

**Universidade do Minho**

Escola de Engenharia

Luís Guilherme Veiga Rebelo da Silva

**Desenvolvimento de um sistema de  
transdutores piezoelétricos para  
melhorar a mistura de fluidos**

Dissertação de Mestrado  
Mestrado Integrado em Engenharia Biomédica  
Área de Especialização em Eletrónica Médica

Trabalho realizado sob a orientação da  
**Professora Doutora Graça Minas**  
e do  
**Professor Senentxu Lanceros-Méndez**

Outubro de 2012

## DECLARAÇÃO

Nome: Luís Guilherme Veiga Rebelo da Silva

Endereço eletrónico: a52573@alunos.uminho.pt

Telefone: 910996418

Número do Bilhete de Identidade: 13574607

Título: Desenvolvimento de um sistema de transdutores piezoelétricos para melhorar a mistura de fluidos

Orientadores: Professora Doutora Graça Minas

Professor Senentxu Lanceros-Méndez

Ano de conclusão: 2012

Designação do Mestrado: Mestrado Integrado em Engenharia Biomédica

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA DISSERTAÇÃO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Universidade do Minho, \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Este trabalho foi financiado em parte por fundos nacionais através da FCT - Fundação para a Ciência e a Tecnologia, referência do projecto PTDC/EBB-EBI/120334/2010, e co-financiado pelo FEDER, através do Eixo I do Programa Operacional Fatores de Competitividade (POFC) do QREN, referência COMPETE: FCOMP-01-0124-FEDER-020241.

COMPETE: FCOMP-01-0124-FEDER-020241



---

## Agradecimentos

O meu sincero agradecimento vai para os meus orientadores, Professora Doutora Graça Minas e Professor Doutor Lanceros Senentxu-Méndez por todo o apoio, orientação e dedicação demonstrado ao longo da realização desta dissertação.

Um agradecimento para com o técnico das oficinas do Centro Algoritmi em Azurém, Senhor Carlos Torres, pelo apoio prestado em pontos chave deste trabalho.

À Susana Catarino, por todo o apoio prestado e pelos esclarecimentos ao longo deste ano.

Aos meu amigos, um grande e sincero obrigado por toda a amizade, por todas as palavras de incentivo, pela paciência, por todas as gargalhadas partilhadas e pela boa disposição com que sempre me presentearam.

*Last but not least*, à minha família por todo o carinho, incentivo e paciência demonstrada ao longo deste trabalho.

---

---

## Resumo

Uma mistura eficiente de fluidos é um passo crucial em muitas aplicações industriais, químicas, farmacêuticas e biotecnológicas. A utilização de ultrassons como técnica de mistura tem recebido elevado interesse na última década, uma vez que permite acelerar a mistura e/ou reação de fluidos utilizando um mecanismo sem partes móveis, contrariamente à agitação mecânica comumente utilizada numa larga gama de equipamentos para análise de fluidos. A principal razão para a sua utilização fica a dever-se ao fenómeno, denominado de *acoustic streaming*, onde a absorção de ondas acústicas por parte dos fluidos leva à sua agitação, resultando num aumento da taxa de mistura. As ondas acústicas que servem de base a esta técnica são geradas por transdutores piezoelétricos que convertem a energia elétrica, aplicada aos seus terminais, em energia acústica. Mais ainda, uma vez que é uma técnica não invasiva, evita possíveis problemas associados com a contaminação dos fluidos assim como, a necessidade de lavagem do material entre utilizações. Além disso, pode ser uma técnica com baixos custos de fabrico e de manutenção, devido a não incluir partes móveis.

Neste contexto surge o presente projeto, cujo objetivo consiste em desenvolver um sistema eletrónico baseado em ultrassons para efetuar a agitação e mistura de fluidos numa microplaca laboratorial de 96 poços. Para tal, desenvolveu-se uma placa que serve de suporte para os transdutores piezoelétricos em estudo, o Titanato Zirconato de Chumbo (PZT) e o Poli(Fluoreto de Vinilideno) (PVDF), e que encaixa corretamente na base da microplaca. Através da atuação elétrica destes transdutores, são geradas ondas acústicas que são transmitidas para os fluidos presentes nos poços da microplaca. Esta atuação elétrica consiste num oscilador e num amplificador, de forma a gerarem o sinal de atuação com a frequência e potência pretendidas, respetivamente.

A movimentação dos fluidos foi visualizada colocados tanto na superfície do transdutor como nos poços da microplaca, recorrendo a um microscópio ótico. Posteriormente, foram realizadas medidas espectrofotométricas nesses fluidos para uma análise quantitativa da eficiência do processo de mistura. Além destes testes, realizou-se também a monitorização da temperatura na superfície dos transdutores e nos fluidos dentro dos poços da microplaca. Os resultados obtidos mostraram que o processo de mistura é intensificado com a ajuda dos ultrassons aumentando assim a velocidade de mistura.

---

---

## Abstract

*An efficient mixing of fluids is a crucial step in many industrial, chemical, pharmaceutical and biotechnological applications. The use of ultrasounds as a mixing technique has received a lot of interest in the last decade since it allows accelerating the mixture and/or reaction of fluids without the use of moving parts, against to the mechanical agitation that is usually employed in a large variety of fluid analysis equipments. The main reason for its use is due to the phenomenon associated with ultrasounds known as acoustic streaming, where the absorption of the acoustic wave by the fluids leads to their agitation, thereby enhancing the mixing rate. The acoustic waves are generated by piezoelectric transducers which convert the electrical energy, applied to their contacts, into acoustic energy. Additionally, this is a non invasive technique, which avoids fluids contamination as well as the necessity of cleaning the material between uses. Furthermore it can be a low manufacturing and low maintenance cost technique, due to the absence of moving parts.*

*In this context, the objective of this dissertation consists on the development of an ultrasound based system in order to promote the agitation and mixture of fluids in a laboratory 96 Well Microplate. For this purpose, a PCB was developed for supporting the piezoelectric transducers under study, Lead Zirconate Titanate (PZT) and Polyvinylidene Fluoride (PVDF), that enables a perfect fit with the base of the 96 Well Microplate. Through electrical actuation of the transducers acoustic waves are created and then transmitted to the fluids present in the wells of the microplate. The developed electrical system consists of an oscillator and an amplifier in order to generate an actuation signal with the desired frequency and power, respectively.*

*Acoustic agitation was visualized through the use of an optical microscope on fluids placed both on the transducer surface and in the wells of the microplate. Spectrophotometric analysis was then performed for having a quantitative analysis of the mixing process efficiency. Additionally, a temperature monitoring was carried out. The performed tests showed that the mixing process is intensified with the help of ultrasounds enhancing, therefore, the mixing rate associated.*

---

---

# Índice

<b>Agradecimentos</b> .....	<b>III</b>
<b>Resumo</b> .....	<b>V</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>VII</b>
<b>Índice</b> .....	<b>IX</b>
<b>Índice de Figuras</b> .....	<b>XIII</b>
<b>Índice de Tabelas</b> .....	<b>XIX</b>
<b>Nomenclatura</b> .....	<b>XXI</b>
Acrónimos .....	XXI
Símbolos .....	XXI
<b>Capítulo 1 - Introdução</b> .....	<b>1</b>
1.1 Estado de Arte.....	1
1.1.1 Energia acústica na mistura de fluidos .....	1
1.1.2 Aplicações e métodos de mistura associados às microplacas .....	1
1.2 Motivação e enquadramento.....	11
1.3 Objetivos .....	12
1.4 Descrição do trabalho.....	13
1.5 Organização da dissertação .....	14
<b>Capítulo 2 - Ultrassons</b> .....	<b>17</b>
2.1 Onda sonora e a sua propagação.....	17
2.1.1 Definição do som.....	17
2.1.2 Tipos de ondas .....	17
2.2 Características da onda sonora.....	19
2.2.1 Comprimento de onda e frequência .....	19
2.2.2 Velocidade de propagação do som.....	21
2.2.3 Amplitude e intensidade.....	22
2.3 Reflexão e transmissão nas interfaces.....	23
2.4 Atenuação da onda sonora .....	25

---

2.5	Efeitos do ultrassom nos fluidos.....	26
<b>Capítulo 3 - Transdutores Piezoelétricos .....</b>		<b>29</b>
3.1	Piezoelasticidade .....	29
3.1.1	Descoberta e primeiras aplicações.....	29
3.1.2	Efeito piezoelétrico.....	30
3.1.3	Coefficientes e equações fundamentais.....	32
3.2	Materiais ferroelétricos .....	35
3.3	PZT e PVDF.....	36
3.4	Modelo equivalente do transdutor .....	38
3.5	Frequência de ressonância.....	39
3.6	Adaptação mecânica .....	40
3.7	Adaptação elétrica.....	41
<b>Capítulo 4 - Sistema desenvolvido .....</b>		<b>45</b>
4.1	Placa de circuito impresso (PCB).....	45
4.2	Caracterização dos transdutores.....	46
4.2.1	PZT .....	47
4.2.2	PVDF .....	53
4.3	Instalação experimental para os testes preliminares.....	55
4.4	Sistema eletrônico de atuação .....	57
4.4.1	Oscilador .....	57
4.4.2	Amplificador .....	61
4.5	Reflexão nas interfaces.....	63
4.6	Adaptação Mecânica .....	64
<b>Capítulo 5 - Resultados obtidos na mistura de fluidos e sua discussão .....</b>		<b>67</b>
5.1	Resultados observados.....	67
5.2	Análise espectrofotométrica.....	75
5.3	Estudo da variação ao longo do tempo com a agitação acústica.....	77
5.3.1	Evolução da temperatura ao longo do tempo na superfície do transdutor .....	77
5.3.2	Evolução da temperatura ao longo do tempo nos poços da microplaca.....	81

---

5.4	Camada de adaptação acústica.....	84
5.5	Consumos energéticos associados.....	84
<b>Capítulo 6 - Conclusão e perspectivas futuras .....</b>		<b>87</b>
<b>Bibliografia.....</b>		<b>91</b>
<b>Anexos.....</b>		<b>95</b>

---

---

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.1</b> Microplacas <i>standards</i> de 96 poços. Estas apresentam um comprimento de 12,8 cm e largura 8,5 cm, com uma altura típica de 1,4 cm [18].....	2
<b>Figura 1.2</b> Diferentes métodos utilizados para intensificar a eficiência do processo de mistura em microplacas (adaptado de [20]). .....	3
<b>Figura 1.3</b> Corrente uso e futuro interesse na compra de tecnologias de mistura de microplacas (datado de 2007) (adaptado de [22]).....	4
<b>Figura 1.4</b> Principais preocupações demonstradas relativamente às técnicas de mistura das microplacas (dados de 2007) (adaptado de [22]). .....	4
<b>Figura 1.5</b> Módulo de mistura do equipamento <i>PlateBooster</i> da empresa <i>Advantix</i> [23]. .....	6
<b>Figura 1.6</b> Equipamento da empresa <i>Covaris</i> , baseado na tecnologia AFA (estes correspondem a modelos diferentes) [25]. .....	6
<b>Figura 1.7</b> (a) Ideia base da técnica AFA; (b) Zona focal na microplaca (adaptadas de [25, 26]). .....	7
<b>Figura 1.8</b> Na esquerda é apresentado o equipamento <i>SonicMan™</i> da <i>Matrical</i> enquanto na direita se encontra a tampa descartável utilizada neste sistema [28, 29]. .....	7
<b>Figura 1.9</b> Soluções apresentadas por várias empresas para a mistura na microplaca, baseadas na agitação orbital/vortex da microplaca: (a) <i>iEMS Microplate Incubator/Shaker HT</i> da <i>Thermo Scientific</i> [30]; (b) <i>Microplate</i> e <i>Multi-microplate Genie®</i> da <i>Scientific industries</i> [31]; (c) <i>Te-Shake TM</i> da <i>TECAN</i> [32]; (d) <i>MixMate®</i> da <i>Eppendorf</i> . [33]. .....	8
<b>Figura 1.10</b> Microplaca de 24 poços. Cada poço, quadrado (S "square") ou redondo (R "round") tem um misturador estático com quadro janelas de observação circundantes localizado no centro do fundo do poço. O misturador estático tem um comprimento igual à altura do poço (F "Full-length") ou a metade desta (H "half-length), de tamanho largo (L "large") ou pequeno (T "Tiny"). A primeira letra na sua designação indica a forma do poço, a segunda indica a altura do misturador estático e a terceira o tamanho deste. N indica que não é usado qualquer misturador estático (adaptada de [36]). .....	9
<b>Figura 1.11</b> Misturador magnético <i>Burt Lancaster Trapeze Stirrer</i> da empresa <i>V&amp;P Scientific</i> [37]. .....	10
<b>Figura 1.12</b> Misturador magnético <i>Magnetic Levitation Stirrer</i> da empresa <i>V&amp;P Scientific</i> [37]. .....	10
<b>Figura 1.13</b> Decurso do tempo de mistura dentro de um poço de uma microplaca de 384 poços. O poço foi preenchido com 50 µl de água desionizada; posteriormente 4 µl de cresol vermelho em 0.1 M Tris/HCL, pH 7.6 foi colocado no fundo do poço. Os números em baixo das imagens indicam o tempo decorrido após a colocação de uma gota de 3µl de etanol na superfície do líquido. A linha horizontal indica a posição do menisco anteriormente à colocação da gota (adaptada de [38]). .....	11

---

<b>Figura 2.1</b> Ilustração da propagação de uma onda longitudinal e transversal (adaptado de [40]).	18
<b>Figura 2.2</b> Ilustração da formação e propagação de uma onda sonora: (a) distribuição uniforme de moléculas num meio; (b) o movimento de um pistão para a direita cria uma zona de compressão; (c) o afastamento do pistão para a esquerda produz uma zona de rarefação; (d) o movimento alternado do pistão para direita e esquerda estabelece uma onda longitudinal no meio (adaptado de [39]).	18
<b>Figura 2.3</b> Representação do comprimento de onda de uma onda acústica (adaptado de [40]).	20
<b>Figura 2.4</b> Representação do período de uma onda acústica (adaptado de [40]).	20
<b>Figura 2.5</b> (a) Reflexão especular numa interface lisa. A amplitude da onda incidente é $P_i$ e da onda refletida $P_r$ . $Z_1$ é a impedância do material no lado proximal da interface enquanto que $Z_2$ é a impedância no lado distal da interface; (b) Reflexão e transmissão numa interface especular quando o feixe incide segundo um ângulo. O feixe é refletido sob determinado ângulo, como mostrado. O feixe transmitido sofre refração se as velocidades do som dos meios que formam a interface forem diferentes (adaptado de [40]).	24
<b>Figura 2.6</b> Comparação entre reflexão especular e difusa. Para um refletor difuso, as ondas viajam em várias direções para longe da interface ao contrário da única direção observada anteriormente (adaptado de [40]).	25
<b>Figura 2.7</b> Geração de ondas acústicas para agitação fluidica (adaptado de [50]).	27
<b>Figura 3.1</b> Modelo molecular simples para explicar o efeito piezoelétrico: (a) molécula imperturbada; (b) molécula sujeita a uma força externa; (c) polarização resultante nas superfícies do material (adaptada de [47]).	31
<b>Figura 3.2</b> (a) Efeito Piezoelétrico direto; (b) reverso: (i) contração; (ii) expansão. As linhas tracejadas indicam as dimensões originais [54].	31
<b>Figura 3.3</b> Direções das forças que afetam um elemento piezoelétrico (adaptado de [56]).	32
<b>Figura 3.4</b> Representação de um transdutor cerâmico piezoelétrico antes da polarização (esquerda) e após a polarização (direita). A polarização produz o alinhamento parcial dos cristais microscópicos (o tamanho do cristal encontra-se exagerado na imagem) (adaptado de [40]).	36
<b>Figura 3.5</b> Estrutura do $\beta$ -PVDF (adaptada de [58]).	37
<b>Figura 3.6</b> Modelo elétrico equivalente de um material piezoelétrico que vibra a uma frequência próxima da ressonância [47].	38
<b>Figura 3.7</b> Em (a) a fase de compressão do transdutor e as ondas de pressão geradas; (b) fase de expansão do transdutor. As cores nas ondas e nas superfícies laterais do transdutor indicam que onda é formada por que superfície.	39
<b>Figura 3.8</b> Esquema de montagem da camada de adaptação acústica para uma camada com espessura igual a $\lambda/4$ (adaptado de [59]).	41

---

<b>Figura 3.9</b> A função da rede de adaptação é transformar a impedância de carga $Z_L$ de tal forma que a impedância de entrada $Z_{in}$ olhando para a rede é igual a $Z_0$ da linha de transmissão (adaptado de [62]).....	42
<b>Figura 3.10</b> Parâmetros S num dispositivo com duas portas .....	43
<b>Figura 4.1</b> Placa PCB desenvolvida com os transdutores, PZT (a branco) e PVDF (a cinza) colados na sua superfície.....	45
<b>Figura 4.2</b> Demonstração do encaixe conseguido entre o PCB e a microplaca de 96 poços. Encontra-se realçado o encaixe efetuado entre os conetores RF e o PCB. ....	46
<b>Figura 4.3</b> Variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT <sub>2</sub> . ....	48
<b>Figura 4.4</b> Gráfico de Smith para o transdutor PZT <sub>2</sub> (marcador na frequência de 377 kHz). ...	49
<b>Figura 4.5</b> Esquema de adaptação elétrica adotado para o PZT, para a frequência de 377 kHz. A vermelho encontra-se representado o conector RF utilizado, com impedância característica de 50 $\Omega$ , e o piezoelétrico. A azul é representado o gerador e cabos coaxiais com impedância características de 50 $\Omega$ .....	50
<b>Figura 4.6</b> Gráfico de Smith para o transdutor PZT <sub>2</sub> após adaptação elétrica para a frequência de 377 kHz. ....	50
<b>Figura 4.7</b> Variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT <sub>2</sub> após adaptação elétrica para a frequência de 377 kHz.....	50
<b>Figura 4.8</b> Esquema de adaptação elétrica adotado para o PZT <sub>2</sub> , para a frequência de 2,15 MHz. ....	51
<b>Figura 4.9</b> Diagrama de Smith para o transdutor PZT <sub>2</sub> após adaptação elétrica (marcador na frequência de 2 MHz). ....	52
<b>Figura 4.10</b> Variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT <sub>2</sub> após adaptação elétrica, para uma frequência de 2 MHz.....	52
<b>Figura 4.11</b> Gráfico de Smith para o transdutor PVDF <sub>5</sub> (marcador na frequência de 10.77 MHz). ....	53
<b>Figura 4.12</b> Variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PVDF <sub>5</sub> . ....	53
<b>Figura 4.13</b> Esquema de adaptação elétrica adotado para o PVDF <sub>5</sub> . ....	54
<b>Figura 4.14</b> Gráfico de Smith para o transdutor PVDF <sub>5</sub> após adaptação elétrica (marcador na frequência de 10,77 MHz). ....	54
<b>Figura 4.15</b> Variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PVDF <sub>5</sub> após adaptação elétrica. ....	55
<b>Figura 4.16</b> Sistema de adaptação elétrico utilizado para o PZT para a frequência de 377 kHz. ....	56
<b>Figura 4.17</b> Sistema laboratorial de atuação. ....	57
<b>Figura 4.18</b> Esquemático do oscilador de Colpitts desenvolvido. A vermelho encontra-se o circuito de realimentação, responsável pelo estabelecimento da frequência de oscilação do circuito. Neste, (B) corresponde à base do transistor, (C) ao coletor e (E) ao emissor.....	59
<b>Figura 4.19</b> Representação do circuito LC e das polarizações envolvidas. ....	60

---

<b>Figura 4.20</b> Circuito eletrônico para atuação do PZT, para uma frequência de 377 kHz. ....	62
<b>Figura 4.21</b> Sinal de saída do oscilador de Colpitts, medida no ponto P <sub>1</sub> . ....	62
<b>Figura 4.22</b> Sinal de saída do circuito da Figura 4.20, no ponto P <sub>2</sub> . ....	62
<b>Figura 4.23</b> Diferentes perspectivas da camada de adaptação mecânica depositada por <i>sputtering</i> . Esta é composta por SU-8 com Titanato de Bário. ....	65
<b>Figura 5.1</b> Avaliação experimental da mistura entre água e um agente corante, quando os fluidos são colocados imediatamente acima da superfície do transdutor PZT, para a frequência de 377 kHz. À esquerda é usada agitação acústica e os momentos das imagens são: (1) antes de ser adicionado o corante; (2) imediatamente após a adição do corante; (3) PZT é ligado; (4) 6 s após ligar; (5) 9 s; (6) 17 s. À direita não é utilizada agitação e os tempos são: (1) antes de ser adicionado o corante; (2) imediatamente após a adição do corante; (3) 10 s após ser adicionado; (4) 30 s; (5) 40 s; (6) 50 s. ....	68
<b>Figura 5.2</b> Vibração gerada na mistura realizada na superfície dos transdutores, quando atuados pelo sistema eletrônico de atuação desenvolvido para 377 kHz, com um sinal de 8 Vpp. Em (1) atuação do PZT; (2) 3 segundos depois; (3) 5 segundos depois; (4) 7 segundos depois. ....	69
<b>Figura 5.3</b> Fluxos gerados na superfície do transdutor de PZT quando excitado pelo sistema comercial por um sinal de 2 MHz e 34 dBm. Em: (1) espalhamento do corante antes do PZT ser atuado; (2) atuação do PZT; (3) 3 segundos depois (4) 6 segundos depois. ....	70
<b>Figura 5.4</b> Agitação acústica criada por um sinal de atuação de 34 dBm com frequência de 377 kHz. É seguido um aglomerado de partículas para fins ilustrativos. Em: (1) sem atuação; (2) (3) e (4) momentos subsequentes após atuação do PZT. ....	72
<b>Figura 5.5</b> Movimento criado pelo sistema eletrônico de atuação desenvolvido com um sinal de atuação de 8 Vpp e frequência de 377 kHz. É seguida uma partícula de maiores dimensões para fins ilustrativos. Em (1) antes do PZT ser atuado; (2) (3) e (4) momentos subsequentes após atuação do PZT. ....	73
<b>Figura 5.6</b> Agitação acústica criada por um sinal de atuação de 34 dBm) com frequência de 2 MHz. É seguida uma partícula de maiores dimensões para fins ilustrativos. Em: (1) sem atuação; (2) (3) e (4) momentos subsequentes após atuação do PZT. ....	74
<b>Figura 5.7</b> Mistura de Controlo de Urina (3 $\mu$ l) + Creatinine R1 (50 $\mu$ L) + H <sub>2</sub> O (40 $\mu$ L) + Creatinine R2 (50 $\mu$ L), onde o transdutor da esquerda é atuado enquanto o da esquerda é mantido desligado, nos tempos (a)0 s; (b) 2 min; (c) 4 min; (d) 6 min; (e) 8 min; (f) 10 min. ....	75
<b>Figura 5.8</b> Diferentes perspectivas da montagem utilizada para os teste espectrofotométricos. ....	76
<b>Figura 5.9</b> Percentagem da reação concluída com o tempo decorrido. ....	76
<b>Figura 5.10</b> Montagem utilizada para a medição da temperatura na superfície do transdutor. Neste caso para o PZT. ....	78
<b>Figura 5.11</b> Evolução da temperatura na superfície do transdutor PZT2 para um sinal de frequência 377 kHz para diferentes níveis de potência. ....	79
<b>Figura 5.12</b> Evolução da temperatura na superfície do transdutor PZT2 para um sinal de frequência 2 MHz para uma potência de 34 dBm. ....	79

