

Estudo de embolias gasosas em microcanais

Lúcia Isabel Teixeira de Sousa

Relatório Final do Trabalho de Projecto apresentado à
Escola Superior de Tecnologia e Gestão
Instituto Politécnico de Bragança

para obtenção do grau de Mestre em
Tecnologia Biomédica

Novembro de 2013

Estudo de embolias gasosas em microcanais

Lúcia Isabel Teixeira de Sousa

Relatório Final do Trabalho de Projecto apresentado à
Escola Superior de Tecnologia e Gestão
Instituto Politécnico de Bragança

Para obtenção do grau de Mestre em
Tecnologia Biomédica

Orientadores:

Dr. Rui Lima (IPB)

Dr. João Mário Miranda (FEUP)

Dr. Valdemar Garcia (IPB)

Este trabalho teve a cooperação da Faculdade de Engenharia de Universidade
do Porto (FEUP)

“Este Trabalho de Projecto inclui as críticas e sugestões feitas pelo Júri”

Novembro de 2013

Dedicatória

Aos meus pais e irmãos.

Agradecimentos

Quero agradecer a todas as pessoas que colaboraram directa ou indirectamente de forma a auxiliarem-me na concretização deste projecto.

De forma especial quero agradecer aos orientadores deste trabalho:

Ao Professor Doutor João Mário Miranda, pela orientação fornecida ao longo deste trabalho, através da exposição dos seus conhecimentos, pela sua disponibilidade na ajuda prestada;

Ao Professor Doutor Rui Lima, pela sua orientação através da exposição dos seus conhecimentos, das suas sugestões para o trabalho e contribuições na realização do mesmo;

Ao Professor Doutor Valdemar Garcia, pela sua orientação no trabalho através da exposição dos seus conhecimentos, assim como pelas sugestões para a elaboração deste trabalho.

Agradeço à minha família por estarem sempre presentes. De uma forma carinhosa agradeço aos meus pais, que sempre acreditaram nas minhas capacidades e assim contribuíram na minha educação, também por todo encorajamento, apoio incondicional, incentivo e dedicação. Também de forma carinhosa agradeço aos meus irmãos, por todo o apoio, incentivo e paciência.

Tentando não esquecer de ninguém quero agradecer em geral ao grupo de investigação do IPB pela ajuda prestada no laboratório. De maneira especial à Diana Pinho pela ajuda no laboratório do IPB e pela ajuda com o *ImageJ*. Ao Elmano Pinto também pela ajuda fornecida na microfabricação. Agradeço ainda à Vera Faustino pela sua hospitalidade nas minhas idas ao IPB.

À Doutora Tomoko Yaginuma pela exposição dos seus conhecimentos em *ImageJ*.

À Mariline Pinto pela ajuda prestada nos meus primeiros dias nos laboratórios da FEUP.

Agradeço ainda, a outros colegas e professores que ao longo deste ano estiveram presentes e contribuíram para a realização deste trabalho.

Agradeço também a oportunidade da utilização das instalações da FEUP.

À FCT, COMPETE, QREN e União Europeia (FEDER) no âmbito dos projectos PTDC/SAU-BEB/105650/2008, PTDC/SAU-BEB/108728/2008, PTDC/EME-MFE/099109/2008, e PTDC/SAU-ENB/116929/2010.

Resumo

O estudo de embolias gasosas em microcanais é importante, uma vez que, algumas intervenções médicas podem levar à entrada de microbolhas gasosas na corrente nos microvasos obstruindo a circulação sanguínea, ocorrendo desta forma embolias gasosas. Estas bolhas circulam ao longo dos vasos sanguíneos podendo obstruir estes vasos e assim promover a deterioração dos tecidos e, em determinados casos, causar a morte dos mesmos.

O objectivo principal deste trabalho consistiu na fabricação de microcanais por xurografia capazes de produzir microbolhas e posteriormente na realização de ensaios experimentais *in vitro*.

Este trabalho está dividido em duas partes principais, uma componente teórica e uma experimental. Na teoria foi realizada uma revisão de literatura dos aspectos mais relevantes para a elaboração deste trabalho. Na componente prática foram fabricados três microcanais por intermédio da xurografia. Esses microcanais tinham uma secção rectangular, espessura de aproximadamente 90 μm e as suas larguras variavam de 260 a 368 μm . Foi possível visualizar e analisar a formação de microbolhas, assim como o comportamento das mesmas ao longo do microcanal. Também foi possível calcular a camada livre de células (CLC) junto às paredes e no centro do microcanal, assim como, o índice de deformação (ID) das microbolhas.

Nos escoamentos realizados com glóbulos vermelhos verificou-se a formação de uma CLC junto às paredes e no centro do microcanal. A maior espessura registou-se após a formação da bolha e a espessura mínima após a passagem da mesma.

Os resultados revelaram que o ID das bolhas é mais elevado na contracção do microcanal.

Palavras-Chave: Escoamento Sanguíneo; Embolias; Microbolhas; Xurografia.

Abstract

The study of gaseous embolisms in microchannels is important since some medical procedures can lead to the entry of gas microbubbles into the bloodstream. These gas bubbles that circulate through the blood vessels may block the capillaries obstructing the blood circulation due to gas embolism. The obstruction of the circulation can lead to tissue damage and in certain cases may cause the death of the tissues.

The main objective of this work is the fabrication of microchannels by xurography able to produce microbubbles and subsequently to perform *in vitro* experiments.

This work is divided into two main parts, i. e., one theoretical and another experimental part. In the theoretical part we conducted a literature review of most relevant aspects to the preparation of the present work. For the experimental component three microchannels were fabricated by xurography. These microchannels have rectangular section with a thickness of about 90 μm and widths varying from 260 to 368 μm . By using a high speed microscopic system, it was possible to visualize and analyze the formation of microbubbles, as well as their flow behavior along the microchannels. Additionally, it was also possible to calculate the cell-free layer (CLC) along the walls and in the center of the microchannel, as well as the deformation index (ID) of the microbubbles.

The blood flow studies have revealed a CLC formation along the wall and in the center of the microchannel. The greatest thickness was found after the bubble formation and the minimum thickness after the passage of the bubble.

The results have shown that the bubbles ID was higher in the microchannel contraction of the microchannel.

Keywords: Blood flow; embolisms; microbubbles; Xurography.

Conteúdos

DEDICATÓRIA	I
AGRADECIMENTOS	III
RESUMO.....	V
ABSTRACT	VII
CONTEÚDOS.....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	XIII
LISTA DE TABELAS	XIX
NOMENCLATURA	XXI
CAPÍTULO 1	1
INTRODUÇÃO.....	1
1.1. <i>Motivação e Objectivos</i>	1
1.2. <i>Estrutura do Projecto</i>	2
CAPÍTULO 2	3
REVISÃO DA LITERATURA	3
2.1. <i>Estado de Arte</i>	3
CAPÍTULO 3	11
ASPECTOS FISIOLÓGICOS E ANATÓMICOS	11
3.1. <i>Vasos sanguíneos</i>	11
3.1.1. <i>Artérias</i>	12
3.1.2. <i>Veias</i>	12
3.1.3. <i>Capilares</i>	13
3.2. <i>Embolias gasosas</i>	13
3.2.1. <i>Embolias gasosas arteriais</i>	13

3.2.2. Embolias gasosas venosas	15
CAPÍTULO 4.....	17
BIOFLUIDOS	17
4.1. <i>Composição do Sangue</i>	17
4.1.1. Glóbulos vermelhos.....	18
4.1.2. Glóbulos brancos.....	19
4.1.3. Plaquetas.....	19
4.1.4. Plasma	19
4.2. <i>Reologia do sangue</i>	20
4.2.1. Escoamento sanguíneo.....	20
4.2.2. Comportamento dos fluidos.....	20
4.2.3. Efeito do hematócrito no perfil de velocidade	21
4.2.4. Viscosidade do sangue	22
4.3. <i>Microcirculação</i>	24
4.4. <i>Sangue humano e ovino</i>	24
CAPÍTULO 5.....	25
MATERIAIS E MÉTODOS.....	25
5.1. <i>Microcanais utilizados</i>	25
5.2. <i>Xurografia</i>	27
5.2.1. Fabricação dos microcanais.....	29
5.3. <i>Fluidos de trabalho</i>	33
5.4. <i>Centrifugação</i>	34
5.5. <i>Equipamentos de visualização</i>	37
5.5.1. Visualização líquido-líquido e suspensão partículas-ar	37
5.5.2. Visualização Solução GVs-Ar.....	39
5.6. <i>Escoamentos in vitro</i>	40
5.6.1. Escoamento líquido-líquido e suspensão partículas-ar	40
5.6.2. Escoamento Solução GVs-Ar	42
5.7. <i>Software utilizado</i>	43
CAPÍTULO 6.....	45
APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....	45
6.1. <i>Experiências com óleo, água e ar</i>	48
6.1.1. Sistema Líquido-Líquido	48
6.1.2. Sistema Gás-Líquido	50
6.1.2.1. Bomba seringa vs. Bomba de pressão constante	50
6.1.2.2. Microcanal em T.....	52

6.2.	<i>Experiências com suspensões de partículas</i>	56
6.3.	<i>Experiências com GVs de ovino</i>	61
6.3.1.	Sistema Líquido-Líquido	61
6.3.2.	Sistema Gás-Líquido	64
6.3.3.	Camada Livre de células (CLC)	66
6.3.4.	Índice de deformação.....	77
CAPÍTULO 7		81
CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS.....		81
7.1.	<i>Conclusão</i>	81
7.2.	<i>Trabalhos Futuros</i>	82
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS		83

Lista de Figuras

Figura 1 – Formação e escoamento de gotas em co-fluxo num microcanal [14].....	4
Figura 2 – Formação de gotas num microcanal em T [14].....	5
Figura 3 – Formação de gotas através do sistema de fluxo de focagem [14].....	5
Figura 4 – Fluxo Disperso e fluxo <i>slug</i> [14].....	6
Figura 5 – Microcanais capazes de gerar microbolhas e microgotas, a) microcanal T, b) microcanal Y, c) microcanal junção em cruz, d) microcanal fluxo de focagem, e) microcanal co-fluxo [32].....	6
Figura 6 – Esquema da experiência de Kai Wang et al. [32].	7
Figura 7 – Tipos de bolhas formadas em microcanais em Y [10].....	8
Figura 8 – Representação esquemática de vasos sanguíneos [36].....	12
Figura 9 – Prática de mergulho [45].....	14
Figura 10 – Realização de uma cirurgia cardíaca que utiliza circulação extracorpórea [46].	14
Figura 11 – Processo de hemodiálise [58].....	15
Figura 12 – Colocação de um cateter venoso [59].	16
Figura 13 – Composição do sangue [61].....	18
Figura 14 - Dimensão e forma do Glóbulo Vermelho Humano [61].	18
Figura 15 – Comportamento dos diferentes fluidos sujeitos a tensão de corte [66].....	21
Figura 16 - Perfil de velocidade para Hct <1% (a azul) e Hct > 1% (a vermelho) [61].....	22
Figura 17 - Viscosidade do sangue em função do diâmetro dos capilares [61].	23
Figura 18 - Migração axial dos GVs [61].....	23
Figura 19 - Molde do canal em forma de Y com uma largura de 400 μm (Microcanal 1). 26	
Figura 20 - Molde do canal em forma de T com uma largura de 400 μm (Microcanal 2).. 26	
Figura 21 – Microcanal com <i>design</i> desenvolvido (fluxo de focagem) (Microcanal 3). 26	
Figura 22 – Procedimento da produção dos moldes dos microcanais por xurografia [77]. 28	

Figura 23 – Procedimento da fabricação dos microcanais [77].....	28
Figura 24 – (A) <i>Plotter</i> de corte <i>Expert 24</i> , (B) <i>Plotter</i> de corte <i>Jaguar II</i>	29
Figura 25 - Caixa de Petri com moldes.	29
Figura 26 - PDMS e agente de cura.....	30
Figura 27 - <i>Thinky Mixer</i>	30
Figura 28 – Dessecador.	31
Figura 29 – (A) <i>Spin Coater WS-6SOS-6NPP/UD</i> (B) <i>Spin Coater VTC-100 Vacuum</i>	32
Figura 30 - Processo de aderir canais às lâminas.	33
Figura 31 – Tratamento do sangue [77].....	35
Figura 32 – Sangue com anticoagulante num tubo de ensaio.	35
Figura 33 – Tubos de sangue com soro fisiológico fora e dentro da centrifugadora.	36
Figura 34 – À esquerda sangue após a centrifugação e à direita sangue já sem o plasma. .	36
Figura 35 – Hematócritos de 5%, 10% e 15%.....	37
Figura 36 – (A) Microscópio <i>Leica DMI 5000 M</i> . (B) Câmara digital <i>Leica DFC350 FX</i> . 38	
Figura 37 – (A) Bomba de seringa <i>neMESYS syringe pum</i> . (B) Bomba de pressão <i>elveflow Pressure gerator PG1113</i>	38
Figura 38 – (A) Microscópio <i>Olympus IX71</i> . (B) Câmara <i>i-SPEED LT</i> e ecrã de visualização.....	39
Figura 39 – (A) Bomba de seringa <i>Harvard Apparatus PHD ULTRA™</i> . (B) Bomba de pressão <i>elveflow Pressure gerator PG1113</i>	40
Figura 40 - Representação esquemática da instalação usada nos escoamentos (adaptado de [57,108])......	41
Figura 41- Representação esquemática da instalação usada nos escoamentos solução GV _s -Ar (adaptado de [57,108]).	43
Figura 42 – Aplicação do <i>MTrackJ</i> para determinar a CLC.	44
Figura 43 – Representação da forma de bolhas/gotas e significado de convexa e côncava [82].	47
Figura 44 – Definição de índice de deformação [adaptado de 84]......	48
Figura 45 – Imagem microscópica (2,5x) do Microcanal 1 com a utilização de dois fluidos, óleo alimentar e água destilada.	49
Figura 46 – Formação de uma gota de água, com utilização de água destilada-óleo alimentar no Microcanal 1.....	50

Figura 47 – Gota de água biconvexa, com utilização de água destilada-óleo alimentar no Microcanal 1.....	50
Figura 48 - Formação de uma bolha de ar, com utilização de ar-água destilada no Microcanal 2.....	51
Figura 49 - Bolha de ar côncava-convexa, com utilização de ar-água destilada no Microcanal 2.....	51
Figura 50 - Imagem microscópica (1,25x) do Microcanal 2, com utilização de ar e óleo alimentar.....	52
Figura 51 - Tempo de passagem de cada bolha, com caudal de óleo alimentar de 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ e com uma pressão de ar de 50 mbar.	53
Figura 52 - Comprimento de cada bolha, com caudal de óleo alimentar de 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ e com uma pressão de ar de 50 mbar.	53
Figura 53 - Distância entre bolhas, com caudal de óleo alimentar de 5 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ e com uma pressão de ar de 50 mbar.	54
Figura 54 - Formação de uma bolha de ar, com utilização de ar-óleo alimentar no Microcanal 2.....	55
Figura 55 - Bolhas de ar biconvexas, com utilização de ar-óleo alimentar no Microcanal 2.	55
Figura 56 - Imagem microscópica (2,5x) do Microcanal 2 com a utilização de líquido com partículas em suspensão com líquido.	56
Figura 57 - Gota de SusPart5%NaCl numa corrente de óleo alimentar no Microcanal 2...	57
Figura 58 - Gota de SusPart5%AD numa corrente de óleo alimentar no Microcanal 2.....	57
Figura 59 - Gota de SusPar10%Dex40 numa corrente de óleo alimentar no Microcanal 2.57	
Figura 60 - Imagem microscópica (2,5x) do Microcanal 2 em sistema bifásico, tipo líquido com partículas em suspensão com gás e líquido com gás.....	59
Figura 61 - Bolha de ar, em sistema Ar/SusPar10%Dex40 no Microcanal 2.	59
Figura 62 – Circulação das partículas no Microcanal 2, em sistema Ar/SusPar10%Dex40, com um caudal de 30mbar de ar e 10 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	60
Figura 63 - Imagem microscópica (4x) Microcanal 2 com sistema bifásico de Dex40_5%Hct e óleo alimentar.	62
Figura 64 – Gota de Dex40_5%Hct com óleo alimentar no Microcanal 2 com caudais de 1 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$	62

Figura 65 - Gota de Dex40_5%Hct sem células no centro, caudal de 1 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ para o óleo alimentar e de 5 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ para o Dex40_5%Hct.	63
Figura 66 - Gota de Dex40_5%Hct com óleo alimentar no Microcanal 2 com caudal de 1 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ para o óleo alimentar e de 5 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ para o Dex40_5%Hct.....	63
Figura 67 - Bolhas de ar no Microcanal 3 com caudal de 3 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ para o Dex40_10%Hct e de 30 mbar para o Ar.	65
Figura 68 – Junção do ar e do Dex40_10%Hct no microcanal 3 em diferentes tempos.....	67
Figura 69 – Esquemática da formação da CLC no centro microcanal.....	68
Figura 70- Formação e escoamento de uma bolha de ar no Microcanal 3 com caudal de 3 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ para o Dex40_10%Hct e de 30 mbar para o Ar (objectiva 4x).	69
Figura 71 – Visualização microscópica da distância dos GVs à parede do microcanal (objectiva 40x).....	70
Figura 72 – Imagem microscópica com a trajectória da CLC existente no Microcanal 3 com um caudal de 3 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ para o Dex40_10%Hct e um caudal de 25 mbar para o ar (objectiva 40x).....	70
Figura 73 – Gráfico da distância de um GV à parede do microcanal com um caudal de 3 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ para o Dex40_10%Hct e um caudal de 25 mbar para o ar.	71
Figura 74 - Visualização microscópica das CLC e trajectória das CLC no Microcanal 3 em um sistema Ar-Dex40_10%Hct (objectiva 10x).	71
Figura 75 - Gráfico das trajectórias das CLC no início do escoamento (Zona 1).	72
Figura 76 - Gráfico das espessuras das CLC no início do escoamento (Zona 1).	72
Figura 77 - Gráfico das trajectórias das CLC antes da formação da bolha (Zona 2).	73
Figura 78 - Gráfico das espessuras das CLC antes da formação da bolha (Zona 2).	73
Figura 79 - Gráfico das trajectórias das CLC após da formação da bolha (Zona 3).	74
Figura 80 - Gráfico das espessuras das CLC após da formação da bolha (Zona 3).	74
Figura 81 - Gráfico das trajectórias das CLC no fim do escoamento (Zona 4).....	75
Figura 82 - Gráfico das espessuras das CLC no fim do escoamento (Zona 4).	75
Figura 83 – Trajectória de CLC de todas as zonas estudadas.....	76
Figura 84 – Espessura da CLC junto à parede e no centro do microcanal.	77
Figura 85 – (A) Bolha na zona de contracção. (B) Bolha na zona de expansão. O Dex40_10%Hct tem um caudal de 3 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ e o ar 30 mbar (objectiva 4x).	78
Figura 86 – Zonas de cálculo do Índice de Deformação	78

Figura 87- Índice de deformação de uma bolha ao longo do microcanal.....	79
Figura 88 - Índice de deformação de várias bolhas ao longo do microcanal.	79
Figura 89 – Média do índice de deformação de várias bolhas ao longo do microcanal.....	80

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Medições dos moldes e dos microcanais.	27
Tabela 2 – Simbologia usada para os fluidos utilizados nas experiências.	34
Tabela 3 – Velocidade Experimental e a Velocidade Esperada, no Microcanal 1 com a utilização de óleo alimentar e água destilada.	49
Tabela 4 – Velocidades das gotas de fluido líquido com partículas em suspensão com líquido.....	58
Tabela 5 - Velocidades das bolhas de ar em escoamentos bifásicos, líquido com partículas em suspensão com líquido e com gás.....	60
Tabela 6 - Resultados das experiências com óleo alimentar e GVs.	64
Tabela 7 - Velocidades de bolhas com a utilização de ar com a bomba de pressão constante juntamente com Dex40_10%Hct.	65

Nomenclatura

GV (s) - Glóbulo (s) Vermelho (s)

PDMS - Polidimetilsiloxano

Hct - Hematócrito

ID - Índice de deformação

CLC – Camada livre de células

SolDex40 - Solução aquosa de Dextrano40 (10%)

SolNaCl - Solução aquosa de NaCl (0,9%)

SusPart5%AD - Suspensão de partículas (5%) em Água Destilada

SusPart5%NaCl - Suspensão de partículas (5%) em solução aquosa de NaCl

SusPart10%NaCl - Suspensão de partículas (10%) em solução aquosa de NaCl

SusPar10%Dex40 - Suspensão de partículas (10%) em solução aquosa de Dextrano40

Dex40_5%Hct - Soluções de Dextrano40 contendo 5% de Hct de GVs

Dex40_10%Hct - Soluções de Dextrano40 contendo 10% de Hct de GVs

Capítulo 1

INTRODUÇÃO

1.1. Motivação e Objectivos

Este trabalho surgiu no âmbito do projecto de final de curso do Mestrado em Tecnologia Biomédica, no ramo de Biomecânica e Reabilitação, do Instituto Politécnico de Bragança. O projecto foi desenvolvido em parceria com a Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

O principal objectivo do projecto foi fabricar microcanais capazes de gerar microbolhas e assim estudar a formação e transporte de embolias gasosas através de experiências em microcanais. Foi estudada a formação de microbolhas em diferentes microcanais, diferentes fluídos e também com diferentes caudais.

Este tipo de estudo é muito importante na área da saúde, de forma a estudar o comportamento das bolhas ao longo de microcanais assim como, nas entradas, bifurcações e saídas. Estas bolhas gasosas circulam ao longo dos vasos sanguíneos podendo alojar-se nos vasos capilares obstruindo a circulação sanguínea, ocorrendo assim uma embolia gasosa.

A obstrução da circulação pode levar a deterioração dos tecidos e, em determinados casos, causar a morte.

Este estudo foi realizado *in vitro*, através da análise de microcanais que simulam os vasos sanguíneos do corpo humano. Foram realizadas visualizações microscópicas desses microcanais com diferentes fluidos de maneira a seguir a formação de microbolhas gasosas para posterior análise da sua velocidade, tamanho e distância entre elas. Ainda foi realizada uma análise das espessuras das camadas livres de células junto às paredes e no centro do microcanal. E também o cálculo do índice de deformação de várias bolhas ao longo do microcanal.

1.2. Estrutura do Projecto

O presente trabalho está dividido em sete capítulos distintos. O Capítulo 1 é o presente capítulo, onde se efectua uma introdução ao tema, de forma a registar os objectivos deste trabalho e a estrutura do mesmo. No Capítulo 2 é realizada uma revisão do estado de arte, de forma a enunciar trabalhos que já foram realizados anteriormente nesta área de estudo. No Capítulo 3 estão escritos os aspectos fisiológicos e anatómicos importantes para a compreensão deste trabalho, tais como, os vasos sanguíneos e as embolias gasosas. No Capítulo 4 é uma continuação de fundamentos teóricos, mas este capítulo é mais direccionado para os biofluidos. Como subtemas tem, o sangue, a reologia do sangue, a microcirculação e o efeito do hematócrito no escoamento e nas propriedades reológicas do sangue. No Capítulo 5 são enunciados os materiais e métodos utilizados ao longo de todos os procedimentos experimentais. O penúltimo capítulo é o Capítulo 6, onde são apresentados todos os resultados obtidos, assim como, a análise e discussão dos mesmos. Para finalizar o projecto, no Capítulo 7 são apresentadas as conclusões deste estudo e propostas de trabalho futuro.

Capítulo 2

REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Estado de Arte

Para a realização deste projecto de investigação, foi realizada uma revisão de literatura de aspectos relevantes para a elaboração deste trabalho.

No presente trabalho, os escoamentos efectuados serão escoamentos bifásicos. Segundo referências bibliográficas, os sistemas gás-líquido [1-2] e líquido-líquido [3-6] são os sistemas bifásicos mais importantes.

Para os estudos das microbolhas e microgotas são utilizados escoamentos microfluídicos em sistemas bifásicos. Geralmente são utilizados sistemas líquido-líquido e gás-líquido. A formação de bolhas em um sistema gás-líquido é muito semelhante à formação de gotas em um sistema líquido-líquido. Uma das diferenças constadas é que o fluxo do gás é muito instável, sendo muito mais difícil o seu controlo [7].

Na bibliografia existente verifica-se que dentro das investigações da formação e escoamento de microgotas e microbolhas, já foram realizados estudos em sistemas líquido-líquido e em sistemas gás-líquido [8-9], com fluidos newtonianos e não-newtonianos [8]. Ainda foram testados diferentes microcanais, uns fabricados por xurografia e litografia suave e outros por SU-8 [10], assim como diferentes larguras e profundidades [8].

Os primeiros estudos com manipulação de gotas em microcanais, foram realizados em resposta a duas ideias. Em primeiro foi utilizada esta técnica para produzir gotas de forma controlada e reprodutível, para possível aplicação na ciência dos materiais [11-12]. A segunda ideia foi desenvolver em *lab-on-chip*, microcanais portáteis de micro análise, onde as gotas são vistas como micro-reactores e têm manipulação em pequenos volumes [13].

Segundo referências bibliográficas a produção de gotas em microcanais pode ser realizada por três formas: co-fluxo (isto é: escoamento co-corrente), microcanal em T e fluxo de focagem.

Os microcanais co-fluxo são microcanais que têm um sentido e as gotas são geradas quando a fase dispersa é introduzida através de um capilar na fase contínua (Figura 1) [14-16]. Esta técnica foi executada pela primeira vez por Cramer et al. [17] e foi repetida por Utada et al. [18-19] e Guillot et al. [20, 21].

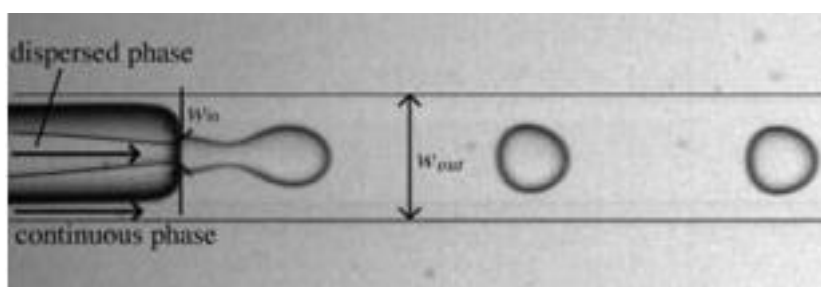


Figura 1 – Formação e escoamento de gotas em co-fluxo num microcanal [14].

A formação de gotas através de um microcanal em T (Figura 2) é realizada pela entrada de duas fases, uma dispersa e uma contínua, com auxílio de duas entradas [3-4,22-23] A primeira vez que foram estudadas a produção de gotas em microcanais em T, foi por Thorsen et al. [24], onde foi estudado a formação de gotas de água em diferentes tipos de óleos.

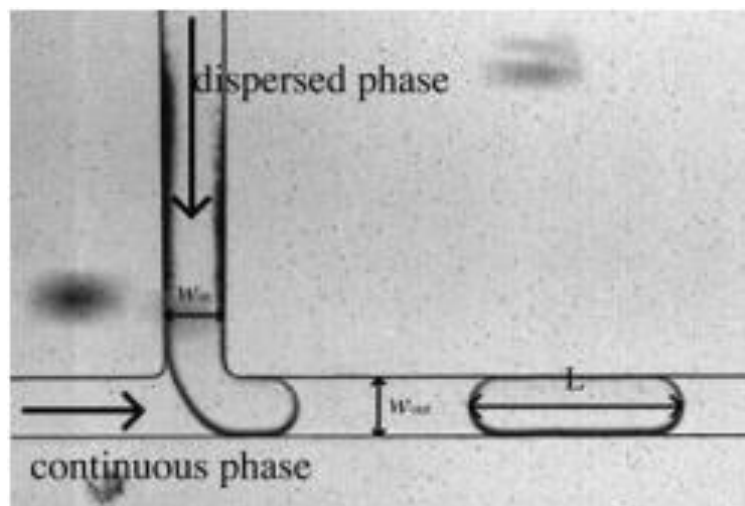


Figura 2 – Formação de gotas num microcanal em T [14].

