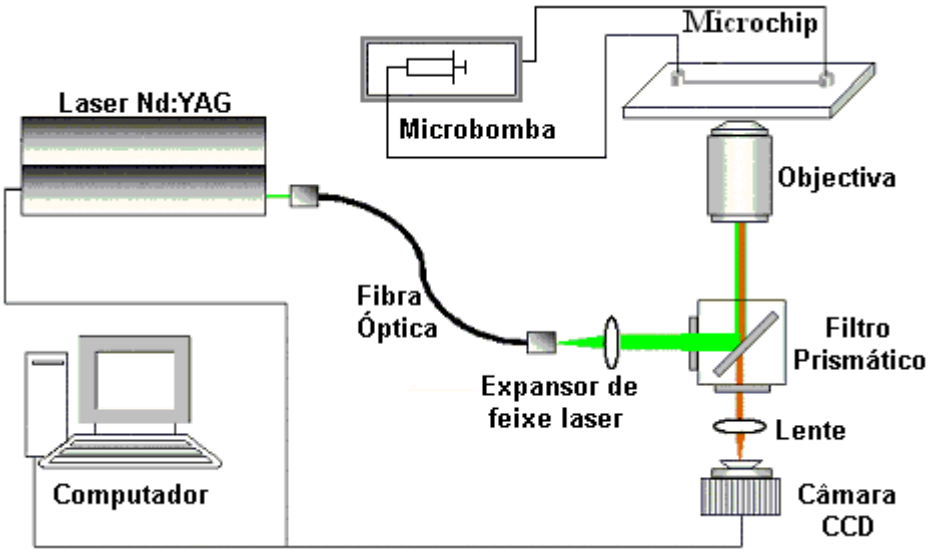


Figura 2.1 – Esquema da instalação experimental com a técnica micro-PIV utilizada.

O PIV é uma técnica de medição óptica experimental aplicada à macro-escala, com o objectivo de obter um campo de velocidades bidimensional (o uso de duas câmaras permite obter um campo tridimensional) e instantâneo, bem como outras propriedades correlacionadas de um escoamento de um fluido.

As velocidades registadas recorrendo à técnica referida são obtidas com base no deslocamento executado pelo conjunto de partículas traçadoras presente no escoamento (Δx), e que acompanham o movimento deste, num intervalo de tempo previamente definido (Δt), entre cada registo de posição das referidas partículas como expressa a equação (1).

$$V_{ins\tan tânea} = \frac{\Delta x}{\Delta t} \quad (1)$$

As partículas traçadoras, cujas dimensões e propriedades variam consoante a natureza do escoamento a estudar, são iluminadas por um feixe luminoso quando cruzam a zona do escoamento em análise. Este é gerado por um sistema laser e modificado por um conjunto de componentes ópticos, sendo pulsado com uma frequência previamente definida. A frequência dos feixes laser, permite determinar o movimento das partículas calculado a partir das posições instantâneas registadas em dois pulsos de luz consecutivos. A diferença entre as posições instantâneas permite determinar o deslocamento das partículas, sendo que, a partir da divisão do valor deste pelo intervalo de tempo entre pulsos de luz consecutivos se fica a saber a velocidade instantânea do escoamento.

A detecção, visualização e captura do posicionamento das partículas traçadoras é realizado com recurso a uma câmara CCD (*Charge Coupled Device*), sendo cada imagem individual obtida (*frame*) subdividida em secções rectangulares denominadas áreas de análise. Posteriormente, para cada área de análise, são correlacionadas as informações presentes nas duas *frames*, resultando deste a obtenção de um vector correspondente ao deslocamento médio experimentado pelas partículas traçadoras presentes em cada área de análise. Assim, e após a aplicação deste procedimento para todas as áreas de análise e correlacionando-as entre si, é possível obter um mapa de vectores de deslocamento. Ao efectivar a divisão do deslocamento calculado pelo intervalo de tempo entre os dois pulsos de luz que permitem obter as duas *frames* utilizados no cálculo do deslocamento, obtém-se o mapa de vectores de velocidade do escoamento em estudo.

No cálculo das correlações utilizadas para a obtenção dos vectores anteriormente referidos é empregue um processamento com base em FFT (*Fast Fourier Transformations*) de modo a acelerar o cálculo destas. Porém, este é um procedimento matemático que tem como principal desvantagem o facto de produzir sempre um conjunto de resultados, independentemente dos dados iniciais introduzidos possuírem ou não significado físico. Como tal, existe a necessidade de se efectuar uma avaliação do mapa de vectores obtido, recorrendo então a algoritmos de validação de modo a detectar, identificar e excluir vectores incorrectos. Posteriormente, de modo a obter continuidade nos mapas de vectores (facilitando a determinação de linhas de corrente, velocidade, vorticidade, *etc.*) nos locais onde tenham sido removidos vectores por não corresponderem à realidade física do fenómeno, são colocados vectores mais verosímeis, calculados a partir dos vectores vizinhos.

A técnica micro-PIV distingue-se da técnica utilizada para a macro-escala, ao nível dos mecanismos de aquisição de imagens, das partículas utilizadas para caracterizar o escoamento, no projecto do sistema e nos algoritmos de correlação e validação. Porém, e como é possível verificar na figura 2.2, a principal modificação efectuada está relacionada com o modo como o escoamento é iluminado. Enquanto a técnica PIV tradicional utiliza um feixe de luz em folha, ou seja, no escoamento as partículas são iluminadas numa superfície plana, no micro-PIV a iluminação é feita em volume, sendo a espessura do plano de análise determinada pela espessura focal da lente da objectiva e a dimensão da superfície de análise definida pela ampliação da lente da objectiva.

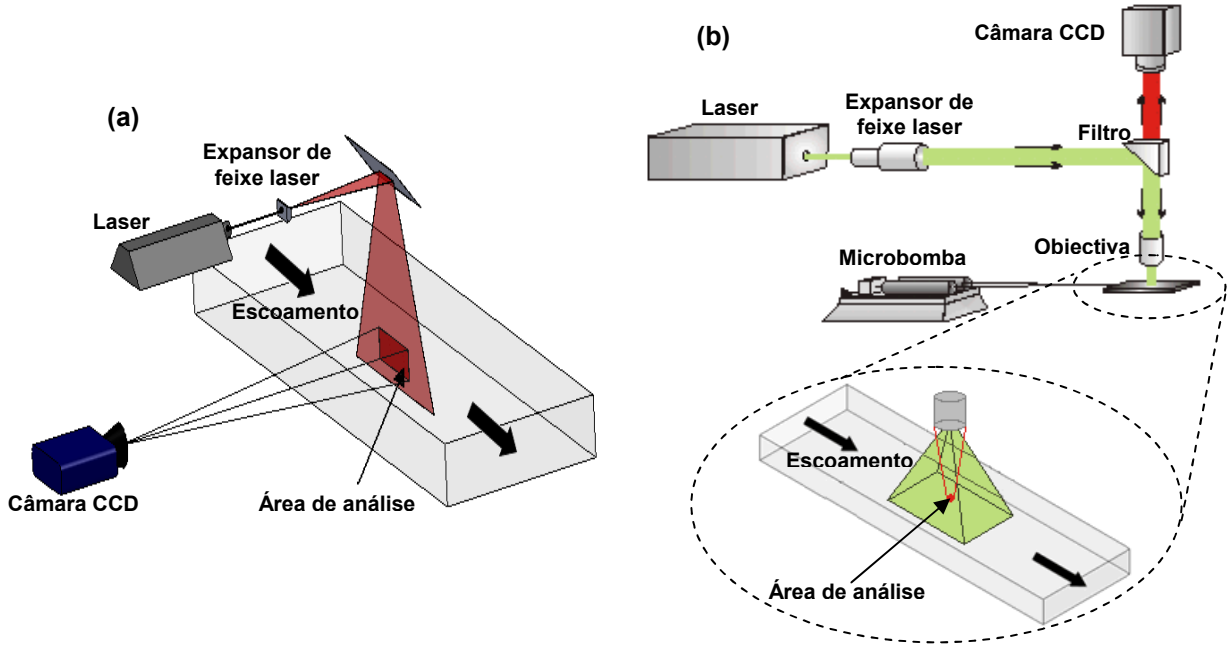


Figura 2.2 – Diferença de iluminação do escoamento (a) Técnica PIV; (b) Técnica micro-PIV.

Este método apresenta como maior desvantagem o facto de todas as partículas dentro do volume iluminado emitirem luz, quer estejam ou não na zona focada. Assim, a luz emitida pelas partículas na zona não focada influencia a qualidade da imagem obtida, contribuindo para um aumento do ruído presente nesta. A diminuição do ruído é conseguida diminuindo a quantidade de partículas traçadoras presentes no escoamento, existindo porém uma quantidade mínima necessária por cada área de análise. O compromisso entre estes dois factores define a qualidade e a resolução espacial máxima alcançável sendo esta, porém, sempre bastante superior à resolução espacial máxima (da ordem dos 0,2 a 1,0 mm) do PIV tradicional.

2.2 Instalação experimental

A instalação experimental da técnica micro-PIV à qual se recorreu para o desenvolvimento deste trabalho assenta, em termos de *hardware*, em quatro elementos principais: sistema de iluminação, sistema óptico, componentes microfluídicos e o sistema de sincronização. Já em termos de *software* de análise e tratamento dos resultados, aquela técnica tem como principais constituintes os algoritmos de correlação e de validação.

O processo principal pode, de um modo geral, ser caracterizado pela circulação de um fluido em estudo através do circuito (seringa, tubos de alimentação, microcanais), sendo o controlo desta feita recorrendo a uma microbomba. Uma vez inundado o microcanal, e com recurso ao *software* associado à instalação, é controlada a recolha de resultados do escoamento em estudo, sendo estes posteriormente tratados e analisados.

Na figura 2.3 identificam-se de alguns dos principais componentes da técnica micro-PIV utilizada.

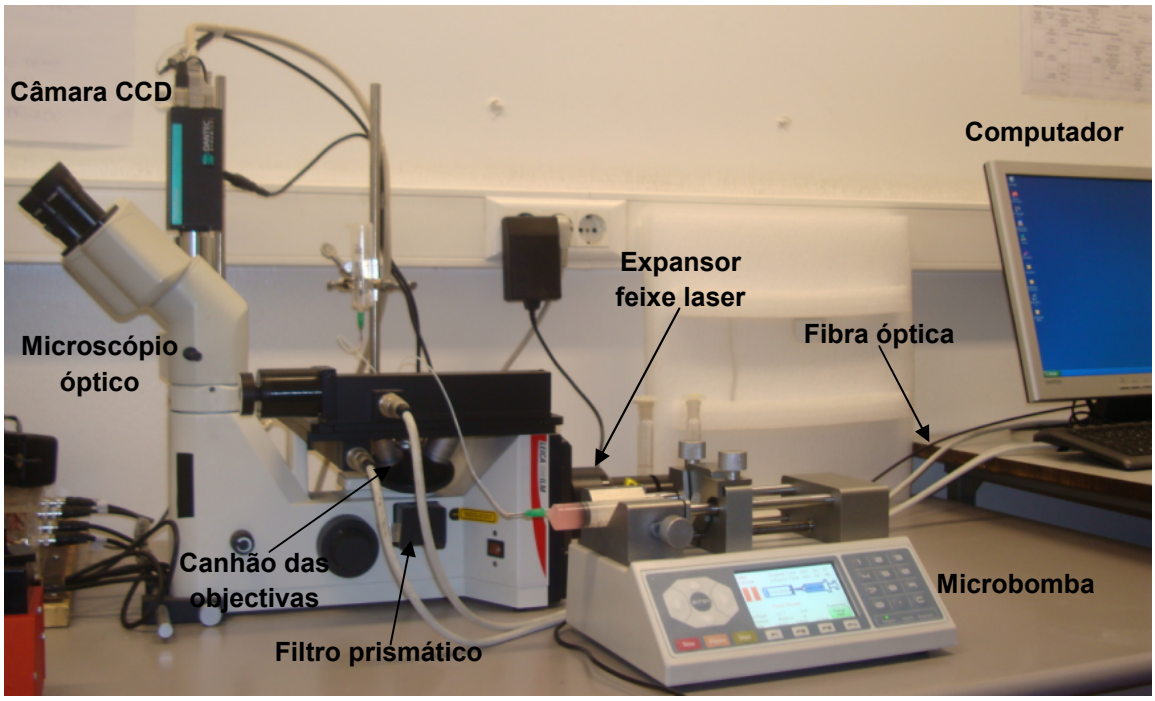


Figura 2.3 - Instalação experimental utilizada.

2.2.1 Sistema de iluminação

O sistema de iluminação da instalação em estudo corresponde a um sistema laser Nd:YAG fornecido pela empresa New Wave Research® (ver figura 2.4) tendo sido inserido na instalação pela Dantec Dynamics®. O recurso a sistemas laser como fonte de iluminação neste género de técnicas está relacionado com o facto de estes permitirem a emissão de um feixe luminoso monocromático de elevada densidade energética permitindo efectuar uma iluminação e registo do posicionamento das partículas sem influências cromáticas indesejadas. Os lasers Nd:YAG pertencem à categoria dos lasers no estado sólido, sendo bastante adequados para a técnica em questão pois permitem disponibilizar sempre a mesma quantidade de energia independentemente do intervalo de tempo entre pulsos de luz, garantindo simultaneamente que o tempo entre pulsos e a duração destes é suficientemente pequeno de modo a que o deslocamento das partículas não seja excessivo.

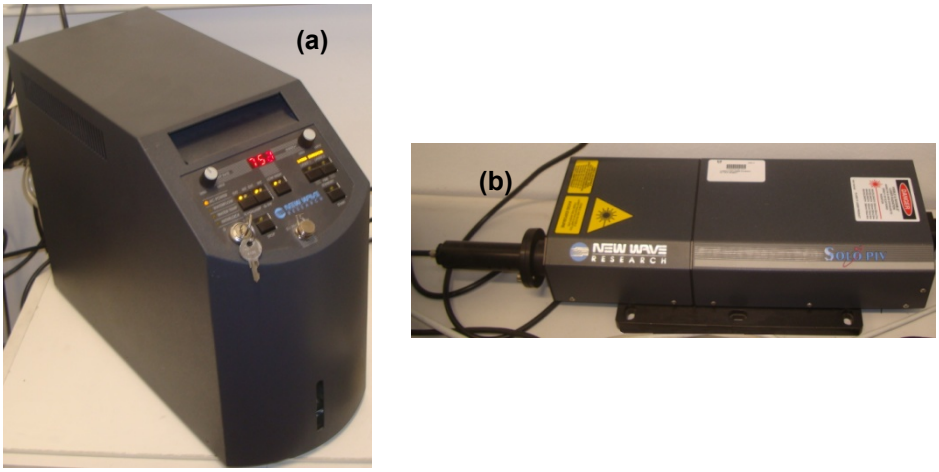


Figura 2.4 - (a) Corpo do laser; (b) Cabeça do laser.

As principais características deste são apresentadas na tabela 2.1.

Tabela 2.1 – Características técnicas do sistema de iluminação laser.

Modelo	Solo II
Frequência	15 Hz
Energia	30 mJ para 532 nm
Diâmetro do feixe	2,5 mm
Espaçamento temporal entre pulsos	3 - 5 ns
Divergência	< 3 mrad
Estabilidade direccional do feixe	< 100 µrad

2.2.2 Sistema óptico

O sistema óptico presente na instalação utilizada é constituído pelo microscópio, pela câmara CCD e pelos restantes componentes ópticos, filtro prismático e expansor do feixe laser. A correcta escolha de cada um destes elementos e a compatibilidade entre si condiciona sobremaneira a utilização da técnica com sucesso.

O microscópio utilizado na instalação é um microscópio invertido, modelo DM ILM, fornecido pela *Leica*®, contendo um conjunto de objectivas fornecidas pela mesma empresa. As características destas últimas são fornecidas na tabela 2.2. A integração do conjunto na instalação ficou a cargo da empresa *Dantec Dynamics*®.

As objectivas a utilizar devem garantir que a câmara capte com dimensões adequadas o objecto de estudo assegurando também que a abertura numérica destas tenha um valor suficientemente elevado de modo a que o plano focal seja relativamente estreito não prejudicando a captação de luz proveniente das partículas de menor dimensão.

Tabela 2.2 – Características técnicas do conjunto de objectivas; d_p – dimensão real do objecto a medir; d_e – dimensão efectiva de uma imagem adquirida.

Objectiva/Ampliação	NA (Abertura numérica)	Factor de escala (d_p/d_e)
N PLAN 5 x	0,12	0,199
N PLAN 10 x	0,25	0,099
HI PLAN 20 x	0,4	0,05
N PLAN 40 x	0,55	0,026

A câmara CCD utilizada é o modelo *FlowSense 2M* tendo sido fornecida pela *Dantec Dynamics*®. Este género de câmara é o adequado para a técnica micro-PIV graças à sensibilidade da sua matriz de sensores eléctricos individuais de luz (*pixel*) para captar a luminosidade emitida pelas partículas, ou seja, elevada precisão para identificar a posição destas. As principais características da câmara estão presentes na tabela 2.3.

Tabela 2.3 – Características técnicas da câmara CCD.

Modelo	FlowSense 2M
Resolução	1600 *pixel* x 1186 *pixel*
Frequência de *frame* simples	30 Hz
Frequência de *frame* duplo	15 Hz
Dimensões do *pixel*	7,4 µm x 7,4 µm
Tempo mínimo de intervalo	0,01 µs
Banda dinâmica	8 - 10 bit
$(\text{Sinal/Ruído})_{\text{óptico}}$	> 50 db

O expansor do feixe laser tem como principal função criar um cone de luz. O filtro prismático tem por objectivo garantir que apenas a luz com comprimento de onda de 532 nm seja reflectida e a luz com comprimento de onda de 575 nm seja transmitida. É muito importante garantir estas especificações pois o primeiro comprimento de onda corresponde ao espectro de emissão do laser e de absorção das partículas, enquanto o segundo se refere ao espectro de emissão das partículas e de absorção da câmara. Deste modo, optimiza-se a eficiência global do processo óptico, salvaguardando-se simultaneamente a integridade da câmara ao proteger os *pixels* da matriz dos possíveis danos provocados pela radiação incidente.

2.2.3 Componentes microfluídicos

2.2.3.1 Microcanais

Os microcanais utilizados como objecto de estudo encontram-se inseridos em *microchips*, tendo estes sido produzidos pela empresa *Biosurfit*®, parceira do projecto de investigação financiado pela FCT, no qual este trabalho se insere. Os componentes microfluídicos estudados são apresentados na figura 2.5, tendo sido para estes adoptada a nomenclatura R1 (canal recto 1), R2 (canal recto 2) e S1 (canal com expansão 1), sendo de salientar que os microcanais em estudo não apresentam expansão vertical.

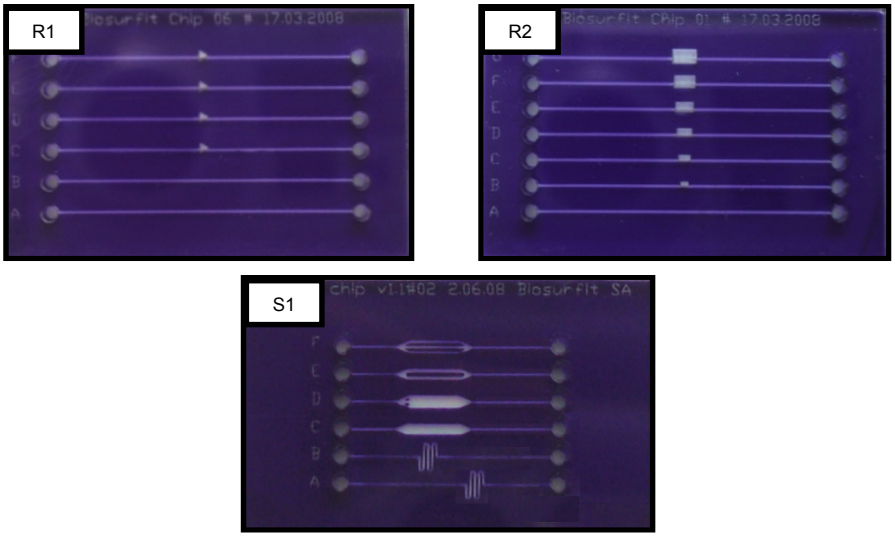


Figura 2.5 - Identificação dos *chips* com os microcanais em estudo; *Chip* R1 – microcanais rectos A e B; *Chip* R2 – microcanal Recto A; *Chip* S1 – microcanal com expansão C.

O sistema de eixos adoptado é apresentado na figura 2.6, sendo as dimensões longitudinais e transversais dos microcanais indicadas na figura 2.7. As dimensões verticais dos canais rectos e da expansão em estudo são para o canal R1-A – 125 µm, R1-B - 135 µm, R2-A - 130 µm e S1-C – 120 µm.

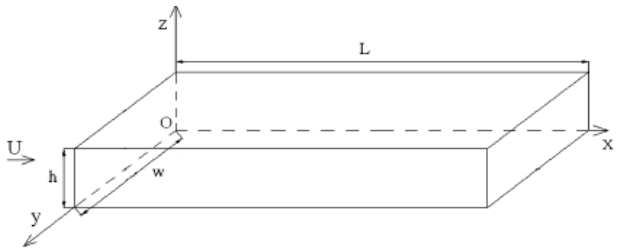


Figura 2.6 – Definição de eixos dos microcanais em estudo.

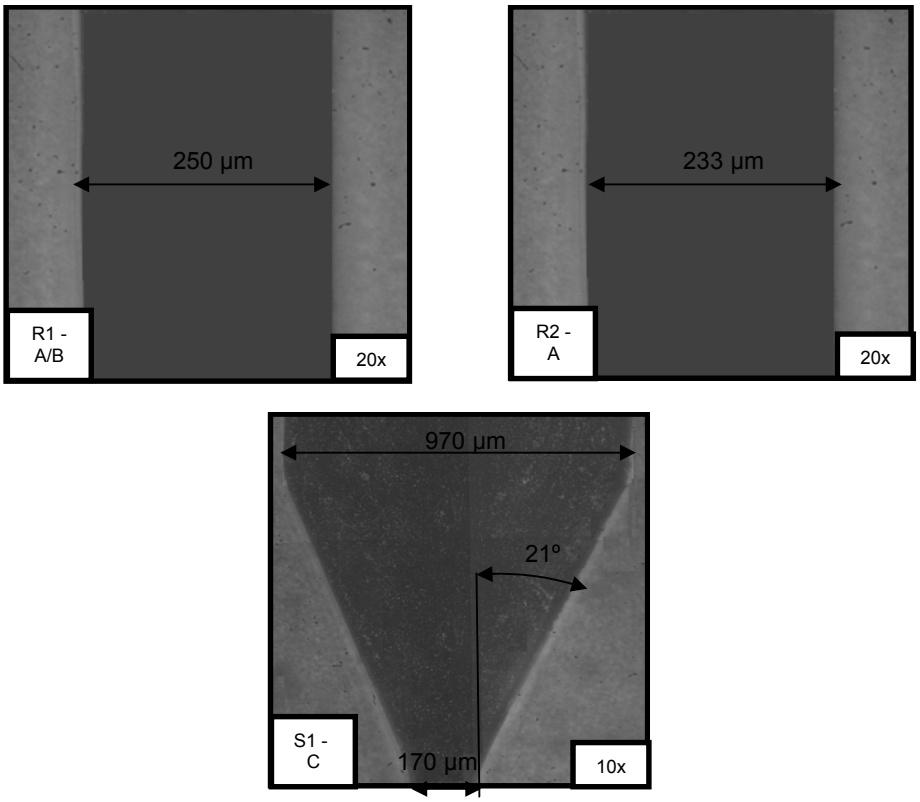


Figura 2.7 - Identificação das dimensões características dos microcanais utilizados.

2.2.3.2 Partículas traçadoras

No desenvolvimento deste trabalho recorreu-se a partículas traçadoras fluorescentes de geometria esférica com diâmetro médio de 1 µm. As partículas de carboxilo modificado têm o pico de absorção para o comprimento de onda de 535 nm e o de emissão para 575 nm. Estes dois parâmetros têm papel fundamental na escolha das partículas: para que o escoamento seja caracterizado de forma fidedigna é fundamental, por um lado, que o comprimento de onda de absorção das partículas seja idêntico ao comprimento de onda da fonte luminosa e, por outro, que o comprimento de onda de emissão das partículas traçadoras seja equiparável ao comprimento de onda de excitação da matriz de *pixels* da câmara.

As partículas foram fornecidas pela empresa *Invitrogen*™.

2.2.4 Sistema de sincronização

O processo de sincronização é assegurado por um *hardware* específico fornecido pela *National Instruments Inc*® que, conjuntamente com o *software FlowManager*® (versão 4.0) desenvolvido pela *Dantec Dynamics*®, permite efectuar um controlo preciso dos tempos de sincronização.

2.2.5 Microbomba

Como anteriormente descrito, o controlo do escoamento através da seringa, tubos de alimentação e microcanais é efectuado recorrendo a uma microbomba. Durante o desenvolvimento do trabalho, e por razões técnicas que se desenvolverão adiante, recorreu-se a duas microbombas, correspondendo estas ao modelo *NE-1000*, fornecido pela *New Era Pump Systems, Inc.* e ao modelo *Nexus 5000*, fornecido pela *Chemyx Syringe Pump Company,* que podem ser visualizadas na figura 2.8. As suas características são também apresentadas na tabela 2.4.

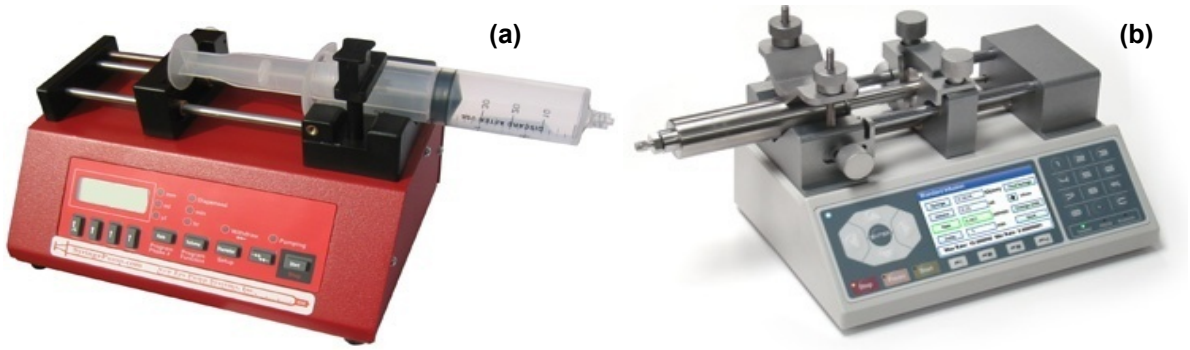


Figura 2.8 – Microbombas utilizadas(a) Microbomba *New Era Pump Systems Inc.*, modelo NE-1000; (b) Microbomba *Chemyx Syringe Pump Company*, modelo Nexus 5000.

Tabela 2.4 – Características das microbombas utilizadas.

