UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Faculdade de Engenharia Mecânica

CAMILA LUNA DE CAMARGO

Turbulência em microfluídica: microfabricação, caracterização e aplicação

CAMPINAS
2019

CAMILA LUNA DE CAMARGO

Turbulência em Microfluídica: microfabricação, caracterização e aplicação

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Engenharia Mecânica da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Mestra em Engenharia Mecânica, na Área de Materiais e Processos de Fabricação.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Akira D'Ávila
Coorientador: Prof. Dr. Renato Sousa Lima

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DEFENDIDA PELO(A) ALUNO(A) CAMILA LUNA DE CAMARGO, E ORIENTADA PELO(A) PROF(A). DR(A) MARCOS AKIRA D'ÁVILA.

CAMPINAS
2019

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Área de Engenharia e Arquitetura
Rose Meire da Silva - CRB 8/5974

C14t

Camargo, Camila Luna de, 1993-
Turbuência em microfluídica : microfabricação, caracterização e aplicação / Camila Luna de Camargo. – Campinas, SP : [s.n.], 2019.

Orientador: Marcos Akira D'Ávila.
Coorientador: Renato Sousa Lima.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Mecânica.

1. Microfluídica. 2. Reynolds, Números de. 3. Mistura (Química). 4. Microemulsão. 5. Extração líquido-líquido. I. D'Ávila, Marcos Akira, 1972-. II. Lima, Renato Sousa. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Mecânica. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Turbulence in microfluidics : microfabrication, characterization and application
Palavras-chave em inglês:
Microfluidics
Reynolds, number
Mixture (Chemistry)
Microemulsion
Liquid-liquid extraction
Área de concentração: Materiais e Processos de Fabricação
Titulação: Mestra em Engenharia Mecânica
Banca examinadora:
Marcos Akira D'ávila
Flávio Makoto Schimizu
Eric Fujiwara
Data de defesa: 07-05-2019
Programa de Pós-Graduação: Engenharia Mecânica

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)
- ORCID do autor: https://orcid.org/0000-0001-9020-1620
- Currículo Lattes do autor: http://lattes.cnpq.br/8426754537698440

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ENGENHARIA MECÂNICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO ACADÊMICO

Turbulência em Microfluídica: microfabricação, caracterização e aplicação

Autor: Camila Luna de Camargo
Orientador: Prof. Dr. Marcos Akira d'Ávila
Coorientador: Prof. Dr. Renato Sousa Lima

A Banca Examinadora composta pelos membros abaixo aprovou esta Dissertação:

Prof. Dr. Marcos Akira D'Avila Presidente
Departamento de Engenharia de Manufatura e Materiais / Engenharia Mecânica / Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Eric Fujiwara
Departamento de Sistemas Integrados / Engenharia Mecânica / Universidade Estadual de Campinas

Prof. Dr. Flávio Makoto Schimizu
Laboratório de Microfabricação / Laboratório Nacional de Nanotecnologia / Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no processo de vida acadêmica da aluna.

Campinas, 7 de Maio de 2019.

Dedicatória

Para o meu amado Diego por toda paciência e amor,
meus pais Marisa e Celio pela confiança e apoio em todos os momentos,
meu irmão Rafael por compreender minha ausência e aos demais familiares
por se fazerem presentes mesmo distantes.

Agradecimentos

À **Deus** e a **Nossa Senhora Aparecida**, por sempre me conceder sabedoria nas escolhas dos melhores caminhos, coragem para acreditar, força para não desistir e proteção para me amparar.

A meus pais, **Celio** e **Marisa**, meu infinito agradecimento. Obrigado por estarem sempre ao meu lado, me apoiando e acreditando em minha capacidade. Obrigado por me ensinarem a não querer ser a MELHOR, mas me fazerem dar o MELHOR de mim sempre!

Ao meu querido esposo, **Diego**, por ser tão importante na minha vida. Devido a seu companheirismo, amizade, paciência, compreensão, apoio, alegria e amor, este trabalho pôde ser concretizado.

Ao meu irmão, **Rafael**, meu agradecimento, pois, a seu modo sempre se orgulhou de mim e compreendeu o motivo da minha ausência.

A meus **tios**, **tias, primos, primas**, e **avós**, pelo amor, apoio, confiança e motivação incondicional.

Agradeço aos meus orientadores, **Marcos** e **Renato**, pela confiança, ensinamentos e puxões de orelha. Toda esta trajetória contribuiu para a minha formação profissional, e principalmente para o meu desenvolvimento pessoal. Obrigado pela oportunidade!

Agradeço também a toda equipe do **LMF**, principalmente ao **Angelo**, pelo acolhimento, ensinamentos, conversas e por todo o auxílio durante o desenvolvimento deste trabalho. Sou muito grata!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

Agradeço ao **LNNano**-**CNPEM** e a **FEM-UNICAMP** por todo suporte e infraestrutura fornecido.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou
sobre aquilo que todo mundo vê. ”
(Arthur Schopenhauer)

RESUMO

Palavras Chave: Microfluídica, Reynolds, Mistura, Microemulsão, Extração líquido-líquido.

Esta dissertação de mestrado descreve a fabricação de dispositivos microfluídicos capazes de suportar as vazões necessárias para a formação de turbulência em microcanais, e explora a capacidade destes dispositivos em solucionar um desafio crítico da microfluídica moderna, a capacidade de mistura. Para tal, os dispositivos microfluídicos foram fabricados pelo método de polimerização e remoção de *scaffold*, que resulta em dispositivos de peças únicas, sem quaisquer interfaces. Poli(dimetilsiloxano) (PDMS) e resina epóxi a base de bisfenol A (BPA) foram utilizadas como matriz para confecção dos dispositivos. Enquanto que o PDMS é amplamente empregado pela área de microfluídica, a resina epóxi BPA foi utilizada sem precedentes. A abordagem adotada para fabricação dos dispositivos exibiu uma rotina experimental simples (requer basicamente uma estufa), barata (livre do uso de 'sala limpa') e rápida. A técnica é baseada genericamente em duas etapas: polimerização e remoção de *scaffold*. Desse modo, os dispositivos apresentaram altas forças de adesão, suportando as vazões necessárias para formação de turbulência. Três testes avaliaram a performance dos dispositivos em gerar misturas homogêneas assistidas por vazões elevadas. Os experimentos incluíram: reação colorimétrica, química e microemulsificação. Os resultados gerados nos experimentos foram avaliados em função do número de Reynolds e do percentual de eficiência de mistura. Nos três casos, os resultados demonstraram que misturas homogêneas só foram alcançadas em regime turbulento e que uma eficiência de mistura ótima só é alcançada na presença deste regime. Tal fato, demonstra que o fenômeno de turbulência em microcanais não ocorre isoladamente. Isso demonstra uma nova ferramenta para avaliação do escoamento turbulento em microcanais, tornando-a imprescindível para futuros estudos. A relevância do escoamento turbulento em microcanais foi demostrada pelo método baseado em microemulsificação que determinou o teor de álcool em bebidas alcoólicas comerciais e pela extração líquido-líquido de monoetilenoglicol em amostras de condensado de gás natural. Ademais, caracterizações dos microcanais, teste de deformação elástica e resistência química são mostrados. Os resultados obtidos demonstram que o dispositivo é capaz de resolver limitações relevantes da microfluídica moderna, das quais incluem a formação de escoamento turbulento em microcanais e alto desempenho de mistura.

ABSTRACT

Key Word: Microfluidics, Reynolds, Mixture, Microemulsion, Liquid-liquid extraction.

This work describes the fabrication of microfluidic devices capable for resisting the flow rates required to form turbulence in microchannels, and explores the ability of these devices to solve a critical challenge of modern microfluidic, the mixer ability. The microfluidic devices were fabricated by the polymerization and scaffold removal (PSR) method, which results in a single piece device without any interfaces. Polydimethylsiloxane (PDMS) and epoxy resin based on bisphenol A (BPA) were used as a matrix for the devices fabrication. PDMS is widely used in the field of microfluidics, however, BPA epoxy resin has been used unprecedented. The approach used for the devices fabrication exhibited a simple (free of cleanroom use), cheap and fast experimental routine. The PSR method is based on two steps: polymerization and scaffold removal. In this sense, the devices presented high adhesion forces, supporting the necessary flow rates for turbulence formation. Three tests were performed to evaluate the performance of the devices for generating homogeneous mixtures assisted by high flow rates. These experiments included colorimetric and chemical reaction as well as microemulsification. The results obtained in the experiments were evaluated as a function of the Reynolds number and the percentage of mixing efficiency. These results demonstrated that homogeneous mixtures were only reached under turbulent regime. Furthermore, an optimum mixing efficiency is only achieved in the presence of this regime. This fact demonstrates that the phenomenon of turbulence in microchannels does not occur separately. Therefore, it was verified a new tool to evaluate the turbulent flow in microchannels, making it essential for future studies. The relevance of turbulent flow in microchannels was demonstrated by the microemulsification based method to determine the alcohol content in commercial alcoholic beverages and the liquid-liquid extraction of monoethyleneglycol using samples of condensate natural gas. Additionally, the characterization of the microchannels, elastic deformation test and chemical resistance are studied. Finally, the fabricated devices in this work are able to solve the relevant limitations involving modern microfluidics field, which include the formation of turbulent flow in microchannels and high mixing performance.

Lista de Ilustrações

Figura 1: Perfis de mistura entre água **DI** e corante alimentar azul são demonstradas em função da variação de **Re** e **Pe** em um microcanal. Da esquerda para a direita, têm-se as imagens da entrada e saída do dispositivo, respectivamente. **(a)** Fluxo escoa laminarmente ao longo de toda secção do canal e nenhuma mistura pode ser visualizada; **(b)** A mistura foi iniciada assim que os fluidos se encontraram na interseção do canal em Y, logo uma mistura completa foi obtida. Isso sugere que a mistura entre os dois líquidos ocorre principalmente por fluxos transversais criados por turbulência. Barra de erro = 150 μm. Figura extraída e adaptada (YOU, Jae Bem et al., 2015). 29

Figura 2: Misturadores ativos acionados por campo magnético. **(a)** Imagens representativas do dispositivo microfluídico acionado por agitação magnética de micro e nanobarras de óxido de ferro em suspensão (as linhas tracejadas demarcam o padrão de mistura entre os dois solutos (corante azul de fenol e ácido cítrico) e a aparência alaranjada representa a mistura). **(b)** Imagem **SEM** de um agitador magnético - um campo magnético rotativo faz com que a barra do agitador magnético gire rapidamente no ambiente fluido propiciando a mistura (altura total do agitador é de 25 μm com uma espaçamento de 0,5 μm entre o rotor e o substrato). Figuras extraídas e adaptadas (CHANG, Ming et al., 2017; LU, Liang-Hsuan; RYU, Kee Sulk; LIU, Chang, 2001). 31

Figura 3: Dispositivo microfluídico de mistura acionado por campo acústico. **(a)** Ilustração da configuração experimental. **(b)** Caracterização do processo de mistura entre corante fluorescente e fosfato tampão salino com Triton - X100 em função do tempo (frequência de 5 kHz e tensão de acionamento de 28 **V**). Figura extraída e adaptada (CHEN, Huaying et al., 2017). 32

Figura 4: Comportamento de misturas perante o acionamento de corrente alternada. **(a)** Esquema da configuração do chip microfluídico; **(b)** Sem a ação de **AC** - o escoamento é laminar e quase não há mistura; **(c)** Sob baixa **AC** a mistura é levemente melhorada; **(d)** A mistura torna-se extremamente rápida mesmo perto da entrada dos canais, mas não há uma mistura total; **(e)** O fluxo parece sofrer uma transição repentina do movimento laminar para o turbulento, uma vez que os dois fluxos convergem; **(f)** Formação de vórtices. Figura extraída e adaptada (WANG, G. R; YANG, Fang; ZHAO, Wei, 2014). 34

Figura 5:Linhas de trajetória de fluidos e perfil de mistura ao longo de um misturador do tipo T, sob diferentes valores de **Re**. **(a)**, **(b)** e **(c)** correspondem a Re = 12, 80 e 240, respectivamente. Embora os diferentes **Re** estejam na faixa de escoamento laminar, há um aumento no desenvolvimento de vórtices com números o aumento do **Re** e, consequentemente, uma melhor eficiência de mistura. Imagem extraída (SOLEYMANI, A.; KOLEHMAINEN, E.; TURUNEN, I; 2007). 36

Figura 6: Design e características de mistura de misturadores interdigitados baseados no efeito de laminação. Da direita para a esquerda, tem-se geometria retangular, triangular, *slit-shaped* e super foco, respectivamente. A parte inferior da imagem é referente aos resultados de mistura de água **DI** e solução azul obtidos para cada geometria. Figura extraída e adaptada (HESSEL, V. et al., 2003). 37

Figura 7: Misturadores passivos baseados na geração de gotículas. **(a)** Ilustração do processo de geração de misturas em dispositivos microfluídicos baseados em gotículas. **(b)** Figura esquemática do projeto do dispositivo microfluídico baseado em válvulas, incluindo três partes: geradores de gotículas, unidades de fusão ativas e canal de mistura. Em destaque mostra-se o processo de mistura resultante. Imagens adaptadas (SONG, Helen; TICE, Joshua; ISMAGILOV, Rustem, 2003; GUO, Zhi-Xiao et al., 2011). 38
Figura 8:Dispositivo com geometria em Y, composto por uma série de estruturas pontiagudas internas. **(a)** Diagrama esquemático das estruturas internas do microcanal. **(b)** Resultados experimentais de mistura de dois líquidos (água e corante) sob diferentes condições de vazões e **Re** (Canal 1). Figura extraída e adaptada (FAN, Liang Liang et al., 2017). 39
Figura 9: Misturador passivo estriado **(a)** Ilustração esquemática das geometrias de canais estudadas sendo a, b, e c, canal sem estriação, com uma, três e quatro paredes estriadas, respectivamente; **(b)** Imagem de **SEM** da seção transversal de um canal estriado; **(c)** Imagens de microscópio confocal para seções transversais dos microcanais fabricados (a vazão total aplicada em cada dispositivo foi de 40 µl min^{-1}). Figura extraida e adaptada (FARSHCHIAN, Bahador et al., 2017)..... 40
Figura 10: Comparação dos resultados de mistura obtidos para um misturador em Y (baseado em laminação) e para o misturador com geometria XH **(SAR). (a)** Geometria dos misturadores e resultado de simulação numérica para perfil de mistura. **(b)** Resultados experimentais de mistura em função de diferentes **Re**. Figura extraída e adaptada (FENG, Xiangsong; REN, Yokun; JIANG, Hongyuan, 2013)..... 41
Figura 11: Desempenho de mistura de um dispositivo com geometria complexa em forma de uma lemniscata com rosca. **(a)** Da esquerda para a direita, tem-se o scaffold do canal, obtido por manufatura aditiva, e o dispositivo pronto, após a cura do **PDMS** e remoção do scaffold. **(b)** Estudo de mistura e resultados obtidos experimentalmente e computacionalmente para o dispositivo com geometria simples de lemniscata e o com rosca. Figura extraída e adaptada (RAFEIE, Mehdi et al., 2017). 42
Figura 12: Dispositivo microfluídico operado a vazões excessivamente altas. **(a)** Representação esquemática do dispositivo microfabricado, cuja secção transversal é de 150 µm × 150 µm e comprimento de 1,5 cm. **(b)** Perfis de intensidade de mistura obtidos experimentalmente e computacionalmente na condição de vazão de 40 mL min^{-1}. Barra de erro = 150 µm **(c)** Distribuição de tamanho da emulsão preparada por mistura em batelada (superior esquerdo) e pelo misturador microfluídico operado em vazões totais de 2 mL min^{-1} (superior direito), 10 mL min^{-1} (inferior esquerdo) e 40 mL min^{-1} (canto inferior direito). Barra de erro = 100 µm Figura extraída e adaptada (YOU, Jae Bem et al., 2015). 43
Figura 13:Dispositivo microfluídico turbulento de parede macia. **(a)** Representação esquemática da configuração do dispositivo. **(b)** Imagens do teste de mistura com corante para o microcanal com 100 µm de altura. Da esquerda para direita, tem-se as regiões de entrada, meio e saída do microcanal. As imagens da primeira fileira, segunda e terceira correspondem a Re de 133, 266 e 300, respectivamente. Figura extraída e adaptada (KUMARAN, V; BANDARU, P; 2016)..... 45
Figura 14: Rotina experimental do **MEC** considerando a região B do sistema de Winsor (50 % de **A** e 50 % **O**). **(a)** Adição das fases **A** (contendo o analito), seguida pela adição da fase **O** e **AP**. A formação de mistura exige uma etapa de mistura vigorosa, na qual é conduzida com o

auxílio de um vórtex **(b)** Transição turvo (esquerda) – transparente (direita). Figuras extraídas e adaptadas (GIORDANO, Gabriela et al., 2015; HIGA, Karen; 2018). 48
Figura 15: Ilustração esquemática do procedimento **DWP** baseado no **MEC**. **(a)** adição de **O** em igual volume para as diferentes colunas, **(b)** adição de **AP** com volumes diferentes para cada linha, **(c)** adição de **A** com volumes iguais para ambas colunas e em **(d)** tem-se uma ilustração da transição turvo-transparente na placa **DWP**, contendo analito em diferentes concentrações. Figura extraída e adaptada (HIGA, Karen et al., 2017)..... 49
Figura 16: Principais etapas de fabricação do método **PSR. (a)** A geometria do misturador é obtida por um dado *scaffold* (em verde); **(b)** a matriz polimérica (em azul) é curada com o *scaffold* incorporado em sua estrutura e **(c)** o dispositivo é obtido após a remoção do *scaffold*. Figura extraída e adaptada (DE CAMARGO, Camila et al.; 2016)..... 54
Figura 17: Etapas de microfabricação do dispositivos em **PDMS** visando a mistura de três fluidos. **(a)** Os fios de Nylon são mantidos esticados através de agulhas de aço inoxidável e conectores *luer-lock*; **(b)** Enrolamento manual dos fios de Nylon; **(c)** Os fios devem ser enrolados até que se obtenha aproximadamente 15 mm de comprimento de canais de entrada e 40 mm de canal central; **(d)** O *scaffold* serve de suporte para três canais de entradas e um misturador central (nesta imagem há a adição de tubos metálicos que servem como forma para a adição de fibras ópticas na versão final do dispositivo – esta parte não está inclusa nesta dissertação); **(e)** A peça metálica é fixada sobre uma superfície metálica plana, de modo a evitar o vazamento do **PDMS**; **(f)** A matriz polimérica de **PDMS** é despejada dentro da peça metálica de forma a cobrir integralmente os fios de Nylon; **(g)** Após a cura do **PDMS**, as agulhas verdes são removidas cuidadosamente, seguida pela remoção da agulha rosa juntamente com os fios de Nylon e **(h)** Os fios de Nylon são removidos inteiramente. Figura extraída e adaptada (DE CAMARGO, Camila et al., 2016). 56
Figura 18: Principais etapas de fabricação do dispositivo microfluídico composto por resina epóxi a base de bisfenol A. **(a)** *Scaffold* do misturador passivo, composto por dois fios de Nylon enrolados manualmente, **(b)** adição da resina epóxi para construção do dispositivo de peça única. Figura extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018)..... 57
Figura 19:Plataforma experimental para transporte de líquidos. Nessa foto, as bombas de seringas e o microdispositivo são mostrados em destaque. Figura do próprio autor. 58
Figura 20: Ilustração do processo experimental conduzido nos dispositivos de microfluídicos para realização do estudo de mistura de corantes. As figuras demostram a configuração de bombeamento dos corantes, o sentido do escoamento e a região de monitoramento da mistura. **(a)** Dispositivo fabricado em **PDMS**; **(b)** Dispositivo fabricado em resina epóxi **BPA**. Figura do próprio autor. 61
Figura 21: Ilustração do processo experimental conduzido no dispositivo microfluídico a base de **PDMS**, para realização do estudo de mistura por reação colorimétrica. A configuração de bombeamento dos reagentes, o sentido do escoamento e as regiões de monitoramento da mistura são mostrados em destaque. Figura do próprio autor. 62
Figura 22: Rotina experimental do método baseado em microemulsificação. **(a)** Rotina convencional – método em batelada; **(b)** rotina em microfluídica. Na imagem **A**, **O** e **AP** representam as fases hidrofílica, hidrofóbica e anfifílica. Figura 22 (a) extraída e adaptada (HIGA, Karen; 2018); (b) Figura do próprio autor. 64
Figura 23: Fluxograma de trabalho do App. Figura do próprio autor. 67

Figura 24: Suporte e iluminação para controle de qualidade de imagens obtidas pelo **App**. **(a)** Caixa escura acoplada ao negatoscópio; **(b)** Representação esquemática das dimensões da caixa escura. Figura do próprio autor.....68
Figura 25: Fluxo de trabalho do App em Android**. (a)** Configuração experimental e posicionamento do celular com a região de detecção do dispositivo microfluídico; **(b)** Capturas de tela das operações realizadas pelo **App**. Imagens superiores são referentes as configurações de análise; conexão bluetooth entre o celular e as bombas de alta vazão e captura de imagem durante o processo de transição turvo – transparente, nesse caso turvo. Imagens inferiores são referentes a transição turvo – transparente, com destaque na região transparente, mecograma e resultado final. Figura do próprio autor.....68
Figura 26: Extração líquido-líquido. **(a)** Ilustração do método convencional utilizado pela Petrobras para a extração de **MEG** em amostras de **NCG**; **(b)** Imagem da configuração experimental para a **LLE** em microfluídica. Figura do próprio autor.....71
Figura 27: Dispositivos microfluídicos de peça única fabricados de acordo com o método **PSR**. **(a)** Dispositivo constituído de matriz polimérica – **PDMS** e **(b)** resina epóxi a base de bisfenol A. Figura do próprio autor.....73
Figura 28: Microcanais **PSR** fabricados em matriz polimérica de **PDMS**. Imagens superiores obtidas do estereoscópio Leica **(a-d)** e da seção transversal gravadas através de **SEM-FEG (e, f)** de um canal individual **(a, e)** e do misturador **(c, d, f).** A Figura **(b)** é referente a junção entre os canais de entrada e início do misturador; **(c)** região central do canal de mistura e **(d)** de saída dos resíduos. Figuras de (a-d) do próprio autor, (e-f) extraídas e adaptas (DE CAMARGO, Camila et al., 2016). 75
Figura 29: Microcanais **PSR** fabricados em resina epóxi **BPA**. Imagens superiores **(a-d)** e da seção transversal **(e, f)** de um canal individual **(a, e)** e do misturador fabricado com dois fios de Nylon **(c, d, f).** A Figura **(b)** é referente a junção entre os canais de entrada e início do misturador; **(c)** região central do canal de mistura e **(d)** de saída dos resíduos. Figuras de (a-d) do próprio autor, (e-f) extraídas e adaptadas (GIORDANO, Gabriela et al., 2018).....77
Figura 30: Deformação elástica dos dispositivos microfluídicos fabricado em **PDMS**. **(a)** Taxas de deformação do misturador em tripla hélice; **(b)** Variação de pressão hidrodinâmica em canais simples; **(c)** Vazão máxima aplicada ao misturador em tripla hélice. Figura do próprio autor.....78
Figura 31: Deformação elástica dos dispositivos microfluídicos fabricado em resina epóxi **BPA**. **(a)** Variação de pressão hidrodinâmica em canais simples; **(b)** Vazão máxima aplicada ao misturador em dupla hélice. Figura extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018). 79
Figura 32: Resistência química dos microcanais fabricados com resina epóxi **BPA**. **(a)** Resultados de intumescimento dos microcanais e **(b)** taxa de degradação dos solventes que apresentaram menor compatibilidade com os microcanais. Figura extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018).....81
Figura 33: Resultados de mistura obtidos pelo dispositivos fabricados. **(a)** Misturador obtido em **PDMS** e **(b)** Misturador fabricado em resina epóxi **BPA**. Figura extraída e adaptada (DE CAMARGO, Camila et al., 2016; GIORDANO, Gabriela et al., 2018). 83
Figura 34: Perfil de mistura obtidos pelo dispositivo microfluídico de **PDMS** ao longo de todo misturador para diferentes taxas de vazões. Figura do próprio autor.....85

Figura 35: Eficiência de mistura. **(a) EM** em função das regiões de entrada, meio e saída do microcanal; **(b) EM** em relação ao número de Reynolds obtidos ao longo de todo o microcanal na vazão de 30 mL min^{-1}. A região em destaque no gráfico (em vermelho) refere-se ao escoamento turbulento. Figura do próprio autor. 87
Figura 36: Estudo de mistura utilizando o método baseado em microemulsificação. **(a)** Mecogramas obtidos a partir de padrões de padrões de **MEG** com diferentes concentrações (10 – 40 %); **(b)** Dispersões turvas (emulsão) e transparentes **(ME)** coletadas na saída do dispositivo. Figuras do próprio autor..... 88
Figura 37:Construção da curva de calibração do etanol em concentrações que variaram de 10 – 40 %. **(a)** Mecogramas dos padrões de etanol; **(b)** Mecograma obtido pelo App; **(c)** Curva de calibração dos padrões de etanol, com destaque para a linearidade ($\mathbf{R}^2 \geq 0{,}99$) e sensibilidade (**S** = -0,40); **(d)** Imagens de estereoscopia obtidos na região de saída do misturador durante a formação de emulsão e microemulsão. Barra de erro = 500 µm. Figura do próprio autor. 91
Figura 38: Resultados de precisão das medidas obtidas pela plataforma microfluídica com detecção por celular, em relação aos valores de referência obtidos pelo rótulo (em preto) e por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (em vermelho). As amostras A e C estão relacionadas com cachaça, B e D com vodca, E com rum e F com uísque. Figura do próprio autor. 93
Figura 39: Determinação dos padrões **MEG**. (a) Voltamogramas e (b) Curva de calibração de padrões de **MEG**. Figura extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018)..... 95
Figura 40: Resultados de extração líquido-líquido obtidos pelo dispositivo microfluídico fabricado a base de resina epóxi **BPA**. **(a)** Gráfico de eficiência de extração. A seta vermelha neste gráfico mostra o aumento na eficiência da extração com a vazão. **(b)** Número de Reynolds e **(c)** Fotos das fases imiscíveis. O frasco 1 contém a emulsão que foi obtida logo após a mistura realizada em 40,0 mL min^{-1}. Os frascos 2, 3 e 4 estão relacionadas com a separação das fases em tempos graduais que sucedem essa mistura. A separação total das fases é observada no frasco 4, com um tempo de repouso de aproximadamente 10 min. Figura extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018)..... 96

Lista de Tabelas

Tabela 1: Influencia comprimento do microcanal e do número de Reynolds na eficiência de mistura, considerando as regiões de entrada, meio e de saída do misturador. Dados obtidos com **n** = 3 e α = 0,05. Tabela do próprio autor. 86
Tabela 2: Números de Reynolds obtidos mediante as vazões totais necessárias para gerar microemulsão, em relação as vazões de **A** e **O** aplicadas e as frações de **MEG** ($\mathbf{\Phi_M}$)em água. **Re** foi obtido considerando o fluido composto por água a 20 °C. Tabela do próprio autor. 89
Tabela 3: Resultado do teor de etanol em amostras de bebidas alcoólicas provenientes das análises obtidas pela plataforma microfluídica automatizada por celular. Os valores de referência também são demonstrados. As amostras A e C são estão relacionadas com cachaça, B e D com vodca, E com rum e F com uísque. Dados com intervalo de confiança (α = 0,05, n = 4). Tabela do próprio autor. 93
Tabela 4: Concentrações de **MEG** (ppm) em amostras de condensado de gás natural determinadas pelos métodos de **LLE** convencional com detecção por iodometria e **LLE** microfluídica com detecção eletroquímica. Tabela extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018). 97

Lista de Abreviaturas e Símbolos

A	Fase hidrofílica
AC	Corrente alternada
Ag	Prata
AgCl	Cloreto de prata
AP	Fase anfifílica
App	Aplicativo Android
BPA	Bisfenol A
DI	Água deionizada
DWP	*96-deep-weel plate*
EM	Eficiência de mistura
FR	Taxa de vazão
GC-FID	Cromatografia gasosa contendo detector de ionização de chama
EE	Eficiência de extração
HPLC	*High performance liquid chromatography*
KCl	Cloreto de potássio
LLE	Extração líquido-líquido
LOC	*Lab-on-a-chip*
LOD	Limite de detecção
ME	Microemulsão
MEC	Método baseado em microemulsificação
MEG	Monoetilenoglicol
µTAS	Microssistema de análise total
NaOH	Hidróxido de sódio
Na_2SO_4	Sulfato de sódio
NG	Gás natural
Ni	Níquel
$Ni(OH)_2$	Hidróxido de níquel
NiOOH	Hidróxido de óxido de níquel
NGC	Condensado de gás natural
NOA81	Norland adesivo 81
O	Fase hidrofóbica
PDMS	Poli(dimetilsiloxano)

Pe	Número de Péclet
PLA	Ácido Polilático
PMMA	Poli(metilmetacrilato)
PSR	Polimerização e remoção de *scaffold*
PTFE	Politetrafluoretileno
PUMA	Metacrilato de poli(uretano)
R^2	Coeficiente de determinação
Re	Número de Reynolds
RGB	Vermelho, Verde e Azul
S	Sensibilidade analítica
s	Segundos
SFM	Método de agitação de frasco (
SAR	*Split and recombine*
SEM-FEG	*Scanning Electron Microscopy*
TPE	Poliéster termofixo
UV	Ultravioleta
V	Volts
2D	Bidimensional
3D	Tridimensional
Φ_M	Concentração de **MEG**
ϕ_{ME}	Resposta analítica (menor quantidade de **AP** necessária para gerar **ME**)
Φ_E	Concentração de etanol

Sumário

1. INTRODUÇÃO 20
1.1 Objetivo 23
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 24
2.1 Microfluídica 24
2.1.1 Parâmetros físicos 26
2.2 Mistura em microfluídica 29
2.2.1 Misturadores Ativos 30
2.2.2 Misturadores Passivos 33
2.3 Método baseado em microemulsificação 45
2.4 Extração líquido-líquido 50
3. MATERIAIS E MÉTODOS 53
3.1 Reagentes e aparatos 53
3.2 Microfabricação 54
3.3 Microscopia 57
3.4 Transporte de líquidos 58
3.5 Deformação elástica 59
3.6 Resistência química 60
3.7 Estudo de mistura 60
3.7.1 Mistura de corantes 61
3.7.2 Reação colorimétrica 62
3.7.3 Microemulsificação 63
3.8 Aplicação 64
3.8.1 Determinação quantitativa de etanol em bebidas alcoólicas comerciais 64
3.8.2 Extração líquido-líquido de monoetilenoglicol em condensado de gás natural 69
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 73
4.1 Dispositivos e microcanais 73
4.2 Deformação elástica 76
4.3 Resistência química 80
4.4 Formação de mistura 82
4.4.1 Mistura de corantes 82
4.4.2 Reação colorimétrica 84
4.4.3 Microemulsificação 88
4.5 Aplicação 90

4.5.1 Determinação quantitativa de etanol em bebidas alcoólicas comerciais 90
4.5.2 Extração líquido-líquido de monoetilenoglicol em condensado de gás natural 94
5. CONCLUSÃO.....98
REFERÊNCIAS 103

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos houve uma crescente busca científica e tecnológica pelo desenvolvimento de novas tecnologias limpas, que visam reduzir a poluição, consumo de energia, contaminação e impacto ambiental. Além disso, associar características de alta produtividade, eficiência, menores custos e tempo a estes desenvolvimentos é indispensável para explorar novas fronteiras. Nesta busca, a microfluídica é uma ciência que aplica esses conceitos e apresenta um alto potencial de aplicação.

Microfluídica concerne a manipulação de líquidos e gases em canais com diâmetros menores que um milímetro, confinados em dispositivos miniaturizados com no máximo alguns centímetros quadrados. Estes dispositivos, também chamados de *chips*, podem incorporar redes de canais capazes de separar e identificar biomoléculas altamente valiosas (ácidos nucléicos, proteínas, polissacáridos e etc.), complexar fluidos biológicos (sérum, leite, células extraídas e etc.), sintetizar materiais (nanopartículas de ouro, nanocristais, compostos orgânicos para tomografia por emissão de pósitrons e etc.), realizar o monitoramento químico e bioquímico (tal como pH, concentração, compostos e etc.), e manipular células e moléculas (PAN, Liang-Jun et al., 2017; TETALA, Kishore; VIJAYALAKSHMI, M. A; 2016; WAGNER, J; KÖHLER, J. M; 2005; WHITESIDES, George, 2006).

As últimas décadas testemunharam a emergência e crescimento de plataformas microfluídicas rumo ao desenvolvimento e exploração de diversos campos (MARKET RESEARCH REPORT, 2018; YOLE; 2017). Grande parte desta evolução, deve-se as inerentes vantagens apresentadas por essas plataformas, tais como: (i) miniaturização; (ii) portabilidade; (iii) processo contínuo; (iv) fácil integração de componentes; (v) baixo consumo de reagentes; (vi) controle de mistura e (vii) aumento de transferência de calor e massa (LIU, Yong; JIANG, Xinguy, 2017). Não obstante, os dispositivos microfluídicos apresentam uma limitação crucial: a capacidade de mistura. Como consequência, aplicações que requerem alta eficiência de mistura são limitadas, criando uma barreira frente ao desenvolvimento da área de microfluídica.

Áreas cujo desempenho varia fortemente com a capacidade de geração de misturas homogêneas e rápidas incluem: síntese química, preparo de emulsão, enovelamento de proteínas, *flash chemistry* (propriedades onde o produto depende da mistura, espécies altamente reativas que precisam ser monitoradas em alguns segundos, ou reações que apresentam intermediários com curto período de vida) e cromatografia líquida de alta pressão (DE CAMARGO, Camila et al., 2016; SHIROMA, Letícia et al., 2017).

Em sistemas microfluídicos de síntese química, reações biológicas e **µTAS**, a mistura de reagentes é considerada uma das tarefas mais desafiadoras e importantes para se obter uma reação apropriada em curto período de tempo. Comumente, utiliza-se sistemas mecânicos para promover a mistura em macrossistemas, tais como: turrax, vórtex, agitador magnético, agitador rotor e etc, porém estes métodos não são compatíveis com dispositivos microfluídicos dado sua dimensão e incompatibilidade de fabricação (CHOI, Jin-Woo; AHN,Chong, 2000). Além disso, em macroescala, a mistura é convencionalmente obtida pelo escoamento turbulento, o que possibilita a segregação do fluido em pequenos domínios, conduzindo a um aumento na superfície de contato e diminuindo o caminho de mistura (CAPRETTO, Lorenzo et al., 2011). Todavia, o escoamento predominante em microfluídica é o de natureza laminar, com baixos números de Reynolds e com mistura alcançada quase que exclusivamente por difusão (CAI, Gaozhe et al., 2017; WANG, G. R; YANG, Fang; ZHAO, Wei, 2014).

Tipicamente, dispositivos microfluídicos obtidos através de métodos de fabricação convencional suportam baixas taxas de vazões, da ordem de $\mu L\ min^{-1}$ até unidades de $mL\ min^{-1}$ (LIMA, Renato et al., 2015). Acima desses valores de vazão de fluído, ocorre o rompimento do canal na região de interface entre substrato e a tampa. Nesses casos, o número de *Reynolds* (**Re**) é inferior a 100 e fluxos laminares são observados uma vez que as forças viscosas são dominantes sobre as inerciais (DE CAMARGO, Camila et al., 2016; YOU, Jae Bem et al., 2015). Os fluidos sob esse regime de fluxo possuem uma trajetória bem definida e as misturas são limitadas pela difusão (BALASURIYA, Sanjeeva, 2015; WANG, G. R; YANG, Fang; ZHAO, Wei, 2014). Isso acarreta em processos de homogeneização ineficientes e lentos.

Na natureza, rápidas e efetivas misturas são facilitadas pela transição de escoamento turbulento. O uso desse fluxo é uma alternativa eficaz no tocante à solução de um dos desafios atuais da microfluídica: a capacidade de mistura (SHIROMA, Letícia et al., 2017). Algumas características intrínsecas desse regime são: rápida difusão, alta taxa de dissipação, movimento aleatório, fluxo contínuo, turbilhonamento em multiescala, fluxo 3D e altos valores de **Re** WANG, G. R; YANG, Fang; ZHAO, Wei, 2014). A geração de fluxo turbulento em microcanais exige o bombeamento de fluidos a vazões excessivamente altas. Logo, uma limitação crucial para a aplicação da turbulência em microfluídica são as forças de adesão comumente baixas presentes nesses dispositivos. Apesar disso, WANG, G. R; YANG, Fang; ZHAO, Wei (2014), descreveram a presença desse regime de fluxo de forma inédita em microescala.

Desde então, a busca por dispositivos capazes de suportar vazões necessárias para a formação de fluxo turbulento, emerge como uma área de pesquisa essencial para o avanço da

microfluídica (DE CAMARGO, Camila et al., 2016; SHIROMA, Letícia et al., 2017; WANG, G. R; YANG, Fang; ZHAO, Wei, 2014; YOU, Jae Beem et al., 2015). Além disso, conciliar esta característica a simples processo de fabricação, baixo custo, velocidade, performance, e adequação a outros sistemas (natureza química, por exemplo) é a aspiração da área de microfluídica.

1.1 Objetivo

Devido à crescente demanda científica e tecnológica, das áreas biológicas, química, médica, farmacológica, engenharias e outras, pelo desenvolvimento de novas tecnologias microfluídicas capazes de gerar misturas homogêneas, rápidas, simples e de baixo custo, e o estado de arte que envolve este tema, este trabalho teve como objetivo geral a geração e o estudo do escoamento turbulento em dispositivos microfluídicos.

Para alcançar estes propósitos, foram contempladas as seguintes etapas:

Microfabricação e caracterizações: fabricação de dispositivos microfluídicos que suportem as vazões necessárias para a geração de turbulência e que atendam aos requisitos de simplicidade e rapidez de fabricação, baixo custo e resistência química. Estes dispositivos foram caracterizados em termos de deformação elástica e resistência química.

Formação de mistura: A capacidade de geração de mistura pelos dispositivos foi explorada em função do número de Reynolds e da eficiência de mistura associados a diferentes taxas de vazão aplicadas. Três sistemas que requerem mistura foram empregues nesse estudo, das quais incluem: mistura colorimétrica, reação química baseada na variação de pH e microemulsificação.

Aplicação: A relevância da geração de misturas altamente eficientes em sistemas microfluídicos foi explorada pelo método baseado em microemulsificação (**MEC**) e pela extração líquido-líquido de monoetilenoglicol de amostras de condensado de gás natural.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Microfluídica

O termo microfluídica refere-se a dispositivos e métodos de controle e manipulação de fluidos em escalas menores que um milímetro (STONE, H. A; STROOCK, A. D; AJDARI, A; 2004). As origens da microfluídica são reportadas ao final da década de 60 por sua associação a dispositivos fabricados com a tecnologia de micromecânica e trabalhos de cromatografia em fase gasosa (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E., 2015). Apesar disso, o interesse pelo comportamento de fluidos confinados em microcanais surgiu muito antes. Em 1939, Poiseuille e coautores publicaram um extenso estudo de fluxo de líquidos em capilares de vidro de pequenos diâmetros e formularam a famosa equação de Hagen–Poiseuille que estabeleceu a base do comportamento de fluidos em pequenas escalas (CASTILLO-LÉON, JAMES; SVENDSEN, WINNIE E., 2015; SUTERA, Salvatore; SKALAK, Richard, 1993).