O fluxo de focagem (Figura 3) foi implementado pela primeira vez por Ann et al. [25], e Dreyfus et al. [26], onde a fase dispersa é comprimida por duas correntes da fase contínua [27-28]. Estes microcanais também têm sido estudados por Garstecki et al. [29], e Dollet et al. [30], quando a utilização de um gás na fase dispersa.

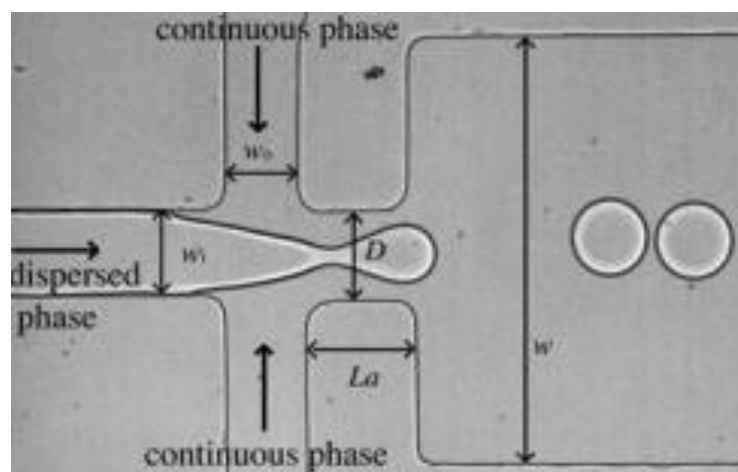


Figura 3 – Formação de gotas através do sistema de fluxo de focagem [14].

Após a produção das gotas, é necessário encaminhá-las ao longo do microcanal, sendo o transporte efectuado através da fase contínua de cada microcanal. O transporte das gotas pode ser realizado por dois tipos de escoamento, disperso e com formação de bolhas tubulares (Figura 4). No primeiro caso as gotas são de pequeno diâmetro, o que se torna num fluxo em borbulhamento. No segundo caso as gotas têm largura igual ao microcanal, ocupando assim a

maior parte da secção transversal do canal. Este tipo de bolhas são designadas por bolhas Taylor ou *slug* [31].

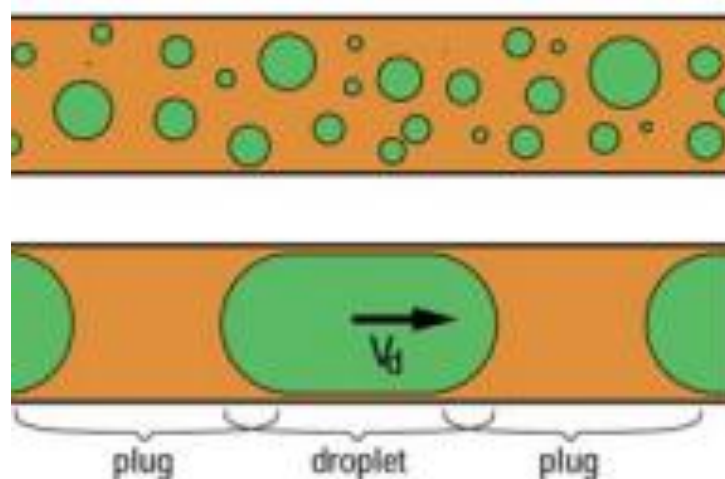


Figura 4 – Fluxo Disperso e fluxo *slug* [14].

Kai Wang et al. enunciaram vários dispositivos de microfluídica capazes de gerar microbolhas e microgotas (Figura 5). Estes microcanais são designados a partir das estruturas que têm e são microcanais capazes de escoarem sistemas bifásicos. Os microcanais expostos neste artigo são designados por T (entroncamento), Y, junção em cruz, fluxo de focagem e co-fluxo [32].

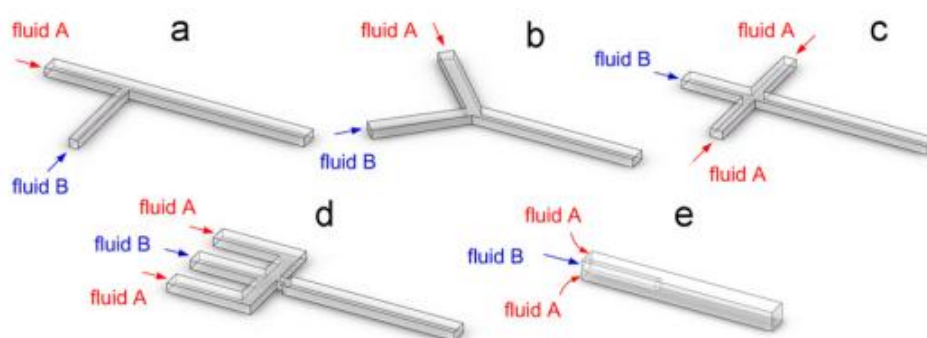


Figura 5 – Microcanais capazes de gerar microbolhas e microgotas, a) microcanal T, b) microcanal Y, c) microcanal junção em cruz, d) microcanal fluxo de focagem, e) microcanal co-fluxo [32].

O trabalho em estudo tinha o objectivo de formar microbolhas num sistema gás-líquido propano/butano/ar com SDS-PEG (soluções aquosas contendo sódio dodecil sulfato (SDS) e polietileno-glicol 20000 (PEG)). A formação bolhas era realizada em dois processos: no primeiro estudo formavam-se microbolhas únicas e no segundo microbolhas duplas.

Para a realização deste estudo foi montada a experiência conforme se mostra na Figura 6. Para a formação das bolhas foi colocado um capilar de vidro na entrada do microcanal onde é injectado o gás [32].

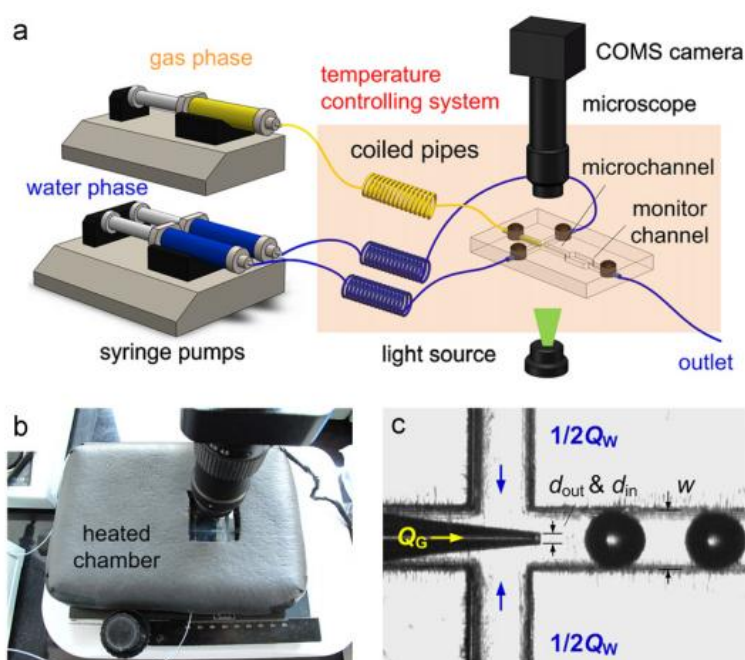


Figura 6 – Esquema da experiência de Kai Wang et al. [32].

Ao longo desta experiência foram observadas formações de bolhas uniformes com diâmetros médios entre 391 μm e 713 μm . Uma conclusão retirada neste estudo é que o diâmetro médio das bolhas varia com o caudal, a viscosidade da fase aquosa e a temperatura experimental. Por outro lado a viscosidade da fase gasosa tem pouca interferência no tamanho das bolhas [32].

Ferreira et al. [10] estudaram a formação de bolhas Taylor em microcanais em Y. Neste trabalho foram realizados estudos com microcanais fabricados em PDMS, por litografia suave a partir de moldes de SU-8. As bolhas formadas ao longo das experiências eram de ar. Estes estudos foram feitos com várias fases líquidas: água, glicerol, soluções de goma de xantano

(500ppm), e soluções de goma de xantano com 0,1% de dodecil sulfato de sódio (SDS). Estas experiências foram realizadas num microscópio invertido tendo sido registadas imagens da formação de bolhas por uma câmara CCD (Dispositivo de carga acoplada). Em paralelo o escoamento das bolhas foi simulado numericamente.

Analisando os resultados numéricos para fluidos newtonianos, sistema de água/ar, verifica-se que a formação de bolhas depende do ângulo de contacto formado pela interface ar/água e a parede do canal. Quando esse ângulo é inferior a 90° a superfície é côncava, quando é superior a 90° a superfície é convexa. Para um ângulo de 180° não existe formação de bolhas, visto que o ar e a água seguem correntes paralelas (Figura 7) [10].

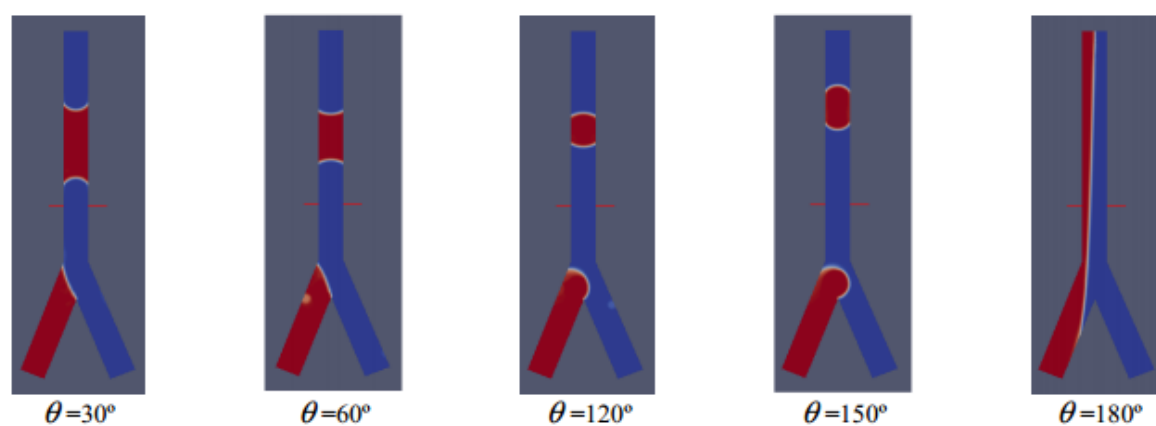


Figura 7 – Tipos de bolhas formadas em microcanais em Y [10].

Os resultados experimentais revelaram-se inconclusivos, visto que o escoamento era instável devido à compressibilidade do ar e os comprimentos das bolhas eram muito irregulares. Também foi verificado que a concavidade da frente da bolha era sempre diferente da concavidade de trás.

Na análise dos fluidos não-Newtonianos apenas foram realizadas experiências para verificar a importância da utilização de um surfactante. Os investigadores chegaram à conclusão que com a adição de uma pequena quantidade de surfactante existem alterações no escoamento.

Verificaram ainda que fluidos newtonianos e viscoelásticos formam bolhas com diferentes formas na interface gás/liquido, devido às diferentes propriedades dos fluidos [10].

Christopher et al. realizaram uma revisão de literatura sobre escoamentos uniformes de gotas em microcanais de co-fluxo, microcanal em T e fluxo de focagem. Estes autores chegaram à conclusão que em geral as gotas variam de 1 a 100 μm de diâmetro e que o tamanho final da gota depende do volume de líquido que entra na mesma antes da finalização da sua formação. Chegaram ainda à conclusão que, o diâmetro das gotas diminui com o aumento da largura do canal, e o diâmetro das gotas aumenta com o aumento do caudal de escoamento [5].

Capítulo 3

ASPECTOS FISIOLÓGICOS E ANATÓMICOS

3.1. Vasos sanguíneos

O sistema circulatório é um sistema com elevada capacidade para transportar o oxigénio e substâncias nutritivas por todo o organismo [33].

O sistema circulatório é composto por vasos sanguíneos (Figura 8) (artérias, capilares e veias), o coração e os vasos linfáticos [33-35].

Os vasos sanguíneos são classificados de acordo com a direcção de transporte do sangue. Os vasos que estão ligados à saída do coração são as artérias, que ao diminuírem de diâmetro, passam a designar-se por arteríolas. Os vasos que estão à entrada do coração, os que conduzem o sangue até ao coração, são as veias que ao diminuírem de diâmetro passam a designar-se de vénulas [33].



Figura 8 – Representação esquemática de vasos sanguíneos [36].

3.1.1. Artérias

As artérias têm a função de transportar o sangue desde o coração até os restantes órgãos do corpo. Estes vasos têm uma parede espessa, muscular e elástica de modo a suportar a pressão do sangue durante o seu bombeamento [37].

As artérias podem ser divididas em arteríolas, artérias musculares (distribuidoras) e artérias elásticas (conductoras). As arteríolas são as de menor diâmetro, têm um diâmetro inferior a 500 μm . As artérias musculares têm diâmetro superior às arteríolas e inferiores às elásticas [34-35].

3.1.2. Veias

As veias têm a função de reenviar o sangue de volta até ao coração. As paredes das veias são mais finas que as paredes das artérias, têm cerca de 500 μm de espessura e, tal como as artérias, são elásticas [37-38]. O diâmetro médio das veias varia entre 1000 e 9000 μm [34-35].

3.1.3. Capilares

Os capilares têm a função de levar sangue aos tecidos, de forma a fornecer oxigênio às células. Estes vasos sanguíneos ligam as artérias às veias. As paredes dos capilares são muito finas, cerca de $1\mu\text{m}$, para que seja possível a passagem dos gases e nutrientes [37-38]. O diâmetro médio dos capilares varia entre 7 e $12\mu\text{m}$ [34].

3.2. Embolias gasosas

Algumas intervenções médicas podem levar à entrada de microbolhas gasosas na corrente sanguínea. Estas bolhas gasosas circulam ao longo dos vasos sanguíneos podendo alojar-se nos vasos capilares obstruindo a circulação de sangue, ocorrendo desta forma uma embolia gasosa.

A formação de embolias gasosas, entrada de ar na circulação sanguínea, é um acontecimento raro, porém potencialmente fatal.

A obstrução da circulação pode levar à deterioração dos tecidos e, em determinados casos, causar a morte. Quando existe a entrada de um volume de ar de 100-150 ml na circulação, pode causar a morte de um indivíduo. [39-41].

As embolias gasosas podem ser classificadas em embolia gasosa arterial e embolia gasosa venosa, dependendo do mecanismo da entrada no sistema circulatório assim como o local onde elas se instalam.

3.2.1. Embolias gasosas arteriais

Uma embolia gasosa arterial ocorre quando existe a entrada de ar corrente sanguínea arterial [39]. O ar entra nas artérias após uma expansão excessiva do pulmão, devido a uma lesão causada pelas mudanças de pressão.

Este tipo de embolias pode acontecer em cirurgias cardíacas que utiliza circulação extracorpórea, procedimentos neurocirúrgicos realizados na posição sentada e na realização de mergulho através da variação de profundidades, mergulhadores que ascendem rapidamente podem levar à expansão gasosa pulmonar e eventual ruptura alveolar com entrada de ar nas veias pulmonares [40,42-44].

Este tipo de embolias causa a confusão mental, desorientação, perda de consciência, coma, *deficits* motor, arritmias cardíacas ou isquemia [44].

As embolias gasosas durante o mergulho (Figura 9) levam à perda de consciência e colapso dentro de segundos a minutos após retorno à superfície, ocorrem em 38 a 45% dos casos.



Figura 9 – Prática de mergulho [45].

As embolias arteriais ocorridas na circulação extracorpórea (Figura 10) variam de 2 a 9% dos pacientes, e 4 a 10% destes, desenvolvem um *deficit* neurológico maior [44].

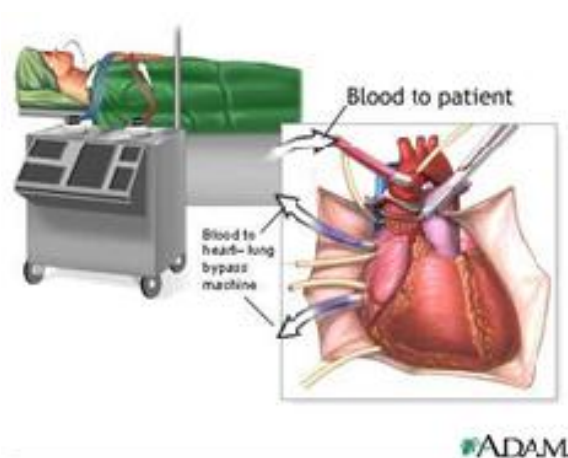


Figura 10 – Realização de uma cirurgia cardíaca que utiliza circulação extracorpórea [46].

O diagnóstico deste tipo de embolias pode ser realizado através de uma tomografia e de uma ressonância magnética, quando verificado o aumento do volume de água no tecido lesado [40].

3.2.2. Embolias gasosas venosas

Uma embolia gasosa venosa ocorre quando existe a entrada de ar na circulação venosa e atinge o ventrículo direito e/ou a circulação pulmonar [39]. Neste caso o ar é transportado para os pulmões através da artéria pulmonar, podendo manifestar-se através de alterações cardiopulmonares: arritmias cardíacas, hipertensão pulmonar, pressão no ventrículo direito e insuficiência cardíacas [47]. Relativamente ao quadro neurológico pode causar confusões, ansiedade, convulsões, *deficit* motor e coma [43-44].

A embolia gasosa venosa pode acontecer depois de um mergulho com gás comprimido [48], em diferentes traumas, na ingestão [49], injeção intravenosa de ar [50], hemodiálise (Figura 11) [51], má colocação de cateter venoso central [52], e diferentes procedimentos cirúrgicos, tais como, artroplastia total do quadril, cirurgias prostáticas, cirurgias uterinas, cesarianas [44], acidente de *bypass* cardiopulmonar [53], endoscopia gastrointestinal [54], irrigação de peróxido de hidrogénio [55], artroscopia [56], laparoscopia [57].



Figura 11 – Processo de hemodiálise [58].

A principal causa de uma embolia gasosa é a entrada inadvertida de ar na circulação através da má colocação de cateteres venosos (Figura 12). As embolias gasosas ocorridas na colocação de cateteres venosos variam entre 0,05% a 0,1% nos pacientes, e 32% destes casos leva à mortalidade [41,43-44].

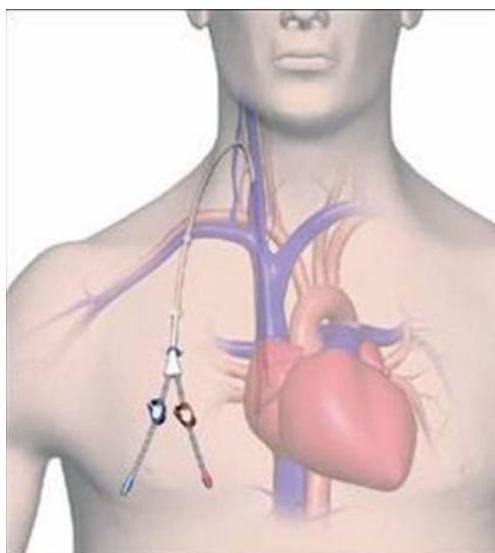


Figura 12 – Colocação de um cateter venoso [59].

O diagnóstico pode ser realizado através de:

- Radiografia do tórax - quando verificado ar no ventrículo direito;
- Electrocardiograma - detecta entrada de pequenos volumes de ar;
- Monitorização da pressão da artéria pulmonar - essa pressão pode permanecer normal devido ao ar preso na saída do ventrículo direito;
- Monitorização da pressão expirada de dióxido de carbono - queda na PCO_2 (pressão arterial de dióxido de carbono) expirada consequente do aumento inesperado do espaço morto pela embolia;
- Oximetria de pulso - a redução de PO_2 (pressão arterial de oxigénio) é mais precoce que a queda na PCO_2 expirada [43-44].

Capítulo 4

BIOFLUIDOS

Todos os fluidos produzidos pelo organismo, são biofluidos. Os biofluidos podem ser, a água do corpo, urina, líquido amniótico, leite materno, sangue, entre outros. De todos os biofluidos, o sangue é o mais importante, uma vez que é responsável pelo transporte de oxigénio e nutrientes a todos os pontos do organismo [60-61].

4.1. Composição do Sangue

O sangue é um fluido vermelho, opaco e heterogéneo que circula pelo organismo através do sistema circulatório. O sangue é constituído por 2 partes, o plasma e os elementos celulares (glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas). Estas células ocupam 46% do volume do sangue, (Figura 13) [61].

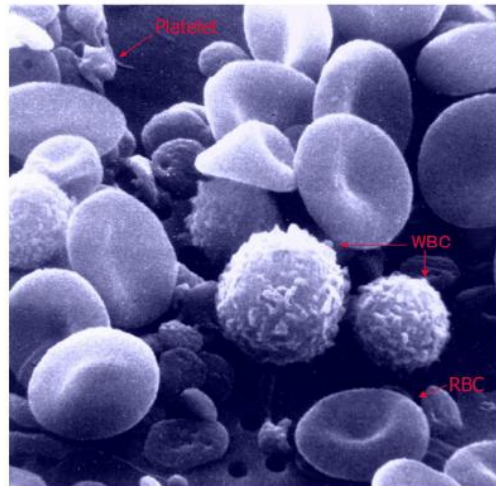


Figura 13 – Composição do sangue [61].

4.1.1. Glóbulos vermelhos

Os glóbulos vermelhos (GVs) (Figura 14), também conhecidos por hemácias ou eritrócitos, são as células sanguíneas responsáveis pela cor vermelha do sangue, são as células mais numerosas dos constituintes do sangue e são muito flexíveis. São formados na medula óssea e, na sua maturação, desfazem-se do núcleo antes de entrarem do sistema circulatório. Na sua constituição têm a hemoglobina que ajuda na função dos GVs, o transporte de oxigénio e dióxido de carbono.

Os GVs têm uma forma em disco bicôncavo que em média têm $8\ \mu\text{m}$ de diâmetro, com 2 a $3\ \mu\text{m}$ de espessura na periferia e $1\ \mu\text{m}$ no centro.

Os GVs têm a função de realizar o transporte do oxigénio do sangue dos pulmões até aos tecidos e do dióxido de carbono dos tecidos aos pulmões [35,62].

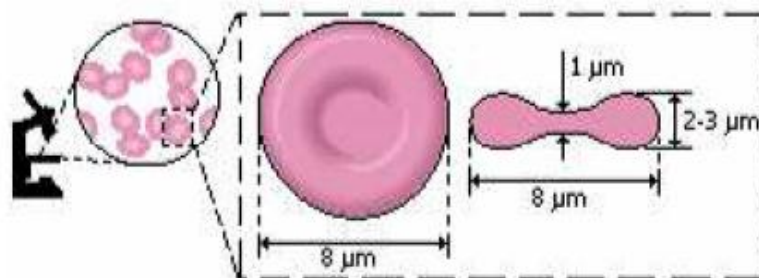


Figura 14 - Dimensão e forma do Glóbulo Vermelho Humano [61].

4.1.2. Glóbulos brancos

Os glóbulos brancos, também conhecidos por leucócitos, são produzidos na medula óssea ou em tecidos linfóides. Estes glóbulos têm a função de proteger o organismo, são o principal mecanismo de protecção de infecções.

Estas células são incolores, esféricas, mas a sua superfície é rugosa e são células nucleadas. O diâmetro destas células varia entre 7 e 22 μm , dependendo do seu tipo, pois os glóbulos brancos são divididos em dois grupos, os granulados e os agranulados. A diferença entre estes dois grupos de glóbulos é que os primeiros têm um núcleo irregular e os agranulados têm um núcleo regular. Por sua vez estes são divididos em outros grupos de glóbulos. Os granulados são divididos em neutrófilos, eosinófilos e basófilos, e os agranulados são divididos em linfócitos B e T e monócitos [35,62].

4.1.3. Plaquetas

As plaquetas, também conhecidas por trombócitos, são as células mais pequenas do sangue, o seu diâmetro varia entre 1 e 2 μm , têm forma redonda ou oval e não têm núcleo.

As plaquetas têm a função de realizar a coagulação do sangue. Estas células têm um tempo de vida de 10 dias [35,62].

4.1.4. Plasma

O plasma é um fluido transparente e amarelado. Tem a função de transportar nutrientes e substâncias tóxicas.

Este fluido é constituído por 90% de água e 10% de proteínas, glícidos, vitaminas, minerais, dióxido de carbono e ureia [63-64].

4.2. Reologia do sangue

4.2.1. Escoamento sanguíneo

O escoamento sanguíneo varia dentro do sistema circulatório, conforme os tecidos onde passa e as suas funções.

Este tipo de escoamento cumpre os princípios físicos do escoamento dentro de uma conduta, isto é, o princípio da conservação da massa, da energia e da quantidade de movimento. O sangue escoar devido à variação de pressão ao longo dos vasos sanguíneos gerada pelo coração. No entanto, existem resistências ao escoamento do sangue que resultam das forças de corte exercidas no fluido pelas paredes dos vasos sanguíneos.

Um escoamento sanguíneo é um escoamento contínuo e oscilatório que pode ser laminar ou turbulento. O escoamento é laminar quando o fluido escoar em camadas ordenadas, logo a velocidade tem por norma, uma componente ao longo do eixo de escoamento. A viscosidade modera o aparecimento de instabilidade. Neste escoamento o número de Reynolds ($Re = \rho U D_H / \mu$, em que ρ é a massa volúmica do fluido, U a velocidade média, D_H é o diâmetro hidráulico, e μ é a viscosidade do fluido) inferior a 2300. O escoamento é turbulento quando as partículas do fluido movimentam-se de forma irregular, logo a velocidade tem componentes transientes transversais ao escoamento global do fluido. Num escoamento turbulento o Re é superior a 2300 e a dissipação de energia é mais elevada que em escoamento laminar [65].

4.2.2. Comportamento dos fluidos

Dependendo do comportamento dos fluidos, estes podem ser Newtonianos ou Não-Newtonianos. Os fluidos podem ser classificados com a relação entre a tensão de corte, τ , e a taxa de deformação de corte, $\dot{\gamma}$, como se mostra na Figura 15 [66].

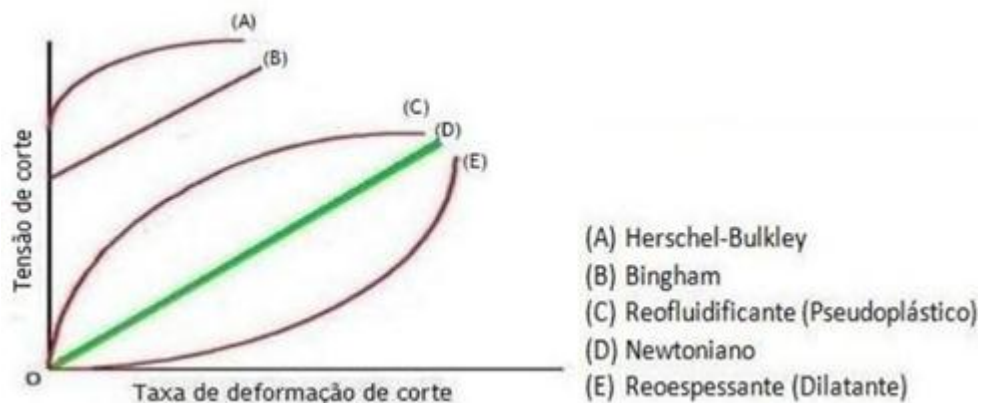


Figura 15 – Comportamento dos diferentes fluidos sujeitos a tensão de corte [66].

Os fluidos Newtonianos são fluidos que, para uma dada temperatura, mantêm a sua viscosidade em qualquer velocidade do escoamento. Uma vez que a sua viscosidade é constante, têm uma viscosidade ideal, ou seja, a variação da tensão de corte em relação ao gradiente de velocidade é linear.

Os fluidos Não-Newtonianos são fluidos que a viscosidade varia com o grau de deformação exercido. Neste caso a variação da tensão de corte em relação ao gradiente de velocidade é não é linear. O sangue é um fluido Não-Newtoniano [61,66].

4.2.3. Efeito do hematócrito no perfil de velocidade

Os perfis de velocidade dependem do valor do Hematócrito (Hct) da solução. Quando a solução é muito diluída (1% Hct) o perfil de velocidade é semelhante a um perfil parabólico. Quando a solução de Hct é superior a 1% o perfil apresentado é plano, em torno do eixo do microcanal (Figura 16).

