

Projeto e análise da microfluídica em canais abertos

Bolsista Eugênio de Souza Morita (CTI) esmorita@cti.gov.br

Resumo

A microfluídica que envolve sangue e seus processos de separação abrange questões da engenharia no que diz respeito aos fenômenos de escoamento de fluidos em microcanais no qual a aplicação de conceitos físicos são essenciais para projeto e microfabricação destes canais. A partir dos conceitos e aplicação das Leis de Newton, aliados ao comportamento fluidodinâmico do sangue, foi possível projetar e testar configurações de microcanais visando a separação do sangue. Desta forma a microfluídica possibilita a retenção de eritrócitos (células vermelhas) e outros componentes de maiores dimensões que podem levar a interferências nos testes. Ao mesmo tempo, a microfluídica possibilita a passagem da fase aquosa do sangue, conhecida como plasma, onde estão presentes proteínas, glicose sais inorgânicos, vitaminas e hormônios. Desta forma, proteínas com potencial de biomarcadores podem ser detectadas no plasma sanguíneo como por exemplo proteínas associadas a doenças negligenciadas, como dengue, Zika e Chikungunya, através de acoplamento de imunossensor eletroquímico ao dispositivo microfluídico. O projeto e construção de MicroCanais utilizando a tecnologia de impressão 3D visou o estudo e avaliação das condições de escoamento e fluidez de soluções com composições próximas ao plasma sanguíneo, visando avaliar o grau de separação dos componentes do sangue humano a serem analisados, em microcircuitos para aplicação em biosensores.

Palavras-chave: Microfluídica, microcanal, sangue.

1. Introdução

A microfluídica pode ser definida como o estudo e manipulação de pequenos volumes de fluido, geralmente na faixa de microlitros, através de microcanais e sistemas de dimensões inferiores à 1 mm. A microfluídica aberta é uma técnica emergente e um subconjunto da microfluídica, ou seja, útil em muitos domínios, como biologia, biotecnologia, aeroespacial e térmica. Embora o termo não existisse na época, a microfluídica aberta pode ser considerada a partir da teoria *Concus-Finn* dos filamentos capilares (BERTHIER e BRAKKE, 2012).

O campo da microfluídica passou por uma revolução significativa nos últimos anos, levando a grandes avanços na capacidade de manipular, analisar e controlar pequenas quantidades de volume de fluidos, entre 60 a 80 μL . O desenvolvimento de novos materiais, técnicas de fabricação, microfabricação, que incluem microusinagem, microusinagem a laser, prototipagem e impressão 3D e suas inovações permitiram realizar estudos de escoamento e separação com elevada precisão e exatidão (LAURENCIANO *et. al.*, 2021).

A evolução e impacto da aplicação da microfluídica inclui as áreas da biologia, química, física e engenharia. No campo da biologia, a microfluídica revolucionou a maneira como os pesquisadores estudam células e tecidos. No campo da química, revolucionou a maneira como os pesquisadores sintetizam e analisam produtos químicos, tornando possível realizar reações químicas complexas em um formato compacto e portátil. A microfluídica

também abriu novas oportunidades na área de monitoramento ambiental, onde está sendo utilizada para analisar amostras de água, ar e solo com alta exatidão e precisão. No campo da física, revolucionou a maneira como os pesquisadores estudam o comportamento de fluidos, possibilitando a realização de experimentos em pequena escala, uma vez que impossíveis ou inviáveis em escalas maiores (THIMMARAJU *et. al.*, 2023).

2. Objetivos

Projetar, desenvolver, construir canais de geometrias específicas de microcanais para avaliar o grau de separação dos componentes do sangue humano a serem analisados em microcircuitos para aplicação em biossensores.

3. Revisão bibliográfica

O estudo da microfluídica aberta ou em canais abertos possui sua teoria baseada nos filamentos capilares. Seu escoamento é baseado, principalmente, no efeito da capilaridade em que são observados os fenômenos de afinidade e repulsão ocasionados pelo fluido e material (PMMA - acrílico, POM - acetal) que contém a geometria do canal. Microfluídica pode ser definida como o estudo e manipulação de pequenos volumes de fluido, geralmente na faixa de microlitros (μL), através de microcanais, inferiores 1 mm (LAURENCIANDO *et. al.*, 2021).

Grandes contribuições em termos de projeto de canais abertos foram impulsionados pela biotecnologia, desenvolvimento de produtos farmacêuticos que envolvem separação de constituintes do sangue, plasma e plaquetas (Kalion *et. al.*, 2004) para detecção de doenças através de análises quantificadas em microcircuitos (TORUL *et. al.*, 2023 e THIMMARAJU *et. al.*, 2023).