Anos depois, com o avanço da tecnologia, a microfluídica renasceu e MANZ, Andreas; WIDMERS, H. Michael; GRABER, N (1990) introduziram o conceito de microssistema de análises totais, ou simplesmente **µTAS** (termo originado do inglês: *micro-total analysis systems*), cuja abordagem possibilitou a integração de múltiplas etapas de análise em um único dispositivo. Além disso, **µTAS** também são conhecidas como *lab-on-a-chip* (**LOC**), devido a integração de processos laboratoriais em dispositivos microfluídicos. Até este momento, os dispositivos microfluídicos eram restritos a substratos de vidro e silício e envolviam longos e complexos processos de fabricação (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E., 2015; MANZ, Andreas; WIDMERS, H. Michael; GRABER, N; 1990). Em 1998, o trabalho publicado por David C. Duffy e colaboradores revolucionou a história da microfluídica. Na ocasião, eles reportaram o desenvolvimento de um método de fabricação de microcanais em material elastomérico, o poli(dimetilsiloxano) (**PDMS**), o qual permitiu a fabricação de sistemas microfluídicos por meio de processos de réplica e moldagem, de forma rápida e com menores custos (DUFFY; David, 1998; MCDONALD, Cooper; WHITESIDES, George, 2002). Este fato impulsionou o desenvolvimento de novas métodos de microfabricação e, em em combinação com a síntese e descoberta de novos materiais, a microfluídica passou a ser amplamente empregada em diversos campos (MARKET RESEARCH REPORT, 2018; YOLE; 2017).

Como dito anteriormente, dipositivos microfluídicos caracterizam-se pelo transporte de fluidos em canais de pequenas dimensões. Em decorrência disto, o comportamento dos fluidos dentro dos microcanais ocorre diferentemente de macrossistemas. A principal diferença está relacionada com o tipo de escoamento. Em macrossistemas o escoamento turbulento, é frequêntemente observado em rios, água corrente e etc., e dificilmente aparece em microescala. Isto ocorre, devido ao tamanho reduzido dos microcanais, que dificulta a aplicação da altas taxas de vazão de fluido necessárias para a geração do escoamento turbulento, fazendo com que estes dispositivos sejam limitados ao escoamento de natureza laminar. Algumas características intrínsecas que diferem esses regimes de fluxo são: ***(i)*** escoamen turbulento, as partículas fluidas se misturam ao longo do deslocamento, devido à flutuações aleatórias no campo de velocidade, as forças viscosas são desprezíveis em relação às forças de inércia, o fluxo é **3D** e apresenta altos valores de **Re** (SMYTH, W. D; MOUM, J. N; CALDEWELL, 2000; WANG, G. R; YANG, Fang; ZHAO, Wei, 2014), por outro lado ***(ii)*** escoamento laminar, os fluidos se movem em camadas ou lâminas paralelas e há grande influência das forças viscosas; nesse caso a mistura dos fluidos é limitada pelo fenômeno de difusão e apresenta baixos valores de **Re** (CAI, Gaozhe et al., 2017).

O escoamento laminar apresenta características interessantes para diversas aplicações em microfluídica, como a geração de perfis de gradiente que permite o controle de moléculas no espaço e no tempo, propiciando resultados rápidos, precisos e reprodutíveis, sendo capaz de mimetizar ambientes celulares e atuar em testes de diagnóstico (CHOBAN, Eric et al., 2004; Microfluidics, 2018). No entanto, isso também pode ser considerado uma desvantagem inerente a capacidade de misturas homogêneas e rápidas. Por exemplo, aplicações que envolvem a geração e detecção de compostos com curto período de vida, síntese rápida, estudos sobre a cinética de reações enzimáticas, e outros estudos que requerem elevada eficiência de mistura não eram possíveis devido ao escoamento de natureza laminar, característico da microfluídica (CHUN, Honggu; KIM, Hee Chan; CHUNG, Taek Dong, 2008). Recentemente, esse cenário foi estremecido com a publicação de alguns trabalhos que comprovaram a presença de escoamento turbulento em dispositivos microfluídicos (WANG, G. R; YANG, ang; ZHAO, Wei, 2014; YOU, Jae Bem et al., 2015). Essa descoberta forneceu uma nova perspectiva sobre turbulência em microfluídica, propiciando novas oportunidades de controle, manipulação e aplicação.

Como previamente descrito, a microfluídica apresenta inúmeras vantagens de utilização, das quais destacam-se: alta razão área / volume, baixo consumo de reagentes e energia, portabilidade, capacidade de multiplexação; integração; detecção, e manipulação precisa de

fluidos (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E.; 2015). Um fator em destaque, é capacidade de portabilidade inerentes as dimensões dos dispositivos microfluídicos, bem como peso e volume. Assim, trabalhos de campo que eram limitados a utilização de grandes equipamentos, passam a ser possíveis (SOARES, R. R. G. et al., 2017). Ademais, a possibilidade de integração de outros componentes é extremamente atraente economicamente, uma vez que, é possível o desenvolvimento de sistemas "auto suficientes" de alto desempenho, integrando várias funções auxiliares, como: processos, instrumentação, segurança e sistemas de comunicação em tempo real (BAROUD, Charles et al., 2014; LEE, Ada et al., 2014).

No entanto, os desafios que tangem à aplicação da microfluídica em grande escala, a possibilidade de trabalhar com volumes menores, a fabricação de dispositivos de baixo custo e fáceis de usar, sua integração com outras técnicas analíticas e processos que requerem misturas rápidas e homogêneas, são questões que precisam ser resolvidas para acelerar a consolidação da área de microfluídica (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E.; 2015). Ademais, integrar dispositivos microfluídicos a *celulars* e aproveitar os recursos disponíveis em ambos, ou seja, fonte de energia, detecção óptica, alta resolução, capacidade de transmissão de dados e todas as vantagens que a microfluídica oferece é o estado da arte para a área.

2.1.1 Parâmetros físicos

Uma grande variedade de fenômenos físicos ocorre em microfluídica. Os números adimensionais que correlacionam fenômenos dão uma ideia de onde um sistema se encontra no espaço de parâmetros fluídicos (SQUIRES, Todd; QUAKE, Stephen; 2005). Dentre estes parâmetros, dois são de extrema relevância para a compreensão dos estudos de mistura em microfluídica e descrevem os processos de transferência de massa: o número de Reynolds (**Re**) e o número de Péclet (**Pe**).

O equilíbrio entre forças inerciais e viscosas é expresso pelo **Re** que representa um valor entre o escoamento laminar e turbulento (**Equação 1**):

$$\mathbf{Re} = \frac{\rho \boldsymbol{Ud}}{\boldsymbol{\mu}} = \frac{\boldsymbol{Ud}}{\boldsymbol{\nu}} \qquad \textbf{Equação 1}$$

onde **ρ**, **U**, ***d***, **μ** e ***v***, representam a densidade do fluido, a velocidade média de movimento do líquido, o diâmetro hidráulico do canal, a viscosidade dinâmica e a viscosidade cinemática, respectivamente (CAPRETTO, Lorenzo et al., 2011; CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E.; 2015). O diâmetro hidráulico do canal é um número característico que depende da geometria da seção transversal do canal e é dado por (**Equação 2**):

$$\boldsymbol{d = \frac{4A}{P}} \qquad \textbf{Equação 2}$$

onde **A** e **P** são a área da seção transversal e o perímetro molhado do canal, respectivamente (CAPRETTO, Lorenzo et al., 2011; CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E.; 2015). O número de Reynolds de dispositivos microfluídicos tradicionais é estimado da seguinte forma: considerando um sistema à base de água, com diâmetro de microcanal de 100 μm, fluxo de líquido de 1 mm s^{-1}, densidade de 1 g cm^{-3} e viscosidade de 0,001 N s m^{-2}, o número de Reynolds será da ordem de 0,1(LEE, Chia Yen et al., 2016).

Em baixos **Re**, os efeitos viscosos dominam os efeitos inerciais e o escoamento é estritamente laminar. No sistema de escoamento laminar, os fluidos fluem paralelos uns aos outros e a velocidade em qualquer localização dentro do fluxo de fluido é invariante com o tempo quando as condições de contorno são constantes. Isto implica que a transferência de massa convectiva ocorre apenas na direção do fluxo do fluido, e a mistura só pode ser obtida por difusão molecular (CAPRETTO, Lorenzo et al., 2011). Por outro lado, em altos **Re**, o escoamento é dito como turbulento e o fluxo é dominado por forças inerciais. Neste regime de escoamento, o fluido exibe movimentos altamente desordenados que ocorrem em altas velocidades e caracteriza-se por flutuações de velocidade e transportes de massa convectivos ocorre em todas as direções (ÇENGEL, Yunus; CIMBALA, John; 2007). Entre esses regimes de escoamento existe um intervalo **Re** transicional, onde diversos parâmetros podem determinar o tipo de escoamento que definirá o sistema (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E.; 2015). Os valores exatos desse intervalo numérico, assim como a faixa de transição de escoamento depende de vários fatores como: diâmetro e geometria do canal, rugosidade da superfície, viscosidade, área superficial e outros.

De acordo com o experimento realizado por Osborne Reynolds em 1883, se **Re** for menor que 2300 o escoamento é estritamente laminar e a velocidade do fluido não varia com o tempo. Se, por outro lado, **Re** exceder cerca de 4.000, o escoamento é turbulento (JACKSON, Derek; LAUNDER, Brian; 2007). Porém, há controvérsias em relação a estes valores de transição para

a microfluídica. Por exemplo, YOU Jae Beem e colabores (2015), descreveram que dadas as maiores razões de área por volume e altas taxas de transferência de energia em microfluídica, essa transição é alcançada em valores de **Re** menores, entre 1700 e 1900, e em casos especiais (quando ocorre a colisão de fluxos), essa transição acontece em **Re** ainda mais baixos (aproximadamente 1106 para casos com dois fluidos) devido à formação de vórtices.

Outro parâmetro adimensional de suma importância, relacionado ao fornecimento do transporte de massa associado à mistura, é expresso pelo número de Péclet, que representa o equilíbrio entre o transporte de massa devido à convecção e difusão (**Equação 3**):

$$\mathbf{Pe} = \frac{\mathbf{Ud}}{\mathbf{D}} \qquad \textbf{Equação 3}$$

onde **D** representa coeficiente de difusão da amostra que será transportada (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E.; 2015; SQUIRES, Todd; QUAKE, Stephen; 2005). Em microfluídica, o **Pe** está constantemente associado ao **Re**.

Normalmente, a mistura em microfluídica ocorre em baixos valores de **Re** (< 100) e altos valores de **Pe** (> 100). Como consequência, o escoamento nestes sistemas é predominantemente laminar e a difusão molecular é a força motriz para que a mistura ocorra (YOU, Jae Bem et al., 2015). No entanto, a medida que **Re** e **Pe** de um determinado sistema se torna muito maior, a difusão passa a ser cada vez menos importante. Em geral, assume-se que **Pe** > 1000, a difusão do soluto pode ser desprezada e se **Pe** < 10, então o processo de difusão dominará e a advecção pode ser negligenciada (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E.; 2015). Com isso, quando o sistema atinge o escoamento turbulento a mistura deixa de ocorrer por difusão e passa a ser formada de forma transiente.

YOU, Jae Bem et al. (2015), demonstrou a relação entre **Re** e **Pe**, por meio de perfis de mistura obtidos em um misturador microfluídico em Y, com dimensões de 150 μm de largura, 150 μm de altura e 1,5 cm de comprimento, como mostrado na **Figura 1**. Os resultados obtidos por esses autores mostram que para **Re** de 221 e **Pe** de 7,6 x 10^5 nenhuma mistura significativa foi observada ao longo de toda secção transversal do microcanal e sugere que o escoamento seja laminar e que nenhuma mistura difusional significativa ocorra. Por outro lado, para **Re** e **Pe** iguais a 4423 e 1,5 x 10^7, a mistura foi observada após o choque entre as correntes de fluidos (na interseção). Além disso, a taxa de transporte convencional foi muito maior do que a taxa de transporte difusional. Isso significa que a mistura entre os dois fluxos ocorre principalmente por fluxos transversais criados por turbulência.

2.2 Mistura em microfluídica

Muitos esforços têm sido direcionados para o desenvolvimento de estratégias de obtenção de misturas. Em geral, as estratégias adotadas para obtenção de mistura em microfluídica são baseadas em misturadores ativos ou passivos. Cada uma dessas classes emprega distintos conceitos e características para promover a mistura, como por exemplo a capacidade, velocidade e condições de operação (MANSUR, Elmabruk et al., 2008).

Um parâmetro fundamental para a determinação quantitativa do grau de mistura obtido pelos misturadores microfluídicos é a dado pela eficiência de mistura (**EM**). Este parâmetro uniformiza os resultados de mistura obtidos em diferentes projetos e possibilita a análise de desempenho do sistema. Alguns métodos foram propostos para avaliar a eficiência da mistura (CAI, Gaozhe et al., 2017; CHANG, Ming et al., 2017; CHANG, Sunghwan; CHO, Young Ho, 2005; CHUN, Honggu; KIM, Hee Chan; CHUNG, Taek Dong, 2008; CORTELEZZI, Luca; FERRARI, Simone; DUBINI, Gabriele, 2017; FALK, L.; COMMENGE, J. M, 2010; FAN, Liang Liang et al., 2017; GLASGOW, Ian; AUBRY, Nadine, 2003; GLEESON, James, 2005; GOBBY, D; ANGELI, P; GAVRIILIDIS, A; 2000; LEE, Chia Yen et al., 2016; RAFEIE, Mehdi et al., 2017; WANG, Rui; LIN, Jian Zhong, 2006). Para quantificar estatisticamente o desempenho da mistu ra, adotamos a equação de **EM** proposto por uma série de autores

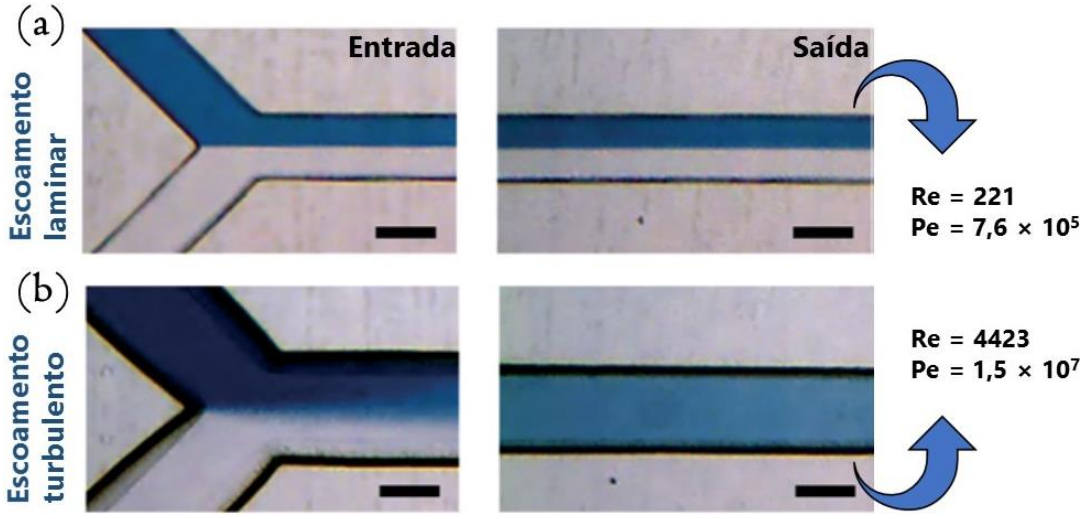

Figura 1: Perfis de mistura entre água **DI** e corante alimentar azul são demonstradas em função da variação de **Re** e **Pe** em um microcanal. Da esquerda para a direita, têm-se as imagens da entrada e saída do dispositivo, respectivamente. **(a)** Fluxo escoa laminarmente ao longo de toda secção do canal e nenhuma mistura pode ser visualizada; **(b)** A mistura foi iniciada assim que os fluidos se encontraram na interseção do canal em Y, logo uma mistura completa foi obtida. Isso sugere que a mistura entre os dois líquidos ocorre principalmente por fluxos transversais criados por turbulência. Barra de erro = 150 µm. Figura extraída e adaptada (YOU, Jae Bem et al., 2015).

(CAI, Gaozhe et al., 2017; CHANG, Ming et al., 2017; FAN, Liang Liang et al., 2017; GLASGOW, Ian; AUBRY, Nadine, 2003)

Baseado em dados de análise de imagem, a eficiência de mistura é calculada de acordo com a **Equação 4:**

$$\boldsymbol{EM = 1 - \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}\left(\frac{Ki-\bar{k}}{\bar{k}}\right)^2}} \qquad \textbf{Equação 4}$$

onde **n** é o número total de pontos de amostragem na secção avaliada, **Ki** é a intensidade do pixel em cada ponto e $\boldsymbol{\overline{k}}$ é a intensidade média de pixel em toda a seção avaliada. A eficiência de mistura varia de 0 a 100%, sendo que 0% representa a total segregação dos fluidos e 100% indica fluidos completamente misturados.

2.2.1 Misturadores Ativos

Historicamente, misturadores ativos, possuem melhores resultados em promover mistura do que misturadores passivos. Isto ocorre, porque misturadores ativos utilizam fontes de energia externa, como pressão, temperatura, campo magnético, elétrico e ondas acústicas, para introduzir perturbações e favorecer a formação de misturas de forma rápida e eficiente (CAI, Gaozhe et al., 2017; CHUN, Honggu; KIM, Hee Chan; CHUNG, Taek Dong, 2008; LEE, Chia Yen et al., 2011; MANSUR, Elmabruk et al., 2008). Comumente misturadores ativos empregam simples geometrias de canais, como em Y e T e geram a instabilidade nos fluidos por meio da formação e eclosão de bolhas de ar, pelo movimento de cargas de líquidos iônicos e oscilação de partículas e/ou fluidos magnéticos.

Forçar o escoamento é uma efetiva alternativa para aumentar a eficiência de misturas homogêneas. DESHMUKH, Ajay; LIEPMANN, Dorian e PISANO, Albert (2000), fizeram a primeira demonstração de instabilidades induzidas por campo de pressão em um dispositivo microfluídico composto por duas bombas de fluxo pulsado, para controle e variação dos ciclos de trabalho dos líquidos de entrada, frequências e entrega de fluidos. Assim, a mistura foi gerada por meio de um fluxo lateral pulsado. Posteriormente, foram reportadas a utilização de misturadores acionados por pressão similares ao descrito anteriormente, mas com diferentes

características de fluxo e instabilidade hidrodinâmica. KHOSHMANESH, Khashayar et al. (2015) descreveu o emprego de um misturador acionado por campo de pressão com bolhas de gás de ar atmosférico em um dispositivo com geometria em T. Apesar da simplicidade da geometria do canal, os resultados de eficiência de mistura foram apenas de 67,2%.

Diferentemente dos misturadores acionados por campo de pressão que geram a instabilidade dos fluidos por meio da segmentação ou fluxo pulsado dos líquidos, os misturadores acionados por campo magnético, em geral, não requerem processos laboriosos de fabricação dos *chips*, não são dependentes da utilização de fluidos iônicos e apresentam excelentes resultados de eficiência de mistura. Todavia, é necessário a presença de uma microbarra magnética fabricada dentro do canal, partículas magnéticas suspensas em um dos líquidos ou um fluido magnético (**Figura 2**). Assim, na presença de campo magnético externo, as microbarras, partículas ou fluido magnético irão oscilar e perturbar a hidrodinâmica de fluxo no canal de mistura (CHEN, Xueye; ZHANG, Lei, 2017). Baseado nestas características, diversos misturadores acionados por campo magnético são reportados na literatura. CHANG, Ming et al. (2017) demonstrou o emprego de micro e nano bastões magnéticos que giram sincronamente com um campo magnético externo rotativo de modo a promover mistura. Os resultados alcançados garantiram uma eficiência de mistura de até 92% e conferiu que nanopartículas podem melhorar a eficiência de mistura em dispositivos *lab-on-chip* (**Figura 2 (a)**). Entretanto, a utilização deste tipo de fluido agrega maior valor e complexidade, já que requerem etapas prévias de preparação de amostra (síntese de partículas magnéticas e/ou preparo de dispersão), estabilidade de suspensão, caracterização e controle de manipulação (**Figura 2 (b)**).

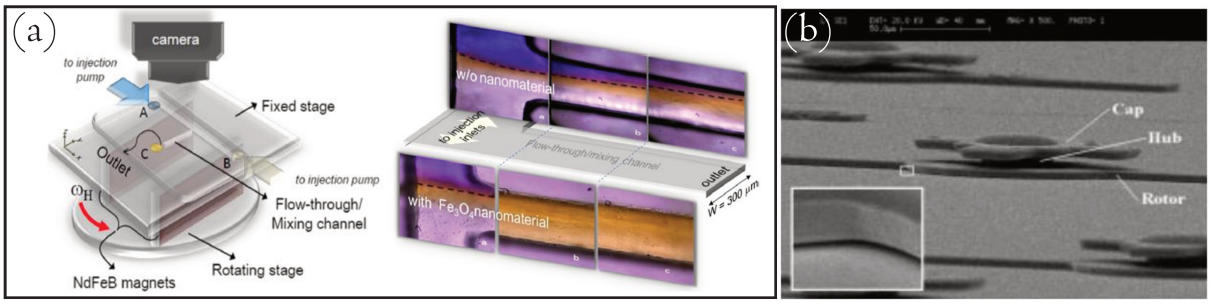

Figura 2: Misturadores ativos acionados por campo magnético. **(a)** Imagens representativas do dispositivo microfluídico acionado por agitação magnética de micro e nanobarras de óxido de ferro em suspensão (as linhas tracejadas demarcam o padrão de mistura entre os dois solutos (corante azul de fenol e ácido cítrico) e a aparência alaranjada representa a mistura). **(b)** Imagem **SEM** de um agitador magnético - um campo magnético rotativo faz com que a barra do agitador magnético gire rapidamente no ambiente fluido propiciando a mistura (altura total do agitador é de 25 μm com um espaçamento de 0,5 μm entre o rotor e o substrato). Figuras extraídas e adaptadas (CHANG, Ming et al., 2017; LU, Liang-Hsuan; RYU, Kee Sulk; LIU, Chang, 2001).

Outra técnica de mistura ativa comumente empregada, baseia-se em distúrbios de ressonância acústica para induzir a formação de mistura (CAI, Gaozhe et al., 2017). Comumente, estes misturadores utilizam ondas acústicas de superfície geradas em substratos piezoelétricos como força de atuação (LUO, J. K. et al., 2009). Assim, um típico misturador acionado por ondas acústicas, utiliza bolhas de ar confinadas em meio líquido e ondas sonoras para induzir a oscilação da fase na interface ar - líquido e promover mistura (**Figura 3**) (TOVAR, Armando; PATEL, Maulik; LEE, Abraham, 2011). CHEN, Huaying et al., (2017) utilizou este princípio de mistura, para desagregação e imunoensaio de antígeno prostático específico (**Figura 3 (a)**). Os resultados demonstraram que o campo acústico induz a microfiltração dos fluidos na câmara de ensaio e que a eficiência de mistura é proporcional à voltagem de acionamento e tempo de exposição (**Figura 3 (b)**). Além disso, a mistura acústica é capaz de induzir não apenas a mistura de líquidos, mas também auxiliar com o movimento de partículas evitando a agregação e aumento de velocidade no ensaio.

Como alternativa às técnicas mencionadas anteriormente, os misturadores acionados por campo elétrico utilizam o movimento de fluidos eletricamente carregados sob um campo elétrico de corrente alternada ou corrente contínua para perturbar a interface entre os fluidos e facilitar a mistura (CAI, Gaozhe et al., 2017). KUMAR, Dhileep et al. (2015) demonstrou qualitativamente que ao aumentar o campo elétrico de corrente alternada em um dispositivo microfluídico com canal em T, ondas de instabilidade e fluxos caóticos são formados na junção

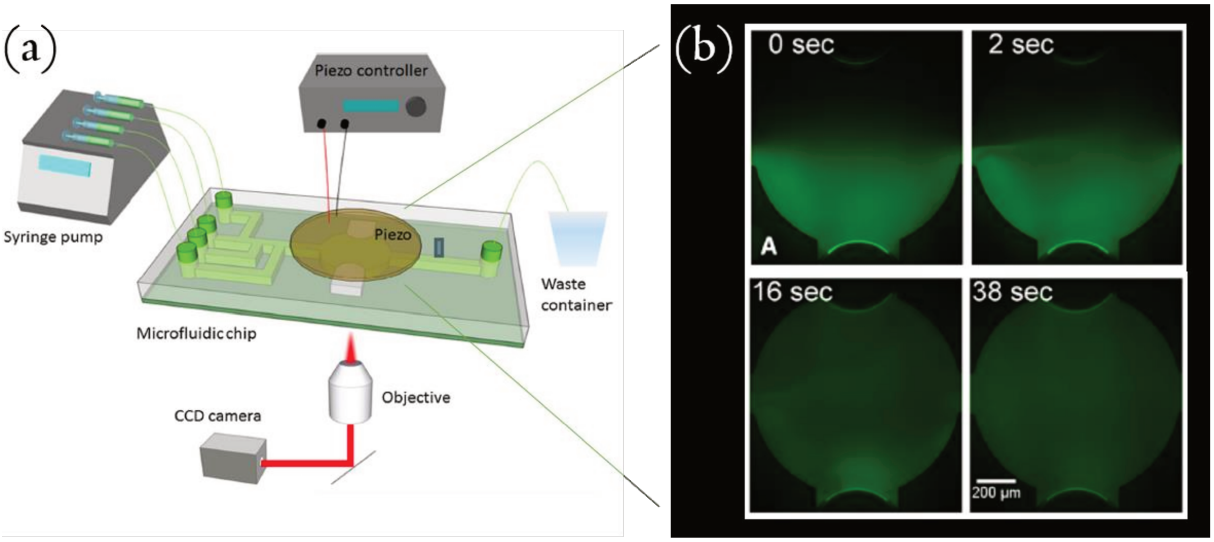

Figura 3: Dispositivo microfluídico de mistura acionado por campo acústico. **(a)** Ilustração da configuração experimental. **(b)** Caracterização do processo de mistura entre corante fluorescente e fosfato tampão salino com Triton - X100 em função do tempo (frequência de 5 kHz e tensão de acionamento de 28 **V)**. Figura extraída e adaptada (CHEN, Huaying et al., 2017).

do canal quando os fluidos colidem, propiciando melhores misturas. Entretanto, devido aos altos potenciais elétricos necessários para a formação de mistura, aplicações que envolvem células e ou bioorganismos não são possíveis. VAFAIE, Reza (2018), investigou computacionalmente o processo de mistura em biofluidos, sob baixo **Re**, aplicando um fluxo eletrotérmico de corrente alternada sobre um fluido condutivo para gerar a instabilidade dos fluidos dentro do microcanal. Com isso, foi obtido uma eficiência de mistura superior a 95 % para um microcanal com 400 μm de comprimento. Apesar dos bons resultados de mistura obtidos pelos misturadores acionados por campo elétrico (eficiência de mistura superior a 90 %), estes sistemas são limitados ao emprego de fluidos iônicos, o que impossibilita aplicações que envolvem síntese polimérica, síntese orgânica e misturas aquosas não ionizantes (CAI, Gaozhe et al., 2017).

WANG, G. R; YANG, Fang; ZHAO, Wei (2014), recentemente reportaram um estudo de extrema relevância envolvendo formação de mistura em microfluídica. Na ocasião, os autores demonstraram, pela primeira, vez que a turbulência pode ser ativada em baixo número de Reynolds (**Re** $\leq$ 1), utilizando um fluxo acionado por pressão, sob forçamento eletrocinético em microcanais (**Figura 4**). Uma fonte de corrente alternada (**AC**) foi usada para fornecer o sinal (**Figura 4 (a)**).Os resultados obtidos, demonstraram que o fluxo eletrocineticamente forçado induz a rápida difusão e favorece a mistura sob alto campo elétrico (**Figura 4 (b-f)**). Além disso, em campo elétrico suficientemente alto o escoamento apresenta todas as características de turbulência (exceto que o número de Reynolds não é alto) (**Figura 4 (e-f)**). No entanto, são requeridas taxas de condutividade extremamente divergentes (5000:1) para os fluidos, o que acarreta em um sistema complexo e de difícil manipulação. Mesmo assim, o testemunho da existência de escoamento turbulento em microfluídica, acalorou a comunidade científica e estimulou o desenvolvimento de novos *chips* microfluídicos baseados na geração de escoamento turbulento.

2.2.2 Misturadores Passivos

De modo geral, os misturadores passivos são mais simples e mais portáteis do que os misturadores ativos. Isso ocorre, porque os misturadores passivos promovem a mistura por meio de geometrias de canais intrincadas e/ou longos canais de mistura (WARD, Kevin; FAN, Hugh, 2015). Na maior parte dos casos, a mistura é obtida pela difusão molecular entre os líquidos

podendo estar presente advecção caótica. No passado, as misturas obtidas por estes dispositivos apresentavam processos de mistura extremamente ineficientes e lentos, devido as limitações de fabricação existentes na época (MANSUR, Elmabruk et al., 2008). Mais recentemente, com o avanço no desenvolvimento de técnicas de microfabricação, tornou-se possível a fabricação de canais com redes complexas e tridimensionais e melhorias significativas foram alcançadas no que tange ao desempenho dos misturadores passivos (SAYAH; GIJS, 2016). Recentemente, YOU, Jae bem et al. (2015) demonstrou a presença de escoamento turbulento em um misturador passivo. A presença deste regime de escoamento envolve distintos conceitos e representa uma nova abordagem para geração de mistura em microfluídica.

2.2.2.1 Misturadores passivos assistidos por difusão

Geralmente, os misturadores microfluídicos apresentam baixo número de Reynolds, tornando o escoamento essencialmente laminar. Sob condições de fluxo laminar, a mistura é limitada pela difusão molecular na interface entre os fluidos. Como a difusão é um processo bastante lento, a mistura leva um tempo considerável para ser formada e exige longos canais de

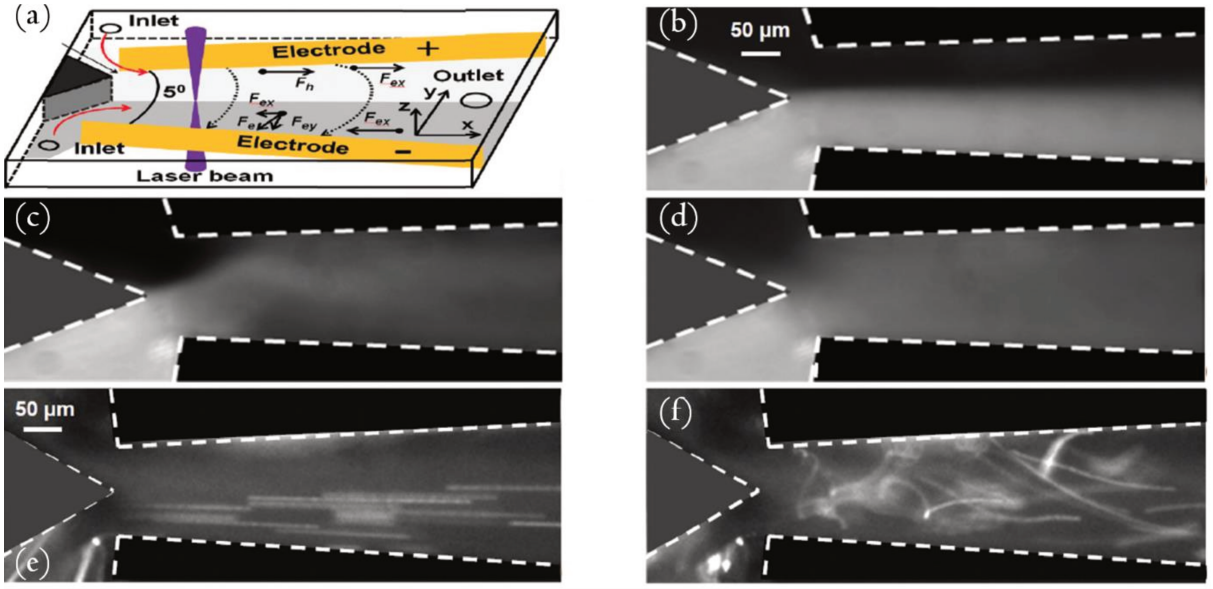

Figura 4: Comportamento de misturas perante o acionamento de corrente alternada. **(a)** Esquema da configuração do chip microfluídico; **(b)** Sem a ação de **AC** - o escoamento é laminar e quase não há mistura; **(c)** Sob baixa **AC** a mistura é levemente melhorada; **(d)** A mistura torna-se extremamente rápida mesmo perto da entrada dos canais, mas não há uma mistura total; **(e)** O fluxo parece sofrer uma transição repentina do movimento laminar para o turbulento, uma vez que os dois fluxos convergem; **(f)** Formação de vórtices. Figura extraída e adaptada (WANG, G. R; YANG, Fang; ZHAO, Wei, 2014).

mistura (SAYAH, Abdeljalil; GIJS, Martin; 2016). Para acelerar este processo, diversas alternativas de misturadores passivos foram desenvolvidas baseadas principalmente no aumento de difusão molecular das amostras e em efeitos e advecção caótica. O aumento da difusão molecular pode ser alcançado pelo aumento da área interfacial entre as amostras e o tempo de contato entre elas (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E., 2015; LEE, Chia Yen et al., 2011). Já a advecção caótica, pode ser obtida pela manipulação do escoamento laminar dentro dos microcanais em geometrias que resultam no dobramento, alongamento, desdobramento e ruptura do escoamento das amostras (VIKTOROV, Vladimir; MAHMUD, Md Readul; VISCONTE, Carmen; 2016). Neste ínterim, a literatura dispõe de diversos técnicas de geração de mistura em dispositivos passivos, dais quais estão inclusas: laminação paralela, laminação serial, injeção de fluxo e colisão de jatos, inclusão de barreiras, formação de gotículas, canais de interseção, advecção caótica, estruturas serpentinas tridimensionais, canais torcidos, tratamento de química de superfície e outros (FAN, Liang Liang et al., 2017; FARSHCHIAN, Bahador et al., 2017; RAFEIE, Mehdi et al., 2017; SAYAH, Abdeljalil; GIJS, Martin, 2016; SUDARSAN, Arjun Penubulu, 2006). Alguns exemplos destes misturadores serão detalhados a seguir.

A geometria mais fácil e básico para um misturador microfluídico é representado pelas geometrias em forma de T ou Y. Nestes casos, a mistura ocorre na interface entre os líquidos e resulta em misturas ineficientes e lentas (CAPRETTO, Lorenzo et al., 2011). SOLEYMANI, A; KOLEHMAINEN, E; TURUNEN, I (2007) estudaram a dinâmica do fluxo de mistura de líquidos e as suas principais características dentro de canais do tipo-T, sob diferentes valores de **Re (Figura 5).** Os resultados de simulação demonstraram que para baixo **Re** (12), onde o fluxo é estritamente laminar, a mistura ocorre devido à difusão molecular entre as camadas de diferentes concentrações **(Figura 5 (a)).** À medida que **Re** aumenta (80), um aumento na eficiência de mistura se estabelece, indicando que há uma mudança de padrões fluxo (formação de vórtex). No entanto, o princípio de mistura continua sendo a difusão **(Figura 5 (b)).** Em valores mais elevados de **Re** (240), são observados mecanismos de mistura mais complexos dominados por convecção. Logo, a performance de mistura em misturadores do tipo T, está relacionada a parâmetros geométricos do misturador, como o tamanho dos canais, condições de vazão e pressão. Em geral, costuma-se dizer que os misturadores do tipo T e Y, empregam conceitos de laminação simples para promover a mistura, uma vez que essa ocorre no sentido do escoamento e na interface entre os líquidos (HARDT, Steffen; SCHÖNFELD, Friedhelm, 2007).

Com canais um pouco mais complexos, os misturadores baseados em laminação paralela utilizam o conceito de múltiplos fluxos paralelos para aumentar a área interfacial entre as amostras e acelerar o processo de transporte difusivo geral (CAI, Gaozhe et al., 2017; SUDARSAN, Arjun Penubulu, 2006). Assim, melhores resultados de mistura são alcançados em relação a misturadores simples do tipo T e Y. Os exemplos mais recorrentes deste tipo de misturados são os com canais interdigitados. Neste ínterim, HESSEL, V. et al. (2003), estudou as características básicas de interdigitados (**Figura 6**). Os resultados obtidos demonstram que a capacidade e o tempo de mistura são influenciados pela geometria do canal e pelo diâmetro das lamelas formadas. Para o misturador com geometria retangular, nenhuma mistura significativa foi observada. Por outro lado, os misturadores com geometrias triangular, *slip-shaped* e super foco, demonstraram bons resultados de mistura. Na versão super foco, na qual as lamelas são muito mais finas do que as apresentadas pelas outras geometrias, a mistura ocorreu rapidamente (cerca de 10 ms). Apesar dos autores concluírem que bons resultados de mistura foram alcançados, o estudo de mistura foi baseado em dados meramente visuais.