---

<b>Figura 5.13</b> Evolução da temperatura na superfície do transdutor PVDF para um sinal de frequência de 10,77 MHz para diferentes níveis de potência. ....	80
<b>Figura 5.14</b> Evolução da temperatura na superfície do transdutor PZT quando este é atuado pelo sistema desenvolvido utilizando sinais com amplitudes diferentes. ....	80
<b>Figura 5.15</b> Diferentes perspectivas da montagem utilizado para a medição da temperatura do líquido presente no poço da microplaca. Neste caso para o PZT.....	81
<b>Figura 5.16</b> Evolução da temperatura num poço colocado na superfície do transdutor PZT2 para um sinal com uma frequência de 377 kHz e com diferentes níveis de potência.....	82
<b>Figura 5.17</b> Evolução da temperatura num poço colocado na superfície do transdutor PZT2 para um sinal com uma frequência de 2 MHz e com uma potência de 34 dBm.....	82
<b>Figura 5.18</b> Evolução da temperatura num poço colocado na superfície do transdutor PVDF para um sinal com uma frequência de 10,77 MHz e com diferentes níveis de potência. ....	83
<b>Figura 5.19</b> Evolução da temperatura num poço colocado na superfície do transdutor PZT2 quando este é atuado pelo sistema desenvolvido utilizando sinais com amplitudes diferentes. .	83

---

---

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 2.1</b> Velocidades aproximadas do ultrassom para certos materiais [39].....	21
<b>Tabela 2.2</b> Quantidades e unidades relativas à intensidade do ultrassom [39].....	22
<b>Tabela 2.3</b> Valores aproximados de impedâncias acústicas de alguns materiais <sup>[39]</sup> .....	23
<b>Tabela 3.1</b> Principais aplicações da Piezoelectricidade (adaptado de [52]).....	30
<b>Tabela 3.2</b> Principais características do PZT e PVDF .....	37
<b>Tabela 4.1</b> Reflexão dos ultrassons nas diferentes interfaces com e sem gel de acoplamento	64
<b>Tabela 5.1</b> Valores de consumo energético associados ao sistema laboratorial.....	85
<b>Tabela 5.2</b> Valores de consumo energético associados ao sistema de atuação elétrico para a frequência de 377 kHz .....	85

---

---

## Nomenclatura

### Acrónimos

Acrónimo	Significado
SAW	<i>Surface Acoustic Waves</i>
AFA	<i>Adaptative Focused Acoustics</i>
PZT	<i>Lead Zirconate Titanate</i>
PVDF	<i>Polyvinylidene Difluoride</i>
VNA	<i>Vector Network Analyzer</i>
PCB	<i>Printed Circuit Board</i>

### Símbolos

Símbolo	Significado	Unidade S.I.
$\lambda$	Comprimento de onda	m
$c$	Velocidade de propagação do som	m/s
$\rho$	Densidade	$10^3 \text{ Kg/m}^3$
$Z$	Impedância acústica	$(\text{kg.m}^2.\text{sec}^{-1}) \times 10^6$
$f$	Frequência	Hz
$\nu$	Frequência de ressonância	Hz

---

## **Capítulo 1 - Introdução**

No início deste capítulo é feita uma ligeira abordagem à utilização da energia acústica no processo de mistura de fluidos. É dada a conhecer a microplaca de 96 poços, o seu formato, as suas aplicações, assim como os vários métodos já em uso para a mistura dos fluidos nessa placa. O sistema proposto neste trabalho é, posteriormente, enquadrado, sendo referidas as suas vantagens. No final do capítulo apresentam-se os objetivos da dissertação, a descrição do trabalho desenvolvido e a organização deste documento.

### **1.1 Estado de Arte**

#### **1.1.1 Energia acústica na mistura de fluidos**

O interesse na energia sonora, mais concretamente, na utilização de ultrassons, para intensificar a mistura de fluidos, advém das várias vantagens associadas. É possível aumentar a rapidez do processo de mistura e até, o rendimento do mesmo, mantendo simultaneamente a simplicidade e o baixo custo do sistema de atuação ultrassónica, devido aos baixos requisitos tecnológicos associados com o seu fabrico e ao desempenho economicamente viável do mesmo. Além disso, sendo uma técnica de mistura ativa, isto é, recorre ao uso de forças externas para aumentar a velocidade do processo de mistura, torna-se possível um melhor controlo dos efeitos na mistura através da regulação da energia de entrada do sistema. Assim, esta pode ser adaptada de acordo com o tipo de reação a otimizar [1, 2]. Soluções desenvolvidas no passado que ilustram a aplicação da energia sonora eficientemente, podem ser encontradas em [3-14].

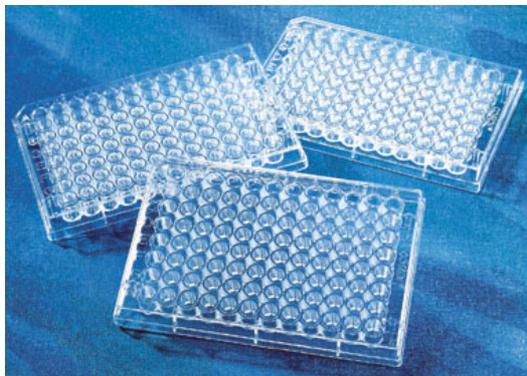
#### **1.1.2 Aplicações e métodos de mistura associados às microplacas**

##### **1.1.2.1 História e aplicações**

As microplacas são um dos mais comuns materiais laboratoriais descartáveis, destacando-se como ferramenta *standard* em laboratórios de investigação analítica e de teste de diagnóstico clínico. Estas, juntamente com as tecnologias complementares de manuseamento de líquidos existem em quase todos estes laboratórios (bio)químicos [15, 16].

Existem microplacas com várias densidades de poços, desde 6 poços até várias centenas de poços por microplaca [15]. No entanto, o formato mais comum consiste em 96 poços circulares individuais arranjados em 8 linhas e 12 colunas com dimensões definidas pela *American National Standards Institute* [17].

Pelas razões referidas é explorado, neste trabalho, o uso de energia acústica, com o intuito de intensificar o processo de mistura decorrente nos poços de uma microplaca de 96 poços *standard*, cujo material é poliestireno, típico nestas placas (Figura 1.1).



**Figura 1.1** Microplacas *standards* de 96 poços. Estas apresentam um comprimento de 12,8 cm e largura 8,5 cm, com uma altura típica de 1,4 cm [18].

A criação do conceito de microplaca data de 1951 pela mão do médico Húngaro Gyula Takatsy. Um surto epidémico de influenza na Hungria trouxe a necessidade de um teste rápido, económico e fiável para a identificação do vírus, uma vez que o método *standard* era caro e demorado. Recorrendo a um arranjo lado-a-lado, Takátsy conseguiu preencher simultaneamente múltiplos tubos de amostra com um volume definido, aumentando significativamente o rendimento laboratorial [15].

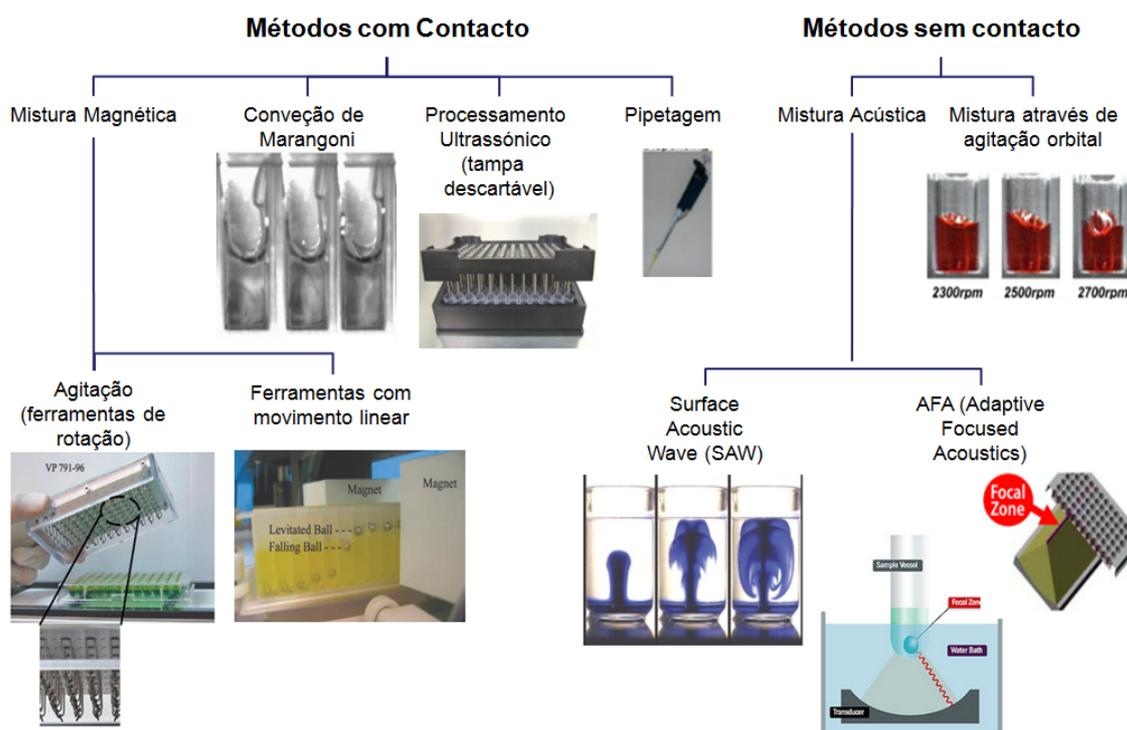
Com o passar do tempo foram surgindo novas e variadas aplicações para a microplaca. Este crescimento levou ao contínuo desenvolvimento de mercados paralelos tanto para o manuseamento dos fluidos a introduzir nas microplacas, como para as técnicas de leitura analítica dos seus fluidos, de modo a permitir uma automatização dos processos [15].

Apesar do seu uso ser inicialmente orientado para aplicações em virologia e serologia, a microplaca é, atualmente, utilizada em diversas aplicações, como é o caso do teste ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assays*) e PCR (*polymerase chain reaction*). Estas assumem, ainda, um papel importante na indústria farmacêutica, com o advento do HTS (*high-throughput screening*), para desenvolvimento de novos medicamentos. Esta técnica permite a realização de vários testes em simultâneo, levando a uma diminuição dos custos envolvidos e do tempo despendido. Mais recentemente, as microplacas são também utilizadas em aplicações para rastreio genómico e cultivo de microrganismos [15, 19].

Ao mesmo tempo que surgem novas aplicações para a microplaca verifica-se, simultaneamente, uma crescente preocupação em alcançar métodos mais eficientes de mistura amostra/reagente, de forma a otimizar o tempo despendido neste processo [16].

### 1.1.2.2 Métodos de mistura que utilizam microplacas

Os métodos correntemente utilizados para a mistura dos fluidos nos poços das microplacas podem dividir-se em métodos invasivos e não invasivos (i.e., métodos que exigem ou não o contacto do agente misturador com os fluidos) e, dentro destes, de acordo com a tecnologia associada (e.g., magnéticos, acústicos, etc.). A Figura 1.2 mostra uma possível divisão desses métodos.



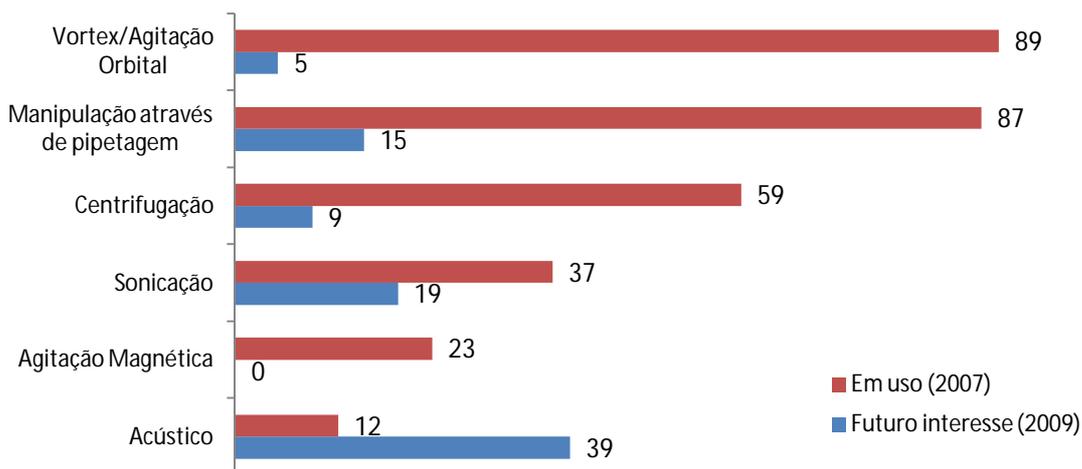
**Figura 1.2** Diferentes métodos utilizados para intensificar a eficiência do processo de mistura em microplacas (adaptado de [20]).

A 17 de Setembro de 2007 foi publicado um relatório pela HTStec Lta<sup>1</sup> referente a um estudo global, feito *on-line*, a várias indústrias farmacêuticas e biotecnológicas. Este estudo focou-se na compreensão de como o problema da mistura nas microplacas era encarado pelas várias empresas e onde se encontrava a maior necessidade de melhoria dos processos de mistura existentes [21]. Este relatório teve por base 88 respostas de 53 organizações diferentes.

As suas principais conclusões foram posteriormente relatadas pelo Dr. John Comley, diretor geral da HTStec Lta [22]. De acordo com os dados de 2007, cerca de 61% dos inquiridos reconheciam a mistura na microplaca como um problema, e desses, 25% procuravam ativamente uma solução.

<sup>1</sup> HTStec (formalmente HTS Technologies) é uma consultadoria independente fundada pelo Dr. John Comley em 2002. A HTStec foca-se no fornecimento de opiniões informadas e pesquisa de mercado sobre tecnologias emergentes que sustentam HTS.

Quanto às principais técnicas utilizadas na altura, estas podiam dividir-se em: agitação/vortex orbital; manuseamento de líquidos através da pipetagem; centrifugação; sonicação (i.e. utilização de ultrassons para agitação fluídica, normalmente com o transdutor mergulhado no fluido); agitação magnética; e métodos de energia acústica que não exigem contacto. Os dados relativos à utilização de cada uma dessas tecnologias, assim como do futuro interesse demonstrado nas mesmas encontram-se representados na Figura 1.3.



**Figura 1.3** Corrente uso e futuro interesse na compra de tecnologias de mistura de microplacas (datado de 2007) (adaptado de [22]).

Nesse relatório foram também abordadas as principais preocupações demonstradas em relação ao uso destas tecnologias, especificadas na Figura 1.4.



**Figura 1.4** Principais preocupações demonstradas relativamente às técnicas de mistura das microplacas (dados de 2007) (adaptado de [22]).

De acordo com a Figura 1.3, as tecnologias com uma maior representatividade no mercado em 2007 eram a agitação /vortex orbital e o manuseamento de líquidos através da pipetagem. No entanto, o interesse demonstrado no desenvolvimento de técnicas baseadas na energia acústica e sonicação era grande.

Com base nos dados da Figura 1.4, é possível verificar que a maior preocupação demonstrada pelas empresas recaiu no facto da técnica ser ou não invasiva. Esta foi seguida pela possível necessidade de isolamento das placas, especificamente em processos que levem ao movimento da placa e possível contaminação entre poços, como é o caso da agitação/vortex orbital. A menor preocupação relatada foi a necessidade de uma interface entre o transdutor e o fundo da placa, como é o caso de métodos acústicos, que exigem uma camada de acoplamento acústico intermédia.

Nesse relatório são ainda apresentadas várias empresas dedicadas ao desenvolvimento de tecnologias de mistura nas microplacas, assim como várias soluções por elas apresentadas. Esta informação encontra-se no Anexo I. De seguida, são especificados os diferentes métodos de intensificação de mistura referidos nesse relatório, assim como aqueles apresentados na Figura 1.3, fazendo referência a soluções existentes no mercado,

### 1.1.2.2.1 Métodos acústicos

- Ondas acústicas de superfície (SAW)

A empresa *Advalytix* desenvolveu um misturador baseado no fenómeno da onda acústica de superfície, conhecido por SAW (*Surface Acoustic Wave*). Uma onda SAW é uma onda que viaja ao longo da superfície de um meio elástico e, devido à sua natureza transversal, providencia um bom acoplamento entre o meio de transmissão e o fluido colocado no caminho de propagação, o que resulta na transmissão de energia para este. Neste caso, os sinais elétricos de elevada frequência aplicados ao módulo de mistura (Figura 1.5) são transformados em ondas de superfície mecânicas, que viajam através da superfície deste, e que são, posteriormente, transmitidas para o fluido de amostra, originando fluxos no mesmo [7, 23].

Este sistema consiste num gerador RF e no módulo de mistura (Figura 1.5) que converte o sinal elétrico em ondas acústicas. Além de trabalhar sem partes móveis, é um método não invasivo, não provoca salpicos e possibilita a realização simultânea da mistura e pipetagem [23].



**Figura 1.5** Módulo de mistura do equipamento *PlateBooster* da empresa *Advantix* [23].

Neste sistema, o sinal elétrico não é distribuído simultaneamente por todos os poços uma vez que a potência disponível para cada poço seria insuficiente para uma mistura eficiente. Alternativamente, os locais de mistura ativa são organizados por colunas, sendo estes ativados em sequência [23].

Este sistema é compatível com as microplacas de *Cycloolefin*, de poliestireno e de vidro. É sempre necessário um meio de acoplamento para guiar as ondas acústicas dos transdutores acústicos para a microplaca [23].

- Ondas acústica focadas adaptáveis (AFA)

A AFA (*Adaptive Focused Acoustics*) é uma tecnologia patenteada da *Covaris Inc.* (Figura 1.6). Funciona através do envio de ondas acústicas, de elevada frequência, de um transdutor com forma de disco côncavo. Estas ondas convergem posteriormente para uma pequena área localizada, exemplificado na Figura 1.7 (a), provocando a mistura [24].

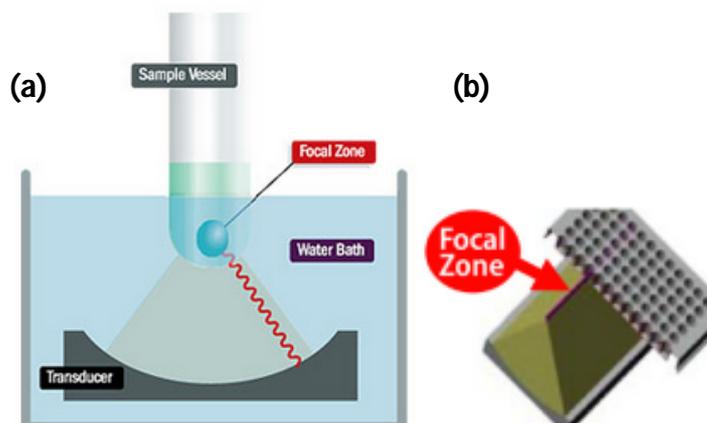
Esta técnica permite assim direccionar a energia acústica para os poços da microplaca de uma forma sem contacto e isotérmica [24].



**Figura 1.6** Equipamento da empresa *Covaris*, baseado na tecnologia AFA (estes correspondem a modelos diferentes) [25].

No caso de uma microplaca de 96 poços, é processada, simultaneamente, uma fila de 8 poços pela linha de focagem do transdutor (Figura 1.7 (b)). Os 96 poços podem, por isso, ser

processados oito vezes mais rapidamente do que com um instrumento que atue num único poço de cada vez [25].



**Figura 1.7** (a) Ideia base da técnica AFA; (b) Zona focal na microplaca (adaptadas de [25, 26]).

Este equipamento é projetado para utilizar apenas os consumíveis da *Covaris*, incluído a placa de 96 poços, que difere da placa *standard* referida anteriormente [25].

- Sonicação

O *SonicMan™*, desenvolvido pela *MatriCal*, é um sonicador com uma tampa com 96 sondas de modo a atuar sobre todos os poços simultaneamente (Figura 1.8). Cada sonda é constituída por um cristal piezoelétrico que é utilizado para converter a energia elétrica em energia mecânica, originando a vibração longitudinal desta sonda, que se encontra mergulhada no poço. Estas sondas encontram-se acopladas à tampa descartável que é capaz de transferir a energia mecânica para as amostras levando à criação de cavitação, que leva à aceleração do processo de mistura [27].

O método descrito mostrou ser uma opção viável para determinar a solubilidade aquosa de medicamentos, permitindo assim, reduzir o custo e o tempo associados a este processo [28].



**Figura 1.8** Na esquerda é apresentado o equipamento *SonicMan™* da *MatriCal* enquanto na direita se encontra a tampa descartável utilizada neste sistema [28, 29].

### 1.1.2.2.2 Misturador Orbital

A agitação orbital é um método simples e não invasivo para misturar componentes de um ensaio. No entanto, é importante escolher a frequência de rotação de forma adequada, uma vez que existe uma frequência mínima necessária para exceder a tensão superficial do meio [20].

A escolha da frequência adequada para a mistura orbital depende: do volume de enchimento da microplaca; da geometria do poço (diâmetro e altura); da tensão superficial do fluido; do material de construção da microplaca; da densidade do fluido; e da viscosidade cinemática do fluido [20].

Como referido anteriormente este é o tipo de misturador mais comum nos laboratórios. Várias empresas apresentam já soluções neste contexto (Figura 1.9).