Modelo	NE-1000	Nexus 5000
Volume da seringa	0,5 µl - 60 ml	0,5 µl - 140 ml
Força linear máxima	15,91 kg	90,9 kg
Precisão	+/- 1%	+/- 1%
Reprodutibilidade	+/- 0,1%	+/- 0,1%
Caudal mínimo*	0,73 µl/hora	0,001 µl/hora
Caudal máximo*	35 ml/minuto	200 ml/minuto

As seringas utilizadas (*BD Plastipak*) possuem um volume de 20 ml e têm um diâmetro de 19,2 mm, tendo os caudais mínimos e máximos debitados pelas bombas durante a elaboração do trabalho sido de 25 µl/minuto e 6 ml/minuto, respectivamente.

* Caudal mínimo e máximo medido com a seringa de menor e maior volume, respectivamente, permitido para cada bomba.

2.2.6 Algoritmos de correlação e validação

Os algoritmos de correlação e de validação utilizados no desenvolvimento deste trabalho encontram-se integrados no já referido *software* de aquisição, análise e pós-processamento *FlowManager*® (versão 4.0) desenvolvido pela *Dantec Dynamics*®. Atendendo ao facto de que as ferramentas por este *software* disponibilizadas se apresentam bastante completas no que se refere ao estudo dos escoamentos microfluídicos em questão, não houve a necessidade de desenvolver qualquer género de algoritmo de raiz.

Analisando as técnicas de correlação disponíveis, existem duas abordagens principais cuja qualidade deve ser avaliada, a *auto-correlation* e a *cross-correlation*. Atendendo ao facto da *cross-correlation* produzir, na generalidade dos casos, melhores resultados que a técnica *auto-correlation*, esta última foi preterida [74]. A *cross-correlation* é um método estatístico que tem como objectivo estimar a função deslocamento das partículas atendendo à intensidade de luz na área de análise nos dois instantes de captura de posição das partículas. Porém, a função deslocamento não pode ser retirada directamente da relação entre as posições inicial e final das partículas na área de análise, pois existe a função ruído proveniente do movimento das partículas que entram e saem da área de análise durante o intervalo de tempo em que se dá o deslocamento.

O método baseia-se na discretização das funções intensidade de luz na área de análise num instante t, $f(m,n)$, e $t + \Delta t$, $g(m,n)$, que correspondem respectivamente ao instante inicial e final de captura, na função *cross-correlation*. Na discretização, de modo a realizar os cálculos de forma computacionalmente eficiente e célere, recorreu-se às transformadas FFT (*Fast Fourier Transform*). Da discretização dos instantes $f(m,n)$ e $g(m,n)$ resulta a função ϕ_{fg} que permite estimar a função de correlação.

$$\phi_{fg}(m,n) = E\left[f(m,n), g(m,n)\right] \tag{2}$$

$$\phi_{fg}(m,n) = \sum_{k=-\infty}^{k=\infty} \sum_{l=-\infty}^{l=\infty} f(k,l).g(k+m, l+n) \tag{3}$$

Quando ϕ_{fg}, toma valores elevados, a correlação é verdadeira, traduzindo-se isto numa elevada correspondência entre as partículas presentes na área de análise no intervalo de tempo definido. À maior correspondência entre as funções $f(m,n)$ e $g(m,n)$ corresponde o maior valor de ϕ_{fg}, sendo este valor denominado pico de correlação. O posicionamento deste pico no plano de correlação corresponde ao deslocamento médio das partículas contidas na área de análise. Diametralmente oposto, um baixo valor na função significa tratar-se duma correlação aleatória, sendo pequena a correspondência entre partículas na área de análise, durante o intervalo de tempo em estudo.

Um factor que influencia a relação sinal/ruído, e logo a qualidade da função deslocamento obtida, está relacionado com o número de partículas presente em cada área de análise. Se este for elevado, o número de correlações verdadeiras será superior, reforçando a relação sinal/ruído. Assim, de modo a garantir resultados aceitáveis na utilização do método *cross-correlation*, é referido na

literatura a necessidade de existir uma quantidade mínima de cerca de cinco partículas por área de análise [74].

No que diz respeito à entrada/saída de partículas da área de análise no intervalo de tempo entre captura de *frames*, estas contribuem, como já foi referido, para o aumento do ruído, contribuindo para a correlação aleatória e diminuição da relação sinal/ruído, denominada na técnica PIV por perda de pares ou por queda de sinal.

Com o objectivo de melhorar os resultados obtidos com o uso da técnica micro-PIV, aumentando a relação sinal/ruído, foi proposto na literatura [21] um algoritmo denominado *average-correlation* definido pela equação (4) [75], em que N representa o número total de pares de imagens.

$$\phi_{médio}(x,y) = \frac{1}{N}\sum_{k=1}^{N}\phi_k(x,y) \tag{4}$$

Ao realizar a correlação média expressa pela equação (4) com base nas informações presentes num grande número de imagens, $\phi_k(x,y)$, está-se na prática a efectuar uma média temporal, atenuando fenómenos de carácter aleatório, respeitando a estacionaridade e laminaridade do escoamento (hipótese geralmente válida em escoamentos microfluídicos). Assim sendo, obtém-se simultaneamente um sinal de maior intensidade e um quociente sinal/ruído mais elevado. Este último facto explica-se com o cancelamento da informação de carácter aleatório por parte da média efectuada, podendo mesmo atingir-se teoricamente um quociente de valor infinito, ao atingir-se um valor nulo de ruído para um número infinito de imagens.

Apesar da localização do pico de correlação não sofrer grandes alterações no seu posicionamento ao longo dos pares de imagens adquiridos, o mesmo já não acontece com os vários subpicos que mudam de intensidade e posição ao longo dos registos. Aplicando este método a um número consideravelmente grande de pares de imagens fará com que o pico de correlação tome a sua posição real (aquela que consta no maior número de registos), enquanto que a média dos subpicos tenderá para zero (ver figura 2.9).

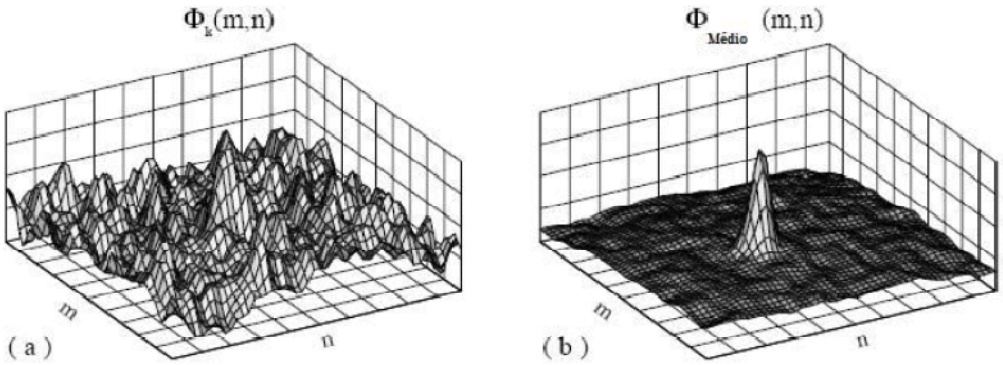


Figura 2.9 – Aplicação da *average-correlation*. (a) Resultado da *average-correlation* para um par de imagens; (b) Resultado da *average-correlation* para 101 pares de imagens [75].

No caso da validação de resultados é também possível identificar algoritmos de validação baseados em diferentes pressupostos. A aplicação da validação tem como objectivo detectar,

identificar e rejeitar vectores incorrectos existentes no mapa de vectores resultantes do ruído presente no plano de correlação. A rejeição destes vectores é fundamental, pois a sua presença representa uma fonte de erro para o processamento estatístico dos dados subsequentes. No presente trabalho utilizaram-se métodos de validação baseados na altura do pico de correlação, na percentagem de deslocamento de cada partícula relativamente à dimensão da área de análise e na média móvel das velocidades.

O método de validação baseado na altura de pico permite avaliar a qualidade da informação que dá entrada, sendo expressa pela equação (5).

$$\frac{MaiorPico}{SegundoMaiorPico} \geq k \tag{5}$$

Assim sendo, se esta for de boa qualidade, o pico associado ao sinal será maior comparativamente aos picos referentes ao ruído. De modo a que a equação acima indicada garanta o correcto funcionamento do algoritmo, a literatura defende que a constante k deve ter um valor maior ou igual a 1,2 [76].

O segundo método referido proporciona uma validação com base na comparação entre o deslocamento registado por cada partícula e a dimensão característica da área de análise na direcção do escoamento. Este método tem como objectivo garantir uma relação sinal/ruído aceitável. É referido na bibliografia [74] que uma partícula não deve registar um deslocamento superior a 25% (N/4) da dimensão da janela da lente (N). A aplicação deste método de validação tem maior relevo na zona central do escoamento, onde se registam as maiores velocidades de escoamento, logo, onde são registados os maiores deslocamentos no intervalo de tempo entre captura de *frames*.

Ao contrário dos métodos de validação atrás definidos, o método de validação baseado na média móvel das velocidades não afere individualmente a validade de cada vector ao critério em causa. Pelo contrário, é feita uma validação tendo em conta o campo global do escoamento, ou seja, cada vector é comparado com os adjacentes sendo subsequentemente avaliadas as diferenças. Este método permite criar continuidade do campo de velocidades apresentando também a vantagem de permitir a substituição dos vectores rejeitados por vectores mais verosímeis, e é traduzido pela equação (6), em que (*m,n*) representa a dimensão do domínio de influência sobre o vector a corrigir.

$$\bar{u}(x,y) = \frac{1}{m \times n} \sum_{i=x-\frac{m-1}{2}}^{x+\frac{m-1}{2}} \sum_{j=y-\frac{n-1}{2}}^{y+\frac{n-1}{2}} u(i,j) \tag{6}$$

Sendo o critério de rejeição do vector dado por $\left\| u(x,y) - \bar{u}(x,y) \right\| < k$, em que $k = \alpha \times \max \left\| u(x,y) - \bar{u}(x,y) \right\|$ e α corresponde a um factor de aceitabilidade cujo valor varia entre 0,01 e 0,1 de acordo com a literatura [77].

2.3 Procedimento experimental

2.3.1 Preparação dos fluidos estudados

Um dos objectivos do presente trabalho é comparar entre si o comportamento de vários fluidos newtonianos com diferentes valores de viscosidade com o de fluidos não-newtonianos quando escoados através de microgeometrias. O estudo particular dos fluidos não-newtonianos visa a simulação reológica do sangue, que é o fluido circulante no *Lab-on-a-chip* (ou *Lab-on-a-CD*), micro-sistema estudado no projecto financiado pela FCT no âmbito do qual a presente tese se insere.

Assim, utilizaram-se dois grupos de soluções. No primeiro inserem-se soluções de água desionizada com diferentes concentrações de glicerina, sendo a percentagem desta última tanto maior quanto maior a viscosidade desejada. Estas soluções, ao contrário do sangue, apresentam um comportamento newtoniano. Porém, podem ser consideradas bons simuladores do sangue quando o valor da sua viscosidade se aproxima da do sangue para elevadas taxas de deformação (zona onde o valor da viscosidade do sangue tende a estabilizar). No segundo grupo de soluções são adicionadas às soluções de água e glicerina já mencionadas, pequenas quantidades de goma *xanthan*. A goma *xanthan* é um polissacarídeo extracelular bastante estável produzido a partir da fermentação de glicose ou sacarose por acção da bactéria *Xanthomonas Campestris*. Esta substância, de complexo arranjo molecular, permite alterar a reologia das soluções, mesmo quando adicionado em pequenas quantidades. As soluções tomam um carácter não-newtoniano, particularmente pseudoplástico, comportamento reológico idêntico ao do sangue.

Os conjuntos de soluções utilizadas no desenvolvimento do estudo proposto encontram-se na tabela 2.5.

Tabela 2.5 – Soluções utilizadas nos ensaios experimentais com a técnica micro-PIV (percentagens em massa).

Solução	Reologia	% Água Desionizada	% Glicerina	% *Xanthan*
Agua_Pura	Newtoniano	100	0	0
Sol_Agua_Glic20,8		79,2	20,8	0
Sol_Agua_Glic41		59	41	0
Sol_Agua_Glic52		48	52	0
Sol_Agua_Xant0,025	Não-newtoniano	99,975	0	0,025
Sol_Agua_Glic35_Xant0,02		64,98	35	0,02

Para os ensaios a desenvolver as soluções foram preparadas em volumes de 10 ml recorrendo-se para medição das substâncias líquidas a uma pipeta graduada de 1 ml (erro associado de 0,005 ml) e para medição da goma *xanthan* a uma balança electrónica modelo TC-403 da *Denver Instruments Company* com capacidade de leitura desde 0,001g (erro associado de 0,0001g). De modo a tornar eficaz a mistura da goma nos restantes componentes e remoção das bolhas de ar recorreu-se a um aparelho de banho ultra-sons *Bandelin Sonorex*.

É, por fim, necessário definir a quantidade de partículas traçadoras a adicionar aos simuladores de sangue preparados, de modo a recolher informação fidedigna no que se refere ao comportamento cinemático do escoamento. A definição da concentração de partículas a utilizar é

muito importante, pois estas devem seguir o escoamento sem o perturbar, garantindo simultaneamente a qualidade das imagens adquiridas recorrendo à técnica micro-PIV. Uma pequena quantidade de partículas traduzir-se-á num fraco sinal do escoamento enquanto o excesso destas, induzirá a criação de ruído, resultando ambos os casos numa redução na qualidade dos resultados obtidos.

De acordo com a literatura, de modo a garantir a qualidade das imagens recolhidas para a solução Agua_Pura devem existir cerca de 5 partículas por área de análise de 64 *pixel* x 64 *pixel*. Desse modo recorreu-se a uma concentração de 0,001 $\mu l_{partículas}/\mu l_{água\ desionizada}$ [74]. Porém, por experimentação, verificou-se que para as soluções em que existe a adição de glicerina ou goma *xanthan* à solução, esta concentração revela-se insuficiente para fornecer um bom sinal.

Na tabela 2.6, apresentam-se os valores de *seeding* utilizados para cada solução, tendo estes valores sido determinados experimentalmente por tentativa/erro.

Tabela 2.6 – Concentração de partículas traçadoras para os simuladores de sangue em estudo.

Solução	Concentração de partículas traçadoras [$\mu l_{partículas}/\mu l_{solução}$]
Agua_Pura	0,001
Sol_Agua_Glic20,8	0,003
Sol_Agua_Glic41	0,004
Sol_Agua_Glic52	0,0045
Sol_Agua_Xant0,025	0,0045
Sol_Agua_Glic35_Xant0,02	0,0045

2.3.2 Caracterização dos fluidos estudados

De modo a caracterizar as soluções apresentadas na tabela 2.5 quanto à sua reologia, recorreu-se a um viscosímetro *DV-II+ PRO*® da *Brookfield Engineering* (ver figura 2.10) equipado com um *spindle* de medição de baixas viscosidades (0,1 – 200 cP).

Este aparelho funciona com base no controlo da velocidade de rotação (0,01 – 200 rpm) do *spindle* em contacto com o fluido sendo, a partir desta, definida a taxa de deformação, e a partir do binário imposto pelo fluido no sistema de mola do viscosímetro a tensão de corte e a viscosidade.

O aparelho apresenta uma precisão na medição do binário de 1% da escala mensurável e repetibilidade de 0,2%. Antes de efectuar qualquer leitura, é feita uma calibração da mola.

Figura 2.10 - Viscosímetro *Brookfield Engineering*, modelo *DVII+PRO*® [78].

A altura entre o disco móvel e a superfície estática depende do *spindle* utilizado, sendo o ajuste realizado com recurso a um sinal luminoso. Para o sistema *spindle*-prato utilizado, a amostra de fluido adequada é de 0,5 ml.

O controlo do viscosímetro é feito com recurso ao computador, utilizando para tal o *software Rheocalc*®, com o qual foi definido o procedimento de análise presente na tabela 2.7, resultando deste a apresentação de resultados presente na figura 2.11.

Os fluidos foram caracterizados a uma temperatura de 24 ºC.

Tabela 2.7 - Procedimento de caracterização dos simuladores de sangue.

Comando	Parâmetro definido
SSP (definição do *spindle* a utilizar)	CP-40
SSN (velocidade de rotação inicial)	0,5 rpm
LSC (definição do número de ciclos a realizar e início destes)	45
WTI (tempo de estabilização da leitura)	30 s
DSP (recolha dos dados)	-
SSI (incremento da velocidade de rotação)	1,5 rpm
LEC (fim de ciclo e subtracção de uma unidade ao valor em presente no comando LSC)	-
FSO (salvar em ficheiro)	-
RMR (apresentação de resultados)	-

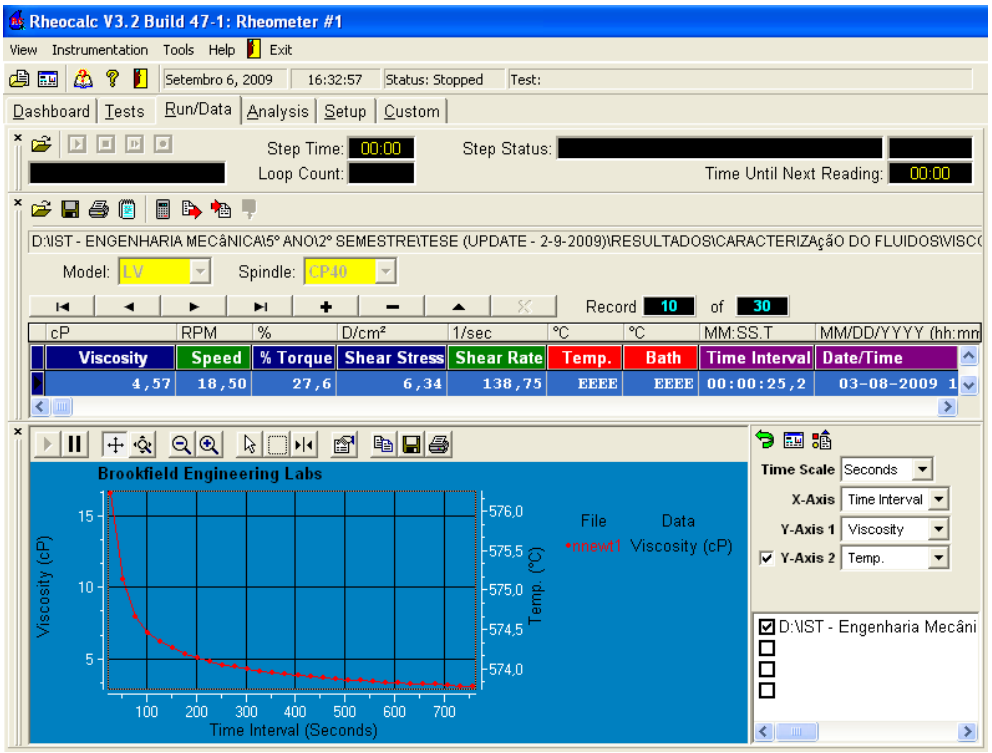


Figura 2.11 – Exemplo de resultados da caracterização dos simuladores de sangue no *software Rheocalc*®.

2.3.3 Verificação e calibração das microbombas

As primeiras experiências efectuadas com os fluidos newtonianos resultantes da mistura de água e glicerina com a microbomba de seringa *New Era Pump Systems, Inc.*, modelo NE-1000, permitiram identificar a sua incapacidade para fornecer caudais elevados. Este facto obrigou à aquisição de uma nova microbomba de seringa *Chemyx Syringe Pump Company*, modelo Nexus 5000.

Por esse motivo, na fase inicial do trabalho, de modo a limitar fontes de erro e garantir a obtenção de resultados experimentais verosímeis foi pois necessário efectuar uma verificação e calibração das microbombas. Este trabalho revelou-se fundamental pois a microbomba existente no laboratório apenas opera correctamente com água. Em complemento, o valor de caudal imposto é o que é utilizado na solução analítica dos perfis de velocidade para validação dos resultados experimentais (obtidos com recurso à técnica micro-PIV).

De modo a efectuar a verificação foram utilizadas seringas de 1 ml e 5 ml graduadas, um microcanal recto e um cronómetro digital. Nas microbombas foram impostos caudais, sendo então contabilizado o tempo que o menisco, pelo líquido criado na seringa, demorou a preencher um volume previamente definido, sendo então calculado o caudal efectivamente debitado pela microbomba dado pela equação (7), no qual V corresponde ao volume de controlo e t ao tempo de enchimento deste.

$$Q_{experimental} = \frac{V}{t} \tag{7}$$

Conhecendo à partida as características da microbombas, este procedimento tornou-se indispensável, pois os valores característicos apresentados são calculados para a água como fluido de trabalho e, atendendo à utilização de fluidos de viscosidade superior durante a elaboração do trabalho, os valores máximos e mínimos característicos poderiam ver os seus valores alterados. Como tal o procedimento anteriormente descrito foi efectuado para cada um dos fluidos descritos na tabela 2.5.

Os resultados de verificação e calibração das bombas obtidos apresentam-se na figura 2.12.

De realçar que para o fluido Sol_Agua_Glic52 a verificação realizada com recurso à microbomba NE-1000 da *New Era Pump Systems Inc.* foi feita somente até ao caudal de 1 ml/minuto, pois para valores de caudal superior a força produzida pelo motor da microbomba não era suficiente para debitar caudal de forma contínua. Para os fluidos Sol_Agua_Xant0,025 e Sol_Agua_Glic35_Xant0,02 a verificação foi feita somente para a bomba Nexus 5000 da *Chemyx Syringe Pump Company* visto que esta apresentou melhores resultados comparativamente ao modelo NE-1000 aquando da verificação com os fluidos newtonianos.

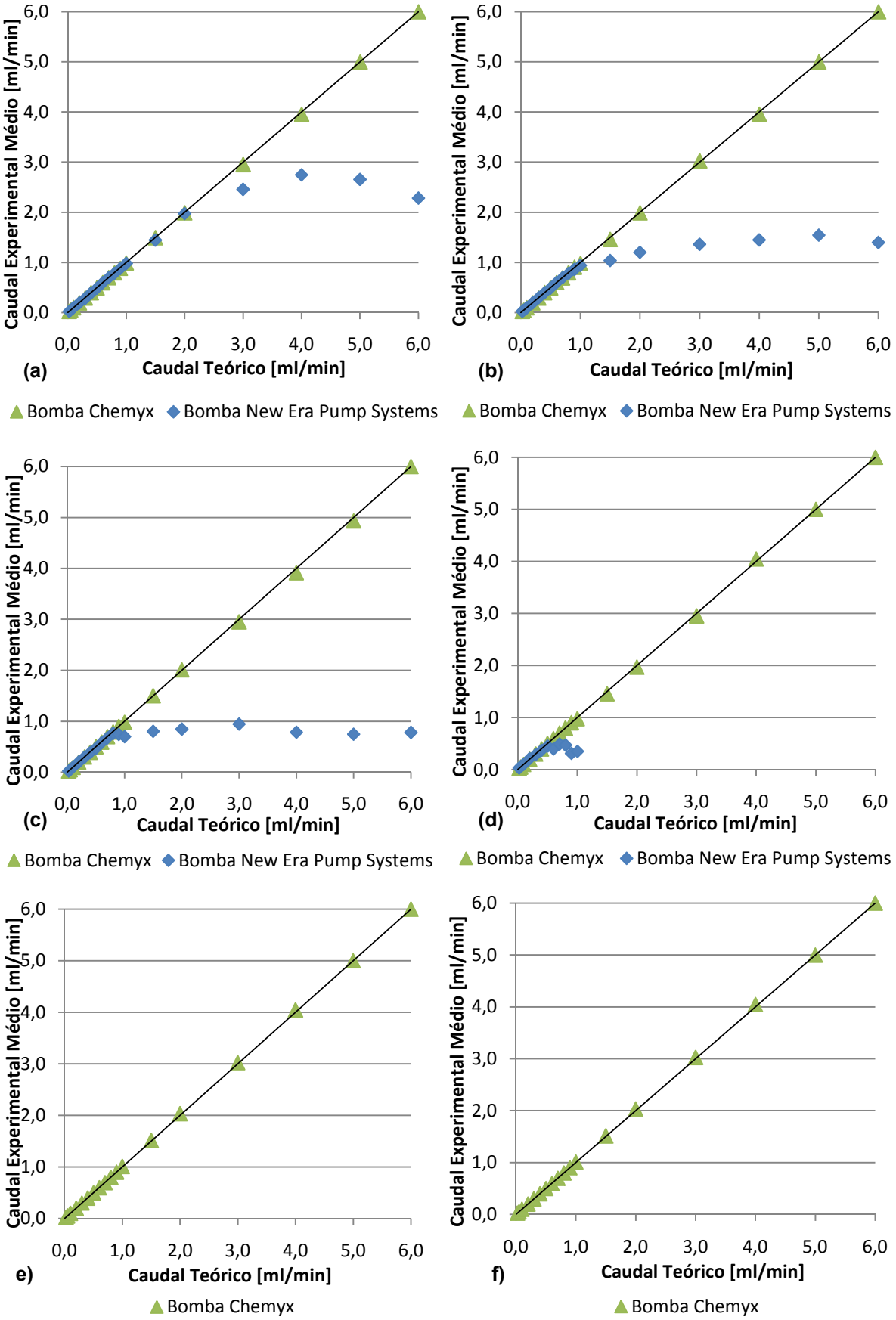


Figura 2.12 - Caudais debitados pelas microbombas: 18 caudais impostos para cada fluido, (a) fluido Agua_Pura, (b) fluido Sol_Agua_Glic20,8, (c) fluido Sol_Agua_Glic41, (d) fluido Sol_Agua_Glic52, (e) fluido Sol_Agua_Xant0,025, (f) Sol_Agua_Glic35_Xant0,02.

Da análise da figura 2.12, conclui-se que o modelo Nexus 5000 da *Chemyx Syringe Pump Company* apresenta melhores resultados, verificando-se elevada correspondência entre o caudal teórico e o caudal efectivamente debitado para todos os caudais e fluidos testados. Já no caso do modelo NE-1000 da *New Era Pump Systems Inc.,* verifica-se que no fluido de menor viscosidade (Agua_Pura) a elevada correspondência entre caudal teórico e caudal debitado não ocorre para toda a gama de caudais impostos, sendo claro o decréscimo de fiabilidade com o aumento da viscosidade do fluido.

Este facto é justificado com o aumento da força requisitada à bomba, associada ao aumento da perda de carga que ocorre com o aumento da viscosidade do fluido. A parcela da perda de carga por unidade de comprimento registada no microcanal em estudo pode ser calculada recorrendo à equação (8a) [79], na qual *h* e *w* correspondem respectivamente à altura e largura do canal, *Q* ao caudal imposto e *μ* à viscosidade do fluido em estudo.

$$\frac{\Delta p}{L} = \frac{12\mu Q}{wh^3}\left[1 - \sum_{n,impar}^{\infty} \frac{1}{n^5}\frac{192h}{\pi^5 w}\tanh\left(n\frac{\pi w}{2h}\right)\right]^{-1} \tag{8a}$$

A partir da equação (8a) pode-se determinar a força por unidade de comprimento de microcanal que é requisitada à bomba de modo a manter o caudal constante multiplicando a perda de carga por unidade de comprimento pela área da secção do microcanal, como se pode verificar na equação (8b).

$$\frac{\Delta F}{L} = \frac{12\mu Q}{h^2}\left[1 - \sum_{n,impar}^{\infty} \frac{1}{n^5}\frac{192h}{\pi^5 w}\tanh\left(n\frac{\pi w}{2h}\right)\right]^{-1} \tag{8b}$$

Os valores da equação anterior foram representados graficamente para o microcanal utilizado no sistema de verificação dos caudais debitados, que tem 233 μm de largura e 130 μm de altura, e para caudais utilizados na obtenção de resultados recorrendo à técnica micro-PIV. Na figura 2.13, é então possível constatar o expectável aumento da força requisitada à bomba por unidade de comprimento do microcanal, com o aumento do caudal e da viscosidade do fluido de trabalho, justificando os resultados apresentados na figura 2.12.