Além da velocidade ser afectada pelo Hct, também é afectado pelo diâmetro microcanal, pela taxa de corte e pelo fluido em suspensão no sangue [61,67].

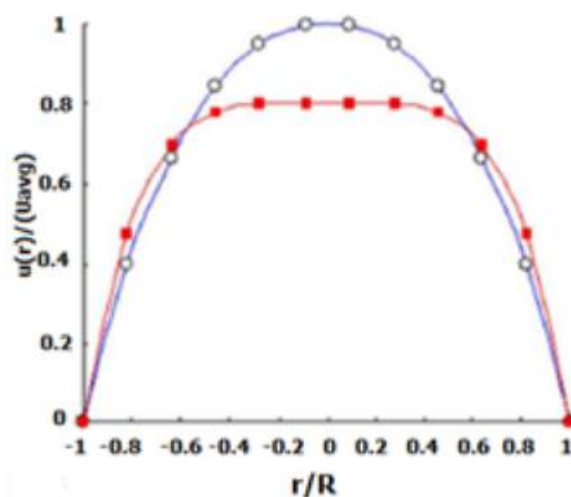


Figura 16 - Perfil de velocidade para $Hct < 1\%$ (a azul) e $Hct > 1\%$ (a vermelho) [61].

4.2.4. Viscosidade do sangue

A viscosidade do sangue varia com a percentagem de Hematócrito. Quanto maior o Hct maior é a viscosidade do sangue, uma vez que aumenta o atrito entre as camadas do sangue.

O efeito de *Fahraeus-Lindvist* é um fenómeno que se verifica na microcirculação, em que a viscosidade aparente do sangue diminui com a redução do diâmetro dos vasos sanguíneos. A viscosidade aparente diminui à medida que o diâmetro do microcanal diminui, sendo que este efeito só se verifica em microcanais com diâmetro inferiores a $300 \mu\text{m}$. Depois do estudo realizado por estes dois investigadores, outras pessoas investigaram este fenómeno e chegaram à conclusão que este efeito não se verifica para microcanais com diâmetro inferior a $7 \mu\text{m}$ (Figura 17) [61,68-69].

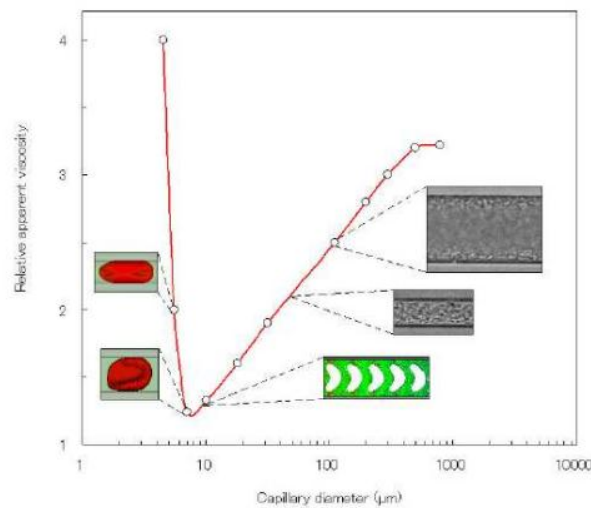


Figura 17 - Viscosidade do sangue em função do diâmetro dos capilares [61].

O efeito *Fahraeus-Lindvist* pode ser explicado com o facto de a diminuição do diâmetro do microcanal, levar a uma diminuição do Hct e consequentemente da viscosidade. Também pode ser explicado pela formação da camada de plasma junto à parede do microcanal. A camada de plasma situa-se entre os GVs e a parede do microcanal (forças de corte máximas), logo reduz o atrito entre os GVs e a parede do microcanal e, assim, a viscosidade diminui.

Ainda não existe uma demonstração capaz de explicar a formação da camada de plasma. Contudo a explicação mais aceitável que existe, é a dos GVs terem tendência de migrar para o centro do microcanal (Figura 18) [61].

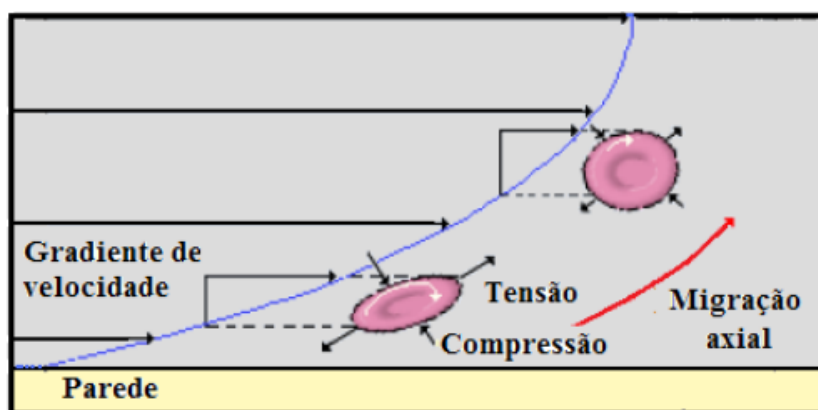


Figura 18 - Migração axial dos GVs [61].

Além da viscosidade do sangue variar com o Hct e o diâmetro do microcanal, também varia com a viscosidade do plasma, a deformabilidades dos GVs, a camada de plasma e os movimentos dos GVs [68,70].

4.3. Microcirculação

A microcirculação ocorre em vasos com diâmetros inferiores a 300 μm , estando dentro deste parâmetro estão as arteríolas, os capilares e as vénulas [71].

A microcirculação dá-se quando o sangue e os tecidos dos vários órgãos corporais entram em contacto. A principal função da microcirculação é efectuar trocas entre o sangue e o tecido de forma a equilibrar o oxigénio nas células, evitando assim que os GVs deixem oxigénio em excesso nas células ou evitando que transportem muito oxigénio de forma a faltar oxigénio às células [72-73].

4.4. Sangue humano e ovino

No presente trabalho foram realizadas experiências com sangue de ovino, dadas as restrições ao uso de sangue humano.

Segundo referências bibliográficas sabe-se que o diâmetro dos GVs varia de espécie para espécie e também varia dentro da mesma espécie. Os GVs do sangue humano têm uma variação do seu diâmetro de 6,5 a 8 μm e o diâmetro dos GVs do sangue de ovino varia entre 2,5 e 4,5 μm [74-75].

Capítulo 5

MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo apresentam-se todos os materiais e métodos utilizados para a realização do procedimento experimental necessário para este estudo. Ao longo do capítulo descreve-se a fabricação dos moldes, a fabricação dos microcanais, a visualização ao microscópio e ainda os *softwares* utilizados para análise dos resultados.

5.1. Microcanais utilizados

Para a realização deste projecto foram realizados vários moldes, com diferentes formas, diferentes comprimentos e diferentes larguras, até conseguir obter os melhores canais para este tipo de estudo.

Inicialmente foi estudado um microcanal em Y (Figura 19) e posteriormente começou-se a utilizar um microcanal em T (Figura 20). Com o decorrer das experiências verificou-se que com nenhum destes dois tipos de microcanais se conseguia formar microbolhas com a utilização de GVs. Então, resolveu-se produzir um outro tipo de microcanal com um *design* novo, um microcanal com geometria de fluxo de focagem (Figura 21).

Os microcanais têm uma espessura de 90 μm e os seus diâmetros na zona de medição dos resultados variam entre 260 e 368 μm .

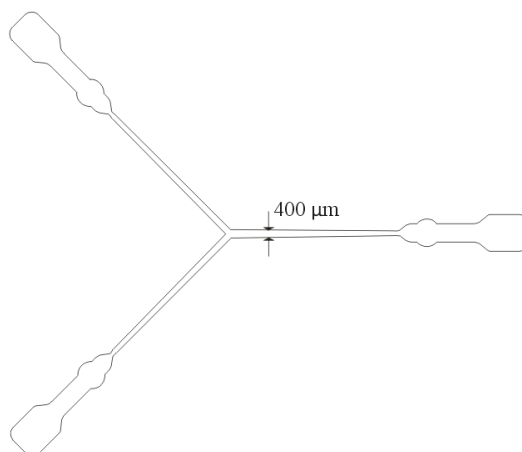


Figura 19 - Molde do canal em forma de Y com uma largura de 400 μm (Microcanal 1).

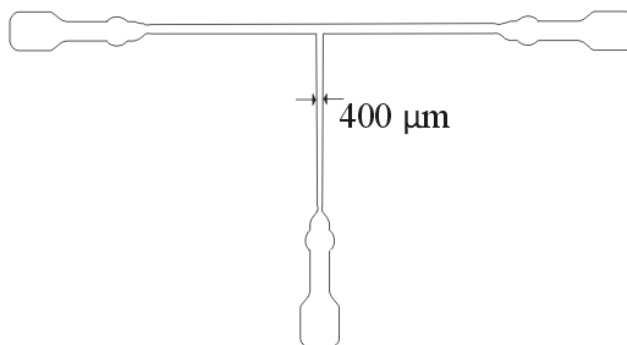


Figura 20 - Molde do canal em forma de T com uma largura de 400 μm (Microcanal 2).

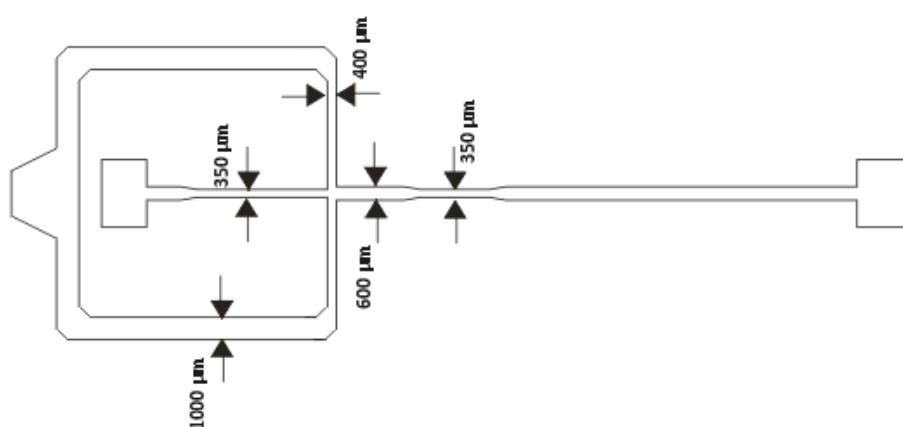


Figura 21 – Microcanal com *design* desenvolvido (fluxo de focagem) (Microcanal 3).

Ao longo das experiências verificou-se que as medidas dos microcanais variavam entre o molde e o resultado final, uma vez que ao realizar o corte na *plotter* existem sempre erros de precisão. Nos casos dos microcanais deste trabalho verificava-se que as medidas dos moldes eram sempre superiores às medidas dos microcanais já fabricados, conforme se mostra na Tabela 1.

Tabela 1 – Medições dos moldes e dos microcanais.

Microcanal	Medida do Molde [μm]	Medida do Microcanal [μm]
1	400	368
2	400	350
3	350	260

5.2. Xurografia

A xurografia é a técnica utilizada neste trabalho para fabricação de moldes e microcanais.

A xurografia é um método pouco dispendioso, uma vez que tem baixo custo de equipamentos e materiais, e realiza-se de forma rápida.

Este processo é desenvolvido com a utilização de uma *plotter* de corte para recortar o negativo em vinil da estrutura que se pretende para o microcanal. Posteriormente esse molde é removido e colocado numa caixa de Petri para se proceder à fabricação do microcanal [76-78]. Na Figura 22 é possível visualizar este procedimento.

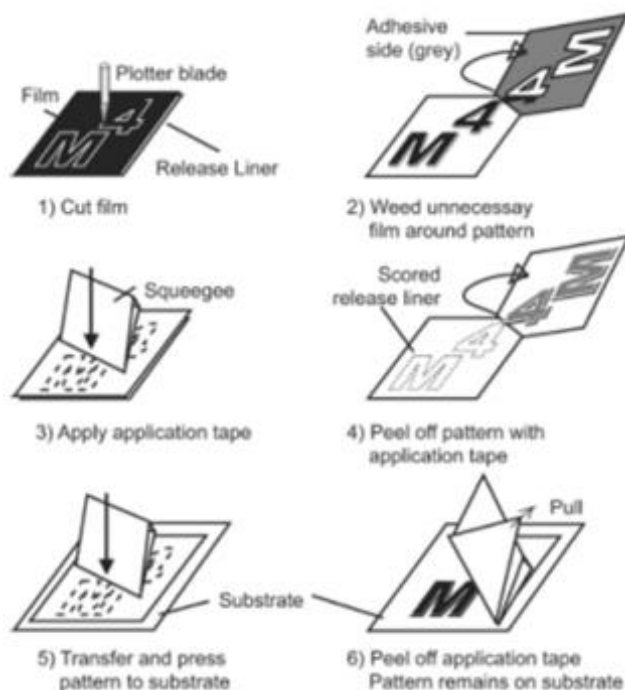


Figura 22 – Procedimento da produção dos moldes dos microcanais por xurografia [77].

Após a produção dos moldes é utilizado um polímero (PDMS) e agente de cura para a fabricação dos microcanais. O PDMS é utilizado neste processo devido às suas propriedades de biocompatibilidade, hidrofobicidade, transparência e vedação [79].

Neste método o polímero e o agente de cura são misturados. Esta mistura é desgaseificada e vertida para o molde, seguindo-se o processo de cura numa estufa. Depois de estar curado, o polímero é cortado, retirado do molde e selado por adesão numa lâmina de vidro [80]. Na Figura 23 está esquematizado todo este processo.

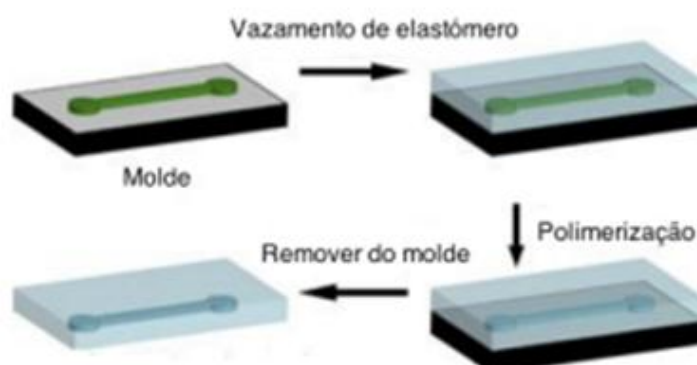


Figura 23 – Procedimento da fabricação dos microcanais [77].

5.2.1. Fabricação dos microcanais

A fabricação dos microcanais foi realizada com a técnica de Xurografia.

Os moldes dos microcanais foram desenhados através do *software CAD* (Microcanal 3) e *software CorelDRAW* (Microcanal 1 e 2).

Os moldes foram cortados através da *plotter* de corte *Expert 24* (Microcanal 1 e 2) e através da *plotter* de corte *Jaguar II* (Microcanal 3) (Figura 24). Depois foram colocados numa caixa de Petri (Figura 25). Para controlar a máquina de corte foi utilizado o *software Great Cut*.

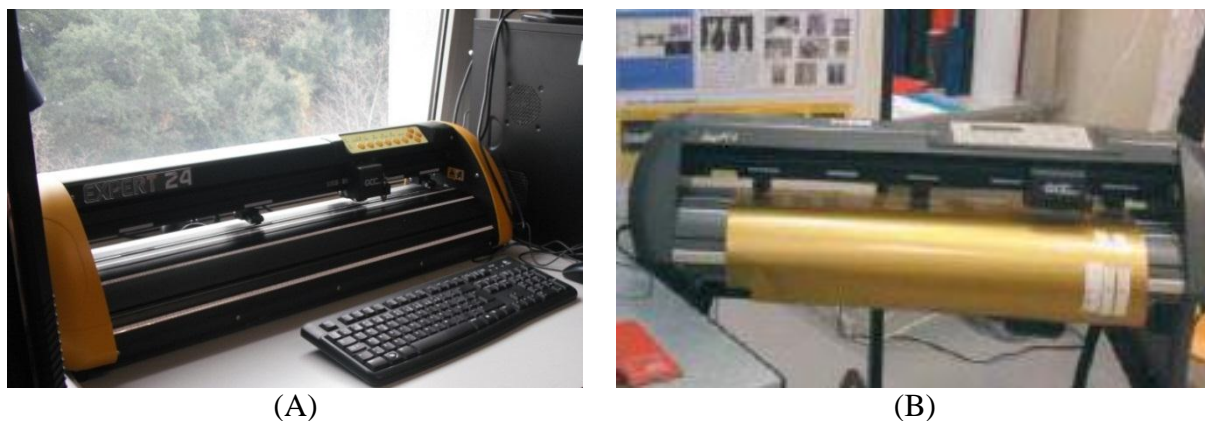


Figura 24 – (A) *Plotter* de corte *Expert 24*, (B) *Plotter* de corte *Jaguar II*.



Figura 25 - Caixa de Petri com moldes.

Depois de ter os moldes na caixa de Petri, o restante processo foi realizado numa *Hotte*, utilizando os equipamentos seguintes: uma balança, um misturador (*thinky-mixer*) ou um *vortex*, um *spin-coater* com bomba de vácuo, um dessecador com bomba de vácuo e uma estufa.

Para produzir um microcanal foi necessário preparar duas misturas de PDMS e agente de cura (Figura 26), numa razão de 5:1 para os moldes que estão nas caixas de Petri e numa razão de 20:1 para as lâminas que serão utilizadas para vedar os canais.

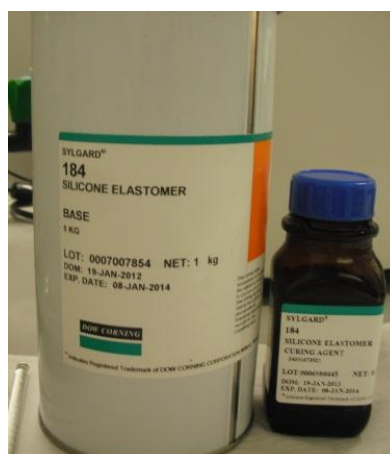


Figura 26 - PDMS e agente de cura.

O PDMS e o agente de cura foram misturados no *thinky mixer* (Figura 27). Numa primeira fase, este equipamento misturou os componentes durante 1 minuto e 30 segundos com uma velocidade de 1500 rpm. Numa segunda fase, removeu as bolhas durante 2 minutos com uma velocidade de 2200 rpm. Em alternativa, a mistura pode ser efectuada com uma vareta e um *vortex*.

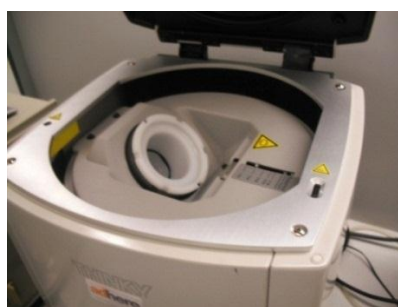


Figura 27 - Thinky Mixer.

A mistura foi de seguida colocada no dessecador (Figura 28) com a bomba de vácuo para remover as bolhas existentes.

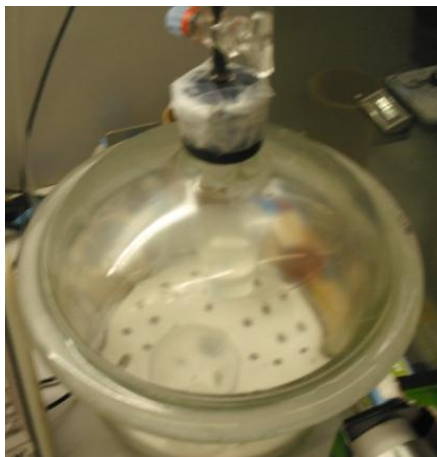


Figura 28 – Dessecador.

Quando foram removidas todas as bolhas do PDMS, a mistura 5:1 foi colocada nas caixas de Petri e foi sujeita a cura parcial na estufa durante 20 minutos, a uma temperatura de 80 °C.

A mistura 20:1 foi utilizada para a preparação das lâminas no *spin-coater* (Figura 29). Para a preparação das lâminas dos microcanais 1 e 2 foi utilizado o *Spin Coater WS-6SOS-6NPP/UD* (Figura 29(A)) e para o microcanal 3 o *Spin Coater VTC-100 Vacuum* (Figura 29(B)).

A lâmina foi colocada no *spin-coater*, de seguida foi colocada uma gota da mistura 20:1 sobre a mesma. O *spin-coater* realizou o processo durante 50 segundos a uma velocidade de 3000 rpm formando um filme de PDMS sobre a lâmina. Após a preparação das lâminas, estas foram levadas à estufa durante 15 minutos, a uma temperatura de 80 °C.



(A)



(B)

Figura 29 – (A) Spin Coater WS-6SOS-6NPP/UD (B) Spin Coater VTC-100 Vacuum.

Após a cura parcial, foram feitos os furos das entradas para que o fluido pode-se entrar e sair do microcanal.

Para finalizar o processo da fabricação dos microcanais, os canais foram colocados sobre as lâminas (Figura 30). O canal sempre voltado para a lâmina de forma a ficar bem vedado e para ser possível observar o microcanal no microscópio sem existirem fugas de fluido. O microcanal foi em seguida colocado na estufa por pelo menos 12 horas a uma temperatura de 80 °C.

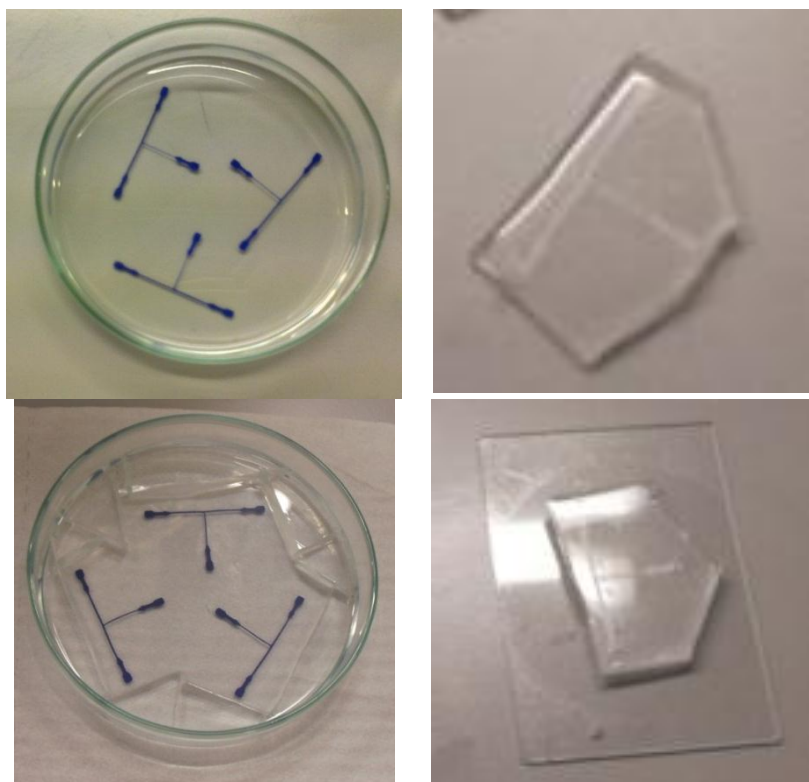


Figura 30 - Processo de aderir canais às lâminas.

5.3. Fluidos de trabalho

Nas experiências foram utilizados vários tipos de fluidos.

O gás usado foi sempre ar. Os líquidos usados foram: água destilada, óleo alimentar, solução aquosa de Dextrano40 (10%), solução aquosa de NaCl (0,9%) e GVs (10% Hct) suspensos numa solução de Dextrano40.

Foram também usadas suspensões de partículas (5 e 10%) em água destilada, solução aquosa de Dextrano40 e solução aquosa de NaCl. As partículas esféricas, com diâmetro de 10 μm e 2,5wt%, era de polistireno latex, $[-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_6\text{H}_5)-]_n$ (com referência Alfa Aesar).

Na Tabela 2 está representada a simbologia utilizada para designar alguns tipos de fluidos, de modo a facilitar a análise do trabalho efectuado.

Tabela 2 – Simbologia usada para os fluidos utilizados nas experiências.

Simbologia	Fluidos
SolDex40	Solução aquosa de Dextrano40 (10%)
SolNaCl	Solução aquosa de NaCl (0,9%)
SusPart5%AD	Suspensão de partículas (5%) em Água Destilada
SusPart5%NaCl	Suspensão de partículas (5%) em solução aquosa de NaCl
SusPart10%NaCl	Suspensão de partículas (10%) em solução aquosa de NaCl
SusPar10%Dex40	Suspensão de partículas (10%) em solução aquosa de Dextrano40
Dex40_5%Hct	Soluções de Dextrano40 contendo 5% de Hct de GVs
Dex40_10%Hct	Soluções de Dextrano40 contendo 10% de Hct de GVs

5.4. Centrifugação

O sangue é colhido por punção venosa. No momento em que se realiza a sua colheita é adicionado um anticoagulante, heparina, para que seja possível trabalhar sem que ocorra coagulação. Após a colheita é possível realizar a centrifugação do sangue.

No resultado da centrifugação é possível visualizar 3 camadas distintas (Figura 31). A camada inferior, apresenta os GVs que representam 35% a 50% do volume total de sangue. A camada central é constituída pelos glóbulos brancos e plaquetas, esta camada é muito fina, apenas representa 1% do volume total de sangue. A camada superior é constituída pelo plasma [35,81].

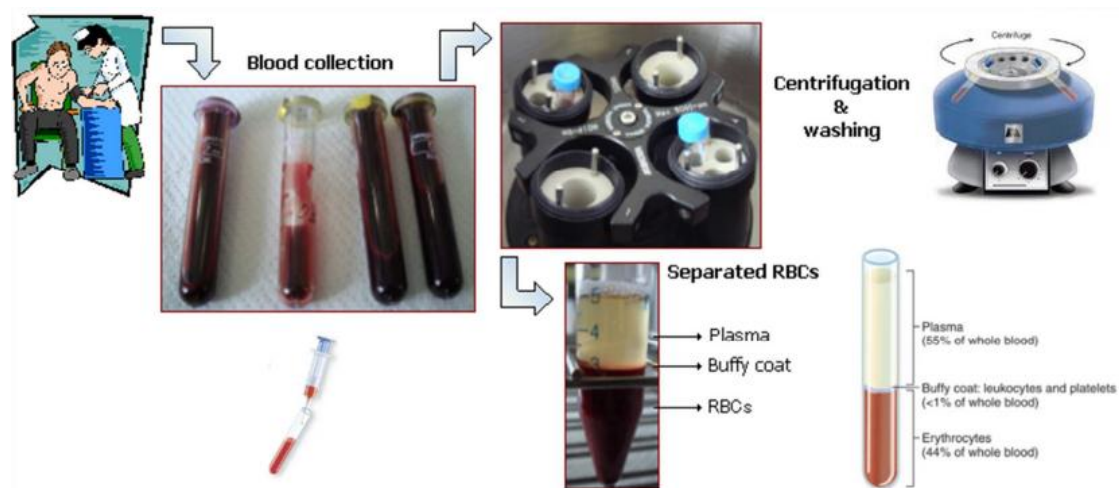


Figura 31 – Tratamento do sangue [77].

Em primeiro lugar é necessário realizar a colheita do sangue por punção venosa e após a realização da colheita é colocado anticoagulante no sangue. Após este procedimento é realizada a centrifugação do sangue.

Para a realização da centrifugação, o sangue foi colocado num tubo de ensaio com anticoagulante (Figura 32) para que se evite a coagulação.



Figura 32 – Sangue com anticoagulante num tubo de ensaio.

O sangue foi dividido por dois tubos em iguais proporções, acrescentado soro fisiológico (NaCl a 0,9%) e esses dois tubos foram colocados na centrifugadora em posições opostas de forma a existir equilíbrio (Figura 33). A centrifugação foi realizada à temperatura de 15°C, com 2000 rpm e com uma duração de 15 minutos.