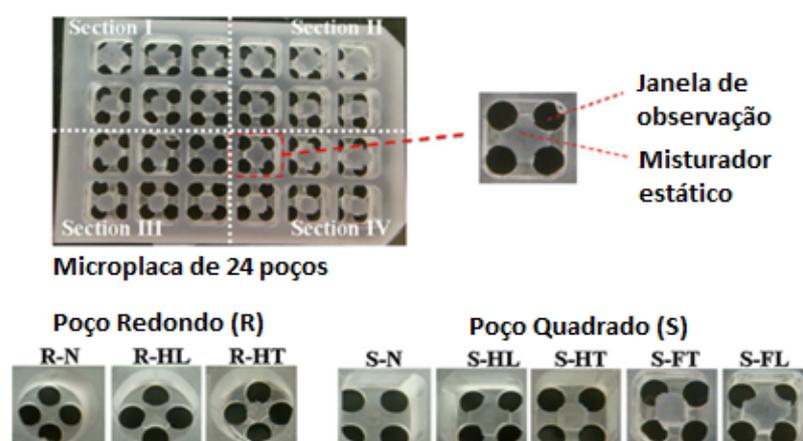


**Figura 1.9** Soluções apresentadas por várias empresas para a mistura na microplaca, baseadas na agitação orbital/vortex da microplaca: (a) *iEMS Microplate Incubator/Shaker HT* da *Thermo Scientific* [30]; (b) *Microplate e Multi-microplate Genie®* da *Scientific industries* [31]; (c) *Te-Shake TM* da *TECAN* [32]; (d) *MixMate®* da *Eppendorf*. [33].

Existe uma variedade de artigos que relatam o uso deste tipo de agitação para aumentar a eficiência do processo de mistura, o que realça a grande representatividade desta técnica [21]. O trabalho desenvolvido por Hancock et al. é um exemplo dessa utilização. Neste é incorporado

uma passo de agitação orbital, num ensaio de elevado rendimento baseado em células repórter [34]. Num outro artigo, Duetz refere-se à aplicação desta técnica para cultivo celular [35].

Uma outra aplicação foi desenvolvida por Wen et al. para cultura de células suspensas de mamíferos [36]. Nesta nova placa, de 24 poços, é utilizada agitação orbital juntamente com padrões de misturadores estáticos (i.e. estruturas fixas cujo objetivo é aumentar a área de contacto interfacial entre os fluidos a misturar e, assim, promover a difusão molecular), ou seja, recorre tanto a princípios ativos como a passivos para aumentar a eficiência do processo de mistura. A placa desenvolvida pode ser vista na Figura 1.10.

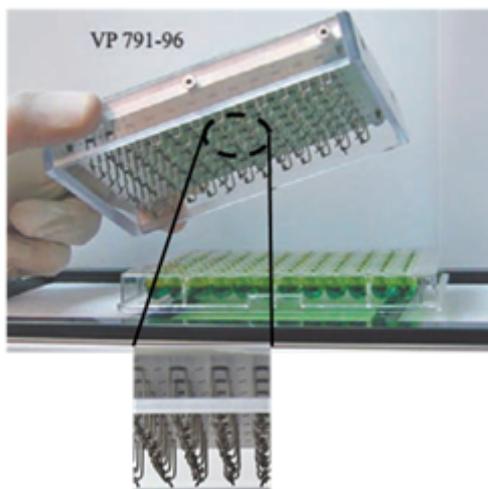


**Figura 1.10** Microplaca de 24 poços. Cada poço, quadrado (S "square") ou redondo (R "round") tem um misturador estático com quadro janelas de observação circundantes localizado no centro do fundo do poço. O misturador estático tem um comprimento igual à altura do poço (F "Full-length") ou a metade desta (H "half-length"), de tamanho largo (L "large") ou pequeno (T "Tiny"). A primeira letra na sua designação indica a forma do poço, a segunda indica a altura do misturador estático e a terceira o tamanho deste. N indica que não é usado qualquer misturador estático (adaptada de [36]).

### 1.1.2.2.3 Misturador Magnético

- Burt Lancaster Trapeze Stirrers

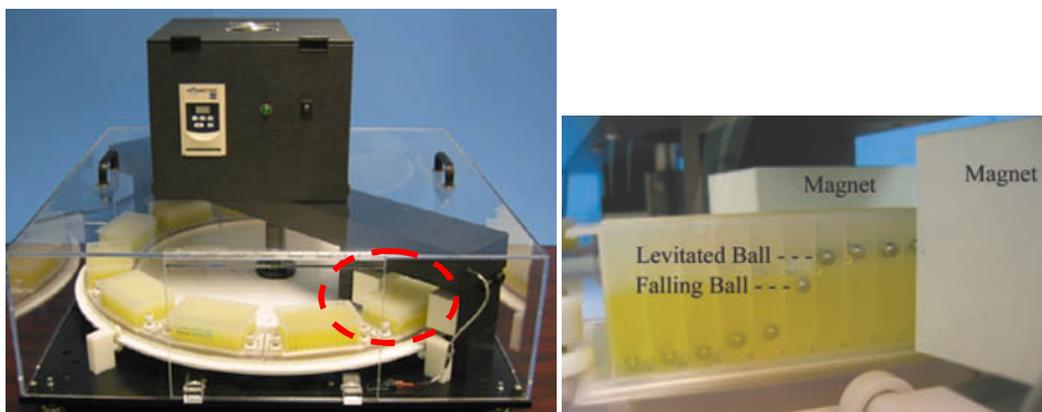
O misturador *Burt Lancaster Trapeze Stirrers* consiste em barras com forma de 'U' com um fio magnético e dois braços (*spinner*). O *spinner* é acoplado ao campo magnético rotacional e roda, levando à mistura dos conteúdos do vaso. Isto permite que o líquido seja minuciosamente misturado sem perturbar as células, cristais ou membranas no fundo do poço [37]. O dispositivo referido pode ser visualizado na Figura 1.11.



**Figura 1.11** Misturador magnético *Burt Lancaster Trapeze Stirrer* da empresa *V&P Scientific* [37].

- *Magnetic Levitation Stirrers*

Os misturadores *Magnetic Levitation Stirrers* (Figura 1.12) foram desenhados para agitar colunas estreitas, por exemplo, das microplacas de 96 poços. Este procedimento é realizado através da subida e descida de bolas de aço inoxidáveis no interior dos poços através do recurso a um campo magnético forte. Este método produz uma ação de agitação muito rigorosa que estimula o crescimento de microrganismos, que mistura dois ou mais líquidos, e que mantém partículas em suspensão [37].



**Figura 1.12** Misturador magnético *Magnetic Levitation Stirrer* da empresa *V&P Scientific* [37].

### 1.1.2.2.4 Outros métodos

#### **Pipetagem**

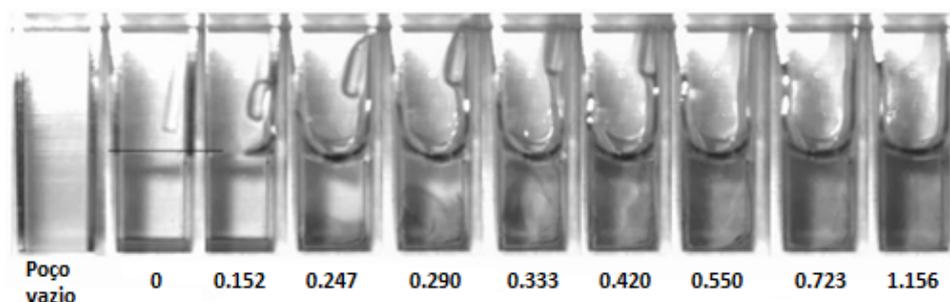
Este método consiste na adição de um volume relativamente grande a uma pequena amostra ou na aspiração e libertação repetida de líquidos que pode provocar convecção suficiente para misturar [38]. Contudo, a ordem de pipetagem nem sempre pode ser escolhida livremente e, em muitos casos, a contaminação da ponta da pipeta deve ser evitada. Além do

que, as forças coesivas e adesivas podem inibir o movimento do fluido turbulento em pequenos vasos impossibilitando assim a mistura por agitação mecânica [38].

### Marangoni

Neste processo de mistura é explorado o fenómeno de convecção termocapilar, também conhecido por fenómeno de Marangoni. Este fenómeno foi explorado para acelerar o processo de mistura dentro de microplacas de 96 e 384 poços, tendo-se verificado uma mistura mais rápida relativamente à agitação mecânica [38]. Geralmente, este fenómeno pode ser observado quando as tensões superficiais dos fluidos que estão em contacto são bastantes diferentes. Após os líquidos estarem nos poços, a mistura completa é provocada através da colocação de gotas nas superfícies dos fluidos. Estas gotas contêm solventes orgânicos miscíveis em água que podem ser selecionados tendo em conta a compatibilidade com os componentes da amostra. Após a sua adição, este líquido espalha-se violentamente sob a superfície total, podendo ser visualizada turbulência tridimensional [38].

Devido à impossibilidade de previsão dos padrões e da intensidade de turbulência nos poços da microplaca, as condições de mistura, como é o caso das espécies presentes no fluido, do volume, dos reagentes de mistura utilizados, da posição da deposição, têm que ser otimizados empiricamente para a microplaca usada e para a reação utilizada, o que torna o processo moroso [38].



**Figura 1.13** Decurso do tempo de mistura dentro de um poço de uma microplaca de 384 poços. O poço foi preenchido com 50  $\mu$ l de água desionizada; posteriormente 4  $\mu$ l de cresol vermelho em 0.1 M Tris/HCL, pH 7.6 foi colocado no fundo do poço. Os números em baixo das imagens indicam o tempo decorrido após a colocação de uma gota de 3 $\mu$ l de etanol na superfície do líquido. A linha horizontal indica a posição do menisco anteriormente à colocação da gota (adaptada de [38]).

## 1.2 Motivação e enquadramento

As diferentes técnicas de mistura, para a microplaca, apresentadas anteriormente têm limitações associadas. Como exposto no relatório da *HtStec Lta* as indústrias farmacêuticas e biotecnológicas apresentaram certas preocupações em relação às metodologias utilizadas para melhorar o processo de mistura. Uma dessas preocupações, e a que apresentou uma maior representatividade, foi o facto de existir contacto entre o misturador e os fluidos a misturar, o

que é implícito nos métodos de contacto, apresentados anteriormente. Com a utilização destes métodos advêm certos problemas, como a possível contaminação dos fluidos e a necessidade de lavagem do material entre utilizações.

A técnica ideal será recorrer a um método que não exija contacto, colmatando assim os problemas referidos. No entanto, as técnicas sem contacto referidas apresentam também problemas associados. No caso da agitação mecânica/orbital a possibilidade de derramamento de líquido e a possível contaminação entre poços leva à necessidade de otimização dos parâmetros de operação e/ou utilização de uma cobertura (i.e., isolamento da placa). Este isolamento da placa foi uma das maiores preocupações demonstradas pelas empresas e, como tal, deve ser evitado.

Os métodos acústicos referidos apresentam também limitações associadas. Na tecnologia AFA da *Covaris*, são utilizadas microplacas especialmente desenhadas para a utilização no equipamento desenvolvido, tornando obsoleta tanto a placa *standard* como possíveis equipamentos ou métodos laboratoriais padrão que requerem a utilização da mesma. Relativamente à solução apresentada pela empresa *Advantix*, baseada no fenómeno SAW, a mistura da placa não é realizada simultaneamente em todos os poços, mas sim, organizada em colunas, cuja mistura é ativada em sequência.

Uma vez que, segundo o relatório da *HtStec Lta*, é grande o interesse na utilização da energia acústica, torna-se interessante desenvolver um sistema baseado neste conceito. Uma técnica baseada em ultrassons não apresenta invasividade, evitando assim os possíveis problemas de contaminação e necessidade de lavagem associados, e não requer o isolamento das placas. Além disso, pode ser uma técnica com baixos custos de fabrico e manutenção.

O sistema proposto neste trabalho baseia-se então na agitação acústica, onde se pretende que transdutores, colados numa *Printed Circuit Board*, sejam colocados por baixo da microplaca *standard* de 96 poços, de modo a gerarem e a transmitirem ultrassons para os poços da mesma levando à movimentação do fluido, promovendo, assim, o processo de mistura e aumentando a rapidez do mesmo. Neste trabalho serão estudadas diferentes alternativas para a escolha do transdutor e provado o conceito de funcionamento do sistema proposto.

### 1.3 Objetivos

Este projeto explora a possibilidade da utilização da agitação acústica para intensificar o processo de mistura decorrente em microplacas laboratoriais de 96 poços. Para tal, pretende-se desenvolver um sistema eletrónico de atuação para transdutores piezoelétricos, que se

encontram acoplados na base da microplaca, e que são responsáveis por gerar e transmitir ultrassons para os fluidos presentes nos poços da mesma. Além disso, pretende-se também monitorizar a temperatura tanto na superfície dos transdutores como no interior dos poços, uma vez que esta assume um papel importante na evolução de algumas reações bioquímicas.

Um outro objetivo recai no estudo do material mais adequado a utilizar para o transdutor piezoelétrico. Pretende-se abordar duas possibilidades: o cerâmico PZT (*Lead Zirconate Titanate*) e o polímero PVDF (*Polyvinylidene Difluoride*). São estudadas as características principais de ambos os materiais, com especial ênfase naquelas que regem o comportamento piezoelétrico. O objetivo deste estudo é a comparação do desempenho de ambos os transdutores, importante para uma futura otimização do sistema a desenvolver.

### 1.4 Descrição do trabalho

Com vista a cumprir os objetivos descritos, foi projetada uma placa, *printed circuit board* (PCB), que serve de suporte aos transdutores em uso. As dimensões desta placa, assim como dos furos realizados, foram escolhidos de forma a permitir tanto o encaixe da microplaca como dos conectores RF que serão utilizados.

Em seguida realizou-se a caracterização do sistema (i.e. placa com os transdutores de PZT e PVDF) recorrendo ao VNA (*Vector Network Analyzer*), com o intuito de estudar o comportamento dos transdutores com a frequência e, assim, definir as condições ideais de atuação dos mesmos. Para garantir a maior potência de atuação, foi realizada a adaptação elétrica dos transdutores nas frequências relevantes, obtidas pelo processo de caracterização. Nesta fase foram efetuados testes preliminares, qualitativos, que consistiram na realização de misturas na superfície do transdutor e posterior visualização do fenómeno de agitação acústica gerado nas mesmas. Estes testes foram efetuados recorrendo a um gerador e amplificador comerciais, sendo que os resultados foram gravados com um microscópio ótico. Posteriormente, com recurso a uma camada intermédia, feita com gel de ultrassons, foram observados, visualmente, os resultados da agitação acústica em fluidos presentes nos poços da microplaca.

Após a prova do conceito, procedeu-se à realização da eletrónica responsável por gerar o sinal elétrico de atuação para o transdutor PZT, uma vez que este tinha demonstrado resultados preliminares mais promissores. Ao longo deste projeto foram simultaneamente explorados conceitos como a adaptação mecânica e elétrica, pois estes são fatores que afetam a eficiência com que os ultrassons são gerados e transmitidos. Como tal, a sua otimização resulta num maior rendimento final do sistema. Novos testes, tanto na superfície do transdutor como nos

poços da microplaca foram posteriormente efetuados, desta vez utilizando o circuito eletrônico desenvolvido.

De modo a ser obtida uma melhor compreensão da melhoria introduzida pelo efeito das ondas ultrassônicas no processo de mistura foram realizadas análises quantitativas, baseadas em medições espectrofotométricas.

Por fim, estudou-se o perfil de temperaturas resultante do processo de agitação acústica para vários sinais de atuação. Este estudo foi realizado tanto na superfície dos transdutores como dentro dos poços da microplaca. Esta análise torna-se importante uma vez que a temperatura assume um papel importante na evolução de certas reações bioquímicas, as endotérmicas.

### 1.5 Organização da dissertação

Neste primeiro capítulo é contextualizado o trabalho realizado. São apresentadas as diferentes metodologias de mistura em uso, explorando as diferentes técnicas e soluções já apresentadas para a mistura em microplacas. Neste contexto, é referida a importância da técnica de agitação acústica com base em ultrassons, assim como as principais vantagens associadas, comparativamente às técnicas já empregues. São ainda mencionados os principais objetivos do projeto e é descrito, de forma sucinta, o trabalho realizado. Finalmente, é apresentada a organização da dissertação.

O segundo capítulo dedica-se ao conceito de som e, concretamente, do ultrassom. As suas principais características são descritas, como por exemplo a frequência e comprimento de onda, velocidade e intensidade associada. São também explorados os fenómenos de atenuação da onda, com ênfase especial na reflexão. Por fim, são apresentados os principais efeitos do ultrassom em fluidos, importantes no contexto explorado de agitação fluidica.

O terceiro capítulo aborda os transdutores piezoelétricos. O efeito piezoelétrico é dado a conhecer, assim como as equações fundamentais que o regem. Adicionalmente, os dois transdutores em uso, *Lead Zirconate Titanate* (PZT) e *Polyvinylidene Fluoride* (PVDF) são descritos, sendo dada especial ênfase às suas diferenças. É ainda abordado o conceito de adaptação mecânica com o intuito de aumentar a eficiência da transmissão dos ultrassons.

O quarto capítulo dedica-se ao trabalho prático desenvolvido, desde o sistema comercial utilizado para os testes preliminares até ao sistema eletrônico de atuação desenvolvido.

O quinto capítulo apresenta e discute os resultados obtidos nos vários testes realizados.

Por fim, no último capítulo são apresentadas algumas considerações gerais sobre o trabalho desenvolvido, bem como sugestões para trabalho futuro.



## Capítulo 2 - Ultrassons

Neste capítulo descreve-se o conceito de som e, mais concretamente do ultrassom. É estudada a sua propagação com especial atenção ao seu comportamento na interação com interfaces. As principais características da onda sonora, como a frequência, intensidade e velocidade são também abordadas. Por fim, são referidos os principais efeitos dos ultrassons em fluidos, que constituem a base da sua utilização para agitação acústica.

### 2.1 Onda sonora e a sua propagação

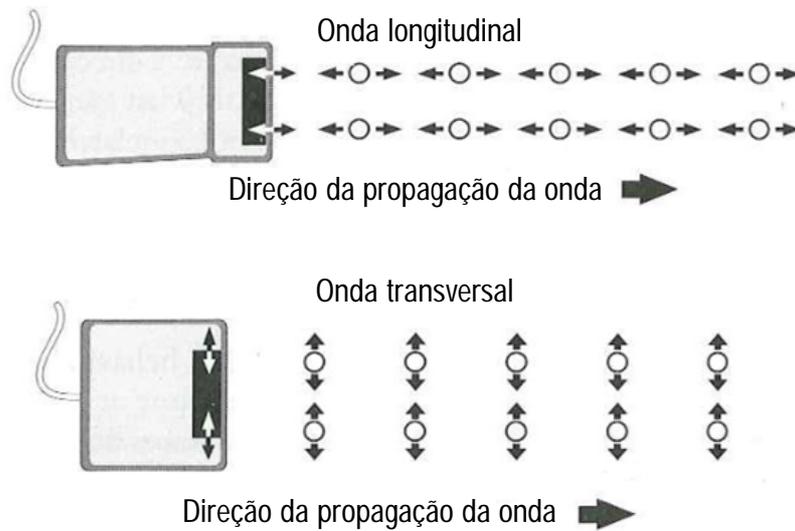
#### 2.1.1 Definição do som

Fundamentalmente, o som pode ser descrito como uma perturbação mecânica que se desloca em forma de ondas de pressão num meio material. Esta energia é dita mecânica, uma vez que tem por base os movimentos físicos das partículas que constituem o meio de propagação. Por conseguinte, as ondas sonoras propagam-se apenas em meios que contêm partículas, não sendo possível a sua propagação no vácuo [39, 40].

Um sinal acústico pode ser classificado de acordo com sua frequência. Se a frequência deste for superior a 20 kHz (i.e. 20 000 ciclos por segundo) é denominado de ultrassom, sendo este som inaudível ao ouvido humano. No outro extremo encontra-se o infrassom, caracterizado por uma frequência inferior a 20 Hz. Entre estes dois extremos encontra-se a gama de som audível [40].

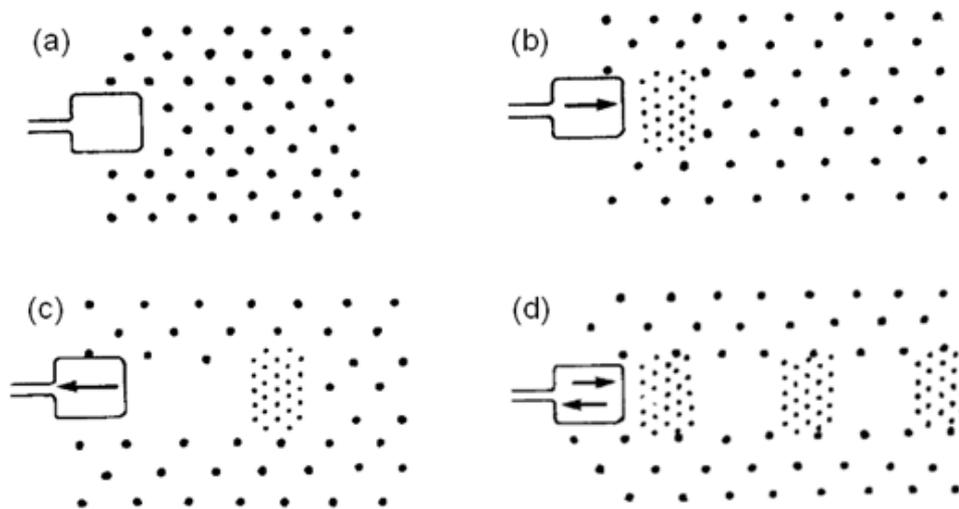
#### 2.1.2 Tipos de ondas

As ondas sonoras são normalmente ondas mecânicas longitudinais, o que significa que as partículas do meio oscilam na mesma direção da propagação da onda, ou seja, paralelamente a esta. Contudo, existem outros tipos de ondas mecânicas que produzem vibrações transversais. Estas são caracterizadas por vibrações das partículas numa direção perpendicular à direção da propagação da onda. Estes dois tipos de movimento são ilustrados na Figura 2.1 [40].



**Figura 2.1** Ilustração da propagação de uma onda longitudinal e transversal (adaptado de [40]).

A Figura 2.2 apresenta a base de propagação de uma onda sonora longitudinal, onde podem ser visualizadas várias moléculas constituintes de um meio, quando nenhuma força externa é aplicada (Figura 2.2 (a)). Como se pode observar, as moléculas encontram-se distribuídas de forma aproximadamente uniforme [39].



**Figura 2.2** Ilustração da formação e propagação de uma onda sonora: (a) distribuição uniforme de moléculas num meio; (b) o movimento de um pistão para a direita cria uma zona de compressão; (c) o afastamento do pistão para a esquerda produz uma zona de rarefação; (d) o movimento alternado do pistão para direita e esquerda estabelece uma onda longitudinal no meio (adaptado de [39]).