Atendendo aos resultados obtidos, a microbomba NE-1000 foi utilizada somente em ensaios micro-PIV para caudais em que a correspondência entre caudal teórico e caudal debitado é superior a 95% para todos os fluidos, o que se verificou para caudais iguais ou inferiores a 200 μl/minuto.

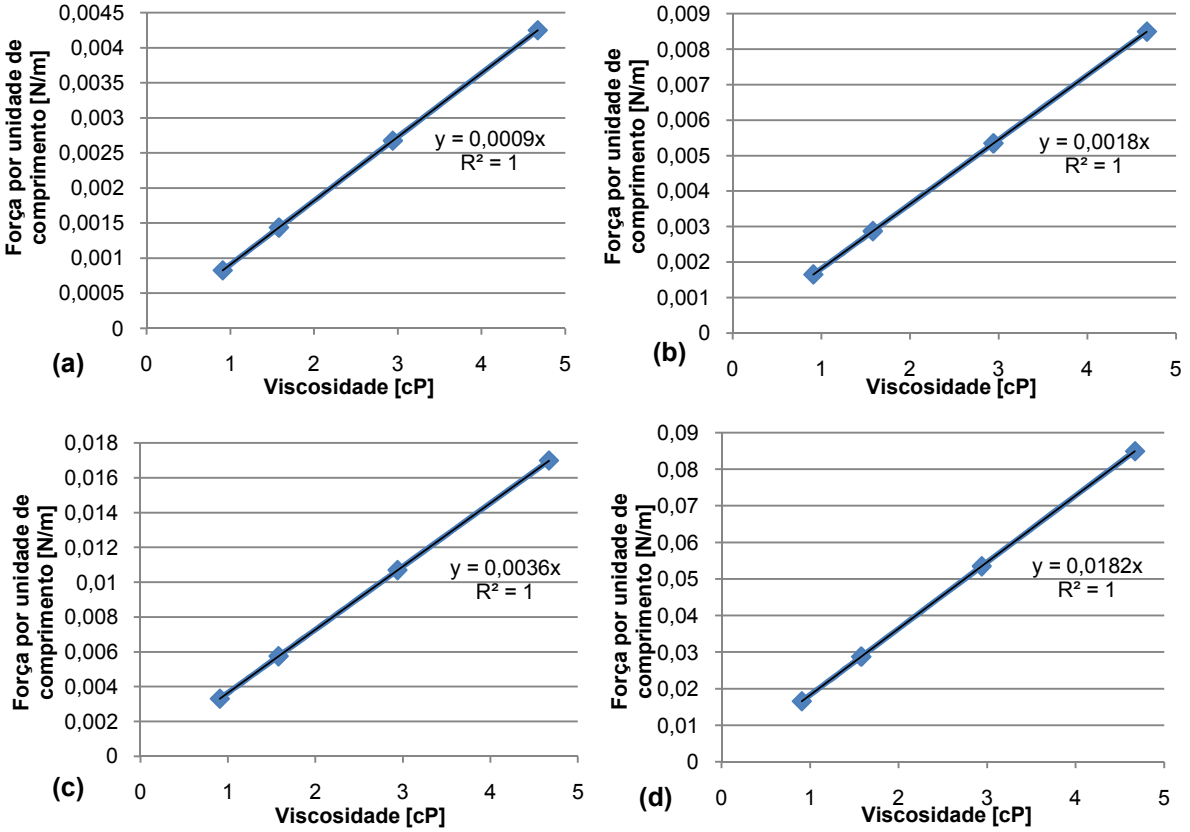


Figura 2.13 – Variação da força requisitada à microbomba com a viscosidade para diferentes caudais; (a) Caudal de 50 µl/minuto; (b) Caudal de 100 µl/minuto; (c) Caudal de 200 µl/minuto; (d) Caudal de 1000 µl/minuto.

2.3.4 Micro-PIV

O trabalho experimental com recurso à técnica micro-PIV pode ser separado em cinco fases diferentes: *setup* do equipamento, aquisição de dados, tratamento e processamento dos dados adquiridos, análise e validação dos vectores constituintes do mapa de vectores e determinação dos perfis de velocidade.

a) *Setup* do equipamento:

- Ligar a câmara CCD de modo a que, aquando da realização dos ensaios, esta se encontre à temperatura óptima de funcionamento.

- Construir o circuito microfluídico consistindo este na ligação entre a seringa associada à microbomba e os microcanais, recorrendo para tal a tubos de alimentação. A preparação do circuito deve ser feita de forma cuidadosa de modo a garantir a inexistência de fugas de líquido.

- Preparar a solução a utilizar no ensaio de acordo com a descrição presente na secção 2.3.1.

- Seleccionar a lente a utilizar. No desenvolvimento dos ensaios apresentados, recorreu-se à lente HI PLAN 20X para os canais rectos R1-A, R1-B e R2-A, e à lente N PLAN 10X para o canal com zona de expansão S1-C, tendo sido escolhidas por permitirem uma visualização completa e detalhada da zona a estudar.

- Colocar o *microchip* na platina do microscópio de modo a iniciar os ensaios.

b) Aquisição de dados:

- Definir os parâmetros da microbomba tais como o diâmetro interno da seringa e o caudal que se pretende debitar e accioná-la. Para os ensaios realizados, utilizaram-se os caudais de 50 µl/minuto, 100 µl/minuto, 200 µl/minuto e 1000 µl/minuto.

- Definir no *software WinPOS* o posicionamento da câmara relativamente ao microcanal em análise.

- Recorrendo ao *software FlowManager®*, após a definição neste dos parâmetros de aquisição (foram utilizadas temporizações entre frames do intervalo 2 a 150 µs e uma taxa de repetição de 15 Hz), realizar uma pré-visualização do escoamento, recorrendo à definição de uma malha com espaçamento idêntico à dimensão duma área de análise. Nesta, analisa-se visualmente o cumprimento dos seguintes critérios:

- existência de um valor mínimo de cinco partículas por área de análise.

- o deslocamento das partículas deve corresponder, no máximo, a 25% da dimensão característica da área de análise.

Se algum destes dois critérios não for preenchido, alguns parâmetros terão de ser alterados. Se o primeiro não for cumprido, dever-se-á alterar a concentração de partículas traçadoras presente na mistura em estudo. Caso seja o segundo critério a não ser verificado, ter-se-á de alterar a resolução temporal máxima da medição, sendo esta traduzida pelo intervalo de tempo entre pulsos de laser.

- Proceder à aquisição de imagens recorrendo à câmara CCD e subsequente envio destas para o programa *FlowManager®*. O número de imagens adquiridas deve ser suficiente para aplicar critérios que analisem e eliminem a presença de informações de carácter aleatório que dão origem a ruído, na análise estatística dos dados. Como tal, no trabalho desenvolvido, adoptou-se o valor de 100 pares de imagens por análise.

c) Tratamento e processamento dos dados adquiridos:

Neste estágio, as imagens gravadas no *FlowManager®* sofrem um processo de análise e tratamento com o objectivo de determinar o campo de vectores a utilizar nos resultados finais.

- Com base numa das imagens adquiridas no processo de recolha de dados, é criada uma máscara com o objectivo de eliminar zonas onde não exista escoamento, traduzindo-se na prática como a exclusão das informações recolhidas na zonas exteriores e de parede do microcanal. Esta máscara é posteriormente aplicada às restantes imagens.

Este passo assume fulcral importância pois toda a informação recolhida na zona exterior ao canal corresponde a uma fonte de ruído que se poderá traduzir num aumento do erro na fase de tratamento de dados, degradando assim a qualidade dos resultados.

- O valor médio de intensidade luminosa encontra-se normalmente associado a objectos como as paredes do canal, emitindo estas um valor luminoso de posicionamento e intensidade constante para todas as imagens. Como tal, determina-se o valor médio de intensidade luminosa das

imagens adquiridas, subtraindo-o a cada uma destas, eliminando informação que contribui somente para o aumento de ruído.

Esta análise tem um papel complementar relativamente ao passo antecessor visto que esse se baseava somente em inspecção visual garantindo somente a remoção de efeitos mais notórios. Assim sendo, a aplicação destes dois passos é fundamental para a obtenção da melhor qualidade possível nas imagens adquiridas visto que as fontes de ruído que visam são diferentes.

- Após o tratamento das imagens, aplica-se o algoritmo de correlação *average correlation*. A opção por este método em detrimento de outros métodos disponíveis no *software* justifica-se com o facto de este produzir melhores resultados aquando da presença de um número de partículas por área de análise inferior ao recomendado, o que beneficia os resultados especialmente nas zonas junto à parede, onde a técnica micro-PIV apresenta maiores limitações. Este método assenta na hipótese de que o escoamento em análise é laminar e estacionário (hipótese válida para os escoamentos microfluídicos aqui estudados), fazendo uma média da informação contida em cada área de análise ao longo de um período de tempo considerável, minimizando assim a influência de informação de carácter aleatório responsável pela criação de ruído.

Experimentalmente, por tentativa/erro, determinou-se que a dimensão da área de análise que melhores resultados permitia obter era a de 64 *pixel* x 64 *pixel*.

- Simultaneamente ao processo de cálculo apresentado na alínea anterior, aplica-se o método *overlap*. Este método tem como objectivo contrariar o problema já referido de diminuição da qualidade de sinal criado pela *perda de pares*. Para tal, este método contabiliza a informação não só presente na área de análise em estudo, mas também parte da informação contida nas áreas de análise adjacentes, optimizando a informação contida em toda a imagem. Existe, porém, a necessidade de criar um compromisso entre o tempo de cálculo, que aumenta com este género de abordagem, e a qualidade de resultados a obter.

No trabalho desenvolvido recorreu-se a um *overlap* de 50%-50%, ou seja, foi considerada 50% da informação contida nas áreas de análise vizinhas vertical e horizontalmente à área de análise em estudo.

O resultado exemplificativo de um processamento de dados pode ser visto na figura 2.14.

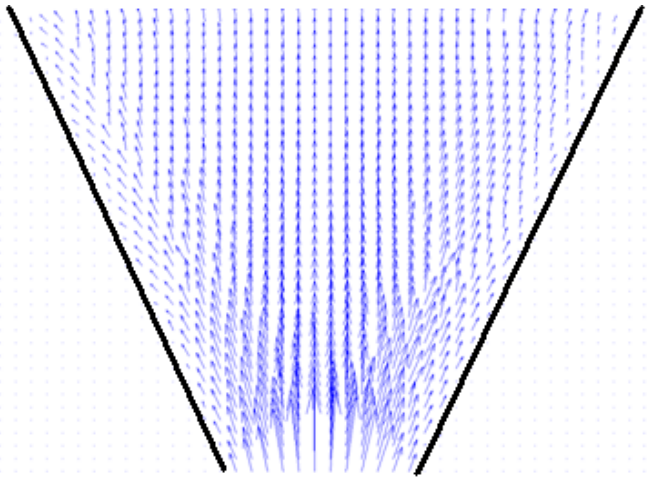


Figura 2.14 – Campo de vectores resultante da aplicação do processamento dos dados adquiridos num ensaio.

d) Validação dos vectores constituintes do mapa de vectores:

- Do método de processamento de dados atrás descrito obtém-se um resultado cuja validação é fundamental, visto que o tratamento aplicado gera sempre um resultado, independentemente do facto deste ter ou não significado físico. Como tal, aplicam-se os métodos descritos na secção 2.2.6, em particular o método baseado na altura do pico de correlação ou da média móvel.

e) Determinação dos perfis de velocidade:

- De modo a caracterizar cinematicamente os escoamentos em estudo obtêm-se a partir da solução geral resultante da aplicação da técnica micro-PIV perfis de velocidade em diferentes zonas do canal em estudo. Se a qualidade destes se revelar verosímil e se for esse o interesse, outros géneros de análise poderão ser aplicados, como disso são exemplo as isovelocidades ou as linhas de corrente, entre outros.

2.4 Erros associados aos procedimentos aplicados

Associados aos procedimentos descritos na secção 2.3 existem erros cuja potencial influência nos resultados tem de ser avaliada.

2.4.1 Erros associados à verificação das microbombas

De modo a analisar os erros associados à verificação e calibração das microbombas recorreu-se à utilização da série de Taylor para duas fontes de erro independentes (volume e tempo) [80]. Nesta análise desprezaram-se os erros sistemáticos associados à acção humana visto que estes manterão um valor constante já que é o mesmo indivíduo a accionar os aparelhos utilizados.

Sendo Q = f (V, t), como pode ser verificado na equação (1), o erro absoluto é dado por:

$$e_{absoluto} = \sqrt{\left(\frac{\partial Q}{\delta V}\right)^2 e_{volume}{}^2 + \left(\frac{\partial Q}{\delta t}\right)^2 e_{tempo}{}^2} = \sqrt{\left(\frac{1}{t}\right)^2 e_{volume}{}^2 + \left(\frac{-V}{t^2}\right)^2 e_{tempo}{}^2} \qquad (9)$$

Na equação (9) e_{volume} corresponde a metade da menor divisão da escala da seringa utilizada (0,005 ml), e_{tempo} ao erro associado ao cronómetro digital (0,01s), *V* ao volume de controlo e *t* ao tempo de enchimento deste último.

O erro relativo em percentagem é dado por:

$$e_{relativo} = \frac{e_{absoluto}}{Q_{experimental}} \times 100 \qquad (10)$$

Aplicando as equações (9) e (10) obtêm-se os erros absoluto e relativo para cada ensaio, determinando-se o valor médio destes para cada caudal recorrendo às equações (11) e (12).

$$\overline{e_{absoluto}} = \frac{\sum_{i=1}^{n} e_{absoluto_i}}{n} \tag{11}$$

$$\overline{e_{relativo}} = \frac{\overline{e_{absoluto}}}{Q_{experimental}} \tag{12}$$

Os resultados resultantes da análise efectuada para as duas bombas e para os diferentes fluidos simuladores encontra-se no Anexo 1, tendo-se verificado um erro relativo máximo de 2,5%. Estes erros são praticamente desprezáveis pelo que se pode afirmar que as microbombas são utilizáveis na técnica micro-PIV dentro dos caudais em que se verifica uma elevada correspondência entre caudal debitado e caudal teórico.

2.4.2 Erros associados à técnica micro-PIV

Na bibliografia consultada sobre a técnica em causa, foram encontradas várias referências a erros associados à utilização desta. Os erros referenciados são, grande parte das vezes, referidos como desprezáveis [21, 75, 81].

Para o caso em estudo, e seguindo de perto o trabalho [81], foram feitas as devidas aferições confirmando que também para as condições utilizadas os erros associados ao efeito da inércia no deslocamento de uma partícula, ao movimento *Browniano* no deslocamento das partículas, à detecção da posição da partícula pelo processo estatístico de cálculo, à detecção de movimento de ordem superior à primeira se revelam desprezáveis. É porém de salientar a possível influência do erro proveniente de tridimensionalidades do campo de velocidades do escoamento, especialmente nos casos em que o escoamento se encontra em desenvolvimento visto que, a técnica mede projecções da velocidade e não as velocidades que efectivamente se verificam nesse caso. Outra fonte de erro é a baixa razão sinal/ruído que ocorre junto às paredes dos microcanais.

Capítulo 3

Apresentação e discussão dos resultados

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos da caracterização dos vários fluidos estudados, incluindo simuladores de sangue, descritos na tabela 2.5. Para tal, foi utilizado um viscosímetro e *software* associado. Posteriormente apresentar-se-ão os resultados provenientes da aplicação da técnica micro-PIV no estudo do escoamento dos fluidos anteriormente referidos em microcanais com situações de escoamento desenvolvido em secção recta e de escoamento em desenvolvimento numa expansão.

3.1 Caracterização dos fluidos estudados

Como referido na secção 0, para a caracterização dos fluidos estudados, incluindo simuladores de sangue, recorreu-se a um viscosímetro DV-II+ PRO® da *Brookfield Engineering Laboratories*, cujo funcionamento se baseia no binário medido por um sistema de mola ligado a um disco móvel com velocidade de rotação constante. O disco móvel encontra-se em contacto com o fluido em estudo sobre uma superfície estática, tal como pode ser observado na figura 3.1.

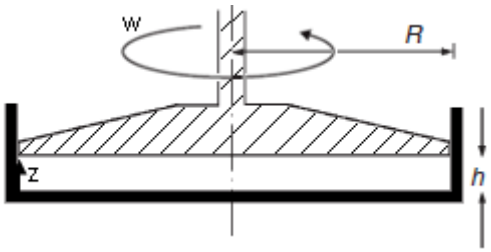


Figura 3.1 – Representação esquemática do funcionamento do viscosímetro.

A taxa de deformação na configuração apresentada na figura 3.1 pode ser considerada independente de z, sendo dada pela equação (16). Assumindo que o vector da velocidade num sistema de coordenadas circulares é dado pela equação (13), onde *r* corresponde ao valor da distância na direcção radial do disco em rotação e w à velocidade de rotação disco móvel.

$$v_\theta(r,z) = rw(z)\,, \qquad v_r = v_z = 0 \tag{13}$$

Como v_θ é linearmente dependente de r, então a componente $\dot{\gamma}_{r\theta}$ desaparece do tensor da taxa de deformação, como se pode verificar através do produto diádico seguinte.

$$\dot{\gamma} = \frac{1}{2}\left[(\nabla v) + (\nabla v)^T\right] = \frac{1}{2}\left[\begin{pmatrix} 0 & \frac{\partial v_\theta}{\partial r} & 0 \\ -\frac{v_\theta}{r} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{\partial v_\theta}{\partial z} & 0 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} 0 & -\frac{v_\theta}{r} & 0 \\ \frac{\partial v_\theta}{\partial r} & 0 & \frac{\partial v_\theta}{\partial z} \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}\right] = \frac{1}{2}\begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \frac{\partial v_\theta}{\partial z} \\ 0 & \frac{\partial v_\theta}{\partial z} & 0 \end{pmatrix} \quad (14)$$

Realizando o balanço da quantidade de movimento:

$$\frac{\partial^2 v_\theta}{\partial z^2} + \frac{\partial^2 v_\theta}{\partial r^2} - \frac{v_\theta}{r^2} = 0 \quad (15)$$

E admitindo que $\frac{\partial^2 v_\theta}{\partial r^2} = 0$, visto não existir inflexão do perfil de velocidades ao longo da direcção radial, é possível definir a taxa de deformação como sendo independente de z, o que, a partir da equação (13) conduz a:

$$\frac{\partial v_\theta}{\partial z} = \dot{\gamma}_{\theta z} = \dot{\gamma}_{z\theta} = \frac{rw}{h} \quad (16)$$

Como se pode observar, a taxa de deformação varia na direcção radial. Sendo $\dot{\gamma}_R$ a taxa de deformação no limite do disco móvel, r = R, e atendendo ao facto de nesta técnica a tensão de corte ser medida na zona exterior do disco móvel tem-se:

$$\frac{\dot{\gamma}}{\dot{\gamma}_R} = \frac{r}{R} \quad (17)$$

O binário necessário para manter o escoamento estacionário é dado por:

$$T = 2\int_0^\pi \int_0^R \tau_{z\theta} r^2 dr d\theta = 2\pi \int_0^R \mu \dot{\gamma} r^2 dr = \frac{2\pi R^3}{\dot{\gamma}_R^{\,3}} \int_0^{\dot{\gamma}_R} \mu \dot{\gamma}^3 \, d\dot{\gamma} \quad (18)$$

Atendendo a que para os fluidos newtonianos a viscosidade é independente da taxa de deformação, tem-se:

$$\mu = \frac{2T}{\pi R^3 \dot{\gamma}_R} \quad (19)$$

O cálculo da viscosidade aparente de fluidos não-newtonianos com base nos valores de binário e da taxa de deformação lidos num viscosímetro com o princípio de funcionamento de discos paralelos é dada pela equação (20) presente em Chhabra, *et al.* [25].

$$\eta(\dot{\gamma}_R) = \frac{T}{2\pi R^3 \dot{\gamma}_R}\left(3 + \frac{1}{2\pi R^3}\frac{d\ln T}{d\ln \dot{\gamma}_R}\right) \tag{20}$$

De modo a avaliar a viscosidade de um fluido desconhecido é necessário obter um número considerável de valores de binário e de velocidade de rotação, e por sua vez de $\dot{\gamma}_R$, para conhecer com precisão o comportamento da parcela $d\ln T / d\ln \dot{\gamma}_R$. Verifica-se na literatura [25] que para o caso dos simuladores com comportamento pseudoplástico, $d\ln T / d\ln \dot{\gamma}_R < 1$, traduzindo-se uma incerteza de 10% nesta parcela, num erro muito reduzido na viscosidade.

O recurso ao viscosímetro, cuja metodologia de funcionamento se encontra acima descrita, permitiu a obtenção da caracterização dos fluidos em estudo.

A figura 3.2 mostra a viscosidade dos fluidos newtonianos estudados bem como de três amostras de sangue, com diferentes percentagens de eritrócitos, em função da taxa de deformação. De salientar também a adopção da unidade cP (centipoise) que, não sendo do sistema de unidades SI (Pa.s), é a mais comum na bibliografia consultada, equivalendo 1 cP a 0,001 Pa.s.

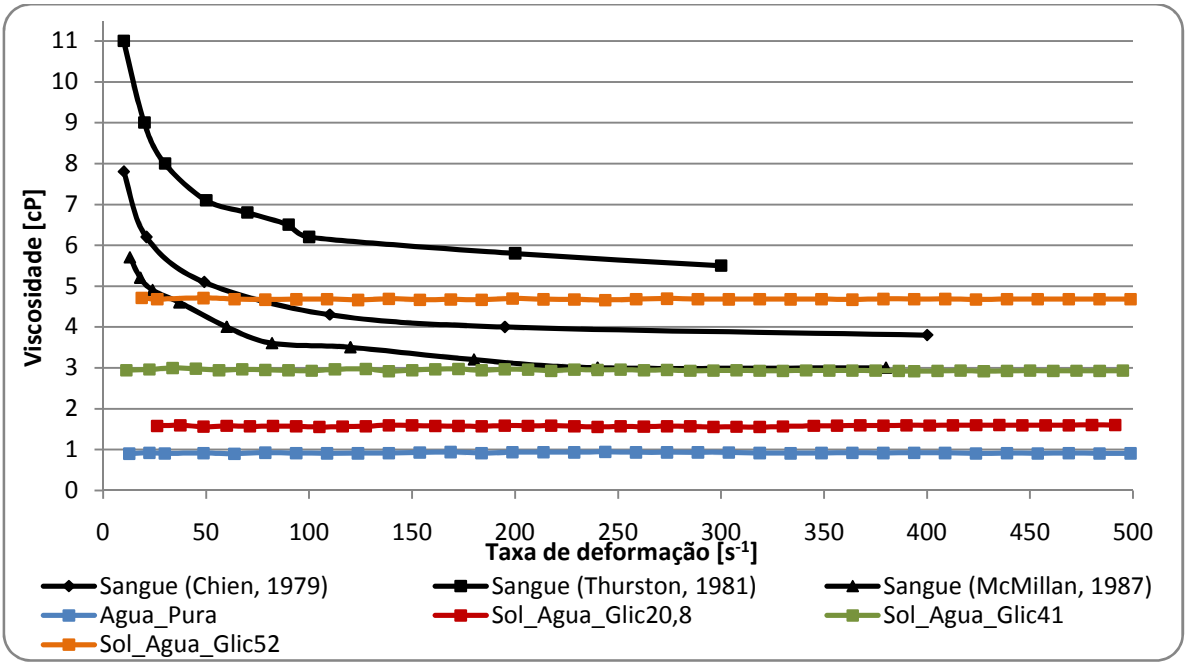


Figura 3.2 – Variação da viscosidade dos fluidos newtonianos com a taxa de deformação [82 – 84].

A viscosidade dos fluidos estudados, representada na figura 3.2, mantém-se constante com a variação da taxa de deformação, comportamento reológico característico dos fluidos newtonianos. Por outro lado, o sangue apresenta um comportamento não-newtoniano, mais precisamente pseudoplástico, diminuindo a viscosidade com o aumento da taxa de deformação.

Como se pode verificar o fluido Agua_Pura não aproxima o comportamento viscoso de nenhuma das amostras de sangue de referência. Por se tratar de um fluido constituído na sua totalidade por água desionizada será considerado neste trabalho como fluido de referência.

O fluido Sol_Agua_Glic20,8, apesar de também não apresentar comportamento semelhante aos dados do sangue apresentados, tem a particularidade de apresentar uma viscosidade dentro da gama da viscosidade do plasma humano (1,16 cP a 37ºC – 1,92 cP a 20ºC). Como o plasma é um fluido com carácter newtoniano, o fluido Sol_Agua_Glic20,8 representa bem o comportamento deste para toda a gama de taxa de deformação.

O fluido Sol_Agua_Glic41 apresenta, para uma taxa de deformação superior a 200 s^{-1}, um comportamento muito semelhante aos dados recolhidos por McMillan, *et al.* [84]. Note-se que é próximo deste valor que, para o sangue analisado, se verifica a estabilização do valor da viscosidade aparente, característica do sangue para elevadas taxas de deformação.

O fluido Sol_Agua_Glic52, apesar de não possuir um comportamento aproximado a nenhum dos dados recolhidos sobre o comportamento do sangue, apresenta um valor de viscosidade intermédio entre os diferentes dados do sangue recolhidos. A viscosidade deste fluido, apesar de constante com a taxa de deformação, apresenta um valor característico da viscosidade aparente do sangue a baixas taxas de deformação.

Refere-se então que, apesar de possuírem uma viscosidade constante com a variação da taxa de deformação, alguns fluidos newtonianos poderão constituir-se como bons simuladores de sangue para algumas gamas de taxa de deformação.

A figura 3.3 mostra a variação da viscosidade aparente dos simuladores de sangue não-newtonianos com a taxa de deformação, permitindo estabelecer um paralelismo com os dados provenientes da análise de sangue com diferentes taxas de eritrócitos.