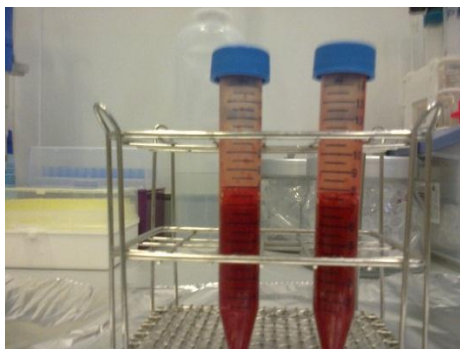


Figura 33 – Tubos de sangue com soro fisiológico fora e dentro da centrifugadora.

Após a primeira centrifugação retirou-se o plasma (Figura 34), voltou-se a acrescentar soro fisiológico e realizou-se uma segunda centrifugação. No final da segunda centrifugação retirou-se o plasma novamente e nesse momento obteve-se apenas os GVs para serem utilizados nas experiências.

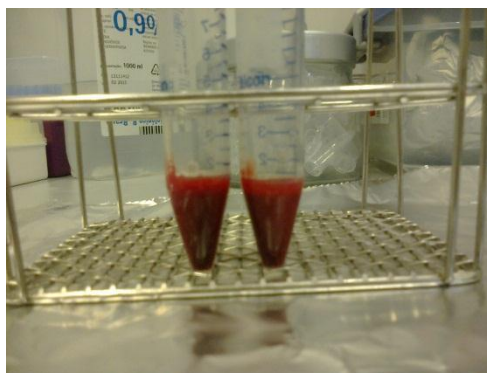
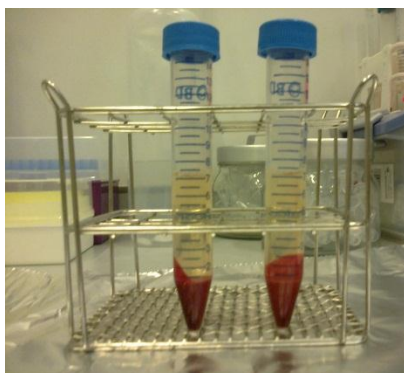


Figura 34 – À esquerda sangue após a centrifugação e à direita sangue já sem o plasma.

Os GVs obtidos por centrifugação foram dissolvidos numa solução aquosa de Dextrano 40. Ao longo do presente trabalho foram utilizados hematócitos de 5%, 10% e 15% (Figura 35), em que 1000 μ l de solução, 50 μ l são de GVs e 950 μ l são de solução aquosa de Dextrano40 (10%).

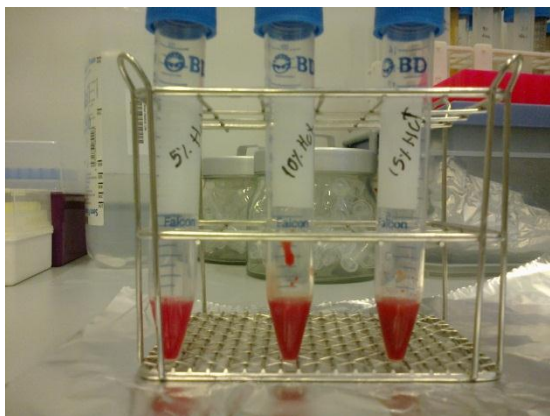


Figura 35 – Hematócritos de 5%, 10% e 15%.

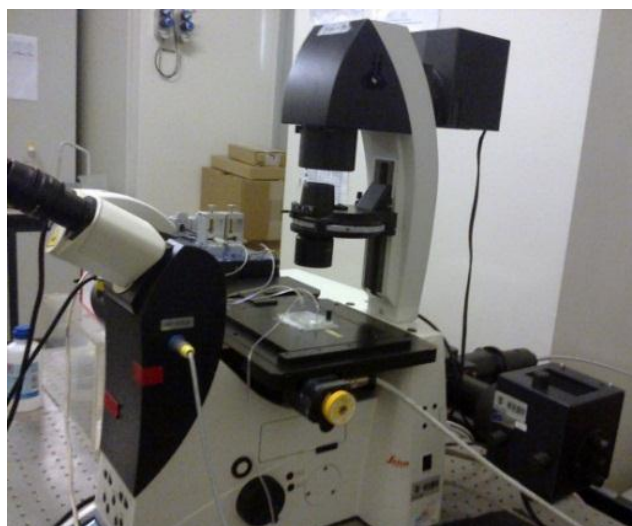
5.5. Equipamentos de visualização

5.5.1. Visualização líquido-líquido e suspensão partículas-ar

As visualizações foram realizadas através do microscópio invertido *Leica DMI 5000 M* e de uma câmara digital *Leica DFC350 FX* (Figura 36).

Foram utilizadas duas bombas para promover o escoamento, uma bomba de seringa *Nemesys* e uma bomba de pressão *elveflow PG1113* (Figura 37).

A bomba de seringa foi controlada pelo *software neMESYS UseInterface*. A aquisição das imagens foi controlado pelo *software Leica Application Suite*.



(A)

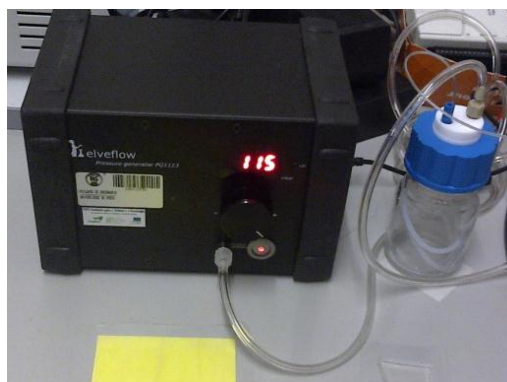


(B)

Figura 36 – (A) Microscópio *Leica DMI 5000 M*. (B) Câmara digital *Leica DFC350 FX*.



(A)



(B)

Figura 37 – (A) Bomba de seringa *neMESYS syringe pump*. (B) Bomba de pressão *elveflow Pressure generator PG1113*

Nas experiências realizadas foram estudados sistemas líquido-líquido e gás-líquido. Quando utilizado um sistema líquido-líquido utilizou-se apenas a bomba de seringa (Figura 37(A)). Quando utilizado um sistema gás-líquido utilizou-se a bomba de pressão constante (Figura 37(B)) para o gás e a bomba de seringa para o líquido.

Resolveu-se utilizar a bomba de pressão constante nos sistemas de gás-líquido, visto que, inicialmente, no sistema de gás-líquido a introdução do gás (ar) foi feita de dois modos: com recurso a uma bomba de seringa para a injeção do ar e com recurso a uma bomba de pressão constante. Dado que com esta bomba se conseguiam formar bolhas de pequena dimensão, o que nem sempre acontecia com a bomba de seringa, as experiências neste sistema foram sempre realizadas então com a bomba de pressão constante.

5.5.2. Visualização Solução GVs-Ar

As visualizações foram realizadas através do microscópio invertido *Olympus IX71* de uma câmara de alta velocidade *i-SPEED LT* (Figura 38).

Foram utilizadas duas bombas para promover o escoamento, uma bomba de seringa *Harvard Apparatus PHD ULTRATM* e uma bomba de pressão *elveflow PG1113* (Figura 39). Os vídeos e imagens microscópicas eram controlados por um ecrã de visualização ligado à câmara de alta velocidade (Figura 38).

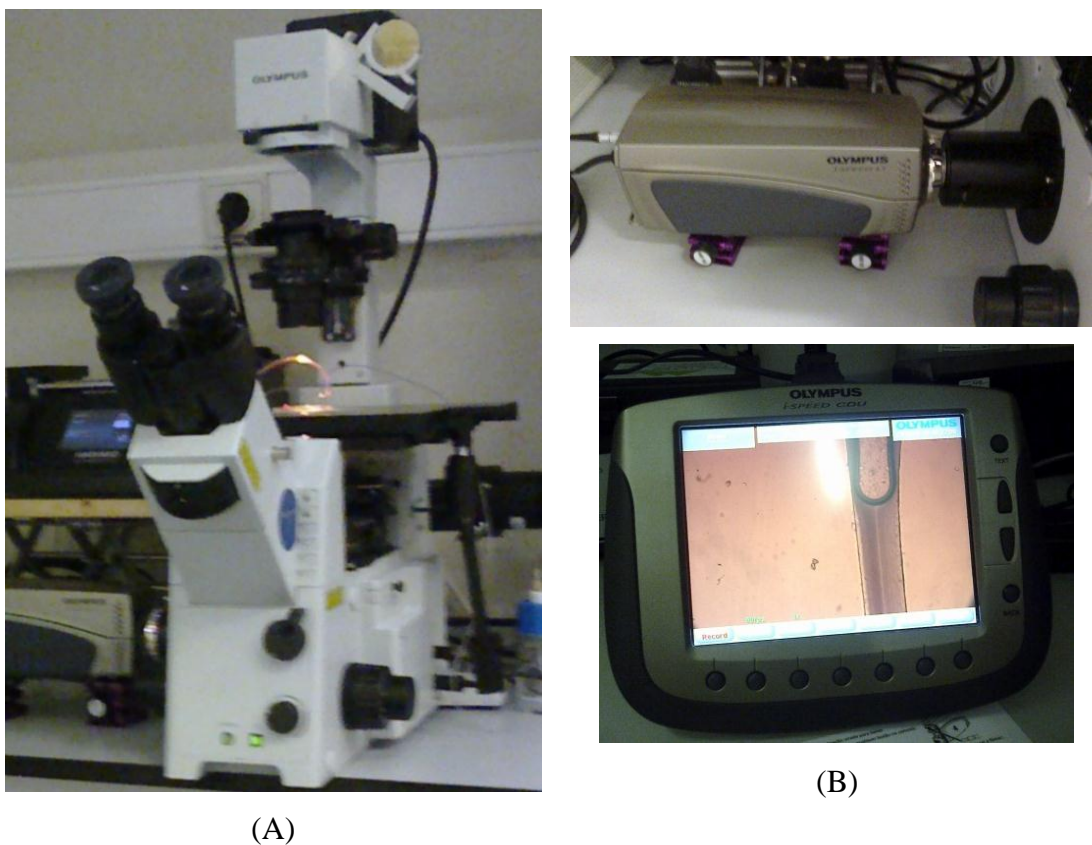


Figura 38 – (A) Microscópio *Olympus IX71*. (B) Câmera *i-SPEED LT* e ecrã de visualização.



(A)



(B)

Figura 39 – (A) Bomba de seringa *Harvard Apparatus PHD ULTRA™*. (B) Bomba de pressão *elveflow Pressure generator PG1113*

5.6. Escoamentos *in vitro*

No decorrer deste trabalho foram realizados vários escoamentos em microcanais fabricados por xurografia. Depois de fabricados os microcanais foi possível começar a realização dos escoamentos. Para isso foi necessário recorrer a vários equipamentos e materiais.

5.6.1. Escoamento líquido-líquido e suspensão partículas-ar

Na realização dos escoamentos líquido-líquido e suspensão partículas-ar procedeu-se do seguinte modo:

- Ligou-se a bomba de seringa ao *software neMESYS UseInterface* de forma a variar os caudais do fluido. De seguida calibrou-se a bomba de seringa, encheu-se a seringa com fluido e introduziu-se na bomba. A seringa foi ligada a uma das entradas do microcanal através de um tubo de ligação.
- Com um tubo de ligação uniu-se a bomba de pressão constante a uma das entradas do microcanal (apenas quando utilizado gás-líquido).

- Na saída do microcanal colocou-se um tubo de ligação para um reservatório de descarga.
- Ligou-se a câmara digital ao *software Leica Application Suite* para controlar a aquisição dos vídeos e das imagens microscópicas.
- Introduziu-se um caudal na bomba de pressão constante, outro na bomba de seringa e assim o fluido começou a ser injectado no microcanal.
- Por fim formaram-se bolhas/gotas e visualizou-se o seu escoamento ao longo dos microcanais.

Na Figura 40 está representado um esquema da instalação usada nos escoamentos.

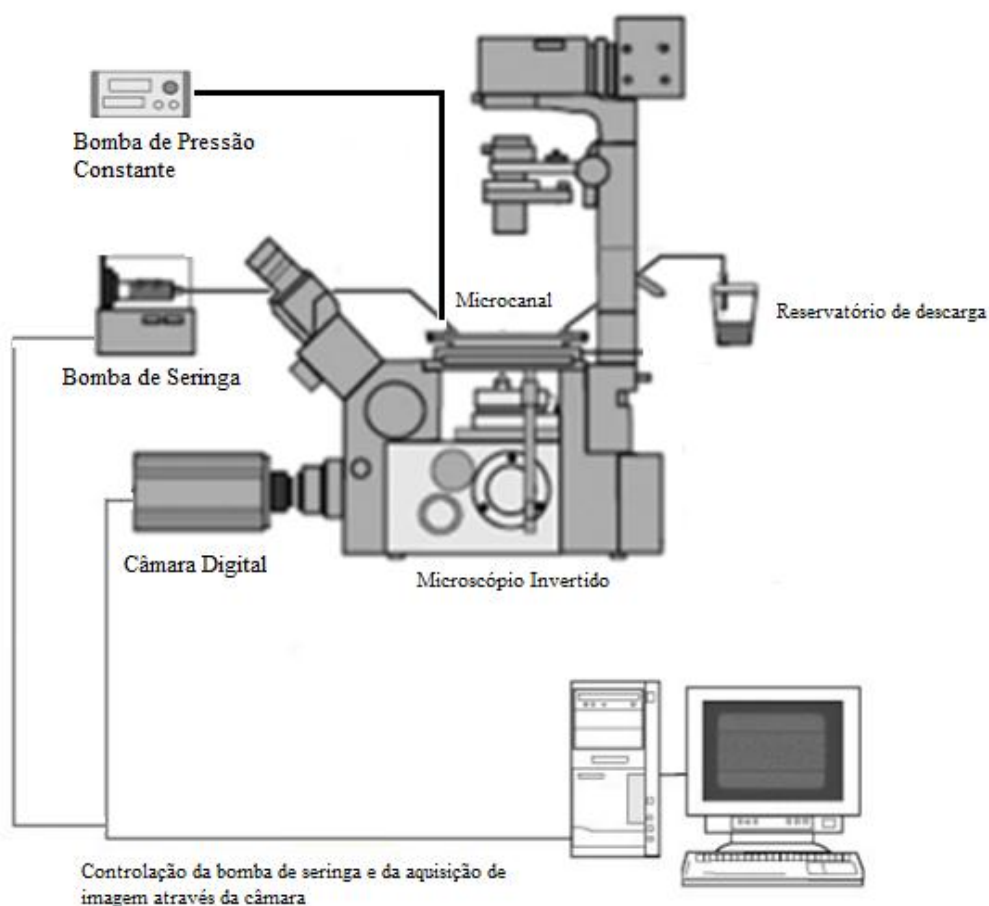


Figura 40 - Representação esquemática da instalação usada nos escoamentos (adaptado de [57,108]).

5.6.2. Escoamento Solução GVs-Ar

Na realização dos escoamentos GVs-Ar procedeu-se do seguinte modo:

- Efectuou-se a centrifugação do sangue e preparou-se a solução de GVs.
- Encheu-se a seringa com a solução de GVs e introduziu-se na bomba. A seringa foi ligada a uma das entradas do microcanal 3 através de um tubo de ligação.
- Com um tubo de ligação uniu-se a bomba de pressão constante a uma das entradas do microcanal.
- Na saída do microcanal colocou-se um tubo de ligação para um reservatório de descarga.
- Ligou-se a câmara de alta velocidade ao ecrã de visualização para controlar a aquisição dos vídeos e das imagens microscópicas.
- Introduziu-se um caudal na bomba de pressão constante, outro na bomba de seringa e assim o fluido começou a ser injectado no microcanal.
- Por fim formaram-se bolhas e visualizou-se o seu escoamento ao longo dos microcanais.

Na Figura 41 está representado um esquema da instalação usada nos escoamentos.

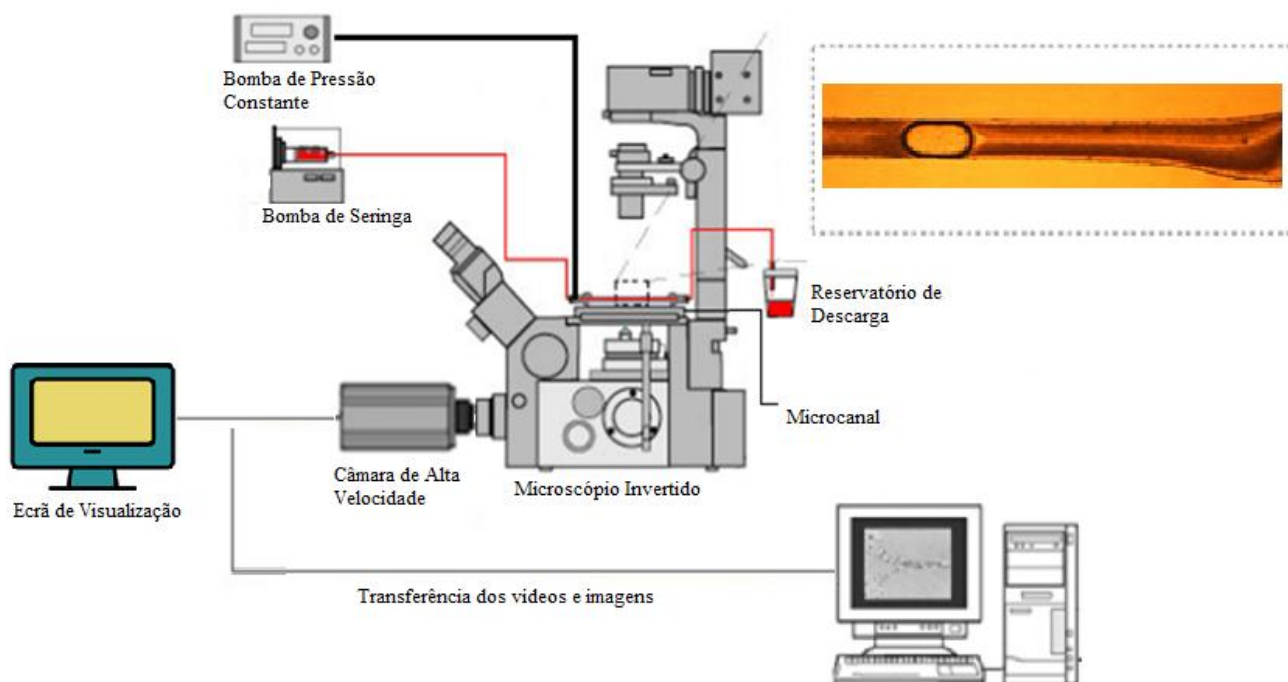


Figura 41- Representação esquemática da instalação usada nos escoamentos solução GVs- Ar (adaptado de [57,108]).

5.7. Software utilizado

Para realizar a análise dos resultados, foi utilizado o *software Phantom*, o *ImageJ* e o *Excel*.

No *Phantom* os vídeos são convertidos em imagem para poder-se medir os deslocamentos das bolhas/gotas e posteriormente calcular a sua velocidade no *Excel*.

As funcionalidades do *MTrackJ* (Figura 42) do *software ImageJ* foram utilizadas para calcular a espessura da camada livre de células (CLC) formada num escoamento de GVs com ar. No *ImageJ* ainda foi possível a medição do índice de deformação das bolhas.

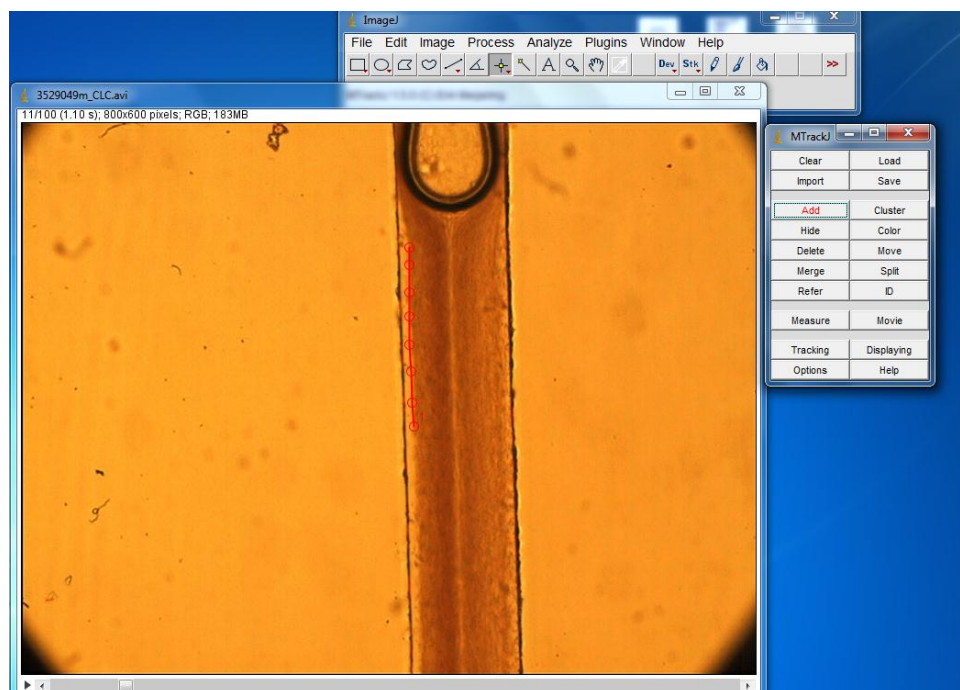


Figura 42 – Aplicação do *MTrackJ* para determinar a CLC.

Para determinar a espessura da CLC é utilizado o *MTrackJ*, com as funcionalidades desta aplicação é possível seguir uma célula ou uma linha do escoamento ao longo do tempo e do microcanal. Para conseguir determinar a trajetória da CLC é necessário segui-la clique a clique do rato do computador (*Add*). No final é possível obter uma tabela (*Measure*) com as coordenadas de cada ponto, assim como, o tempo em que esse ponto aparece no escoamento.

Capítulo 6

APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Nas experiências realizadas são testados vários parâmetros, tais como, a geometria dos canais e a utilização de diferentes fluidos.

São estudados canais em forma de Y, canais em T e um canal com um *design* desenvolvido para se visualizar a formação das bolhas e gotas, assim como o seu comportamento ao longo do microcanal.

Um dos objectivos deste trabalho é calcular as velocidades das bolhas e das gotas. Então nas experiências efectuadas é realizada uma comparação entre a velocidade experimental e a velocidade esperada.

A velocidade experimental, é a velocidade adquirida através dos vídeos microscópicos obtidos nas experiências laboratoriais. Essa análise é realizada através do *software Phantom* e do *ImageJ*.

A velocidade esperada é a velocidade prevista mediante o caudal introduzido no escoamento de cada fluido.

Quando utilizado líquido-líquido a velocidade esperada é calculada através da equação (1):

$$Velocidade Esperada_{líquido-líquido} = \frac{Q}{A} = \frac{Q}{l \times h} [m \cdot s^{-1}] \quad (1)$$

Trata-se de uma velocidade média, onde Q corresponde ao caudal volumétrico do líquido, A é a área da secção recta do microcanal onde é realizada a medição, l é a largura e h é a espessura do microcanal.

A velocidade média de um fluido, resultante do quociente entre o caudal volumétrico de um fluido e a área da secção recta de escoamento é muitas vezes chamada de velocidade superficial desse fluido, quando se trata de escoamentos bifásicos.

Quando utilizado o sistema gás-líquido, em que o gás é injectado através da bomba de pressão constante, o cálculo da velocidade esperada das bolhas é diferente.

A equação (2), que a seguir se apresenta, é usada para determinar a velocidade esperada das bolhas num sistema gás-líquido.

$$Velocidade\ Esperada_{gás-líquido} = \frac{Va/t}{l \times h} + \frac{Q}{l \times h} [m. s^{-1}] \quad (2)$$

Onde Va corresponde ao volume acumulado das bolhas ao longo desse escoamento e t é o tempo do escoamento.

Va é determinado através da análise de um escoamento em que, são analisadas todos os comprimentos das bolhas desse escoamento, calcula-se o volume de cada bolha, somando todos eles e levando ao volume acumulado. Por fim esse volume é dividido pelo tempo desse escoamento e assim obtém-se o caudal do gás.

Note-se, que dado o escoamento em co-corrente de gás e líquido, a velocidade das bolhas resulta da soma das velocidades superficiais do gás e do líquido. Contudo, dado tratar-se de bolhas de várias dimensões, algumas das quais ocupando quase toda a secção recta do microcanal, a escoar em canais com uma secção recta de escoamento rectangular e não circular, da equação (2), usada neste trabalho para calcular a velocidade esperada, resultarão sempre valores aproximados da velocidade real das bolhas.

Além do cálculo das velocidades também é estudado os comprimentos das bolhas/gotas, as distâncias entre elas e ainda a sua forma. As formas das gotas e bolhas são nomeadas conforme a Figura 43.

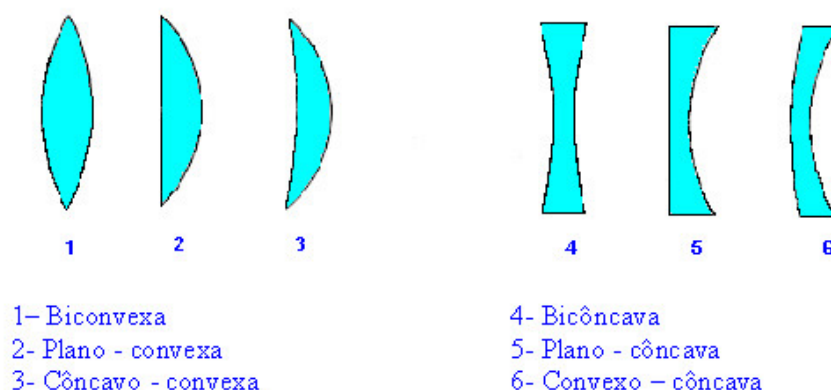


Figura 43 – Representação da forma de bolhas/gotas e significado de convexa e côncava [82].

No escoamento simultâneo de líquido-líquido, com diferentes propriedades havia lugar à formação de gotas de um líquido no seio do outro, numa situação idêntica com a formação de bolhas gasosas no escoamento de gás-líquido. Ao longo das experiências foi observada a formação de gotas e bolhas com diferentes formas, conforme os fluidos utilizados. As formas das gotas e bolhas apresentadas tinha duas formas distintas, umas eram biconvexas e outras eram do tipo côncava-convexa.

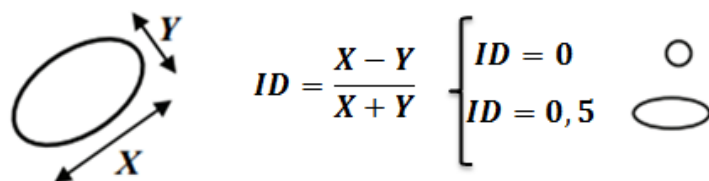
Relativamente às experiências com GVs são também estudadas as velocidades e formas das bolhas/gotas e ainda é analisada a camada de plasma ou camada livre de células (CLC) e a taxa de deformação das bolhas.

Na circulação de uma bolha/gota pode existir uma deformação da mesma, ocorrendo assim o índice de deformação. Para verificar se existe o índice de deformação (ID) é realizado o seguinte cálculo,

$$ID = \frac{X-Y}{X+Y} \quad (3)$$

onde, X corresponde à largura maior da bolha e Y à largura menor da bolha.

Quando o ID se aproxima de 0, a bolha apresenta uma estrutura circular, e quando se aproxima de 0,5, a bolha apresenta uma forma elíptica alongada (Figura 44) [83-84].



$$ID = \frac{X - Y}{X + Y} \quad \left\{ \begin{array}{l} ID = 0 \\ ID = 0,5 \end{array} \right.$$

Figura 44 – Definição de índice de deformação [adaptado de 84].

Para a realização de todas as análises dos resultados, à excepção dos resultados dos GVs, foi utilizado o *software Phantom*, para a conversão dos vídeos em imagens e posteriormente os resultados obtidos foram passados para o *Excel*, para ser possível realizar a análise através da realização de cálculos e gráficos. Para efectuar a análise de resultados das experiências em que foram utilizados GVs, é utilizado o *ImageJ* e depois os resultados são analisados no *Excel*.