Quando uma força é aplicada ao meio, representada na Figura 2.2 (b) pela ação de um pistão que se desloca para a direita, as moléculas concentram-se na região imediatamente adjacente a este, resultando num aumento de pressão localizado. Esta região é chamada de zona de compressão. Uma vez que a pressão nesse local é maior que a pressão do meio que

não sofreu perturbação, as moléculas dessa camada comprimida tendem a mover-se para a direita, levando à compressão duma segunda camada, que por sua vez, transmite o impulso de pressão para uma terceira camada e assim em diante. A perturbação mecânica propaga-se através do meio numa direção oposta à fonte do distúrbio inicial. Se após uma compressão o pistão for movido para a esquerda (Figura 2.2 (c)), criar-se-á uma zona de pressão reduzida imediatamente atrás da zona de compressão. As moléculas do meio circundante mover-se-ão para esta região de modo a restaurar a densidade normal. Desta forma, é criada uma segunda região, denominada zona de rarefação que também se afastará do pistão. Desta forma, um impulso de rarefação segue agora o impulso de compressão gerado anteriormente. Se o pistão oscilar continuamente, propagar-se-ão pelo meio zonas alternadas de compressão e rarefação, como pode ser observado na Figura 2.2 (d) [39, 41].

A sucessão de rarefações e compressões que se movem para longe da fonte constituem o movimento da onda sonora. Num ponto espacial do meio de propagação da onda, ocorre um aumento e uma diminuição de pressão de forma alternada, com uma diminuição e um aumento da densidade, respetivamente [41].

A velocidade à qual as moléculas se movem para trás e para a frente é chamada de velocidade da partícula que é diferente da velocidade de propagação do som, sendo esta o ritmo ao qual as ondas se propagam através do meio [41].

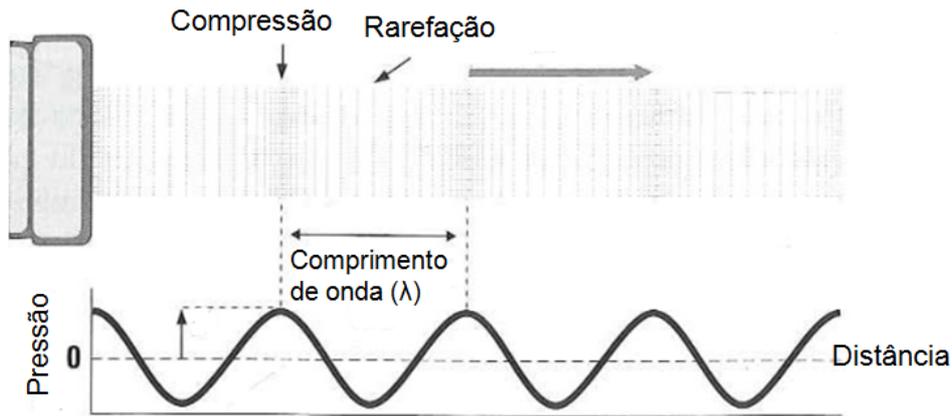
No caso da formação e propagação dos ultrassons é utilizado um transdutor piezoelétrico cuja função é a mesma que a desempenhada pelo pistão no exemplo anterior.

## **2.2 Características da onda sonora**

### **2.2.1 Comprimento de onda e frequência**

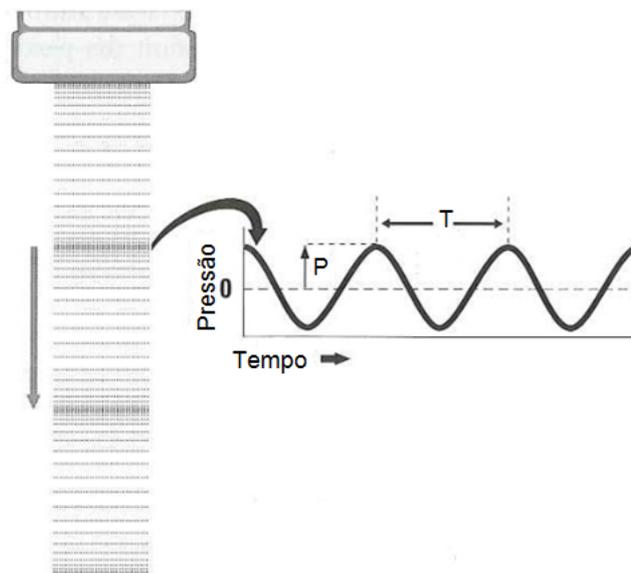
Uma zona de compressão e uma zona de rarefação adjacente constituem um ciclo de uma onda ultrassónica. Este ciclo pode ser representado através de um gráfico da pressão verificada em relação à distância da fonte, na direção de propagação da onda ultrassónica (Figura 2.3). A pressão máxima obtida num ciclo corresponde à amplitude da onda sonora [39].

A distância percorrida num ciclo da onda sonora é denominado comprimento de onda, representado por  $\lambda$  [39]. Na figura 2.3 encontra-se uma representação do comprimento de onda para uma onda sinusoidal acústica.



**Figura 2.3** Representação do comprimento de onda de uma onda acústica (adaptado de [40]).

Ao número de ciclos introduzidos no meio por segundo chama-se frequência do sinal. Na Figura 2.4 encontra-se a representado o período ( $T$ ) de uma onda acústica, que corresponde ao tempo entre duas perturbações do mesmo tipo (i.e. tempo entre duas contrações ou duas rarefações) consecutivas medidas no mesmo ponto espacial. Este valor corresponde ao inverso da frequência, ou seja,  $T= 1/f$  [40].



**Figura 2.4** Representação do período de uma onda acústica (adaptado de [40]).

No caso dos fenómenos de rarefação e compressão ocorrerem a um ritmo sinusoidal estável, o sinal possui uma única frequência,  $f$ . O comprimento de onda encontra-se relacionado com a frequência através da expressão:

$$\lambda = \frac{c}{f} \tag{2.1}$$

onde  $c$  representa a velocidade de propagação do som no meio de propagação.

### 2.2.2 Velocidade de propagação do som

A velocidade do som é uma característica do meio, variando com as propriedades físicas do mesmo. Em meios caracterizados por uma baixa densidade, como é o caso do ar ou de outros gases, a velocidade da onda de ultrassom é relativamente baixa. Este comportamento deve-se às relativas longas distâncias que as moléculas percorrem até influenciarem moléculas vizinhas. No outro extremo, como é o caso de meios sólidos, as velocidades são relativamente elevadas. No caso de líquidos a velocidade apresenta valores intermédios entre os verificados nos gases e sólidos [39, 41].

A velocidade do som,  $c$ , em meios líquidos e em tecidos corporais pode ser calculado através da expressão:

$$c = \sqrt{\frac{B}{\rho}} \quad (2.2)$$

sendo  $B$  o módulo de elasticidade (resistência do material à compressão) e  $\rho$  a densidade.

A equação (2.2) mostra que a velocidade do som num meio é dependente tanto da rigidez como da densidade deste [40].

A propagação da onda sonora em diferentes meios, caracterizados por diferentes velocidades, leva a diferentes comprimentos de onda associados. No entanto, a frequência mantém-se relativamente constante [39].

As velocidades do ultrassom em vários meios encontram-se listadas na Tabela 2.1.

**Tabela 2.1** Velocidades aproximadas do ultrassom para certos materiais [39]

Material não-biológico	Velocidade (m/s)	Material biológico	Velocidade (m/s)
Ar	331	Gordura	1475
Alumínio (enrolado)	6420	Cérebro	1560
Vidro (Pirex)	5640	Fígado	1560
Polietileno	1950	Baço	1570
Água (destilada) 25 °C	1498	Sangue	1570
PZT [42]	3970	Lente do olho	1620
PVDF [43]	2070	Osso do crânio	3360
Poliestireno [44]	2450	Tecido mole	1540

### 2.2.3 Amplitude e intensidade

Por vezes, pode ser útil quantificar uma onda com base na sua amplitude de pressão, que é definida como o maior incremento (ou decréscimo) na pressão relativamente às condições ambientais na ausência de qualquer onda sonora. Uma onda com maior magnitude é acompanhada por uma maior amplitude de pressão comparativamente a uma com menor magnitude [40].

A especificação da intensidade acústica pode, por vezes, ser vantajosa. A passagem de uma onda de ultrassom por um meio resulta, conseqüentemente, no transporte de energia através deste. A taxa de transporte energético é conhecida como “potência”. Se esta for descrita por unidade de área, é chamada de intensidade [39]. Na Tabela 2.2 são explicitadas as relações entre estas quantidades e as suas unidades em relação à intensidade.

**Tabela 2.2** Quantidades e unidades relativas à intensidade do ultrassom [39]

Quantidade	Definição	Unidade
<b>Energia (E)</b>	Habilidade de realizar trabalho	Joule
<b>Potência (P)</b>	Taxa a que a energia é transportada	Watt (joule/segundo)
<b>Intensidade (I)</b>	Potência por unidade de área (a)	Watt/cm <sup>2</sup>
<b>Relação</b>	$I = \frac{P}{a} = \frac{E}{(a)(t)}$ , onde t=tempo	

A intensidade numa localização do feixe de ultrassom,  $I$ , é proporcional ao quadrado da amplitude máxima de pressão no meio,  $P_m$  [40]. A relação entre estes é dada por:

$$I = \frac{P_m^2}{2\rho c} \quad (2.3)$$

A intensidade é normalmente descrita relativamente a uma intensidade de referência,  $I_0$ . Normalmente é utilizada uma escala logarítmica, devido à larga gama de valores que a intensidade pode tomar, que engloba muitas ordens de magnitude [39]. Em acústica, é utilizada a escala decibel, onde este é definido como:

$$dB = 10 \log \frac{I}{I_0} \quad (2.4)$$

### 2.3 Reflexão e transmissão nas interfaces

Neste projeto pretendem-se gerar e transmitir ultrassons, a partir de um transdutor piezoelétrico, para amostras fluídicas presentes nos poços de uma microplaca. Como tal, a compreensão do comportamento das ondas acústicas durante a sua propagação torna-se essencial e, em especial, o comportamento destas nas interfaces. Os fenómenos de reflexão e transmissão de ondas adquirem especial importância, assim como a influência destes na atenuação da onda sonora.

A fração da energia acústica refletida numa interface depende da diferença das impedâncias acústicas dos meios constituintes da fronteira [39]. A impedância característica de um material,  $Z$ , é igual ao produto de densidade do meio  $\rho$  e da velocidade do som  $c$  nesse mesmo meio [40]. Isto é,

$$Z = \rho c \quad (2.5)$$

Na Tabela 2.3 são apresentados valores para as impedâncias acústicas de alguns materiais.

**Tabela 2.3** Valores aproximados de impedâncias acústicas de alguns materiais [39]

Material	Impedância Acústica ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) $\times 10^6$ /MRayl
Ar (condições PTM)	0.0004
Água	1,50
Polietileno	1,85
Alumínio	18,0
PZT [42]	29.75
PVDF [45]	2,7
Poliestireno [44]	2,52

Sempre que um feixe de ultrassons incide numa interface formada por dois materiais com impedâncias acústicas diferentes, parte da energia é refletida e a restante é transmitida. A Figura 2.5 (a) ilustra o caso onde a incidência da onda sonora é perpendicular a uma superfície larga e plana, com dimensões muito maiores que o comprimento de onda do ultrassom, ou seja, um refletor especular. Neste caso, a fração  $\alpha_r$  da energia incidente que é refletida (i.e. coeficiente de reflexão) é [39, 40]:

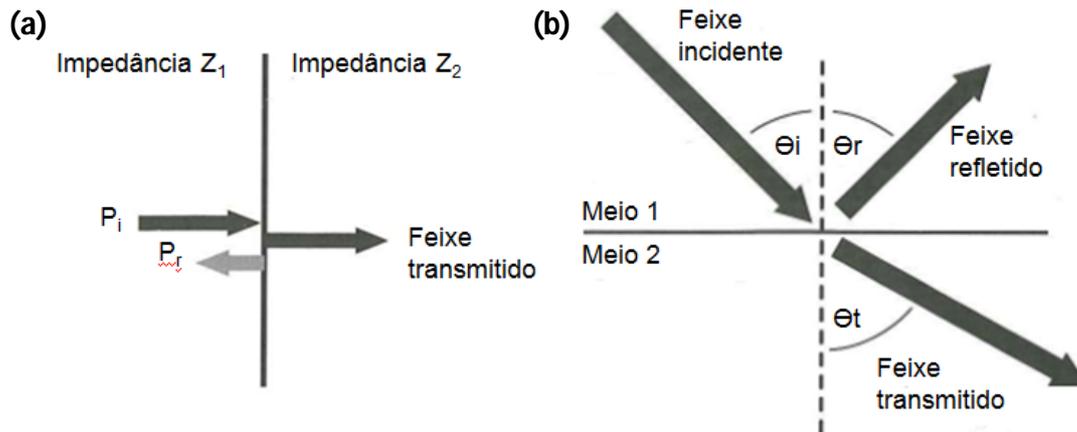
$$\alpha_R = \left( \frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2 \quad (2.6)$$

onde  $Z_1$  e  $Z_2$  são as impedâncias acústicas dos dois meios.

A fração da energia incidente que é transmitida através de uma interface é descrita pelo coeficiente de transmissão  $\alpha_T$ , através de:

$$\alpha_T = \frac{4Z_1Z_2}{(Z_1+Z_2)^2} \quad (2.7)$$

sendo que  $\alpha_R + \alpha_T = 1$ .



**Figura 2.5** (a) Reflexão especular numa interface lisa. A amplitude da onda incidente é  $P_i$  e da onda refletida  $P_r$ .  $Z_1$  é a impedância do material no lado proximal da interface enquanto que  $Z_2$  é a impedância no lado distal da interface; (b) Reflexão e transmissão numa interface especular quando o feixe incide segundo um ângulo. O feixe é refletido sob determinado ângulo, como mostrado. O feixe transmitido sofre refração se as velocidades dos dois meios que formam a interface forem diferentes (adaptado de [40]).

A análise da equação (2.6) permite concluir que quanto maior a diferença de impedâncias dos materiais que constituem a interface maior fração da energia acústica será refletida [40]. A reflexão pode ser um sério problema, podendo mesmo ser necessária a utilização de algum meio de acoplamento, de forma a possibilitar uma melhor transmissão da onda sonora. Esta possibilidade será discutida numa fase posterior.

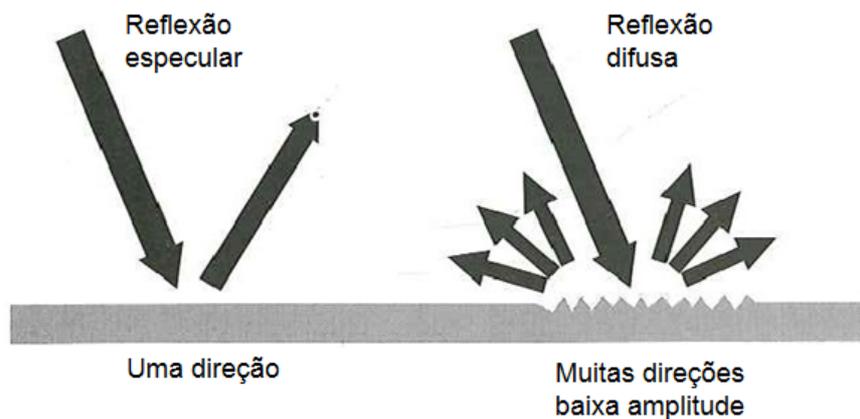
A Figura 2.5 (b) mostra o caso de incidência não perpendicular. Neste caso, a onda refletida não viaja de volta para a fonte, mas sim num ângulo  $\theta_r$  que é igual ao ângulo de incidência  $\theta_i$  mas na direção oposta. Além disso, existe a possibilidade de refração do feixe de transmissão na interface (i.e. mudança da direção do feixe transmitido) [40].

São necessárias duas condições para a refração de uma onda sonora: o feixe sonoro tem que ser incidente na interface com um ângulo não perpendicular e as velocidades do som devem ser diferentes nos dois meios que a constituem a interface. A quantidade de refração é prevista pela Lei de Snell [40], que estipula:

$$\frac{\sin\theta_t}{\sin\theta_i} = \frac{c_2}{c_1} \quad (2.8)$$

sendo  $c_1$  a velocidade do som no lado em que o feixe incide,  $c_2$  a velocidade do som no lado de transmissão,  $\theta_t$  o ângulo de transmissão e  $\theta_i$  o ângulo de incidência.

Existem ainda outros fenômenos de reflexão. É o caso da reflexão difusa, que se verifica quando as interfaces possuem certo grau de rugosidade. Neste caso, a onda é refletida em várias direções [40]. A diferença entre a reflexão especular, anteriormente apresentada, e a reflexão difusa pode ser visualizada na Figura 2.6. Por fim, o *scattering* (i.e. dispersão) diz respeito às reflexões provocadas por pequenos objetos, de tamanho comparável ao comprimento de onda e é tanto mais acentuado quanto maior a frequência do sinal. Estas ondas refletidas podem viajar em todas as direções [40].



**Figura 2.6** Comparação entre reflexão especular e difusa. Para um refletor difuso, as ondas viajam em várias direções para longe da interface ao contrário da única direção observada anteriormente (adaptado de [40]).

## 2.4 Atenuação da onda sonora

À medida que um feixe de ultrassons penetra num meio, parte da energia deste é removida. Esta perda energética deve-se a diferentes fatores, dos quais se destacam a absorção, *scattering*, reflexão e perda geométrica de espalhamento, que levam a uma diminuição da amplitude e intensidade do sinal acústico. Adicionalmente, a atenuação da onda sonora é proporcional à distância percorrida pelo feixe [39, 40, 46].

Quando um sinal acústico encontra um obstáculo, o seu comportamento depende do tamanho deste obstáculo comparativamente ao comprimento de onda do sinal. Se o tamanho do obstáculo é grande comparado com o comprimento de onda do som, e se o obstáculo é relativamente liso, então o feixe mantém a sua integridade, isto é, não há dispersão do feixe. Neste caso, parte do feixe pode ser refletido, sendo o restante transmitido através do obstáculo

como um feixe de menor intensidade. Se o tamanho do obstáculo é comparável ou mais pequeno que o comprimento de onda do ultrassom, o obstáculo irá “espalhar” energia em várias direções [39, 40]. Os fenómenos de reflexão são uma das grandes causas da atenuação da onda sonora.

O ultrassom é, também, absorvido pelo meio, uma vez que parte da energia do feixe é convertida noutras formas de energia, por exemplo, calor [39, 46].

Um outro efeito responsável pela atenuação do ultrassom é chamado de perda geométrica por espalhamento que descreve a diminuição na amplitude medida em determinada localização, no caminho de propagação da onda, à medida que esta onda se espalha por uma área maior. A energia total investida não muda: apenas muda a intensidade ou pressão medida num ponto singular que é dependente da localização desse ponto em respeito à fonte [46].

Um facto a ter em conta é que a atenuação é proporcional à frequência ultrassónica. Quanto maior for esta última maior será a atenuação da onda acústica [40].

### 2.5 Efeitos do ultrassom nos fluidos

O ultrassom é uma onda sonora que introduz energia num sistema e pode ser transmitida através de qualquer sólido, líquido ou gás que possua propriedades elásticas. A passagem do ultrassom por um líquido leva ao seu movimento, num fenómeno denominado *Acoustic Streaming* [47].

Uma vez que se pretendem utilizar ondas ultrassónicas com o objetivo de intensificar o processo da mistura/agitação de fluidos a compreensão deste fenómeno torna-se essencial.

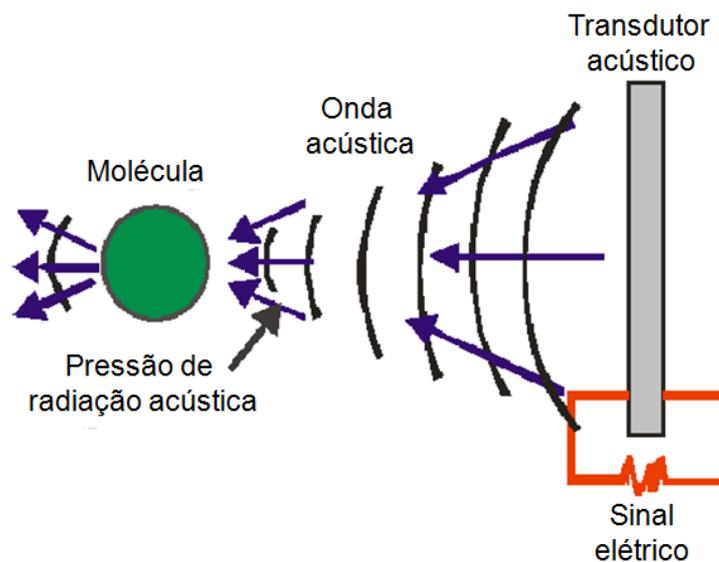
O *Acoustic streaming* foi discutido pela primeira vez por Rayleigh [48]. Este fenómeno refere-se ao movimento criado num fluido que é criado quando as ondas acústicas se propagam através desse meio. Tem sido utilizado em várias aplicações, das quais se destacam aplicações químicas e farmacêuticas [46, 49, 50].

Em termos simples, à medida que uma onda acústica viaja através de um meio ela é absorvida por esse meio. A absorção das ondas acústicas pelo fluido resulta numa pressão de radiação acústica no próprio fluido ao longo da direção da propagação acústica (Figura 2.7). As diferenças de pressão resultantes guiarão o fluido na direção da propagação do som. Consequentemente, esta absorção e o movimento subsequente levam à agitação acústica, intensificando o processo de mistura e reação dos fluidos. A intensidade acústica,  $I$ , decai exponencialmente, criando uma força no fluido [50, 51]:

$$F = \frac{I}{c \times l_{\mu}} \times e^{-x/l_{\mu}} \quad (2.9)$$

onde  $c$  é a velocidade do som no fluido,  $l_{\mu}$  é o comprimento de absorção no fluido, e  $x$  é a distância medida a partir do transdutor acústico.

Uma vez que a força motriz do movimento gerado é distribuída ao longo do caminho de propagação do ultrassom o movimento do fluido pode ser induzido sem contacto [51]. Um facto importante a reter é que com a aplicação de um sinal elétrico ao transdutor acústico, apenas uma fração da energia elétrica é convertida em energia mecânica, enquanto a restante energia é convertida em calor. Para muitas aplicações, incluindo reações (bio)químicas endotérmicas, o aumento da temperatura é vantajoso pois pode reduzir o tempo de reação. Deste modo, tanto a agitação como o aquecimento acústico, ajudam a reduzir o tempo de reação e a acelerar o processo de mistura. Deste modo, este método é denominado de “termoagitação acústica” [50].