O projeto destes canais envolve geometrias “U”, “V” de profundidades e larguras específicas que determinam efeitos da capilaridade de forças e tensões variadas sobre uma determinada superfície. Velocidades maiores de escoamento são obtidas utilizando o perfil “U” quando comparado ao perfil “V” (KALION *et. al.*, 2019).

Resumidamente e, principalmente, a energia disponível para escoamento, ou melhor, a força disponível que pode ser avaliada a partir de um microcanal é a força de capilaridade ao longo da interface sólido-líquido-ar calculada pela Equação 01 e 02 (BERTHIER *et. al.*, 2019):

$$\cos\theta = \frac{p_F}{p_w} \quad \text{Eq. 01}$$

em que:

p_F e p_w são os perímetros livre e molhado, respectivamente, da seção transversal.

Para que a força de capilaridade, resulte em um valor positivo, de forma a promover um escoamento positivo, é necessário que:

$$F_{cap} = \gamma \cdot \cos\theta \cdot p_w + \gamma \cdot \cos\pi \cdot p_F = \gamma \cdot \cos\theta \cdot p_w - \gamma \cdot p_F > 0 \quad \text{Eq. 02}$$

em que:

F_{cap} é a força de capilaridade [N];
 γ é a tensão superficial [$N \cdot m^{-1}$].

3. Metodologia

O desenho das placas que contém o microcanal foram realizadas utilizando o programa Freecad versão 0.21.2 o qual foram exportados os arquivos em formato *.stl para fabricação em impressora 3D com tecnologia de impressão *polyjet*, equipamento *Connex 350* da empresa *Objec*.

Após medições e avaliações das propriedades de fluidos e também dos materiais de composição do microcanal, outras variáveis importantes como ângulo de contato e pesquisas envolvendo o caráter hidrofóbico e hidrofílico de materiais poliméricos foram levantados para definição de parâmetros do microcanal que envolveram a profundidade do canal e sua geometria, estabelecida no formato “U”, que apresenta maior potencial para escoamento.

Dois métodos de fabricação dos microcanais foram utilizados: microusinagem e impressão 3D.

Utilizou-se a técnica de fabricação por microusinagem através do equipamento LPKF *Protomat S103* presente no Centro de Tecnologia da Informação Renato Archer (CTI), usinando o material polióxido de metileno, conhecido como poliacetal (POM) por apresentar maior estabilidade térmica mediante contato da ferramenta, conforme parâmetros de usinagem estabelecidos pelo fabricante adequados para o poliacetal. As placas de microcanais, de primeira configuração de dimensões de profundidade e largura iguais à 0,8 mm e uma segunda configuração de dimensões de profundidade e largura 0,4 mm, produzidas tiveram sua superfície tratada com plasma de oxigênio, hidróxido de sódio (NaOH), isopropanol, ácido clorídrico (HCl) e ácido sulfúrico (H₂SO₄). Testes foram realizados com microcanais sem tratamento e com tratamento superficial, com o objetivo de verificar melhores condições de escoamento, ou seja, tempo de escoamento para uma mesma distância percorrida por soluções de água apenas e soro bovino.

A técnica de impressão 3D envolveu a fabricação de microcanais utilizando os materiais poliméricos nomeados Vero Clear (DT3D) e Cr PLA, mediante tratamento superficial também, nas configurações de ácido + PVA e PVA somente, também com dimensões de projeto de 0,8 e 0,4 mm para profundidade e largura do canal, na condição também de dimensões quadradas.

Por questões de facilidade, montagem e tempo para fabricação do microcanal, escolheu-se a impressão 3D.

As figuras apresentadas na seção de Resultados, constituem microcanais em que foram realizados ajustes para melhorar o escoamento da solução. Estas alterações incluem uma pequena construção para direcionar o escoamento logo após o reservatório de envase e, pouco antes do reservatório de chegada, uma rampa de 15 graus de inclinação com o intuito de criar uma condição final de escoamento devido à diminuição da energia disponível de escoamento.

4. Resultados

Resumidamente, o microcanal construído em poliacetal, sem tratamento, apresenta restrição ao escoamento. Quando tratada, superficialmente com plasma de O₂ e também com

hidróxido de sódio, verifica-se melhores condições de escoamento, menor tempo para escoar por uma mesma distância. Porém, quando tratada com os ácidos clorídrico e sulfúrico, com tempo diferenciados de tratamento que foram de 10 e 30 minutos, para a condição de maior tempo de tratamento, menores tempos de escoamento foram observados.

A figura 1 ilustra um microcanal fabricado por microusinagem, tratado com plasma de O₂ que apresentou restrição ao escoamento.



Figura 1 - Microcanal em poliacetal com tratamento de plasma de O₂

A figura 2 apresenta um microcanal construído em placa de poliacetal com tratamento superficial com ácido clorídrico + PVA. O escoamento foi mais livre, com um tempo de corrida inferior aos outros tratamentos.