Outra técnica capaz de promover mistura é a partir da formação de gotículas (**Figura 7**). Nesse tipo de sistema, elementos fluidos são confinados em gotículas e misturados rapidamente

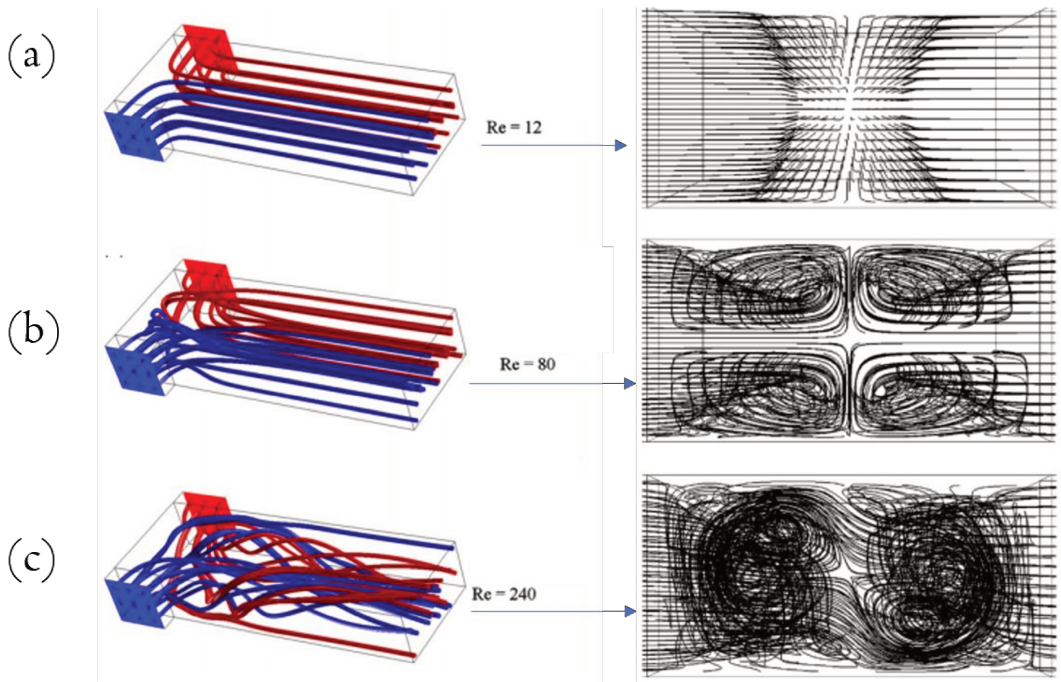

Figura 5:Linhas de trajetória de fluidos e perfil de mistura ao longo de um misturador do tipo T, sob diferentes valores de **Re**. **(a)**, **(b)** e **(c)** correspondem a Re = 12, 80 e 240, respectivamente. Embora os diferentes **Re** estejam na faixa de escoamento laminar, há um aumento no desenvolvimento de vórtices com números o aumento do **Re** e, consequentemente, uma melhor eficiência de mistura. Imagem extraída (SOLEYMANI, A.; KOLEHMAINEN, E.; TURUNEN, I; 2007).

em um fluxo instável, induzido pela geometria periódica e alternada das paredes dos canais e pelo cruzamento de linhas de corrente de fluxo, que levam a diminuição do comprimento da *striation* - distância sobre a qual a mistura deve ocorrer por difusão e acelera o processo de mistura em gotículas por convecção (STONE, Z. B; STONE, H. A; 2005). O princípio de formação de mistura desse sistema é ilustrado na (**Figura 7 (a)**). GUO, Zhi-Xiao et al. (2011) reportou o desenvolvimento de um dispositivo microfluídico de mistura, baseado na geração de gotículas. O dispositivo foi ativado pelo controle de válvulas pneumáticas, que tornou possível a manipulação precisa das gotas, seja individual, mesclada ou misturada. O dispositivo foi fabricado em **PDMS** - vidro e seguiu os protocolos padrões de fotolitografia positiva para gravação dos canais e negativa para a fabricação da camada de controle pneumático, seguida de selagem em plasma de oxigênio. Usando este misturador, gotas de água **DI** e corante alimentar azul foram mesclados e depois bem misturados (**Figura 7 (b)**). Os resultados deste

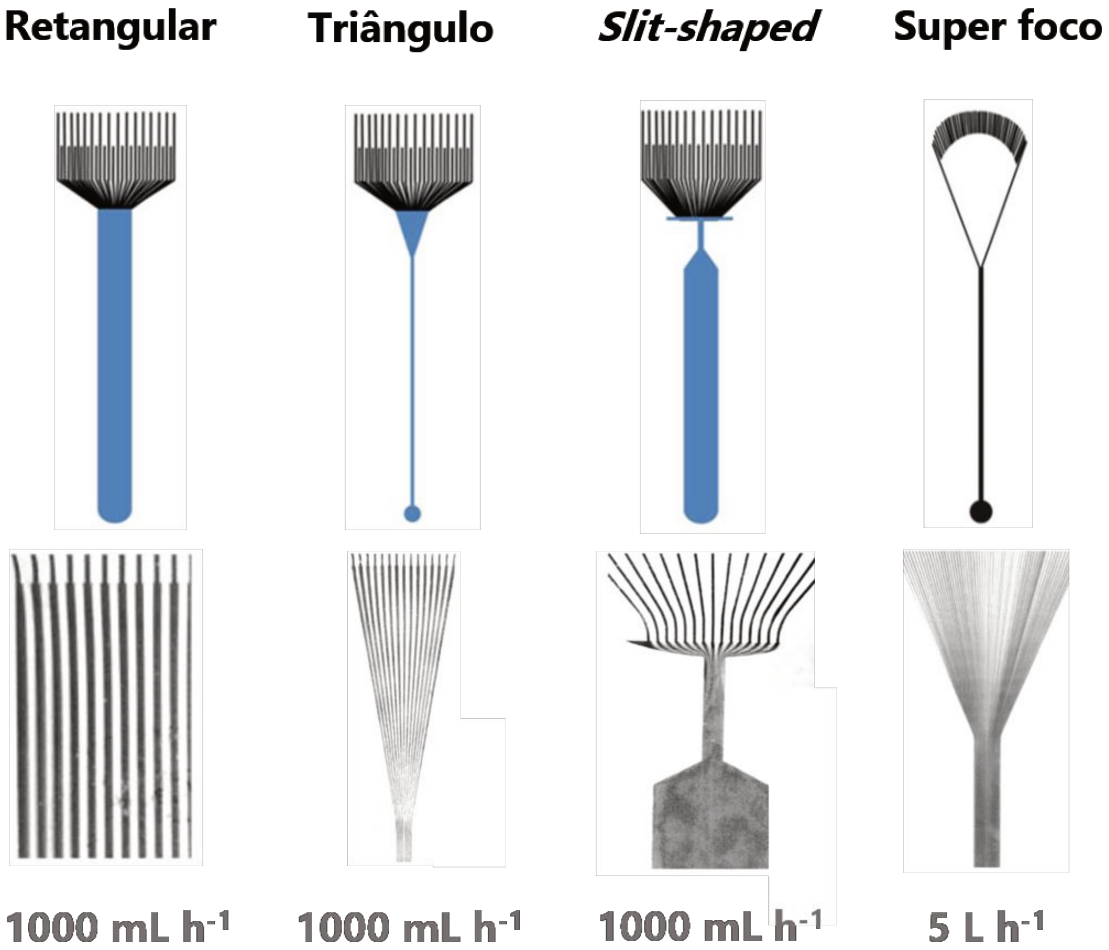

Figura 6: Design e características de mistura de misturadores interdigitados baseados no efeito de laminação. Da direita para a esquerda, tem-se geometria retangular, triangular, *slit-shaped* e super foco, respectivamente. A parte inferior da imagem é referente aos resultados de mistura de água **DI** e solução azul obtidos para cada geometria. Figura extraída e adaptada (HESSEL, V. et al., 2003).

estudo foram baseados em análises visuais de formação de mistura. Algumas desvantagens da utilização desse método, dizem respeito a utilização de um componente imiscível (fase de arraste), o que nem sempre é requerido e a produtividade e frequência de mistura, uma vez a mistura é limitada a formação de gotas.

Diferentemente dos misturadores passivos baseados em laminação, onde a mistura geralmente ocorre na direção do escoamento, os misturadores baseados em advecção caótica promovem a mistura pela circulação de um fluxo transversal. Mais especificadamente, os misturadores fundamentados na advecção caótica estão relacionados à imposição de perturbação no fluxo, gerando circulações de fluxos transversal, que levam ao aumento da área interfacial, diminuem o caminho de difusão e consequentemente melhoram a mistura (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E., 2015).

Comumente, misturadores passivos baseados em advecção caótica empregam microestruturas internas (barreiras), canais curvos (**2D**) ou geometrias complexas (**3D**) e inserindo estruturas de baixo relevo na parede do canal, para favorecer a mistura (FAN, Liang Liang et al., 2017; FARSHCHIAN, Bahador et al., 2017; RAFEIE, Mehdi et al., 2017).

A maneira mais simples de induzir o fluxo transversal é inserir um obstáculo no canal de mistura (**Figura 8**). A presença de obstáculos altera a direção do fluxo, e as linhas de fluxo induzem a uma recirculação do fluxo (fluxo secundário) que criam o transporte de massa transversal. Isso conduz ao aumento da área interfacial e reduz o caminho de difusão (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E., 2015). Neste sentido, FAN, Liang Liang et al. (2017), induziu a instabilidade de escoamento de duas amostras (água e corante) em um dispositivo com geometria em Y, composto por uma série de estruturas pontiagudas internas

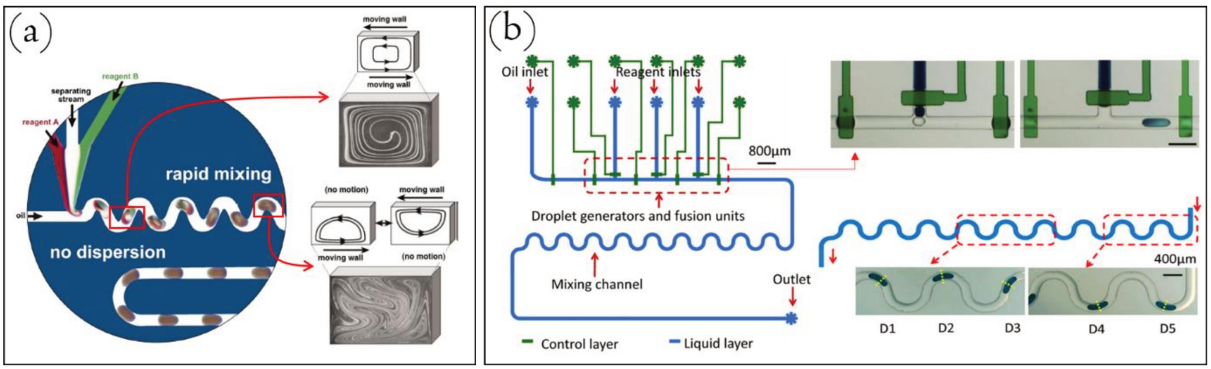

Figura 7: Misturadores passivos baseados na geração de gotículas. **(a)** Ilustração do processo de geração de misturas em dispositivos microfluídicos baseados em gotículas. **(b)** Figura esquemática do projeto do dispositivo microfluídico baseado em válvulas, incluindo três partes: geradores de gotículas, unidades de fusão ativas e canal de mistura. Em destaque mostra-se o processo de mistura resultante. Imagens adaptadas (SONG, Helen; TICE, Joshua; ISMAGILOV, Rustem, 2003; GUO, Zhi-Xiao et al., 2011).

(**Figura 8 (a)**). O dispositivo foi fabricado em **PDMS** e vidro e seguiu etapas convencionais de fotolitografia e selagem em plasma de oxigênio. Os resultados obtidos demonstraram que para altos **Re** (125 – 250), as estruturas internas favoreceram o aumento da área de contato interfacial e provocaram uma redução na distância de difusão (**Figura 8 (b)**). Além disso, para **Re** igual a 250, uma eficiência de mistura ~ 88,2% foi alcançada em menos de 4,1 ms. No entanto, para baixos **Re** (4,2 – 83), a mistura foi gradativamente reduzida com o aumento da vazão (**EM** ~78.3 – ~63.7%). Isso demonstrou que a presença de obstáculos no microcanal não são muito eficientes na criação fluxo transversal a menos que sejam usados em **Re** moderadamente alto (tipicamente mais de 100) (STROOCK, Abraham et al., 2002).

Alternativamente a utilização de barreiras internas no microcanal, FARSHCHIAN, Bahador et al. (2017), propôs a utilização de dispositivos microfluídicos com paredes de canais decoradas com micro e nanoestruturas para formação de misturas (**Figura 9**). Para tal, quatro dispositivos foram estudados (**Figura 9 (a)**). Os dispositivos foram fabricados pela sequência de técnicas: fabricação de moldes, pré padronização de **PMMA**; nanomoldagem **3D** e selagem assistida por solvente. A região da secção transversal do canal e suas estriações são apresentados (**Figura 9 (b)**). A capacidade de mistura do dispositivo foi avaliada em termos de simulação númerica e experimental. Os resultados obtidos mostraram que para **Re** extremamente baixos (1,85), o canal simples (sem a presença de estriações) produziu a mistura por difusão na interface dos fluidos que se movem lado a lado ao longo do canal, enquanto que os canais estriados provocaram a mistura pela combinação de advecção e difusão. Além disso,

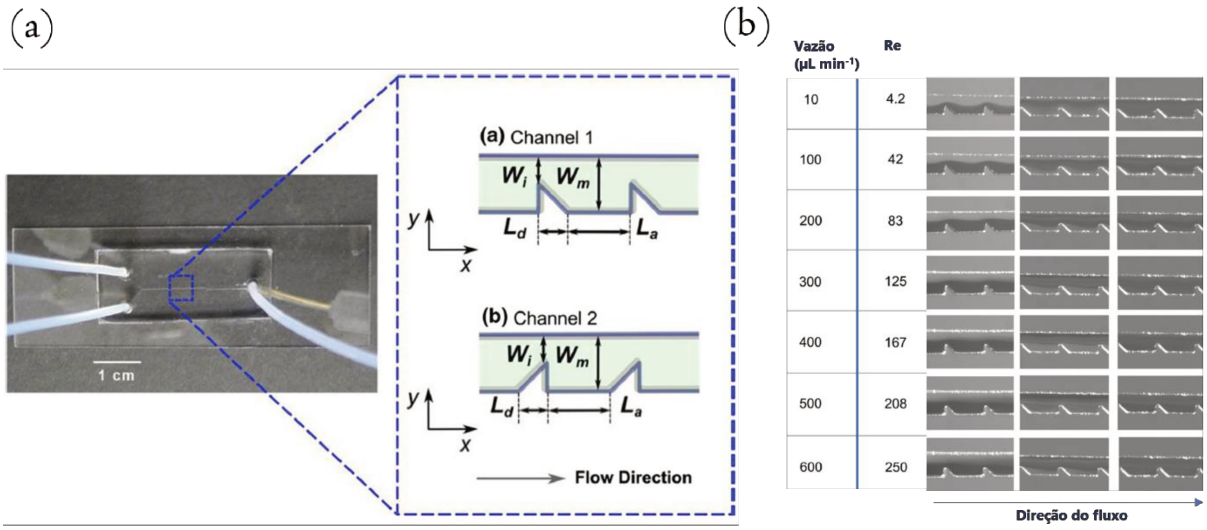

Figura 8:Dispositivo com geometria em Y, composto por uma série de estruturas pontiagudas internas. **(a)** Diagrama esquemático das estruturas internas do microcanal. **(b)** Resultados experimentais de mistura de dois líquidos (água e corante) sob diferentes condições de vazões e **Re** (Canal 1). Figura extraída e adaptada (FAN, Liang Liang et al., 2017).

com o aumento do número de paredes estriadas melhores resultados de mistura foram obtidos (**Figura 9 (c)**). Para **Re** maiores (7,4), a mistura gerada foi reduzida em função do número de paredes estriadas, exceto para o dispositivo com três lados estriados que gerou resultados significativos e comparáveis com o canal simples. Tais resultados demonstraram que a utilização de estriações nas paredes de canais, combinadas com altas vazões produzem resultados satisfatórios. No entanto, se considerar que estes resultados são comparáveis aos gerados em misturadores simples, sua utilização em microfluídica é desvantajosa, dado o laborioso processo de fabricação.

Outra alternativa hábil para a geração de instabilidade no escoamento é baseada no efeito de dividir e recombinar (**SAR**). Os dispositivos baseados neste fundamento, demandam geometrias complexas que provoquem a separação, recombinação e rearranjo de fluxos (MANSUR et al., 2008). Nesta perspectiva, FENG, Xiangsong; REN, Yokun; JIANG, Hongyuan (2013), estudaram o desempenho de mistura de um dispositivo com geometria XH, baseada no efeito **SAR** e comparou com o desempenho de misturador simples com geometria em Y (**Figura 10**). Para tal, os dispositivos foram fabricados integralmente em **PDMS**, seguindo protocolos padrões de fotolitografia e selagem em plasma de oxigênio. O dispositivo com geometria XH, foi construído em **2D**, mas apresenta-se na forma **3D**, uma vez que ele foi composto por múltiplas camadas de **PDMS**. O estudo de mistura foi explorado utilizando o princípio de reação colorimétrica com base na variação de pH. Assim, a eficiência de mistura pode ser quantificada e explorada com a variação do **Re** (0,3 - 6). Para estes valores de **Re**, a eficiência de mistura foi aumentada de 25,5% para 66,7% para o canal em Y, enquanto que para a geometria XH, a eficiência foi aumentada para 91,8%. Além disso, de acordo com as imagens obtidas, os autores

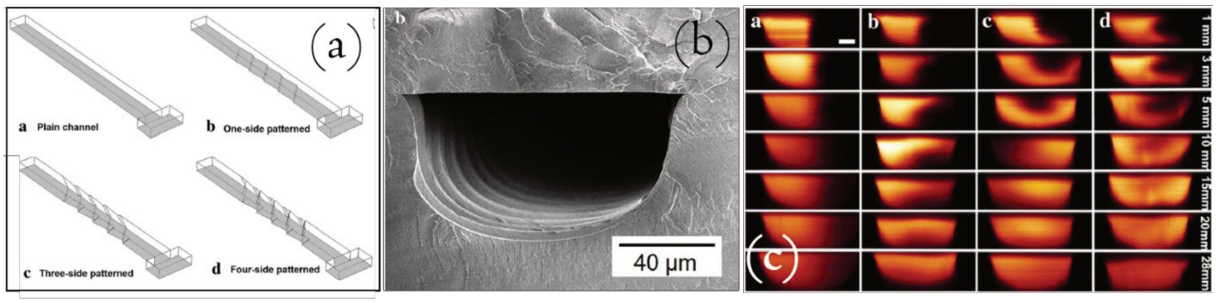

Figura 9: Misturador passivo estriado **(a)** Ilustração esquemática das geometrias de canais estudadas sendo a, b, e c, canal sem estriação, com uma, três e quatro paredes estriadas, respectivamente; **(b)** Imagem de **SEM** da seção transversal de um canal estriado; **(c)** Imagens de microscópio confocal para seções transversais dos microcanais fabricados (a vazão total aplicada em cada dispositivo foi de 40 µl min^{-1}). Figura extraida e adaptada (FARSHCHIAN, Bahador et al., 2017).

descreveram que os principais mecanismos de mistura presente nesses sistemas são a difusão e a advecção caótica.

Uma solução eficiente para induzir fluxos transversais em dispositivos microfluídicos que tem recebido grande destaque, é o emprego de canais tridimensionais complexos. Isto, porque com o avanço de técnicas de fabricação, microestruturas complexas que antes não eram possíveis de serem fabricadas por técnicas convencionais (**2D**), passaram a ser possiveis com a escrita a laser e com a manufatura aditiva (HUNZIKER, Patrick et al., 2015; SALIEB-BEUGELAAR, Georgette et al., 2016). Assim, associar características de longos comprimentos de canais em um espaço de trabalho limitado, geometrias complexas com diversas dobragens e colisões de fluxos em dimensão **3D**, são favoráveis para afetar drasticamente o escoamento, propiciando uma superfície de contato com maior perturbação e tempo de contato (SALIEB-BEUGELAAR, Georgette et al., 2016; RAFEIE, Mehdi et al., 2017). Recentemente, RAFEIE, Mehdi et al. (2017), fabricou um misturador com geometria complexa em forma de uma lemniscata com rosca tridimensional e avaliou sua capacidade de mistura frente a outras geometrias complexas (**Figura 11**). Os dispositivos foram obtidos pela combinação de técnicas de manufatura aditiva e polimerização e remoção do *scaffold*. O *scaffold* foi obtido em cera e enclausurado em uma estrutura composta por **PDMS**. Após a cura do **PDMS**, o *scaffold* foi fundido em estufa a 120 °C e removido por meio da lavagem contínua do canal usando água quente e óleo vegetal (**Figura 11 (a)**). A capacidade de mistura do dispositivo foi avaliada em termos de simulação numérica e experimental, e demonstrou um alto potencial de aplicações

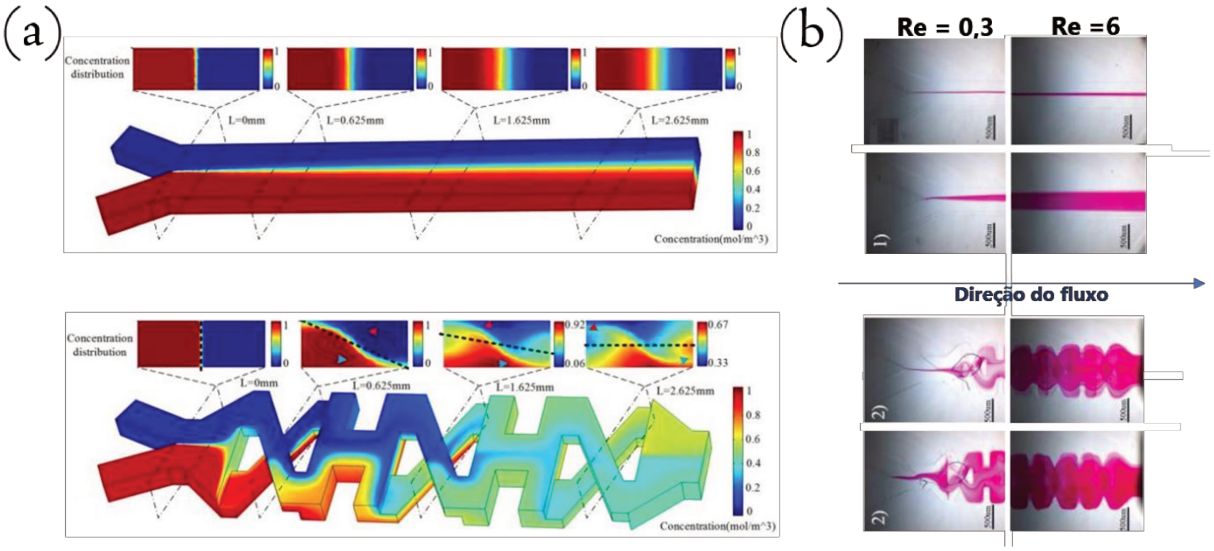

Figura 10: Comparação dos resultados de mistura obtidos para um misturador em Y (baseado em laminação) e para o misturador com geometria XH **(SAR). (a)** Geometria dos misturadores e resultado de simulação numérica para perfil de mistura. **(b)** Resultados experimentais de mistura em função de diferentes **Re**. Figura extraída e adaptada (FENG, Xiangsong; REN, Yokun; JIANG, Hongyuan, 2013).

para sistemas que requerem misturas vigorosas (**Figura 11 (b)**). Os resultados obtidos por simulação numérica mostraram uma eficiência de mistura máxima de 97,3% para o dispositivo com geometria de canal em forma de lemniscata com rosca, enquanto que para a estrutura em lemniscata simples foi de 60,6%. Além disso, os resultados experimentais mostraram que a capacidade de mistura do dispositivo com canal em forma de lemniscata com rosca foi superior a 90% para **Re** igual a 1,58.

Em geral, os misturadores passivos baseados em advecção caótica apresentam excelentes resultados de eficiência de mistura, no entanto, ainda, limitam-se pela complexidade de fabricação dos canais e alto custo inerente a instrumentação. Isto inclui, até mesmo, os dispositivos obtidos por técnicas de manufatura aditiva ou combinação de técnicas, já que requerem equipamentos com elevada resolução e alto valor agregado.

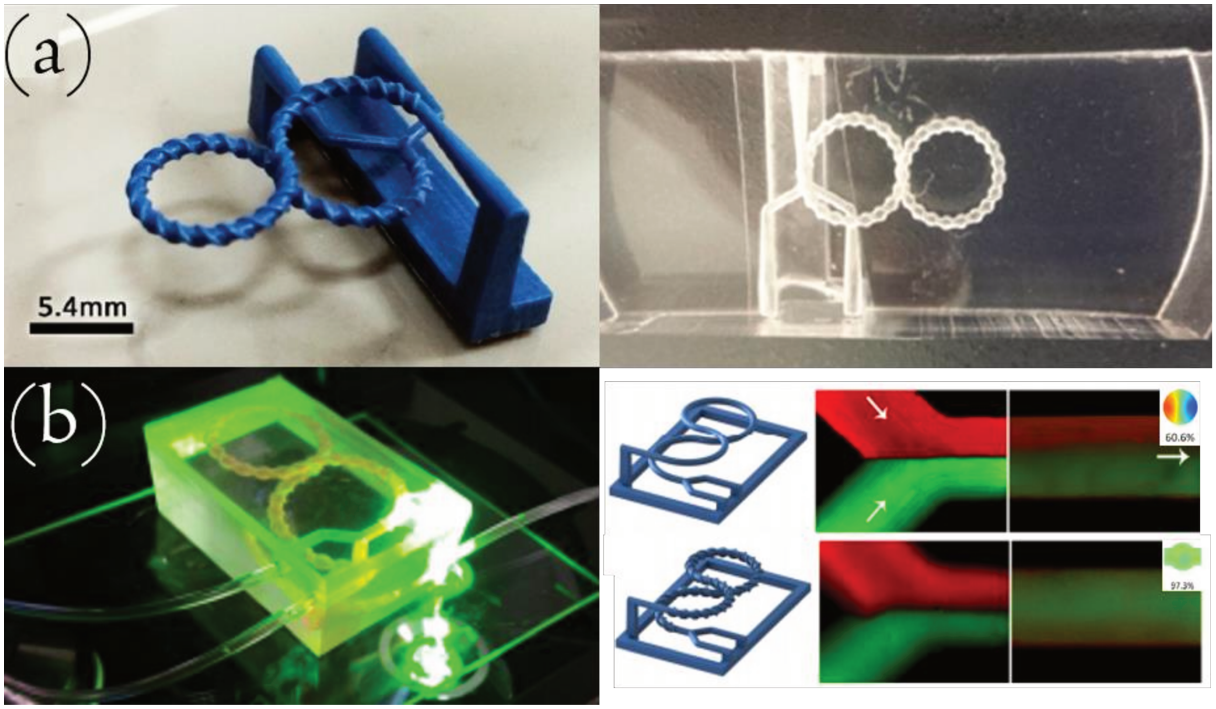

Figura 11: Desempenho de mistura de um dispositivo com geometria complexa em forma de uma lemniscata com rosca. **(a)** Da esquerda para a direita, tem-se o scaffold do canal, obtido por manufatura aditiva, e o dispositivo pronto, após a cura do **PDMS** e remoção do scaffold. **(b)** Estudo de mistura e resultados obtidos experimentalmente e computacionalmente para o dispositivo com geometria simples de lemniscata e o com rosca. Figura extraída e adaptada (RAFEIE, Mehdi et al., 2017).

2.2.2.2 Misturadores passivos assistidos por turbulência

A geração de escoamento turbulento em misturadores passivos tem sido um desafio crítico para a microfluídica há mais de uma década. Recentes progressos no desenvolvimento e aplicações de microdispositivos proporcionaram motivação para uma melhor compreensão do transporte de fluidos em microescala e para o desenvolvimento de dispositivos microfluídicos assistidos por turbulência. Nessa direção, novos métodos de microfabricação têm emergido a fim de induzir ou suportar a geração de escoamento turbulento em microcanais.

YOU, Jae Beem et al. (2015) descreveu de forma inédita a geração de escoamento turbulento em microfluídica assistido por vazões elevadas. Além disso, este trabalho foi o pioneiro a demonstrar a geração de escoamento turbulento em misturadores passivos. Para alcançar tal propósito, os dispositivos foram obtidos através de um processo de fotolitografia, com a gravação dos canais por corrosão e selagem baseada em modificação química de canais, em formato de Y com 1,5 cm de comprimento e geometria quadrada (150 µm x 150 µm), foram capazes de suportar uma vazão de 40 mL min^{-1} (**Figura 12 (a)**). Sob essa condição, uma mistura dos líquidos por turbulência foi registrada ao observar a homogeneização dos fluidos em um

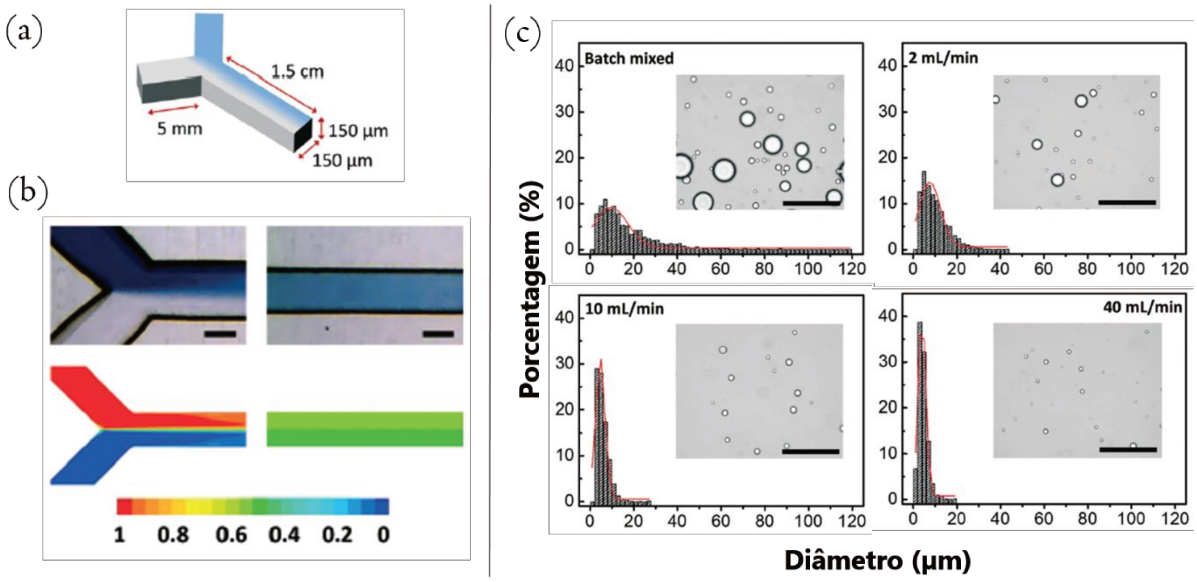

Figura 12: Dispositivo microfluídico operado a vazões excessivamente altas. **(a)** Representação esquemática do dispositivo microfabricado, cuja secção transversal é de 150 µm × 150 µm e comprimento de 1,5 cm. **(b)** Perfis de intensidade de mistura obtidos experimentalmente e computacionalmente na condição de vazão de 40 mL min^{-1}. Barra de erro = 150 µm **(c)** Distribuição de tamanho da emulsão preparada por mistura em batelada (superior esquerdo) e pelo misturador microfluídico operado em vazões totais de 2 mL min^{-1} (superior direito), 10 mL min^{-1} (inferior esquerdo) e 40 mL min^{-1} (canto inferior direito). Barra de erro = 100 µm Figura extraída e adaptada (YOU, Jae Bem et al., 2015).

canal reto, sem a presença de quaisquer desestabilizadores de fluxo (**Figura 12 (b)**). A existência desse regime de fluxo foi ratificada pelo cálculo de **Re** (~4400) e através de dados de simulação computacional. Ademais, a importância da geração de misturas turbulentas em microfluídica foi explorada pelo estudo de emulsionamento de óleo de silicone em água **DI**, em diferentes vazões (2, 10 e 40 mL min^{-1}) (**Figura 12 (c)**). E, demonstrou que com o aumento da vazão dentro do canal microfluídico, o tamanho das emulsões diminui significativamente com a distribuição de tamanho, devido à alta energia de dissipação dos fluxos.

Na sequência, ADAM, Tijjani e HASHIM, B. (2016) descreveram a geração de escoamento turbulento em baixos valores de **Re**. Neste caso, a estratégia adotada para geração do regime turbulento foi baseada na divisão de fluxo através de geometria ziguezague e recombinação devido a um ângulo de giro curto. Os dispositivos foram fabricados em **PDMS** e substrato de vidro e seguiram os protocolos padrões de fotolitografia. A performance dos dispositivos foi avaliada computacionalmente e quantitativamente pela eficiência de mistura de quatro amostras de urina, analisando os perfis de fluxo registrados e os valores de imagem coletados por um microscópio posicionado nas regiões de entrada e saída do dispositivo. Vazões de 10 - 50 nL s^{-1} foram aplicadas nos dispositivos. Nessas condições, o dispositivo foi capaz de distinguir diferentes concentrações de fluidos e obter perfis de mistura homogêneos, com eficiência de mistura de 98% e número de Reynolds inferiores a 2. Mesmo obtendo baixos valores de Reynolds, e sem realizar uma simulação computacional do regime de escoamento, os autores concluíram que o dispositivo microfluídico foi capaz de gerar o escoamento turbulento. Além disso, os autores não demonstraram as imagens das misturas geradas no processo, ao qual resultou a elevada eficiência de mistura.

KUMARAN, V; BANDARU, P (2016), demonstraram uma simples e poderosa estratégia para a geração de escoamento turbulento em um dispositivo composto por uma parede macia (**Figura 13**). Para tal, os dispositivos foram fabricados com microcanais de seção transversal retangular de largura 0,5 mm e quatro diferentes alturas, 35, 50, 75 e 100 μm e comprimento de 2 cm. Estes, possuem duas entradas simétricas conectadas por uma junção em Y, e duas saídas também conectadas por uma junção em Y (**Figura 13 (a)**). Três paredes foram feitas de **PDMS** convencional, obtidas por fotolitografia e replica de molde, enquanto que a parede macia foi obtida através da redução da concentração do agente reticulante durante o processo de fabricação. As paredes foram seladas sobre a camada de **PDMS** macia de 2 mm de espessura. Os chips foram submetidos a três testes de mistura em baixos **Re**. Como resultado, os dispositivos foram capazes de induzir a transição de regime laminar para turbulento pela instabilidade das linhas de fluxo geradas pela parede macia. Para canais de 35 e 100 μm de

altura, uma mistura completa de corantes foi alcançada em **Re** de 226 e 300, respectivamente (**Figura 13 (b)**). Não obstante, os autores não demonstraram esses resultados em termos de eficiência de mistura, o que é desvantajoso neste tipo de estudo, já que eles assumem que uma mistura completa foi atingida.

2.3 Método baseado em microemulsificação

Microemulsões (**ME**) são soluções líquidas opticamente isotrópicas e termodinamicamente estáveis, formadas pela mistura de dois líquidos imiscíveis, tal como água e óleo e estabilizadas pela adição de um surfactante, com ou sem a adição de um cosurfactante

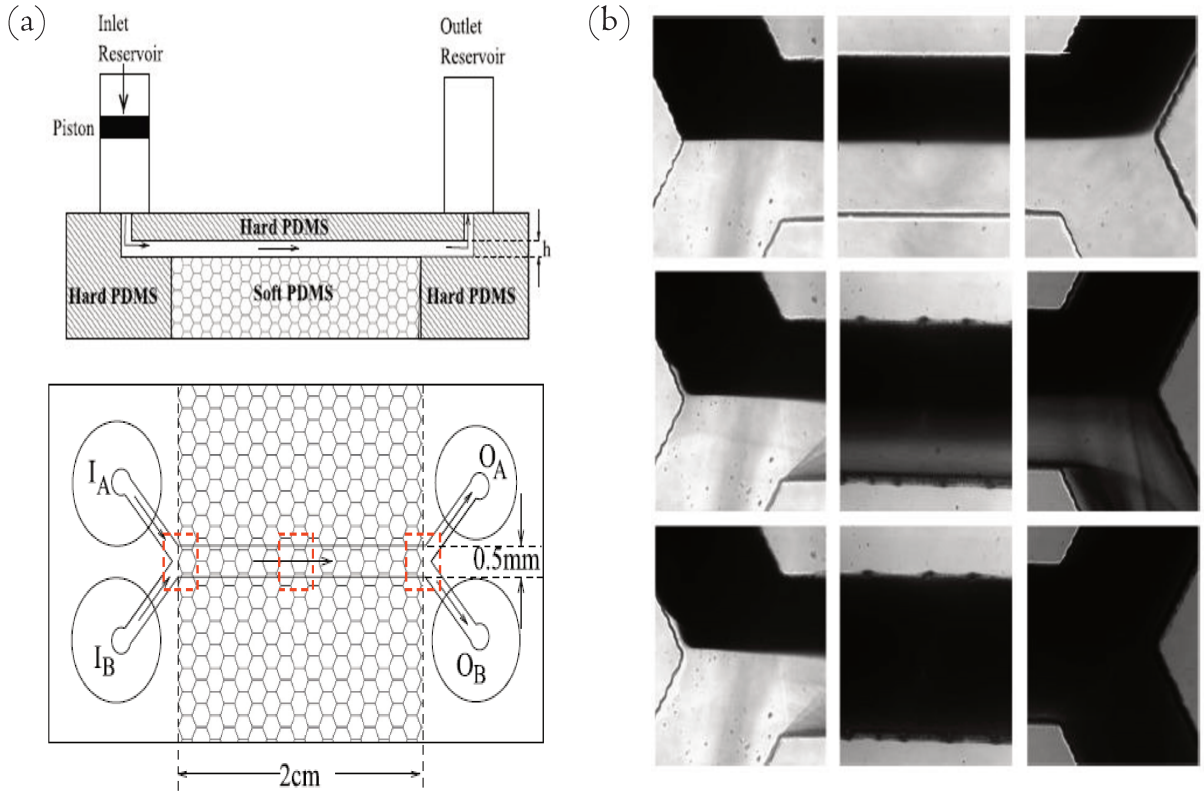

Figura 13:Dispositivo microfluídico turbulento de parede macia. **(a)** Representação esquemática da configuração do dispositivo. **(b)** Imagens do teste de mistura com corante para o microcanal com 100 µm de altura. Da esquerda para direita, tem-se as regiões de entrada, meio e saída do microcanal. As imagens da primeira fileira, segunda e terceira correspondem a Re de 133, 266 e 300, respectivamente. Figura extraída e adaptada (KUMARAN, V; BANDARU, P; 2016).

(FANUN, Monzer, 2009; FORMARIZ, Thalita Pedroni et al., 2005). Em alguns aspectos, as microemulsões podem ser consideradas versões reduzidas de emulsões, ou seja, dispersões do tipo gotículas de óleo em água (**O / A**) ou de água em óleo (**A / O**), com uma faixa de tamanho na ordem de 5−100 nm (DEY, Sajay et al., 2016). Tal descrição, no entanto, carece de precisão, uma vez muitos autores propõe diferentes faixas de tamanho para classificação de **ME** (MCCLEMENTS, David Julian; 2012).

A primeira descrição de microemulsão se remete a 1943, por HOAR, T. P; SCHULMAN, J. H., os quais descreveram esses sistemas como: transparentes ou translúcidos, obtidos por titulação a partir de uma emulsão comum, de modo que seu aspecto se apresenta de forma leitosa e, que quando adicionado um álcool de cadeia média, este sistema clarifica (FORMARIZ, Thalita Pedroni et al., 2005; HOAR, T. P; SCHULMAN, J., 1943). Apesar disso, o termo microemulsão só foi descrito em 1959 (SCHULMAN, Jack; STOECKENIUS, Walter; PRINCE, Leon; 1959). Contudo, aplicações envolvendo **ME** só foram impulsionadas com a crise do petróleo, entre os anos de 1973 e 1979, após sua utilização para recuperação do petróleo retido nos poros de rochas (LIMA, Renato et al., 2014).

Atualmente, sistemas de **ME** são amplamente empregadas pela indústria alimentícia, farmacológica, petroquímica e outras. Ademais, estudos recentes envolvendo aplicações de **ME** incluem entrega controlada de fármaco, extração de óleos e metais, formulações e síntese de uma variedade de compostos, como hidrogel e nanomateriais (JIE, Fengping; BAI, Zhishan; YANG, Xiaoyoung; 2018; RADI, Mohsen; ABBASI, Soleiman; 2018; TABOSA, Maria Alice Maciel et al., 2018; TUMNANTONG, Dusadee; REMPEL, Garry; PRASASSARAKICH, Pattarapan; 2018).

Recentemente, LIMA, Renato et al. (2014) propôs um método baseado em microemulsificação como alternativa potencial para o desenvolvimento de tecnologias *point-of-use* as quais garantem análises baratas, portáteis, rápidas, e simples prescindindo a necessidade por operadores qualificados. Estes métodos possuem relevância econômica e social desde que contribuem para a realização de experimentos *in situ* como o controle de qualidade em linhas de produção de indústrias, monitoramento ambiental, imunoensaios e diagnósticos clínicos nas casas dos pacientes, mesmo em locais com infraestrutura precária e localizações remotas. O método foi utilizado de forma inédita para fins de análise quantitativas, precisas ou preliminares. Além disso, o **MEC** torna-se bastante atrativo devido à combinação e simplicidade, rapidez, portabilidade e baixo consumo de reagentes considerando os parâmetros de precisão, linearidade, robustez e acurácia, para determinações quantitativas de diferentes amostras (LIMA et al., 2014).

Mais especificadamente, o método baseado em microemulsão baseia-se no efeito do analito sobre a entropia de dispersões formadas pelas fases hidrofílica (**A**), hidrofóbica (**O**) e anfifílica (**AP**) durante um processo de microemulsificação. A geração de nanogotas em dispersões termodinamicamente estáveis de microemulsões (transparentes) permite determinações analíticas mediante detecção ótica ou meramente visual da variação de turbidez do sistema.