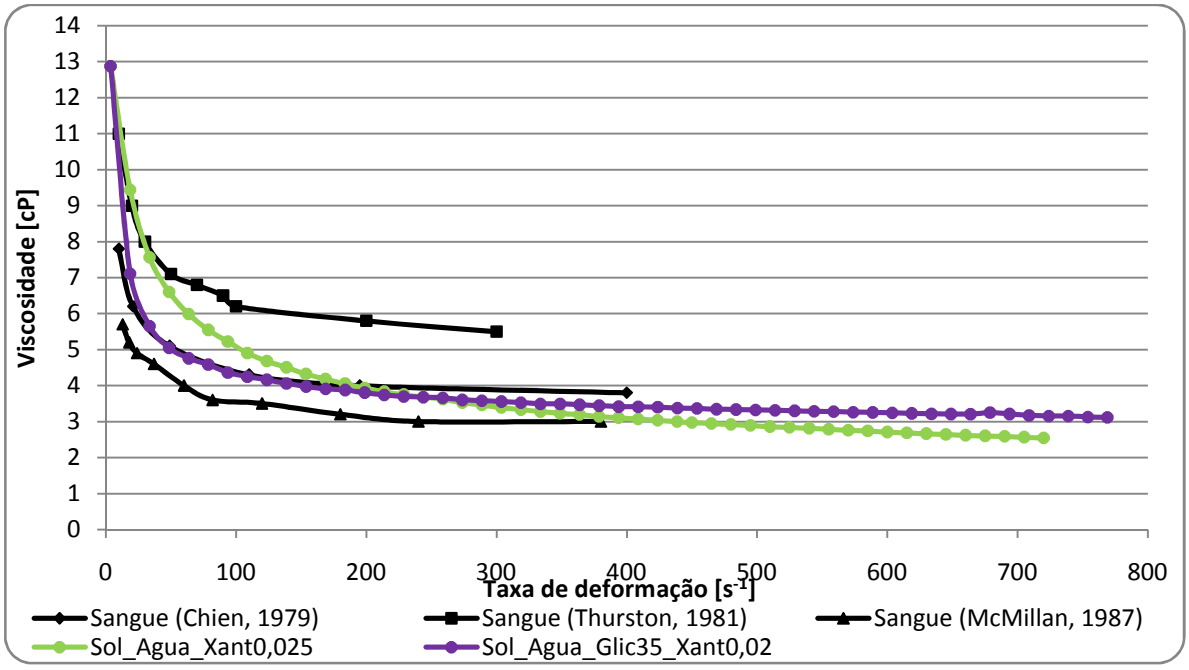


Figura 3.3 – Variação de viscosidade de simuladores de sangue não-newtonianos com a taxa de deformação [82 – 84].

Os simuladores não-newtonianos apresentam uma reologia semelhante ao sangue, possuindo então um comportamento pseudoplástico, ou seja, regista-se um decréscimo da viscosidade aparente com o aumento da taxa de deformação. Este efeito é mais acentuado a baixas taxas de deformação, verificando-se para taxas mais elevadas uma quase estabilização do valor da viscosidade, tomando os simuladores propriedades semelhantes aos fluidos newtonianos. Os valores de viscosidade aparente dos dois simuladores encontram-se, para todas as taxas de deformação comparáveis com os valores de referência do sangue (gama 0 – 400 s^{-1}), na gama de valores de viscosidade do sangue.

De salientar o facto de o simulador Sol_Agua_Xant0,025 se aproximar dos dados recolhidos por Thurston, *et al.* [83], para uma taxa de deformação no intervalo 1 – 30 s^{-1}, enquanto a solução Sol_Agua_Glic35_Xant0,02 se aproxima dos valores de viscosidade do sangue medidos por Chien, *et al.* [82], na gama de taxa de deformação 20 – 200 s^{-1}.

O comportamento pseudoplástico é garantido com a adição de goma *xanthan*, mesmo que em pequenas quantidades. Verifica-se um comportamento pseudoplástico mais acentuado no simulador Sol_Agua_Xant0,025 comparativamente ao Sol_Agua_Glic35_Xant0,02, tendo este último um decaimento de viscosidade mais abrupto, estabilizando a sua viscosidade aparente para uma taxa de deformação mais baixa. Tais comportamentos são justificados com o facto de a concentração de *xanthan* no simulador Sol_Agua_Xant0,025 ser ligeiramente superior e por este ser constituído somente por água e goma *xanthan*, enquanto o simulador Sol_Agua_Glic35_Xant0,02 possui também uma percentagem de glicerina. Está documentado que a presença de um solvente newtoniano de elevada viscosidade atenua o efeito pseudoplástico da goma *xanthan* [72].

Na figura 3.4 encontra-se representada a tensão de corte dos fluidos newtonianos em função da taxa de deformação.

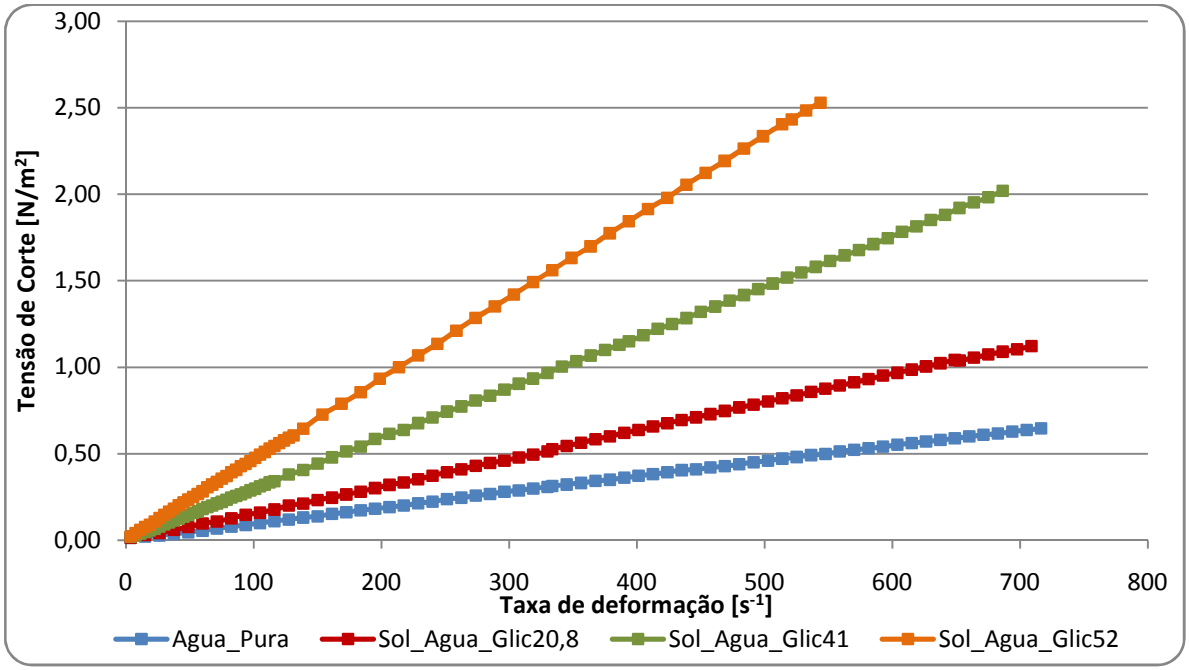


Figura 3.4 - Variação da tensão de corte de fluidos newtonianos com a taxa de deformação.

O comportamento apresentado pelos fluidos em estudo adequa-se ao comportamento descrito para os fluidos newtonianos na secção 1.2.2 visto que a tensão de corte varia de forma linear com a taxa de deformação e apresenta ordenada nula na origem. É assim possível definir para cada fluido, uma constante de proporcionalidade, correspondente à viscosidade do fluido.

Assim sendo, o comportamento destes fluidos pode ser caracterizado por uma função do tipo,

$$\tau = \mu \dot{\gamma} \tag{21}$$

Em que τ corresponde à tensão de corte, $\dot{\gamma}$ à taxa de deformação e μ à viscosidade, apresentando esta um valor constante como se pode verificar na figura 3.2.

No caso da figura 3.5 estão representadas as curvas de variação da tensão de corte dos simuladores de sangue não-newtonianos em função da taxa de deformação. Estão também representadas a variação da tensão de corte com a taxa de deformação do fluido de referência (Agua_Pura) bem como a variação da tensão de corte com a taxa de deformação dos equivalentes newtonianos dos simuladores Sol_Agua_Xant0,025 e Sol_Agua_Glic35_Xant0,02 calculadas com base no declive inicial das curvas que caracterizam o seu comportamento.

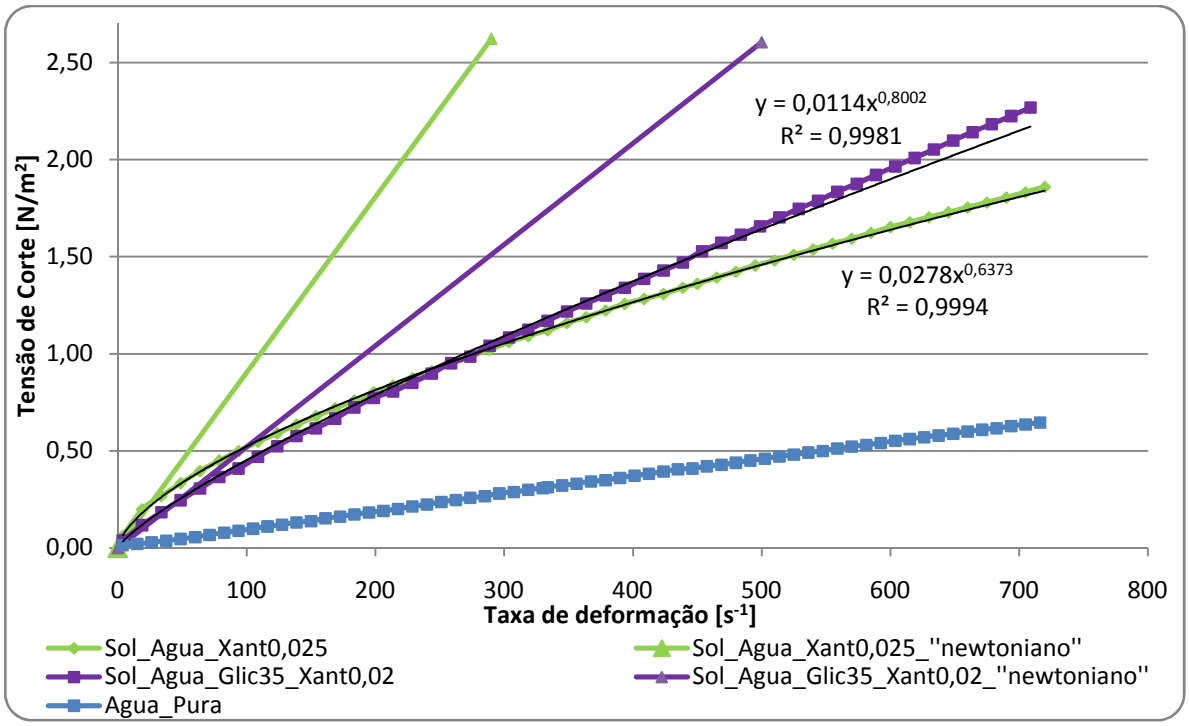


Figura 3.5 - Variação da tensão de corte de simuladores de sangue não-newtonianos com a taxa de deformação.

Como se pode constatar, a tensão de corte de ambos os simuladores não-newtonianos aumenta com a taxa de deformação, diminuindo, porém, o declive da curva. O comportamento marcadamente não-newtoniano está especialmente patente aquando da comparação das curvas dos

simuladores com as rectas de apoio dos fluidos simuladores, designadas Sol_Agua_Xant0,025_"newtoniano" e Sol_Agua_Glic35_Xant0,02_"newtoniano", calculadas a partir do declive inicial das curvas não-newtonianas, apresentando um comportamento newtoniano, com a variação da tensão de corte de forma linear com a taxa deformação. Quando comparado com o fluido newtoniano de referência, Agua_Pura, verifica-se que a tensão de corte dos simuladores não-newtonianos é sempre superior à da água pois, mesmo com a diminuição do declive com o aumento da taxa de deformação, a viscosidade aparente destes apresenta sempre um valor superior à viscosidade da água.

Comparando o comportamento reológico dos simuladores não-newtonianos entre si, verifica-se que o simulador Sol_Agua_Xant0,025 apresenta um comportamento pseudoplástico mais acentuado do que o simulador Sol_Agua_Glic35_Xant0,02 visto que o gradiente entre o declive inicial e final registado é superior no caso do primeiro. As razões para tal comportamento já foram anteriormente explicadas, estando o seu conteúdo relacionado com a quantidade de goma *xanthan* em solução e a presença de um solvente newtoniano de elevada viscosidade.

O comportamento dos fluidos não-newtonianos pseudoplásticos pode ser aproximado, de um modo simplificado, por uma lei de potência, equação (22), onde *m* e *n* são constantes da lei.

$$\tau = m\dot{\gamma}^{n} \tag{22}$$

As leis de potência de cada fluido encontram-se explicitadas na figura 3.5.

O modelo da lei de potência pode revelar algumas limitações, especialmente na representação da viscosidade do simulador de sangue para taxas de deformação elevadas. Porém, como nos casos em estudo o coeficiente de correlação R^2 apresenta valores de correspondência perto de 100%, este modelo foi adoptado em detrimento do modelo de Carreau-Yasuda [25], modelo mais consistente mas de maior complexidade. Outros modelos matemáticos para o comportamento reológico do sangue, de maior complexidade e para gamas mais limitadas da taxa de deformação, foram encontrados na bibliografia, podendo ser consultados no Anexo 2.

3.2 Caracterização dos escoamentos dos fluidos estudados com recurso à técnica micro-PIV

Na presente secção apresentar-se-ão os resultados provenientes dos tratamentos de dados adquiridos com recurso à técnica micro-PIV apresentando perfis de velocidade bidimensionais e campo tridimensional de velocidades em regime laminar de escoamentos desenvolvidos e em desenvolvimento.

3.2.1 Resultados experimentais dos escoamentos de fluidos newtonianos em microcanais rectos

No escoamento de um fluido newtoniano num tubo de secção circular o caudal volumétrico é dado por $Q = \iint_s u(r) r dr d\theta$. Considerando uma situação de caudal e área de passagem

constantes, verifica-se que a velocidade média de escoamento, $\bar{u}$, também se manterá constante visto que da expressão anterior também se retira que $Q = \bar{u}A$. Atendendo ao facto do perfil de velocidades de um fluido newtoniano, $u(r)$, num escoamento desenvolvido e nas condições geométricas anteriormente descritas, tomar um formato parabólico, ao efectuar estudos com fluidos newtonianos de diferentes viscosidades, para um mesmo caudal, verificar-se-á que a tensão de corte varia de forma linear com a viscosidade visto que $\tau = \mu \frac{du}{dr}$.

Assim, ao efectuar um aumento de viscosidade, para um mesmo caudal imposto, registar-se-á um aumento do diferencial de pressão Δp visto que, o perfil de velocidades, para qualquer um dos fluidos newtonianos em estudo, é o mesmo.

Transpondo a análise do escoamento de um fluido newtoniano num tubo de secção circular para um caso de maior complexidade matemática como o escoamento em canal recto, e de modo a confirmar que tal condição se verifica nos casos em estudo, recorre-se a uma solução analítica existente para o cálculo da velocidade em função das coordenadas do canal recto [79].

$$u_x(y,z) = \frac{\Delta p}{L}\frac{4h^2}{\mu\pi^3}\sum_{n=1,3,5,\ldots}^{\infty}\left\{\frac{1}{n^3}\left[1-\frac{\cosh\left(n\pi\frac{y}{h}\right)}{\cosh\left(n\pi\frac{w}{2h}\right)}\right]sen\left(n\pi\frac{z}{h}\right)\right\} \tag{23}$$

Na equação (23), a velocidade é função do diferencial de pressão por unidade de comprimento do microcanal em estudo $\left(\Delta p/L\right)$, da viscosidade do fluido (μ), da largura (w) e da altura (h).

Porém, não foi determinado experimentalmente o valor de $\Delta p/L$. Como tal, tem de se recorrer a uma equação que associe o caudal lido à diferença de pressão [79]. Tem-se então,

$$Q = \int_0^h\int_0^w u_x(y,z)dydz = \frac{wh^3}{12\mu}\frac{\Delta p}{L}\left[1-\sum_{n=1,3,5,\ldots}^{\infty}\frac{1}{n^5}\frac{192}{\pi^5}\frac{h}{w}\tanh\left(n\pi\frac{w}{2h}\right)\right] \tag{24}$$

Isolando $\Delta p/L$ na equação (24) e substituindo o resultado na equação (23), obtém-se,

$$u_x(y,z)=\frac{48Q}{\pi^3 wh}\frac{\sum_{n=1,3,5,\ldots}^{\infty}\left\{\frac{1}{n^3}\left[1-\frac{\cosh\left(n\pi\frac{y}{h}\right)}{\cosh\left(n\pi\frac{w}{2h}\right)}\right]sen\left(n\pi\frac{z}{h}\right)\right\}}{1-\sum_{n=1,3,5,\ldots}^{\infty}\frac{1}{n^5}\frac{192}{\pi^5}\frac{h}{w}\tanh\left(n\pi\frac{w}{2h}\right)} \quad (25)$$

Da equação (25) ressalta a independência da velocidade, $u_x(y,z)$, relativamente à viscosidade do fluido, o que confirma o anteriormente explicitado: a manutenção do caudal imposto, com o aumento da viscosidade, resulta num aumento do diferencial de pressão, que se traduz, no caso prático em estudo, num aumento da força requisitada à microbomba.

Os resultados seguintes foram obtidos para o *microchip* R2 com base nos dados resultantes da aplicação da técnica micro-PIV em escoamento desenvolvido, numa zona central dos microcanais.

A figura 3.6 mostra os perfis de velocidade para os fluidos newtonianos em estudo para um caudal de 100 µl/minuto.

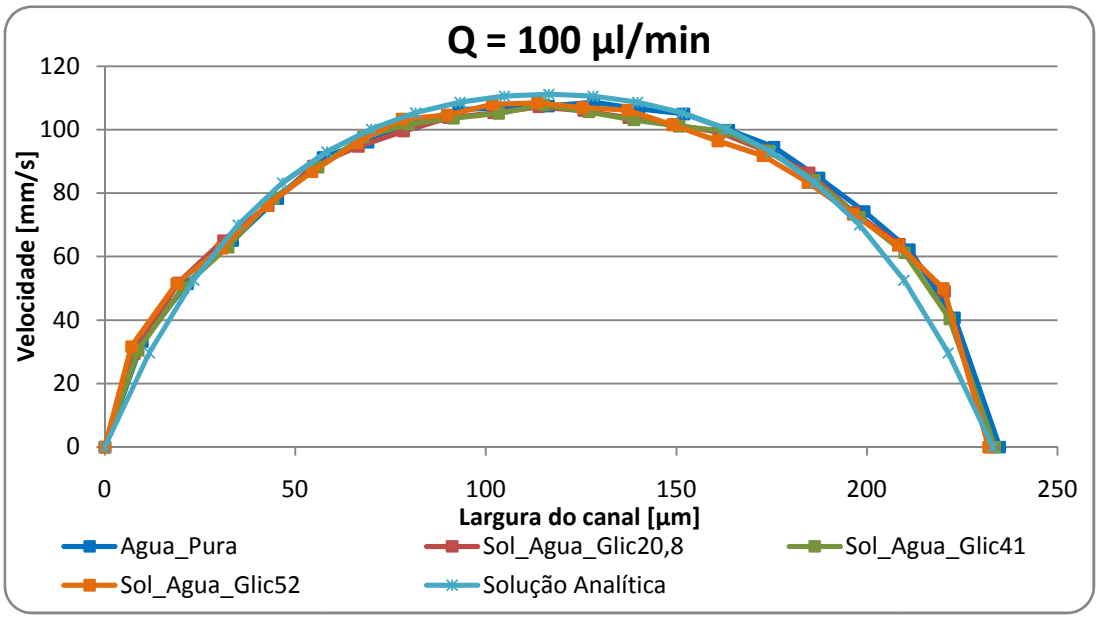


Figura 3.6 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 100 µl/minuto.

Da análise dos dados experimentais presentes na figura 3.6 verifica-se a definição de perfis de velocidade aproximadamente parabólicos, bastante semelhantes para qualquer das viscosidades dos fluidos em estudo, o que está de acordo com a teoria anteriormente apresentada que definia a independência do perfil de velocidade para um caudal fixo relativamente ao parâmetro viscosidade num escoamento desenvolvido de um fluido newtoniano.

Comparando os perfis experimentais com a solução analítica dada pela equação (25) obtida para o canal em estudo, largura (*w*) de 233 µm e altura (*h*) de 130 µm, verifica-se que a

diferença entre estes é bastante diminuta. Os dados experimentais, recolhidos no plano z = 65 µm, exibem perfis aproximadamente parabólicos, apresentando valores em excesso nas extremidades do perfil e valores ligeiramente por defeito na zona central. A maior diferença nas extremidades pode ser justificada com o facto dos pontos mais próximos das paredes terem a si associados um maior erro, proveniente do facto do sinal da técnica micro-PIV ser mais fraco junto às paredes devido ao menor número de partículas presente nessa zona do escoamento. Outro factor que pode dar origem às diferenças entre os perfis obtidos experimentalmente e o perfil teórico proveniente da solução analítica está associado às irregularidades das paredes dos microcanais em estudo. Estas podem provocar alterações da área de passagem do escoamento induzindo alteração dos perfis de velocidade.

Na figura 3.7 tem-se uma representação dos perfis de velocidade para todos os simuladores de sangue newtonianos em estudo, idêntica à anteriormente descrita mas para um caudal de 1000 µl/minuto.

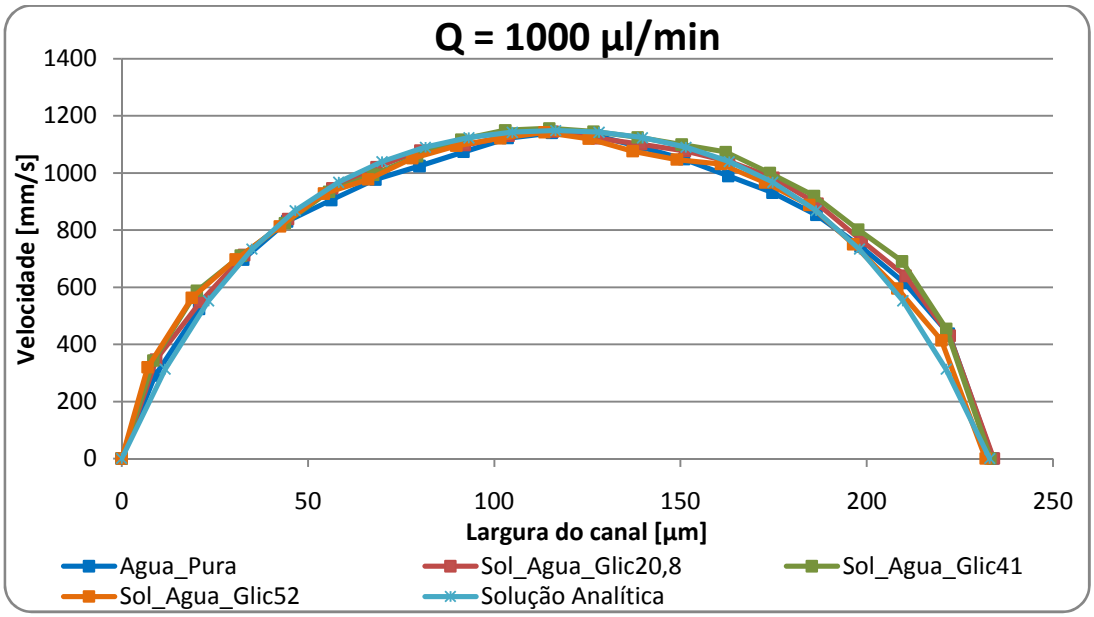


Figura 3.7 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 1000 µl/minuto.

Os resultados experimentais recolhidos no plano z = 65 µm, apesar de exibirem alguma assimetria (provavelmente devido às irregularidades das paredes) são de uma forma geral semelhantes entre si, exibindo um formato aproximadamente parabólico e próximo da solução analítica (calculada novamente para largura (*w*) de 233 µm e altura (*h*) de 130 µm).

O rácio dos caudais das duas experiências cujos resultados se apresentaram nas figuras anteriores é de 1/10. Sendo o microcanal estudado o mesmo e o escoamento a massa volúmica constante não é de estranhar que, para cada abcissa, o rácio das velocidades seja também de 1/10, estando as pequenas diferenças associadas a erros provenientes da aplicação da técnica micro-PIV na região da parede.

O mesmo género de estudo foi desenvolvido para outros caudais mas nas zonas rectas dos microcanais do microchip R1, como se pode constatar nas figuras seguintes (figura 3.8 e figura 3.9).

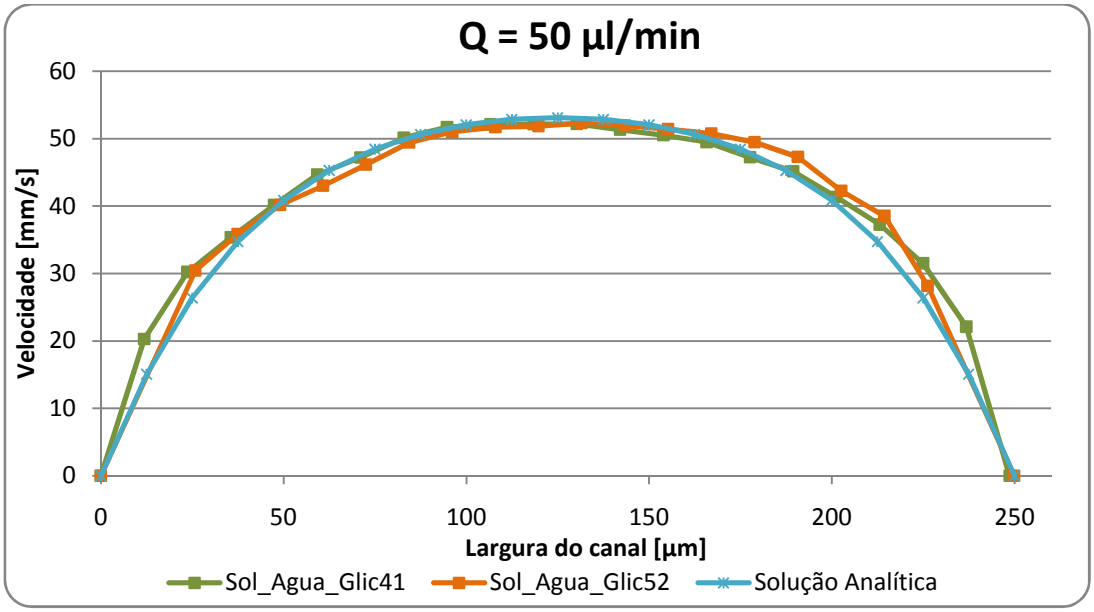


Figura 3.8 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 50 µl/minuto.

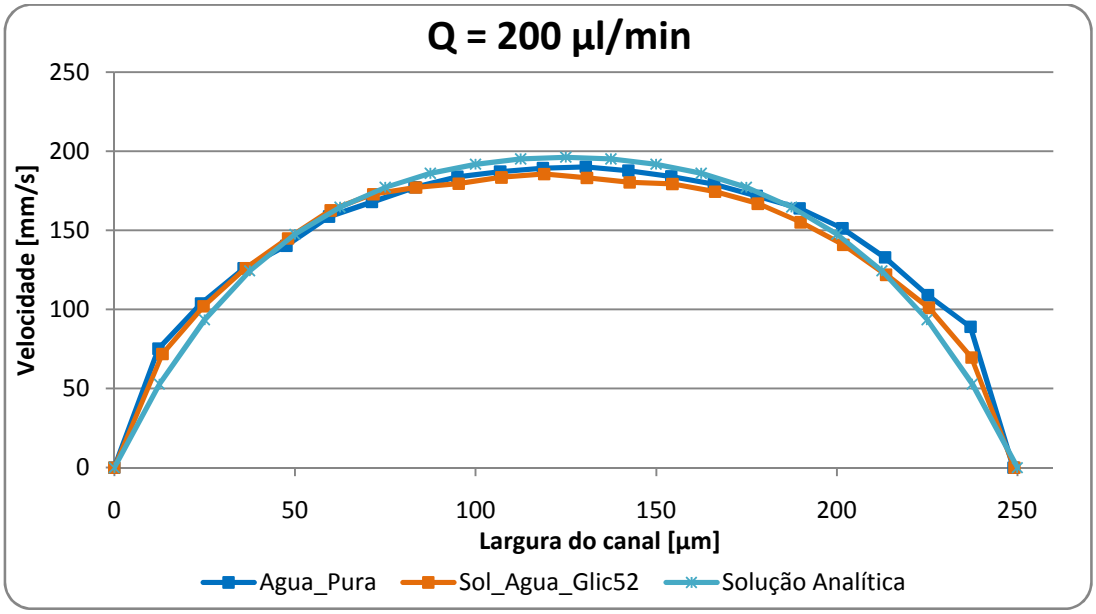


Figura 3.9 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 200 µl/minuto.