**Figura 2.7** Geração de ondas acústicas para agitação fluidica (adaptado de [50]).



## Capítulo 3 - Transdutores Piezoelétricos

Neste capítulo são apresentados os princípios físicos da piezoeletricidade, assim como as equações fundamentais que regem este fenômeno. Adicionalmente, os dois transdutores em uso, *Lead Zirconate Titanate* (PZT) e *Polyvinylidene Fluoride* (PVDF) são descritos, sendo dado ênfase especial às suas diferenças. Por fim, são abordados os conceitos de adaptação mecânica e elétrica, importantes para a otimização da eficiência do sistema.

### 3.1 Piezoeletricidade

Um transdutor pode ser visto como um dispositivo que converte energia, isto é, transforma um tipo de energia num outro tipo diferente. No caso explorado neste trabalho, a energia elétrica aplicada ao transdutor é convertida em energia acústica.

Um transdutor pode ser chamado de reversível se o processo de conversão se dá nos dois sentidos, ou seja, e mais uma vez, no caso do dispositivo utilizado, se este consegue converter a energia acústica novamente em elétrica e vice-versa. A maioria dos transdutores utilizados para a criação de ultrassom são osciladores de cristal que operam através do efeito piezoelétrico [41].

O efeito piezoelétrico, explorado neste projeto, refere-se à capacidade de alguns materiais, denominados de materiais piezoelétricos gerarem uma corrente elétrica em resposta a uma deformação mecânica. O efeito reverso é, também, verificado.

#### 3.1.1 Descoberta e primeiras aplicações

A palavra Piezoeletricidade, proposta por Hankel, tem a sua origem no Grego e significa “eletricidade a partir de pressão” (*Piezo* significa pressão em Grego) [47].

A descoberta do fenômeno da piezoeletricidade ficou a dever-se aos irmãos Curie que observaram o aparecimento de cargas positivas e negativas em várias partes da superfície dos cristais quando estes eram sujeitos a pressões mecânicas. Eles verificaram que a quantidade de carga criada (i.e., a polarização dielétrica) era diretamente proporcional à pressão aplicada. O efeito reverso previsto por Lippmann em 1881, acabou por ser verificado pelos irmãos Curies no mesmo ano. Neste caso, ficou comprovado que a quantidade de deformação sofrida pelo material era diretamente proporcional à intensidade do campo elétrico aplicado [41, 47, 52].

Uma das primeiras e mais importantes aplicações que recorreram ao uso de dispositivos piezoelétricos data da 1ª Guerra Mundial, com a construção de sensores ultrassônicos para a detecção de submarinos, os sonares [53].

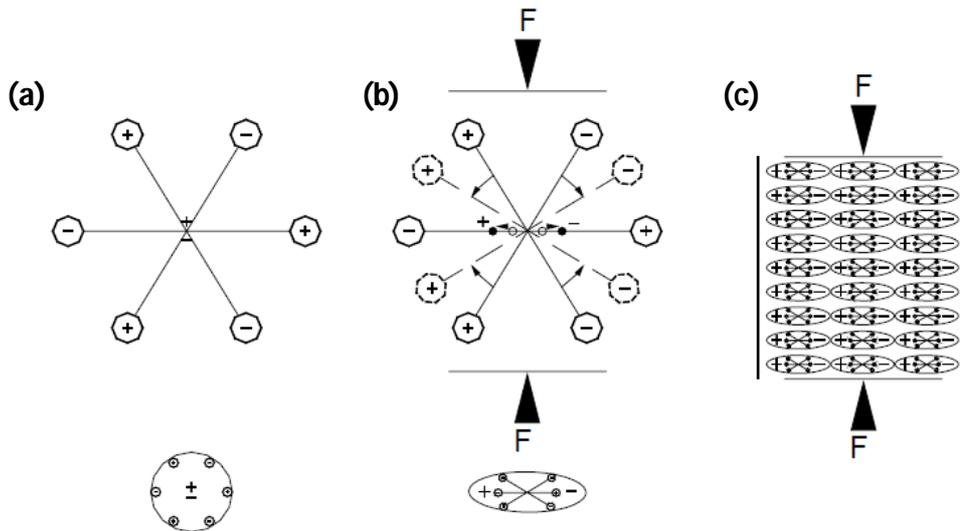
Atualmente, a principal aplicação deste tipo de dispositivos diz respeito ao diagnóstico médico não invasivo. No entanto, ao longo dos anos foram surgindo novas aplicações para estes transdutores. Um resumo de algumas aplicações encontra-se na Tabela 3.1.

**Tabela 3.1** Principais aplicações da Piezoelectricidade (adaptado de [52])

<b>Industriais</b>	<b>Saúde e consumidor</b>	<b>Novas aplicações</b>
Limpeza ultrassônica	Diagnóstico médico não invasivo	Dispositivos microeletromecânicos (MEMS)
Sonar	Litotripsia	Dispositivos microóticomecânicos
Avaliação não destrutiva	Medicação subcutânea	Dispositivos biomiméticos
Sensores do nível de líquidos	Relógios de pulso	
Sensores de alta temperatura	Focagem da camara/estabilização	
Determinação das propriedades de materiais	Tempos do computador/impressora/modems	
Sensores químicos/biológicos		

### 3.1.2 Efeito piezoelétrico

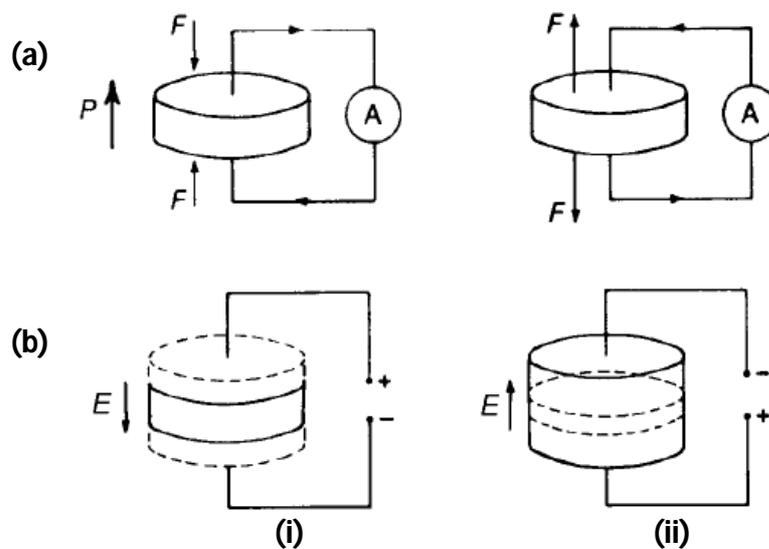
A Figura 3.1 utiliza um modelo molecular simples para explicar o efeito piezoelétrico, isto é, a criação de uma carga elétrica devido a uma força aplicada ao material. Como se pode observar na Figura 3.1 (a) antes do material sofrer ação de uma força externa, os centros gravitacionais das cargas positivas e negativas de cada molécula coincidem, sendo os efeitos externos das cargas reciprocamente cancelados. Como resultado, a molécula apresenta-se eletricamente neutra. Quando se aplica uma pressão ao material, a sua estrutura interna pode ser deformada, levando à separação dos centros gravitacionais das cargas das moléculas criando pequenos dipolos (Figura 3.1 (b)). Este fenómeno leva ao aparecimento de uma carga na superfície do material (Figura 3.1 (c)), ou seja, o material encontra-se polarizado. Desta forma, a energia mecânica utilizada é transformada em energia elétrica [47].



**Figura 3.1** Modelo molecular simples para explicar o efeito piezoelétrico: (a) molécula imperturbada; (b) molécula sujeita a uma força externa; (c) polarização resultante nas superfícies do material (adaptada de [47]).

O efeito anteriormente descrito é chamado de Efeito Piezoelétrico Direto, representado na Figura 3.2(a). O efeito reverso, ou seja, a criação de uma deformação mecânica no material em resposta à aplicação de um campo elétrico pode ser observado na Figura 3.2 (b).

A aplicação de um campo elétrico alternado no material leva a sucessivas compressões e expansões do material de forma alternada e, conseqüente, à geração e transmissão de ondas acústicas. Nas Figura 3.2 (b), em (i) e (ii) observa-se como a aplicação de polaridades diferentes no transdutor leva à criação de deformações contrárias. Da mesma forma, a aplicação de forças compressivas ou extensivas neste material, representadas na Figura 3.2 (a) (i) e (ii) respetivamente, levam ao fluxo de correntes em direções opostas.



**Figura 3.2** (a) Efeito Piezoelétrico direto; (b) reverso: (i) contração; (ii) expansão. As linhas tracejadas indicam as dimensões originais [54].

### 3.1.3 Coeficientes e equações fundamentais

O efeito piezoelétrico pode ser descrito, de forma simples, pelas equações (3.1) e (3.2) [55, 43].

$$[S] = [d][E] + [s^E][T] \quad (3.1)$$

$$[D] = [\varepsilon^T][E] + [d][T] \quad (3.2)$$

onde  $S$  representa a deformação mecânica,  $d$  a constante piezoelétrica de carga,  $E$  o campo elétrico,  $s$  o coeficiente elástico,  $T$  a tensão mecânica,  $D$  o deslocamento elétrico e  $\varepsilon$  a permitividade dielétrica. Posteriormente, estas constantes serão abordadas com maior detalhe.

Os subscritos em  $s$  e  $\varepsilon$  representam a condição na qual as quantidades são medidas. A quantidade  $s$ , coeficiente elástico, é medido sob a ação de um campo elétrico constante ( $E=0$ , curto circuito) enquanto  $\varepsilon$ , a permitividade dielétrica, é medida sob a condição de nenhum stress aplicado ( $T=0$ ) [55, 43].

A transferência de energia elétrica para mecânica (ou vice-versa) ocorre numa forma tridimensional complexa. As constantes físicas relacionam-se tanto com a direção de aplicação da força mecânica ou elétrica, como com as direções perpendiculares a esta. Consequentemente, cada constante tem, geralmente, dois subscritos que indicam as direções das duas quantidades relacionadas. Define-se, por isso, convencionalmente, um sistema de eixos. Por convenção, definiu-se a direção de polarização positiva no eixo  $z$ . As direções  $X$ ,  $Y$  e  $Z$  são representadas pelos subscritos 1, 2 e 3, respetivamente. Os planos de cisalhamento são indicados pelos subscritos 4, 5 e 6 e são perpendiculares às direções 1, 2 e 3 respetivamente [54, 43, 56]. O sistema de eixos referido encontra-se ilustrado na Figura 3.3.

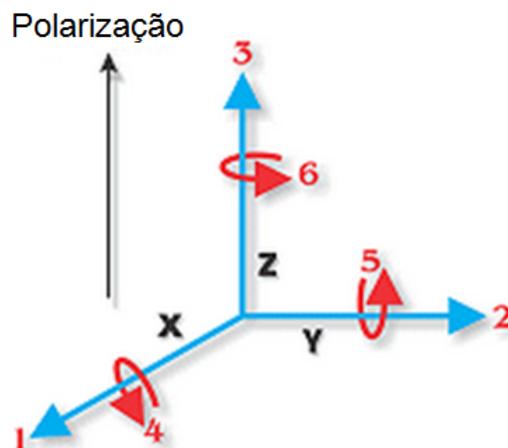


Figura 3.3 Direções das forças que afetam um elemento piezoelétrico (adaptado de [56]).

- Constante piezoelétrica de carga,  $d$

A constante  $d$  refere-se à polarização criada por unidade de tensão mecânica ( $T$ ) aplicada a um material piezoelétrico ou, alternativamente, é a deformação mecânica ( $S$ ) desenvolvida por unidade de campo elétrico aplicado. Consoante a definição empregue, as unidades são expresas em  $C/N$  (Coulombs/Newton) ou  $m/V$  (metros/volt). O primeiro subscrito de  $d$  indica então a direção da polarização criada no material (para  $E=0$ ) ou a direção do campo elétrico aplicado, conforme o caso. Da mesma forma, o segundo subscrito diz respeito à direção da tensão mecânica aplicada ou da deformação induzida, respetivamente [43, 56]. Como exemplo, tem-se:

- $d_{33}$  Polarização induzida na direção 3 (paralelamente à direção de polarização) por unidade de tensão mecânica aplicada na direção 3  
ou  
Deformação induzida na direção 3 por unidade de campo elétrico aplicado na direção 3
- $d_{31}$  Polarização induzida na direção 3 (paralelamente à direção de polarização) por unidade de tensão mecânica aplicada na direção 1 (perpendicular ao eixo de polarização)  
ou  
Deformação induzida na direção 1 por unidade de campo elétrico aplicado na direção 3
- $d_{15}$  Polarização induzida na direção 1 por unidade de tensão mecânica de cisalhamento aplicada em torno da direção 2 (consultar Figura 3.3)  
ou  
Deformação de cisalhamento induzida em torno da direção 2 por unidade de campo elétrico aplicado na direção 1

Uma vez que a deformação induzida num material piezoelétrico por ação da aplicação de um campo elétrico é o produto do valor para o campo elétrico pelo valor de  $d$ ,  $d$  é um indicador importante de quão indicado um material é para aplicações dependentes da deformação, como é o caso do seu funcionamento como atuador, que é o caso explorado [56].

- Permitividade,  $\epsilon$

A permitividade, ou constante dielétrica,  $\epsilon$ , para um material piezoelétrico é o deslocamento dielétrico por unidade de campo elétrico aplicado.  $\epsilon^T$  é a permitividade para uma tensão mecânica constante e  $\epsilon^S$  é a permitividade para uma deformação mecânica constante. O primeiro subscrito indica a direção do deslocamento dielétrico enquanto o segundo indica a direção do campo elétrico aplicado [56].

$\epsilon_{11}^T$  Permittividade para o deslocamento dielétrico e campo elétrico na direção 1, sob tensão mecânica constante

$\epsilon_{33}^S$  Permittividade para o deslocamento dielétrico e campo elétrico na direção 3, sob deformação mecânica constante

- Complacência elástica,  $s$

Refere-se à deformação mecânica produzida num material piezoelétrico por unidade de tensão aplicada  $e$ , para as direções 11 e 33 é o recíproco do módulo de elasticidade (módulo de Young).  $s^D$  é a complacência sob deslocamento elétrico constante e  $s^E$  sob campo elétrico constante. O primeiro subscrito indica a direção da deformação e o segundo a direção da tensão mecânica [56].

$s_{11}^E$  Complacência elástica para a tensão mecânica aplicada na direção 1 e deformação que a acompanha na direção 1, sob condição de campo elétrico constante

$s_{33}^D$  Complacência elástica para a tensão mecânica aplicada na direção 3 e deformação que a acompanha na direção 3, sob condição de deslocamento dielétrico constante

- Módulo de Young

O módulo de *Young* é um indicador da rigidez (elasticidade) de um material. Este é determinado pelo valor de tensão mecânica aplicada a um material a dividir pelo valor da deformação resultante na mesma direção [56].

- Fator de acoplamento eletromecânico,  $k$

É um indicador da eficiência com que um material piezoelétrico converte energia elétrica em mecânica ou vice-versa [43]. O primeiro subscrito de  $k$  refere-se à direção ao longo da qual os elétrodos são aplicados; o segundo denota a direção ao longo da qual a energia mecânica é aplicada, ou desenvolvida [56]. No entanto, para o caso de um disco ou placa de material com dimensões superficiais significativamente maiores que a espessura é usado o  $K_t$  e  $K_p$  [56]. A definição dos dois componentes é então:

$k_t$  Fator para o campo elétrico na direção 3 e vibrações na direção 3

$k_p$  Fator para o campo elétrico na direção 3 e vibrações radiais na direção 1 e 2

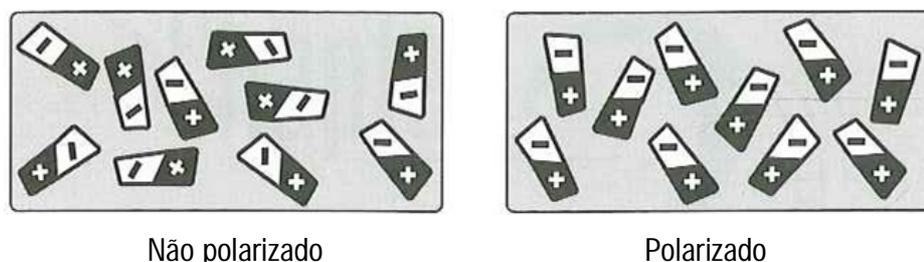
É desejável um  $k$  elevado mas, este não tem em conta, por exemplo, as perdas dielétricas ou mecânicas. Este é, por isso, diferente da eficiência do transdutor. Uma medida mais precisa da eficiência é a razão entre a energia convertida e utilizável e a energia total fornecida ao mesmo [43, 56].

### 3.2 Materiais ferroelétricos

No contexto de materiais piezoelétricos, é importante o conhecimento dos materiais denominados de ferroelétricos. Estes são materiais cuja direção de polarização espontânea pode ser alterada através da aplicação de um campo elétrico externo [54]. O interesse nestes materiais advém do seu elevado efeito piezoelétrico, uma vez que apresentam uma transformação eletromecânica elevada e eficiente. Além disso, é possível polarizar estes materiais na direção desejada. Desta forma, torna-se possível criar uma direção unipolar macroscópica para o material, essencial para a ação piezoelétrica. Mesmo os materiais isotrópicos (i.e. um material que apresenta as mesmas propriedades, independentemente da direção considerada), como é o caso de polímeros, cerâmicos ou compósitos, podem ser polarizados dessa forma [52].

O processo de polarização é realizado através da aplicação de um campo elétrico externo sobre condições apropriadas de temperatura e tempo. Numa fase inicial, o material é aquecido a uma temperatura superior à temperatura de Curie, acima da qual a polarização espontânea 'desaparece' sendo que as propriedades do material mudam para aquelas de um 'paraelétrico' (i.e. dipolos elétricos desordenados). Este é depois arrefecido sob a ação de um campo elétrico forte orientado na direção ao longo da qual se pretende aplicar o campo de excitação, uma vez que o eixo polar alinhar-se-á com a direção do campo elétrico [41, 54].

No caso dos cerâmicos, como o PZT, que são compostos por um grande número de cristalitos orientados de forma aleatória, torna-se possível alterar a direção da polarização destes e, assim, dotar este material de comportamento piezoelétrico [54]. O efeito da polarização pode ser visualizado na Figura 3.4.



**Figura 3.4** Representação de um transdutor cerâmico piezoelétrico antes da polarização (esquerda) e após a polarização (direita). A polarização produz o alinhamento parcial dos cristais microscópicos (o tamanho do cristal encontra-se exagerado na imagem) (adaptado de [40]).

### 3.3 PZT e PVDF

Ao longo deste projeto são exploradas duas possibilidades para o transdutor piezoelétrico com o objetivo de comparar os seus desempenhos para a aplicação pretendida. Os dois materiais ferroelétricos utilizados são o PZT e PVDF. Como referido anteriormente um cerâmico como o PZT pode ser polarizado, podendo depois ser utilizado para aplicações piezoelétricas.

O PZT, cuja fórmula é  $P_b(Ti,Zr)O_3$ , é um dos cerâmicos piezoelétricos de maior interesse. De acordo com a sua composição, isto é, a quantidade de Ti e Zr, tanto a resposta piezoelétrica do transdutor como a estrutura deste sofrem modificações. Pode mesmo haver a coexistência de fases cristalinas, como a fase tetragonal com a fase romboédrica [54].

Nos polímeros, a descoberta de um efeito piezoelétrico forte data do trabalho pioneiro de Kawai sobre o Poly(Vinylidene Fluoride) em 1969, seguida das descobertas de piroeletricidade no mesmo polímero dois anos depois por Bergman et al. e por Nakamura e Wada. Mais tarde, a ferroeletricidade ficou confirmada. Desde aí, a ciência e tecnologia dos polímeros piezoelétricos tem sido dominada por polímeros da família do PVDF, especialmente dos copolímeros do PVDF como o trifluoroethylene P(VDF-TrFE) [52].

Na sua maioria, os polímeros são semi-cristalinos, inclusive o PVDF, pressupondo a coexistência de fase cristalina e amorfa [52, 57, 58]. Atualmente, são consideradas quatro estruturas cristalinas diferentes para os polímeros de PVDF, geralmente classificadas em:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  [57]. De maior importância para aplicações piezoelétricas realça-se a fase  $\beta$ , o  $\beta$  – PVDF, uma vez que das quatro fases cristalinas é aquela que apresenta a maior polarização espontânea. Nesta fase, a conformação *all-trans* induz o alinhamento de  $CH_2CF_2$  num plano *zigzag* perpendicular ao eixo da cadeia (Figura 3.5).

A fase  $\beta$  é, normalmente, obtida através do estiramento mecânico do  $\alpha$  – PVDF. Este estiramento leva à formação de um filme fino e promove o alinhamento das cadeias moleculares na direção do estiramento. Numa fase posterior, os dipolos do polímero são reorientados através

da aplicação de um campo elétrico forte, na direção normal ao filme, a uma temperatura até 100 °C. Após este processo, a amostra é arrefecida, sendo mantido o campo elétrico [45].

Como se pode observar na Figura 3.5, os dipolos moleculares associados aos átomos positivos de hidrogénio e negativos de flúor encontram-se alinhados numa única direção, de modo a gerar a maior polarização espontânea. O alinhamento dipolar (i.e. polarização), referido anteriormente, é necessário em qualquer polímero piezoelétrico antes de este ser utilizado em aplicações piezoelétricas. Esta polarização alinha os cristais individuais dentro do polímero, levando a que estes respondam coletivamente a alterações no meio envolvente e confere ao PVDF as suas fortes características piezoelétricas [57, 58].

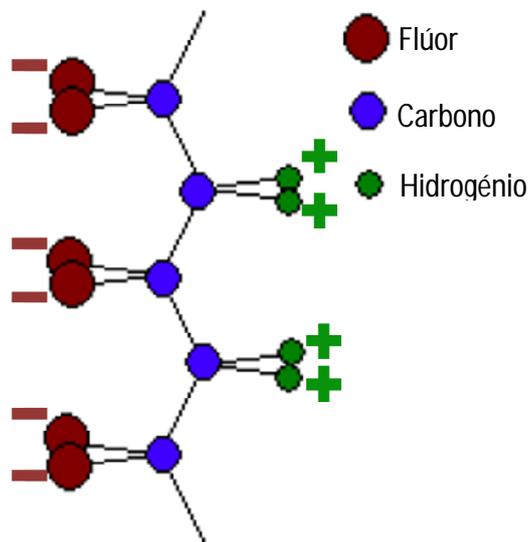


Figura 3.5 Estrutura do  $\beta$ -PVDF (adaptada de [58]).