6.1. Experiências com óleo, água e ar

6.1.1. Sistema Líquido-Líquido

Neste subcapítulo são apresentados os resultados obtidos com o Microcanal 1. É de salientar que as medidas da largura do canal variam entre o molde e o resultado final, uma vez que ao realizar o corte na *plotter* existem sempre erros de precisão.

Na Figura 45 está representada uma imagem retirada através do microscópio, onde a largura do microcanal é 368 μm enquanto a dimensão inicialmente projectada era 400 μm .

Ao longo da experiência foram utilizados dois fluidos, numa das entradas a água destilada e numa outra entrada o óleo alimentar. Foi utilizado um caudal de 1 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$ para o óleo alimentar e o da água destilada variou entre 5 e 20 $\mu\text{l}.\text{min}^{-1}$.

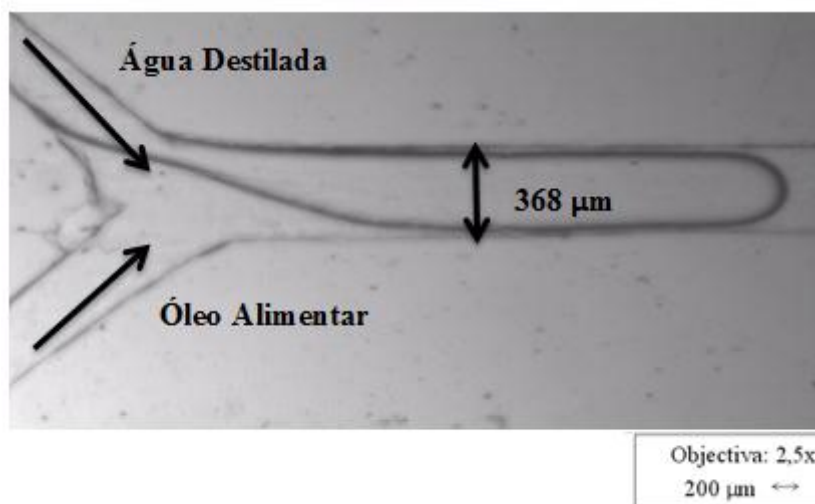


Figura 45 – Imagem microscópica (2,5x) do Microcanal 1 com a utilização de dois fluidos, óleo alimentar e água destilada.

Na Tabela 3, estão representados os resultados preliminares relativamente às velocidades.

Tabela 3 – Velocidade Experimental e a Velocidade Esperada, no Microcanal 1 com a utilização de óleo alimentar e água destilada.

Caudal ($\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$)		Velocidade Experimental ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)	Velocidade Esperada ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
Óleo	Água		
1	5	0,0029	0,0022
1	7,5	0,0035	0,0032
1	10	0,0048	0,0041
1	12,5	0,0053	0,0050
1	15	0,0066	0,0060
1	20	0,0092	0,0078

Analisando a tabela verifica-se que a velocidade experimental é superior à velocidade esperada. As velocidades aumentam com o aumento do caudal da água.

Ao longo destas experiências foi observada a formação de gotas de água (Figura 46). As gotas que se formavam eram de grandes dimensões. As suas concavidades da frente e de trás eram convexas, mas o diâmetro da bolha na concavidade da frente era maior que na concavidade de trás (Figura 47)

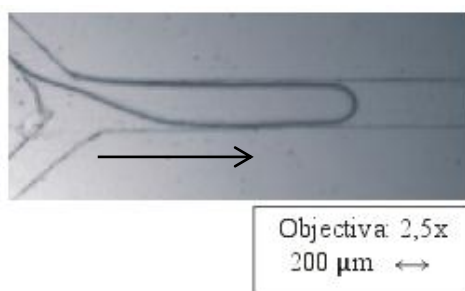


Figura 46 – Formação de uma gota de água, com utilização de água destilada-óleo alimentar no Microcanal 1.

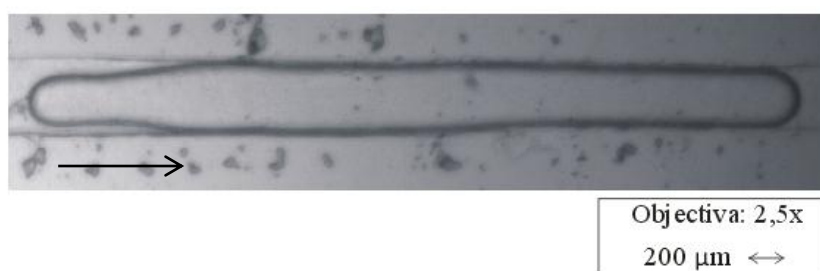


Figura 47 – Gota de água biconvexa, com utilização de água destilada-óleo alimentar no Microcanal 1.

6.1.2. Sistema Gás-Líquido

6.1.2.1. Bomba seringa vs. Bomba de pressão constante

Neste subcapítulo é feito um estudo preliminar sobre qual a melhor bomba para a injeção de ar, uma bomba de seringa ou uma bomba de pressão constante. Para a realização desta comparação é utilizado o Microcanal 2.

No caso em que se utilizou apenas a bomba de seringa, é colocado numa entrada água e numa outra entrada ar, as duas seringas têm igual volume, 2,5 ml. Neste estudo as velocidades experimentais deram muito diferentes das esperadas. Este problema ocorre porque o ar é compressível, não se deslocando à velocidade do êmbolo da seringa.

No caso em que foi injectado ar através da bomba de pressão, foi utilizado um caudal de 20 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ para a água e uma pressão de 25 mbar para o ar. Foi obtida uma velocidade experimental de 0,0085 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$, próxima da velocidade esperada de 0,0104 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$.

Após a realização destas duas experiências, verificou-se que quando utilizado ar, a bomba de pressão permite obter melhores resultados experimentais. Então as experiências apresentadas neste trabalho foram realizadas com a bomba de pressão constante, uma vez que permite condições replicáveis e constantes ao longo da experiência.

Uma vez que nestas experiências foi estudado um sistema ar-água, nas próximas imagens podem-se visualizar a formação de bolhas de ar dispersas em água (Figura 48). Estas bolhas têm estrutura diferente das gotas produzidas em óleo-água. A concavidade da frente e de trás são diferentes entre si. A bolha é designada por côncava-convexa (Figura 49).

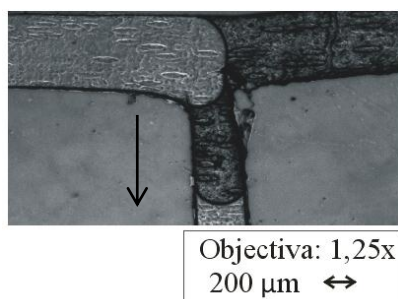


Figura 48 - Formação de uma bolha de ar, com utilização de ar-água destilada no Microcanal 2.

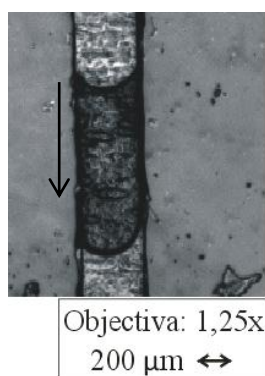


Figura 49 - Bolha de ar côncava-convexa, com utilização de ar-água destilada no Microcanal 2.

6.1.2.2. Microcanal em T

Foi estudada a formação de bolhas no Microcanal 2 numa corrente de óleo alimentar. O óleo foi injectado através de uma bomba de seringa e o ar através de uma bomba de pressão constante. Na Figura 50, está representado o microcanal com as entradas do fluido e do ar.

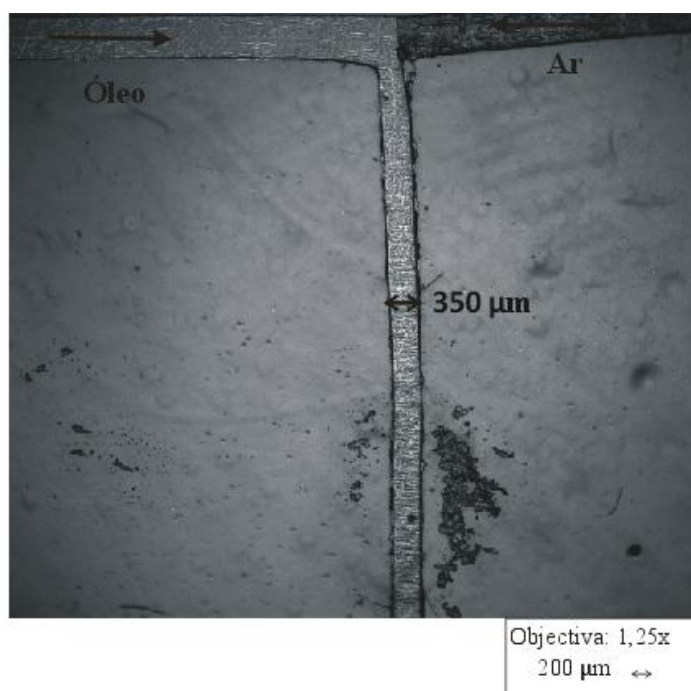


Figura 50 - Imagem microscópica (1,25x) do Microcanal 2, com utilização de ar e óleo alimentar.

Com a utilização de um caudal de $5 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ de óleo alimentar e com uma pressão de ar de 50 mbar, verificou-se que a velocidade experimental foi de $0,0024 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ para uma velocidade esperada de $0,0027 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$. Estes resultados são muito satisfatórios uma vez que a velocidade experimental é muito idêntica à velocidade esperada.

Através do Excel foi calculado o tempo que o início e fim de cada bolha demora a passar no mesmo local (Figura 51), assim como os comprimentos das mesmas (Figura 52) e ainda a distância entre as bolhas (Figura 53).

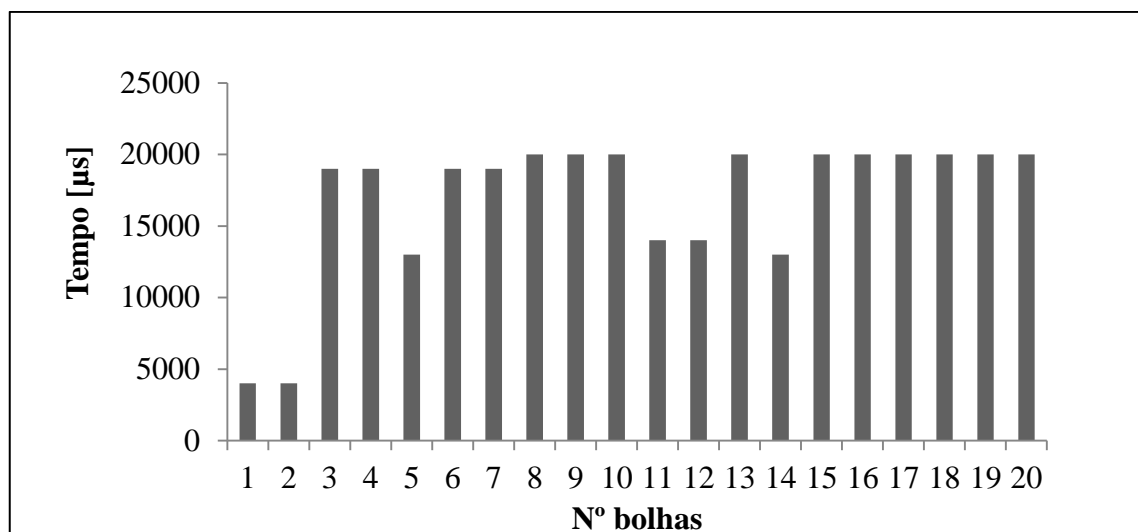


Figura 51 - Tempo de passagem de cada bolha, com caudal de óleo alimentar de $5 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ e com uma pressão de ar de 50 mbar.

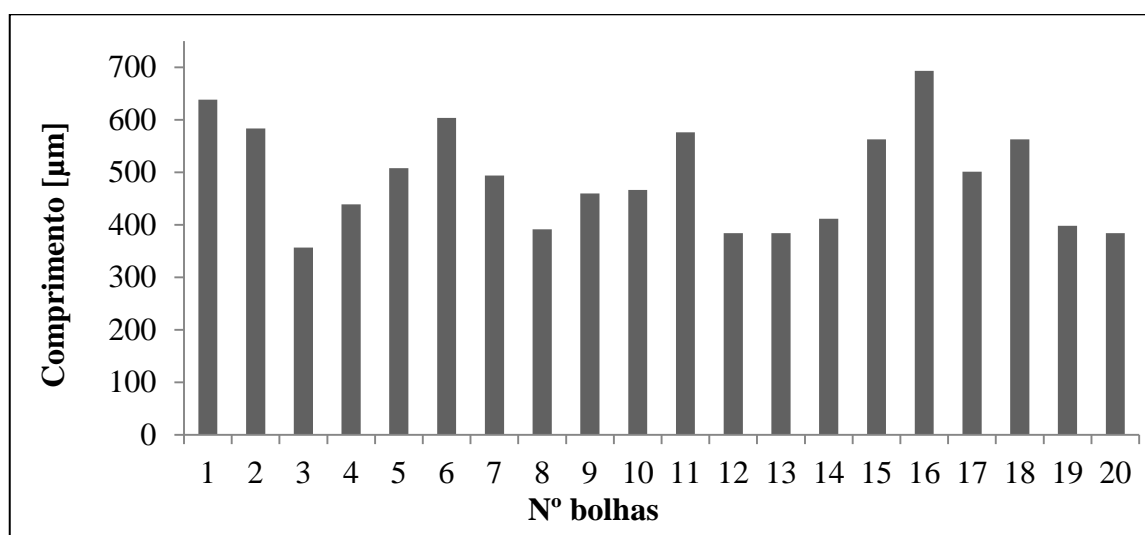


Figura 52 - Comprimento de cada bolha, com caudal de óleo alimentar de $5 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ e com uma pressão de ar de 50 mbar.

Na Figura 53 o eixo do x corresponde à distância entre duas bolhas. Por exemplo g1-g2 corresponde à distância obtida entre duas bolhas, uma anterior e outra posterior.

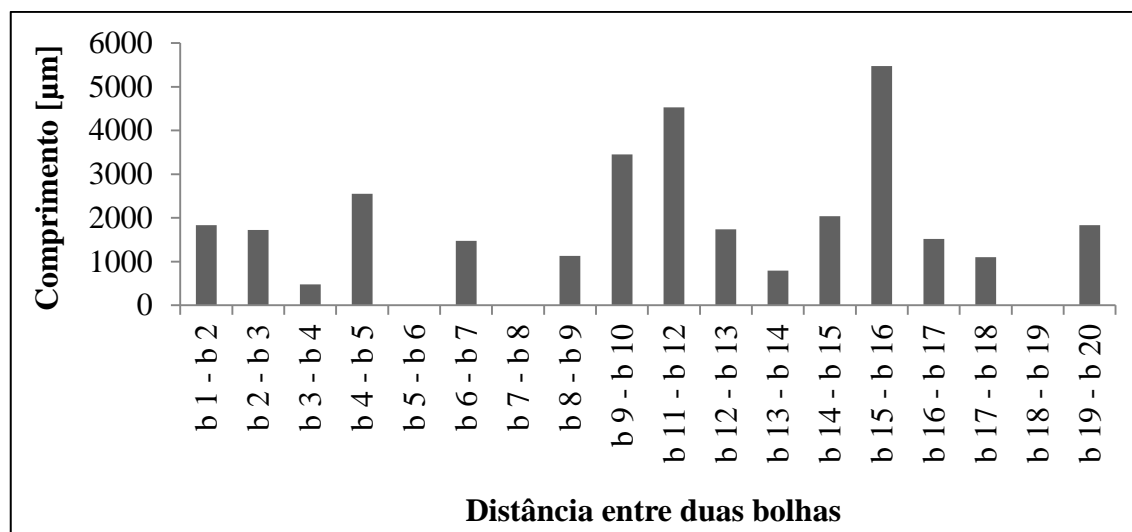


Figura 53 - Distância entre bolhas, com caudal de óleo alimentar de $5 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ e com uma pressão de ar de 50 mbar.

Analisando estes três gráficos do sistema gás-líquido com o microcanal 2 verifica-se que o tempo que cada bolha do escoamento demora a passar na zona de visualização, não segue uma sequência, mas por outro lado na maioria das vezes essas bolhas demoram aproximadamente o mesmo tempo.

Também se verifica que o tamanho entre umas e outras bolhas é muito irregular, não se verificando a formação das bolhas com igual tamanho.

Por fim, no último gráfico (Figura 6.11) é analisada a distâncias entre diferentes bolhas. A distância entre duas bolhas é bastante irregular. Em 3 casos essa medição não foi possível ser realizada, uma vez que a distância entre elas era muito elevada, ocupando a totalidade do microcanal.

Com a utilização do sistema ar-óleo foi observada a formação de bolhas de ar (Figura 54). Mas ao contrário das bolhas de ar-água, estas são bolhas com as duas concavidades iguais, sendo bolhas biconvexas (Figura 55).

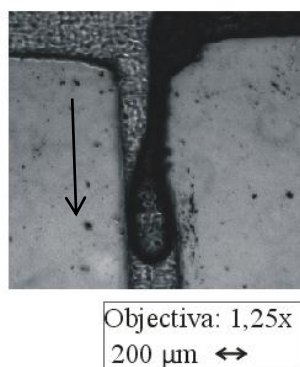


Figura 54 - Formação de uma bolha de ar, com utilização de ar-óleo alimentar no Microcanal 2.

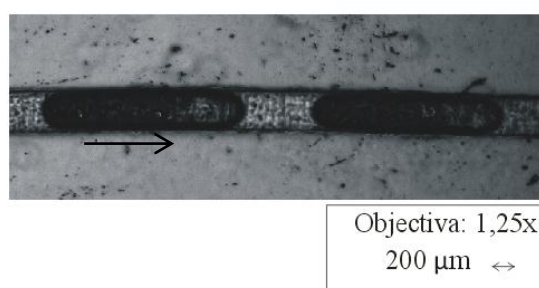


Figura 55 - Bolhas de ar biconvexas, com utilização de ar-óleo alimentar no Microcanal 2.

Comparando os resultados deste subcapítulo com os dos subcapítulos anteriores verifica-se que as bolhas mais pequenas se formavam quando se utilizava ar-óleo. Quando se utilizou ar-água as bolhas resultaram maiores e com velocidade maior, dificultando assim a análise dos resultados obtidos.

As concavidades das bolhas diferem com a mudança de fluido: se for utilizado ar-óleo alimentar a concavidade da frente é igual à concavidade de trás, mas com a utilização de ar-água verifica-se que a concavidade da frente é diferente da concavidade de trás.

6.2. Experiências com suspensões de partículas

Neste subcapítulo são apresentados os resultados das experiências com suspensões de partículas de modo a verificar o movimento das partículas dentro e fora das bolhas. A seguir, apresentam-se conclusões relativas a escoamentos bifásicos do tipo líquido com partículas em suspensão com líquido e com gás.

As experiências foram realizadas com o Microcanal 2. Numa das entradas foi colocado óleo e na outra foi colocado um outro fluido, SusPart5%AD, SusPart5%NaCl, SusPart10%NaCl e SusPar10%Dex40 (ver Tabela 2), através da bomba de seringa. Na Figura 56 está representada uma imagem microscópica com a objectiva de 2,5x.

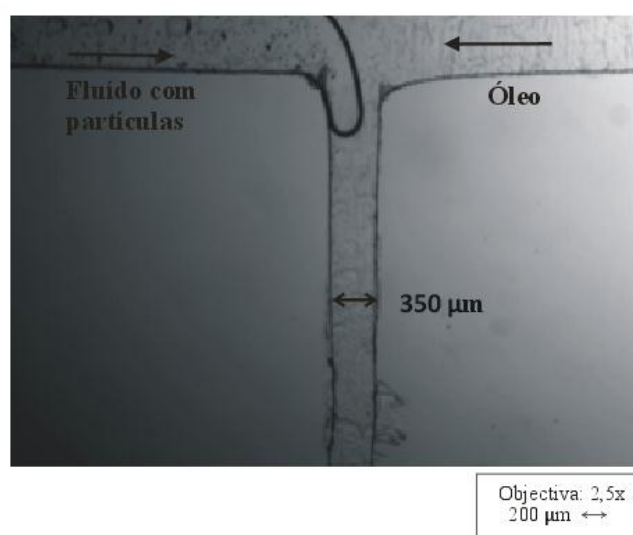


Figura 56 - Imagem microscópica (2,5x) do Microcanal 2 com a utilização de líquido com partículas em suspensão com líquido.

Tal como verificado no escoamento líquido-líquido (água-óleo), nos escoamentos de líquidos com partículas em suspensão e líquido (fluido com partículas-óleo) formavam-se gotas de fluido com partículas no seio da fase contínua (óleo alimentar). A forma das gotas nos dois tipos de escoamento era semelhante, com concavidade convexa em ambas as extremidades

Entre a gota e a parede do microcanal verifica-se a existência de filme, que era visível principalmente entre a cauda da bolha e a parede.

Em relação às partículas, verifica-se que estas circulam no interior das bolhas. Na maioria dos casos as partículas circulam de igual forma por toda a bolha. Na Figura 57, está representada uma gota de SusPart5%NaCl, onde as partículas circulam por toda a bolha.

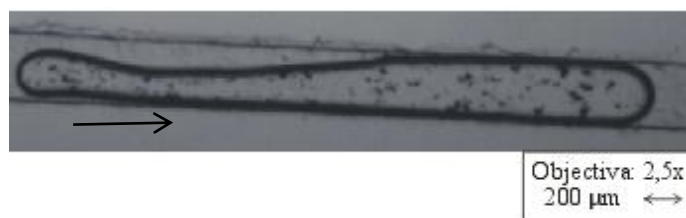


Figura 57 - Gota de SusPart5%NaCl numa corrente de óleo alimentar no Microcanal 2.

Na utilização de SusPart5%AD (Figura 58), as partículas abandonavam a cauda da bolha e dirigem-se para a frente.

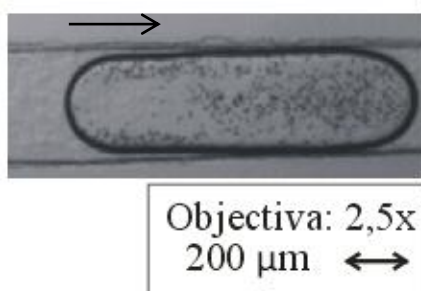


Figura 58 - Gota de SusPart5%AD numa corrente de óleo alimentar no Microcanal 2.

Em alguns casos, quando utilizado SusPar10%Dex40 (Figura 59), verificou-se que as partículas tendiam a circular mais no centro da bolha a todo o comprimento.

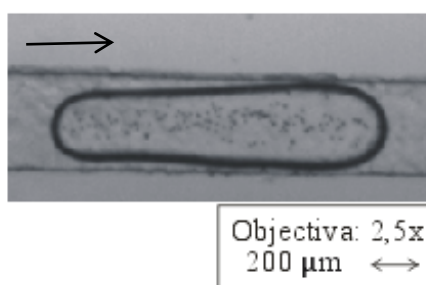


Figura 59 - Gota de SusPar10%Dex40 numa corrente de óleo alimentar no Microcanal 2.

Na Tabela 4 estão todos os resultados obtidos ao longo das experiências efectuadas com fluido líquido com partículas em suspensão com líquido.

Tabela 4 – Velocidades das gotas de fluido líquido com partículas em suspensão com líquido.

Sistema	Caudal ($\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$)		Comprimento da gota (μm)	Velocidade Experimental ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)	Velocidade Esperada ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
	Óleo	Solução			
Óleo alimentar-SusPart5%AD	2	2	1160,83	0,0016	0,0019
Óleo alimentar-SusPart5%NaCl	2	2	1201,67	0,0014	0,0019
Óleo alimentar-SusPart10%NaCl	2	2	3005,43	0,0025	0,0019
	2	1	2153,26	0,0019	0,0014
Óleo alimentar-SusPar10%Dex40	2	1	1065,22	0,0016	0,0014
	2	2	1514,13	0,0023	0,0019
	1	4	2845,65	0,0029	0,0024
	5	5	1346,74	0,0042	0,0048
	10	10	1019,57	0,0113	0,0095

Analisando a tabela anterior conclui-se que as velocidades aumentam com o aumento dos caudais das soluções. Também se verifica que a velocidade experimental é relativamente próxima da velocidade esperada.

Observando os tipos de fluidos em que as partículas estão suspensas verifica-se que SusPart10%NaCl é o fluido que tem maiores comprimentos de gotas.

Depois de efectuadas as experiências relativas a escoamentos bifásicos do tipo líquido com partículas em suspensão com líquido, foi efectuado o mesmo tipo de experiência mas neste caso o escoamento bifásico é do tipo líquido com partículas em suspensão com gás e líquido com gás.

Com o Microcanal 2, numa das entradas foi injectado ar comprimido e na outra foi injectado umas vezes SolDex40 e outras vezes SusPar10%Dex40, através da bomba de seringa.

Na Figura 60 está representada uma imagem microscópica desta experiência com a objectiva 2,5x.

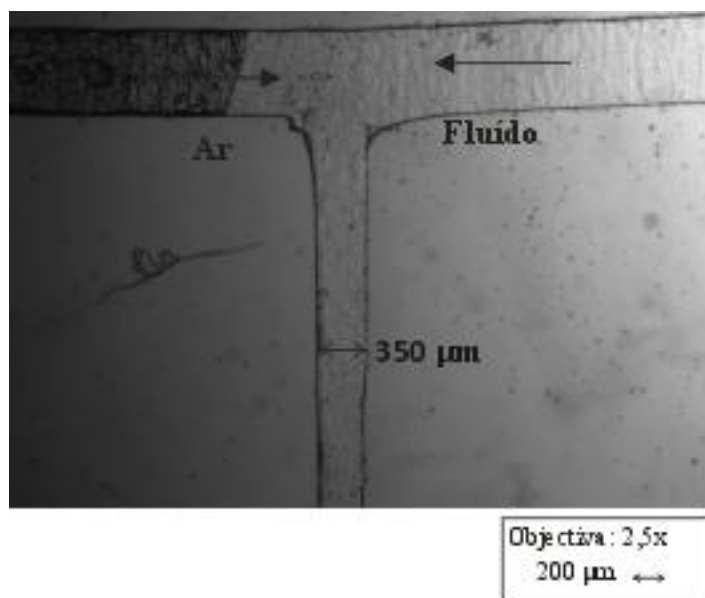


Figura 60 - Imagem microscópica (2,5x) do Microcanal 2 em sistema bifásico, tipo líquido com partículas em suspensão com gás e líquido com gás.

Quando utilizado Ar/SusPar10%Dex40, as bolhas que se formam são de ar sem as partículas, a concavidade da frente é convexa e a de trás é côncava. Entre a bolha e a parede do microcanal não existe filme (Figura 61).

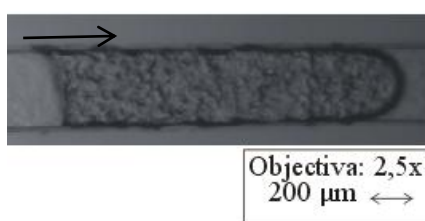


Figura 61 - Bolha de ar, em sistema Ar/SusPar10%Dex40 no Microcanal 2.

Observando as partículas verifica-se que estas circulam normalmente por todo o microcanal, apenas não circulam dentro das bolhas. Mas em alguns casos as partículas encaminham-se mais para um dos lados ocupando, assim, só meio canal (Figura 62).

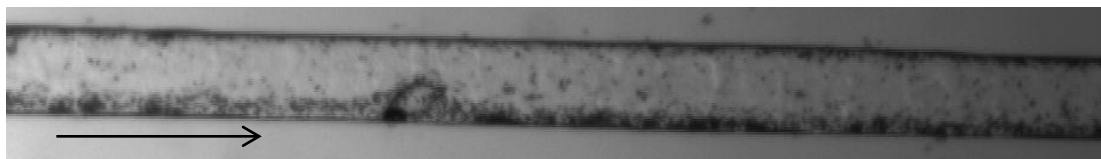


Figura 62 – Circulação das partículas no Microcanal 2, em sistema Ar/SusPar10%Dex40, com um caudal de 30mbar de ar e $10\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$.

Quando utilizado Ar/SolDex40, assim como no caso de SusPar10%Dex40 as bolhas são de ar, com a concavidade da frente convexa e a de trás côncava e também não existe filme entre a bolha e a parede do canal.