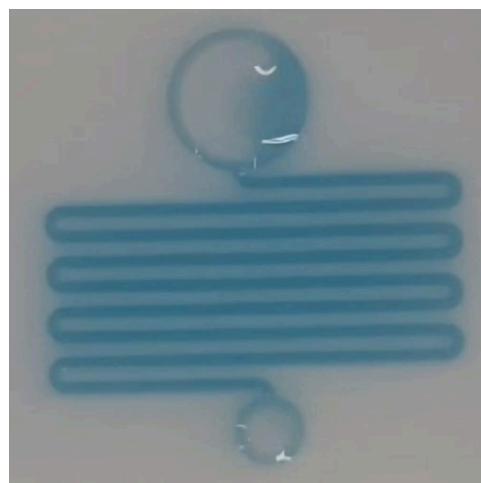


Figura 2 - Microcanal em poliacetal com tratamento de ácido clorídrico + PVA.

Conforme definição de geometria de canal e volumes de envase e cálculo do volume de fluido no reservatório final ou de chegada, por diferença, e também a partir das observações relacionadas à fluidez e dimensões dos canais, projetou-se, construiu-se e realizaram-se testes de escoamento em microcanais conforme figura 3, construída

utilizando-se a técnica de impressão 3D, com profundidade e largura de canal de 0,8 mm, pois, nas dimensões de 0,4 mm (profundidade e largura), apresentou-se resistência ao escoamento, devido à imperfeições maiores, proporcionalmente, para este valor.

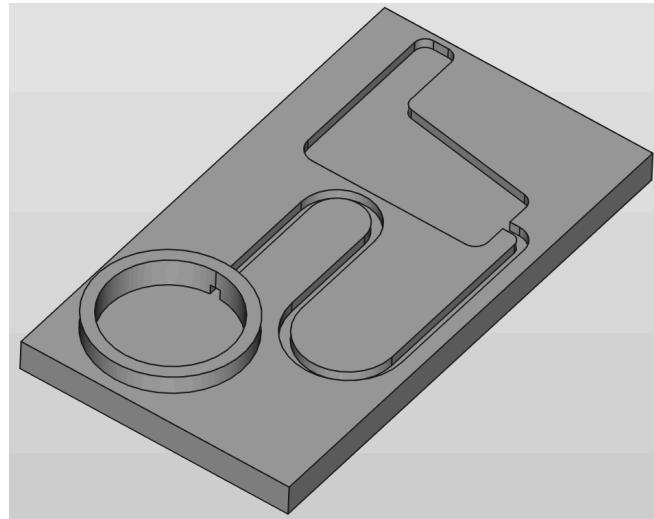


Figura 3 - Protótipo microcanal com reservatórios dimensionados

Após testes para verificação de escoamento, alterações foram adicionadas às geometrias do reservatório de envase. Entre elas, compreendem-se a adição de uma borda de 1 mm para aumentar a energia disponível de escoamento do fluido e a construção de um pequeno dispositivo na saída deste reservatório de forma a direcionar o escoamento, evitando efeitos de capilaridade inicial externamente à borda, conforme testes iniciais.

A figura 4 apresenta um outro projeto, que foi submetido a testes de escoamento após alterações descritas. A abertura, à esquerda, visa acoplar a base sensora para análise do fluido separado.

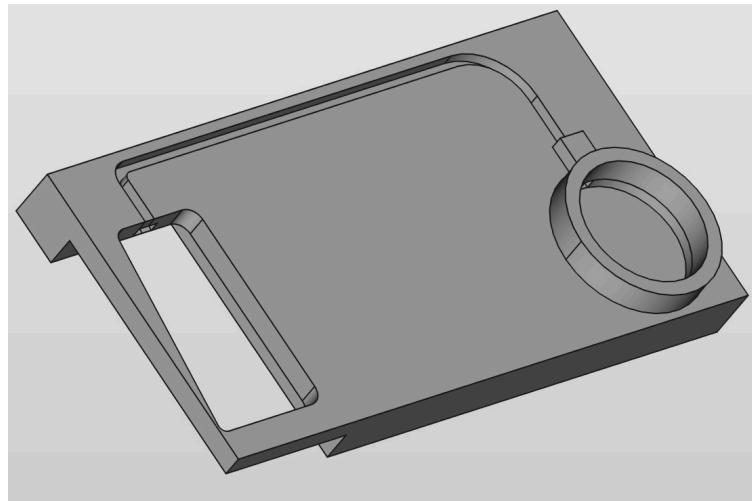


Figura 4 - Protótipo MicroCanal modificações

O microcanal, apresenta dimensões quadradas de 0,8 mm. O reservatório de envase, em sua capacidade máxima, possui aproximadamente 220 μ L, dos quais cerca de 140 μ L irá preencher o canal, restando 80 μ L para a base sensora que será acoplada na parte inferior da abertura.