Sua rotina experimental é similar àquela de titulações volumétricas clássicas onde o 'volume de titulante' equivale, no **MEC**, ao volume mínimo de **AP** requerido para estabilização de dispersões **A/O** (emulsões), gerando **ME**. A transição turvo-transparente que ocorre com esse processo e atua como um 'ponto de viragem', o que permite a detecção visual do sinal analítico ($\mathbf{\Phi_{ME}}$) (DA CUNHA, Jaqueline et al., 2015; GIORDANO, Gabriela et al., 2015; HIGA, Karen et al., 2017; LIMA, Renato et al., 2014; LIMA, Renato et al., 2015). A rotina experimental padrão do **MEC** é simples e depende da natureza do analito, podendo este estar presente em qualquer uma das fases **A**, **O** ou **AP**. Assim, o **MEC** pode ser aplicada a amostras polares, apolares ou anfifílicas. A **Figura 14**, representa a rotina experimental do **MEC**, considerando a natureza do analito como fase hidrofílica e a região **B** do sistema de Winsor, composta por 50% de **A** e 50% de **O**. Neste caso, o analito deverá ser adicionado a fase **A** devido sua natureza química. Experimentalmente, adiciona-se as fases **A** e **O** em mesma proporção em frascos Eppendorf (**Figura 14 (a)**). Em seguida, procede-se com a adição de **AP** a mistura **A/O** até formar **ME** ((**Figura 14 (b)**). O volume de **AP** mínimo necessário para esse processo de microemulsificação, $\mathbf{\Phi_{ME}}$, representa a resposta analítica do método **MEC**. O sinal que caracteriza a formação de **ME** pelo método **MEC** é dado por $\mathbf{\phi_{ME}}$ e representa a menor quantidade de **AP** necessária para gerar **ME**. O valor de $\mathbf{\phi_{ME}}$ é calculado pela **Equação 5:**

$$\mathbf{\phi_{ME} = \frac{FR_{A+O}}{FR_A + FR_{AP}}} \qquad \textbf{Equação 5}$$

onde $\mathbf{FR_{A+O}}$ simboliza a vazão total da fase hidrofílica mais a hidrofóbica, $\mathbf{FR_A}$ e $\mathbf{FR_{AP}}$ representam a quantidade de fase hidrofílica e a anfifílica adicionada ao sistema, respectivamente. Assim, sua medida baseia-se no monitoramento da turbidez do sistema conforme supracitado. Além disso, a geração de microemulsões exige uma etapa de mistura vigorosa desde que envolve uma diminuição expressiva da tensão interfacial. Esta agitação é comumente realizada através de um vórtex.

Ao contrário dos métodos colorimétricos utilizados para aplicações de *point-of-use*, em que a resposta varia com a intensidade de cor, as medidas de Φ_{ME} são baseadas em informação binária: a transição turvo-transparente. Esta conversão corresponde ao ponto de virada nos processos de titulação. Assim, o sinal do **MEC** pode ser detectado com precisão a olho nu, evitando erros inerentes a operadores e condições de luminosidade. Ademais, Φ_{ME} pode ser medido simplesmente por observação direta (detecção visual) o que prescinde o emprego de técnicas instrumentais para a realização do método. Isso é possível graças à redução drástica na turbidez das dispersões.

Os dados obtidos até o momento com o **MEC** incluem: (i) caracterização estrutural das **ME**, testes de (ii) desempenho analítico e (iii) robustez usando hidrótropos e surfactantes como fase **AP** e (iv) diferentes aplicações. Tais aplicações incluem determinações diretas de água em etanol combustível, glicol em amostras de processamento de condensado de gás natural, etanol em caldo de cana-de-açúcar fermentado e mais recentemente etanol em bebidas alcoólicas comerciais (DA CUNHA, Jaqueline et al., 2015; GIORDANO, Gabriela et al., 2015; HIGA, Karen et al., 2017; LIMA, Renato et al., 2014; LIMA, Renato et al.; 2015). Além da acurácia, demais figuras de mérito foram satisfatórias, quais sejam, linearidade em faixas de concentração amplas e a robustez frente a desvios na preparação volumétrica das **ME**, e variações na temperatura e força iônica. Além disso, o Instituto Nacional da Propriedade Industrial protocolou o pedido de patente desta invenção BR 10 2014 032785-1, de titularidade da Petrobras e do CNPEM (LNNANO, 2016).

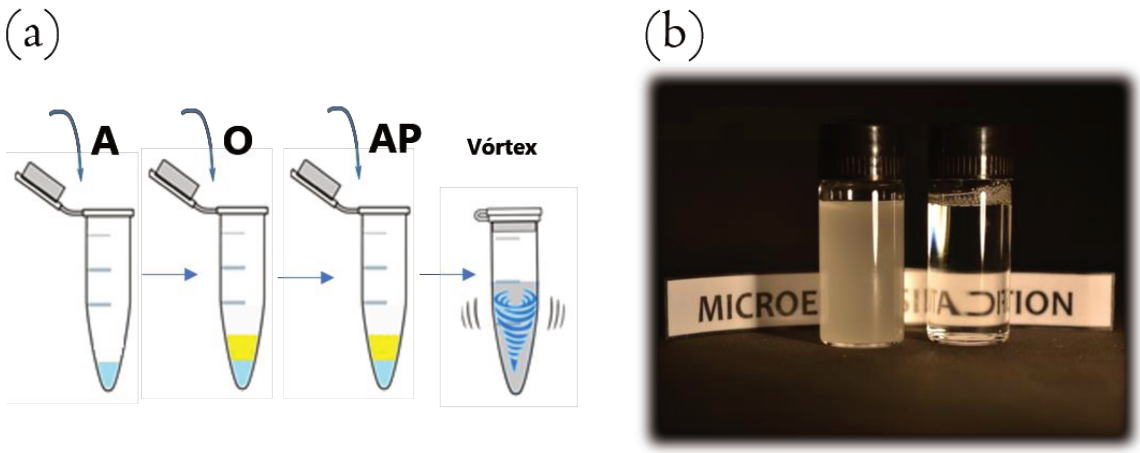

Figura 14: Rotina experimental do **MEC** considerando a região B do sistema de Winsor (50 % de **A** e 50 % **O**). **(a)** Adição das fases **A** (contendo o analito), seguida pela adição da fase **O** e **AP**. A formação de mistura exige uma etapa de mistura vigorosa, na qual é conduzida com o auxílio de um vórtex **(b)** Transição turvo (esquerda) – transparente (direita). Figuras extraídas e adaptadas (GIORDANO, Gabriela et al., 2015; HIGA, Karen; 2018).

Apesar das vantagens de utilização do **MEC** para experimentos *in situ*, ele exibe uma baixa velocidade de análise para testes com múltiplas amostras. Tal fato, impulsionou o desenvolvimento de um novo modo experimental, baseado em análises semi quantitativas usando uma placa de *96-deep-well plate* (**DWP**) e uma micropipeta multicanal para preparo das dispersões (HIGA, Karen et al., 2017). A **Figura 15** ilustra o protocolo de análise **DWP**. Neste caso, a fase **O** (**Figura 15 (a)**) é adicionada com volume igual em todas colunas, seguida da adição de **AP** com volumes diferentes para cada linha (A-H) (**Figura 15 (b)**). Na sequência, a fase **A** é adicionada com volume constante em todas as colunas (**Figura 15 (c)**). A placa é agitada manualmente, graças a utilização de tampas individuais para cada poço. Com isso, este protocolo permite uma triagem simultânea de até 12 amostras com resolução máxima de 8 faixas de concentração em uma única corrida (**Figura 15 (d)**). Garantindo, assim, maiores velocidades de análise do que o método convencional do **MEC**.

Todavia, assim como no método padrão do **MEC**, a realização do protocolo **DWP** requer operadores qualificados, depende de fatores pessoais para visualização do ponto de viragem, e são limitadas a X amostras por operadores. Este último caso, em especial, é crucial para o emprego desta tecnologia por indústrias que requerem grandes demandas de análise, uma vez

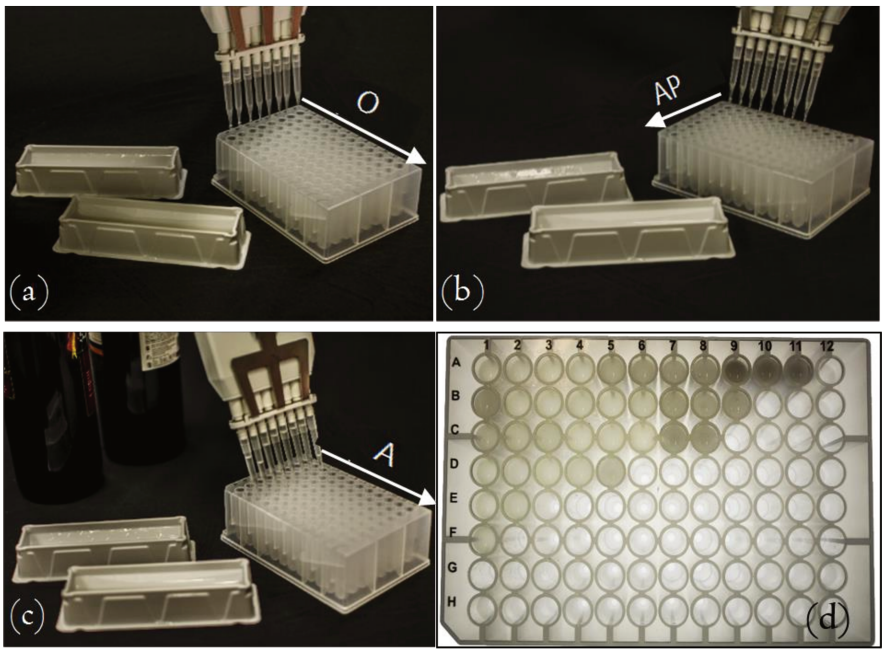

Figura 15: Ilustração esquemática do procedimento **DWP** baseado no **MEC**. **(a)** adição de **O** em igual volume para as diferentes colunas, **(b)** adição de **AP** com volumes diferentes para cada linha, **(c)** adição de **A** com volumes iguais para ambas colunas e em **(d)** tem-se uma ilustração da transição turvo-transparente na placa **DWP**, contendo analito em diferentes concentrações. Figura extraída e adaptada (HIGA, Karen et al., 2017).

que múltiplas pipetagens manuais podem ser prejudiciais tanto para o operador quanto para a análise.

2.4 Extração líquido-líquido

A extração líquido-líquido (LLE, do inglês *liquid/liquid extraction*) é uma técnica de preparação de amostras empregada por diversas áreas, das quais incluem química analítica e orgânica, engenharia química e de alimentos, biologia e ciências ambientais (MARY, Pacaline; STUDER, Vicent; TABELING, Patrick; 2008). Algumas aplicações especificas da **LLE**, incluem: purificação, pré-concentração e supressão de interferentes para garantir experimentos sensíveis e precisos, e determinação do coeficiente de distribuição (AGOSTINO, Fletcher; KRYLOV, Sergey; 2015; CHEN, Hong et al., 2005; PERONIA, Daniela et al., 2012; WÄGLI, Philip et al. 2013; Hellé, G; Mariet, C; Cote, G; 2015; POUSEN, Carl Esben et al., 2015).

O protocolo experimental padrão para **LLE** é baseado no método de agitação de frasco (**SFM**, do inglês *shake-flask method*). De acordo com este protocolo, a distribuição do analito entre as fases hidrofílica e hidrofóbica é obtida mediante agitação vigorosa, que ocorre dentro de um funil de separação. A separação de fases, por sua vez, depende da gravidade. Assim, é necessário que os líquidos permaneçam em repouso por um período de tempo, favorecendo a separação das fases por meio da diferença de densidade entre os fluidos. Como desvantagens, a abordagem **SFM** apresenta alta produção de resíduos orgânicos, baixa frequência analítica e operação multiestágio, na qual corresponde em perda de exatidão e repetibilidade (POUSEN, Carl Esben et al., 2015).

Nesse sentido, adotar sistemas miniaturizados para a realização da **LLE** em substituição ao **SFM**, garante diversas vantagens, como: alta frequência analítica e baixo consumo de reagentes químicos. Desta forma, muitos esforços têm sido direcionados para o desenvolvimento e implantação de **LLE** em microfluídica. Além das vantagens supracitadas, a microfluídica também permite a automação do processo, melhorando a precisão e o controle das propriedades físicas e químicas dos sistemas estudados. Devido a magnitude dos microcanais adotados pela microfluídica, na qual fornecem uma grande relação superfície-volume, os fenômenos de transporte ocorrem mais rapidamente. Como consequência, as extrações ocorrem mais rapidamente do que as plataformas de tamanho normal. Além disso, o fator de preconcentração pode ser fácil mente aumentado em microfluídica, alterando apenas a

taxa de fluxo das fases hidrofílica hidrofóbica (MARY, Pacaline; STUDER, Vicent; TABELING, Patrick; 2008; PERONIA, Daniela et al., 2012; Hellé, G; Mariet, C; Cote, G; 2015).

Os métodos de **LLE** em microfluídica são frequentemente classificados de acordo com o contato entre as fases hidrofílica e hidrofóbica. Esses métodos são baseados em filtro H, fluxo segmentado e gotículas.

Em geral, as vantagens de utilização do método baseado em filtro H, estão relacionadas com a baixa complexidade de fabricação dos dispositivos microfluídicos e com sua capacidade de não gerar emulsão durante o processo de mistura. Por outro lado, as desvantagens associadas ao filtro H incluem baixa eficiência de extração e produtividade, e difícil obtenção de fluxos paralelos estáveis, na qual dependem das taxas de fluxo e compatibilidade entre as paredes dos canais com os meios aquosos e orgânicos. Em alguns casos, a modificações química de superfície é requerida, com intenção de alterar o umedecimento do canal e melhorar a compatibilidade deste com as fases imiscíveis (TOKESHI, Manabu; MINAGAWA, Tomoko; KITAMORI, Takehiko; 2000; HIBARA, Akihide et al., 2002; XIAO, H. et al., 2006; GOYAL, Sachit et al., 2014). No entanto, essas superfícies modificadas podem degradar-se com o tempo devido à solubilidade dos fluidos bombeados ou ataque químico. Além disso, a estabilidade das correntes é alcançada apenas em baixas taxas de fluxo, prejudicando ainda mais a produtividade do processo (PERONIA, Daniela et al., 2012).

Por outro lado, as técnicas de extrações segmentadas de fluxo e gotículas aumentam a eficiência da extração devido ao aumento da área interfacial entre as superfícies. Todavia, esses métodos envolvem processos de fabricação laboriosos, formam emulsões durante a etapa de mistura e consequentemente exigem etapas de separação de fases e coleta (Hellé, G; Mariet, C; Cote, G; 2015; CAI, Zeng-Xuan et al., 2005). Em alguns casos, as emulsões formadas são tão difíceis de serem separadas que requerem a aplicação de altos campos elétricos para sua separação (KRALJ, Jason; SCHMIDTB, Martin; JENSEN, Klavs; 2005).

Além das limitações mencionadas acima, as técnicas de **LLE** em geral apresentam um baixo rendimento. Esta desvantagem está relacionada com o escoamento laminar presente nestes sistemas, na qual geram misturas limitadas por difusão. Portanto, baixos coeficientes de partição são atingidos, exigindo um tempo de residência mínimo razoável das fases no microdispositivo para fornecer extrações quantitativas. Esse tempo pode ser de até 6 até 12 s, e as taxas de fluxo geralmente são de até unidades de mL min^{-1} (MARY, Pacaline; STUDER, Vicent; TABELING, Patrick; 2005; HELLÉ, G; MARIET, C; COTE, G.). Recentemente, HELLÉ, G; MARIET, C; COTE, G (2015), demonstrou uma **LLE** com tempo de residência

extremamente baixo, de apenas 0,6 s, para um sistema de filtro-H com eficiência de extração semelhante à de uma técnica de **SFM**. Este método utilizou sistemas trifásicos, aumentando a área interfacial para transferência de matéria e reduzindo o tempo de difusão. No entanto, a estabilização das correntes laminares co-fluidas foi difícil e o intervalo prático das relações de taxa de fluxo (útil para aumentar a eficiência da extração) foi substancialmente diminuído.

Tomando as desvantagens relativas aos métodos baseados em filtro H, fluxo segmentado e gotículas, é de extrema relevância o desenvolvimento de novos métodos de obtenção de LLE em microfluídica.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Reagentes e aparatos

Sylgard 184 silicone (**PDMS**) foi obtido de Dow Corning (Midland, USA), enquanto que a resina epóxi a base de bisfenol A e endurecedor EpoFix® foram adquiridos de Struers (Ballerup, Dennmark). Acetona, ácido acético, e ácido oleico foram comprados de Labsynth (São Paulo, Brasil). Hidróxido de sódio, anilina e etanol anidro P.A. foram mercados de Merck (Whitehouse Station, USA). Ciclohexano, diclorometano, heptano, hexano, monoetilenoglicol (**MEG**), nitrato de níquel hexahidratado, nitrato de cobre hexahidratado, nitrato de cádmio tetrahidratado, pentano e tolueno foram obtidos comercialmente de Sigma-Aldrich (St. Louis, USA). Cloreto de potássio e nitrato de sódio foram obtidos de Merck de (Darmstadt, Alemanha). Fenolftaleína de Quimibras Indústrias (Rio de Janeiro, Brasil). Bebidas alcoólicas foram compradas em supermercado na cidade de Campinas e incluem vodcas e cachaça (bebidas típicas brasileiras derivadas de cana de açúcar). Quatro amostras de condensado de gás natural foram cedidas pela Petrobras. Todas as soluções foram preparadas com água ultrapura (**DI**) (Milli-Q, Millipore Corp., MA) com resistividade de 18 MΩ cm.

Para conduzir os líquidos até o dispositivo microfluídico, foram utilizadas seringas (Agilent Life Sciences Syringe., 50 mL, Australia) e injetadas através de bombas de seringa adequadas para altas pressões (New Era Pump Systems Inc., NE-8000, Massachusetts, USA).

Um celular Motorola Moto G4 Plus foi utilizado para conduzir a rotina experimental do **MEC** na plataforma microfluídica. As especificações deste celular incluem: câmera com resolução de 16 MP, 4 GB de memória RAM, processador octa-core e sistema operacional Android 6.0.1. Adaptador serial Bluetooth de comunicações RS-232 foi adquirido de Zuchi®. O negatoscópio de LEDs com emissores de luz branca, com dimensões de 24 x 20 x 8 cm, foi comprado de Arktus.

3.2 Microfabricação

Os dispositivos microfluídicos foram fabricados pelo método de polimerização e remoção do *scaffold* (**PSR**), descrito por (DE CAMARGO et al., 2016). Este método de microfabricação é baseado principalmente em duas etapas, quais sejam: I) polimerização e II) remoção de *scaffold* (**Figura 16).** Inicialmente, a geometria desejada para o misturador é obtida em um dado material (*scaffold*) (**Figura 16 (a)**). Em seguida, a matriz polimérica é curada com o *scaffold* incorporado em sua estrutura (**Figura 16 (b)**). Por fim, o *scaffold* é removido gerando microcanais integrados numa peça única de PDMS (**Figura 16 (c)**).

Duas configurações de dispositivos microfluídicos foram realizadas neste trabalho: I) dispositivo com matriz polimérica em **PDMS** e misturador com tripla hélice para a realização de misturas de três fluidos; II) dispositivo com matriz a base de bisfenol A (**BPA**) e misturador com dupla hélice para mistura de dois fluidos.

Para confecção do dispositivo com matriz em **PDMS** e misturador em tripla hélice foram utilizados como *scaffold* três fios de Nylon de 200 µm de diâmetro e 20 cm de comprimento cada. A **Figura 17** mostra as principais etapas de fabricação do dispositivo em **PDMS** visando à realização da mistura de três fluidos. Inicialmente, um bloco de alumínio da forma ao dispositivo. Esse delimitador possui três orifícios numa face e um na face oposta. Os três fios de Nylon, são inseridos individualmente em cada orifício e unidos saem pelo orifício da face oposta. Os fios de Nylon são mantidos esticados através de agulhas de aço inoxidável de diâmetro de 0,8 mm (verde) e de 1,2 mm (rosa) e fixados com conectores *luer-lock* (**Figura 17 (a)**). Assim, é possível enrolar manualmente os fios de Nylon, por meio da rotação no sentido horário da agulha de saída (rosa) (**Figura 17 (b)**). O enrolamento é completado quando o fio

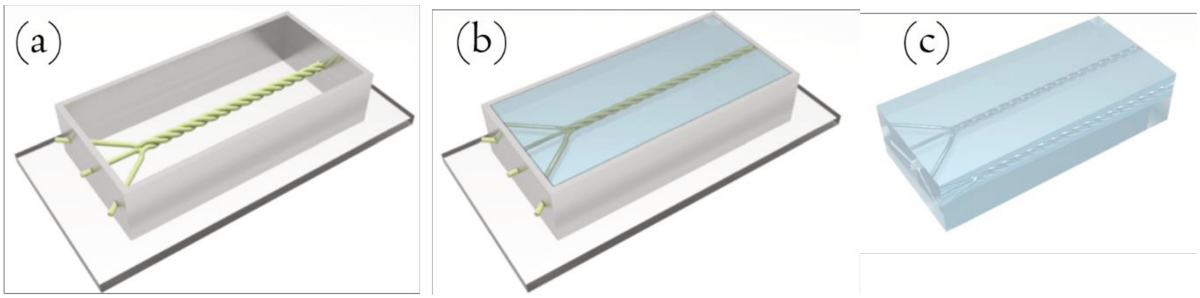

Figura 16: Principais etapas de fabricação do método **PSR. (a)** A geometria do misturador é obtida por um dado *scaffold* (em verde); **(b)** a matriz polimérica (em azul) é curada com o *scaffold* incorporado em sua estrutura e **(c)** o dispositivo é obtido após a remoção do *scaffold*. Figura extraída e adaptada (DE CAMARGO, Camila et al.; 2016)

central individual (entrada) alcançar 15 mm de comprimento e os fios enrolados (misturador) apresentarem um comprimento de 40 mm (dimensões aproximadas) (**Figura 17 (c)**). Essa etapa produzirá um *scaffold* com três fios individuais para entrada dos líquidos e um central enrolado que atuará como misturador na versão final do microdispositivo (**Figura 17 (d)**). A peça metálica é acoplada a um vidro por meio de parafusos em uma superfície metálica plana (**Figura 17 (e)**). Com isso, a estrutura estará pronta para receber o polímero. A matriz polimérica é preparada através da mistura de Silgard 184 e seu agente de cura com uma razão de 10:1 (m/m). Após, a mistura é desgaseificada em vácuo por 45 minutos. Logo, a matriz polimérica de **PDMS** é despejada sobre a estrutura prévia cobrindo integralmente o *scaffold* de Nylon **Figura 17 (f)**). Para acelerar o processo de reticulação do **PDMS**, a estrutura é levada para estufa e aquecida gradativamente (programação para o início do aquecimento em 45 °C, taxa de aquecimento de 10 °C a cada 10 minutos até atingir 95 °C, depois a temperatura é mantida por 20 minutos). Em seguida, a peça é resfriada em temperatura ambiente.

Para a etapa de remoção dos *scaffolds*, as agulhas de fixação dos Nylons de entrada (agulhas verdes) foram removidas cuidadosamente seguindo movimentos de rotação. Em seguida, foi aplicado uma leve tensão de tração sobre a agulha rosa (**Figura 17 (g)**). Isso deverá causar um descolamento gradual do Nylon em relação às paredes do polímero e reduzirá a resistência de fricção e, logo, os fios serão ser removidos facilmente do **PDMS** (**Figura 17 (h)**). Por fim, o dispositivo pode ser removido da peça de metálica e levado novamente à estufa a 120 °C por 20 minutos para completar a reticulação do **PDMS**.

Para a segunda configuração, o dispositivo microfluídico de resina epóxi (**BPA**) foi constituído de duas entradas e um misturador central para a homogeneização dos líquidos (**Figura 18**). Neste caso, dois fios de Nylon de 400 µm de diâmetro e 20 cm de comprimento cada foram utilizados como *scaffold*. Primeiramente, uma peça em ácido polilático (**PLA**) com dimensões de 79 x 29 x 12 mm e 2 mm de espessura foi obtido por impressão 3D com tecnologia de fusão e deposição de material (Sethi3D AiPA3, Campinas, Brasil). Esta peça irá delimitar o volume do dispositivo. Dois orifícios foram feitos à peça de **PLA**, onde foram alocados conectores *luer-lock* em **PTFE**, que servirão como entradas do dispositivo. Na face oposta, um orifício de saída foi forjado e acoplado com uma agulha de 1,2 µm de diâmetro. Cada um dos fios de Nylon foi inserido em um dos conectores *luer-lock* e unidos saem pela face oposta. Os fios são mantidos esticados com o auxílio de conectores *luer-lock* (machos) e enrolados manualmente, seguindo movimento de rotação da agulha. O *scaffold* estará pronto quando o misturador estiver com aproximadamente 55 mm (**Figura 18 (a)**). Neste dispositivo, a matriz

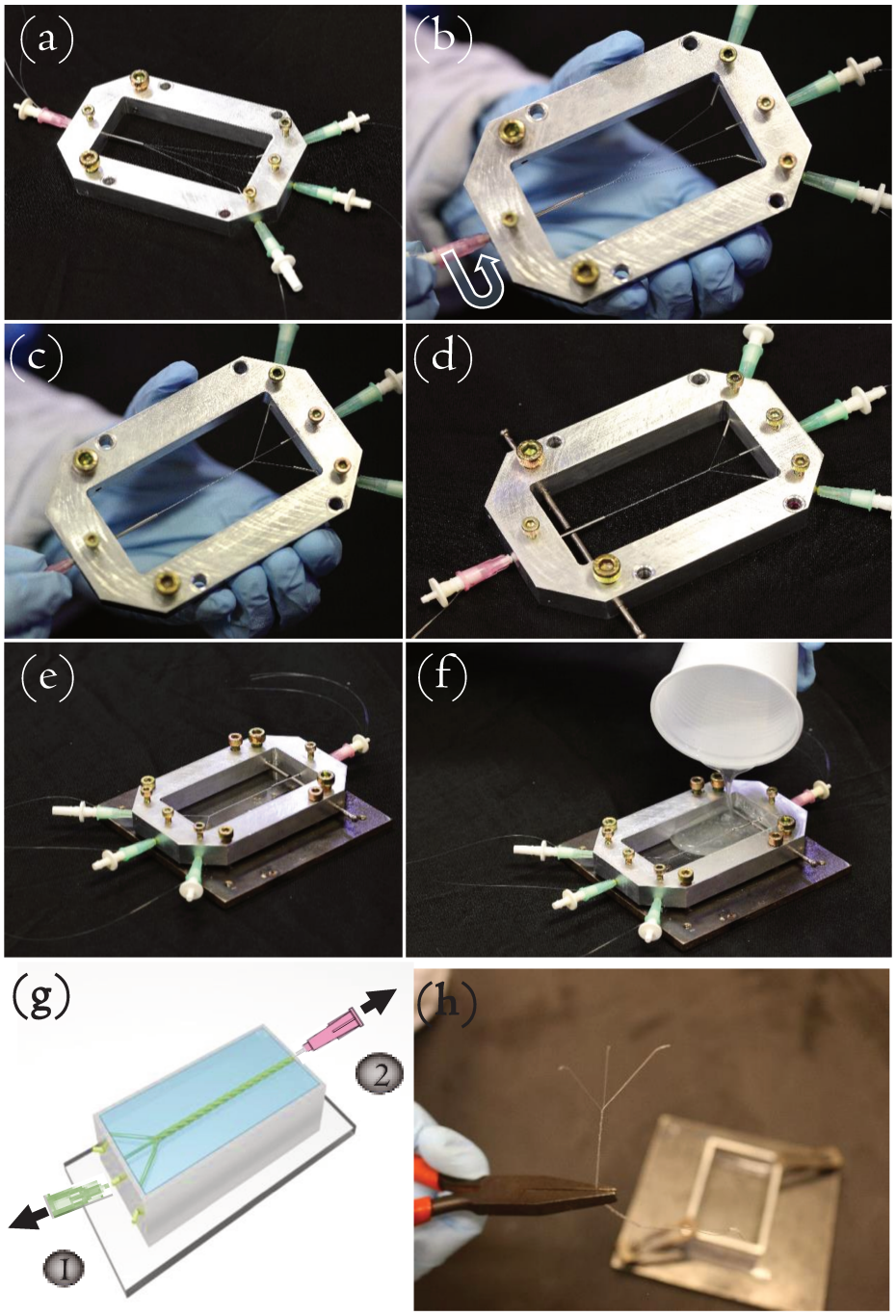

Figura 17: Etapas de microfabricação do dispositivos em **PDMS** visando a mistura de três fluidos. **(a)** Os fios de Nylon são mantidos esticados através de agulhas de aço inoxidável e conectores *luer-lock*; **(b)** Enrolamento manual dos fios de Nylon; **(c)** Os fios devem ser enrolados até que se obtenha aproximadamente 15 mm de comprimento de canais de entrada e 40 mm de canal central; **(d)** O *scaffold* serve de suporte para três canais de entradas e um misturador central (nesta imagem há a adição de tubos metálicos que servem como forma para a adição de fibras ópticas na versão final do dispositivo – esta parte não está inclusa nesta dissertação); **(e)** A peça metálica é fixada sobre uma superfície metálica plana, de modo a evitar o vazamento do **PDMS**; **(f)** A matriz polimérica de **PDMS** é despejada dentro da peça metálica de forma a cobrir integralmente os fios de Nylon; **(g)** Após a cura do **PDMS**, as agulhas verdes são removidas cuidadosamente, seguida pela remoção da agulha rosa juntamente com os fios de Nylon e **(h)** Os fios de Nylon são removidos inteiramente. Figura extraída e adaptada (DE CAMARGO, Camila et al., 2016).

será composta por uma mistura de resina epóxi e agente endurecedor na razão de 15:2 (v/v). A mistura deve ser despejada na piscina de **PLA**, de modo a cobrir integralmente os fios Nylon (**Figura 18 (b)**). A cura da resina é conduzida em temperatura ambiente durante 12 horas. Para facilitar o descolamento dos fios, o dispositivo foi imerso em água quente a 90 °C por 10 minutos. Na sequência os fios de Nylon são removidos com o auxílio de um alicate, aplicando uma tensão de tração e rotação a agulha rosa. Neste caso, o material de suporte (fabricado em **PLA**) será mantido ao dispositivo. Por fim, o dispositivo microfluídico fabricado com resina epóxi **BPA** estará pronto.

3.3 Microscopia

Os canais obtidos pelo método de fabricação **PSR** foram caracterizados através de microscopia eletrônica de varredura e microscopia óptica, com objetivo de se obter informações sobre geometria e diâmetro.

Imagens de seção transversal dos canais de **PDMS** foram coletadas em microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo (SEM-FEG, FEI Inspect F50, Hilsboro, OR). Previamente, todas as amostras foram recobertas com um filme de ouro usando o *sputtering* BAL TEC SCD 050 (Balzers, Liechtenstein). Demais imagens dos microcanais foram obtidos

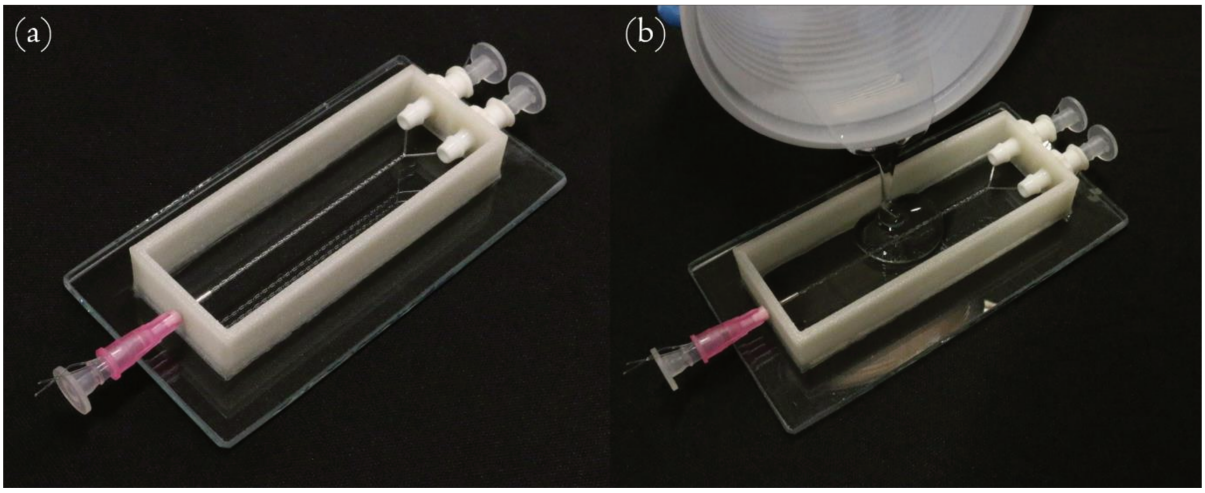

Figura 18: Principais etapas de fabricação do dispositivo microfluídico composto por resina epóxi a base de bisfenol A. **(a)** *Scaffold* do misturador passivo, composto por dois fios de Nylon enrolados manualmente, **(b)** adição da resina epóxi para construção do dispositivo de peça única. Figura extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018).

por estereoscópio (Zeiss, SteREO Discovery V12). Os diâmetros dos canais foram determinados com os softwares LAS Core V3.8 e ImageJ.

3.4 Transporte de líquidos

Para conduzir os líquidos até o dispositivo microfluídico, as soluções foram alocadas em seringas e injetadas através de bombas de seringa adequadas para altas pressões. A conexão entre as bombas e o dispositivo microfluídico foi feita através de conectores *luer-lock* de **PTFE** e mangueiras de Tygon de 1,5 mm de diâmetro interno. No caso dos dispositivos em **PDMS**, agulhas de 1,2 mm de diâmetro (rosa) foram inseridas aos canais de entrada para facilitar a conexão entre o dispositivo e as bombas de fluxo. A plataforma experimental para transporte dos líquidos é mostrada na **Figura 19**.

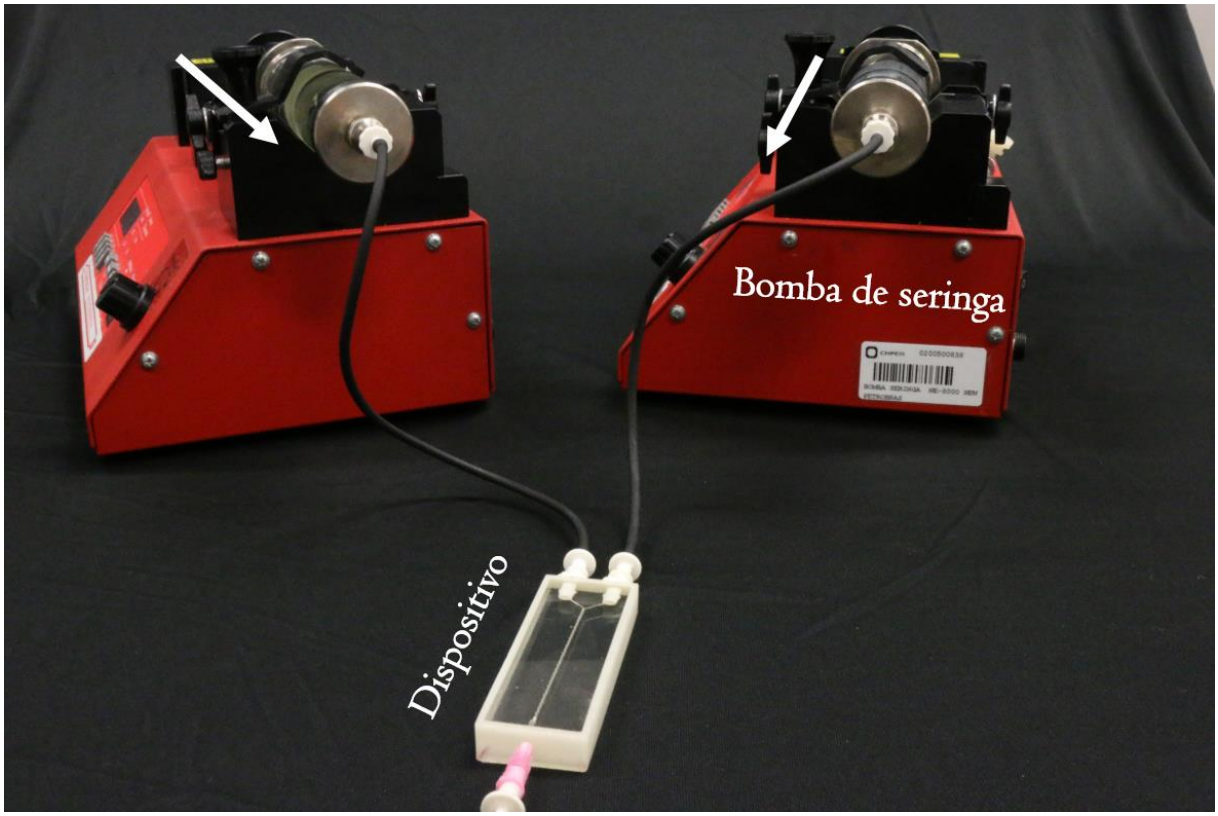

Figura 19:Plataforma experimental para transporte de líquidos. Nessa foto, as bombas de seringas e o microdispositivo são mostrados em destaque. Figura do próprio autor.

3.5 Deformação elástica

Um parâmetro crítico em condições de vazão elevada é a deformação elástica dos microcanais, a qual pode afetar a reprodutibilidade de certas aplicações, como extração líquido-líquido e detecções *in situ*, uma vez que a área de contato poderá ser alterada, bem como seu caminho óptico. Neste sentido, o desempenho dos dispositivos fabricado em **PDMS** e resina epóxi **BPA** foram avaliados em condições de vazão e pressões altas (característica necessária para a geração do escoamento turbulento). Mais especificadamente, os diâmetros dos canais foram monitorados e medidos em função da variação da vazão aplicada.

Considerando a natureza elastomérica do **PDMS** e sua tendência em apresentar maiores deformações mediante pressão, três testes foram impostos a este dispositivo: (i) As taxas de deformação elástica obtidas pelo misturador em tripla hélice foram calculadas pela razão de diâmetro final e inicial, obtidos por meio de imagens de estereoscopia sob fluxo de água **DI** em diferentes taxas de vazão (0,5 – 9 mL min^{-1}). Essa medida foi realizada na presença de uma restrição na região de saída do dispositivo. Para isso, uma agulha de 1,2 mm de diâmetro e 10 mm de comprimento foi conectada ao dispositivo de modo a aumentar a pressão interna criada no misturador. (ii) Dispositivos fabricados com um único canal foram obtidos de acordo com o item **3.2** e submetidos a testes de pressão para fins de comparação dos resultados. Para tal, uma bomba de cromatografia (**HPLC**) (Shimadzu LC-10AD VP, Columbia, MD) foi empregada. Água **DI** foi bombeada para o interior dos canais em diferentes taxas de vazão (0,5 – 9 mL min^{-1}) (próximo a vazão máxima suportada pelas bombas de **HPLC)** e registrada em termos de pressão hidrodinâmica. (iii) O dispositivo com microcanal em tripla hélice foi submetido a medida de expansão máxima relativa ao diâmetro do misturador (extensão de deformação). Três soluções foram bombeadas para dentro do dispositivo com 19,5 mL min^{-1} cada, totalizando 58,5 mL min^{-1}. O misturador foi monitorado por estereoscopia (n = 10).

A deformação elástica do dispositivo fabricado com resina epóxi **BPA** foi obtida igualmente ao teste (ii) e (iii) aplicados ao dispositivo em **PDMS**. No entanto, as vazões utilizadas no teste (iii) foram sutilmente diferentes. Duas soluções foram bombeadas para dentro do dispositivo com dupla hélice com 20 mL min^{-1} cada, totalizando 40 mL min^{-1}. O teste (i) não foi realizado devido a característica física de maior rigidez apresentada por este dispositivo.