Na Tabela 5 são apresentados todos os resultados dos escoamentos bifásicos do tipo líquido com partículas em suspensão com líquido e com gás.

Tabela 5 - Velocidades das bolhas de ar em escoamentos bifásicos, líquido com partículas em suspensão com líquido e com gás.

Sistema	Pressão Ar (mbar)	Caudal Solução ($\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$)	Comprimento da bolha (μm)	Velocidade Experimental ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)	Velocidade Esperada ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
Ar-SusPar10%Dex40	20	10	2342,18	0,0047	0,0031
	25	10	2482,60	0,0050	0,0027
	30	10	2577,31	0,0060	0,0040
	25	15	1153,27	0,0049	0,0037
	30	15	1587,75	0,0065	0,0040
Ar-SolDex40	20	10	4852,00	0,0060	0,0042
	25	10	4900,89	0,0079	0,0044
	30	10	5536,00	0,0078	0,0042
	25	15	3558,93	0,0094	0,0063
	30	15	4453,18	0,0118	0,0068

Analisando a tabela anterior verifica-se que, nos dois sistemas, a velocidade das bolhas aumenta com o aumento dos caudais. Verifica-se também que o seu comprimento aumenta com o aumento da pressão do ar e diminui com o aumento do caudal da solução.

Comparando o mesmo fluido com e sem suspensão de partículas, verifica-se que as velocidades e os tamanhos das bolhas são maiores sem a presença de suspensão de partículas.

Nos casos gás-líquido, verifica-se que a velocidade experimental não é próxima da velocidade esperada como nos sistemas líquido-líquido. Nos sistemas gás-líquido, essas velocidades diferem significativamente.

6.3. Experiências com GVs de ovino

Ao longo deste subcapítulo são expostos resultados de experiências realizadas com a utilização de sangue de ovino. Foram estudados sistemas líquido-líquido e gás-líquido. No primeiro estudo foi utilizado o microcanal 2 e o sistema Dex40_5%Hct-óleo. No segundo estudo foi utilizado o par Ar-Dex40_10%Hct. Para finalizar a análise deste subcapítulo determinou-se não só a espessura da CLC num sistema gás-líquido mas também o ID das microbolhas ao longo do microcanal.

6.3.1. Sistema Líquido-Líquido

Ao longo destas experiências foi utilizado o microcanal 2 em que numa das entradas foi injectada a solução Dex40_5%Hct e na outra foi injectado óleo alimentar com o auxílio de uma bomba de seringa. Na Figura 63 está representada uma imagem microscópica retirada com uma objectiva de uma ampliação de 4x.

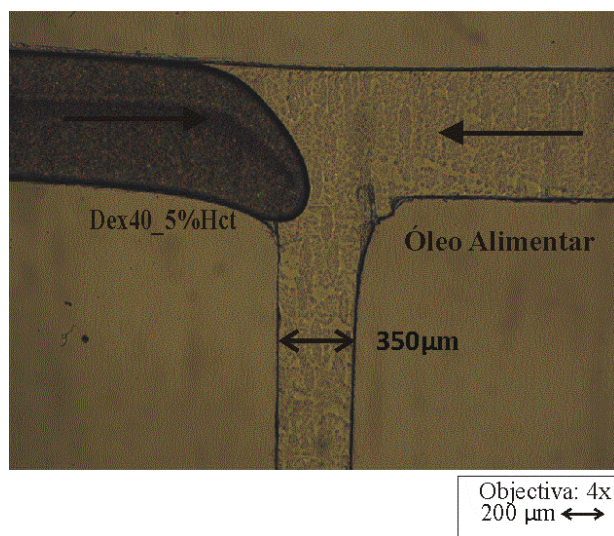


Figura 63 - Imagem microscópica (4x) Microcanal 2 com sistema bifásico de Dex40_5%Hct e óleo alimentar.

Estas experiências foram realizadas com diferentes caudais tanto para a solução Dex40_5%Hct como para o óleo.

Ao longo destes diferentes caudais verificou-se que as gotas formadas eram gotas de Dex40_5%Hct e que todas elas eram biconvexas.

Quando utilizados caudais de $1 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$, em ambos os fluidos, a gota é preenchida por células e também se verifica que a cauda é mais fina que a parte da frente, existindo um filme entre a gota e a parede do microcanal (Figura 64).

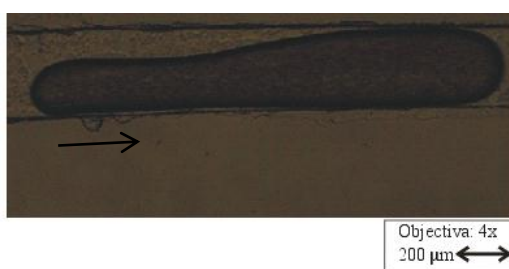


Figura 64 – Gota de Dex40_5%Hct com óleo alimentar no Microcanal 2 com caudais de $1 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$.

Em alguns casos verificou-se uma linha a todo o comprimento do centro da gota sem células (Figura 65).



Figura 65 - Gota de Dex40_5%Hct sem células no centro, caudal de $1 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ para o óleo alimentar e de $5 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ para o Dex40_5%Hct.

Noutros casos verificou-se que a gota à medida que percorria o microcanal ia perdendo as células da cauda, ficando mais fina e sem células nessa extremidade.

Também neste estudo a gota não percorre o microcanal totalmente junto à parede do mesmo, existe um filme entre a gota e a parede do microcanal (Figura 66).

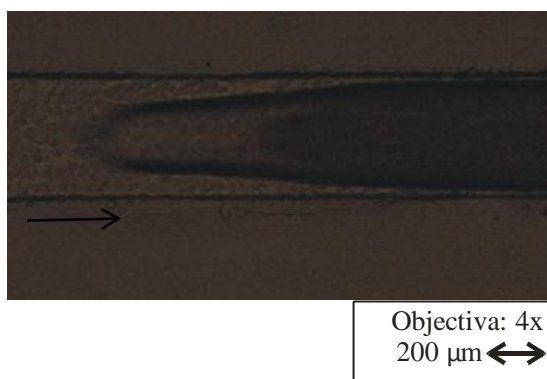


Figura 66 - Gota de Dex40_5%Hct com óleo alimentar no Microcanal 2 com caudal de $1 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ para o óleo alimentar e de $5 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ para o Dex40_5%Hct.

Na Tabela 6, estão expostos os resultados obtidos aquando da utilização de dois fluidos, óleo alimentar e Dex40_5%Hct com o microcanal 2.

Tabela 6 - Resultados das experiências com óleo alimentar e GVs.

Caudal ($\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$)		Comprimento da bolha (μm)	Velocidade Experimental	Velocidade Esperada
Óleo	Dex40_5%Hct		($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)	($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
1	5	*	0,0037	0,0029
5	5	1284,88	0,0070	0,0048
10	5	939,51	0,0095	0,0071

*a bolha ocupa a totalidade do microcanal

Analisando os resultados da tabela acima, estes sugerem que no sistema óleo-Dex40_5%Hct as velocidades aumentam com o caudal e que o comprimento das bolhas tendem a diminuir com o aumento do caudal do óleo. A velocidade experimental é sempre mais elevada que a velocidade esperada.

6.3.2. Sistema Gás-Líquido

Neste subcapítulo não foi possível a utilização dos microcanais 1 e 2, já que foi impossível obter caudais onde existisse a formação de bolhas, pois eles formavam duas camadas distintas ao longo do canal. Assim foi decidido a elaboração de um novo microcanal (microcanal 3) baseado no sistema fluxo de focagem (ver secção 2.1). Após a fabricação deste microcanal, realizou-se escoamentos de um sistema bifásico ar-Dex40_10%Hct.

Numa das entradas foi injectado um fluido constituído por GVs e na outra entrada foi injectado ar. A solução de GVs foi injectada através da bomba de seringa, sendo o ar injectado com a utilização da bomba de pressão constante.

Ao longo deste estudo verificou-se a formação de bolhas de ar e o seu transporte ao longo do microcanal. Verificou-se que essas bolhas eram todas biconvexas e que ao longo dos ensaios experimentais essas bolhas formavam-se na contracção existente no microcanal. De salientar que estas bolhas não se formavam na zona de mistura. Na zona de expansão as bolhas transformavam-se de bolhas elipses alongadas para uma forma circular e tinham tendência para se acumularem e coalescerem-se.

Neste microcanal verificou-se que na zona à frente da bolha existe tendência para se formar uma região com uma baixa concentração de células sanguíneas, sendo que atrás da bolha existe tendência para a formação de uma região com uma concentração mais elevada de células.

Na zona de formação da bolha esta ocupa a totalidade do microcanal pelo que não é visível uma CLC entre a bolha e a parede do microcanal. Na parte mais larga do canal, a bolha fica com uma forma circular e aí já é visível uma CLC ao longo da bolha, com é possível visualizar na Figura 67.



Figura 67 - Bolhas de ar no Microcanal 3 com caudal de $3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ para o Dex40_10%Hct e de 30 mbar para o Ar.

Na Tabela 7, estão os resultados das velocidades das bolhas formadas neste escoamento.

Tabela 7 - Velocidades de bolhas com a utilização de ar com a bomba de pressão constante juntamente com Dex40_10%Hct.

Caudal Dex40_10%Hct ($\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$)	Pressão Ar (mbar)	Velocidade Experimental ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)	Velocidade Esperada ($\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$)
3	25	0,0029	0,00103
3	30	0,0034	0,00104
3	35	0,0038	0,00109

Neste sistema gás-líquido, como em casos anteriores também se observou que existe uma diferença entre os valores das velocidades experimentais e esperadas. Esta diferença poderá ser devido à inexistência da fracção da área ocupada pelo gás.

Como em parte já se referiu, a velocidade das bolhas pode ser influenciada por múltiplos factores como a sua forma, tamanho, dispersão no seio do líquido, propriedades do líquido e seu comportamento newtoniano ou não newtoniano, presença de partículas em suspensão no seio do líquido, dimensão e geometria do canal e direcção do escoamento. Se a equação (3) pode ser adequada para a velocidade de bolhas esféricas, dispersas de modo uniforme em líquido newtoniano, como por exemplo ar-água num escoamento de macro-escala num tubo (a que ainda tem de se adicionar a velocidade correspondente à subida natural do gás num líquido estagnado) [85] essa mesma equação pode não ser totalmente adequada para escoamentos como os que neste trabalho foram realizados.

6.3.3. Camada Livre de células (CLC)

Ao longo deste subcapítulo são analisados resultados referentes à CLC, sendo esta camada normalmente um filme existente entre a parede do microcanal e a suspensão de GVs.

A determinação da camada livre de células já foi realizada em diferentes trabalhos de investigação [83,86].

Nas visualizações efectuadas no presente estudo pode-se observar a existência de uma CLC junto às parede e no centro do microcanal a jusante da bolha. Na Figura 68 está representada a junção do ar com a solução de GVs em função do tempo.

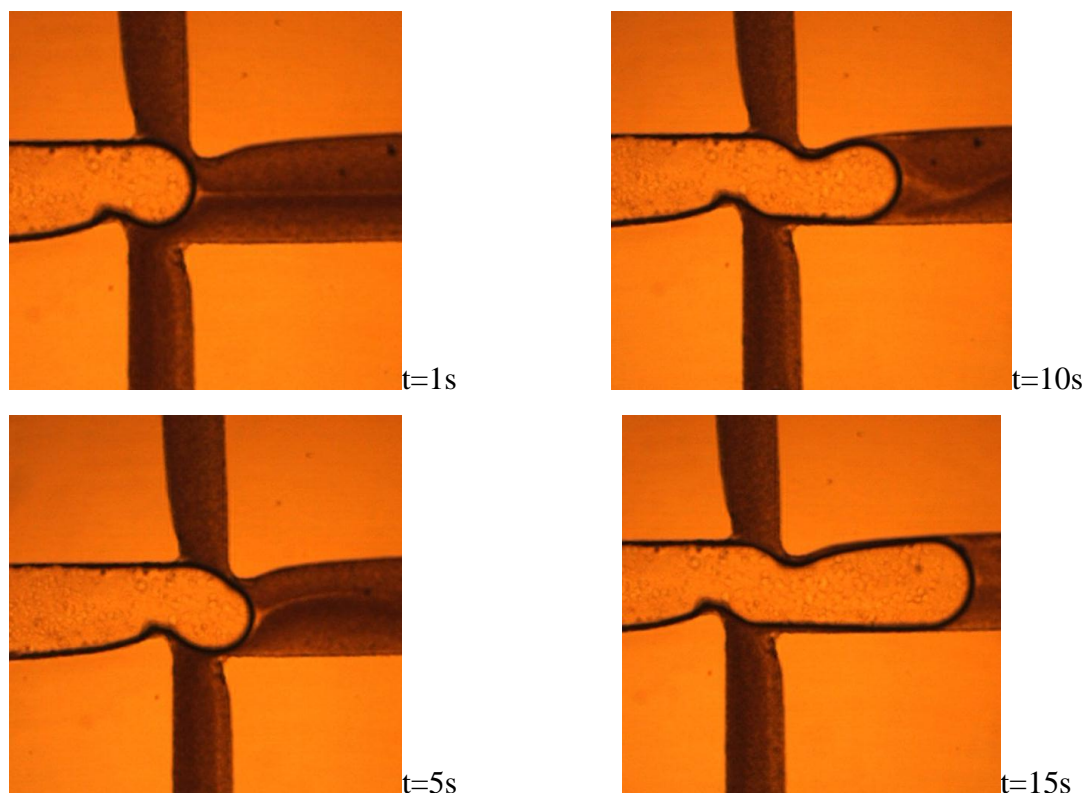


Figura 68 – Junção do ar e do Dex40_10%Hct no microcanal 3em diferentes tempos.

Através da figura anterior verifica-se a união do ar com o Dex40_10%Hct, sendo que o ar é comprimido lateralmente pelo escoamento sanguíneo. Visualizando vários vídeos e imagens adquiridas ao longo das experiências pode-se verificar que a montante da zona da junção existe uma CLC junto às paredes. Durante a formação da bolha a CLC junto à parede vai ser obrigada a deslocar-se para o centro do microcanal formando assim uma CLC nesta região. Na Figura 69 é possível observar este fenómeno que muito recentemente foi também visualizado em microcanais constituídos por bifurcações convergentes [87-88].

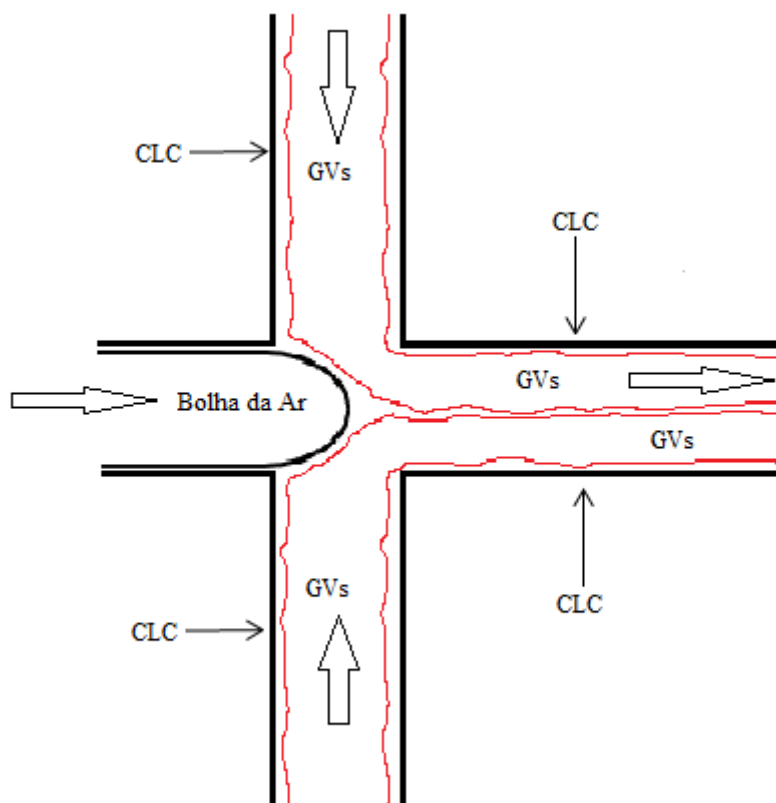


Figura 69 – Esquematização da formação da CLC no centro microcanal.

Na Figura 70 está representada a formação de uma bolha e o seu escoamento ao longo do microcanal.

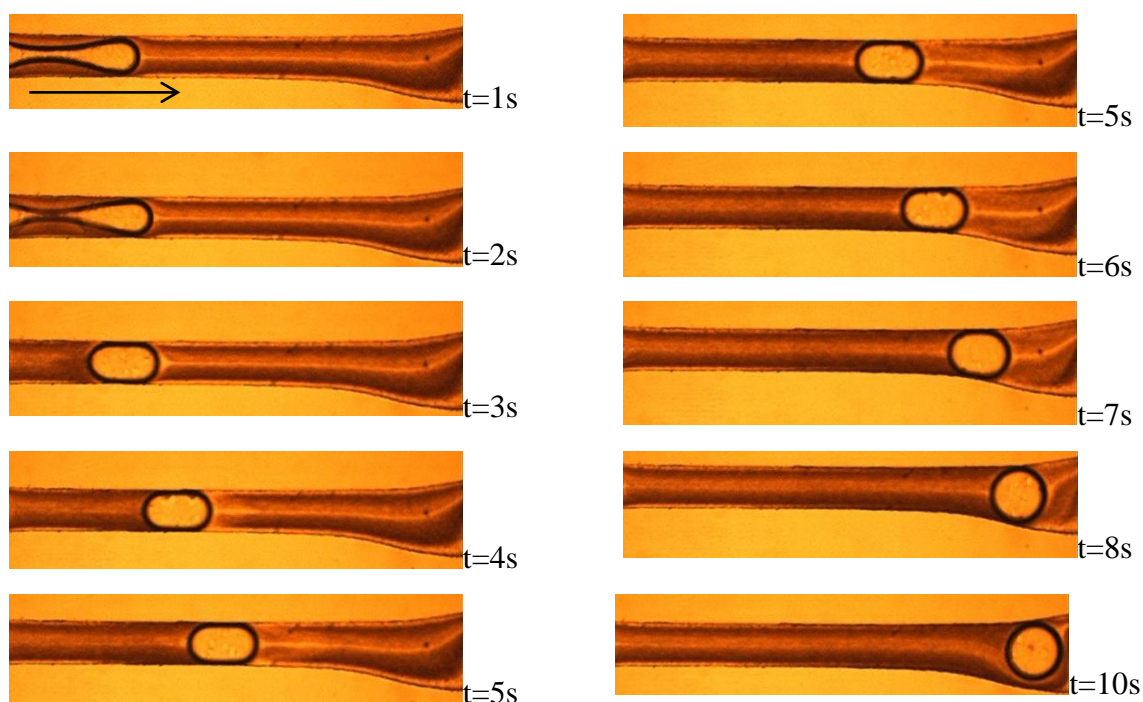


Figura 70- Formação e escoamento de uma bolha de ar no Microcanal 3 com caudal de $3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ para o Dex40_10%Hct e de 30 mbar para o Ar (objectiva 4x).

Nesta imagem verifica-se que a formação das bolhas ocorre na zona mais comprimida do microcanal e que na zona mais dilatada a bolha altera a sua forma de elipse alongada para circular. Adicionalmente é possível verificar a formação de uma CLC no centro do microcanal.

Na Figura 71 é possível visualizar a CLC existente junto à parede do microcanal recorrendo a uma objectiva com ampliação de 40x.

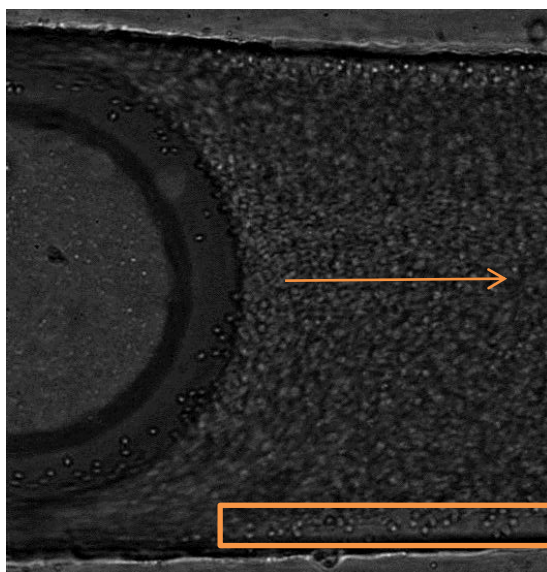


Figura 71 – Visualização microscópica da distância dos GVs à parede do microcanal (objectiva 40x).

Na Figura 72, está representada mais detalhadamente (zoom 150%) a espessura da CLC junto à parede do microcanal e na Figura 73 está ilustrado um gráfico da distância de um glóbulo vermelho à parede. Para obter a Figura 72 foi necessário utilizar o *ImageJ*. Para seguir a trajetória de uma célula foi necessário realizar alguns tratamentos no vídeo. Em primeiro lugar foi necessário incrementar o vídeo para que fosse possível seguir uma única célula, uma vez que as velocidades eram muito reduzidas, posteriormente foi utilizado um filtro *Unsharp Mask* de forma a realçar a imagem. Com as imagens tratadas foi possível seguir uma trajetória de uma célula junto à CLC, através do *MTrackJ*.

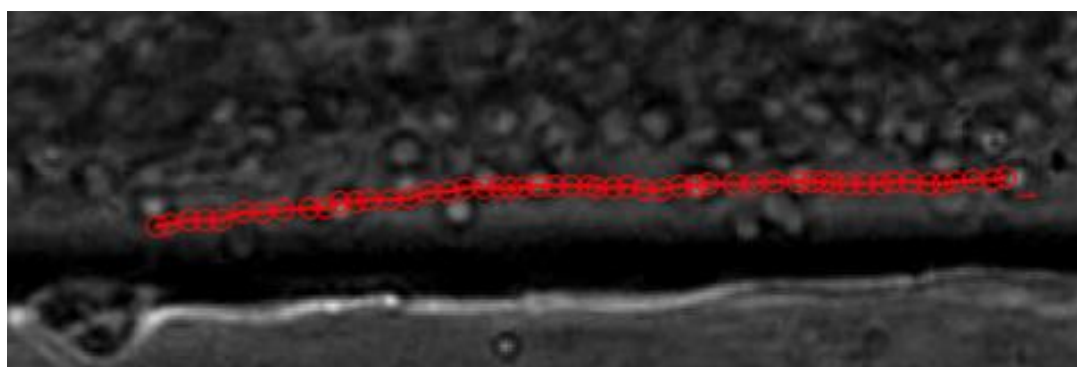


Figura 72 – Imagem microscópica com a trajetória da CLC existente no Microcanal 3 com um caudal de 3 $\mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ para o Dex40_10%Hct e um caudal de 25 mbar para o ar (objectiva 40x).

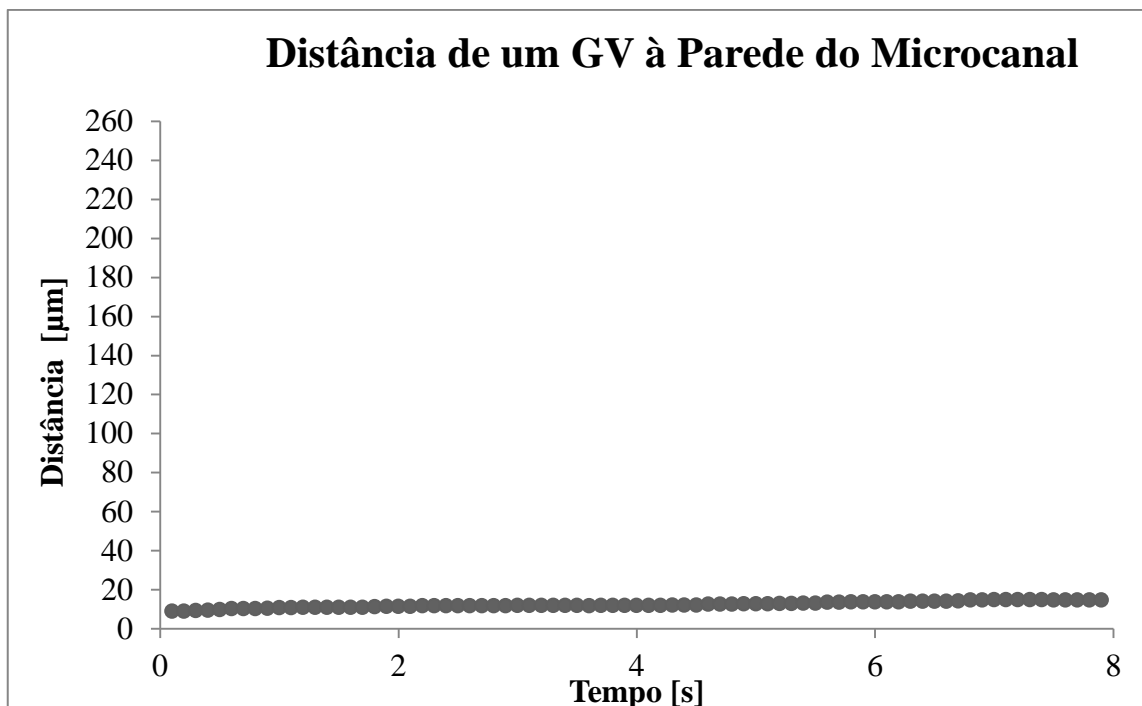


Figura 73 – Gráfico da distância de um GV à parede do microcanal com um caudal de $3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ para o Dex40_10%Hct e um caudal de 25 mbar para o ar.

Nas figuras seguintes foi analisado a CLC ao longo do microcanal 3 (Figura 74). No decorrer de um escoamento foi analisada a trajetória e a espessura da CLC em diferentes zonas:

- **Zona 1:** Início do escoamento (Figura 75 e Figura 76),
- **Zona 2:** Antes da formação da bolha (Figura 77 e Figura 78),
- **Zona 3:** Após da formação da bolha (Figura 79 e Figura 80),
- **Zona 4:** No final do escoamento (Figura 81 e Figura 82).

As trajetórias analisadas neste estudo foram junto à parede inferior do microcanal e no centro do mesmo, sendo os caudais utilizados $3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ para o Dex40_10%Hct e um caudal de ar à pressão de 30 mbar.

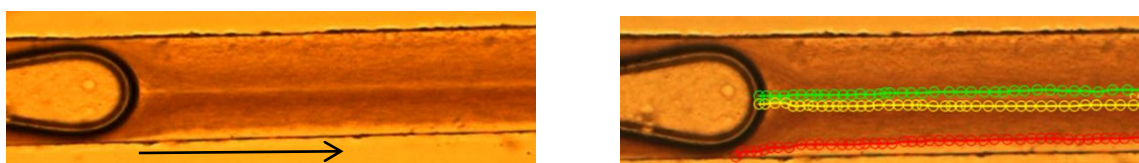


Figura 74 - Visualização microscópica das CLC e trajetória das CLC no Microcanal 3 em um sistema Ar-Dex40_10%Hct (objectiva 10x).