Neste caso não foi possível efectuar a medição para todos fluidos uma vez que, ao fim de algumas medições, os microcanais ficaram entupidos ou as suas paredes sujas de partículas traçadoras, o que impossibilitou a recolha de dados. Assim sendo, apresentam-se medições de alguns dos fluidos para outros caudais, sendo os resultados semelhantes aos dois casos anteriormente descritos. Os perfis, recolhidos no plano z = 62,5 µm e z = 67,5 µm, respectivamente, são aproximadamente parabólicos com resultados próximos das soluções analíticas na zona central do canal (calculadas para largura (*w*) de 250 µm e altura (*h*) de 125 µm para o caudal de 50 µl/minuto e 135 µm para o caudal 200 µl/minuto visto tratarem-se de diferentes canais com diferentes alturas) e

com um erro por excesso nas extremidades devido ao erro associado à técnica micro-PIV e às irregularidades da paredes dos microcanais utilizados.

As equações anteriormente apresentadas para a determinação analítica do campo de velocidades são somente válidas para regime laminar, pelo que se torna importante o cálculo do número de Reynolds.

$$\mathrm{Re} = \frac{\rho \bar{u} D_h}{\mu} \tag{26}$$

Utilizando a massa volúmica, ρ, a viscosidade, μ, a velocidade média, $\bar{u}$, lida para cada fluido, e calculando o diâmetro hidráulico, D_h, com base na largura (w) e na altura (h) do microcanal de acordo com a equação (27).

$$D_h = \frac{4A}{P} = \frac{4wh}{2w+2h} = \frac{2wh}{w+h} \tag{27}$$

Os resultados provenientes da aplicação da equação (26) são apresentados na tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Cálculo do número de Reynolds dos escoamentos dos fluidos newtonianos em estudo.

Caudal [μl/minuto]	Simulador	Massa volúmica [kg/m^3]	Viscosidade [Pa.s]	$d_{hidráulico}$ [μm]	$u_{média}$ [mm/s]	Re
50	Agua_Pura	997,10	9,10E-04	-	-	-
	Sol_Agua_Glic20,8	1042,54	1,58E-03	-	-	-
	Sol_Agua_Glic41	1090,77	2,94E-03	166,67	38,19	2,4
	Sol_Agua_Glic52	1119,16	4,68E-03			1,5
100	Agua_Pura	997,10	9,10E-04	166,89	76,19	13,9
	Sol_Agua_Glic20,8	1042,54	1,58E-03			8,4
	Sol_Agua_Glic41	1090,77	2,94E-03			4,7
	Sol_Agua_Glic52	1119,16	4,68E-03			3,0
200	Agua_Pura	997,10	9,10E-04	175,32	138,08	26,5
	Sol_Agua_Glic20,8	1042,54	1,58E-03	-	-	-
	Sol_Agua_Glic41	1090,77	2,94E-03	-	-	-
	Sol_Agua_Glic52	1119,16	4,68E-03	175,32	138,08	5,8
1000	Agua_Pura	997,10	9,10E-04	166,89	761,9	139,3
	Sol_Agua_Glic20,8	1042,54	1,58E-03			84,2
	Sol_Agua_Glic41	1090,77	2,94E-03			47,2
	Sol_Agua_Glic52	1119,16	4,68E-03			30,4

Da análise da tabela 3.1 verifica-se que o número de Reynolds máximo ocorre para um caudal de 1000 μl/minuto no simulador Agua_Pura, com viscosidade 0,91 cP com o valor de 139,3. Como este valor é inferior à gama 1800 – 2000, onde Hetsroni *et al*. [17], registaram a transição para regime turbulento em microcanais rectos, conclui-se que todos os ensaios foram realizados em regime laminar, sendo portanto aplicável a equação (25) para determinação analítica da velocidade.

Atendendo aos resultados obtidos e recorrendo à análise de perfis bidimensionais do escoamento desenvolveu-se também um estudo qualitativo com base no campo tridimensional de

escoamento reconstruído a partir da sobreposição de perfis de velocidade bidimensionais como pode ser visualizado na figura 3.10 (a).

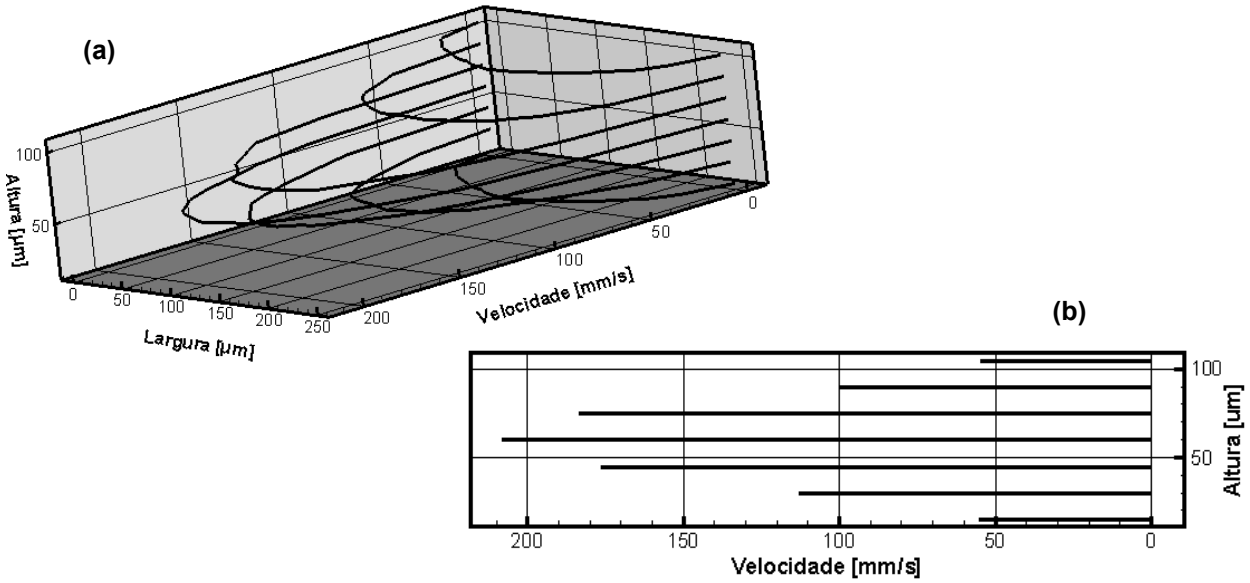


Figura 3.10 – (a) Campo de velocidades tridimensional; (b) Vista lateral do campo de velocidades.

O campo de velocidades foi obtido para o fluido newtoniano Sol_Agua_Glic20,8 num microcanal com 250 µm de largura e aproximadamente 120 µm de altura e para um caudal de 200 µl/minuto.

Como se pode verificar na figura 3.10 (b), recorrendo a uma vista lateral do escoamento, também nesta direcção o perfil de velocidades toma um formato aproximadamente parabólico. Atendendo a que o perfil bidimensional central é igual para qualquer dos fluidos newtonianos estudados, e que também na vista lateral o escoamento se desenvolve de acordo com esse formato, conclui-se que os fluidos newtonianos, para um caudal imposto definido, apresentarão um campo de velocidades tridimensional semelhante.

3.2.2 Resultados experimentais do escoamento de simuladores de sangue em microcanais rectos

Como é possível verificar na figura 3.3, a viscosidade dos fluidos não-newtonianos varia com a taxa de deformação. Como tal, os princípios que no caso dos fluidos newtonianos permitem chegar à conclusão que os perfis de velocidade tomam um formato parabólico não podem ser aplicados aos fluidos não-newtonianos.

Constatou-se na bibliografia consultada que estudos em canais de secção circular com fluidos não-newtonianos com um comportamento reológico aproximado por uma lei de potência do tipo, $\tau = m\dot{\gamma}^n$, revelam que os perfis de velocidades desenvolvidos se regem pela seguinte lei [25]:

$$\frac{u_x}{\bar{u}} = \left(\frac{3n+1}{n+1}\right)\left[1-\left(\frac{r}{R}\right)^{\frac{(n+1)}{n}}\right] \tag{28}$$

Na equação (28), $\bar{u}$ corresponde à velocidade média de escoamento e *n* é um dos parâmetros da lei de potência que caracteriza o fluido não-newtoniano, enquanto R corresponde ao raio do tubo circular onde se dá o escoamento.

Na figura 3.11 é possível analisar a implementação da equação (28) para os simuladores de sangue em estudo, Sol_Agua_Xant0,025 e Sol_Agua_Glic35_Xant0,02, para os quais o parâmetro n toma, respectivamente, o valor 0,6373 e 0,8003, e para um fluido newtoniano, para o qual o parâmetro n é unitário.

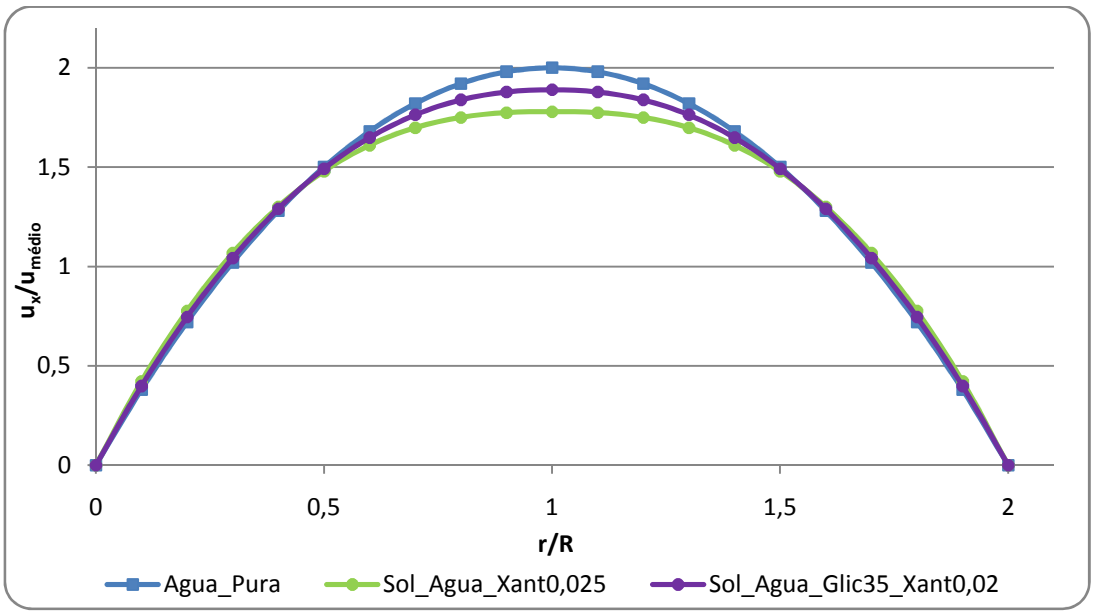


Figura 3.11 – Perfis de velocidade adimensionais dos simuladores em estudo para um escoamento num microcanal de secção circular.

Como no caso dos fluidos pseudoplásticos o parâmetro *n* toma valores inferiores a 1, o perfil de velocidades terá a tendência de tomar um formato achatado na zona central [25], como se verifica na figura 3.11. O simulador Sol_Agua_Xant0,025 apresenta comportamento mais pseudoplástico comparativamente ao simulador Sol_Agua_Glic35_Xant0,02 visto que quanto menor for o parâmetro n, mais acentuado é o achatamento registado.

Porém, e de acordo com os mesmos autores [25], para canais não-axissimétricos não é possível desenvolver soluções analíticas para o escoamento de fluidos não-newtonianos.

Apresentam-se então, nas figuras seguintes, os resultados experimentais obtidos para canais do microchip R1, com base nos dados recolhidos na técnica micro-PIV num escoamento desenvolvido, numa zona central do microcanal.

Na figura 3.12 estão representados os perfis de velocidade longitudinal de dois simuladores de sangue não-newtonianos bem como de um fluido newtoniano, neste caso o fluido de referência, Agua_Pura, para um caudal de 50 µl/minuto.

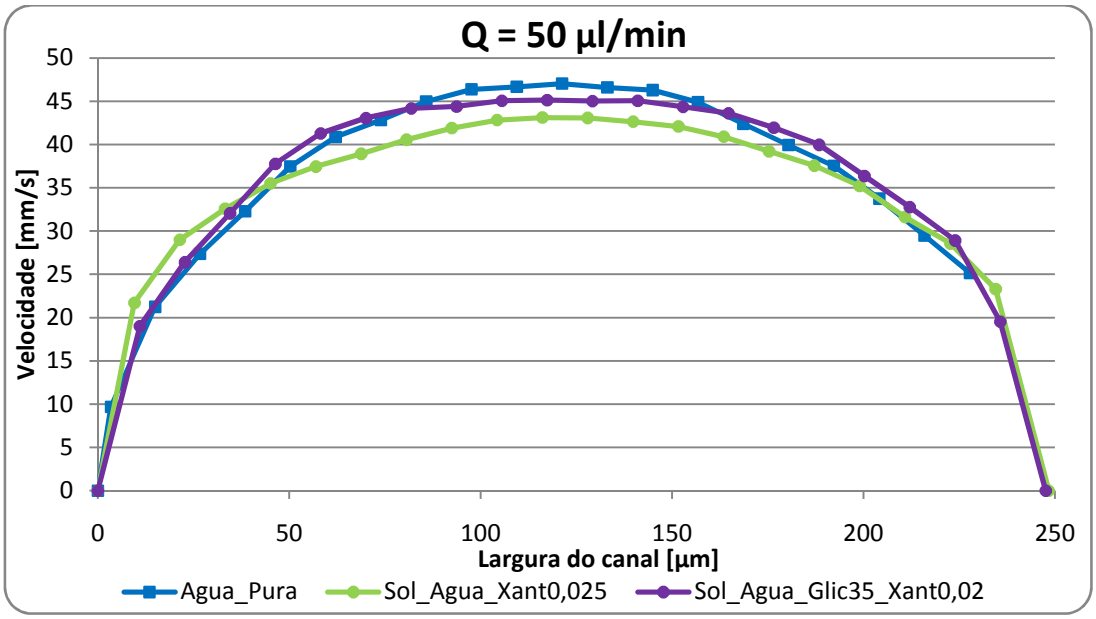


Figura 3.12 - Perfis de velocidade de simuladores de sangue não-newtonianos para um caudal de 50 µl/minuto.

De acordo com o comportamento anteriormente descrito, verifica-se a tendência dos simuladores não-newtonianos apresentarem um perfil mais achatado na zona central do microcanal sobrepondo-se ao simulador newtoniano de perfil mais parabólico na zona mais exterior do canal. Confirma-se deste modo a tendência destes fluidos registada em microcanais circulares.

Da comparação dos perfis de velocidade entre os simuladores não-newtonianos regista-se a tendência do simulador Sol_Agua_Xant0,025 para apresentar um perfil de velocidades mais achatado na zona central, comparativamente ao simulador Sol_Agua_Glic35_Xant0,02. O simulador Sol_Agua_Xant0,025 apresenta então valores ligeiramente superiores de velocidade nos extremos do perfil de velocidades, de modo a manter o caudal constante. Este comportamento é justificado pela reologia dos simuladores em causa em que se verifica que o Sol_Agua_Xant0,025 apresenta um comportamento pseudoplástico mais acentuado do que aquele demonstrado pelo Sol_Agua_Glic35_Xant0,02, estando isto associado aos já referidos factores da concentração de *xanthan* e da presença da glicerina no segundo simulador referido. Este facto é também comprovado com recurso à análise dos valores do parâmetro n da equação (22) característico de cada simulador em estudo (0,6373 para o simulador Sol_Agua_Xant0,025 e 0,8003 para a solução Sol_Agua_Glic35_Xant0,02), verificando-se que este é menor no caso do Sol_Agua_Xant0,025. A substituição destes valores, de forma genérica, na expressão (28) permite concluir que o comportamento qualitativo registado em microcanais rectos é semelhante àquele que se verifica para os microcanais circulares.

Na figura 3.13 faz-se uma análise idêntica à descrita na figura anterior mas desta vez para um caudal de 100 µl/minuto. Como já foi registado anteriormente verificou-se um achatamento da zona central dos perfis de velocidade dos simuladores de sangue não-newtonianos face ao perfil do simulador newtoniano, sendo o fluido Sol_Agua_Xant0,025 aquele que apresenta um maior achatamento.

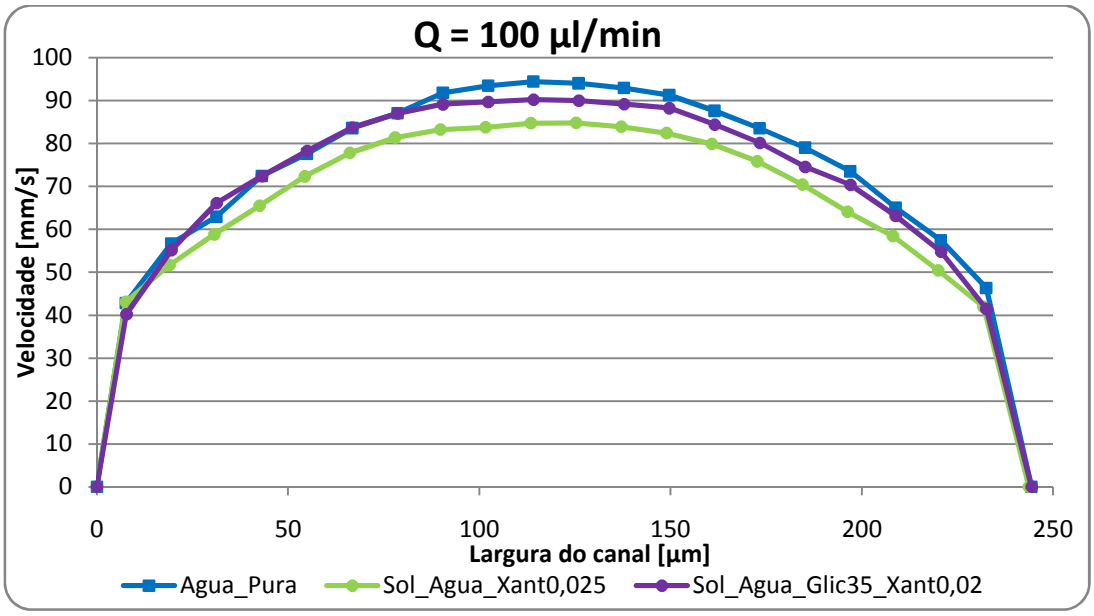


Figura 3.13 - Perfis de velocidade de simuladores de sangue não-newtonianos para um caudal de 100 µl/minuto.

A sobreposição verificada na extremidade esquerda do canal por parte dos simuladores não-newtonianos face ao comportamento do fluido newtoniano e o não cruzamento entre o perfil de velocidades do fluido Agua_Pura com os dois simuladores não-newtonianos do lado direito do canal justifica-se em parte com a má qualidade de sinal da técnica micro-PIV junto às paredes que, por vezes, impede a mais correcta avaliação dos fenómenos registados junto a estas. Neste caso, a falta de precisão junto às paredes pode até induzir ao erro de, em primeira análise, parecer que o caudal difere entre os diferentes fluidos analisados.

Outro aspecto que resulta da má qualidade de sinal junto às paredes e que se encontra francamente patente neste caso está relacionado com a grande discrepância de velocidades verificada entre os pontos de velocidade zero e os primeiros pontos de velocidade não nula. A má qualidade de sinal faz com que os vectores de mais baixa velocidade sejam removidos pelos procedimentos de validação do *software FlowManager*® que, a juntar à menor precisão dos pontos limítrofes do gráfico, parece permitir inferir que a largura do canal deveria ser superior à largura real deste.

Os resultados graficamente representados nas figuras 3.14 e 3.15 são semelhantes aos anteriormente analisados na presente secção variando o caudal para valores de 200 µl/minuto e 1000 µl/minuto, respectivamente. As análises individuais são também elas semelhantes às já feitas para as figuras 3.12 e 3.13.

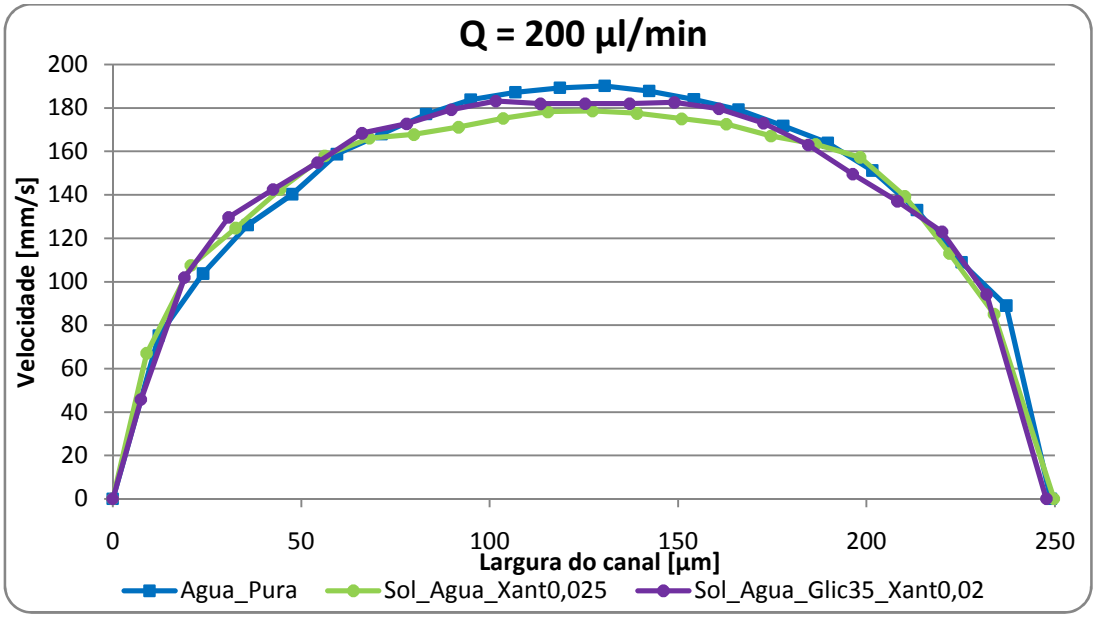


Figura 3.14 - Perfis de velocidade de simuladores de sangue não-newtonianos para um caudal de 200 µl/minuto.

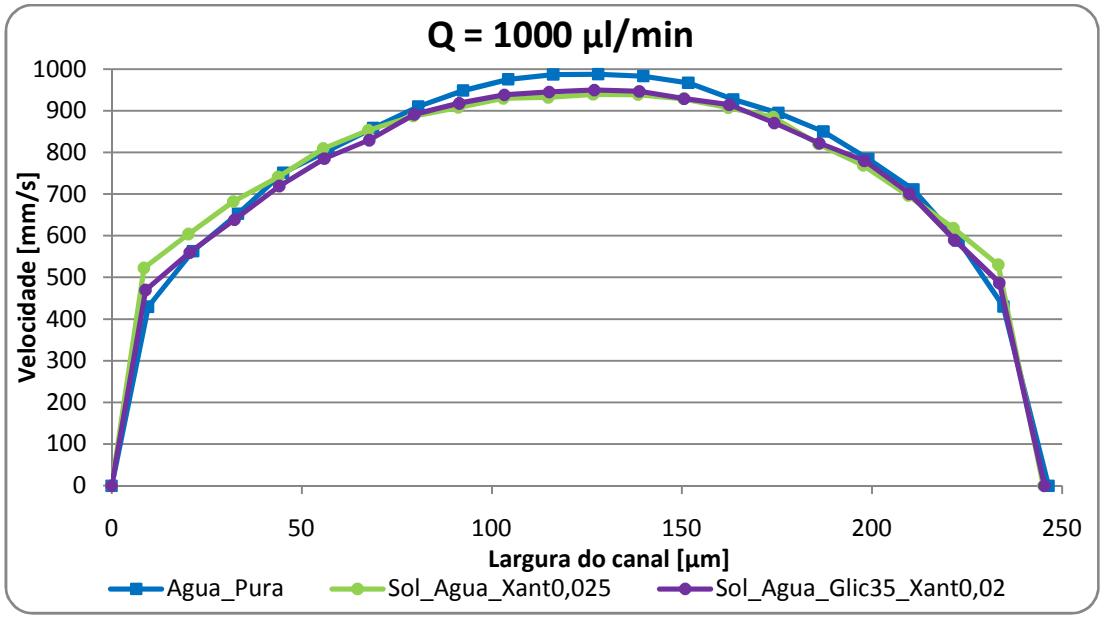


Figura 3.15 - Perfis de velocidade de simuladores de sangue não-newtonianos para um caudal de 1000 µl/minuto.

Existe, porém, a possibilidade de comparar entre si os resultados correspondentes aos caudais de 100 µl/minuto e 1000 µl/minuto visto que as medições foram efectuadas no mesmo microcanal.

De modo a estudar a influência da reologia do simulador não-newtoniano no perfil de velocidades com a variação do caudal imposto recorreu-se à equação (29), que estabelece a percentagem de achatamento, ACH, e cujos resultados se mostram na tabela 3.2.

$$ACH[\%] = \frac{u_{máxima_Agua_Pura} - u_{máxima_simulador_n_newtoniano}}{u_{máxima_Agua_Pura}} \times 100 \quad (29)$$

Tabela 3.2 – Cálculo do achatamento do perfil de velocidades.

Caudal [µl/minuto]	Simulador	$u_{máxima}$ [mm/s]	ACH [%]
100	Agua_Pura	94,4	-
	Sol_Agua_Xant0,025	84,8	10,17
	Sol_Agua_Glic35_Xant0,02	90,2	4,45
1000	Agua_Pura	987,6	-
	Sol_Agua_Xant0,025	939,0	4,92
	Sol_Agua_Glic35_Xant0,02	949,4	3,87

Como se pode verificar, com o aumento do caudal imposto aumentam também os valores do campo de velocidades, traduzindo-se estes num aumento da taxa de deformação dos fluidos em estudo.

Como se pode verificar na figura 3.3 os simuladores com reologia pseudoplástica, para maiores valores das taxas de deformação tendem a aproximar o seu comportamento àquele registado para os simuladores newtonianos, verificando-se que a variação da viscosidade com a taxa de deformação é muito reduzida. Assim se justifica que os valores da percentagem de achatamento da zona central do perfil de velocidades dos simuladores não-newtonianos presentes na tabela 3.2, para um caudal de 1000 µl/minuto, onde são atingidas taxas de deformação superiores, sejam menores comparativamente àqueles que se verificam para um caudal de 100 µl/minuto, onde se registam valores mais baixos para a taxa de deformação. Na tabela 3.2 pode-se também constatar que a redução do achatamento na zona de velocidade máxima do simulador Sol_Agua_Xant0,025 se dá de 10,17% para 4,92% enquanto que no caso do Sol_Agua_Glic35_Xant0,02 a redução é de 4,45% para 3,87% o que, mais uma vez, demonstra que a solução Sol_Agua_Xant0,025 apresenta uma reologia pseudoplástica mais acentuada comparativamente ao simulador Sol_Agua_Glic35_Xant0,02.