Na figura 5 observa-se a continuidade e efeito da capilaridade do fluido próximo à região destinada ao acoplamento da base sensora, que irá receber o fluido pós separação de componentes devido ao escoamento no interior do microcanal.

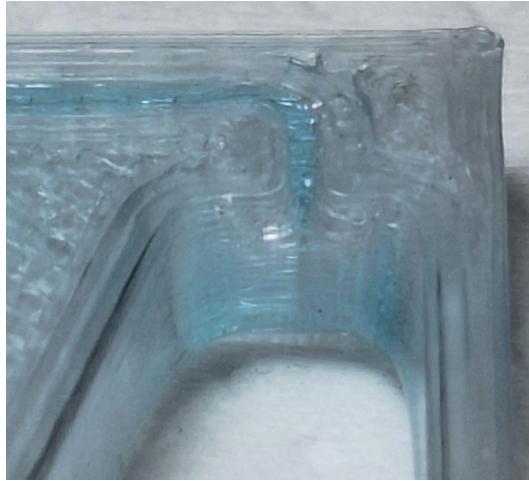


Figura 5 - Detalhe rampa término do microcanal

4. Conclusões

Os métodos para fabricação do microcanal apresentam particularidades quanto à precisão dos canais. Em ambos os casos, microusinagem e impressão 3D, a construção do microcanal para as dimensões de 0,4 mm de profundidade e largura, apresentaram desvios e imperfeições proporcionalmente maiores quando comparados aos microcanais de dimensões de 0,8 mm, optando-se, por conseguinte, à construção de microcanais com dimensões iguais à 0,8 mm.

O tratamento superficial com ácido clorídrico + PVA apresentou melhores condições e fluidez em microcanais fabricados por micro usinagem, provavelmente apresentando melhor aderência do ácido com a superfície de poliacetal, proporcionando características hidrofóbicas às soluções ensaiadas, principalmente para á água e soro bovino, em contrapartida com a solução contendo isopropanol

A partir destas observações de interações manifestadas entre solução e superfícies, projetou-se, construiu-se e testou-se modelos de microcanais fabricados segundo a técnica de impressão 3D, no qual reduziu-se em muito o tempo para fabricação, aumentando, potencialmente, a variedade e número de testes, até resultar, momentaneamente, nas modificações de reservatórios de entrada, chegada e a inclusão de rampa de forma a potencializar ainda mais o escoamento da solução. Acredita-se, sim, que a separação do sangue seja influenciada pela construção e projeto destes microcanais, compondo à próxima etapa de realização de testes.

5. Referências

- Berthier, J. & Brakke, K. **The Physics of Microdroplets**. New York: Wiley, 2012.
- Berthier, J., Theberge, A. B., Berthier, E. **Open-Channel Microfluidics Fundamentals and applications**. University of Washington, Washington, USA. Morgan & Claypool Publishers, 2019.
- Çengel, Y. A., Cimbala, J. M. **Mecânica dos fluidos : fundamentos e aplicações**. 3a edição. Porto Alegre, 2015.
- FOX, Robert W.; MCDONALD, Alan T.; PRITCHARD, Philip J.; MICHTELL, John W. **Introdução à Mecânica dos Fluidos, 9ª edição**. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2018.
- Kalion, V. A., Kazachkov, I. V., Shmakov, Y. I. **Rheology of Complex Fluids and Blood Flows**. Lecture notes on Rheology of Complex Fluids and Blood Flows. (2004). Stockholm.
- Laurenciano, C. J. D., Tseng, C. C., Chen, S. J., LU, S. Y., Tayo, L. L. & Fu, L. M. Microfluidic colorimetric detection platform with sliding hybrid PMMA/ paper microchip for human urine and blood sample analysis. **Talanta**. 231 (122362), 2021.
- Thimmaraju, M. K., Rashmi, T., Hemalatha, G., Thirupathy, B. & Billah, A. M. Microfluidic revolution and its impact on pharmaceutical materials: A review. **Materials Today: Proceedings**. 2023.
- Torul, Hilal; Arslan, Çağlayan Zeynep; Tezcan, Tugba; Kayis, Elif Çalık; Çalımcı, Merve; Gumustas, Aysen; Yıldırım, Ender; Külah, Haluk; Tamer, Ugur. Microfluidic-based blood immunoassays. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 228 (2023) 115313.
- SHAMES, I. H. **Mecânica de Fluidos**. 3a Edição. MacGraw-Hill, 1995.
- Kalion, V. A., Kazachkov, I. V., Shmakov, Y. I. **Rheology of Complex Fluids and Blood Flows**. Lecture notes on Rheology of Complex Fluids and Blood Flows. Stockholm, 2004.
- White, Frank M. **Mecânica dos fluidos**. 8a edição. Porto Alegre, 2018.