Na Tabela 3.2 são apresentadas as principais características associadas aos dois materiais em estudo. Os dados apresentados para o PZT são referentes a PZT-5H, variedade mais comum para este material.

Tabela 3.2 Principais características do PZT e PVDF

	PVDF	PZT-5H	Unidades
$d_{33}$ [43]	15	583	pCN <sup>-1</sup>
<b>Coefficiente de acoplamento eletromecânico (<math>k</math>)</b> [52, 43]	0,11 - 0,15	0,7	
$c$ [43]	2070	3970	ms <sup>-1</sup>
$\rho$ [43]	1760	7500	10 <sup>3</sup> Kg/m <sup>3</sup>
<b>Temperatura de Curie</b> [43]	100	190	°C
<b>Opacidade</b>	Transparente	Opaco	
<b>Impedância Acústica</b> [42, 45]	2,7	29,75	10 <sup>6</sup> Kgs <sup>-1</sup> m <sup>-2</sup> /MRayl

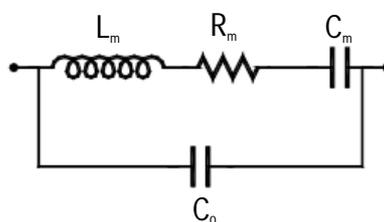
Como se pode observar pela Tabela 3.2 o PZT apresenta uma resposta piezoelétrica mais acentuada que a do PVDF, constatada pelos parâmetros  $d_{33}$  e  $K$ . No entanto o PVDF apresenta outras vantagens, como é o caso da sua transparência, o que permite o seu uso em aplicações óticas e a sua baixa impedância acústica que é um fator determinante na eficiência com que os ultrassons são transmitidos para os fluidos a misturar, devido ao efeito de reflexão característico das ondas sonoras. Este conceito foi anteriormente abordado com mais detalhe, na secção 2.3. Adicionalmente, é um material flexível e barato [43].

### 3.4 Modelo equivalente do transdutor

Se as superfícies do transdutor forem ligadas através de um fio condutor, a corrente que circulará neste, devido ao efeito piezoelétrico, é a mesma que fluiria através de um circuito elétrico em série formado por uma resistência, bobine e condensador [47, 54]. Os elementos referidos estabelecem as relações entre os parâmetros elétricos e as propriedades mecânicas dos materiais, onde:

- a resistência modela o fenómeno físico de perda de energia devido aos efeitos viscosos;
- a bobine modela o armazenamento devido ao efeito inercial;
- o condensador modela o armazenamento de energia devido ao efeito elástico.

O circuito que modela a impedância elétrica de um material piezoelétrico e dielétrico sujeito a uma diferença de tensão variável compreende dois ramos paralelos: um ramo relativo ao fenómeno físico do movimento, constituído pelo circuito série composto pela resistência, bobine e condensador; e outro, denominado ramo estático, que é formado pela capacidade  $C_o$  associada à capacidade dielétrica que advém do material dielétrico colocado entre os dois eléctrodos [47]. Este circuito encontra-se representado na Figura 3.6.



**Figura 3.6** Modelo elétrico equivalente de um material piezoelétrico que vibra a uma frequência próxima da ressonância [47].

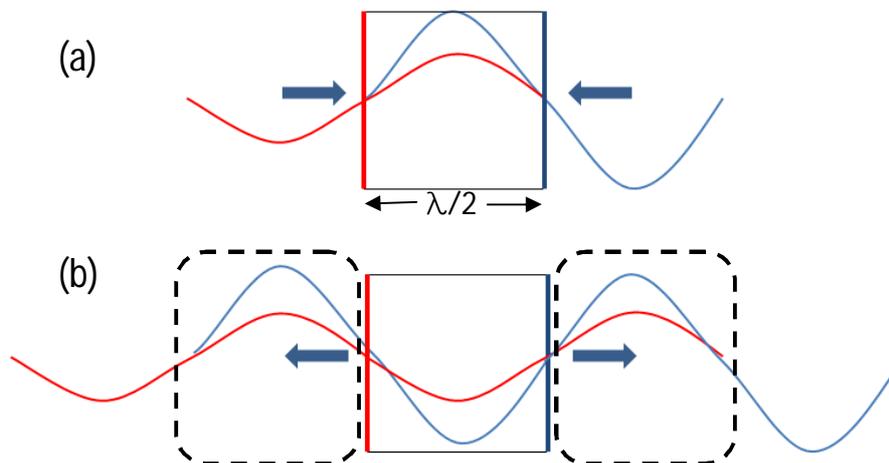
Este modelo elétrico representa a impedância elétrica real do componente quando este vibra a uma frequência perto da frequência de vibração natural ou de ressonância [47]. A partir do valor desta impedância elétrica é possível a realização da adaptação elétrica, que garante a

maior transferência de potência elétrica para o transdutor. Este conceito será abordado na seção 3.7 com maior detalhe.

### 3.5 Frequência de ressonância

A frequência de ressonância é a frequência para a qual o transdutor piezoelétrico apresenta uma resposta mais acentuada, isto é, uma conversão mais eficiente entre os diferentes tipos de energia, sendo determinada tanto pela espessura do elemento, como pela sua composição [39].

À medida que um piezoelétrico efetua um ciclo de movimentação completo desde a contração à expansão e à próxima contração, as ondas de compressão movem-se na direção do centro do cristal a partir de faces opostas do material piezoelétrico. Se a espessura deste for igual a um comprimento de onda das ondas sonoras, as compressões chegam a faces opostas quando a próxima contração começa, opondo-se à mesma. Imaginando agora a espessura igual a meio comprimento de onda, uma onda de compressão chega à face oposta do cristal quando a expansão deste está a começar. Desta forma, neste último caso, cada onda de compressão produzida na fase de contração ajuda na fase de expansão do ciclo [39]. Como se pode observar na Figura 3.7, as ondas geradas, na fase de compressão chegam à face oposta do transdutor em fase com as ondas de expansão geradas por esta.



**Figura 3.7** Em (a) a fase de compressão do transdutor e as ondas de pressão geradas; (b) fase de expansão do transdutor. As cores nas ondas e nas superfícies laterais do transdutor indicam que onda é formada por que superfície.

O mesmo resultado pode ser obtido para múltiplos ímpares de meio comprimento de onda (e.g.  $3\lambda/2$ ,  $5\lambda/2$ ). No entanto, a atenuação da onda será maior [39, 43].

Um cristal com espessura igual a meio comprimento de onda terá uma frequência de ressonância igual a:

$$v = n \frac{c}{\lambda} = n \frac{c}{2t} \quad (3.1)$$

onde  $n$  é um número inteiro ímpar que define que múltiplo ímpar de meio comprimento de onda está a ser utilizado para a espessura;  $c$  é a velocidade acústica da onda para o transdutor; e  $t$  é a espessura do material. Nesta equação a frequência de ressonância fundamental corresponderá a  $n=1$ .

### 3.6 Adaptação mecânica

Como referido anteriormente ao chegar a uma interface parte da onda sonora será refletida e parte será transmitida. A fração de onda que é refletida pode ser obtida a partir da Equação (2.6). Esta fração será tanto maior quanto maior a diferença de impedâncias acústicas dos materiais que constituem a interface. A impedância acústica pode ser obtida pela Equação (2.5).

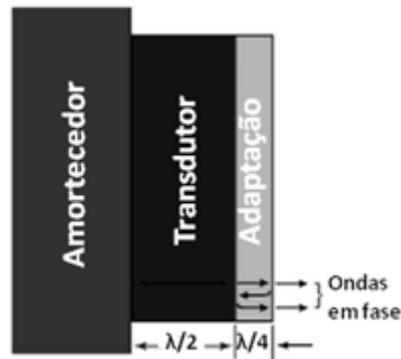
Em consequência do referido, a eficiência com que um feixe de ultrassons é transmitido de um transdutor para o meio depende de quão bem o transdutor está acoplado a esse meio. De modo a otimizar o desempenho de um transdutor e a, conseqüente transmissão das ondas sonoras geradas podem ser utilizadas uma ou mais camadas de adaptação mecânica na frente do transdutor, para que a impedância do meio de acoplamento tenha um valor intermédio entre a impedância do transdutor e do meio de transmissão [47]. Se for utilizada apenas uma camada esta deverá ter uma espessura igual a  $1/4\lambda$  na frequência desejada e uma impedância de:

$$Z_{camada\ de\ adaptação} = \sqrt{Z_{transdutor} \times Z_{meio}} \quad (3.2)$$

Na Figura 3.8 é possível ver o esquema de montagem quando é utilizada uma única camada de adaptação mecânica de espessura igual a  $\lambda/4$ . Se forem usadas duas camadas, as suas impedâncias serão [47]:

$$Z_1 = \sqrt[7]{Z_T^4 Z_L^3} \quad (3.3)$$

$$Z_2 = \sqrt[7]{Z_T Z_L^6} \quad (3.4)$$



**Figura 3.8** Esquema de montagem da camada de adaptação acústica para uma camada com espessura igual a  $\lambda/4$  (adaptado de [59]).

### 3.7 Adaptação elétrica

A adaptação elétrica é muito importante para maximizar a potência elétrica que atua o transdutor piezoelétrico [60]. Neste tipo de sistemas, que trabalham com sinais elétricos de elevada frequência, é necessário um maior cuidado no processo de caracterização e de adaptação elétrica. Enquanto nos circuitos de baixa frequência os fios utilizados para unir eletricamente os diversos componentes introduzem uma diferença nas medições de tensão e de corrente que pode ser desprezável, nos de frequências elevadas esta situação não acontece [60].

Em frequências elevadas, as medições de corrente e tensão convencionais, com recurso a voltímetros e amperímetros, tornam-se difíceis, uma vez que a localização onde estas são realizadas afeta o valor medido. O fator determinante é a magnitude de  $l/\lambda$  (onde  $l$  é a distância, a partir do gerador, onde é feita a medição e  $\lambda$  é o comprimento de onda associado ao sinal no meio de transmissão em uso) [60].

No caso de sinais com baixa frequência,  $l/\lambda$  torna-se muito pequeno, podendo os efeitos da linha ser ignorados. No entanto, quando  $l/\lambda \geq 0.01$ , é necessário ter em conta o desvio de fase associado ao atraso no tempo, a presença de sinais refletidos na linha que podem ter sido devolvidos pela carga e ainda a perda de potência associada [60].

A reflexão de ondas pode ser demonstrada com base numa tensão incidente ( $V_F$ ) e de numa corrente incidente ( $I_F$ ). Se a linha for terminada por uma carga arbitrária ( $Z_L$ ) diferente da impedância característica da linha (i.e.  $Z_L \neq Z_0$ ), a razão entre a tensão e corrente na carga é  $Z_L$ . Assim, é gerada uma onda refletida com a amplitude apropriada de modo a satisfazer a Lei de Ohm,  $V=Z \times I$  [60, 61].

A razão entre a amplitude da onda de tensão refletida e a amplitude da onda de tensão incidente na carga é conhecida como coeficiente de reflexão de tensão  $\Gamma$  [62]. Este é dado por:

$$\Gamma = \frac{V_0^-}{V_0^+} = \frac{Z_L - Z_0}{Z_L + Z_0} \quad (3.5)$$

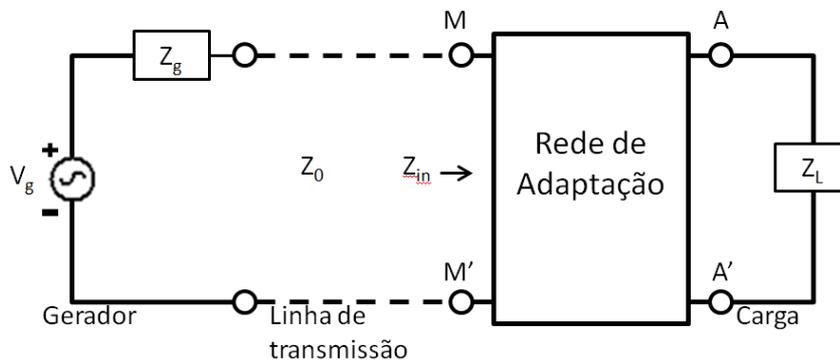
Como se pode observar,  $\Gamma$  é regido por um único parâmetro, a impedância da carga,  $Z_L$ , normalizada para a impedância característica da linha,  $Z_0$ . Apesar de  $Z_0$  ser um número real (i.e. para uma linha sem perdas),  $Z_L$  é geralmente uma quantidade complexa [62]. Como tal,  $\Gamma$  é normalmente complexo e representado por:

$$\Gamma = |\Gamma|e^{j\theta_r} \quad (3.6)$$

onde  $|\Gamma|$  é a magnitude de  $\Gamma$  e  $\theta_r$  é o seu ângulo de fase

Uma carga é dita adaptada à linha se  $Z_L = Z_0$ , uma vez que não existirá reflexão por parte da carga ( $\Gamma = V_0^- = 0$ ), sendo máxima a potência elétrica do sinal entregue à carga, partindo do pressuposto que a impedância do gerador se encontra adaptada à linha de transmissão. Para esta finalidade são utilizados circuitos de adaptação de impedâncias entre a carga e a linha de transmissão, como mostra a Figura 3.9 [62, 61].

O objetivo deste circuito é adaptar a impedância da carga,  $Z_L = R_L + jX_L$ , para a impedância característica da linha de transmissão,  $Z_0$ . Esta deve transformar a parte real da impedância da carga de  $R_L$  para  $Z_0$  em  $MM'$  e transformar a parte reativa da impedância de carga de  $X_L$  para zero, no mesmo ponto. Desta forma, são eliminadas as reflexões entre a linha de transmissão e a junção  $MM'$  quando se 'olha' do lado da linha de transmissão. Assim, assegura-se que toda a potência é entregue à carga (i.e. para uma linha sem perdas). Nestas redes devem ser utilizados condensadores e bobines de forma a evitar maiores perdas energéticas (caso fosse utilizada uma resistência) [62].



**Figura 3.9** A função da rede de adaptação é transformar a impedância de carga  $Z_L$  de tal forma que a impedância de entrada  $Z_{in}$  olhando para a rede é igual a  $Z_0$  da linha de transmissão (adaptado de [62]).

Como referido anteriormente, com o aumento da frequência de determinado sinal, as medições convencionais de tensões e correntes tornam-se difíceis, devido à variação tanto espacial como temporal do sinal. Uma representação mais adequada baseia-se no conceito de ondas incidentes, refletidas e transmitidas e é dada pela matriz de dispersão (*scattering matrix*) [60]. Nesta abordagem, a rede elétrica em estudo é considerada uma 'caixa negra' que interage com os outros circuitos através de portas.

A matriz de dispersão fornece uma descrição completa da rede em estudo, relacionando as ondas de tensão incidentes nas diferentes portas com aquelas que são refletidas pelas mesmas. Os parâmetros de dispersão, que constituem a matriz podem ser diretamente medidos pelo VNA [60].

Imaginando uma rede composta por  $N$  portas,  $V_n^+$  corresponderá à amplitude da onda de tensão incidente na porta  $n$  e  $V_n^-$  à amplitude da onda de tensão que emerge na porta  $n$ . A matriz de dispersão, ou matriz  $[S]$ , é definida através destas ondas de tensão incidentes e refletidas, da seguinte forma:

$$\begin{bmatrix} V_1^- \\ \vdots \\ V_N^- \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} S_{11} & S_{12} & \dots & S_{1N} \\ S_{21} & \dots & \dots & \vdots \\ S_{N1} & \dots & \dots & S_{NN} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} V_1^+ \\ \vdots \\ V_N^+ \end{bmatrix}$$

ou  $[V^-] = [S][V^+]$

Um elemento específico da matriz  $[S]$  pode ser determinado como

$$S_{ij} = \left. \frac{V_i^-}{V_j^+} \right|_{V_k^+ = 0 \text{ para } k \neq j} \quad (3.7)$$

Desta forma, o primeiro subscrito do "S", o  $i$ , indica a porta onde o sinal emerge enquanto o segundo, o  $j$ , corresponde à porta onde o sinal é aplicado [60]. A Figura 3.10 esquematiza os parâmetros S para um dispositivo com duas portas.

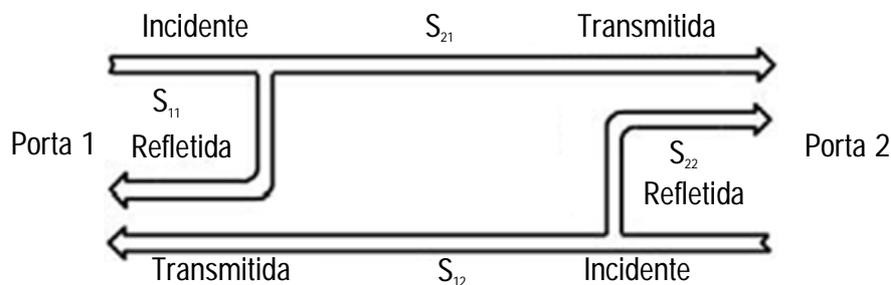


Figura 3.10 Parâmetros S num dispositivo com duas portas

As definições associadas aos vários parâmetros que constituem a matriz de dispersão apresentam-se de seguida:

$S_{11}$	Coeficiente de reflexão na entrada
$S_{22}$	Coeficiente de reflexão na saída
$S_{21}$	Coeficiente de transmissão direto
$S_{12}$	Coeficiente de transmissão reverso

O VNA consegue, por isso, processar a amplitude e fase das ondas transmitidas e refletidas da rede, permitindo o cálculo da magnitude e fase dos parâmetros S. Adicionalmente, é obtido o valor da impedância que pode ser derivada a partir dos parâmetros de dispersão obtidos [60].

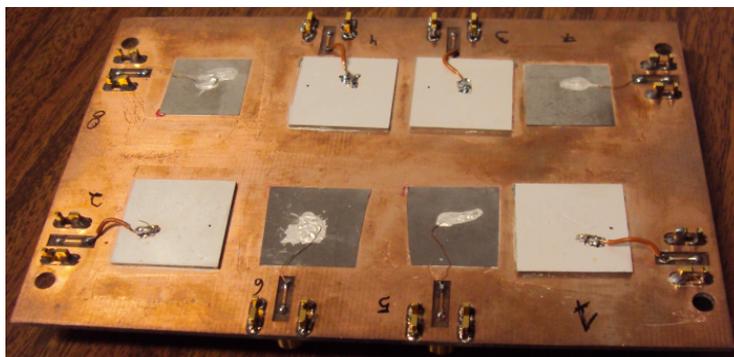
## Capítulo 4 - Sistema desenvolvido

Neste capítulo apresenta-se o sistema de atuação utilizado, tanto para os testes preliminares com equipamento comercial, como para os testes posteriores com o sistema eletrónico desenvolvido. São ainda descritas as diferentes fases de desenvolvimento do sistema, incluindo a caracterização e adaptação elétrica do sistema comercial e o desenvolvimento do sistema eletrónico de atuação.

### 4.1 Placa de circuito impresso (PCB)

A aplicação alvo deste sistema é a agitação acústica dos fluidos presentes nos poços de uma microplaca, pelo que o desenvolvimento de uma placa de suporte aos transdutores deve ter em consideração as características e dimensões da microplaca em uso.

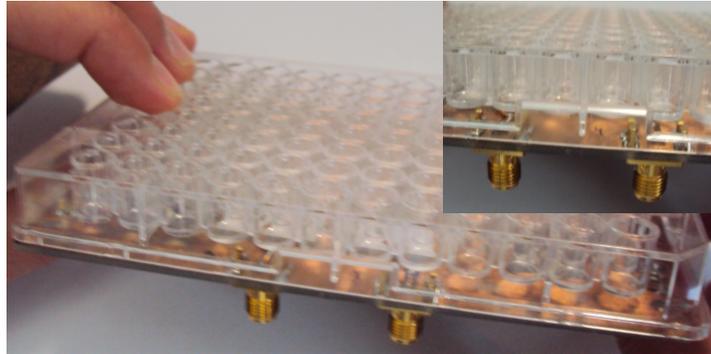
Uma das maiores preocupações demonstradas pelas várias empresas que responderam ao questionário *on-line* realizado pela *HTStec* referia-se ao facto da técnica ser ou não invasiva (ver secção 1.1.2.2). Por esta razão, é proposto um sistema que não requer o contacto direto do agente misturador, o transdutor piezoelétrico, com os fluidos a misturar. Com este objetivo foi, em primeiro lugar, desenvolvida uma placa de circuito impresso (*PCB*), com o intuito de servir de suporte aos transdutores. O contacto dos transdutores com a placa é realizado com cola de prata condutora (*Conductive Silver Paint* da *Agar Scientific*), que estabelece o contacto elétrico inferior, enquanto fios de cobre garantem o contacto superior (Figura 4.1). Deste modo, o sinal de atuação elétrico é aplicado na direção de polarização dos transdutores.



**Figura 4.1** Placa PCB desenvolvida com os transdutores, PZT (a branco) e PVDF (a cinza) colados na sua superfície.

As dimensões da placa foram escolhidas de modo a permitir o seu encaixe com a microplaca, como pode ser observado na Figura 4.2. Desta forma, é reduzido o caminho de

transmissão das ondas sonoras entre os transdutores e a microplaca, o que resulta numa menor atenuação da onda sonora e, conseqüentemente, no aumento da eficiência da agitação acústica. Foram também desenhados vários furos, de forma a permitir o encaixe perpendicular dos conectores RF (*Radio-frequency*). A placa foi desenhada recorrendo ao *software Eagle*.



**Figura 4.2** Demonstração do encaixe conseguido entre o PCB e a microplaca de 96 poços. Encontra-se realçado o encaixe efetuado entre os conectores RF e o PCB.

Nesta fase foram utilizados dois transdutores distintos, o PZT e o PVDF, como se pode observar na Figura 4.1, de modo a avaliar e comparar o desempenho de ambos. Esta avaliação, nesta fase inicial, é importante quer para a redução dos custos associados, quer para uma posterior otimização do sistema em uso, ou seja, a realização de uma nova placa com o transdutor que demonstrou melhor potencial. Assim, foram utilizados quatro transdutores de cada tipo, com dimensões de 2×2 cm, ocupando uma área equivalente a 4 poços da microplaca, sendo as suas espessuras de 110  $\mu\text{m}$  e  $\sim 1$  mm para o PVDF e o PZT, respetivamente.

### 4.2 Caracterização dos transdutores

Após a implementação dos transdutores na placa PCB, ou seja, já colados e com os vários contactos elétricos estabelecidos procedeu-se à caracterização do conjunto, recorrendo ao VNA para se obter uma caracterização mais exata do sistema pretendido.