3.6 Resistência química

Diversos trabalhos reportados na literatura descrevem a incompatibilidade do **PDMS** frente a solvente orgânicos (LEE; PARK; WHITESIDES, 2003; MAYS, Robin; DICKEY, Michael D.; GENZER, Jan; 2013). Sendo assim, este trabalho não inclui a caracterização de canais microfluídicos constituídos por **PDMS** frente a solventes orgânicos. Por outro lado, a resistência química do dispositivo fabricado em resina epóxi a base de bisfenol A foi explorado em função do intumescimento dos microcanais quando exposto a distintos solventes e por suas taxas de degradação. Os solventes estudados, incluíram: acetona, ciclohexano, diclorometano, etanol, heptano, hexano, pentano, tolueno. Também foram estudadas as soluções aquosas 1 mol L^{-1} de ácido acético, hidróxido de sódio e **MEG**. Para este estudo, foi fabricado um dispositivo de resina **BPA** com apenas um canal (de acordo com o item **3.2**) para cada solvente e solução estudados. Isso foi imposto, para que não houvesse contaminação e/ou influência no resultado final do estudo. Os solventes foram bombeados individualmente para dentro dos dispositivos com uma taxa de vazão de 300 $\mu L\ min^{-1}$ por uma hora. Durante este tempo de bombeamento, os microcanais foram monitorados por estereoscopia e medidos usando o software LAS Core V3.8. A taxa de degradação dos microcanais foi determinada pela razão entre o diâmetro final (após 1 hora) e o inicial (antes do bombeamento dos solventes).

3.7 Estudo de mistura

Frequentemente o efeito de mistura, em microfluídica, é avaliado observando as mudanças de cor, tonalidade ou intensidade provenientes de tal processo (FAN, Liang Liang et al., 2017; FENG; REN; JIANG, 2013; SAYAH; GIJS, 2016; YOU et al., 2015). Essas variações colorimétricas, possibilitam a quantificação do grau de mistura obtido pelos misturadores microfluídicos, por meio do cálculo de eficiência de mistura (**Equação 4**). Nesse sentido, avaliamos a performance dos misturadores microfabricados em gerar misturas eficientes em diferentes sistemas de mistura e taxas de vazão. Primeiro, tanto o dispositivo fabricado em **PDMS**, quanto o fabricado em resina epóxi **BPA**, foram avaliados em um sistema de mistura de corantes em meio aquoso. Em segundo lugar, o comportamento do perfil de mistura entre os líquidos foi explorado em um sistema colorimétrico baseado na variação de pH. Para tal, foi

utilizado o dispositivo fabricado em **PDMS**, dado sua maior rapidez e simplicidade no processo de fabricação. Por último, o dispositivo fabricado em **PDMS** foi submetido a um sistema de mistura complexo, composto por líquidos em diferentes fases. Neste caso, o sistema de mistura foi baseado em microemulsificação, na qual exige uma etapa de mistura vigorosa entre os líquidos para obtenção de uma microemulsão.

3.7.1 Mistura de corantes

A **Figura 20** ilustra o processo experimental conduzido nos dispositivos de **PDMS** e resina epóxi **BPA** para o estudo de mistura de corantes. Soluções aquosas vermelha, azul e verde foram bombeadas para dentro do dispositivo de **PDMS** em diferentes condições de vazão (**Figura 20(a)**). O escoamento foi monitorado por estereoscopia na região de saída do misturador, tal como demonstrado. Vazões próximas a 0,2 e 20 mL min^{-1} foram aplicadas em cada uma das entradas do dispositivo, totalizando 0,6 e 58,5 mL min^{-1}, respectivamente. A mesma grandeza de incremento de vazão foi aplicada para o dispositivo em resina epóxi **BPA**, totalizando vazões de 0,4 e 40 mL min^{-1}. Neste último caso, foram utilizados água **DI** e uma solução aquosa preta (**Figura 20 (b)**).

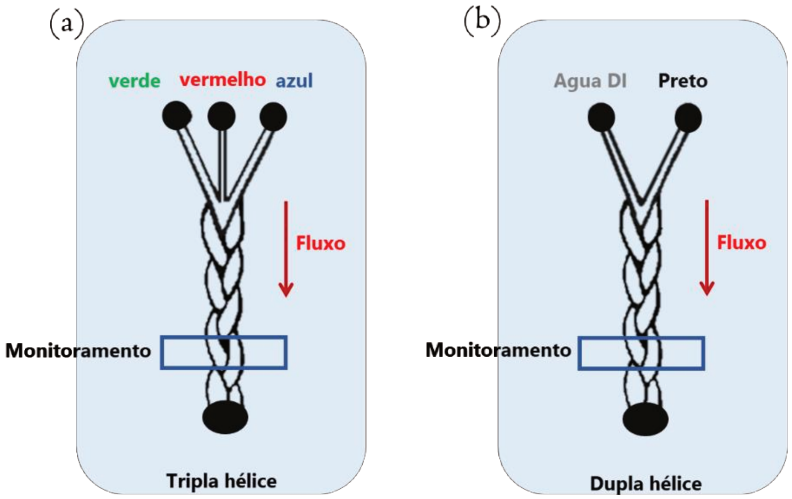

Figura 20: Ilustração do processo experimental conduzido nos dispositivos de microfluídicos para realização do estudo de mistura de corantes. As figuras demostram a configuração de bombeamento dos corantes, o sentido do escoamento e a região de monitoramento da mistura. **(a)** Dispositivo fabricado em **PDMS**; **(b)** Dispositivo fabricado em resina epóxi **BPA**. Figura do próprio autor.

3.7.2 Reação colorimétrica

A **Figura 21** ilustra a configuração experimental adotada para a realização do estudo de mistura por reação colorimétrica. Neste caso, foi utilizado um sistema indicador bem conhecido a base de fenolftaleína, na qual altera sua coloração de incolor para vermelho na presença de pH superior a 8,0 (FENG, Xiangsong; REN, Yukun; JIANG, Hongyuan; 2013). Assim, quando os reagentes colidem no misturador, há uma mudança na coloração e é possível avaliar os efeitos da geometria, de comprimento do canal e do regime de escoamento em relação a eficiência de mistura. Por se tratar de uma reação instantânea, o tempo de reação foi negligenciado.

Para compor o sistema, foi empregada uma solução alcalina de hidróxido de sódio 0,01 mol L^{-1}. A solução indicadora foi preparada com 1,5 g de fenolftaleína e 60 g de álcool etílico. Os dois fluidos incolores foram injetados no dispositivo microfluídico de **PDMS**, na seguinte configuração: hidróxido de sódio-fenolftaleína- hidróxido de sódio. A mesma taxa de vazão foi aplicada em ambas entradas. Vazões totais de 0,6 – 30 mL min^{-1} foram aplicadas no dispositivo. As mudanças de cor ao longo do misturador foram monitoradas por estereoscopia nas regiões de entrada, meio e de saída do misturador. Neste caso, a experimentação foi realizada apenas no dispositivo fabricado em **PDMS**, dado sua compatibilidade química com o sistema e menor tempo de fabricação.

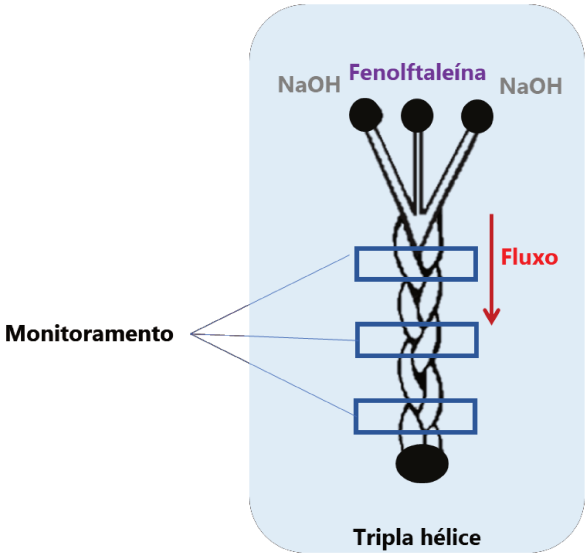

Figura 21: Ilustração do processo experimental conduzido no dispositivo microfluídico a base de **PDMS**, para realização do estudo de mistura por reação colorimétrica. A configuração de bombeamento dos reagentes, o sentido do escoamento e as regiões de monitoramento da mistura são mostrados em destaque. Figura do próprio autor.

Para as análises quantitativas de **EM**, todas as imagens capturadas por estereoscopia foram tratadas e analisadas usando o software ImageJ. Um filtro de aumento de contraste (configuração: *blocksize* = 127, *histogram bins* = 256 e *maximum slope* = 3) foi aplicado em todas as imagens. Este recurso foi utilizado para aumentar a distinção entre as cores claras e escuras, facilitando a visualização do comportamento de mistura dentro do microcanal. Além deste filtro, as imagens foram convertidas para o modelo 8 *bit*, de modo a padronizar as cores em escala de cinza.

3.7.3 Microemulsificação

A performance do dispositivo microfluídico em gerar misturas homogêneas e rápidas foi avaliado através da estabilização termodinâmica de emulsões turvas pela geração de microemulsões transparentes (**ME**). A **Figura 22** ilustra a rotina experimental para obtenção das **ME**. O método baseado em microemulsificação (**MEC**) descrito na literatura é obtido experimentalmente com o auxílio de pipetas volumétricas, tubos Eppendorf e agitação usando vórtex para mistura dos líquidos (**Figura 22 (a)**) (LIMA, Renato et al., 2014). Para este trabalho, o **MEC** será adaptado para realização em um sistema microfluídico (**Figura 22 (b)**). Neste caso, a bomba de seringa substituirá a pipeta volumétrica e caberá ao dispositivo microfluídico substituir o tubo Eppendorf e o vórtex, já que o misturador será o responsável pela agitação dos líquidos.

Neste sentido, as fases foram compostas por **MEG** em diferentes concentrações (**A**), ácido oleico (**O**) e etanol hidrótopo (**AP**). As concentrações de **MEG** foram expressas por $\mathbf{\Phi_M}$, % (v / v) e variaram entre 10 e 40 %. O sinal que caracteriza a formação de **ME** pelo método **MEC** é dado por $\mathbf{\phi_{ME}}$ e representa a menor quantidade de **AP** necessária para gerar **ME**. O valor de $\mathbf{\phi_{ME}}$ é calculado pela **Equação 5**. A detecção $\mathbf{\phi_{ME}}$ é obtida por observação direta (detecção visual), uma vez que sua medida depende apenas de uma informação química binária: a conversão turvo-transparente. Experimentalmente, as fases **A**, **O** e **AP** foram bombeadas para dentro do dispositivo microfluídico sob diferentes taxas de vazão, de modo a analisar o efeito da vazão na homogeneidade de dispersões. Para isso, **A** e **O** foram simultaneamente injetadas no dispositivo com vazões de 4 mL min^{-1} cada, enquanto que a vazão de **AP** foi aumentada gradativamente, com uma taxa de 0,5 mL min^{-1}, até a geração de **ME**. Essa primeira análise é

apenas uma triagem exploratória para determinar a região de transição de ϕ_{ME}. Um novo ensaio é realizado, com incremento da fase **AP** de 0,2 mL min^{-1} ao redor da região da região de transição, previamente encontrada, de modo a otimizar a determinação do ponto de viragem. A mistura gerada durante o processo é coletada em tubos Eppendorf na saída do dispositivo e monitorada instantaneamente após a coleta. Esse processo foi repetido para FR_{A+O} de 10, 12, 14, 16, 18 e 20 mL min^{-1}, respectivamente.

Para análises estatísticas, ϕ_{ME} foi determinado em triplicata (n=3) para cada vazão. Os resultados foram explorados em função de mecogramas (gráfico que relaciona a resposta turbidimétrica de ϕ_{ME} com a taxa de vazão total das fases **A** + **O** aplicadas) e curvas de calibração.

3.8 Aplicação

3.8.1 Determinação quantitativa de etanol em bebidas alcoólicas comerciais

A relevância da homogeneidade no processo de mistura gerado por turbulência foi explorada pela determinação quantitativa de etanol em bebidas alcoólicas comerciais. Para este

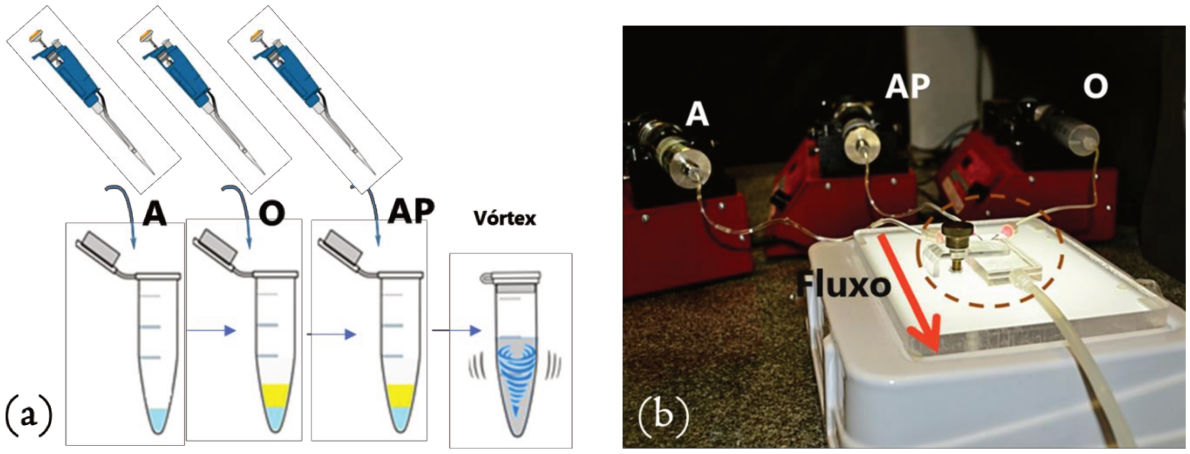

Figura 22: Rotina experimental do método baseado em microemulsificação. **(a)** Rotina convencional – método em batelada; **(b)** rotina em microfluídica. Na imagem **A**, **O** e **AP** representam as fases hidrofílica, hidrofóbica e anfifílica. Figura 22 (a) extraída e adaptada (HIGA, Karen; 2018); (b) Figura do próprio autor.

propósito, um novo dispositivo em **PDMS** foi fabricado de acordo com o item **3.2**. O método baseado em microemulsificação foi utilizado para a construção das curvas de calibração e para a determinação quantitativa de etanol nas amostras. Seis bebidas, incluindo: um rum, um uísque, duas cachaças e duas vodcas foram analisadas. Devido as desvantagens supracitadas do **MEC** (item **2.3**), este trabalho incluiu a automação integral de uma plataforma contendo detecção turbidimétrica e *chip* microfluídico com mistura assistida por turbulência mediante o desenvolvimento de aplicativos para Android em um *celular*.

O aplicativo Android foi desenvolvido para conduzir toda a operação analítica. O *software* foi projetado para ligar e desligar as bombas de seringa, fazer o incremento da fase anfifílica com um intervalo de tempo determinado, monitorar a região de detecção através de fotos, detectar □ME, processar os dados em tempo real, construir curvas de calibração e mostrar os resultados finais após a análise. A motivação para o desenvolvimento desse **App** é realizar estudos do **MEC** de forma simples, rápida, automatizada e precisa, facilitando o emprego da plataforma microfluídica por indústrias.

O aplicativo foi desenvolvido em ambiente *Android Studio*, utilizando a linguagem Java de programação. Para desempenhar tais funções, o **App** extrai imagens durante o monitoramento de turbidez do sistema (transição turvo - transparente) na região de saída do dispositivo (região delimitada por uma cruz verde), as decompõe em dados de cor **RGB**; que corresponde as cores vermelho, verde e azul, e relaciona estas informações com os dados de **RGB** da amostra padrão. Os dados da amostra padrão, correspondem as informações extraídas de uma imagem da **ME** anterior a análise. Ao detectar uma equivalência entre estes valores (RGB da amostra com RGB da amostra padrão), o **App** confirma a informação com três fotos adicionais e então para, mostrando na tela o resultado da análise. Na etapa de calibração este resultado é mostrado em forma de gráfico e apresenta as informações de taxa de vazão (**FR**) e **RGB**, enquanto que na etapa de aplicação o resultado é expresso em termos de concentração (%). Como previamente descrito, as informações de **RGB** são extraídas do centro de um delimitador virtual (cruz verde) com 6 pixels. Esse delimitador deverá ser posicionado na região de interesse de análise. O intervalo para aquisição de cada imagem é de 3 segundos. Um fluxograma de trabalho do **App** é mostrado na **Figura 23.**

A relação matemática que expressa o sinal analítico ($\mathbf{S_a}$) do sistema é obtida pela **Equação 6**:

$$\mathbf{S_a = (0.05356 * R) + (0.05139 * G) + (0.05247 * B)} \qquad \textbf{Equação 6}$$

onde **Sa**, **R**, **G**, e **B** representam o sinal analítico, e as cores vermelho, verde e azul, respectivamente. Para a etapa de aplicação, os dados da curva de calibração do sistema (equação da reta) devem ser inseridos e salvos no **App**. Com isso, o **App** pode relacionar as informações de **Sa** com a concentração da amostra através da **Equação 7:**

$$\mathbf{C} = \left(\frac{\boldsymbol{\Phi_{ME}} - \boldsymbol{a}}{\boldsymbol{b}}\right) * \mathbf{2} \qquad \textbf{Equação 7}$$

onde **C**, **a**, **b** e $\boldsymbol{\Phi_{ME}}$ são valores de concentração do analito, coeficiente linear, coeficiente angular e resposta analítica do MEC, respectivamente.

Para assegurar a qualidade das imagens digitais obtidas pelo celular e evitar a interferência da iluminação externa, uma caixa escura e um acessório de iluminação portátil (negatoscópio) foram utilizados (**Figura 24 (a)**). Este conjunto irá fornecer ao sistema: sustentação, altura de focalização, bloqueio de radiação externa e iluminação por LED, diretamente sob o dispositivo microfluídico. A caixa escura foi projetada isenta da parte inferior, com portas laterais para facilitar a manipulação do *chip*, um orifício no topo com dimensões de 5,5 x 1,5 cm e uma demarcação para posicionamento do celular (**Figura 24 (b)**). O negatoscópio comercial foi acoplado sob a caixa escura.

A **Figura 25** ilustra o funcionamento do App, incluindo a configuração de parâmetros experimentais, aquisição de fotos por celular, mecograma e resultado final.

A plataforma foi calibrada utilizando padrões de etanol diluídos em água **DI** como analito (**A**), ácido oleico (**O**) e etanol (**AP**). A concentração do analito foi expressa como fração volumétrica de etanol em água ($\boldsymbol{\Phi_E}$) e variou de 10 – 40 % (v / v). As fases aquosa e oleosa foram simultaneamente bombeadas para o dispositivo a uma vazão de 5,0 mL min^{-1} cada e mantidas nesta vazão durante toda a análise. Por outro lado, a taxa de fluxo do **AP** foi gradualmente aumentada até a geração de **ME**. A vazão total variou de 14,0 a 24 mL min^{-1}. Tanto na etapa de calibração, quanto na de aplicação, foram realizadas análises exploratórias e customizadas. Para a análise exploratória a configuração utilizada foi: vazão inicial da fase anfifílica em 4 mL min^{-1} com incremento de 1 mL min^{-1} a cada 10 segundos até obtenção de $\boldsymbol{\Phi_{ME}}$. Já na análise customizada este incremento foi de 0,2 mL min^{-1} a cada 10 segundos ao redor da região de transição previamente encontrada. Esta etapa determina com melhor precisão e exatidão a resposta analítica do **MEC**, ou seja, a menor vazão de **AP** necessária para gerar **ME** ($\boldsymbol{\Phi_{ME}}$). Na etapa final, as bebidas alcoólicas foram diluídas individualmente em água **DI** 1:1 (v / v) e usadas na fase **A**, o ácido oleico na fase **O** e o etanol na fase **AP**. A quantificação

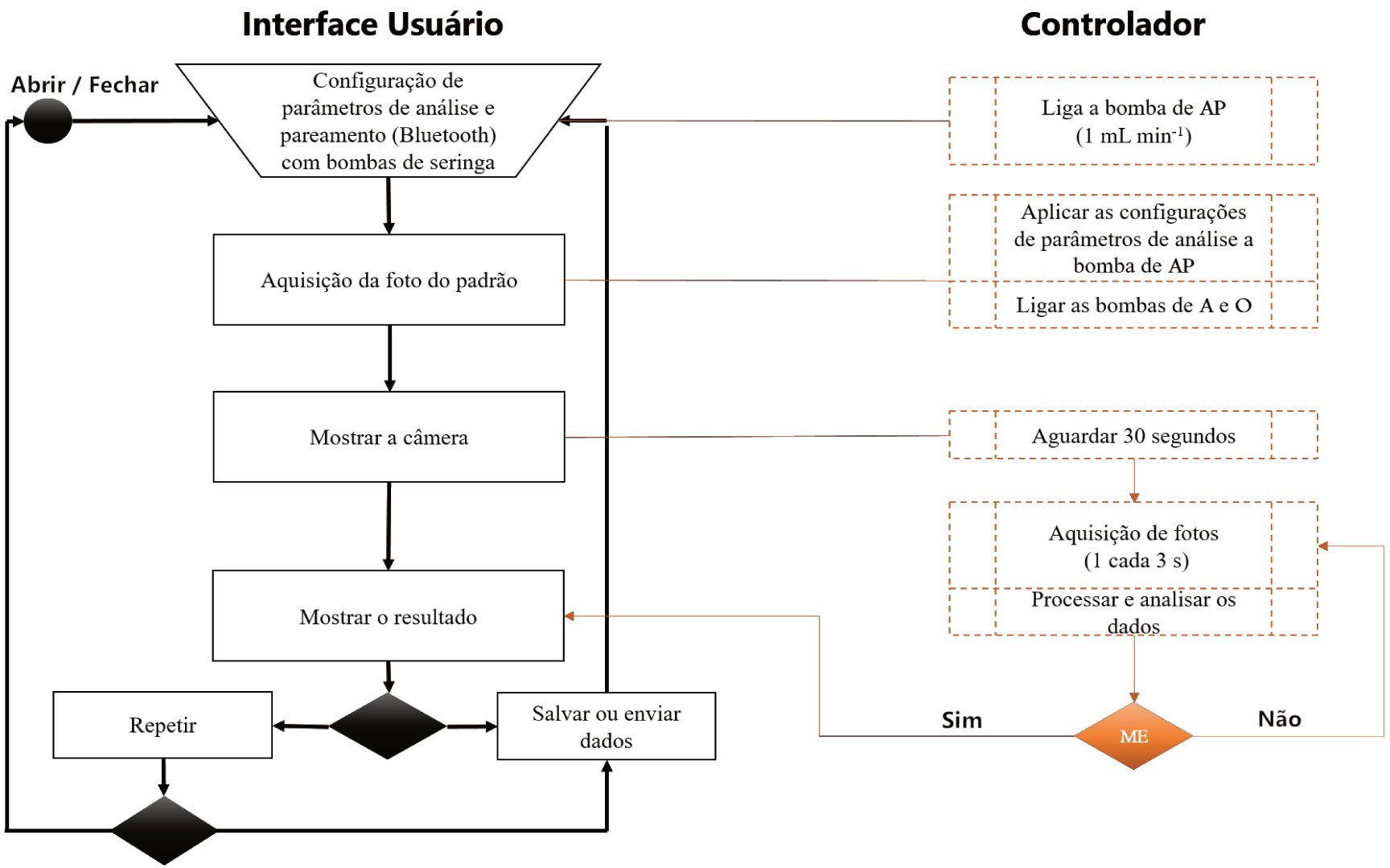

Figura 23: Fluxograma de trabalho do App. Figura do próprio autor.

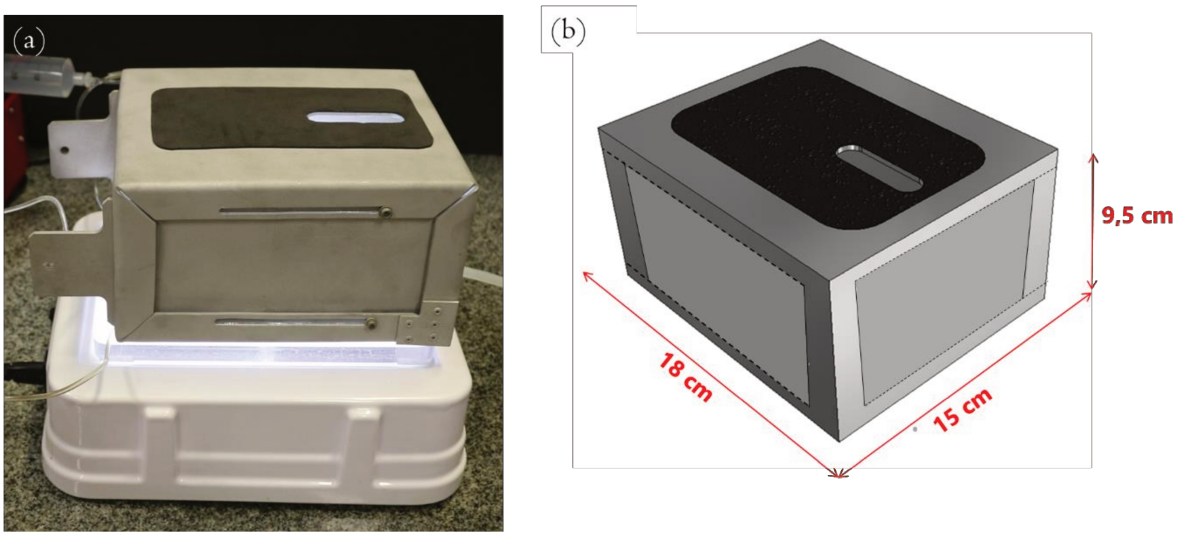

Figura 24: Suporte e iluminação para controle de qualidade de imagens obtidas pelo **App**. **(a)** Caixa escura acoplada ao negatoscópio; **(b)** Representação esquemática das dimensões da caixa escura. Figura do próprio autor.

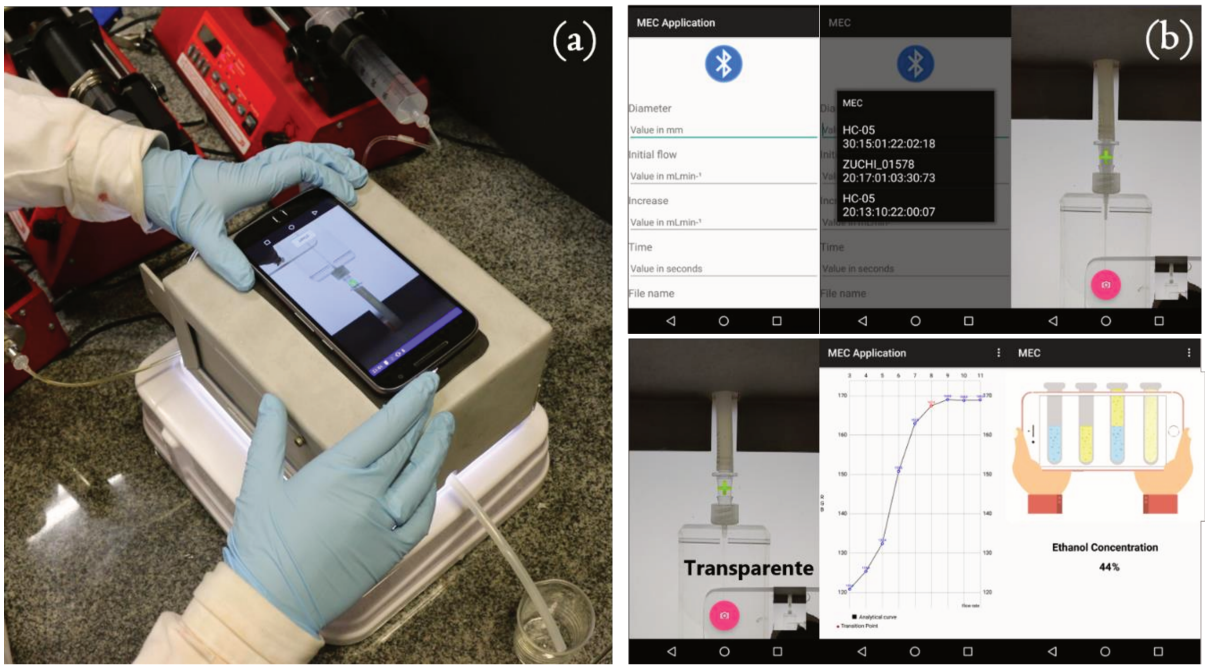

Figura 25: Fluxo de trabalho do App em Android**. (a)** Configuração experimental e posicionamento do celular com a região de detecção do dispositivo microfluídico; **(b)** Capturas de tela das operações realizadas pelo **App**. Imagens superiores são referentes as configurações de análise; conexão bluetooth entre o celular e as bombas de alta vazão e captura de imagem durante o processo de transição turvo – transparente, nesse caso turvo. Imagens inferiores são referentes a transição turvo – transparente, com destaque na região transparente, mecograma e resultado final. Figura do próprio autor.

de etanol nas amostras de bebidas foi determinada automaticamente pelo **App** através da equação da curva de calibração. A precisão da plataforma contendo detecção turbidimétrica e *chip* microfluídico com mistura assistida por turbulência foi testada pela comparação das concentrações do analito determinados pelo rótulo e por cromatografia gasosa contendo detector de ionização de chama (**GC-FID**). Todas as análises foram reproduzidas com n = 4. Análises estatísticas foram realizadas utilizando o Teste T de *students* com nível de confiança de 95% (ALVES, 2017).

3.8.2 Extração líquido-líquido de monoetilenoglicol em condensado de gás natural

A relevância da geração de escoamento turbulento em misturadores microfluídicos também foi explorada pela extração líquido-líquido (**LLE**, do inglês *liquid-liquid extraction*) de **MEG** de amostras orgânicas de condensado de gás natural (**NGC**, do inglês *natural gas condensate*) (GIORDANO, Gabriela et al., 2018). A motivação para realização desta aplicação, foi baseada principalmente em três aspectos: (i) Relevância econômica e industrial: atualmente, cerca de 25% da produção de energia primária do mundo está associada ao **NG** (gás natural, do inglês *nature gas*) e espera-se que a demanda global desse combustível cresça a taxas de 3% ao ano até 2030; (ii) Limitação das técnicas usuais adotadas pela indústria para a extração líquido-líquido e quantificação de **MEG** em amostras de **NCG**: a abordagem usual aplicada pela indústria Petrobras para monitorar as concentrações de **MEG** em amostras regeneradas é baseada em extração líquido-líquido por agitação de frasco e detecção por titulação iodométrica clássica, ao qual envolvem uma rotina experimental laboriosa, lenta e com utilização excessiva de reagentes químicos; (iii) Limitação das técnicas de **LLE** em microfluídica (GIORDANO, Gabriela et al., 2018).

Para esta aplicação, dispositivos compostos por **PDMS** não podem ser empregues devido sua incompatibilidade química com solventes orgânicos (LEE, Jessamine; PARK, Cheolmin; WHITESIDES, George; 2003). Para tolerar este meio, será utilizado o dispositivo microfluídico fabricado em resina epóxi baseada em bisfenol A (**BPA**). A geometria do misturador será em dupla hélice, e atuará de forma semelhante ao **SFM**. Para a determinação quantitativa de **MEG** extraída das amostras, será utilizado eletroquímica.

De acordo com o procedimento usual adotado pela Petrobras para a extração líquido-líquido de **MEG** de amostras orgânicas de **NGC** (**SFM**), são adicionados 100 mL da amostra

de **NCG** a um funil de separação, seguido pela adição de 50 mL de ácido acético 0,4 mol L^{-1} e subsequente agitação. Esta última etapa em especial, é de extrema importância e exige que a mistura seja vigorosa, de modo a aumentar a partição do analito entre as fases imiscíveis. Em seguida, o funil é deixado em repouso, por aproximadamente 10 minutos, para a separação das fases. Na sequência, a parte aquosa é coletada e armazenada para posterior analise. Por outro lado, a parte orgânica é coletada e submetida a um novo processo de extração. Esse processo será repetido ao total de três vezes, resultando em 150,0 mL de extrato aquoso. A determinação quantitativa de monoetilenoglicol é realizada por meio de titulação iodométrica.

Para a realização deste processo em microfluídica, algumas discrepâncias em relação ao protocolo da Petrobras precisaram ser adotadas: (i) a relação de volume das fases imiscíveis foi alterada para reduzir a quantidade de resíduos e pré concentrar o **MEG** na fase aquosa; (ii) a solução de **Na_2SO_4** 0,1 mol L^{-1} foi utilizado como fase aquosa devido a sua alta força iônica, evitando a formação de emulsões entre as fases após sua mistura; (iii) o funil de separação foi substituído pelo dispositivo microfluídico e a mistura entre as fases foi realizada instantaneamente pelo misturador; (iv) a determinação de **MEG** nas amostras foi realizada mediante análise eletroquímica (voltametria cíclica baseada em nanopartículas de **$Ni(OH)_2$**).

Em termos experimentais, isso quer dizer que as fases orgânicas (**NGC**) e aquosa (solução de **Na_2SO_4** 0,1 mol L^{-1}) foram bombeadas para o dispositivo e misturadas com vazões totais de 10, 20, 30 e 40,0 mL min^{-1}. As taxas de fluxo entre as duas fases imiscíveis foi de 30:4,5 mL min^{-1} cada (v / v). A mistura entre as fases imiscíveis foi realizada no dispositivo em uma única corrida com tempo de residência extremamente baixo. A mistura gerada pelo dispositivo foi coletada em seringas que foram alocadas em um coletor de extração em fase sólida (Agilent Technologies) e mantido em repouso durante 10 minutos, para separação das fases. Posteriormente, a fase aquosa foi coletada e filtrada em filtros de seringa (Millex®, **PTFE** hidrofóbico, 0,22 μm, Merck), de modo a remover quaisquer espécies orgânicas remanescentes. Por último, 0,5 mL de **NaOH** 1,0 mol L^{-1} foi adicionado à 4,5 mL da fase aquosa, com a finalidade de ajustar o pH em 10,0, que foi necessário para as análises eletroquímicas subsequentes.

A eficiência de extração de **MEG** foi realizada por voltametria cíclica utilizando eletrodo de **Ni** (níquel) modificado com nanopartículas de **$Ni(OH)_2$**. Os testes foram realizados em um potenciostato da Dropsens μStat 4000P (Asturias, Espanha). O eletrodo de referência foi **Ag/AgCl** em **KCl** 3,0 mol L^{-1} (Metrohm AG, Herisau, Suíça), enquanto os eletrodos de trabalho e de contato foram fios de níquel modificado com nanopartículas e platina, respectivamente. O eletrodo de trabalho foi preparado de acordo com um trabalho descrito na literatura que

apresenta a determinação de etanol em caldos de fermentação de cana-de-açúcar (GIORDANO, Gabriela et al., 2015). Este eletrodo foi constituído de um fio de níquel com 1,0 mm de diâmetro e 99,99 % de pureza, na qual foi inserido em uma barra de Teflon® com 6,0 mm de diâmetro e 63 mm de comprimento, totalizando uma área de 0,78 mm^2. O metal foi polido em uma lixa (padrão 1200), seguido de uma ponta diamantada (1 µm, da Struers, Ballerup, Dinamarca) para obter uma superfície espelhada. Finalmente, o eletrodo foi limpo em banhos de ultrasom com água e etanol durante 10 minutos cada. A superfície do eletrodo foi modificada através de deposição eletroquímica, com hidróxidos de níquel, cobalto e cádmio, fornecendo uma densidade de corrente catódica de -1,27 mA cm^{-2} durante 20 s. Para tal, o eletrodo foi imerso em uma solução contendo 10,0 mmol L^{-1} de nitratos de níquel, cobalto e cádmio nas seguintes proporções: 77, 20 e 3% em mol, respectivamente. Previamente, esta solução foi preparada em 20,0 mmol L^{-1} de **$NaNO_3$** com pH 6,0. Na sequência, o eletrodo foi imerso em solução de **NaOH** 100,0 mmol L^{-1} por 15 minutos e então foram realizados 30 ciclos de voltametria cíclica. A curva de calibração foi preparada com soluções padrão de **MEG**, com diferentes concentrações (de 124,1 até 744,8 ppm), em 100,0 mmol L^{-1} de **NaOH**. O potencial variou de 100,0 a 650,0 mV com taxa de varredura de 50,0 mV s^{-1}. Esses parâmetros foram os mesmos utilizados para as determinações de **MEG** das amostras processadas pelo **LLE** microfluídico.

A **Figura 26** ilustra a configuração experimental adotada pela Petrobras para a extração líquido-líquido das amostras de **NCG** (**Figura 26 (a)**) e a adotada para a microfluídica (**Figura 26(b)**), respectivamente.

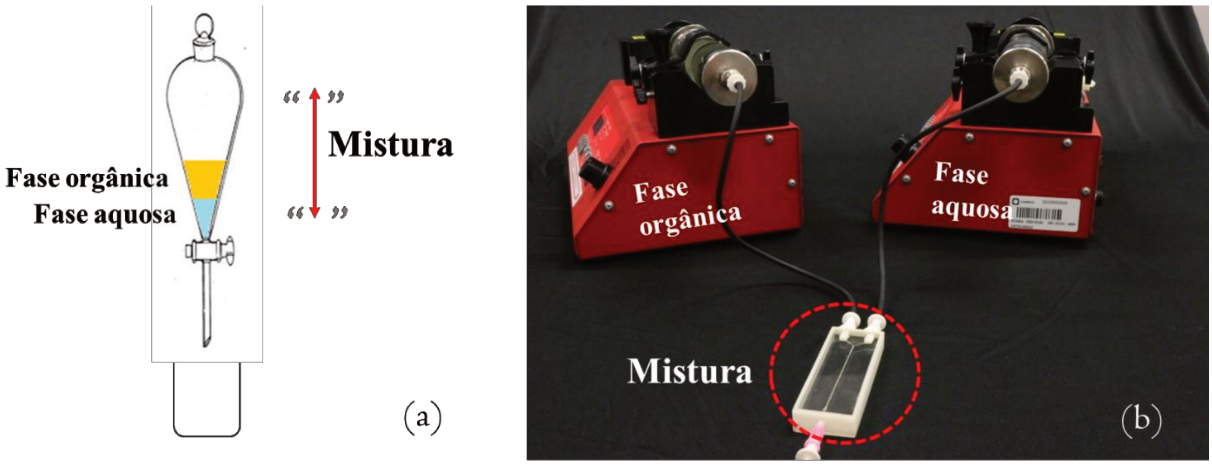

Figura 26: Extração líquido-líquido. **(a)** Ilustração do método convencional utilizado pela Petrobras para a extração de **MEG** em amostras de **NCG**; **(b)** Imagem da configuração experimental para a **LLE** em microfluídica. Figura do próprio autor.

Para fins comparativos, o mesmo procedimento adotado para a realização das extrações em microfluídica foi conduzido em um funil de separação e determinado por eletroquímica. Neste caso, 30 mL de amostra de **NGC** e 1 mL de fase aquosa (0,1 mol L^{-1} de Na_2SO_4) são adicionados a um funil de separação. Em seguida, a fase aquosa é filtrada. A parte orgânica é submetida a uma nova etapa de extração. Estes passos são repetidos três vezes utilizando 1 mL de fase aquosa. Esta etapa é realizada ao total de três vezes, resultando em 4,5 mL de extrato aquoso. Demais etapas são idênticas as descritas para o dispositivo microfluídico.