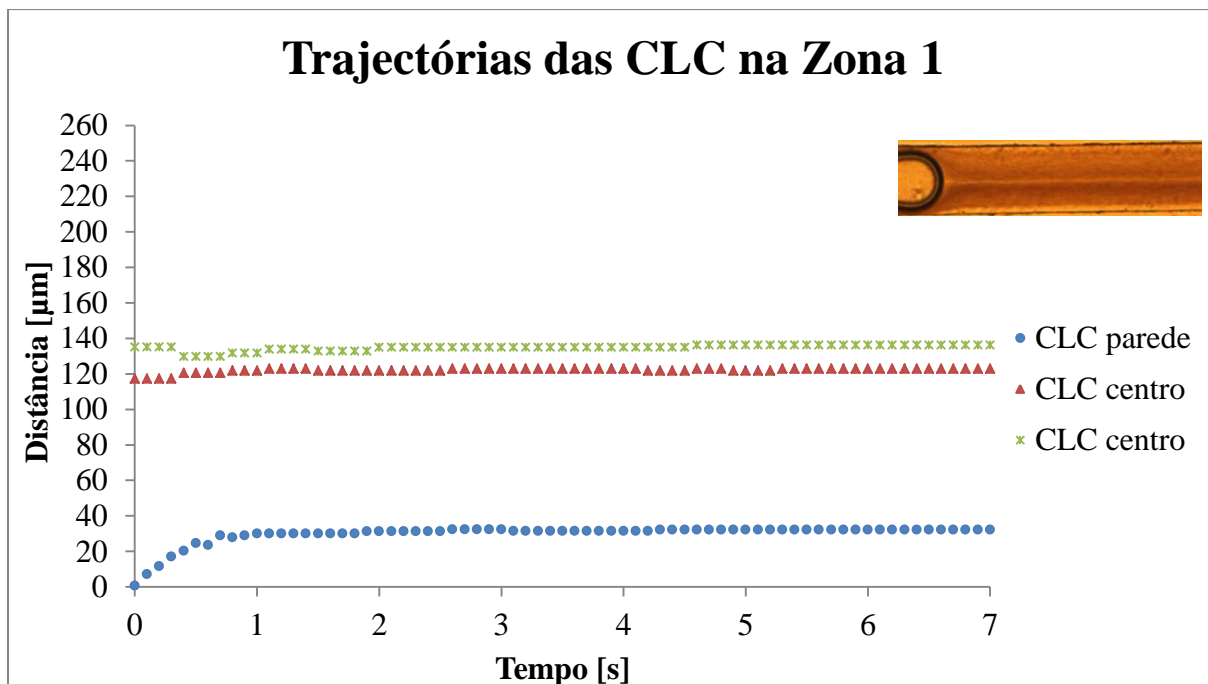


Figura 75 - Gráfico das trajetórias das CLC no início do escoamento (Zona 1).

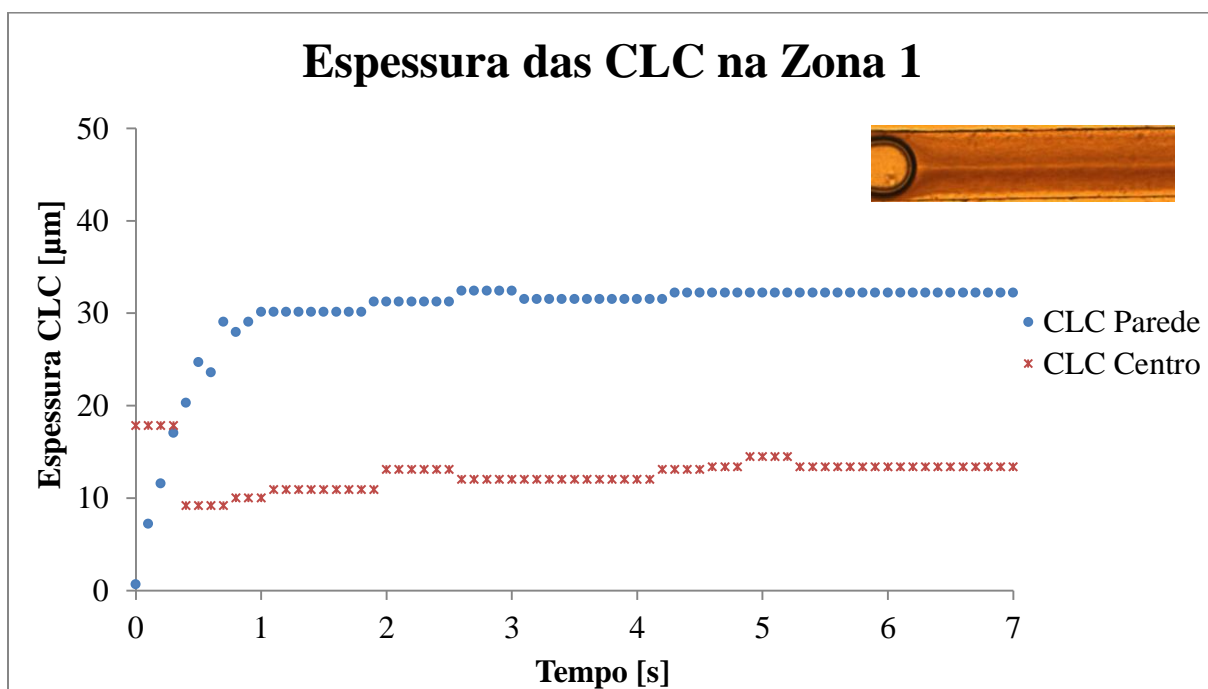


Figura 76 - Gráfico das espessuras das CLC no início do escoamento (Zona 1).

Analisadas as imagens da zona 1, verificou-se que a espessura da CLC junto à parede é superior à espessura da CLC no centro.

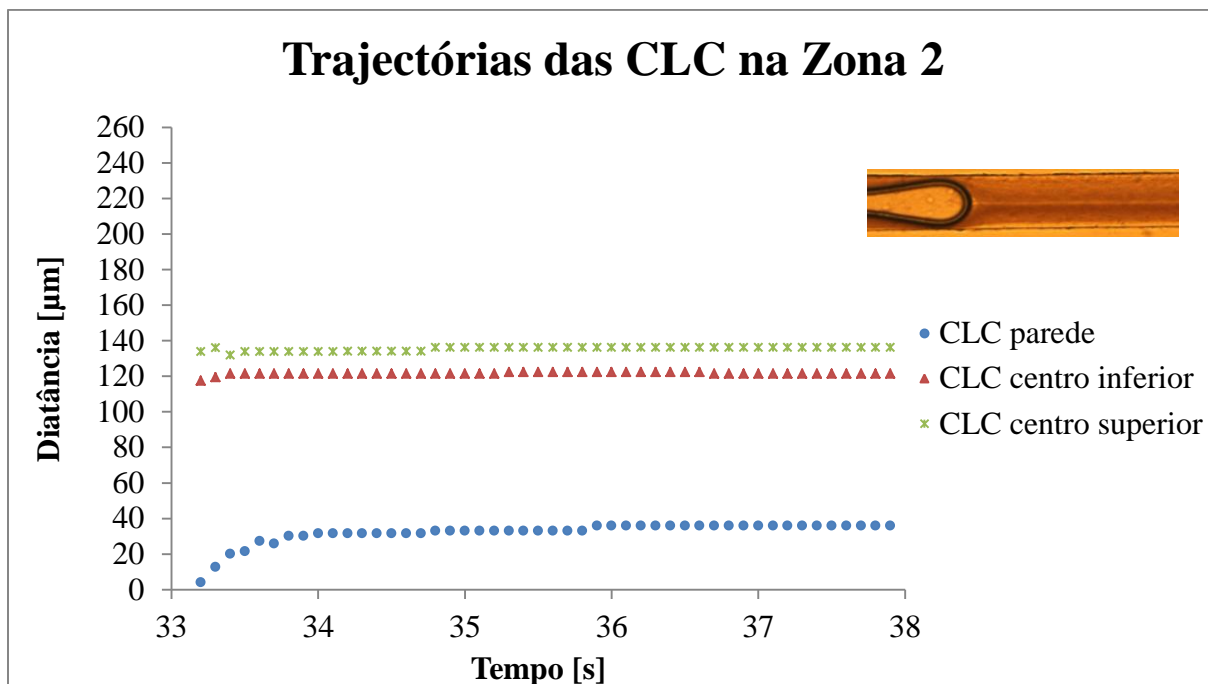


Figura 77 - Gráfico das trajectórias das CLC antes da formação da bolha (Zona 2).

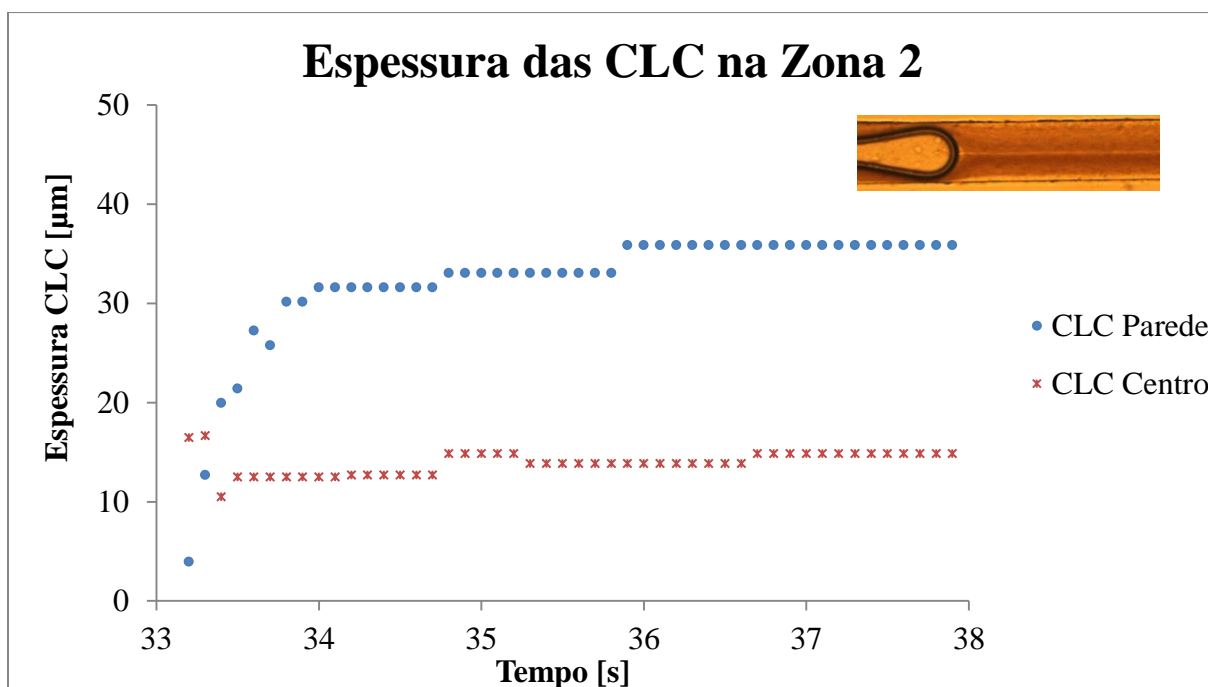


Figura 78 - Gráfico das espessuras das CLC antes da formação da bolha (Zona 2).

Comparando os resultados da zona 2 com os da zona 1, verificou-se que na zona 2 a CLC tem tendência a aumentar. Nesta zona foi possível também observar que a CLC junto à parede é maior que a existente no centro.

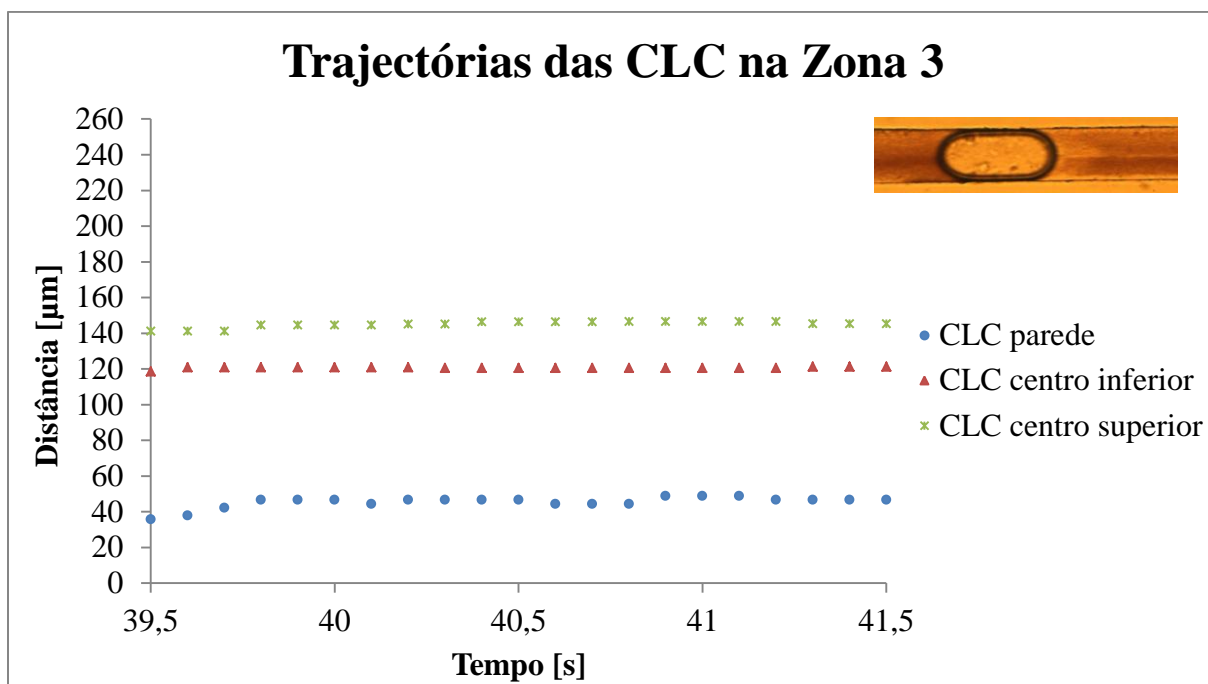


Figura 79 - Gráfico das trajectórias das CLC após da formação da bolha (Zona 3).

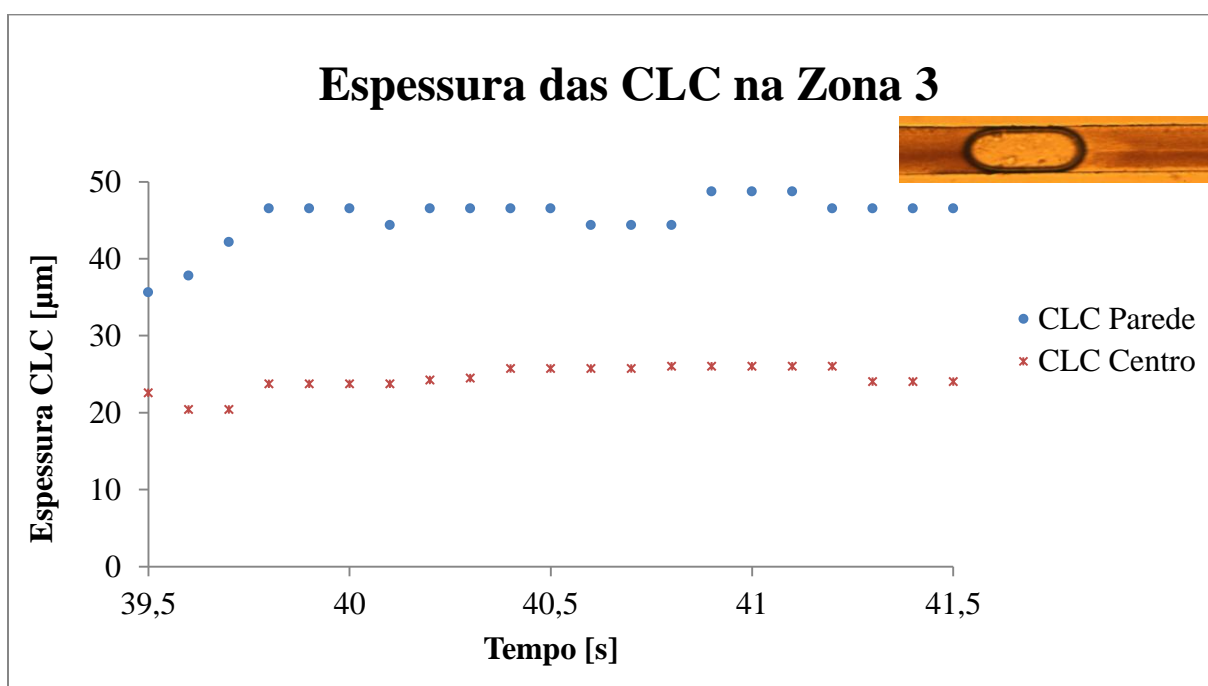


Figura 80 - Gráfico das espessuras das CLC após da formação da bolha (Zona 3).

Na zona 3 foi verificado mais uma vez que a espessura da CLC junto à parede é maior do que a existente no centro.

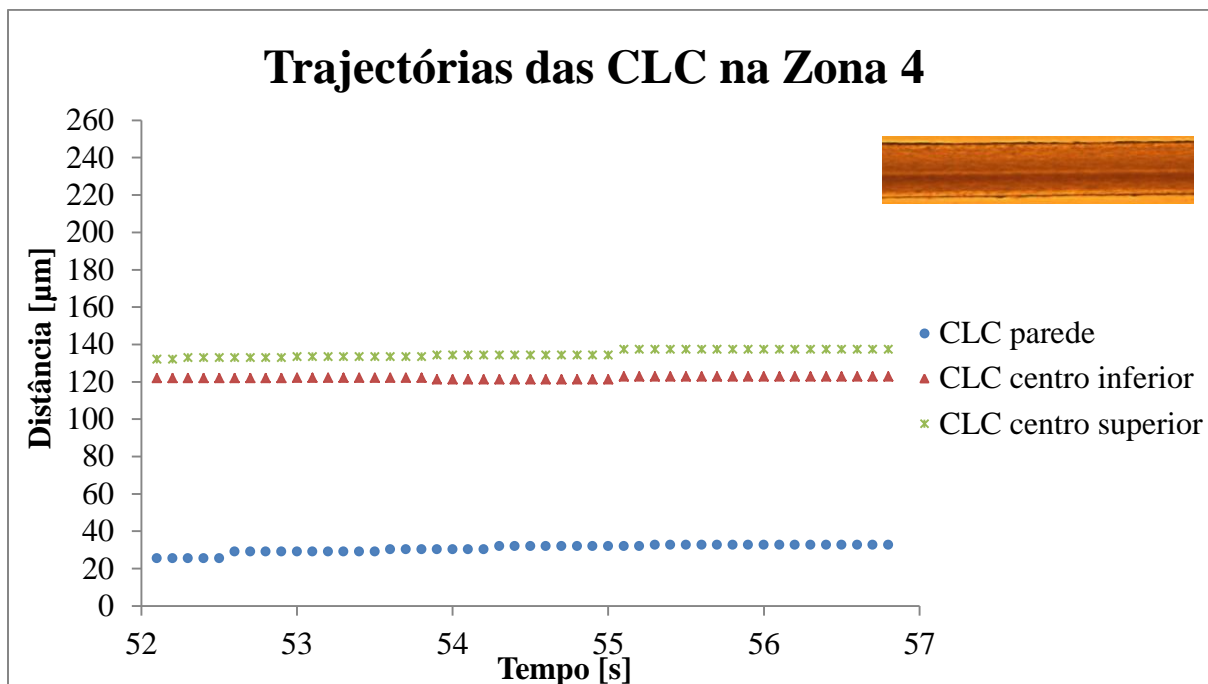


Figura 81 - Gráfico das trajectórias das CLC no fim do escoamento (Zona 4).

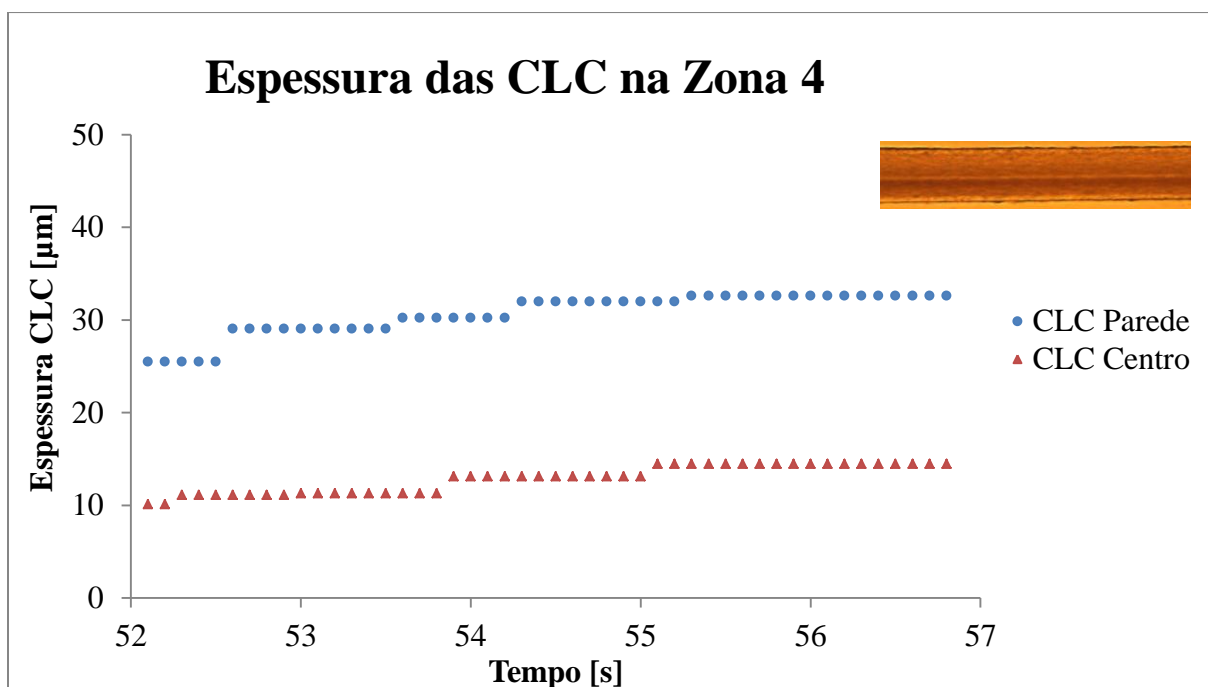


Figura 82 - Gráfico das espessuras das CLC no fim do escoamento (Zona 4).

Na zona 3 que corresponde a um escoamento após a passagem da bolha é possível também observar que a espessura da CLC junto à parede é maior que a do centro.

Na Figura 83 é possível visualizar a trajectória de CLC de todas as zonas estudadas.

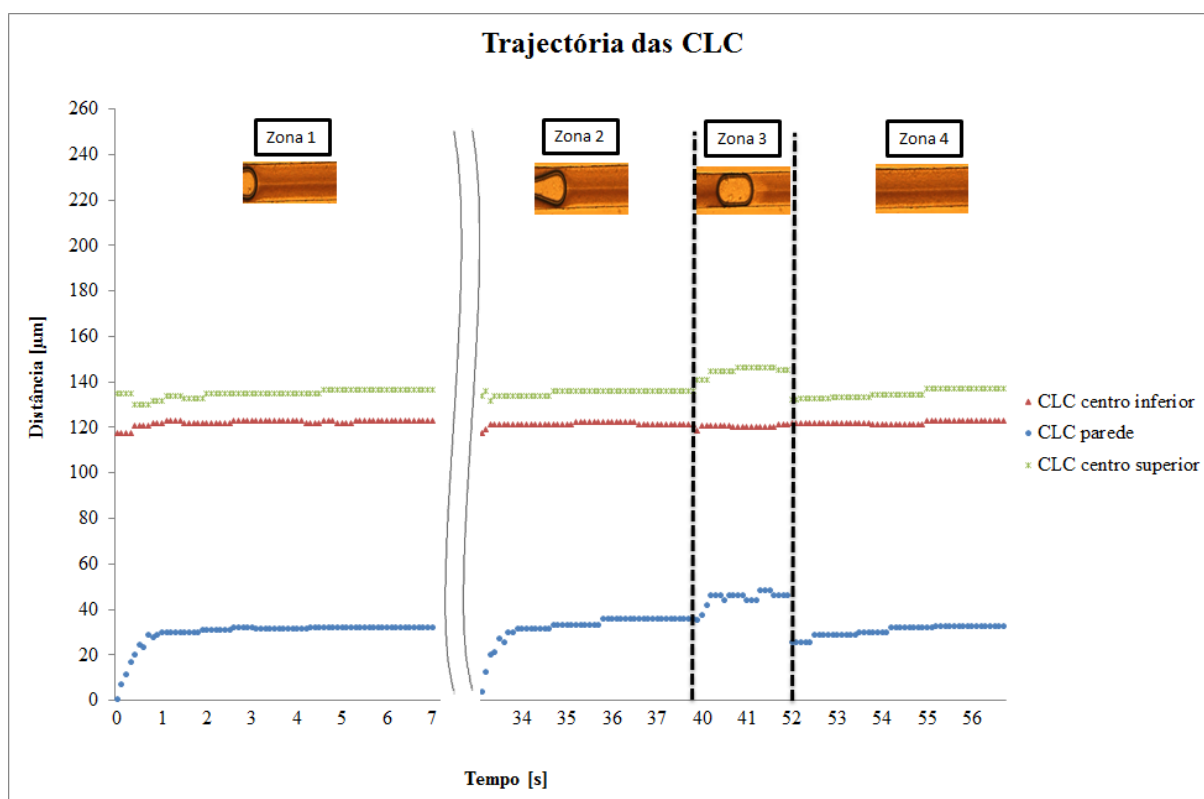


Figura 83 – Trajectória de CLC de todas a zonas estudadas.

Na Figura 84 estão representadas a média das espessuras da CLC, em diferentes tempos, existentes junto à parede e no centro do microcanal.

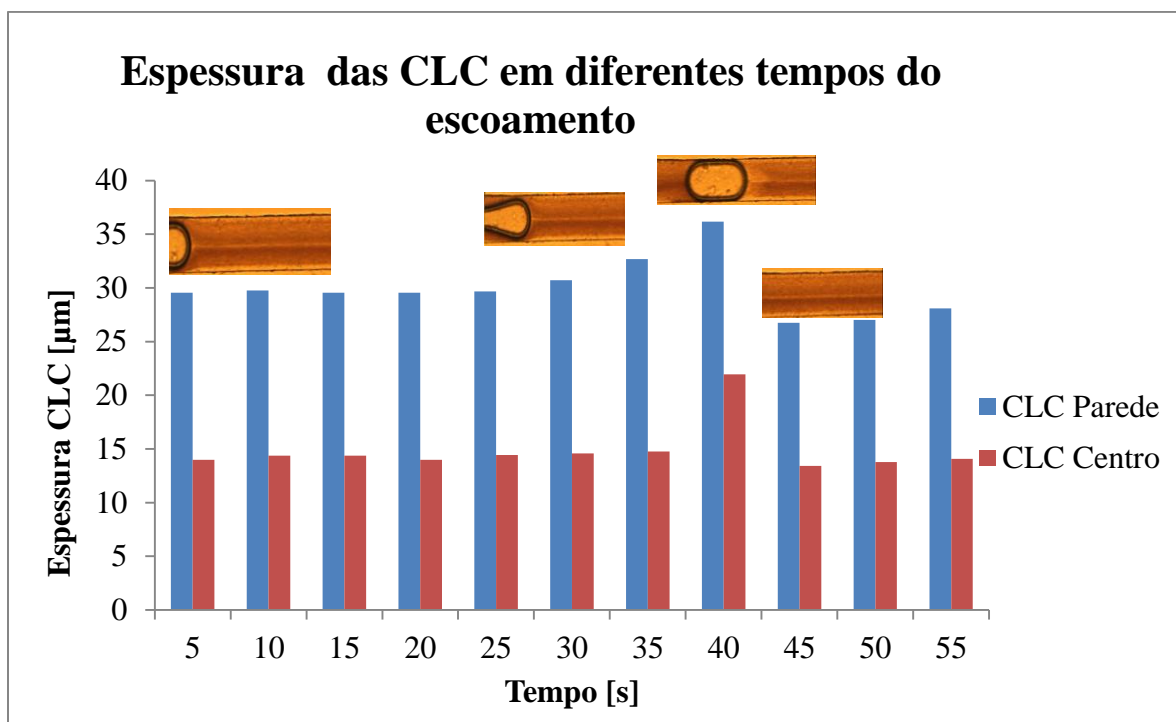


Figura 84 – Espessura da CLC junto à parede e no centro do microcanal.

Os resultados na Figura 84 comprovam que a espessura da CLC junto à parede é sempre superior à CLC existente no centro do microcanal. Adicionalmente os resultados sugerem que onde existe uma maior espessura da CLC é logo após a formação da bolha, sendo a espessura mínima existente após a passagem da bolha. Foi possível também observar que após um determinado tempo e quando a bolha inicia a sua formação a espessura da CLC tem tendência a aumentar até atingir um valor constante.