No entanto, antes de qualquer medição com o VNA, é necessário proceder à calibração do mesmo. Este processo é importante para deslocar o plano das medições para o local adequado. Esta calibração é efetuada com recurso a três cargas padrão: curto-circuito, circuito aberto e carga de 50 Ohm (i.e., carga adaptada).

No caso do sistema desenvolvido será estudado o parâmetro  $S_{11}$ , uma vez que a análise efetuada através do VNA é baseada numa única porta, que corresponde ao ponto de ligação com o piezoelétrico. Este parâmetro permite uma melhor compreensão da quantidade do sinal

elétrico que efetivamente atua o transdutor piezoelétrico, induzida a partir da fração de sinal que é refletida pelo mesmo (secção 3.7). Além disso, é também estudada a variação da impedância com a frequência, para posteriormente se efetuar uma adequada adaptação de impedâncias entre o transdutor piezoelétrico e o sistema de atuação comercial.

As informações obtidas, isto é, o parâmetro  $S_{11}$  e a impedância do transdutor piezoelétrico, são essenciais quer para a posterior adaptação elétrica, que maximiza a transmissão de potência para o transdutor, quer para o conhecimento do comportamento do transdutor no domínio da frequência e, assim, ser definida a frequência de atuação a utilizar. Nas secções seguintes, 4.2.1 e 4.2.2, são caracterizados os transdutores PZT e PVDF, respetivamente. Posteriormente, é realizado o processo de adaptação elétrica, assim como um segundo passo de caracterização, para se verificar a melhoria introduzida com o sistema.

#### **4.2.1 PZT**

A caracterização do PZT é crucial uma vez que não são conhecidos quaisquer dados à priori relativamente a ele e, como referido na secção 3.3, de acordo com a sua composição, tanto as suas propriedades piezoelétricas como a sua própria estrutura é alterada.

Numa primeira fase, foi realizada uma análise com o VNA de forma a caracterizar os transdutores no sistema implementado. Os resultados obtidos foram tratados com recurso ao *software Ansoft Designer*. Com este, foi construído o gráfico dB ( $S_{11}$ ) (Figura 4.3) e o gráfico da variação da impedância na forma de diagrama de Smith (Figura 4.4). Ambos os gráficos são apresentados para um intervalo entre 300 kHz e 5 MHz, uma vez que foi neste intervalo que se verificaram respostas no VNA e onde é esperada a frequência de ressonância do material (i.e. considerando as características do PZT-5H), com base na expressão:

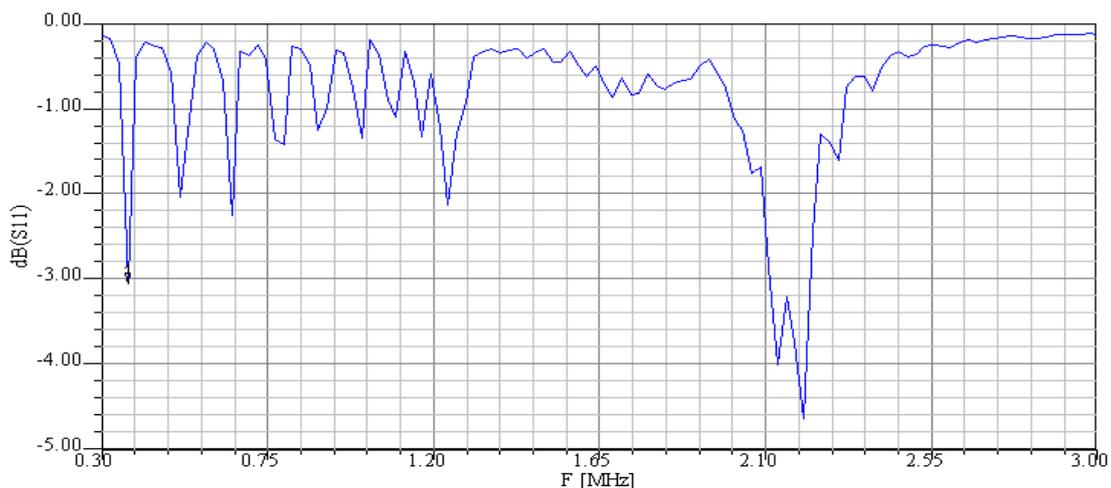
$$v = n \frac{c}{\lambda} = 1 \frac{3970}{2 \times 10^{-3}} \approx 1,99 \text{MHz}$$

Como referido na secção 3.7, o parâmetro  $S_{11}$  corresponde à razão entre o sinal que é refletido ( $V_1^-$ ) e o sinal incidente ( $V_1^+$ ) na porta 1, que corresponde, neste caso, ao ponto de ligação ao PZT. Desta forma,  $\text{dB}(S_{11})$  corresponderá a  $20\log(S_{11})$ , tendo um valor de 0 dB no caso de uma reflexão total do sinal (i.e.  $V_1^- = V_1^+$ ) e tende para  $-\infty$  com a diminuição do sinal refletido, uma vez que a razão  $V_1^-/V_1^+$  tende para zero. Como tal, quanto menor este parâmetro,

maior será a quantidade de sinal elétrico transmitida para o transdutor piezoelétrico face àquela que é refletida de volta.

Pela análise do gráfico da Figura 4.3 constata-se que existem várias frequências para as quais é verificado um pico no parâmetro  $\text{dB}(S_{11})$ . Uma destas primeiras respostas encontra-se na frequência de 377 kHz, sendo a maior verificada em torno da frequência de 2,15 MHz. Ambas as frequências serão exploradas para atuar o piezoelétrico, com vista a produzir padrões de agitação acústica. A frequência de 377 kHz foi explorada devido aos menores problemas associados com o desenvolvimento do circuito eletrónico, como a reflexão e desvio de fase do sinal.

Os resultados da caracterização (Figura 4.4) mostram que a impedância do PZT, para as frequências de interesse (i.e. 377 kHz e 2,15 MHz) difere da impedância de  $50 \Omega$ , característica do gerador comercial, dos cabos coaxiais e dos conectores usados. Como tal, é necessário recorrer ao processo de adaptação de impedâncias de modo a remover possíveis reflexões do sinal e, assim, garantir a máxima transmissão de potência elétrica para o PZT.



**Figura 4.3** Variação do parâmetro  $\text{dB}(S_{11})$  com a frequência para o PZT.

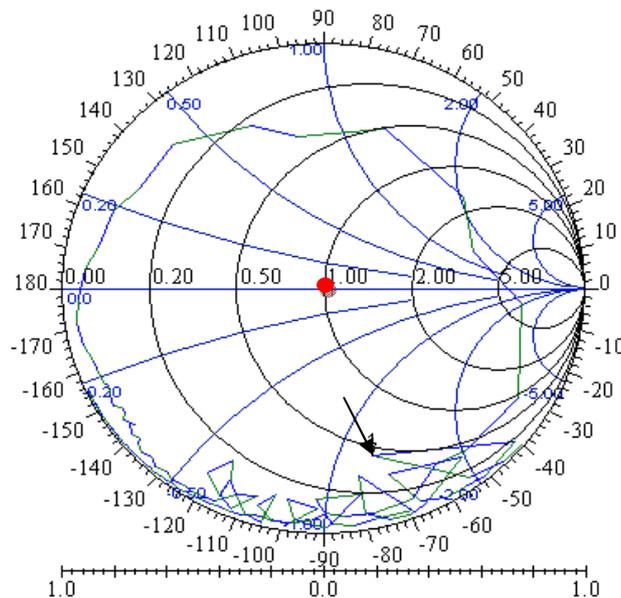
A partir do diagrama de Smith procedeu-se à adaptação das impedâncias. A melhoria introduzida pelo circuito de adaptação foi simulada e posteriormente testada.

O diagrama de Smith, apresentado na Figura 4.4, para o PZT2, é uma ferramenta auxiliar no processo de adaptação elétrica. Este corresponde a uma representação polar do coeficiente de reflexão, abordado na secção 3.7, juntamente com a sobreposição da impedância e/ou admitância. O mapeamento das impedâncias e admitâncias neste diagrama permite a realização do processo de adaptação de impedâncias de forma relativamente simples, através da adição de elementos reativos, como bobines e condensadores, em série ou paralelo. Para

informação detalhada acerca do Diagrama de Smith e a sua utilização recomenda-se a leitura de [60].

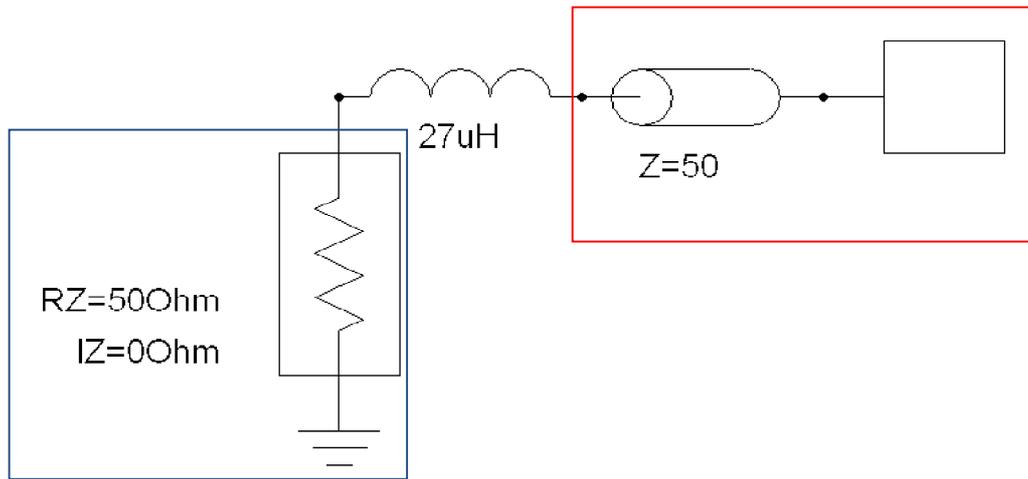
Em seguida são apresentados os resultados obtidos com a adaptação elétrica do PZT para uma frequência de 377 kHz.

Com o processo de adaptação elétrica, é esperada ver a transformação da impedância complexa do piezoelétrico, isto é,  $z=r+jx$  (representado pela seta na Figura 4.4) para a impedância característica de  $50 \Omega$ , que se localiza no centro do diagrama de Smith (representado a vermelho na Figura 4.4, localizado na interseção da linha horizontal com o círculo de resistência constante de 1), cuja impedância complexa normalizada associada é  $z=1+0$ . Desta forma, as impedâncias do gerador, cabos coaxiais, conetores e do transdutor piezoelétrico são iguais, maximizando a transmissão de potência elétrica para o transdutor.

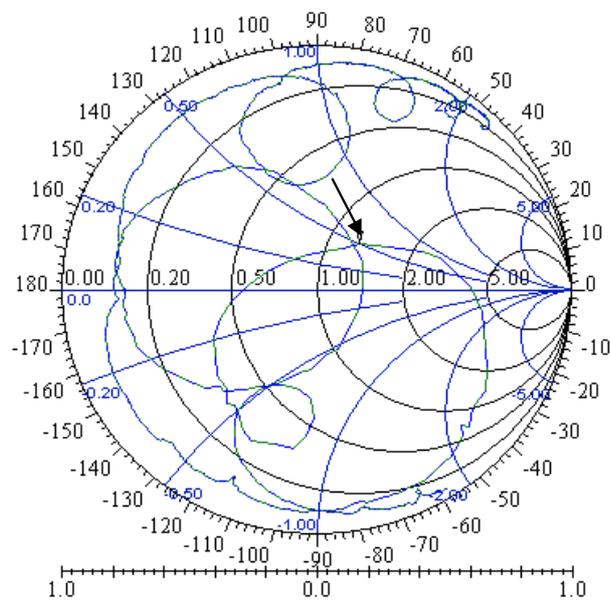


**Figura 4.4** Gráfico de Smith para o transdutor PZT, (marcador na frequência de 377 kHz).

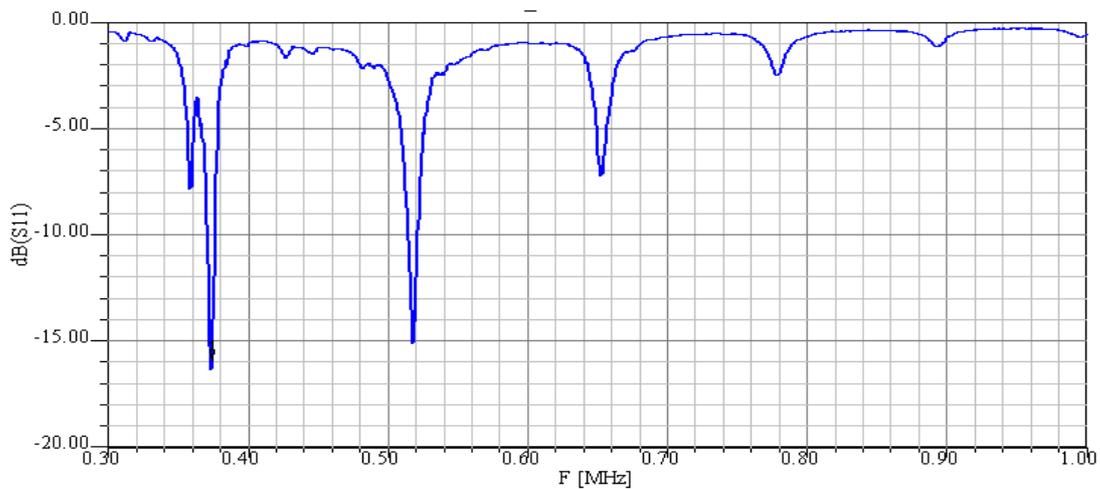
A malha de adaptação projetada, com a ajuda do *Ansoft Designer*, consistiu numa bobine em série de  $27 \mu\text{H}$ , como mostra a Figura 4.5. O novo diagrama de Smith, assim como os parâmetros dB ( $S_{11}$ ) são apresentados na Figura 4.6 e Figura 4.7, respetivamente. O intervalo de frequências escolhido foi de 300 kHz a 1 MHz, de modo a representar a zona de interesse com maior detalhe.



**Figura 4.5** Esquema de adaptação elétrica adotado para o PZT, para a frequência de 377 kHz. A vermelho encontra-se representado o conector RF utilizado, com impedância característica de 50  $\Omega$ , e o piezoelétrico. A azul é representado o gerador e cabos coaxiais com impedância características de 50  $\Omega$ .



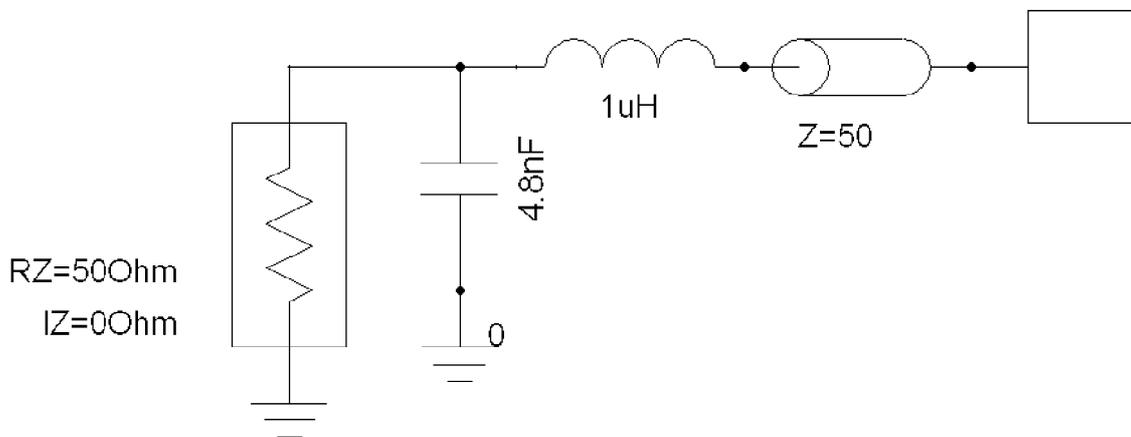
**Figura 4.6** Gráfico de Smith para o transdutor PZT, após adaptação elétrica para a frequência de 377 kHz.



**Figura 4.7** Variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT, após adaptação elétrica para a frequência de 377 kHz.

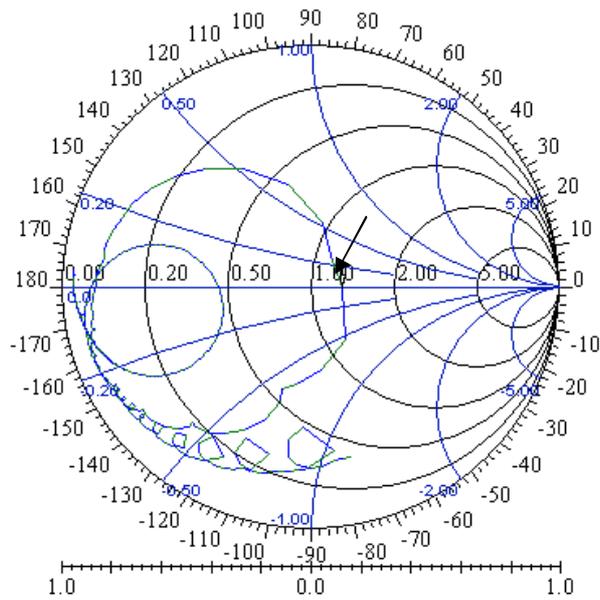
Analisando a Figura 4.7 para a frequência de 377 KHz, observa-se a melhoria introduzida com a adaptação elétrica. O parâmetro dB ( $S_{11}$ ) apresenta agora um valor próximo de -16 dB, melhoria significativa relativamente aos -2,72 dB obtidos sem qualquer adaptação elétrica. O mesmo ponto encontra-se representado no diagrama de Smith (Figura 4.6), cuja impedância associada é de  $0,962 + j0,170$ , que se localiza próxima de  $1+j0,0$ , que corresponderia a uma adaptação perfeita, ou seja, coeficiente de reflexão igual a zero.

Como referido anteriormente, é também explorada a frequência de atuação de 2,15 MHz. O circuito de adaptação elétrica utilizado, para esta frequência, é apresentado na Figura 4.8.

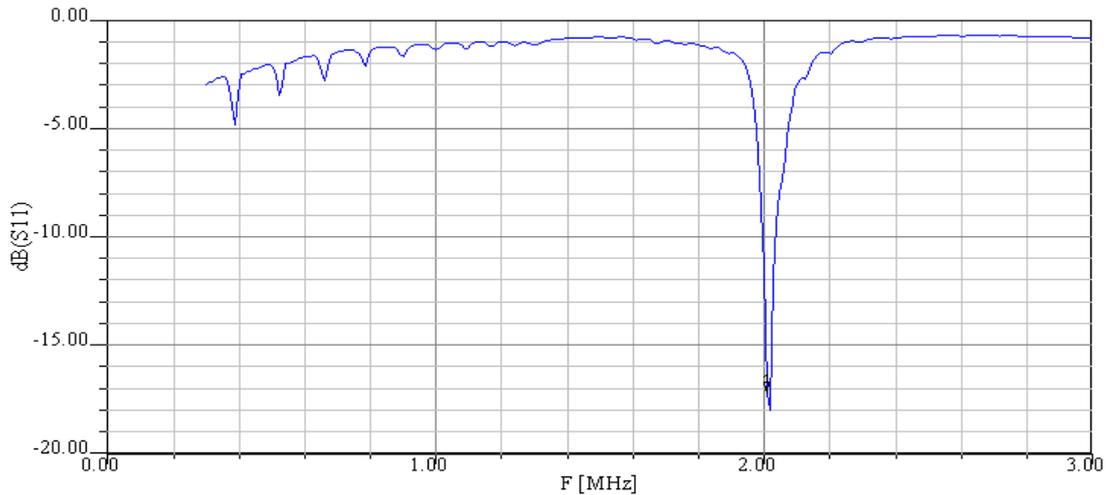


**Figura 4.8** Esquema de adaptação elétrica adotado para o PZT, para a frequência de 2,15 MHz.

Os resultados referentes à adaptação elétrica para a frequência de 2,15 MHz apresentam-se na Figura 4.9 e na Figura 4.10, onde é ilustrado o novo diagrama de Smith e a variação de dB ( $S_{11}$ ) com a frequência, respetivamente. Analisando a Figura 4.10, observa-se um desvio do pico de resposta na frequência de 2,15 MHz para 2 MHz. Este desvio fica a dever-se à adaptação elétrica implementada que se encontra limitada pelos componentes disponíveis. Como esta frequência se encontra dentro do intervalo da Figura 4.3, que apresenta uma forte resposta, o projeto foi continuado com esta adaptação. O parâmetro dB ( $S_{11}$ ) apresenta agora um valor próximo de -17 dB, em relação aos -1,21 dB verificado anteriormente (Figura 4.3). O mesmo ponto encontra-se representado no diagrama de Smith (Figura 4.9), cuja impedância associada é de  $1,138 + j0,268$ , que se localiza próxima de  $1+j0,0$ .



**Figura 4.9** Diagrama de Smith para o transdutor PZT<sub>2</sub> após adaptação elétrica (marcador na frequência de 2 MHz).



**Figura 4.10** Variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT<sub>2</sub> após adaptação elétrica, para uma frequência de 2 MHz.

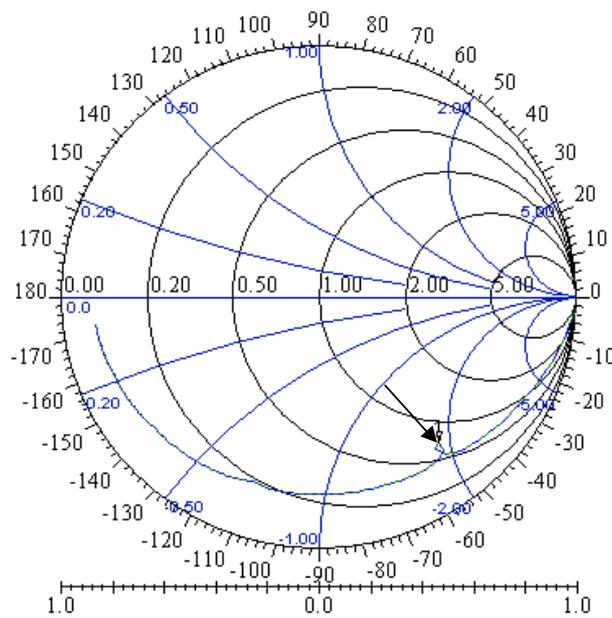
Os padrões do movimento gerados pela agitação acústica e a conseqüente intensificação do processo de mistura serão estudados para ambas as frequências de forma a realizar uma análise comparativa.