Os resultados obtidos foram comparados com os obtidos pelo método tradicional utilizado pela Petrobras. A corrente relacionada à oxidação do MEG a 600,0 mV foi subtraída das correntes capacitiva e eletrolítica. Todos os intervalos de confiança foram calculados para $\alpha = 0,05$ e $n = 3$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Dispositivos e microcanais

Os dispositivos fabricados pelo método **PSR** são mostrados na **Figura 27** Os dispositivos foram constituídos de uma peça única de **PDMS** (**Figura 27 (a)**) e de resina epóxi **BPA** (**Figura 27 (b)**) e não apresentam quaisquer interfaces. A fabricação dos dispositivos, exibiu uma rotina experimental simples (requer basicamente uma estufa), barata (livre do uso de 'sala limpa') e rápida. Ela ainda elimina o uso de solventes, técnicas convencionais de construção do canal e etapa de selagem, a qual responde usualmente pelos maiores custo, tempo e complexidade de todo o processo de microfabricação. Ademais, o método PSR possibilita a substituição do PDMS, por outros materiais, tal como a resina **BPA**. Essa característica é essencial para aumentar a aplicabilidade dos dispositivos frente a diferentes amostras.

Em relação a utilização de **PDMS** e resina epóxi **BPA** empregadas para confecção dos dispositivos, ambos apresentam prós e contras. No que tange a utilização do **PDMS** em microfluídica, inúmeras vantagens já conhecidas e exploradas pela microfluídica, podem ser destacadas: transparência óptica, não tóxico, capacidade de oxidação (quando exposto a plasma de oxigênio), impermeabilidade à água líquida e permeabilidade a gases (DUFFY, David et al., 1998; MCDONALD, Cooper; WHITESIDES, George; 2002). Além disso, a estrutura química do **PDMS** possibilita uma rápida reticulação quando exposto a altas temperaturas (por exemplo 95 °C por 40 minutos), tornando o processo de fabricação rápido (menos de duas horas).

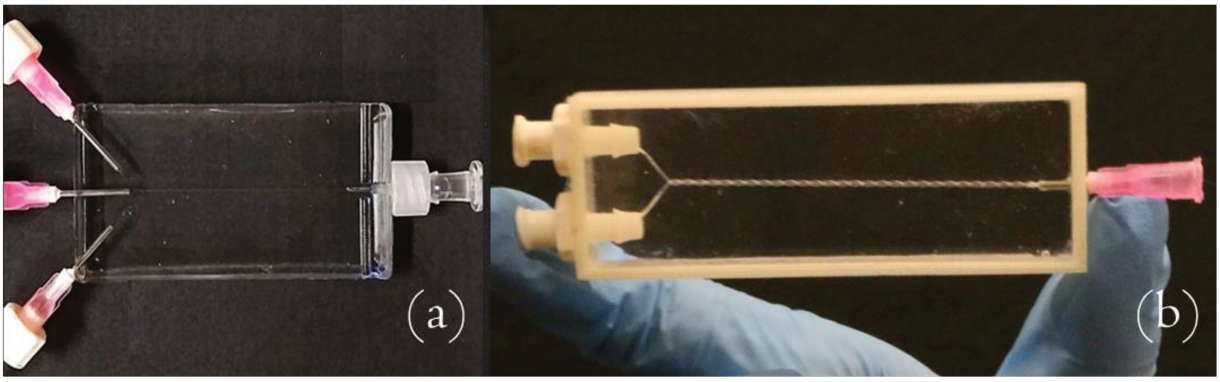

Figura 27: Dispositivos microfluídicos de peça única fabricados de acordo com o método **PSR**. **(a)** Dispositivo constituído de matriz polimérica – **PDMS** e **(b)** resina epóxi a base de bisfenol A. Figura do próprio autor.

Por outro lado, o **PDMS** pode absorver moléculas orgânicas de soluções e intumescer após a exposição à maioria dos solventes orgânicos (MAYS, Robin; DICKEY, Michael D.; GENZER, Jan; 2013). Alternativamente, a resina epóxi **BPA** mostra-se inerte a diferentes classes químicas, incluindo alguns solventes orgânicos (STRUERS, 2018). Além disso, sua utilização em microfluídica é inédita, mostrando-se uma alternativa potencial para síntese orgânica frente a outros materiais (ABATE et al., 2008; MAYS; DICKEY; GENZER, 2013; ORHAN et al., 2008). No entanto, sua cura deve ser conduzida a temperatura ambiente requerendo aproximadamente 12 horas para conclusão do processo de reticulação. Essa particularidade, acarreta em perda de velocidade de fabricação em relação aos dispositivos fabricados em **PDMS**. Por outro lado, o processo de fabricação com resina **BPA** mostra-se muito mais rápido, menos laborioso e de baixo custo do que outros dispositivos microfluídicos fabricados para suportar solventes orgânicos, por exemplo os fabricados com Poliéster Termofixo (**TPE**), Metacrilato de Poliuretano (**PUMA**) e Norland Adesivo 81 (**NOA81**) {Formatting Citation}.

O dispositivo fabricado com **PDMS** apresentou um diâmetro de 428,5 ± 8,6 µm (n = 15) para o misturador e de 201,2 ± 5,9 µm (n = 5) para os canais individuais de entrada (**Figura 28**). As **Figuras 28 (a-d)** apresenta imagens com vista superior dos canais obtidos por microscopia ótica. Essas imagens exibem paredes e bordas de canais bem definidas. As **Figuras 28 (a, b)** ilustram o canal de entrada e a região de união entre os canais (início do misturador), respectivamente. Já as **Figuras 28 (c, d)** são referentes as regiões central e final do misturador, respectivamente. Diferenças significativas no nível de invólucro não foram observadas ao longo de todo microcanal. Esse resultado apresenta-se em concordância com o resultado estatístico, como mostrado anteriormente. As **Figura 28 (e, f)** foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura (**SEM-FEG**) para um canal de entrada e para a região central do misturador. As figuras mostram que os canais apresentam uma baixa rugosidade e bordas bem definidas. Ademais, observa-se que a estrutura enrolada do canal de mistura é preservada após a remoção dos *scaffold* de Nylon. Estes resultados são atribuídos à superfície lisa do *scaffold* de Nylon e de sua capacidade de deformação diante à aplicação da tensão para retirada dos *scaffolds*. É de merecido destaque que um novo dispositivo microfluídico em **PDMS** foi fabricado para a etapa de aplicação. Este dispositivo apresentou um diâmetro global (média) de 381,7 ± 2,1 µm (n = 15) para o microcanal central enrolado e de 199,7 ± 5,9 µm (n = 5) para os canais individuais de entrada.

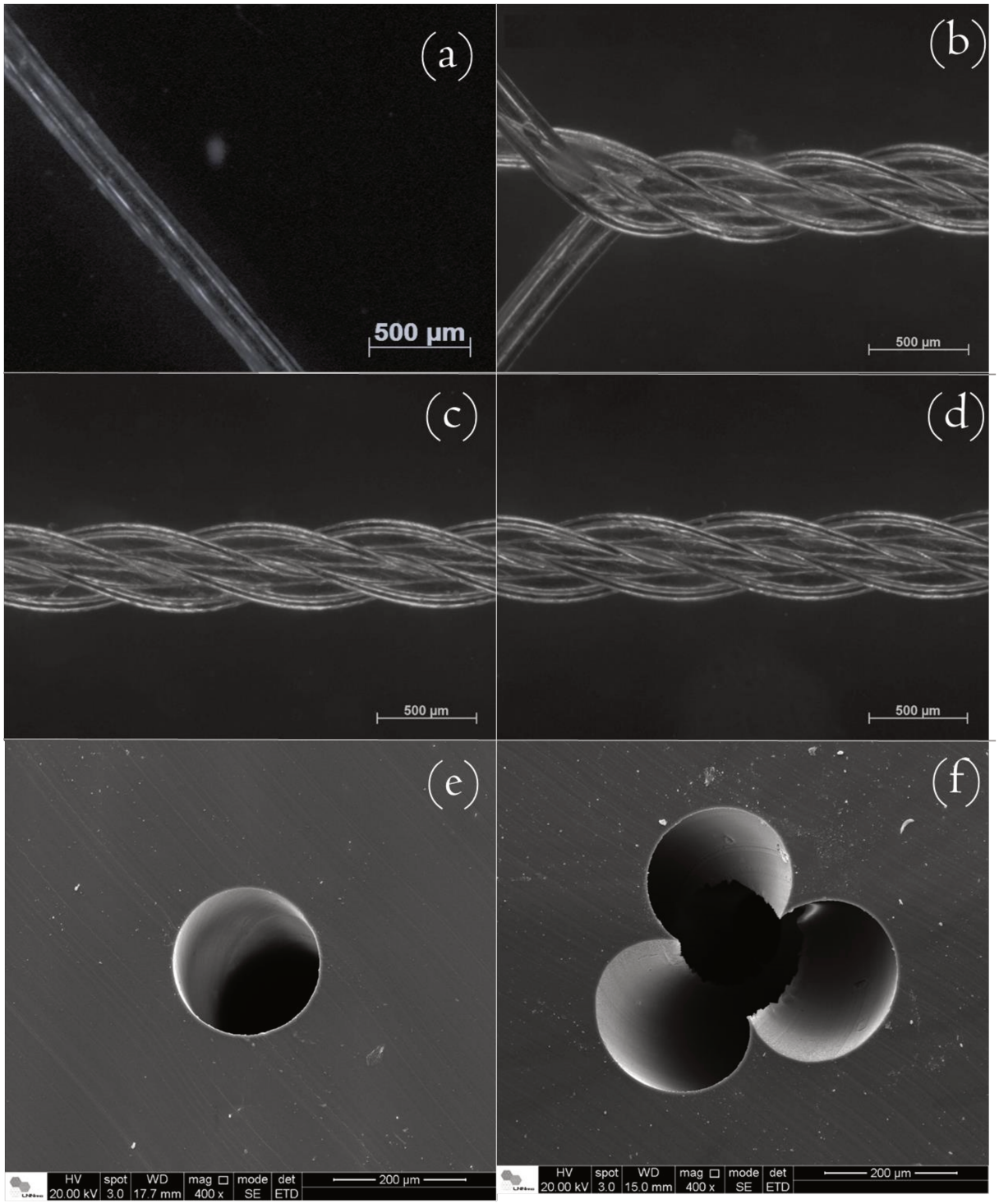

Figura 28: Microcanais **PSR** fabricados em matriz polimérica de **PDMS**. Imagens superiores obtidas do estereoscópio Leica **(a-d)** e da seção transversal gravadas através de **SEM-FEG (e, f)** de um canal individual **(a, e)** e do misturador **(c, d, f).** A Figura **(b)** é referente a junção entre os canais de entrada e início do misturador; **(c)** região central do canal de mistura e **(d)** de saída dos resíduos. Figuras de (a-d) do próprio autor, (e-f) extraídas e adaptas (DE CAMARGO, Camila et al., 2016).

Como o esperado, o dispositivo fabricado em resina **BPA** apresentou características semelhantes as obtidas pelo dispositivo em **PDMS**. Os resultados são mostrados na **Figura 29.** O misturador apresentou um diâmetro global de 798,1 ± 1,0 µm (n = 15) e os de entrada com 307,4 ± 1,4 µm (n = 5). Imagens superiores e de seções transversais dos microcanais (individual e enrolado) são mostradas na **Figura 29 (a-f)**. As **Figuras 29 (b-d)** referem-se as regiões de entrada, média e de saída, respectivamente. Por meio destas imagens, é possível visualizar paredes e bordas de canais bem definidas, bem como a presença de pequenos defeitos oriundos do processo de cura da resina. Pelo fato das imagens apresentarem uma vista superior, não é possível determinar precisamente a localização destes defeitos. Assim como no dispositivo em **PDMS**, não foram observadas variações significativas no nível de invólucro ao longo de todo o microcanal. As **Figura 29 (e, f)** demonstram as secções transversais do canal de entrada e de mistura, respectivamente. Enquanto que os microcanais de entrada apresentaram uma geometria circular, o canal de mistura mostrou duas seções transversais circulares em contato entre si. Ainda nesta figura, é possível observar a baixa rugosidade nas paredes do microcanal. Estas imagens demonstram que mesmo após a remoção dos *scaffolds* de Nylon a estrutura original dos canais é preservada.

4.2 Deformação elástica

A elasticidade do **PDMS** é um parâmetro significativo na implantação de válvulas e bombas pneumáticas, bem como em processos de moldagem de réplicas, facilitando a etapa de liberação do molde. No entanto, esse recurso leva à deformação dos canais microfluídicos em condições de alta pressão (SOLLIER, Elodie et al., 2011). Isso cria alguns desafios: primeiro, a resistência a fluidos é modificada, prejudicando a capacidade de medir com precisão as taxas de fluxo; em segundo lugar, a repetibilidade nas medidas de espectroscopia é afetada quando o comprimento óptico e o alinhamento são alterados. Ademais, a repetibilidade em testes eletroanalíticos também pode ser prejudicada pela alteração da área eletroativa dos eletrodos incorporados aos microcanais. Tal fato, motivou a utilização de polímeros alternativos ao **PDMS**, como Poliéster Termofixo (**TPE**), Metacrilato de Poliuretano (**PUMA**) e Norland

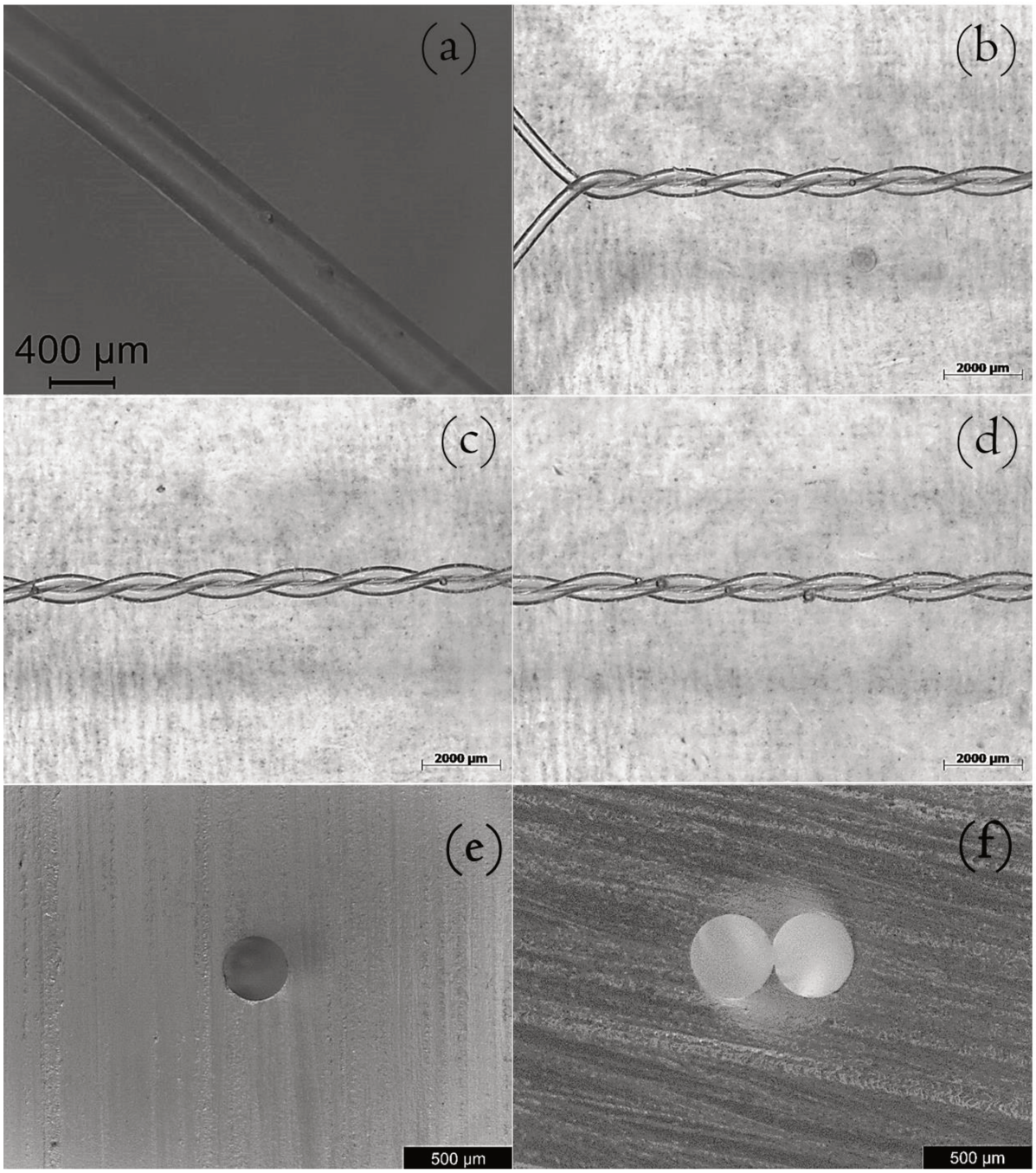

Figura 29: Microcanais **PSR** fabricados em resina epóxi **BPA**. Imagens superiores **(a-d)** e da seção transversal **(e, f)** de um canal individual **(a, e)** e do misturador fabricado com dois fios de Nylon **(c, d, f).** A Figura **(b)** é referente a junção entre os canais de entrada e início do misturador; **(c)** região central do canal de mistura e **(d)** de saída dos resíduos. Figuras de (a-d) do próprio autor, (e-f) extraídas e adaptadas (GIORDANO, Gabriela et al., 2018).

Adesivo 81 (**NOA81**) (FIORINI, Gina et al., 2003, FIORINI, Gina et al., 2007; HUNG, Lung-Hsin; LIN, Robert; LEE, Abraham Philip; 2008; KUO, Jason et al., 2009; WÄGLI, Philip et al., 2010). Estes polímeros apresentam procedimentos de fabricação semelhantes aos métodos convencionais do **PDMS**, mas com maior rigidez e melhor resistência a solventes. No entanto, estes materiais não são compatíveis com o procedimento de fabricação utilizado neste trabalho (**PSR**), uma vez que seus processos de fabricação são limitados a finas camadas, devido aos seus processos de cura exigidos. Ademais, os trabalhos publicados com estes polímeros relatam a dificuldade em fabricar dispositivos mais espessos devido ao processo de cura requerido (SOLLIER, Elodie et al., 2011).

O desempenho do dispositivo fabricado em **PDMS** em condições de vazão e pressão altas (característica necessária para a geração do escoamento turbulento) são demonstrados na **Figura 30**. As deformações elásticas obtidas pelo misturador em tripla hélice apresentaram-se entre 1,01 ± 0,01 e 1,11 ± 0,01 com vazões totais de 0,5 a 9,0 mL min^{-1} (**Figura 30 (a)**). Estes valores são referentes as pressões de 0,3 a 6,3 MPa conforme a bomba de **HPLC** (**Figura 30 (b)**), respectivamente. Uma relação linear ($\mathbf{R^2}$) maior que 0,99 entre as taxas de deformação e taxa de fluxo foi observada de 3,0 a 9,0 mL min^{-1}, conforme salientado no gráfico. Esse resultado mostra que a deformação do misturador é constante em relação a vazão aplicada e que este não atua como uma válvula pulsada, apesar de sua natureza elastomérica. Além disso, uma vez que a seção transversal dos microcanais do **PSR** é quase simétrica, foi assumido que a taxa de deformação é similar em todas as direções. Assim, a expansão máxima relativa ao diâmetro do misturador (extensão de deformação) adquirido para a vazão de 58,5 mL min^{-1} (vazão máxima aplicada ao dispositivo) foi de 11,1% (n = 10). Considerando que canais

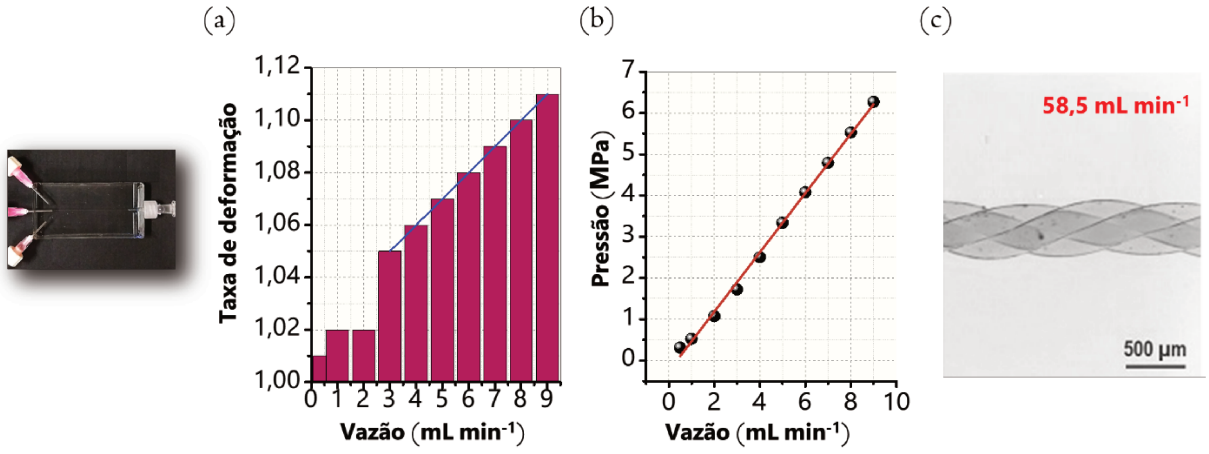

Figura 30: Deformação elástica dos dispositivos microfluídicos fabricado em **PDMS**. **(a)** Taxas de deformação do misturador em tripla hélice; **(b)** Variação de pressão hidrodinâmica em canais simples; **(c)** Vazão máxima aplicada ao misturador em tripla hélice. Figura do próprio autor.

de **PDMS** obtidos por microfabricação convencional apresentam níveis de deformação de até 25%, atribuímos a baixa deformação obtida, como consequência da ausência de: (i) ausência de interfaces (pontos de fratura) e (ii) simetria dos canais (SOLLIER, Elodie et al., 2011). Tais características farão com que o vetor de força de compressão resultante seja maximizado, inibindo deformações elásticas nas direções X e Y. Além disso, assumimos que esse tipo de força seja responsável por permitir que os microcanais de **PRS** readquirissem seus diâmetros originais após a aplicação de altas taxas de vazões.

Os resultados obtidos pelo dispositivo em resina epóxi **BPA** são mostrados na **Figura 31**. Como esperado, a resina epóxi **BPA** não apresentou quaisquer deformações elásticas sob taxas de fluxo adversas. A ausência dessa deformação foi comprovada mediante medida de pressão hidrodinâmica no microcanal sob fluxo crescente de 0,5 a 9,0 mL min^{-1}, que corresponde as pressões de 0,2 a 0,9 mPa (**Figura 31 (a)**). Além disso, verificou-se uma relação linear entre pressão e vazão superior a 0,99. As imagens estereoscópicas do misturador em dupla hélice preenchidas com líquidos a 40,0 mL min^{-1}, mostraram que expansão máxima relativa ao diâmetro do misturador foi de apenas 0,1% (n = 10) (**Figura 31 (b)**). Esta pequena variação pode estar relacionada com a diferença entre o índice de refração inicial (sem líquido) e final (com o líquido), demonstrando que o dispositivo em resina epóxi **BPA** não apresentou quaisquer taxas de deformação. Neste caso, tanto a linearidade entre pressão e vazão, como o resultado de expansão máxima do microcanal, estão associados a microcanais perfeitamente

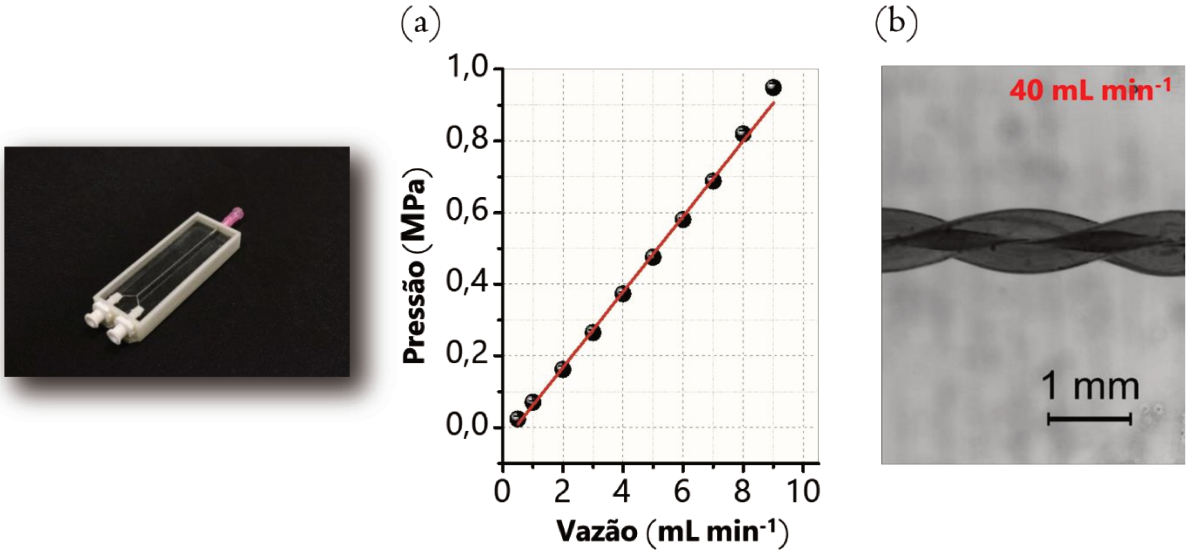

Figura 31: Deformação elástica dos dispositivos microfluídicos fabricado em resina epóxi **BPA**. **(a)** Variação de pressão hidrodinâmica em canais simples; **(b)** Vazão máxima aplicada ao misturador em dupla hélice. Figura extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018).

rígidos. Considerando que outros polímeros rígidos, como TEPE, PUMA e NOA81, apresentam taxas de deformação de até 8%, a utilização do dispositivo baseado em resina epóxi **BPA** apresenta características vantajosas em aplicações que requerem ausência de deformação elástica (FIORINI, Gina et al., 2003, FIORINI, Gina et al., 2007; HUNG, Lung-Hsin; LIN, Robert; LEE, Abraham Philip; 2008; KUO, Jason et al., 2009; WÄGLI, Philip et al., 2010).

Além das vantagens associadas à fabricação, os resultados portados aqui, mostram a capacidade dos dispositivos fabricados em suportarem taxas de vazão severas com baixa ou sem deformação elástica

4.3 Resistência química

A resistência química é um parâmetro crítico em aplicações que exigem a manipulação de solventes e/ou compostos orgânicos em microfluídica, uma vez que, há a necessidade de compatibilidade entre o solvente e os microcanais. Canais microfluídicos são comumente fabricados em **PDMS** devido as suas numerosas vantagens (CASTILLO-LÉON, James; SVENDSEN, Winnie E., 2015; LI, Shiguang et al., 2008; MCDONALD, Cooper; WHITESIDES, George; 2002; SALIEB-BEUGELAAR, George et al., 2016). No entanto, de acordo com o estudo demonstrado por LEE, Jassamine; PARK, Cheolmin e WHITESIDES, George (2003), o **PDMS** é incompatível com uma série de solventes, das quais incluem: hidrocarbonetos alifáticos e cíclicos (pentano, hexano, heptano, ciclohexano), aromáticos (xilenos, tolueno, benzeno), compostos halogenados (clorofórmio, tricloroetileno), éteres (éter etílico, dimetoxietano, tetrahidrofurano) e aminas (diisopropilamina, dipropilamina, trietilamina). Na presença destes solventes, o **PDMS** intumesce, podendo alterar as dimensões dos microcanais ou até mesmo degradá-los completamente. Com base nas informações de incompatibilidade do **PDMS** previamente descritas, este trabalho não incluiu o estudo de resistência química dos dispositivos fabricados em **PDMS**.

Por outro lado, a resistência química dos dispositivos fabricados em resina epóxi **BPA** foram avaliados de acordo com o intumescimento dos microcanais quando exposto a distintos solventes. Os solventes estudados incluíram: hidrocarbonetos alifáticos (pentano, hexano e heptano); aromáticos (tolueno); ciclos (ciclohexano); clorados (diclorometano), álcool (álcool etílico); acetona e soluções aquosas 1 mol L^{-1} (ácido acético, hidróxido de sódio e **MEG**).

A **Figura 32** ilustra os resultados de resistência química obtidos para microcanais a base de resina epóxi **BPA**. Os dados de intumescimento dos microcanais foram expressos em um gráfico com informações de diâmetro do canal *x* tempo de exposição (**Figura 32 (a)**). Os microcanais demonstraram tolerância aos solventes pentano, hexano, heptano, tolueno e ciclohexano, e às soluções aquosas de hidróxido de sódio e **MEG**. Por outro lado, os microcanais demonstraram uma alta taxa de degradação, que variou de 12 a 114 %, para etanol, acetona, diclorometano e ácido acético, com danos irreversíveis (**Figura 32 (b)**).

Os resultados portados aqui demonstram a compatibilidade do dispositivo fabricado em resina epóxi **BPA** com uma variedade de solventes orgânicos. Assim, é possível utilizá-lo com amostras complexas de condensado de gás natural, que são compostas principalmente por pentano, hexano e heptano. Outra alternativa, é empregá-lo como substituto aos dispositivos microfluídicos resistentes a solventes orgânicos fabricados com os polímeros TPE, PUMA, NOA81 e poli(vinilmetilsiloxano), que apresentam as desvantagens de laboriosos e caros processos de fabricação e são limitados a canais **2D**, devido aos seus processos de cura exigidos (FIORINI, Gina et al., 2003, FIORINI, Gina et al., 2007; HUNG, Lung-Hsin; LIN, Robert; LEE, Abraham Philip; 2008; KUO, Jason et al., 2009; WÄGLI, Philip et al., 2010).

Para aplicações que requerem a compatibilidade dos microcanais com etanol e ácido acético, é possível o emprego do dispositivo fabricado em **PDMS**.

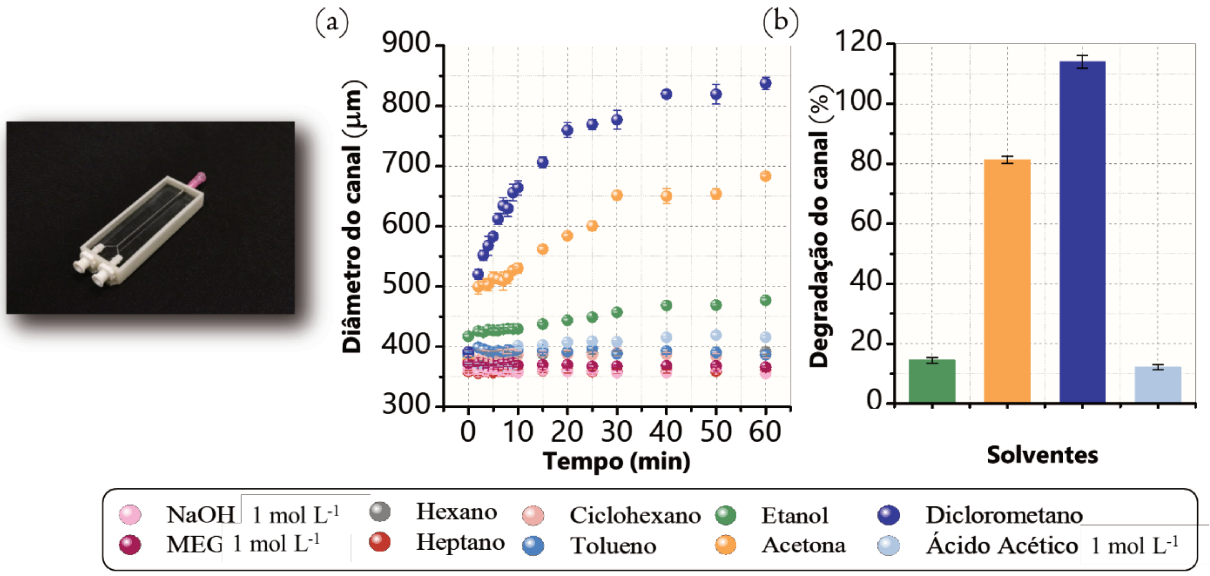

Figura 32: Resistência química dos microcanais fabricados com resina epóxi **BPA**. **(a)** Resultados de intumescimento dos microcanais e **(b)** taxa de degradação dos solventes que apresentaram menor compatibilidade com os microcanais. Figura extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018).

4.4 Formação de mistura

4.4.1 Mistura de corantes

Imagens de estereoscopia do processo de mistura de soluções coradas obtidas pelos dispositivos em **PDMS** (três entradas) e de resina epóxi **BPA** (duas entradas) são mostradas na **Figura 33**. Vazões totais de 0,6 e 58,5 mL min^{-1}foram aplicadas no dispositivo em **PDMS** (**Figura 33 (a)**). Enquanto que as vazões totais aplicadas no dispositivo de resina epóxi **BPA** foram de 0,4 e 40 mL min^{-1} (**Figura 33 (b)**).

Em baixas vazões (0,6 e 0,4 mL min^{-1}) não foram observadas formação de mistura no microcanal, provavelmente porque a difusão do corante através dos canais é predominante sobre o transporte convectivo de fluidos. Nessas vazões o número de **Re** é extremamente baixo, sendo 37 e 10 para as vazões de 0,6 e 0,4 mL min^{-1}, respectivamente. No entanto, apesar da natureza do escoamento ser laminar, não identificamos uma interface bem definida entre os fluidos, característica que é geralmente esperada para este regime de escoamento. De acordo com SALIEB-BEUGELAAR, Georgette et al. (2016), esta ausência de interface entre os fluidos pode estar associada com a tridimensionalidade e geometria em forma de hélice do microcanais, que favorece a mistura por convecção-difusão e, torna o perfil de mistura impossível de ser comparado com sistemas **2D**.

Em condições de vazões extremamente altas, 58,5 e 40 mL min^{-1}, misturas homogêneas foram observadas com eficiência de 94 e 93%. Ademais, considerando os fluidos compostos por água pura e misturadores com tripla e dupla hélice (referentes aos dispositivos em **PDMS** e resina **BPA**) o **Re** foi calculado como sendo 2886 e 1060. De acordo com YOU, Jae Bem et al. (2015),a transição para a turbulência é observada em valores de **Re** menores que 1106 para canais microfluídico. Conforme estes autores, esta transição para o escoamento turbulento em baixos **Re**, ocorre devido à colisão de fluxos na seção de intersecção entre os canais, na qual gera uma certa vorticidade na junção de entrada dos fluidos. Desta forma, os resultados de **Re** obtidos nas mais altas vazões são condizentes com a presença de escoamento turbulento.

Considerando que os misturadores não apresentam quaisquer estruturas intrincadas e/ou longos canais de mistura, nas quais poderiam atuar neste processo, pode-se associar a alta eficiência de mistura gerada pelos dispositivos como consequência do escoamento turbulento suportado pelos dispositivos.

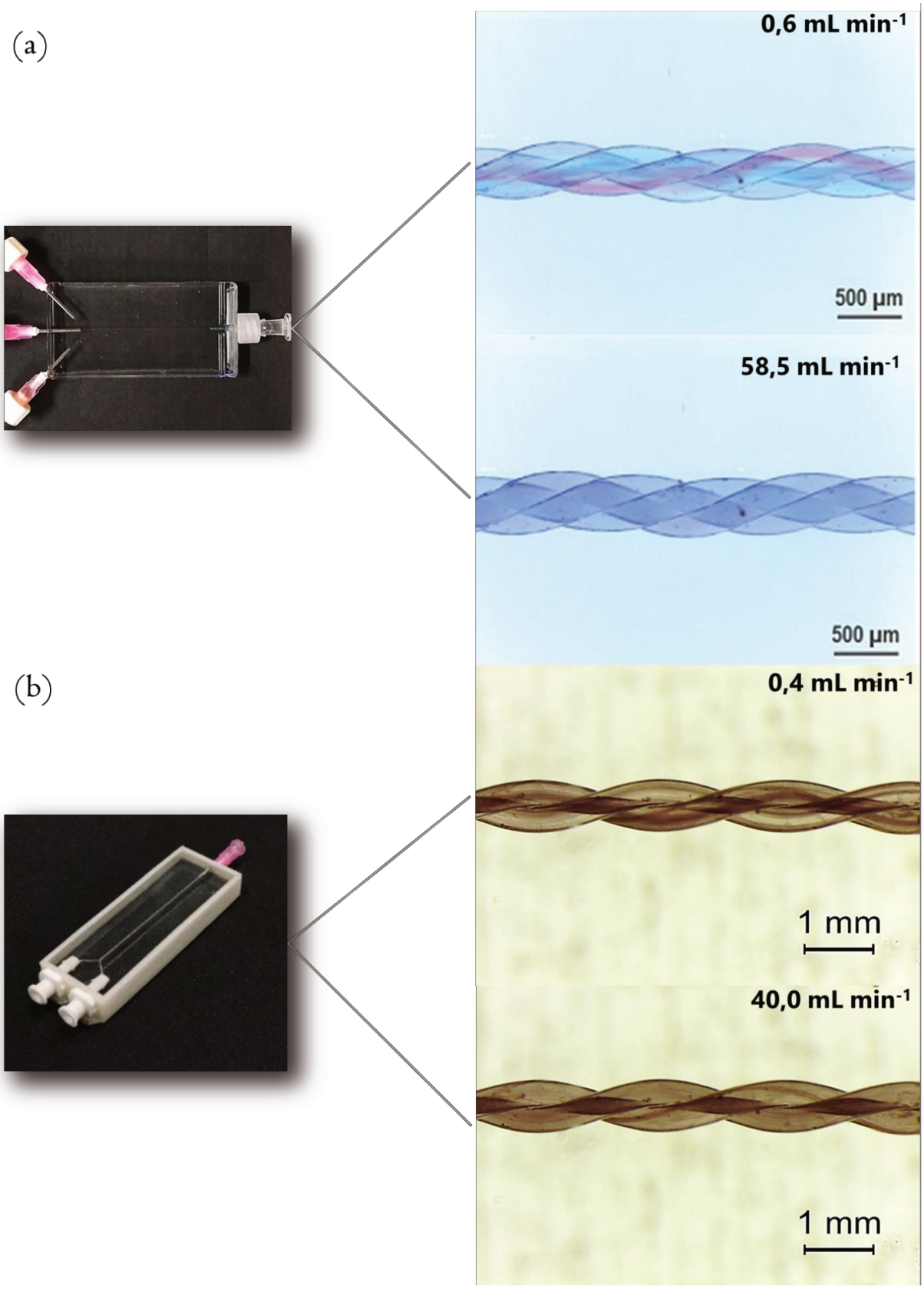

Figura 33: Resultados de mistura obtidos pelo dispositivos fabricados. **(a)** Misturador obtido em **PDMS** e **(b)** Misturador fabricado em resina epóxi **BPA**. Figura extraída e adaptada (DE CAMARGO, Camila et al., 2016; GIORDANO, Gabriela et al., 2018).