Outro fenómeno registado está associado à diferença de achatamento entre os dois simuladores não-newtonianos nos dois caudais referidos. Para um caudal de 100 µl/minuto verifica-se que a diferença de achatamento entre o simulador Sol_Agua_Xant0,025 e o Sol_Agua_Glic35_Xant0,02 é considerável, diminuindo bastante aquando da comparação para o caudal de 1000 µl/minuto. Tal facto é justificado pela aproximação de comportamento entre os dois simuladores para taxas de deformação elevadas, sendo os declives da variação da viscosidade com a taxa de deformação muito pequenos, como se pode verificar na figura 3.3.

À semelhança do que foi feito para os fluidos newtonianos, determinou-se também o valor do número de Reynolds para os casos agora em estudo. Porém, tratando-se de fluidos não-newtonianos cuja viscosidade varia com a taxa de deformação, a equação (25) não pode ser aplicada. Como tal, foi necessário recorrer à aproximação do comportamento não-newtoniano por uma lei de potência, como se encontra descrito na equação (22), utilizando então a relação presente na literatura [25] para o cálculo do número de Reynolds de fluidos não-newtonianos, Re_{nn}, expresso pela equação (30):

$$\mathrm{Re}_{nn} = \frac{1}{8^{n-1}} \left[\frac{\rho \left(\bar{u}\right)^{2-n} D_h^{\,n}}{m} \right] \left(\frac{a+bn}{n} \right)^{-n} \tag{30}$$

Na equação anterior, *m* e *n* são as constantes da lei de potência que caracterizam os simuladores de sangue, retiradas das equações presentes na figura 3.5, enquanto *a* e *b* correspondem a valores tabelados para a relação entre altura e largura do canal que, para o caso em estudo $h/w \cong 0{,}5$, valem *a* = 0,244 e *b* = 0,7276.

Os valores provenientes da análise do número de Reynolds dos diferentes simuladores não-newtonianos nos caudais estudados encontram-se na tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Cálculo do número de Reynolds dos escoamentos dos simuladores de sangue em estudo.

Caudal [µl/minuto]	Simulador	Massa volúmica [kg/m^3]	$d_{hidráulico}$ [µm]	$u_{média}$ [mm/s]	m	n	Re
50	Sol_Agua_Xant0,025	997,60	166,67	38,19	0,0278	0,6373	3,3
	Sol_Agua_Glic35_Xant0,02	1076,20			0,0114	0,8002	2,6
100	Sol_Agua_Xant0,025	997,60	168,97	74,33	0,0278	0,6373	8,2
	Sol_Agua_Glic35_Xant0,02	1076,20			0,0114	0,8002	5,9
200	Sol_Agua_Xant0,025	997,60	171,05	145,06	0,0278	0,6373	20,4
	Sol_Agua_Glic35_Xant0,02	1076,20			0,0114	0,8002	13,3
1000	Sol_Agua_Xant0,025	997,60	168,97	743,30	0,0278	0,6373	187,9
	Sol_Agua_Glic35_Xant0,02	1076,20			0,0114	0,8002	93,6

Não existe consenso na comunidade científica relativamente ao valor de transição de regime para fluidos não-newtonianos existindo porém indicativos que este será superior ao valor determinado para fluidos newtonianos [25]. Como tal, da análise dos resultados obtidos conclui-se todos os estudos foram efectuados em regime laminar visto que todos os números de Reynolds são muito inferiores à gama 1800 – 2000, referida por Hetsroni, et al. em [17], como a zona de transição do escoamento de laminar para turbulento em microcanais de secção rectangular.

3.2.3 Resultados experimentais do escoamento de fluidos newtonianos numa expansão horizontal

Os resultados de seguida apresentados resultam duma análise ao escoamento de fluidos newtonianos simuladores de sangue numa expansão do chip S1 (figura 2.5) com recurso à técnica micro-PIV. O escoamento não está, obviamente, desenvolvido.

Os resultados apresentados nesta secção foram recolhidos na cota central do microcanal e em quatro planos de diferente largura e distância relativamente à zona de início de expansão. Estes poderão ser visualizados na figura 3.16 estando as suas características descritas na tabela 3.4.

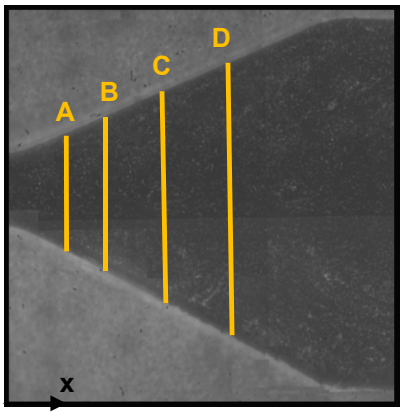


Figura 3.16 – Expansão e planos em estudo.

Tabela 3.4 – Características geométricas dos planos em estudo na expansão.

Plano	Largura [µm]	x [µm]
A	330	208
B	400	300
C	520	456
D	660	638

Na figura 3.17 encontram-se representados os perfis de velocidade desenvolvidos pelo fluido Agua_Pura, recolhidos em diferentes planos da expansão em estudo, para um caudal de 1000 µl/minuto.

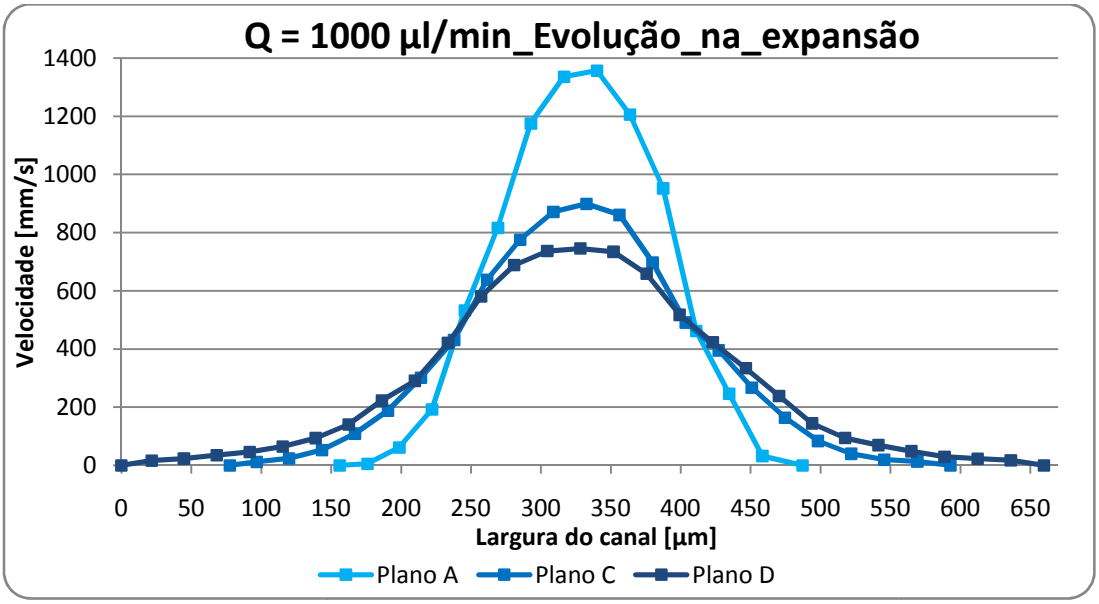


Figura 3.17 – Perfis de velocidade do fluido newtoniano Agua_Pura em diferentes planos da expansão em estudo para um caudal de 1000 µl/minuto.

Como expectável para os perfis de velocidade presentes na figura 3.17, o aumento da área de passagem reduz o valor das velocidades médias atingidas por razões de conservação de caudal mássico. Da análise da figura ressalta também a existência de pontos de inflexão nos perfis de velocidade para qualquer um dos planos em estudo. Este fenómeno pode ser justificado com o gradiente de pressão adverso presente no escoamento. O perfil de velocidades, mais a jusante no canal, onde se verifica um aumento de pressão, tem menor quantidade de movimento. Este fenómeno de desaceleração do movimento é particularmente notório nas regiões de menor velocidade (junto às paredes). Na definição do formato dos perfis de velocidade verifica-se também a acção preponderante da convecção na transferência da quantidade de movimento, possuindo esta

um carácter dominante sobre o fenómeno difusivo. Os tempos de difusão e convecção são dados pelas equações (31) e (32), respectivamente [86].

$$t_{difusão} = \frac{w^2}{\nu} \tag{31}$$

$$t_{convecção} = \frac{w}{\bar{u}} \tag{32}$$

Nestas equações, w, corresponde à largura do canal, $\bar{u}$, corresponde à velocidade média e ν, corresponde à viscosidade cinemática. Como se pode verificar nas equações (31) e (32), o tempo de difusão é independente do caudal imposto. O mesmo já não se verifica no caso do tempo de convecção, que depende do caudal imposto. Daí se justifica que, para caudais mais elevados, o fenómeno convectivo tenha maior preponderância na definição dos perfis de velocidades comparativamente ao fenómeno difusivo induzido pela presença das paredes do canal.

Verifica-se também na figura 3.17 que quanto maior a área de passagem, mais afastados os pontos de inflexão estão da parede, sendo isto justificado pelo aumento da influência do fenómeno difusivo na transferência da quantidade de movimento.

Na figura 3.18 estão representados os perfis de velocidade no plano A da expansão de dois fluidos newtonianos com diferentes viscosidades para um caudal de 100 µl/minuto. A recolha de dados na expansão fez-se numa zona do canal com 330 µm de largura e a 208 µm do início da expansão.

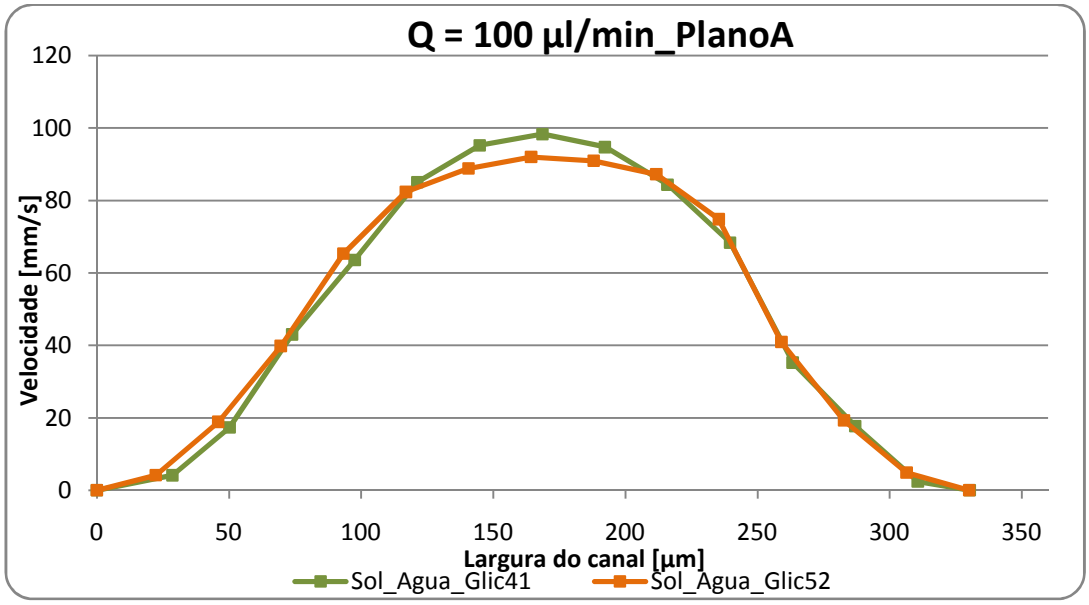


Figura 3.18 - Perfis de velocidade de simuladores de sangue newtonianos para um caudal de 100 µl/minuto numa expansão no plano A.

No caso do escoamento desenvolvido, verifica-se que os perfis de velocidade tomam formatos semelhantes, diferindo um pouco na zona central do canal, sendo a diferença de

velocidades compensada na zona mais exterior do canal, já que o caudal imposto foi igual para ambos os escoamentos. Este fenómeno pode também estar relacionado com o facto da tensão de corte junto à parede ser superior no caso do fluido Sol_Agua_Glic52. Como a viscosidade é maior para o fluido Sol_Agua_Glic52, quando o escoamento atingir a zona recta do microcanal C do *chip* S1, este fluido terá um menor comprimento de entrada laminar comparativamente ao fluido Sol_Agua_Glic41 de acordo com a equação (33).

$$\frac{l}{D_h} = a\,\mathrm{Re} = a\frac{\rho \bar{u} D_h}{\mu} \tag{33}$$

Na equação anterior, *a*, corresponde a uma constante cujo valor depende do rácio entre altura e a largura do canal, *l*, corresponde ao comprimento de entrada, D_h, ao diâmetro hidráulico, *ρ*, à massa volúmica e *μ*, à viscosidade do fluido [85].

Regista-se também a existência de pontos de inflexão nos perfis de velocidade apresentados. Estes são justificados pela acção da convecção na transferência de quantidade de movimento e do gradiente de pressão adverso que provoca a perda de quantidade de movimento, sendo esta particularmente notória junto à parede, visto que essa zona é aquela que apresenta menores velocidades.

Os perfis bidimensionais da figura 3.19 correspondem a dados recolhidos para o mesmo caudal de 100 µl/minuto, mas no plano B, localizado a uma distância maior relativamente ao início da expansão e possuindo 400 µm de largura.

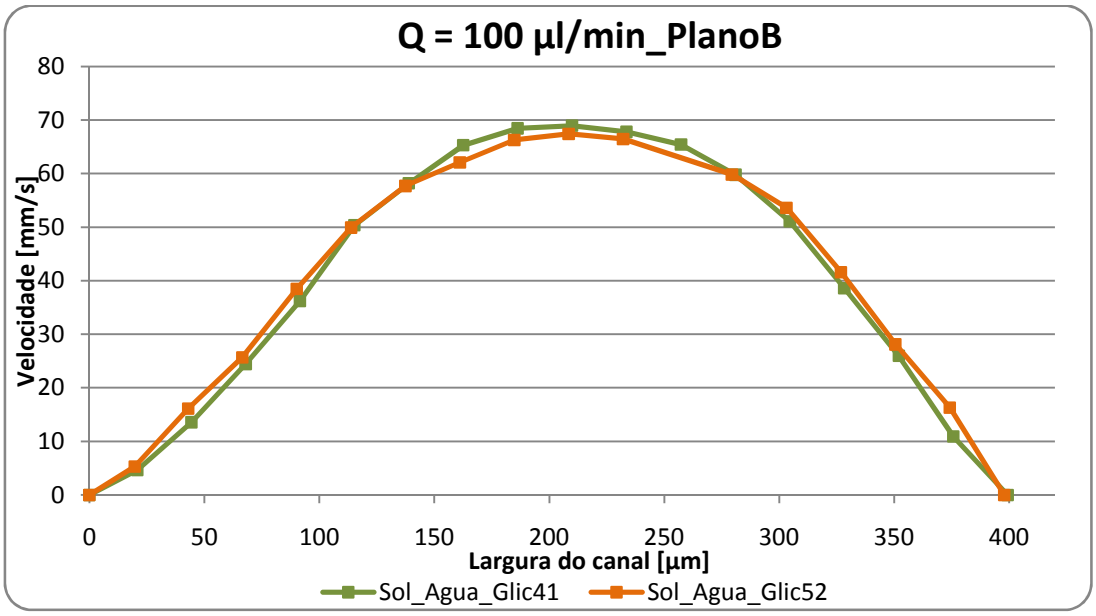


Figura 3.19 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 100 µl/minuto numa expansão no plano B.

Como se pode facilmente verificar, a velocidade de ambos os simuladores diminuiu comparativamente aos valores registados para o plano A devido ao aumento da área de passagem, mantendo os perfis de velocidade um formato muito semelhante entre si. Os dados experimentais não revelam a existência de pontos de inflexão no perfil de velocidades ao contrário daquilo que se verificava para o plano A. Apesar de se saber da existência desses pontos de inflexão a técnica experimental não os detecta devido à sua proximidade da parede.

Na figura 3.20 estão representados os perfis bidimensionais no plano C, dos dois fluidos newtonianos em estudo na expansão, Sol_Agua_Glic41 e Sol_Agua_Glic52, para um caudal de 100 µl/minuto.

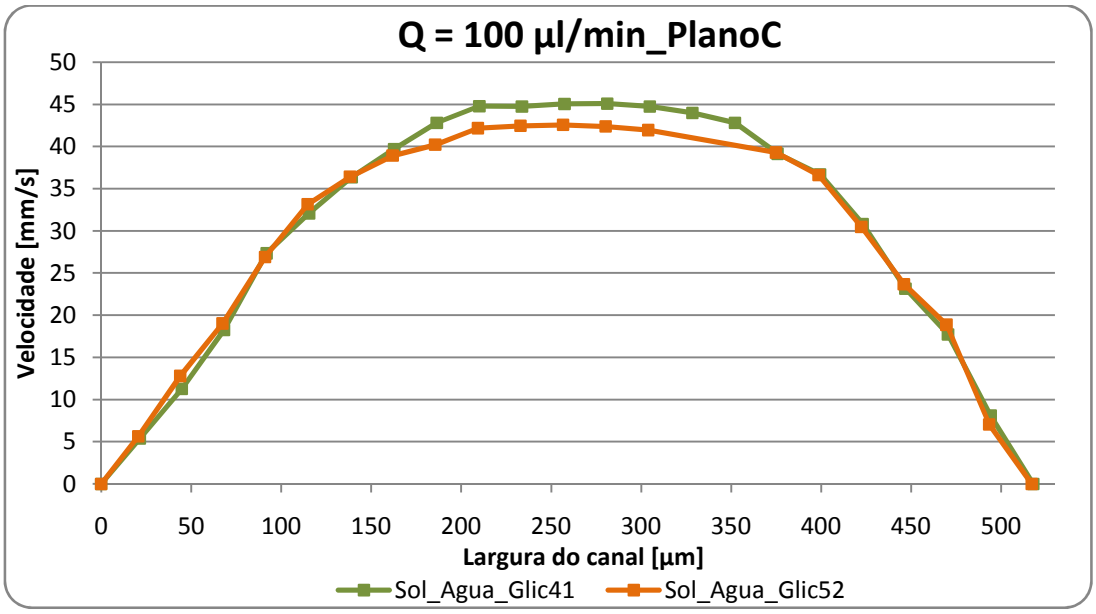


Figura 3.20 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 100 µl/minuto numa expansão no plano C.

Ao contrário daquilo que se registou nos planos A e B, os perfis de velocidade possuem uma discrepância na velocidade da zona central, não existindo compensação significativa na zona exterior do perfil, podendo ressaltar a ideia de que o caudal imposto não é igual. Contudo, os perfis apresentam um formato geométrico semelhante. As diferenças verificadas devem-se provavelmente a irregularidades das paredes do microcanal, para além das incertezas associadas à técnica micro-PIV.

Na figura 3.21 estão representados os perfis de velocidade de dois fluidos newtonianos, Sol_Agua_Glic41 e Sol_Agua_Glic52, para um caudal de 1000 µl/minuto no plano C.

Por oposição aos casos anteriores, na figura 3.21 verifica-se a influência da diferença de viscosidades na definição da forma geométrica dos perfis de velocidade. O fluido de menor viscosidade, Sol_Agua_Glic41, apresenta um perfil com um valor mais acentuado de velocidade na zona central comparativamente ao fluido Sol_Agua_Glic52. Por outro lado, verifica-se que nas zonas mais afastadas da região central as velocidades são mais elevadas, o que permite antever que a tensão de corte junto à parede é maior no caso do fluido Sol_Agua_Glic52.

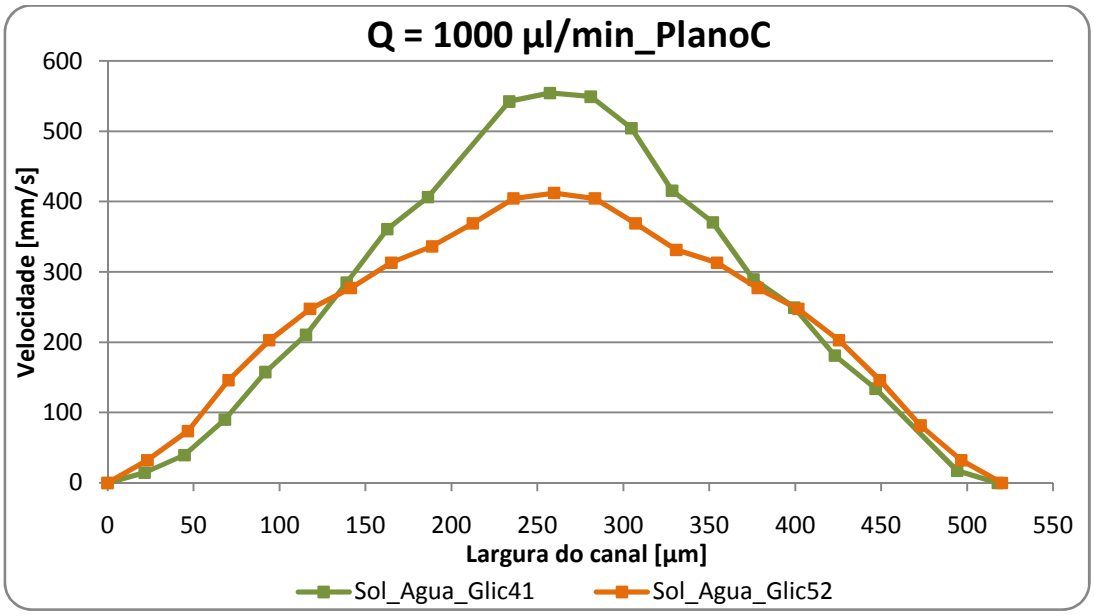


Figura 3.21 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 1000 µl/minuto numa expansão no plano C.

Verifica-se também, neste caso, uma mudança clara na forma geométrica dos perfis de velocidade dos fluidos em estudo, num mesmo plano, mas com a mudança de caudal de 100 µl/minuto para 1000 µl/minuto. Como já foi referido anteriormente, o aumento do caudal induz um aumento de preponderância do fenómeno da convecção na transferência da quantidade de movimento, face ao fenómeno de difusão, tornando perceptível pela técnica a presença dos pontos de inflexão. Esta mudança é justificada com o facto do tempo necessário para se dar a transferência de quantidade de movimento por difusão ser bastante superior àquele que é necessário para tal ocorrer por convecção, fazendo com que a aproximação à forma parabólica do perfil de velocidades se dê mais tarde. Verifica-se também, como expectável, que a convecção é mais predominante no fluido de menor viscosidade, Sol_Agua_Glic41. Também associado aos pontos de inflexão que surgem nos perfis de velocidade presentes na figura 3.21 está o facto de o gradiente de pressão aumentar com o caudal, sendo o efeito de perda de quantidade de movimento junto à parede bastante superior. A maior proximidade dos pontos de inflexão da parede no caso do caudal de 100 µl/minuto (ver figura 3.21) relativamente ao caso do caudal de 1000 µl/minuto (ver figura 3.21) justifica a não detecção pela técnica desses pontos de inflexão. Neste caso também não se registou a existência de um factor de proporcionalidade entre caudais e velocidades, como se verificou na secção 3.2.1 aquando do estudo do escoamento desenvolvido.

A figura 3.22 demonstra a evolução dos perfis de velocidade analisados na figura 3.21 do plano C para o plano D.

Por comparação com os perfis de velocidade no plano C verifica-se nos perfis de velocidade presentes na figura 3.22 um maior efeito de difusão transversal de quantidade de movimento, principalmente na zona mais exterior dos perfis de velocidade. Verifica-se também que os perfis de velocidade não apresentam simetria, sendo isto provavelmente justificado por irregularidades na parede do microcanal em estudo.

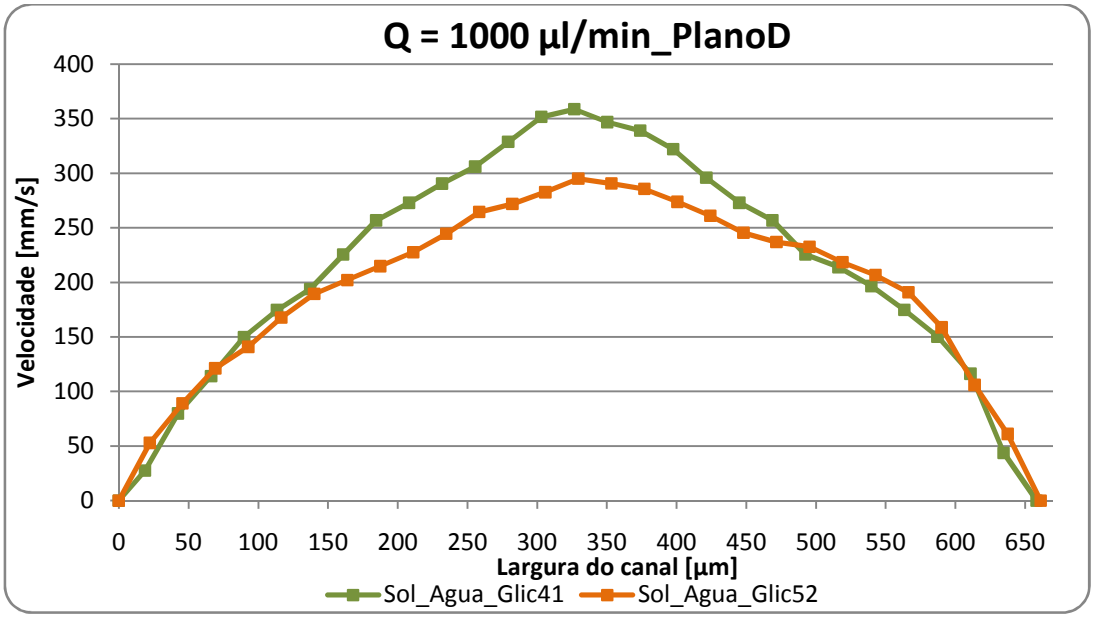


Figura 3.22 - Perfis de velocidade de fluidos newtonianos para um caudal de 1000 µl/minuto numa expansão no plano D.

Foram também feitos ensaios qualitativos com outros fluidos nesta mesma expansão de modo a melhor visualizar a importância da viscosidade no desenvolvimento do escoamento.

Na figura 3.23 está representada a evolução qualitativa dos perfis de velocidade numa secção da expansão para o fluido newtoniano Agua_Pura, para um caudal de 100 µl/minuto.