6.3.4. Índice de deformação

Na Figura 85 está representado um exemplo de uma bolha na passagem de uma zona constituída por uma contracção seguida de uma expansão. Durante o escoamento da bolha pela zona da contracção esta apresenta uma geometria próxima de uma elipse alongada. Após a passagem desta zona para a zona de expansão a bolha apresenta uma geometria circular.

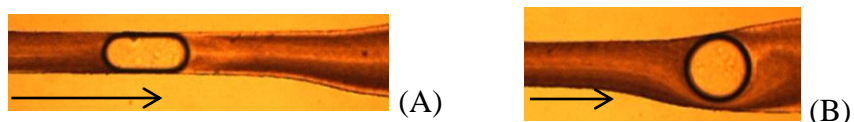


Figura 85 – (A) Bolha na zona de contracção. (B) Bolha na zona de expansão. O Dex40_10%Hct tem um caudal de $3 \mu\text{l}\cdot\text{min}^{-1}$ e o ar 30 mbar (objectiva 4x).

Na Figura 86 estão representadas todas as zonas do microcanal onde foram calculados os índices de deformação (ID).



Figura 86 – Zonas de cálculo do Índice de Deformação

Na Figura 87 está representado o ID de uma única bolha em diferentes zonas ao longo do microcanal. Na Figura 88 estão representados vários ID correspondentes a diferentes bolhas. Por fim, na Figura 89 é apresentado a média dos ID de todas as bolhas estudadas ao longo do microcanal.

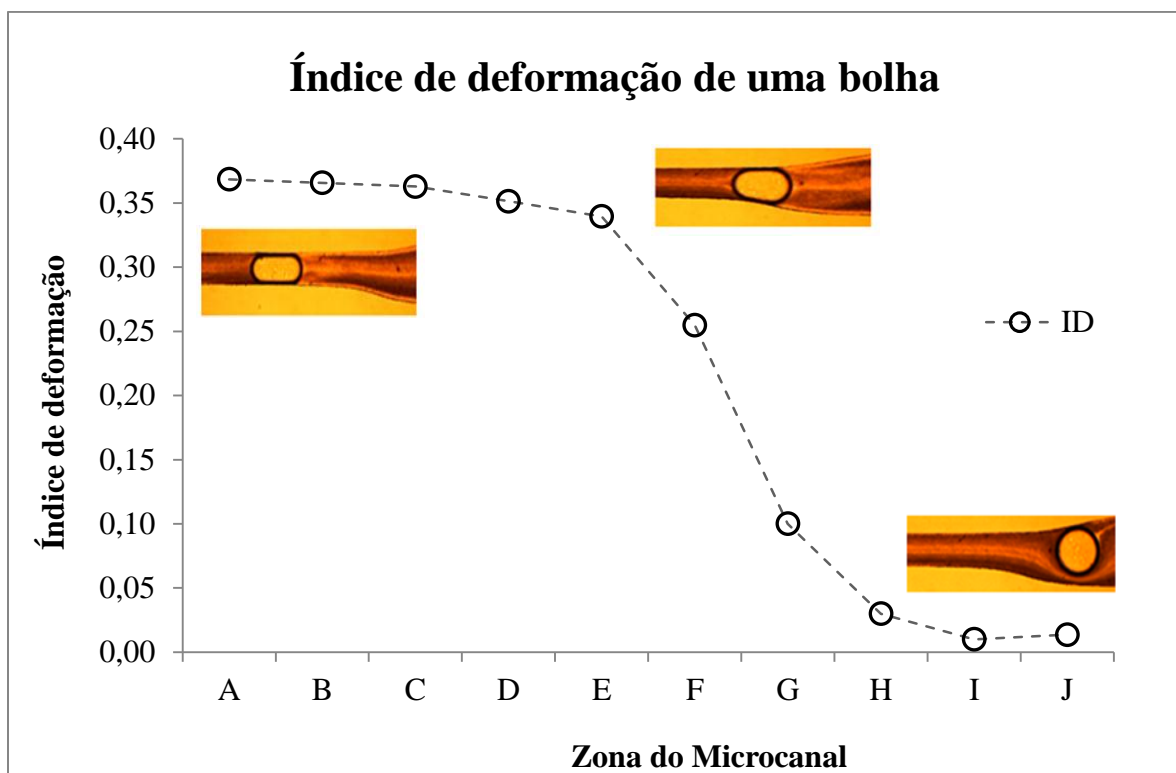


Figura 87- Índice de deformação de uma bolha ao longo do microcanal.

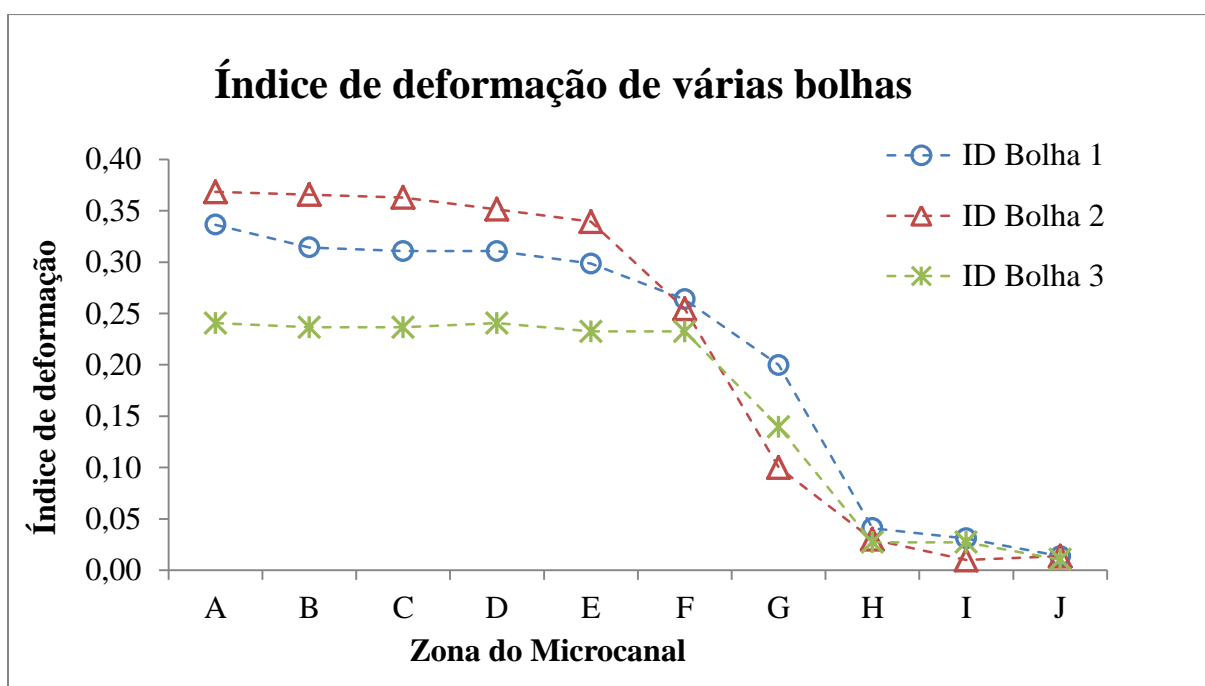


Figura 88 - Índice de deformação de várias bolhas ao longo do microcanal.

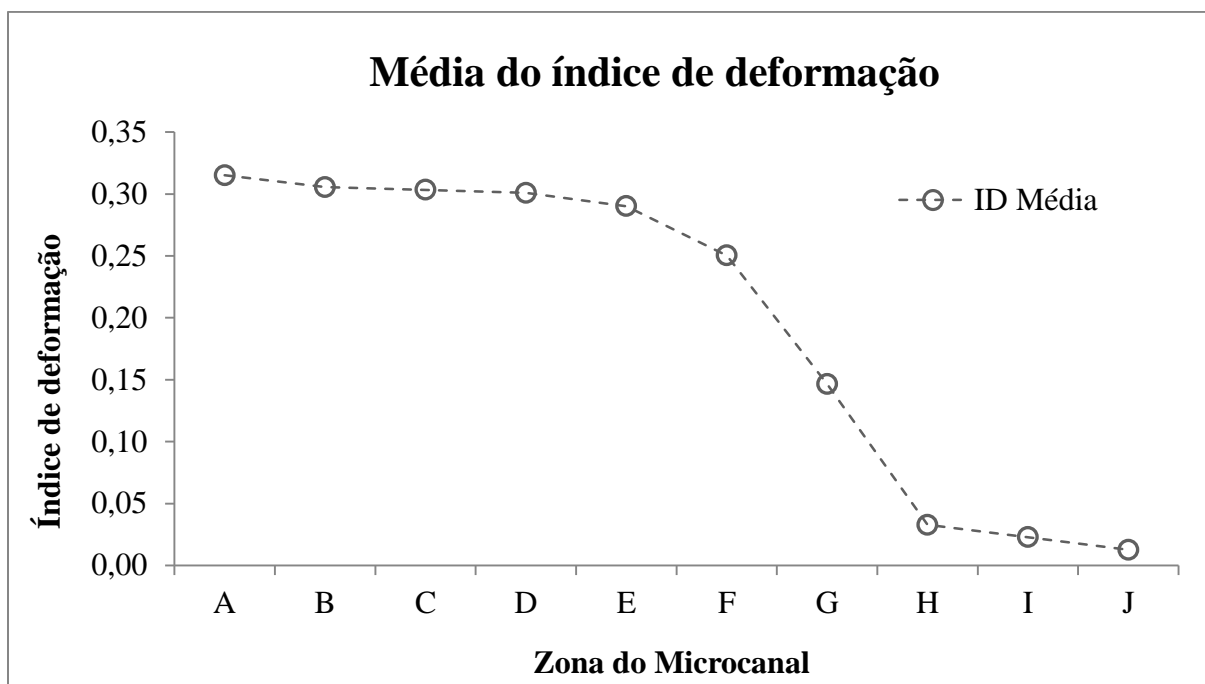


Figura 89 – Média do índice de deformação de várias bolhas ao longo do microcanal.

Analisando as figuras 87 a 89 verificou-se que o ID tem tendência a diminuir ao longo do microcanal, sendo o valor mínimo quando a bolha atinge a zona de expansão. Na contracção do microcanal o ID é o mais elevado devido à forma de elipse alongada da bolha. Após a expansão do microcanal verificou-se que as bolhas tinham tendência a transformar-se da forma de elipse alongada para uma geometria circular e conseqüentemente o ID calculado foi próximo de zero.

Capítulo 7

CONCLUSÃO E TRABALHOS FUTUROS

7.1. Conclusão

Neste trabalho um dos objectivos era a fabricação por xurografia de um dispositivo de PDMS capaz de produzir microbolhas. Um outro objectivo era o de visualizar e analisar o comportamento de microbolhas gasosas a circularem ao longo dos microcanais com o auxílio de um sistema de microscopia.

Produziram-se com sucesso microcanais com diferentes geometrias através de uma técnica de microfabricação de baixo custo, a xurografia. Os microcanais fabricados permitiram a formação de microbolhas e de microgotas, a sua visualização e o seguimento do seu movimento.

Relativamente ao escoamento dos fluidos no interior dos microcanais podemos tirar as seguintes conclusões:

- As gotas e bolhas apresentaram dois tipos de formas, biconvexas e côncava-convexa. Todas elas eram biconvexas, à excepção das bolhas no sistema Ar-Água e Ar-Líquido com partículas em suspensão

- Relativamente às velocidades das gotas/bolhas verificou-se que as velocidades aumentavam com o aumento do caudal e que a velocidade experimental foi superior à esperada (calculada).
- Nos escoamentos realizados com suspensão de GVs verificou-se a formação da CLC junto à parede do microcanal. Também foi possível visualizar a ocorrência do fenómeno da formação de CLC no centro do microcanal.
- A espessura da CLC junto à parede foi superior à CLC existente no centro. Essas espessuras vão aumentando conforme existe a formação de bolhas. A maior espessura da CLC ao longo do escoamento registou-se após a formação da bolha, sendo a espessura mínima após a passagem da bolha.
- O ID era mais elevado na contracção do microcanal devido à forma de elipse alongada da bolha. Quando a bolha passava da contracção para a expansão as bolhas tinham tendência a formar-se numa geometria circular e conseqüentemente o ID calculado era próximo de zero.

7.2. Trabalhos Futuros

Relativamente a trabalhos futuros, este projecto é um trabalho que tem que ser muito mais explorado. Para isso sugiro como trabalhos futuros a fabricação de mais microcanais através da xurografia e também a fabricação de microcanais mais pequenos através da litografia suave. Nesses microcanais fabricados é necessário comparar mais caudais e diferentes hematócritos.

Serão de realizar mais experiências com escoamentos bifásicos com a formação de microgotas/microbolhas, de modo a poder obter mais informação sobre a sua formação, forma e movimento ao longo de microcanais com várias geometrias e, obter valores de velocidade de modo a ser possível obter equações adequadas ao seu cálculo.

Referências Bibliográficas

1. Fu, T.T., Ma, Y.G., Funfschilling, D., Li, H.Z., 2009. Bubble formation and breakup mechanism in a microfluidic flow-focusing device. *Chemical Engineering Science* 64, 2392–2400.
2. Tan, J., Li, S.W., Wang, K., Luo, G.S., 2009. Gas–liquid flow in T-junction microfluidic devices with a new perpendicular rupturing flow route. *Chemical Engineering Journal* 146, 428–433.
3. van der Graaf, S., Steegmans, M.L.J., van der Sman, R.G.M., Schroen, C.G.P.H., Boom, R.M., 2005. Droplet formation in a T-shaped microchannel junction: a model system for membrane emulsification. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects* 266, 106–116.
4. Garstecki, P., Fuerstman, M.J., Stone, H.A., Whitesides, G.M., 2006a. Formation of droplets and bubbles in a microfluidic T-junction—scaling and mechanism of break-up. *Lab on a Chip* 6, 437–446.
5. Christopher, G.F., Anna, S.L., 2007. Microfluidic methods for generating continuous droplet streams. *Journal of Physics D—Applied Physics* 40, R319–R336.
6. Teh, S.Y., Lin, R., Hung, L.H., Lee, A.P., 2008. Droplet microfluidics. *Lab on a Chip* 8, 198–220.
7. Ganan-Calvo, A.M., 2004. Perfectly monodisperse microbubbling by capillary flow focusing: an alternate physical description and universal scaling. *Physical Review E* 69, 027301.
8. N. Dietrich, S. Poncin & Huai Z. Li, *Experimental Investigation of Bubble Formation in Micro-devices*, CHISA 2008, Tchèque, République.
9. Pinhas Ben-Tzvi, Will Rone, *Microdroplet generation in gaseous and liquid environments*, Microsyst Technol, 2010.

10. M.J.F. Ferreira, J.D.P. Araujo, J.M: Miranda, A.M.F.R. Pinto, J.B.L.M. Campos, Investigating the bubble formation in y-shaped microchannles, *Proceedings of the 2nd European Conference on Microfluidics – Microfluidics 2010 – Toulouse*, Dezembro 8-10, 2010.
11. P. B. Umbanhowar, V. Prasad and D. A. Weitz, Monodisperse emulsion generation via drop break off in a coflowing stream, *Langmuir*, 2000, 16, 347–351.
12. A. S. Utada, E. Lorenceau, D. R. Link, P. D. Kaplan, H. A. Stone and D. A. Weitz, Monodisperse double emulsions generated from a microcapillary device, *Science*, 2005, 308, 537–541.
13. H. Song, J. D. Tice and R. F. Ismagilov, A microfluidic system for controlling reaction networks in time, *Angew. Chem., Int. Ed.*, 2003, 42(7), 768–772.
14. Baroud, C.N., F. Gallaire, and R. Dangla, Dynamics of microfluidic droplets. *Lab on a Chip*, 2010. 10(16): p. 2032-2045.
15. Hong, Y.P., Wang, F.J., 2007. Flow rate effect on droplet control in a co-flowing microfluidic device. *Microfluidics and Nanofluidics* 3, 341–346.
16. Hua, J., Stene, J.F., Lin, P., 2008. Numerical simulation of 3D bubbles rising in viscous liquids using a front tracking method. *Journal of Computational Physics* 227, 3358–3382.
17. C. Cramer, P. Fischer and E. J. Windhab, Drop formation in a coflowing ambient fluid, *Chem. Eng. Sci.*, 2004, 59(15), 3045–3058.
18. A. S. Utada, A. Fernandez-Nieves, H. A. Stone and D. A. Weitz, Dripping to jetting transitions in coflowing liquid streams, *Phys. Rev. Lett.*, 2007, 99, 094502.
19. A. S. Utada, A. Fernandez-Nieves, J. M. Gordillo and D. A. Weitz, Absolute instability of a liquid jet in a coflowing stream, *Phys. Rev. Lett.*, 2008, 100, 014502.
20. P. Guillot, A. Colin, A. S. Utada and A. Ajdari, Stability of a jet in confined pressure-driven biphasic flows at low reynolds numbers, *Phys. Rev. Lett.*, 2007, 99, 104502.
21. P. Guillot, A. Colin and A. Ajdari, Stability of a jet in confined pressure-driven biphasic flows at low Reynolds number in various geometries, *Phys. Rev. E*, 2008, 78(1, Part 2).

22. Nisisako, T., Torii, T., Higuchi, T., 2002. Droplet formation in a microchannel network. *Lab on a Chip* 2, 24–26
23. Xu, J.H., Li, S.W., Tan, J., Wang, Y.J., Luo, G.S., 2006c. Preparation of highly monodisperse droplet in a T-junction microfluidic device. *AIChE Journal* 52, 3005–3010.
24. T. Thorsen, R. W. Roberts, F. H. Arnold and S. R. Quake, Dynamic pattern formation in a vesicle-generating microfluidic device, *Phys. Rev. Lett.*, 2001, 86(18), 4163–4166.
25. S. L. Anna, N. Bontoux and H. A. Stone, Formation of dispersions using flow-focusing' in microchannels, *Appl. Phys. Lett.*, 2003, 82(3), 364–366.
26. R. Dreyfus, P. Tabeling and H. Willaime, Ordered and disordered patterns in two phase flows in microchannels, *Phys. Rev. Lett.*, 2003, 90, 144505.
27. Xu, Q.Y., Nakajima, M., 2004. The generation of highly monodisperse droplets through the breakup of hydrodynamically focused microthread in a microfluidic device. *Applied Physics Letters* 85, 3726–3728.
28. Yobas, L., Martens, S., Ong, W.L., Ranganathan, N., 2006. High-performance flowfocusing geometry for spontaneous generation of monodispersed droplets. *Lab on a Chip* 6, 1073–1079.
29. P. Garstecki, H. A. Stone and G. M. Whitesides, Mechanism for flow-rate controlled breakup in confined geometries. A route to monodisperse emulsions, *Phys. Rev. Lett.*, 2005, 94, 164501.
30. B. Dollet, W. van Hoeve, J. P. Raven, P. Marmottant and M. Versluis, Role of the channel geometry on the bubble pinch-off in flow-focusing devices, *Phys. Rev. Lett.*, 2008, 100(3), 034504.
31. Y.-C. Tan, J. S. Fisher, A. I. Lee, V. Cristini and A. P. Lee, Design of microfluidic channel geometries for the control of droplet volume, chemical concentration, and sorting, *Lab Chip*, 2004, 4, 292–298.
32. Kai Wang, Lisi Xie, Yangcheng Lu, Guangsheng Luo, Generating microbubbles in a co-flowing microfluidic device, *Chemical Engineering Science*, 2013.
33. Williams PL, Warwick R. *Gray's Anatomy*. 38th Edition. Edinburgh: Churchill Livingstone; 1995. p. 1452 – 1503.

34. Sousa, Maria Helena L.; Elias, Decio O.; “Fundamentos da Circulação Excorpórea”. 2ª Edição. Rio de Janeiro: Centro editorial Alfa Rio, 2006.
35. Carneiro, J., Junqueira, L., Histologia Básica, 11ª ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2008.
36. Rui Lima, Ricardo Dias, “Apontamentos de Biomecânica Cardiovascular”, IPB, 2010.
37. Carlos Motta, Rómulo Fialdina e Mara Gama, “Carlos Motta”, SENAC, 2004.
38. Sequeira, A., "Introdução à Matemática do Sistema Cardiovascular," in Seminário DM/IST, Lisboa, 2009.
39. Bibliomed, Embolias Gasosas, <http://www.bibliomed.com.br/lib/showdoc.cfm?LibDocID=15717>.
40. Miguel A. Sala, Distúrbios circulatórios, Ribeirão Preto 2006.
41. Muth, Claus M. e Shank, Erik S. Gas Embolism, The New England Journal of Medicine, 2000.
42. Ziser A, Adir Y, Lavon H, Shupak A. Hyperbaric oxygen therapy for massive arterial air embolism during cardiac operations. J Thorac Cardiovasc Surg 1999; 117:818-21.
43. Neto, A.C., Meyer, F.C. Embolia Gasosa. In: Knobel, E. Conduitas no Paciente Grave, São Paulo, Editora Atheneu, 1988, 2 ed., p. 847-853.
44. Orebaygh, S.L, Grenvik, A. Air Embolization. In: Shoemaker W.C. (ed.) Textbook Of Critical Care, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1995, 3rd ed, p 617-627.
45. <http://www.medicinageriatrica.com.br/tag/embolia-gasosa-arterial/>, consultado em Novembro de 2013.
46. <http://copd.about.com/od/copd/ig/Lung-Transplant/12703.htm>, consultado em Novembro de 2013.
47. Palmon SC, Moore LE, Lundberg J, Toung T. Venous air embolism: a review. J Clin Anesth 1997;9:251-7.
48. Gardette B. Correlation between decompression sickness and circulating, bubbles in 232 divers, Undersea Biomed Res 1979;&99-107.

49. Christensen DW, Faught WE, Black RE, Woodward GA, Timmons OD. Fatal oxygen embolization after hydrogen peroxide ingestion. *Crit Care Med* 1992; 20:543-4.
50. Abemathy CM, Dickinson TC. Massive air emboli from intravenous infusion pump: etiology and prevention. *Am J Surg* 1979; 137:274-5.
51. Baskin SE, Wozniak RF. Hyperbaric oxygenation in the treatment of hemodialysis-associated air embolism. *NewEngl J Med* 1975;293:184-5.
52. Vesely TM. Air embolism during insertion of central venous catheters. *Journal of Vascular & Interventional Radiology* 2001; 12:1291-5.
53. Peirce EC, 2d. Specific therapy for arterial air embolism. *Ann Thorac Surg* 1980; 29:300-3.
54. Raju GS, Bendixen BH, Khan J, Summers RW. Cerebrovascular accident during endoscopy - consider cerebral air embolism, a rapidly reversible event with hyperbaric oxygen therapy. *Gastrointest Endosc* 1998; 47:70-3.
55. Bassan MM, Dudai M, Shalev O. Near-fatal systemic oxygen embolism due to wound irrigation with hydrogen peroxide. *Postgrad Med J* 1982; 58:448-50.
56. Faure EAM, Cook RI, Miles D. Air embolism during anesthesia for shoulder arthroscopy. *Anesthesiology* 1998; 89:805-6.
57. Cottin V, Delafosse B, Viale JP. Gas embolism during laparoscopy: a report of seven cases in patients with previous abdominal surgical history. *Surg Endosc* 1996; 10:166-9.
58. <http://www.doe-vida.com/cuide-se/saude-na-hemodialise/perguntas-e-respostas-sobre-dialise,-tratamento-e-indica%C3%A7%C3%B5es-/>, consultado em Novembro de 2013.
59. <http://www.sanlucas.cl/v3/A1-paciente/Acceso-vascular/definicion.htm>, onultado em Novembro de 2013.
60. William C. Shiel, Jr., MD, FACP, FACR, Melissa Conrad Stöppler, MD. *Webster's New World™ Medical Dictionary*, 3rd Edition. New jersey, 2008.
61. R. Lima, T. Ishikawa, Y. Imai, and T. Yamaguchi, Blood flow behavior in microchannels: Past, current and future trends., *Single and two-Phase Flows on Chemical and Biomedical Engineering*, Bentham Science, 513-547, 2012.

62. Caro C, Pedley T, Schroter R, Seed W. The mechanics of the circulation. USA: Oxford University Press 1978.
63. Burton A. Physiology and biophysics of the circulation. Chicago: Year Book Medical Publishers 1966.
64. Waite L. Biofluid mechanics in cardiovascular systems, USA: McGraw-Hill 2005.
65. S. Rosa, Sebenta teórica de biofluidos., ESTiG – IPB.
66. Pinho, F.T.; Alguns conceitos basicos de Hemodinamica; Biomecanica do Corpo Humano. MIB, Departamento de Engenharia Mecanica, MIEM, Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2009.
67. Parthasarathi A., Japee S., Pittman R., Determination of red blood cell velocity by video shuttering and image analysis. Annals of Biomedical Engineering 1999, 27: 313-32.
68. Chien, S., Usami, S., Skalak, R., Blood flow in small tubes In: Handbook of Physiology – The cardiovascular system IV, 1984, pp.217-249.
69. Maeda, N., Erythrocyte rheology in microcirculation. Japanese Journal of Physiology 1996, 46: 114.
70. Pries, A., Neuhaus, D., Gaehtgens P., Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit, Am J Physiol, Vol. 263, (1992), pp: 1770-1778.
71. Cristina Teixeira, Sebenta de Anatomo-Histo-Fisiologia, IPB, (2008).
72. Silva., J., A., M., Factores intervenientes no controlo da microcirculação e da oxigenação tecidual In: O médico, Vol.82, (1997), pp: 397-408.
73. João A. Martins e Silva, Factores intervenientes não Controlo da microcirculação e da Oxigenação tecidual. Instituto de Química Fisiológica. Faculdade Medicina de Lisboa.
74. Dellmann – Brown; Histologia Veterinária. Acribia Zaragoza Editorial (Espana), 1980. Soft Cover. ISBN:8420004421.
75. Cristina Teixeira, “Sebenta de Anatomo-Histo-Fisiologia I”, IPB, 2010.
76. Gojo, Riho, Morimoto, Yuya e Takeuchi, Shoji. Quick and Easy Fabrication of Microfluidic Channels With Watersoluble Molds. San Diego : Twelfth

- International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, 2008.
77. Rui Lima, “Apontamentos de Micro/Nanotecnologia e Aplicações Biomédicas”, IPB, 2012.
 78. Santana, Phillipe Pessoa de, Oliveira, Ione Maria Ferreira de e Piccin, Evandro. Evaluation of using xurography as a new technique for the fabrication of disposable gold electrodes with highly reproducible areas. s.l. : Electrochemistry Communications, 2011, Electrochemistry Communications.
 79. Bokhort, E. Microfluidic Flow in Parous Medium Analogues. 2010. Integrated Master in Chemical Eng., FEUP, Porto Univ.
 80. Giammitsis, Athanasios T. Microfabrication of biomedical lab-on-chip devices. Estonia: Department of Electronics, Tallinn University of Technology, 2011.
 81. Fung Y. Biomechanics – Circulation. 2nd ed. New York: Springer-Verlag 1997.
 82. <http://educar.sc.usp.br/optica/lente.htm>, consultado em Novembro de 2013
 83. T. Yaginuma, M. S. N. Oliveira, R. Lima, T. Ishikawa, and T. Yamaguchi, Human red blood cell behavior under homogeneous extensional flow in a hyperbolic-shaped microchannel, *Biomicrofluidics*, 2013.
 84. T. Yaginuma, M. S. N. Oliveira, R. Lima, T. Ishikawa, and T. Yamaguchi, Red blood ceel deformation in flow throug a PDMS hyperbolic microchannel, *NSTI-Nanotech*, 2011.
 85. Valdemar Garcia, “Oxigenação em borbulhadores verticais e inclinados”, FEUP, 2005
 86. Bumseok Namgung, Leo Hwa Liang, Sangho Kim, Physiological Significance of Cell-Free Layer and Experimental Determination of its Width in Microcirculatory Vessels, 2013.
 87. Vladimir Leble, Rui Lima, Ricardo Dias, Carla Fernandes, Takuji Ishikawa, Asymmetry of red blood cell motions in a microchannel with a diverging and converging bifurcation, *Biomicrofluidics*, 2011.
 88. Valdemar Garcia, Ricardo Dias, Rui Lima, In Vitro Blood Flow Behaviour in Microchannels with Simple and Complex Geometries, *Applied Biological Engineering – Principles and Practice*.