4.4.2 Reação colorimétrica

O comportamento do perfil de mistura entre os líquidos também foi avaliado em um sistema colorimétrico baseado na variação de pH. Soluções incolores de hidróxido de sódio e fenolftaleína foram bombeadas para dentro dos microcanais de **PDMS** com a mesma proporção de vazão. O dispositivo foi submetido a vazões totais que variaram de 0,6 até 30 mL min^{-1}.
A **Figura 34** apresenta os resultados de mistura obtidos ao longo das regiões de entrada, média e de saída do misturador microfluídico em cada condição de vazão. Os resultados quantitativos de eficiência de mistura e número de Reynolds são mostrados na **Tabela 1**. A visualização da mistura é facilitada pela mudança de cor do indicador de pH. Isto está em forte contraste na região de entrada dos líquidos, onde a mistura não é observada. No entanto, esta consideração não pode ser aplicada para a vazão de 30 mL min^{-1}, já que uma mistura é exibida desdee as primeiras seções do misturador. Em condições de vazão de 0,6 a 25 mL min^{-1}, o escoamento é evidenciado por flutuações aleatórias no processo de mistura na região de entrada dos líquidos (movimento oscilatório de líquido para cima e para baixo no microcanal), conduzindo a um padrão instável e desordenado. Isto corrobora com a hipótese de SALIEB-BEUGELAAR, Georgette et al. (2016), de que a mistura gerada em canais tridimensionais seja gerada por um processo de advecção caótica. Essa característica favorece a formação de misturas mesmo em baixas vazões. Isso explica o fato de que em vazões de 0,6 e 1 mL min^{-1} a eficiência de mistura seja equivalente a 76,3 e 79,1%, e superior aos resultados obtidos por uma série de dispositivos (FENG, Xiangsong; REN, Yukun; JIANG, Hongyuan, 2013; KHOSHMANESH, Khashayar et al., 2015; RAFEIE, Mehdi et al., 2017). Pelo fato da região de entrada apresentar oscilações que variam ao longo do comprimento do microcanal, não foi possível obter informações de **EM** para as taxas de escoamento de 0,6 a 25 mL min^{-1}. No entanto, em condições de vazão de 30 mL min^{-1}, o mesmo não foi observado. Neste caso, a **EM** foi de 80,7%. Supomos que a partir desta vazão, a pressão interna seja tão grande que a colisão entre os líquidos seja forte suficientemente para gerar mistura logo nas primeiras seções do canal.

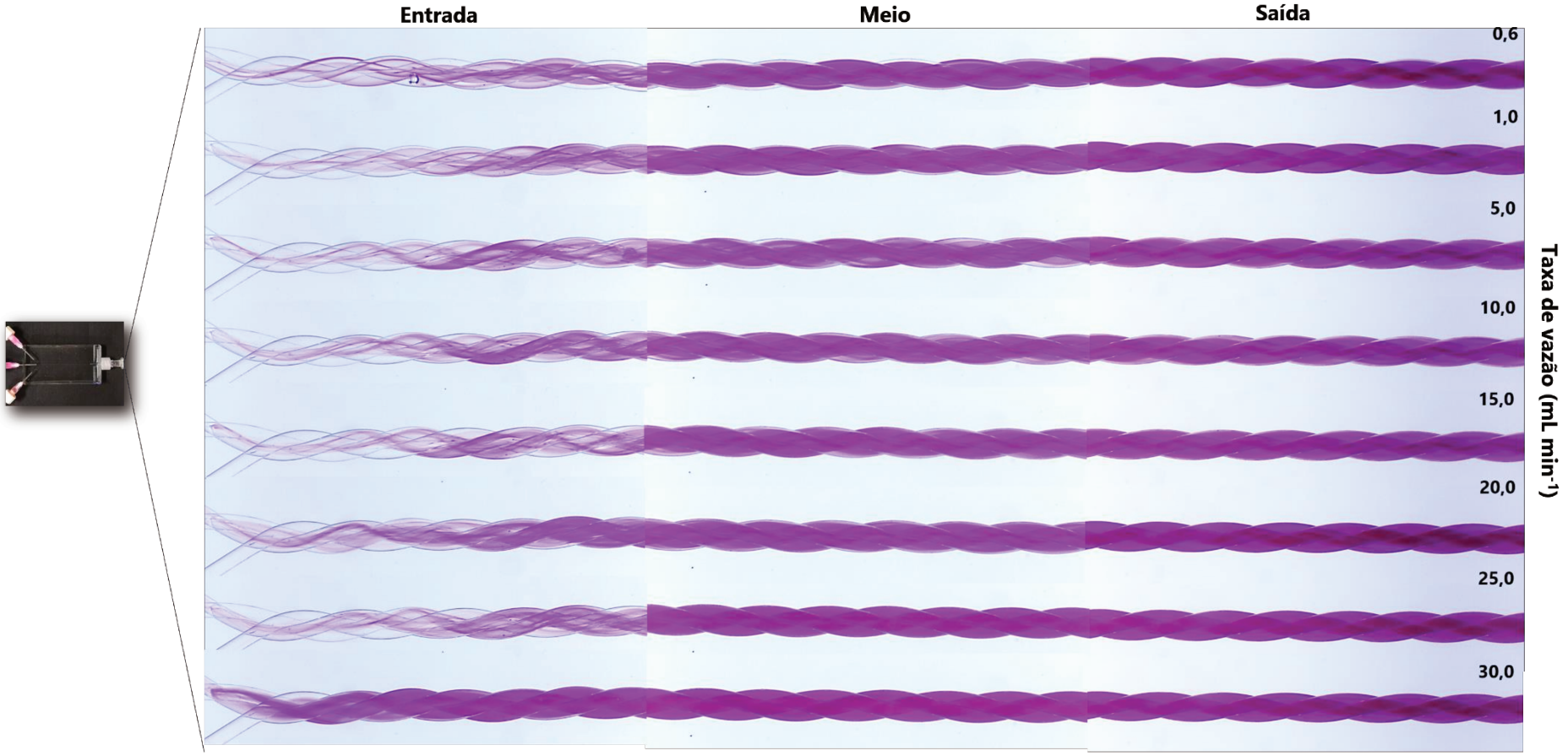

Figura 34: Perfil de mistura obtidos pelo dispositivo microfluídico de **PDMS** ao longo de todo misturador para diferentes taxas de vazões. Figura do próprio autor.

Com relação ao comportamento de mistura na região média do misturador, uma melhora significativa na performance de mistura é evidentemente mostrada em relação a região de entrada dos líquidos (**Figura 35**). No entanto, analisando visualmente o comportamento da mistura na região média do microcanal, não é possível identificar variações de comportamento significativas com o aumento da vazão. Por outro lado, os dados quantitativos demonstraram que a **EM** variou de 74,6 – 83,5% para as vazões de 0,6 – 30 mL min^{-1}, nesta região. Comparando o perfil de mistura da região média com a região de saída do microcanal, é perceptível um aumento da homogeneidade de mistura a medida que o microcanal se aproxima da saída. Em vazões de 0,6 a 30 mL min^{-1}, a eficiência de mistura foi aumentada de 1,8 – 7,8% em relação a região média e de saída do microcanal. Isto, demonstra que o aumento da **EM** está diretamente relacionado ao comprimento do misturador. Além disso, um aumento de 10,6% de **EM** foi obtido a medida que o microcanal se aproximava da área de saída. Está relação é demonstrada na **Figura 35 (a)**, na qual expõe os dados de **EM** obtidos ao longo de todo o micro canal para a vazão de 30 mL min^{-1}.

Tabela 1: Influencia comprimento do microcanal e do número de Reynolds na eficiência de mistura, considerando as regiões de entrada, meio e de saída do misturador. Dados obtidos com **n** = 3 e α = 0,05. Tabela do próprio autor.

Vazão total (mL min^{-1})	Re	Eficiência de mistura (%)		
		Entrada	Meio	Saida
0,6	30		74,6 ± 2,6	76,3 ± 5,0
I	49		75,7 ± 2,9	79,I ± 5,0
5	247		72,4 ± I,3	79,6 ± I,4
I0	493		73,7 ± 2,2	79,9 ± 3,6
I5	740		75,0 ± 4,2	8I,7 ± I,6
20	987		75,5 ± 2,0	82,0 ± 3,I
25	I233		82,6 ± 6,3	90,3 ± I,8
30	I480	80,7 ± II	83,5 ± 5,3	9I,3 ± I,2

A eficiência de mistura obtida na região de saída do microcanal é claramente superior as demais áreas. Contudo, visualmente não é possível identificar variações de mistura com o aumento da vazão, assim como observado na região média do microcanal. Na região de saída do microcanal, a **EM** variou de 76,3 – 91,3 % para as vazões de 0,6 – 30 mL min^{-1}. Estes resultados foram relacionados com o número de Reynolds, tal como demonstrado na **Figura 35(b)**. Misturas homogêneas com **EM** ≥ 90 % foram obtidas em taxas de fluxo de 25 e 30 mL min^{-1}, referentes a **Re** de 1233 e 1480. Segundo YOU, Jae Bem et al. (2015), estes números de Reynolds são condizentes com a geração de escoamento turbulento, e explica o fato de que um misturador simples (sem o auxílio de unidades de obstrução de fluxo) ser capaz de gerar mistura homogênea. Sobre tal premissa, uma mistura ótima só foi alcançada devido a geração de escoamento turbulento nos microcanais.

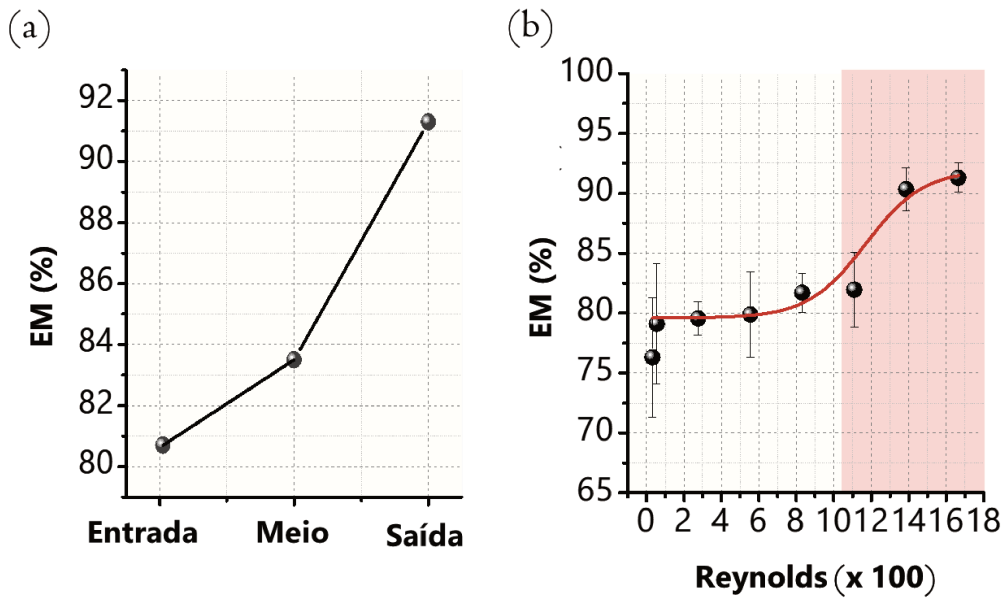

Figura 35: Eficiência de mistura. **(a) EM** em função das regiões de entrada, meio e saída do microcanal; **(b) EM** em relação ao número de Reynolds obtidos ao longo de todo o microcanal na vazão de 30 mL min^{-1}. A região em destaque no gráfico (em vermelho) refere-se ao escoamento turbulento. Figura do próprio autor.

4.4.3 Microemulsificação

O estudo de mistura baseado em microemulsificação foi realizado no dispositivo constituído de **PDMS**. As dispersões foram compostas por **MEG** em água, ácido oleico e etanol como fases **A**, **O** e **AP**, respectivamente. A concentração do analito, foi expressa pela fração volumétrica de **MEG** em água (Φ_M, % v / v) e variou de 10 a 40 % v / v. As vazões de **A** e **O** foram mantidas em 4 mL min^{-1} cada, resultando em uma vazão total de **A** e **O** de 8 mL min^{-1}. Por outro lado, a vazão do anfifílico foi incrementada até o ponto de viragem como supracitado. Da mesma forma, o experimento foi conduzido para as vazões de **A** e **O** de 5 até 10 mL min^{-1} cada. Essa variação possibilitou uma melhor compreensão do efeito das taxas de vazões no processo de geração de microemulsões. Cada dispersão, foi coletada após 10 s do incremento de **AP**. Esse tempo permitiu a mistura das fases. Todas as análises foram repetidas com intervalo de confiança de $\alpha = 0{,}05$ e $n = 3$.

Os resultados alcançados, são demonstrados na **Figura 36**. A **Figura 36 (a)**, demonstra os mecogramas obtidos para as concentrações de 10, 20, 30 e 40% de etanol. Os mecogramas relacionam a resposta turbidimétrica de ϕ_{ME} com a taxa de vazão total das fases **A** e **O** aplicadas. Inicialmente, devido as baixas vazões das fases **A** e **O**, as misturas geradas no processo de microemulsificação não foram homogêneas e exigiram um maior volume de **AP**

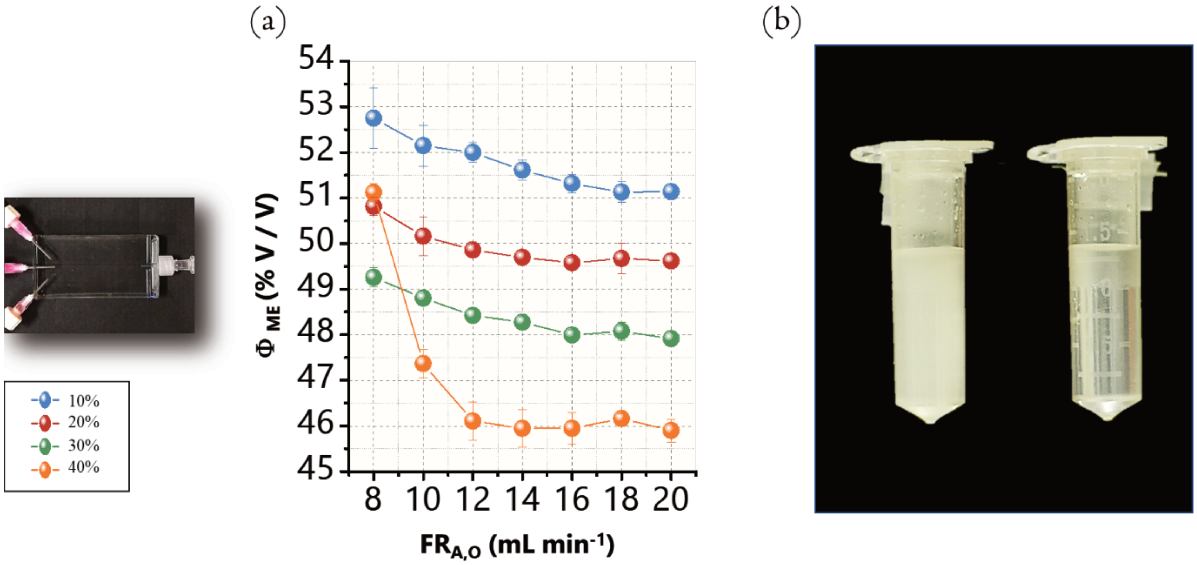

Figura 36: Estudo de mistura utilizando o método baseado em microemulsificação. **(a)** Mecogramas obtidos a partir de padrões de padrões de **MEG** com diferentes concentrações (10 – 40 %); **(b)** Dispersões turvas (emulsão) e transparentes **(ME)** coletadas na saída do dispositivo. Figuras do próprio autor.

para gerar **ME**.

Assim, em vazões de 8 e 10 mL min^{-1}, ϕ_{ME} apresentou maiores valores. A partir de vazões totais de **A** e **O** de 12 mL min^{-1}, o efeito da vazão deixou de ter influência sobre o processo de mistura e ϕ_{ME} demonstrou uma tendência a ser constante.

Este resultado pode ser explicado com base nos **Re** obtidos para cada vazão em cada concentração de **MEG**, na qual são detalhadas na **Tabela 2**. Segundo YOU, Jae Bem et al. (2015), os **Re** obtidos a partir de vazões totais de **A** e **O** de 12 mL min^{-1} indicam a presença de turbulência no interior dos microcanais **PSR**. Isso demonstra que ϕ_{ME} tornou-se estável a medida que o sistema atingiu o escoamento turbulento. A **Figura 36 (b)** demonstra as dispersões coletadas na saída do dispositivo após as análises.

Tabela 2: Números de Reynolds obtidos mediante as vazões totais necessárias para gerar microemulsão, em relação as vazões de **A** e **O** aplicadas e as frações de **MEG** (Φ_M)em água. **Re** foi obtido considerando o fluido composto por água a 20 °C. Tabela do próprio autor.

$Vazão_{A+O}$ ($mL\ min^{-1}$)	Re			
	Φ_M (% v / v)			
	10	20	30	40
8	835,2	802,5	777,9	807,5
10	1031,1	990,0	963,7	937,4
12	1233,4	1180,8	1147,9	1098,5
14	1427,3	1373,2	1335,3	1277,8
16	1621,5	1565,6	1517,9	1460,3
18	1817,0	1764,6	1710,3	1649,4
20	2019,3	1958,6	1894,5	1823,8

4.5 Aplicação

4.5.1 Determinação quantitativa de etanol em bebidas alcoólicas comerciais

A determinação quantitativa de etanol em bebidas alcoólicas comerciais foi conduzida integralmente pela plataforma contendo detecção turbidimétrica e dispositivo microfluídico. O dispositivo microfluídico fabricado em **PDMS** foi utilizado para este propósito, devido sua compatibilidade química com as fases empregadas na análise (LEE, Jessamine; PARK, Cheolmin; WHITESIDES, George; 2003).

A determinação de etanol em amostras reais foi feita mediante a construção de uma curva de calibração. Para isso, as fases foram compostas por padrões de etanol em água (**A**), ácido oleico (**O**) e etanol (**AP**). Os padrões de etanol variaram entre 10 e 40 % v / v e foram representados pela fração volumétrica de etanol em água (Φ_E, % v / v). As vazões de **A** e **O** foram mantidas em 5.0 mL min^{-1} cada, ao passo que a vazão do anfifílico foi incrementada automaticamente pelo **App**. Para obtenção de resultados, foram realizadas análises exploratórias e precisas (n = 4). Os resultados obtidos são apresentados na **Figura 37**. De acordo com o mecograma apresentado na **Figura 37 (a)**, a baixa vazão de **AP** leva a formação de emulsões, reduzindo a intensidade do sinal de **RGB**. A partir da vazão de 8 mL min^{-1}, temos a região de transição, onde o fluxo é instável, oscilando entre turvo e transparente. Esta oscilação ocasiona uma instabilidade na resposta analítica. A partir desse ponto, o aumento da vazão de **AP** torna o aspecto transparente dominante e o sinal transmitido é amplificado. A **Figura 37 (b)**, demonstra o resultado do padrão de uma análise obtido pelo **App**. A curva de calibração é apresentada na **Figura 37 (c).** A curva de calibração apresentou uma faixa linear ampla (R^2 > 0,99) com limite de linearidade de Φ_E 40 % v / v, e sensibilidade analítica igual a 0,4. Seus desvios negativos em Φ_{ME} são relacionados com à adição gradual de etanol (analito) na fase **A**, que passa a requerer cada vez menos de etanol hidrótopo (**AP**) para microemulsificação. De acordo com GIORDANO et al. (2015), a redução do sinal de ϕ_{ME} com Φ_E é explicada pelo aumento do fenômeno de atividade superficial, que contribui para a estabilização termodinâmica das dispersões mediante a diminuição da tensão interfacial. Os sinais ϕ_{ME} foram observados com **Re** próximo a 1000 e indicam que as microemulsões só foram obtidas quando o sistema atingiu o escoamento turbulento. Além disso, de acordo com LIMA, Renato

et al., (2014), a obtenção das microemulsões só é possível de ser obtida em sistemas de agitação vigorosa, já que o método de microemulsificação requer uma diminuição na tensão interfacial das fases A e O para formação da **ME**. A **Figura 37 (d)** demonstra a região de saída do misturador durante a formação de emulsão (turva) e a microemulsão (transparente) durante uma das análises.

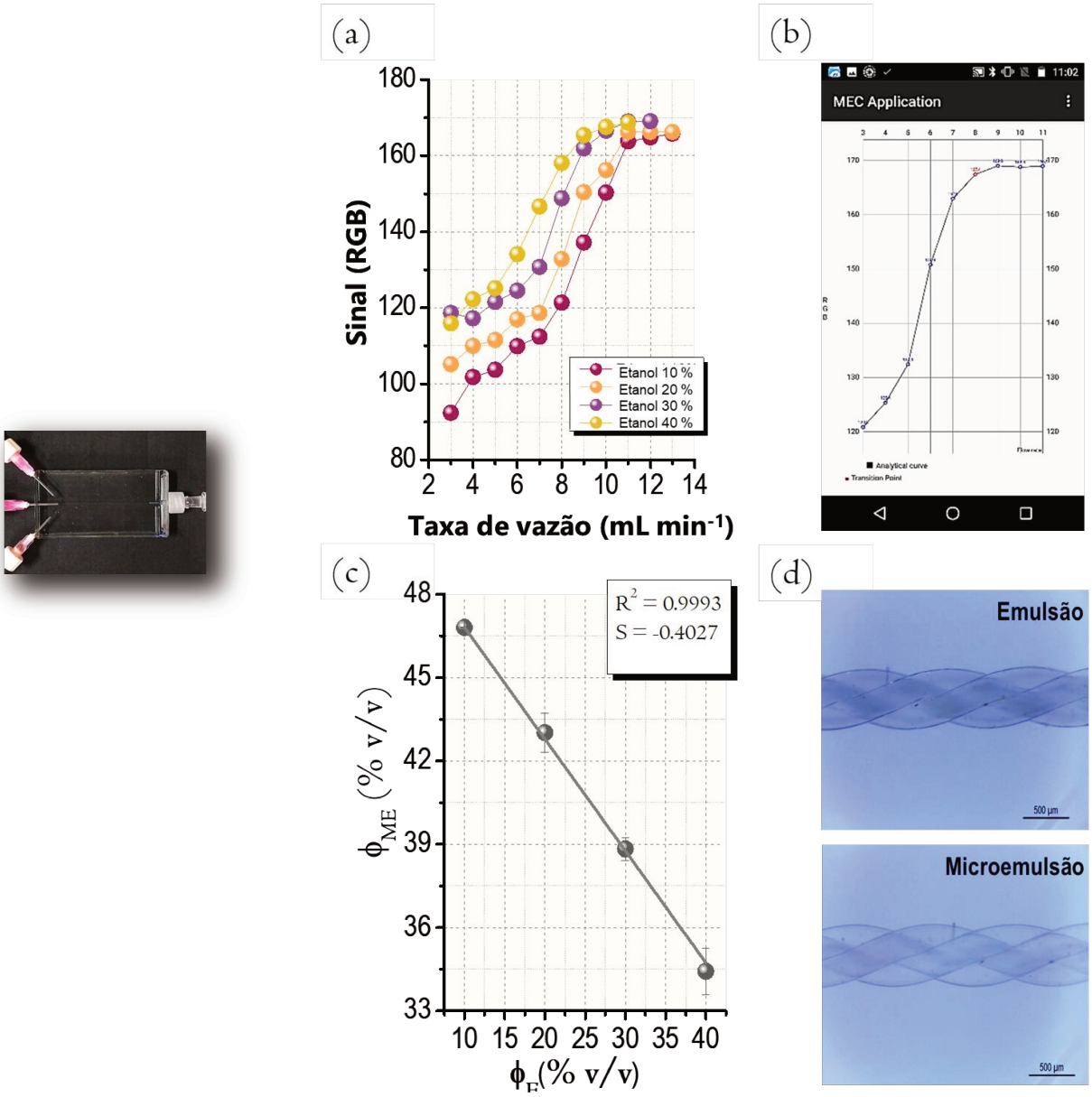

Figura 37:Construção da curva de calibração do etanol em concentrações que variaram de 10 – 40 %. **(a)** Mecogramas dos padrões de etanol; **(b)** Mecograma obtido pelo App; **(c)** Curva de calibração dos padrões de etanol, com destaque para a linearidade ($\mathbf{R^2} \geq 0{,}99$) e sensibilidade (**S** = -0,40); **(d)** Imagens de estereoscopia obtidos na região de saída do misturador durante a formação de emulsão e microemulsão. Barra de erro = 500 µm. Figura do próprio autor.

Na sequência, a plataforma microfluídica operada por celular foi aplicada para determinação de etanol em bebidas alcoólicas comerciais. Seis amostras foram analisadas, das quais incluíram duas cachaças, duas vodcas, um rum e um uísque. Cada uma destas bebidas foi diluída em água **DI** na razão de 1:1 (v / v) e usadas com fase hidrofílica no sistema. O ácido oleico e o etanol foram mantidos nas fases **O** e **AP**, respectivamente. Das seis amostras testadas, apenas uma apresentava coloração. Para avaliação dos resultados obtidos pela plataforma, assumimos $\mathbf{\Phi_E}$ determinado pelo rótulo e por **GC- FID** como valores de referência.

Os resultados obtidos são demonstrados na **Figura 38**. De acordo com os valores de referência, os níveis de precisão para seis amostras variaram de 94,2 – 107,9 % e 95,2 - 109,0 %, respectivamente. A técnica de cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas apresentou maior detectabilidade em relação a plataforma microfluídica. Mesmo assim, a plataforma contendo detecção turbidimétrica e dispositivo microfluídico apresentou resultados analíticos satisfatórios, especialmente quando se tem objetivos de análises simples e rápidas. Os valores de concentração de etanol obtidos para as diferentes amostras de bebidas são apresentados na **Tabela 3**. Acreditamos que o alto desvio obtido para a amostra F pode estar atribuído a coloração da amostra, já que o **App** atua com base na comparação das imagens durante o processo de microemulsificação e a imagem de referência. Neste caso, diferentemente das outras amostras, o sistema precisou ser calibrado com uma mistura da fase **A** com a **AP** 1:1 (v / v). Ademais, o grau de diferenciação estatística entre os dados foi investigado através do Testes T de *Student* com 95 % de nível de confiança. Com efeito, não houve diferenças estatísticas significativa entre os dados alcançados pelos métodos.

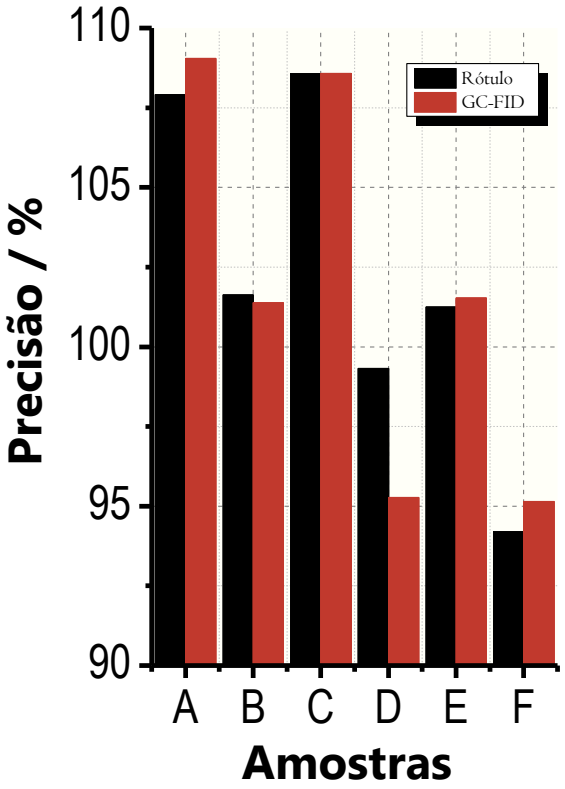

Figura 38: Resultados de precisão das medidas obtidas pela plataforma microfluídica com detecção por celular, em relação aos valores de referência obtidos pelo rótulo (em preto) e por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (em vermelho). As amostras A e C estão relacionadas com cachaça, B e D com vodca, E com rum e F com uísque. Figura do próprio autor.

Tabela 3: Resultado do teor de etanol em amostras de bebidas alcoólicas provenientes das análises obtidas pela plataforma microfluídica automatizada por celular. Os valores de referência também são demonstrados. As amostras A e C são estão relacionadas com cachaça, B e D com vodca, E com rum e F com uísque. Dados com intervalo de confiança ($\alpha = 0{,}05$, $n = 4$). Tabela do próprio autor.

	Φ_E (% v / v)		
Amostra	**Rótulo**	**GC-FID**	**Smartphone**
A	39,0	38,6	42,1 ± 1,6
B	38,0	38,0	41,3 ± 0,0
C	39,0	39,1	39,7 ± 1,8
D	37,5	39,1	37,2 ± 1,8
E	38,0	37,9	38,5 ± 0,9
F	40	39,6	37,7 ± 4,5

4.5.2 Extração líquido-líquido de monoetilenoglicol em condensado de gás natural

A extração líquido-líquido de monoetilenoglicol em condensado de gás natural foi realizada pelo dispositivo microfluídico, seguido de detecção eletroquímica. Para este propósito, o dispositivo microfluídico microfabricado em resina epóxi **BPA** foi empregado, devido sua compatibilidade química com os principais componentes presentes nas amostras de condensado de gás natural (tal como descrito no item **4.3**). A determinação de **MEG** em amostras reais foi feita mediante a construção de uma curva de calibração. Padrões de **MEG** com concentrações de 124,1, 248,3, 372,4, 496,5, 620,7 e 744,8 ppm foram obtidos por voltametria cíclica, utilizando eletrodos de trabalho de Ni modificados com nanopartículas de $Ni(OH)_2$. Os voltamogramas e a curva de calibração resultantes são mostrados na **Figura 39**.

Com base nos voltamogramas obtidos, as correntes relacionadas à oxidação de **MEG** aumentaram diretamente com as concentrações (**Figura 39 (a)**). A curva de calibração demonstrou uma boa linearidade, com $\mathbf{R^2}$ superior a 0,99. A sensibilidade analítica (**S**) e o limite de detecção (**LOD**) foram calculados como 0,1 μA L ppm^{-1}, e 36,4 ppm de **MEG**, respectivamente (**Figura 39 (b)**). Além disso, os intervalos de confiança variaram de 0,2 μA a 1,3 μA, indicando uma precisão satisfatória dos dados.

A voltametria cíclica foi usada como modo de detecção para manter constante a concentração de **NiOOH** na superfície do eletrodo através dos ciclos anódico e catódico, gerados em correntes de + 430,0 e + 330,0 mV, respectivamente (JIA, Li-Ping; WANG, Huai-Sheng; 2003). A concentração de **NiOOH** permanece constante durante toda a análise de modo que a oxidação do **MEG** seja basicamente controlada pelas transferências eletrônicas deste dialcohol, que é adsorvido nas superfícies do eletrodo, como demonstrado na **Equação 8** (VÉRTES, G; HORÁNYI, G; 1974). Esse recurso é importante para a relação linear entre a corrente de pico anódica e a concentração de **MEG**. Além disso, tal detecção evita a conversão de α-$\mathbf{Ni(OH)_2}$ para β-$\mathbf{Ni(OH)_2}$, que é observada em técnicas amperométricas, após longos períodos de tempo sob um potencial (MOKHATAB, Saeid; POE, William; MAK, John; 2015). De acordo com DE CAMARGO, Camila et al. (2016) a oxidação do **MEG** acontece em 600 mV.

$$\boldsymbol{NiOOH + MEG \rightarrow NiOOH_{MEG} \rightarrow NiOOH + produtos + H^+ + e^+} \qquad \textbf{Equação 8}$$

Na sequência, o dispositivo microfluídico foi utilizado para a realização das extrações líquido-líquido de **MEG** em amostras de **NGC**. A **Figura 40** mostra dados associados com as extrações de **MEG** de uma amostra de **NGC**. Nesta amostra, a concentração de **MEG** obtida pelo protocolo da Petrobras e pela **LLE** realizada em funil de separação com detecção por eletroquímica foi de 157,8 e 133,7 ppm, respectivamente. Estes dados foram utilizados como referência para a determinação dos níveis de precisão. A eficiência de extração (**EE**) obtida pelo método do funil de separação e por microfluídica, ambos com detecção por eletroquímica, foram calculadas em relação a concentração obtida pelo método padrão da Petrobras.

A **EE** realizada pelo método do funil de separação (com detecção por eletroquímica) foi de 84,7 %. Este método, foi baseado nas mesmas proporções de volume das fases orgânica e aquosa usadas na configuração microfluídica. Como esperado, a precisão gerada pela extração do dispositivo microfluídico aumentou com o aumento das vazões totais, que variaram de 10 até 40 mL min^{-1} (**Figura 40 (a)**). Na condição de vazão de 40 mL min^{-1} a eficiência de extração foi de 85,9%, que é similar aos dados obtidos pelo método do funil. Apesar da proximidade entre o resultado de eficiência de extração obtidos pelas técnicas, a extração realizada pelo dispositivo microfluídico foi conduzida em uma única etapa, enquanto que no método tradicional é realizado em quadruplicada. Além disso, o tempo de residência estimado foi de apenas 0,05 s a 40 mL min^{-1}.

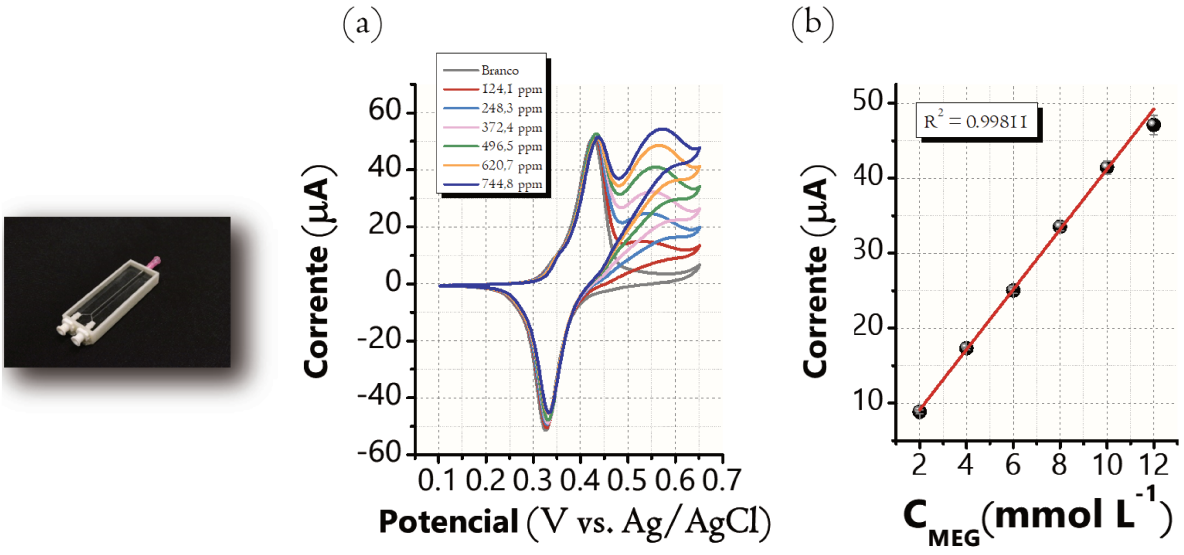

Figura 39: Determinação dos padrões **MEG**. (a) Voltamogramas e (b) Curva de calibração de padrões de **MEG**. Figura extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018).

A alta eficiência de extração registrada pelo dispositivo microfluídico pode ser explicado com base na excelente taxa de dissipação de energia e outros aspectos relacionados com o escoamento. Tais características melhoram a partição do analito entre as fases imiscíveis. Recentemente, a taxa de dissipação de energia em canais microfluídicos foi observada como sendo quase duas ordens de magnitude maior do que em sistemas de tamanho normal em condições de fluxo severas (YOU, Jae Bem et al., 2015). A este respeito, o número de Reynolds variou de 372 a 1488, para as taxas de vazão estudadas (**Figura 40 (b)**). De acordo com a literatura, o escoamento turbulento foi evidenciado para as vazões de 30 e 40 mL min^{-1}, na qual corresponde a **Re** de 1117 e 1488, respectivamente. Além da alta eficiência de extração, o escoamento turbulento levou à formação indesejável de emulsões entre as fases após sua mistura (**Figura 40 (c)**). No entanto, o repouso de apenas 10 min foi suficiente para uma separação eficaz das fases doadora e receptora.

A **LLE** convencional (protocolo da Petrobras) durou cerca de 24 horas por amostra (desde a mistura até a determinação por titulação iodométrica), enquanto que o tempo da **LLE** realizada pelo dispositivo microfluídico foi inferior a 15 min (basicamente, o tempo para separação de fase). Além dos ganhos de frequência análises, o uso do dispositivo microfluídico apresenta outras vantagens, como alta compatibilidade de automação (melhora a precisão) e capacidade de ajuste de pré concentração do analito que pode ser obtido mediante a variação das taxa de vazão da fase imiscível.

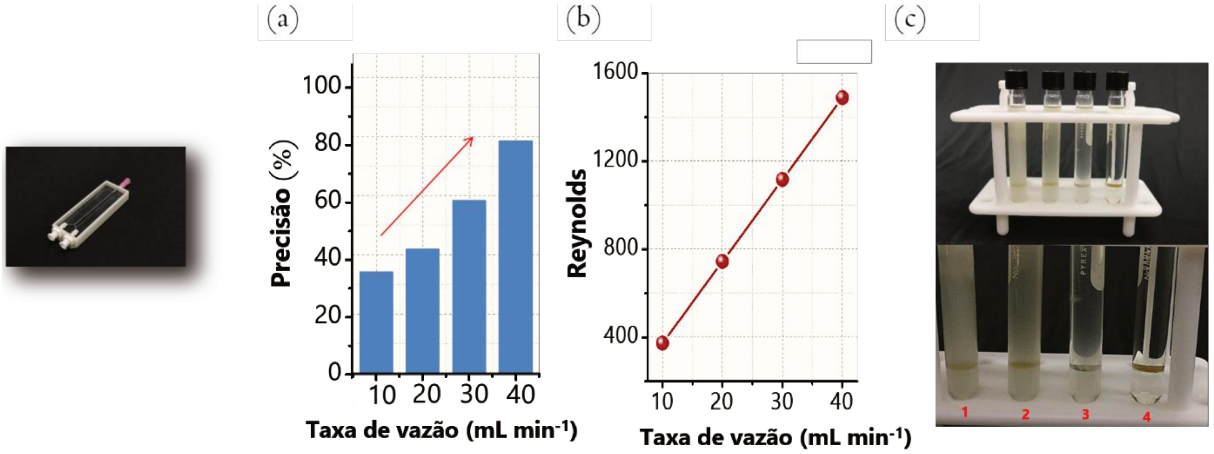

Figura 40: Resultados de extração líquido-líquido obtidos pelo dispositivo microfluídico fabricado a base de resina epóxi **BPA**. **(a)** Gráfico de eficiência de extração. A seta vermelha neste gráfico mostra o aumento na eficiência da extração com a vazão. **(b)** Número de Reynolds e **(c)** Fotos das fases imiscíveis. O frasco 1 contém a emulsão que foi obtida logo após a mistura realizada em 40,0 mL min^{-1}. Os frascos 2, 3 e 4 estão relacionadas com a separação das fases em tempos graduais que sucedem essa mistura. A separação total das fases é observada no frasco 4, com um tempo de repouso de aproximadamente 10 min. Figura extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018).

Os dados resultantes da concentração de **MEG** para cada amostra são demonstrados na **Tabela 4**. As análises eletroquímicas para cada amostra duraram menos de 10 minutos.

As concentrações de MEG obtidas nas quatro amostras são demonstradas na Tabela 4. Para o cálculo de exatidão, as concentração obtidos pelo protocolo da Petrobras foram assumidos com referência. A exatidão da **LLE** obtida por microfluídica com detecção eletroquímica variou de 85,9% a 109,8%. Alguns valores de exatidão foram maiores que 100%, indicando que a eficiência de extração gerada pelo **LLE** microfluídico foi maior que os valores alcançados pelo método tradicional, confirmando ainda mais a alta partição do analito nas extrações assistidas por turbulência. No entanto, essas percentagens são aceitáveis, de acordo com a Associação de Químicos Analíticos Oficiais, que estabelece exatidões entre 80% e 110% como sendo satisfatório para concentrações na ordem de ppm (AOAC, 2012).

Tabela 4: Concentrações de **MEG** (ppm) em amostras de condensado de gás natural determinadas pelos métodos de **LLE** convencional com detecção por iodometria e **LLE** microfluídica com detecção eletroquímica. Tabela extraída e adaptada (GIORDANO, Gabriela et al., 2018).