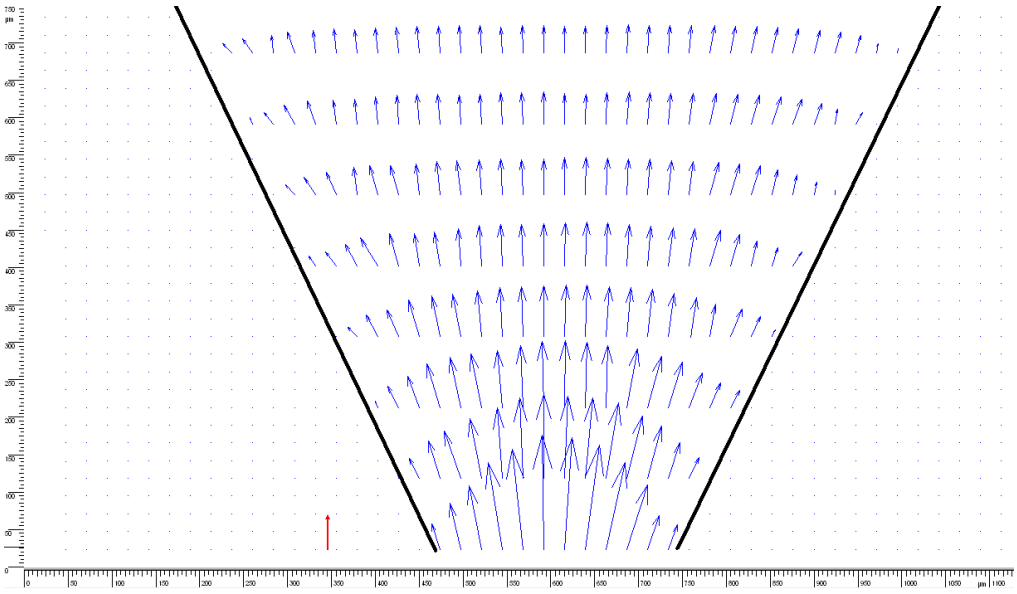


Figura 3.23 – Campo de vectores na expansão em estudo para o fluido Agua_Pura com um caudal de 100 µl/minuto. Vector de referência: 30 mm/s.

Como se pode facilmente verificar, com o aumento da área de passagem, ocorre uma diminuição da gama de velocidades dos perfis, tendo o vector de referência (sinalizado a vermelho) a magnitude de 30 mm/s. Os perfis possuem uma forma geométrica parabólica na zona mais estreita

da expansão evoluindo para uma forma de perfil mais uniforme na zona central do canal, criando um perfil praticamente tampão na zona mais larga da expansão. Este fenómeno é justificado pelo aumento do gradiente de pressão com o aumento da área de passagem na expansão e, atendendo tratar-se de um caudal pequeno, uma maior influência das paredes no perfil de velocidades por acção da difusão.

As condições de ensaio analisadas na figura 3.23 repetem-se na figura 3.24 mas neste caso para o simulador Sol_Agua_Glic41 com uma viscosidade três vezes superior ao simulador Agua_Pura.

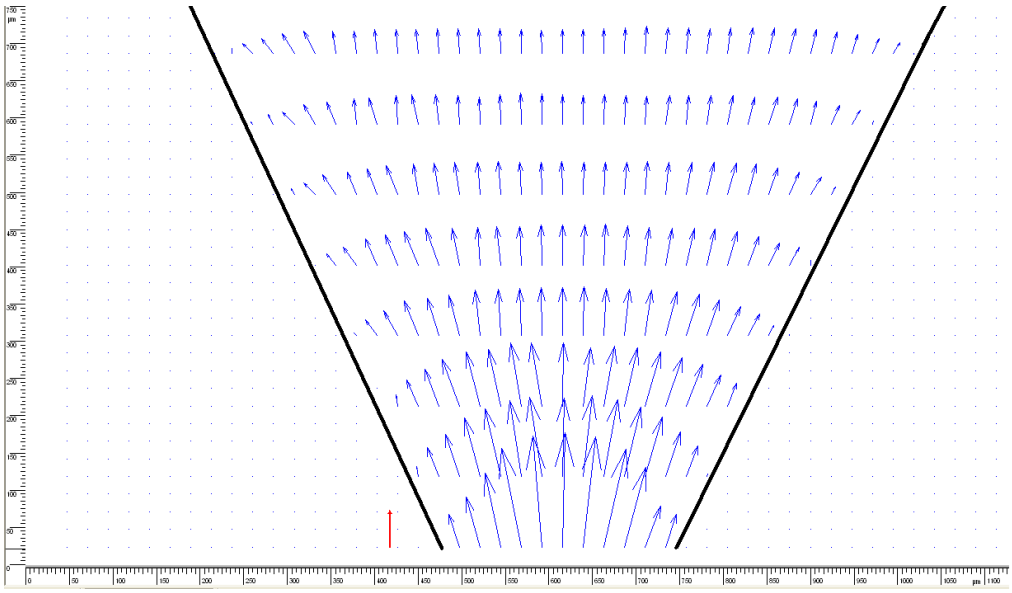


Figura 3.24 - Campo de vectores na expansão em estudo para o fluido Sol_Agua_Glic41 com um caudal de 100 µl/minuto. Vector de referência: 30 mm/s.

As análises qualitativas e observações realizadas para o caso anterior são igualmente válidas para o caso em análise na figura 3.24.

Na figura 3.25 encontra-se a representação dos perfis na secção da expansão em estudo para o fluido Agua_Pura, para um caudal de 1000 µl/minuto.

Como se pode verificar, o caudal em estudo, na geometria em expansão e para o fluido Agua_Pura, impõe um acentuado gradiente de velocidades entre a zona central do escoamento e a zona junto à parede, tendo o vector de referência uma magnitude de 300 mm/s. O perfil obtido, menos parabólico e com ponto de inflexão, é induzido pelo domínio da convecção face à difusão na transferência da quantidade de movimento e pelo gradiente de pressão (especialmente na zona mais larga da expansão) que provoca uma elevada perda de quantidade de movimento junto da parede. O formato geométrico do perfil sugere que um aumento de caudal poderá induzir uma instabilização do escoamento, originando regiões de recirculação. A separação da camada limite e surgimento de recirculações é possível para a expansão em causa visto que o ângulo de abertura de cada parede é de cerca de 21º, valor superior aos 15º referenciados na bibliografia consultada [86].

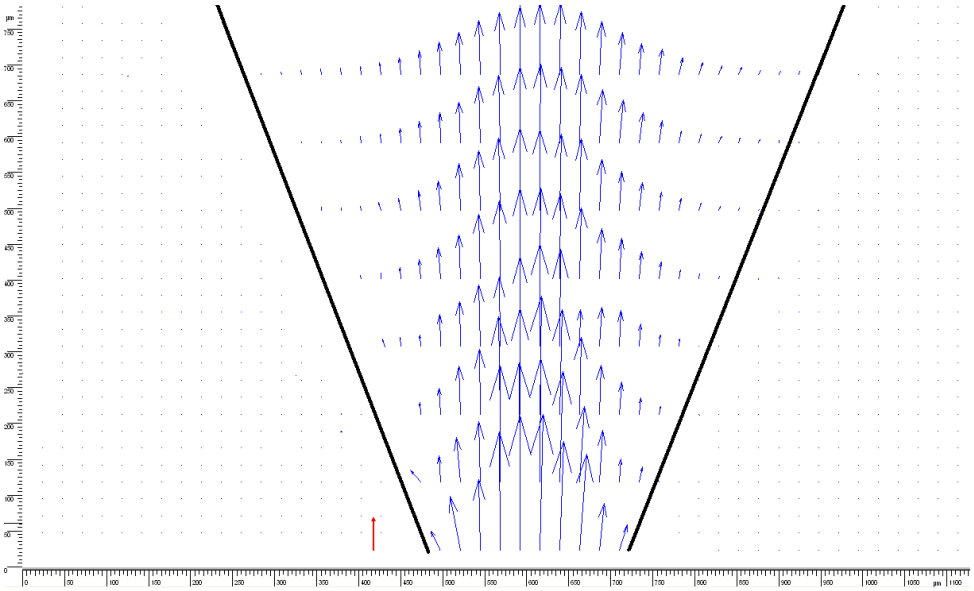


Figura 3.25 - Campo de vectores na expansão em estudo para o fluido Agua_Pura com um caudal de 1000 µl/minuto. Vector de referência: 300 mm/s.

Estudo idêntico encontra-se representado na figura 3.26 para o fluido Sol_Agua_Glic41 para um caudal de 1000 µl/minuto.

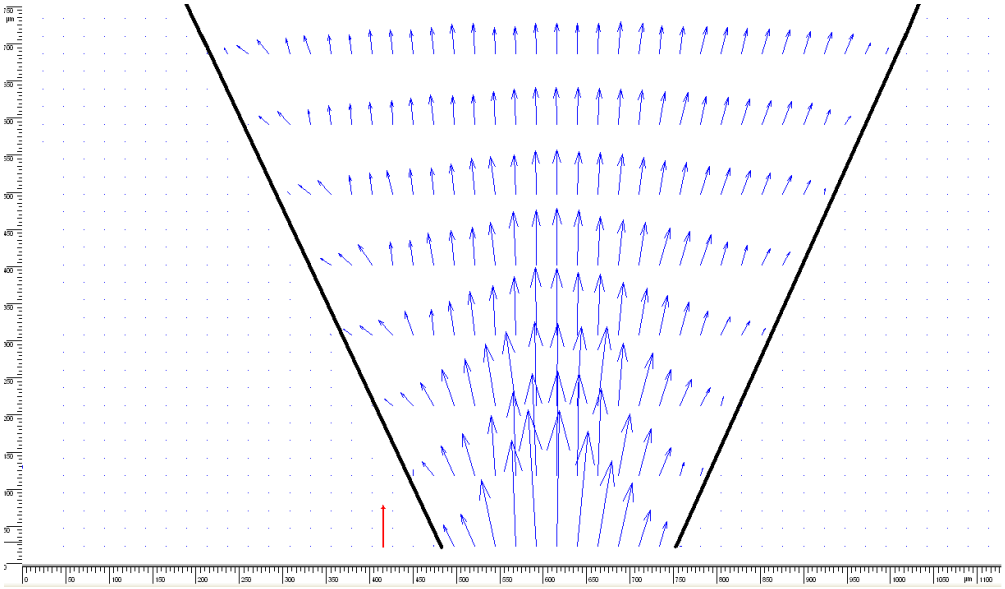


Figura 3.26 - Campo de vectores na expansão em estudo para o fluido Sol_Agua_Glic41 com um caudal de 1000 µl/minuto. Vector de referência: 300 mm/s.

O comportamento registado na figura 3.25 e anteriormente descrito, não se verifica para o fluido Sol_Agua_Glic41, na figura 3.26, pois, para as mesmas condições, os perfis têm uma forma geométrica mais uniforme devido ao maior efeito de difusão transversal de quantidade de movimento que tem origem na maior viscosidade do fluido, parecendo não existir neste caso tendência para ocorrer separação da camada limite. Pode-se então concluir que quanto maior a viscosidade do fluido newtoniano, maior terá de ser o caudal circulante para provocar a instabilização do escoamento.

Verifica-se também que alguns dos perfis possuem vectores com dimensões ou direcções atípicas, o que se justifica pelo elevado caudal imposto que cria um elevado gradiente longitudinal de velocidades (entre os perfis das zonas com menor área de passagem e os de maior área de passagem). É, por isso, difícil escolher um intervalo de tempo entre os feixes luminosos emitidos pelo laser que permitam determinar o posicionamento das partículas, como descrito na secção 2.3.4 b, obtendo bons resultados experimentais em toda a zona da expansão em análise.

3.2.4 Resultados experimentais do escoamento de simuladores não-newtonianos numa expansão horizontal

De seguida serão apresentados os resultados provenientes da análise aos escoamentos de fluidos não-newtonianos simuladores de sangue, com recurso à técnica micro-PIV, na expansão do canal C do *chip* S1 presente na figura 2.5.

Os perfis de velocidades apresentados correspondem a análises realizadas nos planos representados na figura 3.16 cujas características podem ser vistas na tabela 3.4 e na cota central do microcanal.

Na figura 3.27 são comparados os perfis de velocidade de um fluido newtoniano e um simulador de sangue não-newtoniano para um caudal de 100 µl/minuto na expansão em estudo.

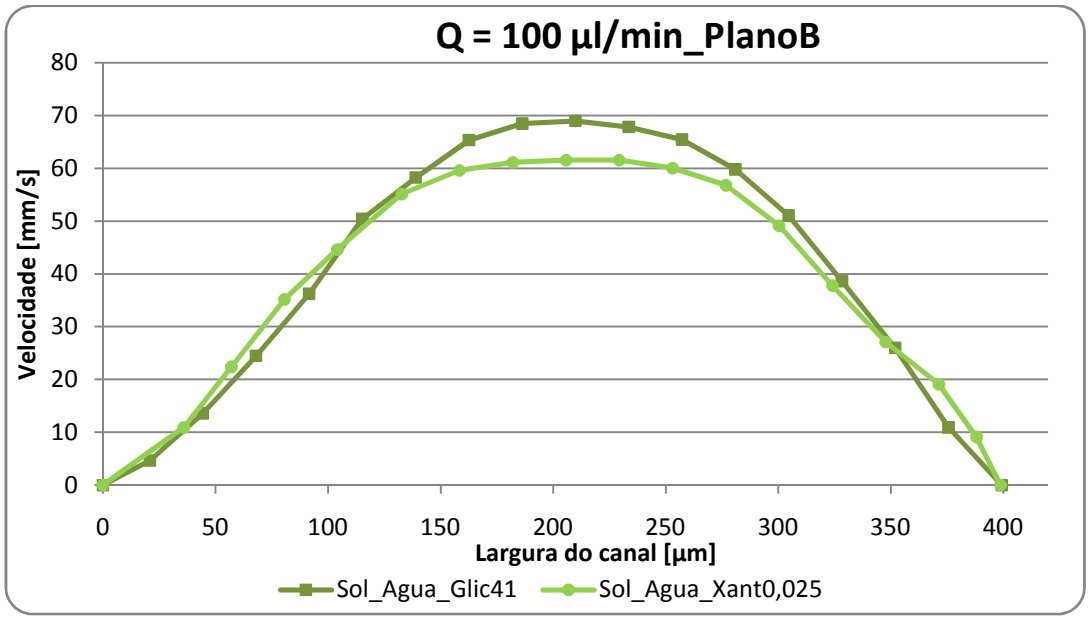


Figura 3.27 – Comparação de perfis de velocidade de um fluido newtoniano e um simulador de sangue não-newtoniano para um caudal de 100 µl/minuto no plano B da expansão em estudo.

Como se pode verificar na figura 3.27, o perfil do simulador não-newtoniano Sol_Agua_Xant0,025 apresenta um ligeiro achatamento na zona central, comportamento característico dos fluidos com reologia pseudoplástica. A diferença de velocidade registada nessa zona, face ao fluido Sol_Agua_Glic41, é compensada com uma maior velocidade nas zonas exteriores do perfil de forma a conservar o caudal.

Os perfis presentes na figura 3.28 correspondem à evolução dos perfis representados na figura 3.27 do plano B para o plano C para um caudal de 100 µl/minuto na expansão em estudo.

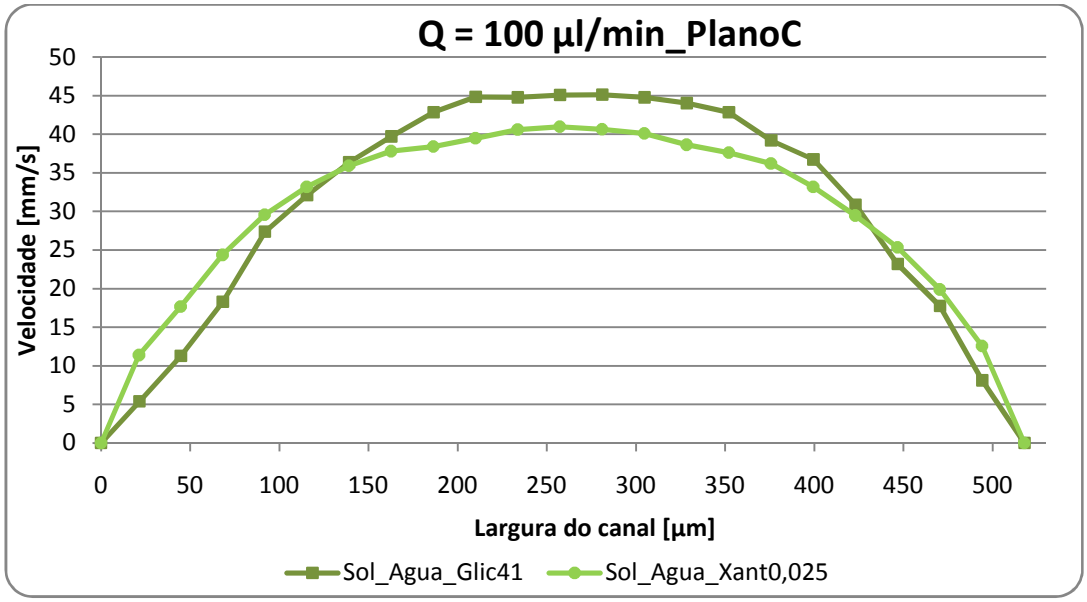


Figura 3.28 - Comparação de perfis de velocidade de um fluido newtoniano e um simulador de sangue não-newtoniano para um caudal de 100 µl/minuto no plano C da expansão em estudo.

Verifica-se para ambos os casos uma diminuição da gama de velocidades registadas devido ao aumento da área de passagem, mantendo o simulador não-newtoniano Sol_Agua_Xant0,025 a tendência já registada no plano B de apresentar um perfil de velocidades ligeiramente mais achatado na zona central.

Na figura 3.29 são comparados os perfis de velocidade de um fluido newtoniano e outro não-newtoniano no plano C e para um caudal imposto de 1000 µl/minuto.

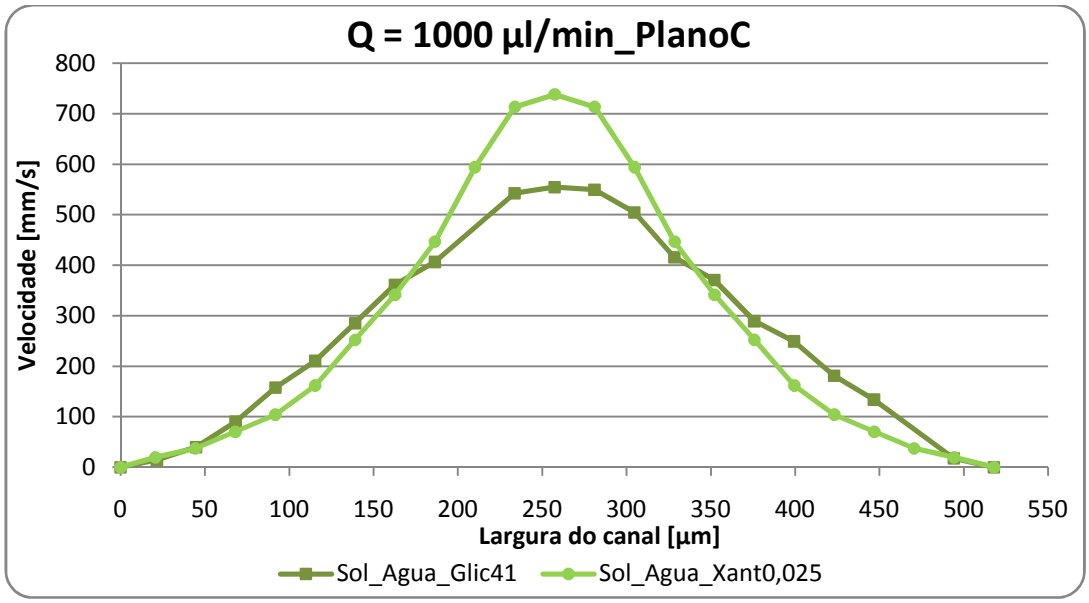


Figura 3.29 - Comparação de perfis de velocidade de um fluido newtoniano e um simulador de sangue não-newtoniano para um caudal de 1000 µl/minuto no plano C da expansão em estudo.

Atendendo a que nas figuras anteriores (figura 3.28 e figura 3.29) estão representados os mesmos simuladores, num mesmo plano, mas para caudais diferentes, é possível analisar directamente as consequências do aumento do caudal. Enquanto que para o caudal de 100 µl/minuto (figura 3.28) se verifica que a reologia do fluido tem um papel importante na definição da forma geométrica dos perfis de velocidade, para o caudal de 1000 µl/minuto (figura 3.29) a definição do perfil não demonstra o efeito da reologia pseudoplástica do simulador de sangue não-newtoniano Sol_Agua_Xant0,025. A definição da forma geométrica dos perfis é dominada pela já relatada predominância do fenómeno de convecção em relação à difusão na transferência da quantidade de movimento e pelo aumento acentuado do gradiente de pressão.

Na figura 3.30 comparam-se os comportamentos dos dois fluidos anteriormente referidos para um caudal de 1000 µl/minuto no plano D.

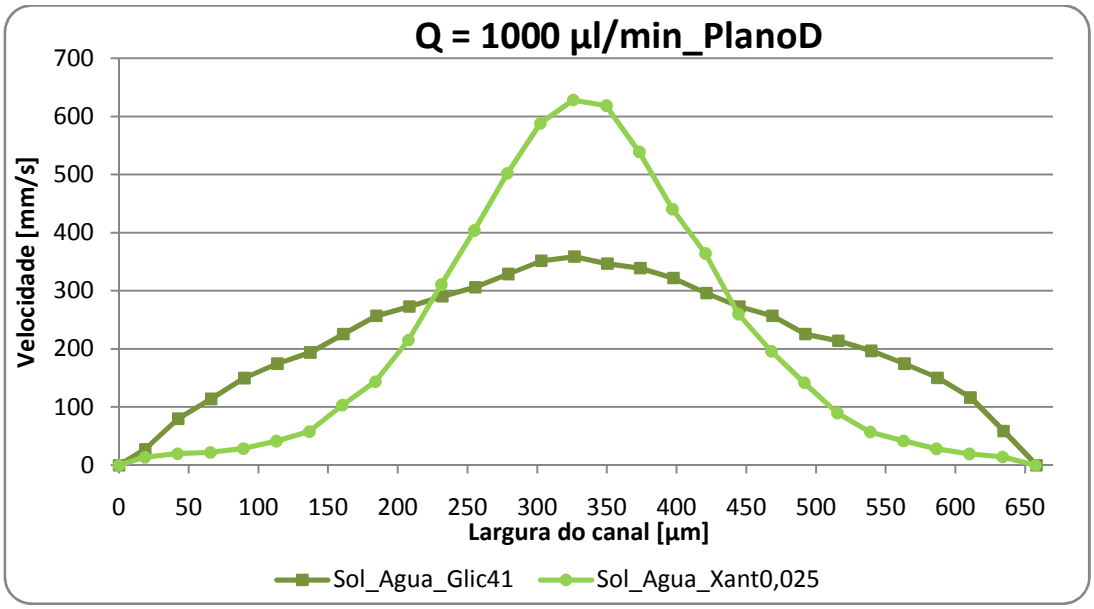


Figura 3.30 - Comparação de perfis de velocidade de um fluido newtoniano e um simulador de sangue não-newtoniano para um caudal de 1000 µl/minuto no plano D da expansão em estudo.

Com a passagem do plano C para o plano D e respectivo aumento da área de passagem do escoamento verificou-se uma diminuição da gama de velocidades do perfil, mantendo-se a predominância da transferência de quantidade de movimento por convecção, estando isto mais realçado no perfil de velocidades do fluido Sol_Agua_Xant0,025. O perfil do fluido Sol_Agua_Glic41, por possuir uma maior viscosidade, denota uma maior influência do efeito difusivo na transferência da quantidade de movimento. Assim sendo, também neste caso não se nota o achatamento da zona central do perfil de velocidades do simulador Sol_Agua_Xant0,025, característico dos fluidos não-newtonianos pseudoplásticos.

Capítulo 4

Conclusões e trabalho futuro

4.1 Síntese Conclusiva

O trabalho desenvolvido nesta tese consistiu na análise cinemática dos escoamentos de fluidos newtonianos e não-newtonianos simuladores de sangue, em microcanais de secção rectangular com recurso à técnica de visualização micro-PIV. Atendendo às inúmeras possibilidades de estudo disponibilizadas pela instalação, instrumentação e métodos de análise utilizados, os ensaios foram conduzidos de modo a efectuar a caracterização reológica dos simuladores de sangue preparados, desenvolvendo posteriormente estudos relativamente ao escoamento cinemático destes num canal de geometria recta (escoamento desenvolvido) e numa expansão (escoamento em desenvolvimento). Os resultados experimentais obtidos foram comparados directamente entre si e com soluções analíticas, quando existentes, bem como, contrapostos a factos recolhidos na literatura consultada.

Relativamente aos fluidos utilizados, desenvolveram-se simuladores de sangue newtonianos e não-newtonianos, caracterizando a sua reologia com o auxílio de um viscosímetro. Os primeiros, apesar de apresentarem um comportamento reológico bastante distinto do sangue, visto serem caracterizados por um valor de constante de viscosidade, revelaram-se bons simuladores para as taxas de deformação mais elevadas onde a viscosidade do sangue tende a estabilizar. Salienta-se o simulador Sol_Agua_Glic41, que apresenta para uma taxa de deformação superior a 200 s^{-1}, uma correspondência elevada com os registos reológico do sangue registados por McMillan *et al.* [84], bem como o simulador Sol_Agua_Glic20,8 que apresenta características (viscosidade e reologia) semelhantes ao plasma humano. Os simuladores não-newtonianos utilizados, apesar de consistirem em soluções homogéneas, e não em suspensões de partículas fluidizadas, apresentaram um comportamento pseudoplástico idêntico àquele desenvolvido pelo sangue, simulando com sucesso a variação do grau de agregação, alinhamento e deformação dos eritrócitos com a taxa de deformação. O comportamento do sangue é caracterizado por um decréscimo da viscosidade com o aumento da taxa de deformação, sendo o decréscimo mais acentuado na gama mais baixa da taxa deformação, diminuindo o seu declive com o aumento da taxa de deformação. Foi também possível simular com sucesso a variação do comportamento pseudoplástico de acordo a percentagem de eritrócitos. Um sangue com maior percentagem de eritrócitos, que se traduz num comportamento pseudoplástico mais acentuado, é melhor simulado quanto maior a quantidade de goma *xanthan* presente na solução, sendo o sangue com menor percentagem de eritrócitos e comportamento pseudoplástico mais atenuado simulado com recurso a uma menor adição de goma *xanthan* e com recurso a um solvente newtoniano de elevada viscosidade (a glicerina).

De modo a efectuar o estudo do comportamento dos fluidos newtonianos num escoamento desenvolvido recorreu-se à caracterização destes num canal de secção recta rectangular e constante, através da análise de perfis bidimensionais de velocidade, numa zona central do canal, tendo-se verificado que o seu comportamento era idêntico, apresentando perfis de velocidade parabólicos. Os resultados coincidem de resto com a solução analítica obtida para o escoamento estacionário, laminar e desenvolvido em canais rectos. Para um destes fluidos efectuou-se também a reconstrução do campo tridimensional de velocidades por sobreposição de perfis bidimensionais recolhidos em diferentes alturas do canal, o que permitiu concluir que, também nesta nova direcção do espaço, o perfil tem uma forma parabólica.

Já na caracterização do comportamento dos simuladores não-newtonianos no escoamento em desenvolvimento se verificou, por comparação dos perfis de velocidade bidimensionais, que estes últimos apresentam um formato mais achatado na zona central, ao contrário dos perfis dos fluidos newtonianos que apresentam um perfil parabólico. Verificou-se também da comparação entre os simuladores não-newtonianos que, quanto mais acentuado for o comportamento pseudoplástico de um fluido, maior é o achatamento da zona central. Por outro lado, quanto maior for o caudal, e por sua vez a taxa de deformação imposta, menor é o achatamento registado.