		Detecção por eletroquímica			
	Protocolo Petrobras	LLE em funil de separação		LLE microfluídica	
Amostra	**Concentração (ppm)**	**Concentração (ppm)**	**Exatidão**	**Concentração (ppm)**	**Exatidão**
A	51,2	54,44	100,54	55,77	109,02
B*	157,8	133,7	84,75	135,57	85,93
C	73,4	85,6	116,70	80,63	109,88
D	64,2	69,5	108,30	59,98	93,42

Amostra B*: Esta amostra foi utilizada para a investigação da eficiência de extração.

5. CONCLUSÃO

O método de fabricação utilizado aqui, resultou em dispositivos com força de adesão suficiente para suportar as vazões necessárias para criação de turbulência nos microcanais. O nosso objetivo consistiu na fabricação de dispositivos de peça única (sem interfaces). Essa filosofia, foi adotada em substituição ao protocolo caro, laborioso e lento de modificação química de superfície adotado por YOU, Jae Bem et al (2015) para a fabricação de dispositivo microfluídico que suporte as vazões necessárias para a geração de escoamento turbulento. A rotina adotada neste trabalho exibiu simplicidade (requer basicamente uma estufa), baixo custo (livre do uso de 'sala limpa') e rapidez (menos de 1 h). Ela ainda elimina o uso de solventes, técnicas convencionais de construção do canal e a etapa de selagem, a qual responde usualmente pelos maiores custo, tempo e complexidade de todo o processo de microfabricação. Além disso, o método de fabricação possibilita a adaptação do dispositivo frente a uma gama de aplicações, uma vez que, é possível modificar o material de suporte do dispositivo, o diâmetro do canal e o número de entradas (em função quantidade de *scaffolds* a ser utilizado na etapa de fabricação). Não obstante as vantagens supracitadas, os dispositivos possibilitam sua integração com componentes funcionais **2D** e **3D**, tais como resistores, detectores, fibras óticas e etc.

Os dispositivos microfluídicos fabricados neste trabalho apresentam melhorias em relação às técnicas de microfabricação usuais para obtenção de misturadores, como supracitado. O *scaffold* empregado para confecção dos microcanais, apresenta vantagens inerentes ao baixo custo, ser de fácil aquisição e deformável mediante aplicação de tensão. A forma dos microcanais foi obtida pelo enrolamento manual dos fios de Nylon. Apesar da simplicidade da técnica de confecção dos microcanais, ela produziu canais **3D**, com paredes bem definidas, baixa rugosidade e baixa deformabilidade, considerando os baixos desvios nas medições de diâmetro e pressão. No que diz respeito à remoção dos *scaffolds* de Nylon, eles foram mecanicamente retirados por tensão aplicada, assegurando um processo rápido sem qualquer solvente.

Com relação a utilização dos substratos de **PDMS** e resina epóxi **BPA** para fabricação dos dispositivos, ambos apresentaram características vantajosas para aplicação em microfluídica. Enquanto que o **PDMS** é amplamente empregado pela área, por apresentar transparência nas regiões UV-visível, facilidade de fabricação, inércia, baixa polaridade e baixa condutividade elétrica, a resina epóxi baseada em bisfenol A foi utilizada sem precedentes em microfluídica (DUFFY, David et al., 1998; LEE, Jessamine; PARK, Cheolmin; WHITESIDES,

George; 2003). A resina epóxi **BPA**, foi empregada alternativamente a utilização do **PDMS**, que apresenta desvantagens relacionadas a baixa compatibilidade (intumescimento) com solventes orgânicos. Em contraste com o **PDMS**, o dispositivo fabricado em resina epóxi **BPA** mostrou-se ainda mais tolerante a deformações elásticas e compatível com meio orgânico, prolongando assim a gama de possíveis aplicações.

No que concerne aos estudos de mistura, três testes avaliaram a performance dos dispositivos em gerar misturas homogêneas assistidas por vazões elevadas. Os experimentos incluíram análises por imagens para examinar a mistura de corantes e de reagentes químicos, e análise visual para avaliar a formação de microemulsão. Além disso, os resultados gerados nos três experimentos foram ratificados pelo cálculo do número de Reynolds, e demonstraram que misturas homogêneas só foram alcançadas em condições de vazão superiores a 22 mL min^{-1}, que corresponde ao **Re** de 1100. Estes resultados corroboram com a hipótese de que a capacidade dos dispositivos em gerar misturas homogêneas está diretamente relacionada com a presença de escoamento turbulento nos microcanais **PSR**.

As vantagens de utilização do escoamento turbulento foram exploradas pelo método baseado em microemulsificação para determinação do teor alcoólico de bebidas comerciais e pela extração líquido-líquido de **MEG** de amostras de condensado de gás natural.

No primeiro caso, a mistura vigorosa entre as fases foi conduzida no dispositivo fabricado em poli(dimetilsiloxano). Vazões totais próximas a 18 mL min^{-1} foram atingidas para determinação da resposta analítica do método. Isso representa números de Reynolds em torno de 1120. Assim, as misturas entre as fases **A**, **O** e **AP** foram obtidas em regime turbulento assistido por taxas de vazões elevadas. O controle das bombas de seringa, a detecção da resposta analítica e o tratamento de dados foi conduzido automaticamente por um aplicativo Android implementado. Isso possibilitou alta precisão, frequência analítica, fácil operação, portabilidade, autonomia e capacidade de transmissão de dados. Os resultados de quantificação de etanol em bebidas alcoólicas comerciais obtidos pela plataforma microfluídica automatizada por celular foram comparados com os valores dos rótulos e os determinados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas. Os níveis de precisão para as amostras variaram de 94,2 – 107,9 % em relação ao rótulo e 95,2 – 109,0 2% em relação ao **GC-FID**. A cromatografia gasosa com detector de ionização de chamas apresentou maior detectabilidade em relação a plataforma microfluídica. Mesmo assim, nossa proposta produziu resultados analíticos satisfatórios, especialmente quando se tem objetivos de análises simples e rápidas. Outra vantagem crucial, refere-se ao elevado número de usuários de celulares em todo o mundo. Atualmente, cerca de 2,5 bilhões de pessoas utilizam celulares. Esse número é estimado em 2,9

bilhões até 2020, cerca de um terço da população do mundo atual (STATISTA, 2016). Este uso generalizado favorece a manipulação desta tecnologia por operadores não especializados, uma característica marcante que poderá contribuir com o emprego desta plataforma. Ademais, a plataforma microfluídica turbulenta automatizada por *celular* para a realização do **MEC**, apresenta vantagens complementares as oferecidas pelos métodos de batelada e **DWP**. Tais vantagens, contribuem significativamente para o manuseio desta tecnologia por indústrias.

Na segunda aplicação, foi demonstrado a utilização do dispositivo microfluídico em resina epóxi **BPA** para a extração líquido-líquido de monoetilenoglicol em amostras de condensado de gás natural. Neste caso, o misturador microfluídico foi utilizado como método alternativo ao procedimento padrão baseado em agitação de frasco. As análises foram divididas em dois estágios: **LLE** e detecção eletroquímica. Os resultados obtidos para uma amostra de **NCG** em 40 mL min^{-1}, demonstraram uma eficiência de extração de 85,9%, que é similar ao resultado obtido pelo método convencional. Apesar da proximidade entre o resultado de eficiência de extração obtidos pelas técnicas, a extração realizada pelo dispositivo microfluídico foi conduzida em uma única etapa, enquanto que no método tradicional foi realizado em quadruplicada. Além disso, o tempo de residência estimado foi de apenas 0,05 s. Nessa condição de vazão, o escoamento turbulento foi registrado em valores de Reynolds de 1488. Assim, associamos a alta eficiência de extração gerada pelo dispositivo como consequência das misturas vigorosas provocadas pelo escoamento turbulento. Considerando os dados obtidos pelo método tradicional com detecção por iodometria como valores de referência, a precisão do **LLE** microfluídico com detecção eletroquímica variou de 85,9% a 109,8% para as quatro amostras estudadas. No entanto, essas percentagens são aceitáveis, de acordo com a Associação de Químicos Analíticos Oficiais (AOAC, 2012).Desta forma, o dispositivo microfluídico fabricado em resina epóxi BPA, demonstrou vantagens de suma importância para a indústria, ou seja, alto rendimento e eficiência. Além dos ganhos de frequência análises, o uso do dispositivo microfluídico apresenta outras vantagens para este tipo de aplicação, como alta compatibilidade de automação (melhora a precisão), capacidade de ajuste de pré concentração do analito e compatibilidade com uma série de solventes e amostras.

As vantagens da microfabricação proposta e as implicações em se produzir escoamento turbulento para o campo da microfluídica conforme discutidas acima mostram a relevância da pesquisa em comento. Com efeito, a turbulência em canais microfluídicos é um tema no estado da arte e irá contribuir para uma nova gama de aplicações.

As publicações relacionadas com este trabalho de mestrado, incluem:

Artigos completos publicados em periódicos

DE CAMARGO, Camila. et al. Turbulence in microfluidics: Cleanroom-free, fast, solventless, and bondless fabrication and application in high throughput liquid-liquid extraction. Analytica Chimica Acta, v. 12, p. 73–283, 2016. Doi: 10.1016/j.aca.2016.08.052.

GIORDANO, Gabriela et al. Turbulence-Assisted High-Throughput Liquid–Liquid Extraction in Microfluidics and Ni(OH)2 Nanoparticles for Electrochemical Determination of Monoethylene Glycol Traces in Natural Gas Condensate. Energy Fuels, v. 32, p. 6577-6583, 2018. Doi: 10.1021/acs.energyfuels.8b00725.

Resumos publicados em anais de congressos

CAMARGO, C. L.; GOBBI, A. L.; VIEIRA, L. C. S.; SHIROMA, L. S.; GIORDANO, G. F.; SHIROMA, L. Y.; LIMA, R. S. Turbulência em microfluídica: fabricação, caracterização e aplicações. In: VI Workshop em Microfluídica, 2016, Campinas/SP. Resumos VI Workshop em Microfluídica, 2016. v. IV. p. 19-20.

CAMARGO, C. L.; MENDES, L. S.; SCHWARZ, S. F.; VIEIRA, L. C. S.; DAVILA, M. A.; GOBBI, A. L.; LIMA, R. S. Use of smartphone for turbidimetric detection and control of turbulent microfluidic platform toward full automation of microemulsification-based method. In: VII Workshop em Microfluídica, 2017, São Paulo. Resumos VII Workshop em Microfluídica, 2017. v. 6.

GIORDANO, G. F.; DE CAMARGO, CAMILA L.; VIEIRA, LUIS CARLOS SILVEIRA.; D'AVILA, MARCOS A.; COUTO, BRUNO C.; CARVALHO, ROGERIO MESQUITA; GOBBI, ANGELO L.; LIMA, RENATO S. Turbulence-assisted high throughput liquid-liquid extraction in microfluidics and Ni(OH)2 nanoparticles for electrochemical determination of monoethylene glycol traces in natural gas condensate. In: VIII Workshop in Microfluidics, 2018, Rio de Janeiro. III Workshop in Microfluidics - Abstract Book, 2018, 2018.

GIORDANO, G. F.; CAMARGO, C. L.; VIEIRA, L. C. S.; D'AVILA, MARCOS A.; COUTO, BRUNO C.; CARVALHO, ROGERIO MESQUITA; GOBBI, A. L.; LIMA, RENATO S. Liquid-liquid extraction in microfluidics for electrochemical deterination of monoethylene glycol in natural gas condesate. In: 19° Encontro Nacional de Química Analítica, 2018, Caldas

Novas. Livro de Resumos do 19° Encontro Nacional de Química Analítica, 2018., 2018. v. 19. p. 190-190.

REFERÊNCIAS

ADAM, Tijjani; HASHIM, U. Design and fabrication of micro-mixer with short turns angles for self-generated turbulent structures. **Microsystem Technologies**, v. 22, p. 433–440, 2016. Doi: 10.1007/s00542-015-2453-3.

ABATE, Adam R. et al. Glass coating for PDMS microfluidic channels by sol–gel methods. **Lab on a Chip**, v. 8, n. 4, p. 516–518, 2008. Doi: 10.1039/B800001H.

AGOSTINO, Fletcher; KRYLOV, Sergey. Advances in steady-state continuous-flow purification by small-scale free-flow electrophoresis. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 72, p. 68-79, 2015. Doi: 10.1016/j.trac.2015.03.023.

AOAC, Official Methods of Analysis - **Guidelines for standard method performance requirements**, 2012. http://www.eoma.aoac.org/app_f.pdf, acessado em 10 abril de 2019.

BALASURIYA, Sanjeeva. Dynamical systems techniques for enhancing microfluidic mixing. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 24, pp. 16, 2015. Doi: 10.1088/0960-1317/25/9/094005.

BAROUD, Charles et al. Microfluidic process for treating and analysing a solution containing a biological material and corresponding microfluidic circuit. **Patentscope**, núm. WO/2014/056930, 2014. https://patentscope.wipo.int/search/en/detail.jsf?docId=WO2014056-930. Acessado em 11 de maio de 2018.

CAI, Gaozhe et al. A review on micromixers. **Micromachines**, v. 8, 274; p 1–27, 2017. Doi:10.3390/mi8090274.

CAI, Zeng-Xuan et al. A microfluidic chip based liquid-liquid extraction system with microporous membrane. **Analytical Chimica Acta**, v. 556, p. 151–156, 2005. Doi: 10.1016/j.aca.2005.06.028.

CAPRETTO, Lorenzo et al. Micromixing Within Microfluidic Devices. **Microfluidics**, v. 304, p. 27–68, 2011. Doi: 10.1007/128_2011_150.

CHEN, Hong et al. Microfluidic chip-based liquid–liquid extraction and preconcentration using a subnanoliter-droplet trapping technique. **Lab on a Chip**, v. 5, p. 719-725, 2005. Doi: 10.1039/B416964F.

CHANG, Ming et al. Mixing efficiency enhancing in micromixer by controlled magnetic stirring of Fe_3O_4 nanomaterial. **Microsystem Technologies**, v. 23, p. 457–463, 2017. Doi: 10.1007/s00542-016-3163-1.

CHANG, Sunghwan; CHO, Young Ho. Static micromixers using alternating whirls and lamination. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 15, p. 1397–1405, 2005. Doi: 10.1088/0960-1317/15/8/004.

CHEN, Huaying et al. Reproducible bubble-induced acoustic microstreaming for bead disaggregation and immunoassay in microfluidics. **Microfluidics and Nanofluidics**, v. 21, p. 1–14, 2017. Doi: 10.1007/s10404-017-1870-2.

CHEN, Xueye; ZHANG, Lei. A review on micromixers actuated with magnetic nanomaterials. **Microchimica Acta**, v. 184, p. 3639–3649, 2017. Doi: 10.1007/s00604-017-2462-2.

CHOBAN, Eric et al. Microfluidic fuel cell based on laminar flow. **Journal of Power Sources**, v. 128, p. 54–60, 2004. Doi: 10.1016/j.jpowsour.2003.11.052.

CHOI, Jin-Woo; AHN, Chong. Active microfluidic mixer for mixing of microparticles and liquids. **Event: Micromachining and Microfabrication**, v. 4177, p. 143–150, 2000. Doi: 10.1117/12.395652.

CHUN, Honggu; KIM, Hee Chan; CHUNG, Taek Dong. Ultrafast active mixer using polyelectrolytic ion extractor. **Lab on a Chip**, v. 8, p. 764–771, 2008. Doi: 10.1039/b715229a.

CORTELEZZI, Luca; FERRARI, Simone; DUBINI, Gabriele. A scalable active micro-mixer for biomedical applications. **Microfluidics and Nanofluidics**, v. 21, p. 1–16, 2017. Doi: 10.1007/s10404-017-1868-9.

ÇENGEL, Yunus; CIMBALA, John. **Mecânica dos fluidos : fundamentos e aplicações**. Livro, Amgh Editora, 2007.

DA CUNHA, Jaqueline et al. Microemulsification-Based Method: analysis of monoethylene glycol in samples related to natural gas processing. **Energy and Fuels**, v. 29, p. 5649–5654, 2015. Doi: 10.1021/acs.energyfuels.5b01166.

DE CAMARGO, Camila. et al. Turbulence in microfluidics: cleanroom-free, fast, solventless, and bondless fabrication and application in high throughput liquid-liquid extraction. **Analytica Chimica Acta**, v. 12, p. 73–283, 2016. Doi: 10.1016/j.aca.2016.08.052.

DESHMUKH, Ajay; LIEPMANN, Dorian; PISANO, Albert. Continuous micromixer with pulsatile micropumps. **Technical Digest of the IEEE Solid State Sensor and Actuator Workshop (Hilton Head Island, SC)**, p. 1–4, 2000.

DEY, Sanjay et al. Lipid nanoparticles for topical application of drugs for skin diseases. **Nanobiomaterials in Galenic Formulations and Cosmetics**. Livro Elsevier, v. 10, p. 327–361, 2016. Doi 10.1016/B978-0-323-42868-2.00013-9.

DUFFY, David. et al. Rapid prototyping of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). **Analytical Chemistry**, v. 70, p. 4974–4984, 1998. Doi: 10.1021/ac980656z.

FALK, L.; COMMENGE, J. M. Performance comparison of micromixers. **Chemical Engineering Science**, v. 65, n. 1, p. 405–411, 2010. Doi: 10.1016/j.ces.2009.05.045.

FAN, Liang Liang et al. Rapid microfluidic mixer utilizing sharp corner structures. **Microfluidics and Nanofluidics**, v. 21, p. 1–12, 2017. Doi: 10.1007/s10404-017-1874-y.

FANUN, Monzer. **Microemulsions : properties and applications**. Livro CRC Press, v. 1, 2009.

FARSHCHIAN, Bahador et al. 3D nanomolding and fluid mixing in micromixers with micro-patterned microchannel walls. **Nano Convergence**, v. 4, p. 4, 2017. Doi: 10.1186/s40580-017-0098-x.

FENG, Xiangsong; REN, Yukun; JIANG, Hongyuan. An effective splitting-and-recombination micromixer with self-rotated contact surface for wide Reynolds number range applications. **Biomicrofluidics**, v. 7, 2013. Doi: 10.1063/1.4827598.

FIORINI, Gina S. et al. Fabrication of thermoset polyester microfluidic devices and embossing masters using rapid prototyped polydimethylsiloxane molds. **Lab on a Chip**, v. 3, p. 158, 2003. Doi: 10.1039/B305074M.

FIORINI, Gina et al. Fabrication improvements for thermoset polyester (TPE) microfluidic devices. **Lab on a Chip**, v. 7, p. 923, 2007. Doi: 10.1039/B702548C.

FORMARIZ, Thalita Pedroni et al. Microemulsões e fases líquidas cristalinas como sistemas de liberação de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 03, p. 301–313, 2005.

GIORDANO, Gabriela et al. Microemulsification-based method: analysis of ethanol in fermentation broth of sugar cane. **Analytical Methods**, v. 7, p. 10061–10066, 2015. Doi: 10.1039/C5AY02152A.

GIORDANO, Gabriela et al. An integrated platform for gas-diffusion separation and electrochemical determination of ethanol on fermentation broths. **Analytica Chimica Acta**, v. 875, p. 33–40, 2015. Doi: 10.1016/j.aca.2015.03.014.

GIORDANO, Gabriela et al. Turbulence-Assisted High-Throughput Liquid–Liquid Extraction in Microfluidics and $Ni(OH)_2$ Nanoparticles for Electrochemical Determination of Monoethylene Glycol Traces in Natural Gas Condensate. **Energy Fuels**, v. 32, p. 6577-6583, 2018. Doi: 10.1021/acs.energyfuels.8b00725.

GLASGOW, Ian; AUBRY, Nadine. Enhancement of microfluidic mixing using time pulsing. **Lab on a Chip**, v. 3, n. 2, p. 114–120, 2003. 10.1039/b302569a.

GLEESON, James. Transient micromixing: Examples of laminar and chaotic stirring. **Physics of Fluids**, v. 17, p. 100614-100624, 2005. Doi: 10.1063/1.1928627.

GOBBY, D.; ANGELI, P.; GAVRIILIDIS, A. Mixing characteristics of T-type microfluidic mixers. **J. Micromech. Microeng.**, v. 11, p. 126-135, 2000. PII: S0960-1317(01)15425-2.

GOYAL, Sachit et al. Thiolene and SIFEL-based microfluidic platforms for liquid–liquid extraction. **Sensors and Actuators B**, v.190, 634–644, 2014. Doi: 10.1016/j.snb.2013.09.065.

GUO, Zhi-Xiao et al. Valve-based microfluidic droplet micromixer and mercury (II) ion detection. **Sensors and Actuators A: Physical**, v. 172, p. 546–551, 2011. Doi: 10.1016/j.sna.2011.09.019.

HADJIAGHAIE VAFAIE, Reza. A high-efficiency micromixing effect by pulsed AC electrothermal flow. **COMPEL - The international journal for computation and mathematics in electrical and electronic engineering**, v. 37, p. 418–431, 2018. 10.1108/COMPEL-03-2017-0128.

HARDT, Steffen; SCHÖNFELD, Friedhelm. **Microfluidic technologies for miniaturized analysis systems**. Livro Springer, 2007.

HELLÉ, G; MARIET, C; COTE, G. Liquid-liquid extraction of uranium(VI) with Aliquat® 336 from HCl media in microfluidic devices: combination of micro-unit operations and online ICP-MS determination. **Talanta**, v. 139, p. 123–131, 2015. Doi: 10.1016/j.talanta.2015.02.046.

HESSEL, V. et al. Laminar mixing in different interdigital micromixers: I. Experimental characterization. **AIChE Journal**, v. 49, p. 566–577, 2003. Doi: 10.1002/aic.690490304.

HIBARA, Akihide et al. Stabilization of liquid interface and control of two-phase confluence and separation in glass microchips by utilizing octadecylsilane modification of microchannels. **Analytical Chemistry**, v. 74, p. 1724–1728, 2002. Doi: 10.1021/ac011038c.

HIGA, Karen. Analytical Methods eye microemulsi fi cation-based method and improvements in analytical frequency. **Analytical Methods**, v. 9, p. 3347–3355, 2017. Doi: 10.1039/C7AY00795G.

HIGA, Karen. Método analítico baseado em microemulsificação: estudos de fatores intervenientes, aumento da frequência analítica e aplicações. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, 2018.

HOAR, T. P.; SCHULMAN, J. H. Transparent Water-in-Oil Dispersions: the Oleopathic Hydro-Micelle. **Nature**, v. 152, n. 3847, p. 102–103, 1943. Doi: 10.1038/152102a0.

HUNG, Lung-Hsin; LIN, Robert; LEE, Abraham Phillip. Rapid microfabrication of solvent-resistant biocompatible microfluidic devices. **Lab on a Chip**, v. 8, n. 6, p. 983–987, 2008. Doi: 10.1039/B717710K.

HUNZIKER, Patrick et al. Construction of programmable interconnected 3D microfluidic networks. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 25, p. 025018 (6pp) , 2015. Doi: 10.1088/0960-1317/25/2/025018.

JACKSON, Derek; LAUNDER, Brian. Osborne Reynolds and the Publication of His Papers on Turbulent Flow. **The Annual Review of Fluid Mechanics**, v. 39, p. 19–35, 2007.

JAMES CASTILLO-LÉON; WINNIE E. SVENDSEN (ED.). **Lab-on-a-Chip Devices and Micro-Total Analysis Systems**. Springer ed. Springer of Congress Control Number: 2014953388, 2015. Doi: 10.1146/annurev.fluid.39.050905.110241.

JIA, Li-Ping; WANG, Huai-Sheng. Preparation and application of a highly sensitive nonenzymatic ethanol sensor based on nickel nanoparticles/Nafion/graphene composite film. **Sensors and Actuators B**, v. 177, p. 1035–1042, 2013. Doi: 10.1016/j.snb.2012.12.030.

JIE, Fengping; BAI, Zhishan; YANG, Xiaoyong. Study on extraction of cobalt(II) by sodium laurate/pentan-1-ol/heptane/NaCl microemulsion system. **Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry**, v. 315, p. 581–593, 2018. Doi: 10.1007/s10967-017-5685-0.

KHOSHMANESH, Khashayar et al. A multi-functional bubble-based microfluidic system. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1-6, 2015. Doi: 10.1038/srep09942.

KRALJ, Jason; SCHMIDTB, Martin; JENSEN, Klavs. Surfactant-enhanced liquid–liquid extraction in microfluidic channels with inline electric-field enhanced coalescence. **Lab on a Chip**, v. 5, p. 531–535, 2005.

KUMAR, Dhileep et al. Electric field-induced instabilities in ferrofluid microflows. **Microfluidics and Nanofluidics**, v. 19, n. 1, p. 43–52, 2015. Doi: 10.1007/s10404-015-1546-8.

KUMARAN, V.; BANDARU, P. Ultra-fast microfluidic mixing by soft-wall turbulence. **Chemical Engineering Science**, v. 149, p. 156–168, 2016. Doi: 10.1016/j.ces.2016.04.001.

KUO, Jason et al. Microfabricating high-aspect-ratio structures in polyurethane-methacrylate (PUMA) disposable microfluidic devices. **Lab on a Chip**, v. 9, p. 1951–1956, 2009. Doi: 10.1039/B902124H.

LEE, Ada et al. All-in-One Centrifugal Microfluidic Device for Size-Selective Circulating Tumor Cell Isolation with High Purity. **Analytical Chemistry**, v. 86, p. 11349–11356, 2014. Doi: 10.1021/ac5035049.

LEE, Chia Yen et al. Microfluidic mixing: A review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 12, n. 5, p. 3263–3287, 2011. Doi: 10.3390/ijms12053263.

LEE, Chia Yen et al. Passive mixers in microfluidic systems: A review. **Chemical Engineering Journal**, v. 288, p. 146–160, 2016. Doi: 10.1016/j.cej.2015.10.122.

LEE, Jessamine Ng; PARK, Cheolmin; WHITESIDES, George. Solvent Compatibility of Poly(dimethylsiloxane)-Based Microfluidic Devices. **Analytical Chemistry**, v. 75, p. 6544–6554, 2003. Doi: 10.1021/ac0346712.

LI, Shiguang et al. Review of production of microfluidic devices: material, manufacturing and metrology. **Proceedings of spie**, v. 6993, 2008. Doi: 10.1117/12.781942.

LIMA, Renato et al. Microemulsification: An Approach for Analytical Determinations. **Analytical Chemistry**, v. 86, n. 18, p. 9082–9090, 2014. Doi: 0.1021/ac5025914.

LIMA, Renato et al. Sacrificial adhesive bonding: A powerful method for fabrication of glass microchips. **Scientific Reports**, v. 5, n. 13276, p. 1–15, 2015. Doi: 10.1038/srep13276.

LIU, Yong; JIANG, Xingyu. Why microfluidics? Merits and trends in chemical synthesis. **Lab on a Chip**, v. 17, p. 3960–3978, 2017. Doi: 10.1039/C7LC00627F.

LNNANO. **Nova patente de invenção depositada pelo LNNano e Petrobras - LNNano LNNano**. 2016. http://lnnano.cnpem.br/nova-patente-de-invencao-depositada-pelo-lnnano-e-petrobras. Acessado em 29 maio de 2018.

LU, Liang-hsuan; RYU, Kee Suk; LIU, Chang. A Novel Microstirrer and Arrays for Microfluidic Mixing. **Lab on a Chip**, v. 11, n. 5, p. 28–30, 2001. Doi: 10.1007/978-94-010-1015-3_10.

LUO, J. K. et al. Moving-part-free microfluidic systems for lab-on-a-chip. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 19, p. 054001 (14pp), 2009. Doi: 10.1088/0960-1317/19/5/054001.

MANSUR, Elmabruk. et al. A State-of-the-Art Review of Mixing in Microfluidic Mixers. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, v. 16, n. 4, p. 503–516, 2008. Doi: 10.1016/S1004-9541(08)60114-7.

MANZ, Andreas; WIDMERS, H. Michael; GRABER, N. Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing. **Sensors and Actuators B: Chemical**, v. 1, p. 244–248, 1990. Doi 10.1016/0925-4005(90)80209-I.

MARKET RESEARCH. Microfluidics Market Size, Share & Trends Analysis Report By Material (Polymer, Glass, Silicon, Metal, Ceramic), By Application (Pharmaceutical, In-Vitro diagnostics), By Region, And Segment Forecasts, 2019 - 2026. Grand view research, p. 1-8, 2019. https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/microfluidics-market. Acesso em 29 de março de 2019.

MARY, Pacaline; STUDER, Vicent; TABELING, Patrick. Microfluidic droplet-based liquid−liquid extraction. **Analytical Chemistry**, v. 80, p. 2680-2687, 2008. Doi: 10.1021/ac800088s.

MAYS, Robin; DICKEY, Michael D.; GENZER, Jan. Microfluidic channels fabricated from poly(vinylmethylsiloxane) networks that resist swelling by organic solvents. **Lab on a Chip**, v. 13, n. 22, p. 4317, 2013. Doi: 10.1039/C3LC50848J.

MCCLEMENTS, David Julian. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, p. 1719–1729, 2012. Doi: 10.1039/C2SM06903B.

MCDONALD, J. Cooper; WHITESIDES, George M. Poly(dimethylsiloxane) as a material for fabricating microfluidic devices. **Accounts of Chemical Research**, v. 35, n. 7, p. 491–499, 2002. Doi: 10.1021/ar010110q.

Microfluidics. **Utilizing Microfluidics for Optimizing Stem Cell Therapies**. http://bme240.eng.uci.edu/students/06s/bmosadeg/microback.htm. Acessado em: 24 julho 2018.

MOKHATAB, Saeid; POE, William; MAK, John. **Handbook of natural gas transmission and processing : principles and practices**. Livro Elsevier, 3 edição, 2015.

ORHAN, J. B. et al. Internal modification of poly(dimethylsiloxane) microchannels with a borosilicate glass coating. **Langmuir**, v. 24, n. 16, p. 9154–9161, 2008. Doi: 10.1021/la801317x.

PAN, Liang-Jun et al. Controllable synthesis of nanocrystals in droplet reactors. **Lab on a Chip**, v. 18, p. 41–56, 2017. Doi: 10.1039/C7LC00800G.

PERONIA, Daniela et al. Advancing liquid/liquid extraction through a novel microfluidic device: theory, instrumentation and applications in gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1226, p. 77-86, 2012. Doi: 10.1016/j.chroma.2011.08.001.

POUSEN, Carl Esben et al. A microfluidic platform for the rapid determination of distribution coefficients by gravity-assisted droplet-based liquid–liquid extraction. **Analytical Chemistry**, v. 87, p. 6265–6270, 2015. Doi: 10.1021/acs.analchem.5b01061.

RADI, Mohsen; ABBASI, Soleiman. Optimization of Novel Oil Extraction Technique From Canola Seeds: Lecithin-Based Microemulsion. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 120, n. 4, p. 1700267, 2018. Doi: 10.1002/ejlt.201700267.

RAFEIE, Mehdi et al. An easily fabricated three-dimensional threaded lemniscate-shaped micromixer for a wide range of flow rates. **Biomicrofluidics**, v. 11, p. 014108-14, 2017. Doi: 10.1063/1.4974904.

SALIEB-BEUGELAAR, Georgette et al. Microfluidic 3D helix mixers. **Micromachines**, v. 7, n. 10, p. 1–17, 2016. Doi: 10.3390/mi7100189.

SAYAH, Abdeljalil; GIJS, Martin. Understanding the mixing process in 3D microfluidic nozzle/diffuser systems: Simulations and experiments. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 26, n. 11, 2016. Doi: 10.1088/0960-1317/26/11/115017/meta.

SCHULMAN, Jack; STOECKENIUS, Walter; PRINCE, Leon. Mechanism of Formation and Structure of Micro Emulsions by Electron Microscopy. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 63, p. 1677–1680, 1959. Doi: 10.1021/j150580a027.

SHIROMA, Letícia et al. High adhesion strength and hybrid irreversible/reversible full-PDMS microfluidic chips. **Analytica Chimica Acta**, v. 951, p. 116–123, 2017. Doi: 10.1016/j.aca.2016.11.048.

SMYTH, W. D; MOUM, J. N; CALDEWELL. The Efficiency of Mixing in Turbulent Patches: Inferences from Direct Simulations and Microstructure Observations. **College of Oceanic and Atmospheric Sciences**, v. 31, p. 1969–1992, 2000. Doi: 10.1175/1520-0485(2001)031<1969:TEOMIT>2.0.CO;2.

SOARES, R. R. G. et al. A point-of-use microfluidic device with integrated photodetector array for immunoassay multiplexing: Detection of a panel of mycotoxins in multiple samples. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 87, p. 823–831, 2017. Doi: 10.1016/j.bios.2016.09.041.

SOLEYMANI, A.; KOLEHMAINEN, E.; TURUNEN, I. Numerical and experimental investigations of liquid mixing in T-type micromixers. **Chemical Engineering Journal**, v. 135, S219-S228, 2007. Doi: 10.1016/j.cej.2007.07.048.

SOLLIER, Elodie et al. Rapid prototyping polymers for microfluidic devices and high pressure injections. **Lab on a Chip**, v. 11, p. 3752–3765, 2011. Doi: 10.1039/C1LC20514E.

SONG, Helen; TICE, Joshua D.; ISMAGILOV, Rustem F. A microfluidic system for controlling reaction networks in time. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 42, n. 7, p. 768–772, 2003. Doi: 10.1002/anie.200390203 Cited by: 625.

SQUIRES, Todd; QUAKE, Stephen. Microfluidics Fluid physics at the nanoliter, v. 77, p. 977–1026, 2005. Doi: 10.1103/RevModPhys.77.977.

STATISTA. Number of smartphone users worldwide from 2014 to 2020 (in billions). Statista Research Department, 2016. https://www.statista.com/statistics/330695/number-of-smartphone-users-worldwide/. Acessado em 12 de julho de 2016.

STONE, H. A.; STROOCK, A. D.; AJDARI, A. Engineering Flows in Small Devices. **Annual Review of Fluid Mechanics**, v. 36, p. 381–411, 2004. Doi: 10.1146/annurev.fluid.36.050802.122124.

STONE, Z. B.; STONE, H. A. Imaging and quantifying mixing in a model droplet micromixer. **Physics of Fluids**, v. 17, p. 1–11, 2005. Doi: 10.1063/1.1929547.

STRUERS. Cold mounting systems for all materialographic applications. **Struers**, 2018. https://www.struers.com/-/media/Library/.../Cold-Mounting.pdf. Acesso em 23 de janeiro de 2018.

STROOCK, Abraham et al. Chaotic Mixer for Microchannels. **Science**, v. 295, n. 5555, p. 647–651, 2002. Doi: 10.1126/science.1066238.

SUDARSAN, Arjun Penubulu. Multivortex micromixing: novel techniques using Dean flows for passive microfluidic mixing. Tese - Office of Graduate Studies of Texas A&M University n. December, 2006. https://core.ac.uk/download/pdf/4271613.pdf. Acessado em 26 de junho de 2018.

SUTERA, Salvatore; SKALAK, Richard. The history of Poiseuille's Law. **Annual Review of Fluid Mechanics**, v. 993, p. 1–19, 1993. Doi: 10.1146/annurev.fl.25.010193.000245.

TABOSA, Maria Alice Maciel et al. Microemulsion Formulations for the Transdermal Delivery of Lapachol. **An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 19, n. 4, p. 1837–1846, 2018. Doi: 10.1208/s12249-018-0995-2.

TETALA, Kishore; VIJAYALAKSHMI, M. A. A review on recent developments for biomolecule separation at analytical scale using microfluidic devices. **Analytica Chimica Acta**, v. 906, p. 7–21, 2016. Doi: doi.org/10.1016/j.aca.2015.11.037.

TOKESHI, Manabu; MINAGAWA, Tomoko; KITAMORI, Takehiko. Integration of a microextraction system on a glass chip: ion-pair solvent extraction of Fe(II) with 4,7-Diphenyl-1,10-phenanthrolinedisulfonic acid and tri-n-octylmethylammonium chloride. **Analytical Chemistry**, v. 72, p. 1711–1714, 2000. Doi: 10.1021/ac991147f.

TOVAR, Armando; PATEL, Maulik V.; LEE, Abraham P. Lateral air cavities for microfluidic pumping with the use of acoustic energy. **Microfluidics and Nanofluidics**, v. 10, p. 1269–1278, 2011. Doi: 10.1007/s10404-010-0758-1.

TUMNANTONG, Dusadee; REMPEL, Garry L; PRASASSARAKICH, Pattarapan. Preparation of poly(methyl methacrylate)-Silica nanoparticles via differential microemulsion polymerization and physical properties of NR/PMMA-SiO $_2$ hybrid membranes. **Polymer Engineering & Science**, v. 58, p. 759–766, 2018. Doi: 10.1002/pen.24611.

VAFAIE, Reza. A high-efficiency micromixing effect by pulsed AC electrothermal flow. COMPEL - The international journal for computation and mathematics in electrical and electronic engineering, v. 37, p. 418–431, 2018. https://doi.org/10.1108/COMPEL-03-2017-0128. Acessado em 9 de outubro de 2018.

VÉRTES, G; HORÁNYI, G. Some problems of the kinetics of the oxidation of organic compounds at oxide-covered nickel electrodes. Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry, v. 52, p. 47-53, 1974. Doi: 10.1016/S0022-0728(74)80100-2.

VIKTOROV, Vladimir; MAHMUD, Md Readul; VISCONTE, Carmen. Design and characterization of a new H-C passive micromixer up to Reynolds number 100. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 108, p. 152–163, 2016.

XIAO, H. et al. Initial study of two-phase laminar flow extraction chip for sample preparation for gas chromatography. **Lab on a Chip**, v. 6, p. 1067–1072, 2006. Doi: 10.1039/b600374e.

WÄGLI, Philip et al. Microfluidic devices made OF UV-curable glue (NOA81) for fluorescence detection based applications. **14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences**, p. 1937–1939, 2010. https://pdfs.semanticscholar.org/35c3/0ac0010a0b815b27decc2760a5f4e257613a.pdf?_ga=2.220064922.2084222307.1561807719-1419375362.1561807719. Acessado em 20 de abril de 2017.

WÄGLI, Philip et al. Microfluidic droplet-based liquid–liquid extraction and on-chip IR spectroscopy detection of cocaine in human saliva. **Analytical Chemistry**, v. 85, p. 7558-7565, 2013. Doi: 10.1021/ac401606p.

WAGNER, J.; KÖHLER, J. M. Continuous synthesis of gold nanoparticles in a microreactor. **Nano Letters**, v. 5, p. 685–691, 2005. Doi: 10.1021/nl050097t.

WANG, G. R; YANG, Fang; ZHAO, Wei. There can be turbulence in microfluidics at low Reynolds number. **Lab on a Chip**, v. 14, p. 1452–1458, 2014. Doi: 10.1039/C3LC51403J.

WANG, Rui Jin; LIN, Jian Zhong. Experimental research on mixing efficiency of magnetic micromixer. **2006 1st IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems**, p. 74–77, 2006. Doi: 10.1109/NEMS.2006.334625.

WARD, Kevin; FAN, Hugh. Mixing in microfluidic devices and enhancement methods. **Journal of Micromechanics and Microengineering**, v. 25, p. 94001(17 pp), 2015. Doi: 10.1088/0960-1317/25/9/094001.

WHITESIDES, George M. The origins and the future of microfluidics. **Nature**,v. 442, p. 368–373, 2006. Doi: 10.1038/nature05058.

YOLE. Microfluidics industry: what will trigger the next growth spurt? **Yole developpment**, 2017. http://www.yole.fr/Microfluidics_Market_Fluidigm_Example.aspx#.XRdVjehKjIU. Acessado em 25 de junho de 2018.

YOU, Jae Bem et al. PDMS-based turbulent microfluidic mixer. **Lab on a Chip**, v. 15, p. 1727–1735, 2015. Doi: 10.1039/C5LC00070J.