No que se refere ao comportamento dos fluidos newtonianos na expansão verificou-se que para baixos caudais, os perfis de velocidade são semelhantes entre si enquanto que para caudais superiores se regista a predominância da convecção na transferência da quantidade de movimento, face ao fenómeno de difusão, influenciando a definição dos perfis de velocidade. Em alguns dos perfis analisados a técnica permitiu detectar a existência dos expectáveis pontos de inflexão dos perfis de velocidade em gradiente de pressão adverso.

Na análise do comportamento cinemático dos simuladores não-newtonianos no escoamento em desenvolvimento registou-se que para caudais baixos os perfis do simulador de sangue não-newtoniano Sol_Agua_Xant0,025 registavam um ligeiro achatamento na zona central face ao perfil do fluido newtoniano Sol_Agua_Glic41. Para caudais mais elevados, tal como no caso dos simuladores newtonianos, verificou-se a predominância do fenómeno de convecção face ao da difusão que, conjuntamente com a acção do gradiente de pressão adverso, induz o aparecimento de perfis de velocidade com pontos de inflexão.

4.2 Sugestão de trabalho futuro

O trabalho desenvolvido permitiu obter algumas respostas neste campo, ainda em desenvolvimento, da utilização de simuladores de sangue, mormente no estudo do comportamento do sangue com recurso a técnicas avançadas de visualização. Urge então a necessidade de apontar caminhos a seguir no desenvolvimento de trabalhos futuros.

Um dos caminhos a percorrer está relacionado com o recurso à modelação numérica de modo a caracterizar cinematicamente os escoamentos. Este trabalho revela-se deveras importante visto que o formato rombo do campo tridimensional de velocidades, característico dos fluidos não-newtonianos pseudoplásticos, é de difícil caracterização matemática, sendo o número de soluções

analíticas para as diferentes geometrias até agora estudadas muito reduzido. A principal dificuldade associada a este estudo relaciona-se com a aplicação computacional das equações matemáticas regentes do comportamento reológico dos fluidos não-newtonianos na linguagem de programação dos *softwares* de simulação numérica em volumes finitos.

O recurso às técnicas micro-PIV e de simulação numérica deve ser efectuado também noutras geometrias que permitam uma melhor compreensão do comportamento do sangue nessas situações, podendo do seu comportamento advir conhecimentos importantes no desenvolvimento dos já referidos MEMS (*Micro-Electro-Mechanical Systems*) ou na compreensão de determinadas doenças no sistema circulatório humano.

De modo a melhor compreender a importância dos fenómenos associados à agregação e deformação dos eritrócitos, principais responsáveis pelo comportamento pseudoplástico do sangue, um novo tipo de simulador caracterizado como uma suspensão de partículas deformáveis num fluido newtoniano com as propriedades do plasma deve ser desenvolvido e adoptado.

Referências

[1] Bayraktar, T., Pidugu, S. (2006), Characterization of liquid flows in microfluidic systems, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, Vol. 49, pp. 815 – 824.

[2] Jensen, K. F. (2001), Microreaction engineering - is small better?, *Chemical Engineering Science*, Vol. 56, pp. 293 - 303.

[3] Gad-el-Hak, M. (2006), MEMS – Introduction and fundamentals, 2nd Edition, Taylor and Francis Group.

[4] Toner, M., Irimia, D. (2005), Blood-on-a-Chip, *Annual Review of Biomedical Engineering*, Vol. 7, pp. 77 – 103.

[5] Owens, R. G. (2006), A new microstructure-based constitutive model for human blood, *Journal of Non-Newtonian Fluids*, Vol. 140, pp. 57 - 70.

[6] Thurston, G. B. (1993), The elastic yield stress of human blood, *Biomedical Science Instrumentation*, pp. 87 – 93.

[7] R. Fåhraeus e T. Lindqvist (1931), The viscosity of blood in narrow capillary tubes, *American Journal of Physiology*, Vol. 96, pp. 562 – 568.

[8] Popel, A. S., Johnson, P. C. (2005), Microcirculation and hemorheology, *Annual Review Fluid Mechanics, Vol. 47,* pp. 43 – 69.

[9] Mala, G., Li, D. (1999), Flow characteristic of water in microtubes, *International Journal of Heat and Fluid Flow*, Vol. 20, pp. 142 – 148.

[10] Judy, J., Maynes, D., Webb, B. (2002), Characterization of frictional pressure drop for liquid flows through microchannels, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, Vol. 45, pp. 3477 – 3489.

[11] Li, H., Olsen, M. (2006), Aspect ratio effects on turbulent and transitional flow in rectangular microchannels as measured with micro-PIV, *Journal of Fluids Engineering*, Vol. 128, pp. 305 – 315.

[12] Bitsch, L., Olesen, L., Westergaard, C., Bruus, H., Klank, H., Kutter, J. (2005), Micro particle-image velocimetry of bead suspensions and blood flows, *Experiments in Fluids*, Vol. 39, pp. 505 – 511.

[13] Lima, R., Wada, S., Takeda, M., Tsubota, K., Yamaguchi, T. (2007), In vitro confocal micro-PIV measurements of blood flow in a square microchannel: The effect of the haematocrit on instantaneous velocity profiles, *Journal of Biomechanics*, Vol. 40, pp. 2752 – 2757.

[14] Croce, G., D'agaro, P., Nonino, C. (2007), Three-dimensional roughness effect on microchannel heat transfer and pressure drop, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, Vol. 50, pp. 5249 – 5259.

[15] Jafari, A., Mousavi, S. M., Kolari, P. (2008), Numerical investigation of blood flow. Part I: in microvessel bifurcations, *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, Vol. 13, pp. 1615 – 1626.

[16] Wu, H., Cheng, P. (2003), Friction factors in smooth trapezoidal silicon microchannels with different aspect ratios, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, Vol. 46, pp. 2519 – 2525.

[17] Hetsroni, G., Mosyak, A., Pogrebnyak, E., Yarin, L. (2005), Fluid flow in micro-channels, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, Vol. 48, pp. 1982 – 1998.

[18] Kohl, M., Abdel-Khalik, S., Jeter, S., Sadowski, D. (2005), An experimental investigation of microchannel flow with internal pressure measurements, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, Vol. 48; pp. 1518 – 1533.

[19] Santiago, J. G., Wereley, S. T., Meinhart, C. D., Beebe, D. J., Adrian, R. J. (1998), A particle image velocimetry system for microfluidics, *Experiments in Fluids*, Vol. 25, pp. 316 – 319.

[20] Koutsiaris, A. G., Mathioulakis, D. S., Tsangaris, S. (1999), Microscope PIV for velocity-field measurement of particle suspension flowing inside glass capillaries, *Measurement Science and Technology*, Vol. 10, pp. 1037 – 1046.

[21] Meinhart, C. D., Wereley, S. T., Santiago, J. G. (2000), A PIV algorithm for estimating time-average velocity fields, *Journal of Fluids Engineering*, Vol. 122, pp. 285 – 289.

[22] Sharp, K. V., Adrian, R. J. (2004), Transition from laminar to turbulent flow in liquid filled microtubes, *Experiments in Fluids*, Vol. 36, pp. 741 – 747.

[23] Silva, G., Leal, N., Semiao, V. (2008), Determination of microchannels geometric parameters using micro-PIV, *Chemical Engineering Research and Design*, Vol. 87, pp. 298 – 306.

[24] Silva, G., Leal, N., Semiao, V. (2008), Micro-PIV and CFD characterization of flows in a microchannel: Velocity profiles, surface roughness and Poiseuille number, *International Journal of Heat and Fluid Flow*, Vol. 29, pp. 1211 - 1220.

[25] Chhabra, R. P., Richardson, J. F. (2008), Non-Newtonian Flow and Applied Rheology, 2nd Edition, ChemE.

[26] Cheremisihoff, N. P. (1988), Encyclopedia of Fluid Mechanics: Rheology and Non-Newtonian Flows, Houston, Texas: Gulf Publishing Company.

[27] Darhuber, A., Troian, S. (2005), Principles of Microfluidic Actuation by Modulation of Surface Stresses, *Annual Review of Fluid Mechanics*, Vol. 37, pp. 425 – 455.

[28] Bitsch, L. (2002), Blood Flow in Microchannels, Master Thesis, Microelectronic Center, Technical University of Denmark.

[29] West, E. S., Todd, W. R. (1961), Biochemistry, 3rd Edition, The MacMillan Company, New York.

[30] Solomon, E. P., Berg, L. R., Martin, D. W., Villee, C. (1996), Biology, 4th edition, Saunders College Publishing.

[31] Lowe, G. D. O. (1988), Nature and clinical importance of blood rheology, Clinical Blood Rheology, CRC Press, Vol. 1, pp. 1 - 10.

[32] Vilastic Scientific, Inc: Plasma Viscosity and Blood Viscoelasticity. Webpage, www.vilastic.com/tech10.html (16 de Março de 2009).

[33] Thurston, G. B. (1972), The viscoelasticity of human blood, *Biophysical Journal*, Vol. 12, pp. 1205 – 1217.

[34] Chmiel, H., Anadere, I., Walitza, E. (1990), The determination of blood viscoelasticity in clinical hemorheology, *Clinical Hemorheology*, Vol. 10, pp 363 – 374.

[35] Anadere, I., Chmiel, H., Hess, H., Thurston, G. B. (1979) Clinical blood rheology, *Biorheology*, Vol. 16, pp. 171 – 178.

[36] Isogai, Y., Ikemoto, S., Kuchiba, K., Ogawa, J., Yokose, T. (1991), Abnormal blood viscoelasticity in diabetic microangiopathy, *Clinical Hemorheology*, Vol. 11, pp. 175 – 182.

[37] Chien, S., Usami, S., Dellenback, R. J., Gregersen, M. I. (1970), Shear-dependent interaction of plasma proteins with erythrocytes in blood rheology, *American Journal of Physiology*, Vol. 219, pp. 143 – 153.

[38] Rampling, M. W. (1988), Red cell aggregation and yield stress, Clinical Blood Rheology, CRC Press, Vol. 1, pp. 65 – 86.

[39] Dormandy, J. (1983), Red cell deformability, *European Neurology*, Vol. 22, pp. 23 - 29.

[40] Stuart, J. (1988), Erythrocyte deformability, Clinical Blood Rheology, CRC Press, Vol. 1, pp. 65 – 86.

[41] Thurston, G. B. (1979), Erythrocyte rigidity as a factor in blood rheology: viscoelastic dilatancy, *Journal of Rheology*, Vol. 23, pp. 703 – 719.

[42] Martinez, E. C., Huerta, A. R., Lomas, R. F. (2003), Simulation of microfluidic blood viscosity for MEMS devices, Iberchip Project.

[43] Fung, Y. C. (1994), A First Course in Continuum Mechanics, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.

[44] Evans, D. F., Wennerstrom, H. (1994), The Colloidal Domain, Where Physics, Chemistry, Biology, and Technology Meet, VCH Publishers, Inc.

[45] Thurston, G. B. (1996), Viscoelastic properties of blood and blood analogs, Advances in Hemodynamics and Hemorheology, JAI Press, pp. 1 - 30.

[46] Gaehtgens, P., Meiselman, H., Wayland, H. (1970), Velocity profiles of human blood at normal and reduced hematocrit in glass tubes up to 130 μ diameter, *Microvascular Research*, Vol. 2, pp. 13 – 23.

[47] Baker, M., Wayland, H. (1974), On-line volume flow rate and velocity profile measurement for blood in microvessels, *Microvascular Research*, Vol. 7, pp. 131 – 143.

[48] Gaehtgens, P. (1987), Tube flow of human blood at near zero shear, *Biorheology*, Vol. 24, pp. 367 – 376.

[49] Alonso, C., Pries, A., Kiesslich, O., Lerche, D., Gaehtgens, P. (1995), Transient rheological behavior of blood in low-shear tube flow: velocity profiles and effective viscosity, *The American Journal of Physiology*, Vol. 268, nº 1, pp. H25 – H32.

[50] Parthasarathi, A., Japee, S., Pittman, R. (1999), Determination of red blood cell velocity by video shuttering and image analysis, *BioMedical Engineering*, Vol. 27, pp. 313 – 325.

[51] Tsukada, K., Minamitami, H., Sekizuka, E., Oshio, C. (2000), Image correlation method for measuring blood flow velocity in microcirculation: correlation 'window' simulation and in vivo image analisys, *Physiological Measurement*, Vol. 21, pp. 459 – 471.

[52] Cochrane, T., Earnshaw, J., Love, A. (1981), Laser Doppler measurement of blood velocity in microvessels, *Medical and Biological Engineering and Computing*, Vol. 19, pp. 589 – 596.

[53] Uijttewaal, W., Nijhof, E., Heethaar, R. (1994), Lateral migration of blood cells and microspheres in two-dimensional Poiseuille flow: a laser-Doppler study, *Journal of Biomechanics*, Vol. 27, pp. 35 – 42.

[54] Golster, H., Linden, M., Bertuglia, S., Colantuoni, A., Nilsson, G., Sjoberg, F. (1999), Red blood cell velocity and volumetric flow assessment by enhanced high-resolution laser Doppler imaging in separate vessels of the hamster cheek pouch microcirculation, *Microvascular Research*, Vol. 58, pp. 62 – 73.

[55] Tangelder, G., Slaaf, D., Muijtjens, M., Arts, T., Egbrink, M., Reneman, R. (1986), Velocity profiles of blood platelets and red blood cells flowing in arteriols of rabbit mesentery, *Circulation Research*, Vol. 59, pp. 505 – 514.

[56] Nakano, A., Sugii, Y., Minamiyama, M., Niimi, H. (2003), Measurement of red cell velocity in microvessels using particle image velocimetry (PIV), *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, Vol. 29, pp. 445 – 455.

[57] Nguyen, N., Wereley, S. (2002), Fundamentals and Applications of Microfluidics, Artech House Inc., Massachusetts, USA.

[58] Lima, R., Wada, S.,Tanaka, S., Takeda, M., Tsubota, K., Ishikawa T., Imai, Y., Yamaguchi, T. (2007). In vitro blood flow in a rectangular PDMS microchannel: experimental observations using a confocal micro-PIV system, *Biomedical Devices*, Vol. 10, pp. 153 – 167.

[59] Sugii Y., Okuda, R., Okamoto, K., Madarame, H. (2005), Velocity measurement of both red blood cells and plasma of in vitro blood flow using high-speed micro PIV technique, *Measurement Science and Technology*, Vol. 16, pp. 1126 – 1130.

[60] Vennemann, P., Kiger, K.T., Lindken, R., Groenendijk, B. C. W., Stekelenburg-de Vos, S., Ten Hagen, T. L. M., Ursem, N. T. C., Poelmann, R.E., Westerweel, J., Hierck, B.P. (2005), In vivo micro particle image velocimetry measurements of blood-plasma in the embryonic avian heart, *Journal of Biomechanics*, Vol. 39, pp. 1191 – 1200.

[61] Vennemann, P., Lindken, R., Westerweel, J. (2007), In vivo whole-field blood velocity measurement techniques, *Experiments in Fluids*, Vol. 42, pp. 495 – 511.

[62] Poelma, C., Vennemann, P., Lindken, R., Westerweel, J. (2008), In vivo blood flow and wall shear stress measurements in the vitelline network, *Experiments in Fluids*, Vol. 45, pp. 703 – 713.

[63] Jafari, A., Zamankhan, P., Mousavi, S. M., Kolari, P. (2009), Numerical investigation of blood flow. Part II: In capillaries, *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, Vol. 14, pp. 1396 – 1402.

[64] Bernsdorf, J., Wang, D. (2009), Non-Newtonian blood flow simulation in cerebral aneurysms, *Computers and Mathematics with Applications*, doi:10.1016/j.camwa.2009.02.019.

[65] Nanduri, J. R., Pino-Romainville, F. A., Celik, I. (2009), CFD mesh generation for biological flows: Geometry reconstruction using diagnostic images, *Computers & Fluids*, Vol. 38, pp. 1026 – 1032.

[66] Affeld, K., Schichl, K., Yoganathan, A. (1986), Investigation of the flow in a centrifugal blood pump, *American Society for Artificial Internal Organs Transactions*, Vol. 32, pp. 269 – 273.

[67] Chandran, K.B., Khalaghi, B. A. (1984), Note on the Blood Analog for In-Vitro Testing of Heart Valve Bioprostheses, *Journal of Biomechanical Engineering*, Vol.106, pp. 112 – 114.

[68] Mann, K.A., Deutsch, S., Tarbell, J.M., Geselowitz, D.B., Rosenberg, G., Pierce, W.S. (1987), An experimental study of Newtonian and non-Newtonian flow dynamics in a ventricular assist device, *Journal of Biomechanical Engineering*, Vol. 109, pp. 139 – 147.

[69] Brookshier, K. A., Tarbell, J. M. (1993), Evaluation of a transparent blood analog fluid - aqueous xanthan gum glycerin, *Biorheology*, Vol. 30, pp. 107-116.

[70] Pohl, M., Wendt, M. O., Werner, S., Koch, B., Lerche, D. (1996), In-vitro testing of artificial-heart valves - comparison between newtonian and non-newtonian fluids, *Artificial Organs*, Vol. 20, pp. 37 – 46.

[71] Liepsch, D., Thurston, G., Lee, M. (1991), Studies of fluids simulating blood-like rheological properties and applications in models of arterial branches, *Biorheology*, Vol. 28, pp. 39-52.

[72] Wickramasinghe, S. R., Kahr, C. M., Han, B. (2002), Mass transfer in blood oxygenators using blood analogue fluids, *Biotechnology Progress*, Vol. 18, pp. 867 – 873.

[73] Wickramasinghe, S. R., Han, B., Garcia, J. D., Specht, R. (2005), Microporous Membrane Blood Oxygenators, *AIChE Journal*, Vol. 51, pp. 656 – 670.

[74] Raffel, M., Willert, C., Kompenhans, J. (1998), Particle Image Velocimetry – A Pratical Guide, Springer, Berlin.

[75] Wereley S., Meinhart C. (2005), Microscale Diagnostic Techniques: Micron-Resolution Particle Image Velocimetry, Springer, Berlin, Heidelberg.

[76] Keane, R. D., Adrian, R. J. (1992), Theory of cross-correlation analysis of PIV images, *Applied Scientific Research*, Vol. 49, pp. 191 – 215.

[77] Høst-Madsen, A., McCluskey, D. R. (1994), On the accuracy and reliability of PIV measurements, Proceedings of the 7th International Symposium on Applications of Laser Techniques to Flow Measurements, Lisboa.

[78] Brookfield DV-II+ PRO manual (2008), Middleboro – Massachusetts.

[79] Haberman, R. (2004), Applied Partial Differential Equations: with Fourier Series and Boundary Value Problems, Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey.

[80] Driscoll, D. (2004), Uncertainties and error propagation - Introdutory Physics Labs, Case Western Reserve University, Cleveland.

[81] Silva, G. (2006), Caracterização experimental de um escoamento microfluídico, Trabalho Final de Curso, Departamento de Engenharia Mecânica, Instituto Superior Técnico, Lisboa.

[82] Chien, S., Usami, S., Dellenback, R. J., Gregersen, M. I. (1970), Shear-dependent deformation of erythrocytes in rheology of human blood, *American Journal of Physiology*, Vol. 219, pp. 136 – 142.

[83] Thurston, G. B., Pope, G. A. (1981), Shear rate dependence of the viscoelasticity of polymer solutions: II. Xanthan gum, *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, Vol. 9, pp. 69 – 78.

[84] McMillan, D. E., Strigberger, J., Utterback, N. G. (1987) Rapidly recovered transient flow resistance: a newly discovered property of blood, *American Journal of Physiology*, Vol. 253, pp. 919 – 926.

[85] Shah, R. K., London, A. L. (1998), Laminar Flow Forced Convection in Ducts, Volume 1 of Advances in Heat Transfer. Academic Press, New York.

[86] Brederode, V. (1997), Fundamentos de Aerodinâmica Incompressível, Edição de autor, 1ª Edição, Departamento de Engenharia Mecânica – Instituto Superior Técnico.

[87] Zhang, J.-B., Zhen-Bang, K. (2000), Study on Blood Constitutive Parameters in Different Blood Constitutive Equations, *Journal of Biomechanics*, Vol. 33, pp. 355 - 360.

Anexo 1

Resultados da verificação e calibração das microbombas

Caudal [µl/min]	Agua_Pura				Sol_Agua_Glic20,8				Sol_Agua_Glic41				Sol_Agua_Glic52				Sol_Agua_ Xant0,025		Sol_Agua_Glic35_ Xant0,02	
	Bomba NE - 1000		Bomba Nexus 5000		Bomba NE - 1000		Bomba Nexus 5000		Bomba NE - 1000		Bomba Nexus 5000		Bomba NE - 1000		Bomba Nexus 5000		Bomba Nexus 5000		Bomba Nexus 5000	
	Erro absoluto médio [µl/min]	Erro relativo médio [%]	Erro absoluto médio [µl/min]	Erro relativo médio [%]	Erro absoluto médio [µl/min]	Erro relativo médio [%]	Erro absoluto médio [µl/min]	Erro relativo médio [%]	Erro absoluto médio [µl/min]	Erro relativo médio [%]	Erro absoluto médio [µl/min]	Erro relativo médio [%]	Erro absoluto médio [µl/min]	Erro relativo médio [%]	Erro absoluto médio [µl/min]	Erro relativo médio [%]	Erro absoluto médio [µl/min]	Erro relativo médio [%]	Erro absoluto médio [µl/min]	Erro relativo médio [%]
25	0,6220	2,500	0,6246	2,500	0,6140	2,500	0,6182	2,500	0,6242	2,500	0,6177	2,500	0,6229	2,500	0,6203	2,500	0,6246	2,500	0,6259	2,500
50	1,2329	2,500	1,2500	2,500	1,2331	2,500	1,2026	2,500	1,2431	2,500	1,2247	2,500	1,2811	2,500	1,2348	2,500	1,2589	2,500	1,2606	2,500
100	2,4867	2,500	2,4658	2,500	2,4530	2,500	2,4274	2,500	2,4726	2,500	2,4071	2,500	2,4598	2,500	2,4798	2,500	2,5000	2,500	2,5070	2,500
200	1,9567	1,000	4,8422	2,500	1,9566	1,000	4,8422	2,500	4,9728	2,500	0,9913	0,500	5,1474	2,500	0,9934	0,500	4,9728	2,500	4,9728	2,500
300	2,8671	1,000	2,9129	1,000	2,9803	1,000	2,8943	1,000	2,9149	1,000	1,4928	0,500	2,8230	1,000	1,4929	0,500	3,7502	1,250	2,9902	1,000
400	3,9306	1,000	1,9826	0,500	3,9482	1,000	1,9914	0,500	3,8302	1,000	1,9616	0,500	3,7074	1,000	1,9872	0,500	4,9731	1,250	4,0189	1,000
500	4,8658	1,000	2,4663	0,500	2,7194	0,556	2,4666	0,500	4,6881	1,000	2,5076	0,500	2,4992	0,556	2,4935	0,500	5,0007	1,000	4,9469	1,000
600	3,3218	0,556	2,9810	0,500	3,3348	0,556	2,9911	0,500	3,2150	0,556	2,9532	0,500	2,1875	0,556	2,9711	0,500	3,3218	0,556	3,3340	0,556
700	3,8643	0,556	3,4896	0,500	3,8638	0,556	3,4626	0,500	3,7371	0,556	3,4906	0,500	2,7103	0,556	3,5033	0,500	3,8643	0,556	3,8805	0,556
800	4,3493	0,556	3,9663	0,500	4,3499	0,556	3,9699	0,500	4,2306	0,556	3,9492	0,500	2,6067	0,556	3,9839	0,500	4,4353	0,556	4,4139	0,556
900	4,8937	0,556	4,4143	0,500	4,7895	0,556	4,5277	0,500	4,1124	0,556	4,4842	0,500	1,7125	0,556	4,5023	0,500	5,0022	0,556	5,0324	0,556
1000	5,4587	0,556	4,9499	0,500	5,2355	0,556	4,9022	0,500	3,8676	0,556	4,8942	0,500	1,9318	0,556	4,8959	0,500	5,0603	0,500	5,0311	0,500
1500	8,0463	0,556	3,7392	0,250	5,7741	0,556	3,6517	0,250	4,4573	0,556	3,7551	0,250	-	-	3,6489	0,250	3,7865	0,250	3,7706	0,250
2000	11,0027	0,557	4,9836	0,251	6,6870	0,556	4,9854	0,251	4,6901	0,556	5,0395	0,251	-	-	4,9312	0,251	5,0974	0,251	5,0395	0,251
3000	13,7011	0,557	7,4137	0,251	7,5719	0,556	7,6025	0,251	5,2376	0,556	7,4137	0,251	-	-	7,4167	0,251	7,6025	0,251	7,6025	0,251
4000	15,3271	0,558	9,9782	0,252	8,0503	0,556	9,9782	0,252	4,3402	0,556	9,8750	0,252	-	-	10,2066	0,252	10,2066	0,252	10,0885	0,252
5000	14,8198	0,558	12,6724	0,253	8,5875	0,556	12,6724	0,253	4,1330	0,556	12,4992	0,253	-	-	12,6724	0,253	12,6724	0,253	12,6881	0,253
6000	12,7179	0,557	15,2971	0,255	7,7682	0,556	15,2971	0,255	4,3298	0,556	15,2971	0,255	-	-	15,2971	0,255	15,2971	0,255	15,2971	0,255

Anexo 2

Modelos matemáticos de simulação reológica do sangue

Modelo	Tensão de Corte	Parâmetros	Gama de taxa de deformação válida [s^{-1}]
Quemada	$\eta_\infty.\left(\frac{1+\vartheta}{\chi+\vartheta}\right)^2.\dot{\gamma}$	$\vartheta=\theta.\dot{\gamma}$ $\chi=\left(\frac{\eta_\infty}{\eta_0}\right)^2$	0,87 – 118
Bi-expoente	$\left(\eta_e+\eta_D e^{-\sqrt{t_D\dot{\gamma}}}+\eta_A e^{-\sqrt{t_A\dot{\gamma}}}\right).\dot{\gamma}$	-	0,87 – 118
K-L	$\tau_y+\eta_p\left(\alpha_1.\dot{\gamma}+\alpha_2.\sqrt{\dot{\gamma}}\right)$	-	0,2 – 180
Casson	$\sqrt{\tau_y}+\sqrt{\eta\dot{\gamma}}$, para $\tau>\tau_y$ Ausência de escoamento, para $\tau<\tau_y$	-	0 – 5
Wang	$\eta_P\left(\beta_1.\dot{\gamma}+\beta_2.\sqrt{\dot{\gamma}}\right)$	-	-
Lei de Potência	$m.\dot{\gamma}^n$	-	-
Walburn	$c_1 e^{\left(c_2H+\frac{c_4TPMA}{H^2}\right)}.\dot{\gamma}^{(1-c_3H)}$	-	0,03 – 110
Weaver	$\log(\eta_p)+\left[0{,}03-0{,}0076\log\left(\dot{\gamma}\right)\right].H$	-	0,03 – 120
Newtoniano	$\mu.\dot{\gamma}$	-	A partir de 150

A tabela anterior tem como mero objectivo fornecer uma ideia geral da parafernália de equações e modelos disponíveis para caracterizar a reologia do sangue de acordo com a gama de taxas de deformação por este adoptada. Para uma descrição detalhada de cada modelo deve ser consultado o trabalho de Zhang, *et al.* [87].