O processo de adaptação descrito anteriormente, para a frequência de 377 kHz, foi seguido nos restantes PZTs. Os vários resultados obtidos antes e após adaptação são apresentados no Anexo II. Neste, pode observar-se que o comportamento verificado para os diferentes transdutores é muito semelhante. A adaptação para os 2 MHz apenas foi realizada no PZT<sub>2</sub>, uma vez que este foi o transdutor utilizado para os testes espectralométricos que serão apresentados posteriormente.

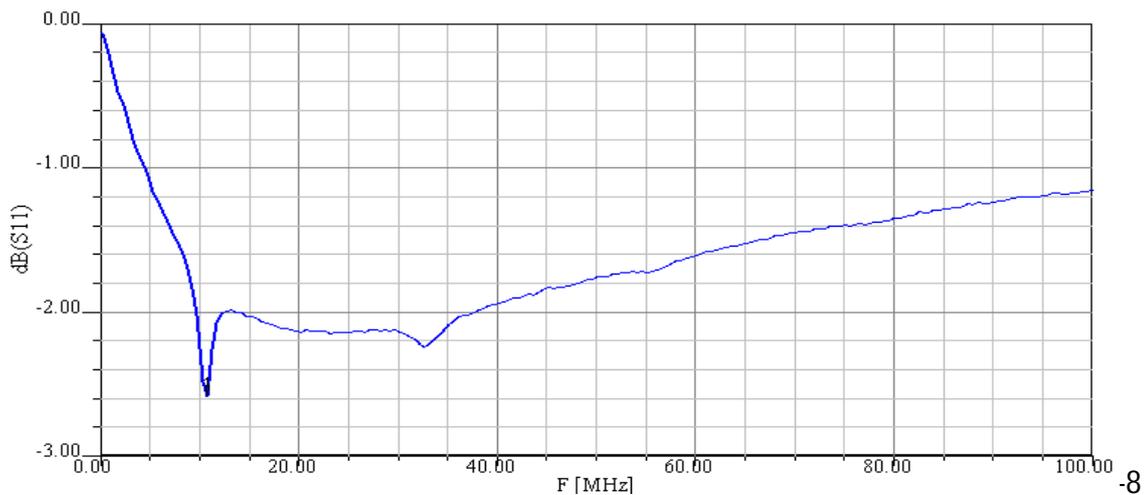
#### 4.2.2 PVDF

O procedimento efetuado foi idêntico ao do PZT. Foram obtidos os parâmetros  $S_{11}$  do sistema, assim como os valores da impedância. Na Figura 4.11 pode ser visto o gráfico de Smith obtido para o PVDF número 5 (consultar a Figura 4.1) . A variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) apresenta-se na Figura 4.12. Com este transdutor, era esperada uma frequência de ressonância em torno de 9,4 MHz, como indicada pela equação (3.1):

$$v = n \frac{c}{\lambda} = 1 \frac{2070}{2 \times 110^{-6}} \approx 9,4 \text{ MHz}$$



**Figura 4.11** Gráfico de Smith para o transdutor PVDF<sub>5</sub> (marcador na frequência de 10,77 MHz).



**Figura 4.12** Variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PVDF<sub>5</sub>.

A análise da Figura 4.12 mostra uma forte resposta do transdutor para uma frequência de 10,77 MHz, relativamente próxima da teórica, 9,4 MHz. Neste ponto, verifica-se um valor de dB ( $S_{11}$ ) igual a -2,58 dB. O mesmo ponto encontra-se representado no diagrama de Smith (Figura 4.11), cuja impedância normalizada é de  $0,724 - j1,859$ .

A malha de adaptação consistiu em duas bobinas de  $1 \mu\text{H}$ , cujo esquema de ligação encontra-se na Figura 4.13. Os resultados da adaptação elétrica são apresentados de seguida.

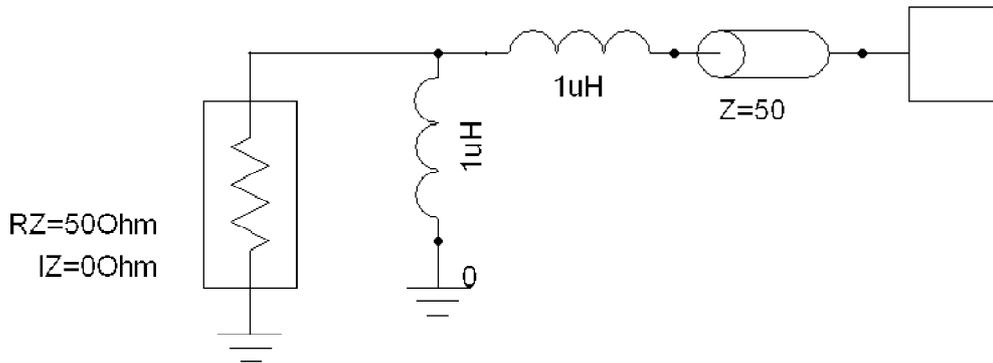


Figura 4.13 Esquema de adaptação elétrica adotado para o PVDF<sub>s</sub>.

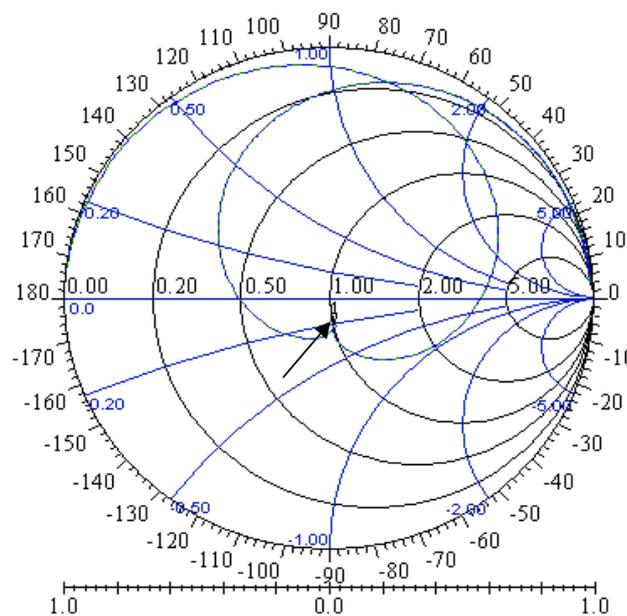
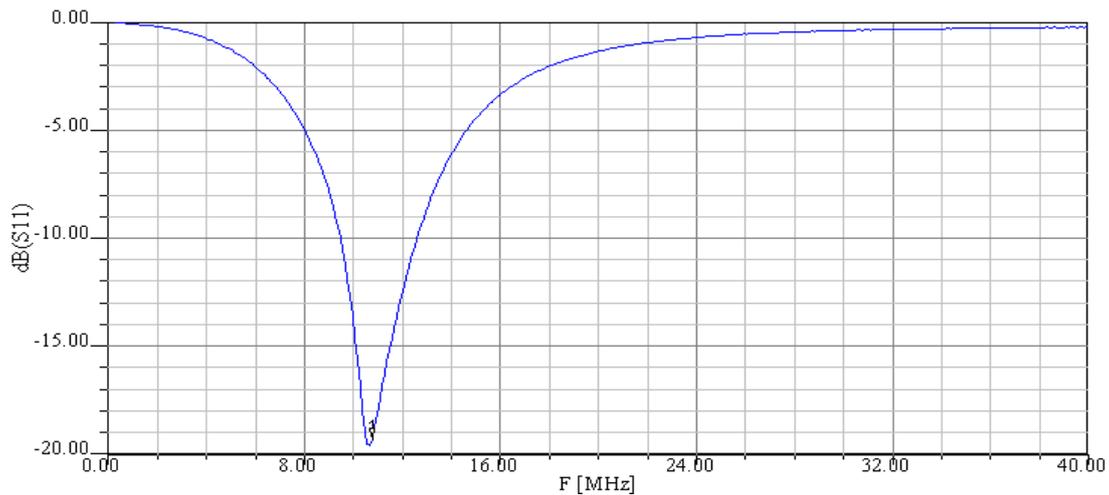


Figura 4.14 Gráfico de Smith para o transdutor PVDF<sub>s</sub> após adaptação elétrica (marcador na frequência de 10,77 MHz).



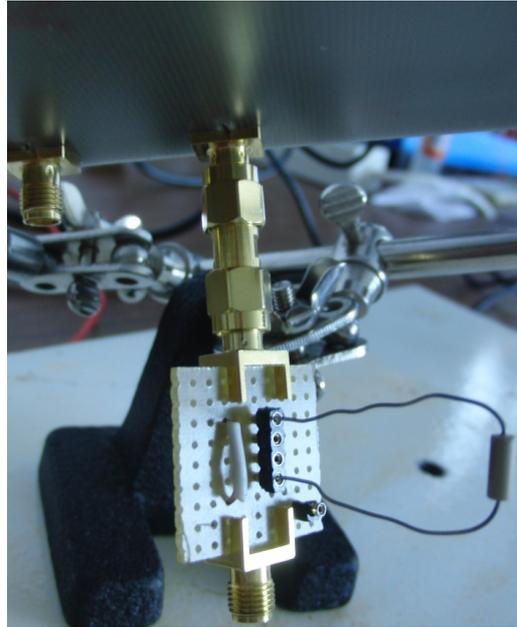
**Figura 4.15** Variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PVDF<sub>2</sub> após adaptação elétrica.

Analisando a Figura 4.15, para a frequência de 10,77 MHz, a atenuação de dB ( $S_{11}$ ) é -19,5 dB, melhoria significativa em relação aos -2,58 dB obtidos sem qualquer adaptação elétrica. O mesmo ponto encontra-se representado no diagrama de Smith (Figura 4.14), cuja impedância associada é de  $1,02 - j0,210$ , que se localiza próximo de  $1 + j0,0$ .

O processo descrito foi seguido nos restantes transdutores. Os vários resultados obtidos antes e após adaptação para o PVDF são apresentados no Anexo III. Como se observa o comportamento verificado para os restantes transdutores de PVDF é muito semelhante.

### 4.3 Instalação experimental para os testes preliminares

Após a implementação do sistema de atuação, PCB com os transdutores eletricamente adaptados em relação aos equipamentos que serão utilizados para o sinal de atuação, foi possível prosseguir com os testes preliminares de forma a poder visualizar-se qualitativamente a agitação provocada pelo sistema desenvolvido. Numa primeira fase, para provar o conceito da agitação acústica, esses testes foram realizados com equipamento laboratorial. O sistema de adaptação elétrico utilizado, assim como a sua ligação à placa observa-se na Figura 4.16.



**Figura 4.16** Sistema de adaptação elétrico utilizado para o PZT para a frequência de 377 kHz.

Na Figura 4.17 encontram-se representados os vários componentes necessários para a atuação adequada dos transdutores piezoelétricos. O gerador de sinal (*N9310A RF Signal Generator* da *Agilent*) para gerar uma onda sinusoidal com a frequência desejada, o amplificador (*Coaxial Amplifier ZHL-6A* da *Mini-Circuits*) para garantir um sinal com uma potência elétrica suficiente para a eficiente atuação dos transdutores, o sistema de adaptação elétrica, o PCB e os cabos coaxiais que estabelecem as várias ligações. Além destes componentes, é utilizado um microscópio ótico de modo a registar qualitativamente os resultados obtidos. A potência de sinal que atua o piezoelétrico é definida através da potência elétrica de saída do gerador [63] e do ganho fixo associado ao amplificador em uso.

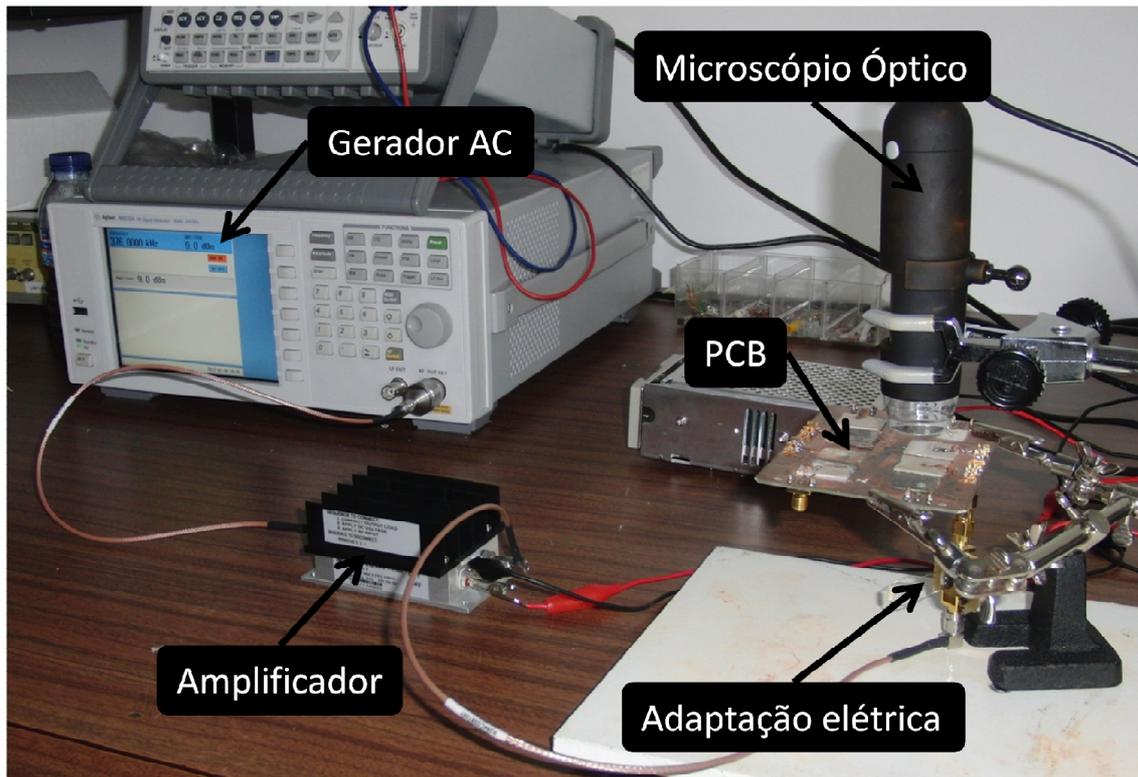


Figura 4.17 Sistema laboratorial de atuação.

## 4.4 Sistema eletrônico de atuação

Para a realização do sistema eletrônico de atuação são necessários dois componentes essenciais: um oscilador e um amplificador. Enquanto o primeiro é responsável pela criação de um sinal com a frequência desejada, o amplificador tem a função de garantir que o sinal tenha uma potência adequada para a atuação dos transdutores piezoelétricos. Os dois componentes serão abordados de seguida.

### 4.4.1 Oscilador

Um oscilador pode ser visto como um conversor de corrente contínua (fonte de tensão) numa saída de corrente alternada (onda sinusoidal). Este recorre à realimentação positiva, ou regenerativa (em fase com a entrada), de modo a criar um sinal de saída com determinada frequência [64].

O oscilador desenvolvido consiste numa topologia LC. O funcionamento base deste tipo de osciladores encontra-se na combinação de elementos reativos, ou seja, bobines ( $L$ ) e condensadores ( $C$ ). As trocas energéticas que se estabelecem entre estes elementos levam à geração de uma onda de tensão e corrente sinusoidais [64].

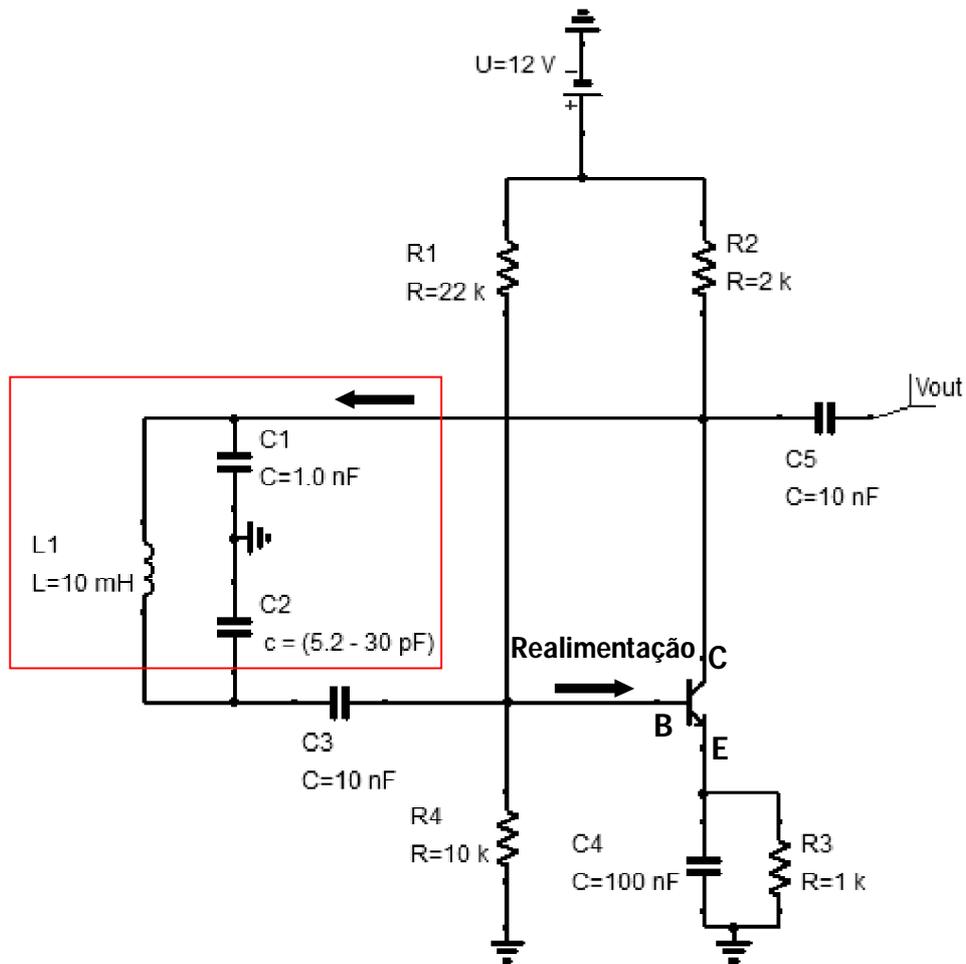
A frequência de oscilação é definida pelos valores de indutância e capacitância dos elementos que constituem o circuito LC. Contudo, devido às perdas inerentes a qualquer circuito

eletrônico ocorre um decaimento das oscilações até que estas cessam por completo. Estas perdas ficam a dever-se a fatores como: resistência real da bobine, dielétrico do condensador, radiação do circuito. De modo a manter as oscilações, a energia perdida em cada oscilação tem que ser restabelecida e a amplitude dessas oscilações deve permanecer a um nível constante. A forma mais simples de substituir a energia perdida é tirar parte da saída do circuito LC, amplificar e realimentar. De seguida é apresentado o oscilador de Colpitts, cujo principio de funcionamento é baseado na topologia LC [64].

### **4.4.1.1 Oscilador de Colpitts**

O oscilador de Colpitts ou variações deste são utilizados para gerar sinais com frequências até cerca de 1 GHz, devido, principalmente, à sua simplicidade [65]. O circuito de ressonância consiste num circuito LC ligado entre o coletor (C) e a base (B) de um transistor de modo a produzir uma onda sinusoidal de saída.

Na Figura 4.18 visualiza-se a topologia base do circuito de Colpitts utilizado para a atuação do transdutor PZT, para uma frequência de 377 kHz. Este tipo de oscilador usa um divisor de tensão capacitivo como a sua fonte de realimentação. Os dois condensadores,  $C1$  e  $C2$  são colocados através de uma bobine comum,  $L$  como mostra a Figura 4.18, de modo que  $C1$ ,  $C2$  e  $L$  formam um circuito de ressonância.



**Figura 4.18** Esquemático do oscilador de Colpitts desenvolvido. A vermelho encontra-se o circuito de realimentação, responsável pelo estabelecimento da frequência de oscilação do circuito. Neste, (B) corresponde à base do transistor, (C) ao coletor e (E) ao emissor.

Quando a alimentação é aplicada, os condensadores  $C1$  e  $C2$  carregam-se e depois descarregam-se através do bobine. A oscilação desenvolvida em  $C2$ , tensão de realimentação, é aplicada à junção BE, sendo amplificada. O sinal de saída amplificado, desenvolvido no coletor, é fornecido novamente ao circuito LC para compensar as perdas.

O desvio de fase entre a entrada do transistor, no terminal da base, e a saída deste, no coletor, é de  $180^\circ$ . O desvio de fase adicional de  $180^\circ$  necessário para os dois sinais se encontrarem em fase é conseguido através da combinação dos elementos reativos do circuito LC. Este pode ser explicado com base no circuito da Figura 4.19:

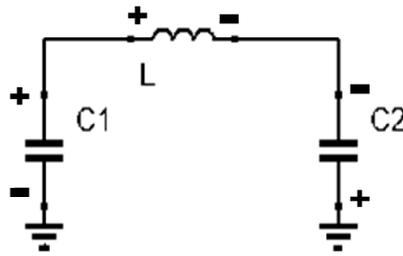


Figura 4.19 Representação do circuito LC e das polarizações envolvidas.

Neste circuito assume-se que a bobine é a fonte de tensão e que induz uma corrente no circuito. Com a polaridade demonstrada na Figura 4.19 para a bobine, a corrente produzida no circuito leva ao desenvolvimento de tensões nos condensadores com as polaridades apresentadas. As tensões de ambos os condensadores estão desfasadas em 180°. Quando a polaridade da tensão na bobine é invertida, a corrente também se inverte, assim como a polaridade da tensão em cada condensador. A tensão verificada no ponto de ligação de  $C_1$  com o coletor tem um desvio de fase de 180° com a tensão verificada no ponto de ligação de  $C_2$  com a base do transistor. Como tal, o desvio de fase total é 360°, necessário para produzir a realimentação positiva.

As resistências de  $R_1$  a  $R_4$  providenciam as condições de polarização DC necessárias para o funcionamento do transistor na zona ativa, enquanto a função dos condensadores  $C_3$  e  $C_5$  é bloquear a componente contínua do sinal. A função de  $C_4$  é fazer o *bypass* da resistência  $R_3$ .

A frequência de oscilação é determinada pela frequência de ressonância do circuito de realimentação (a vermelho na Figura 4.18), enquanto as frequências indesejadas são filtradas pela seletividade do circuito LC. A frequência de ressonância deste circuito é dada por [64]:

$$f_r = \frac{\sqrt{\frac{1}{L} \left( \frac{C_1 + C_2}{C_1 C_2} \right)}}{2\pi} \quad (4.1)$$

Consultado o gráfico de dB ( $S_{11}$ ) relativamente à frequência (Figura 4.7) é visível que é necessária uma sintonia fina do oscilador para a frequência de atuação de 377 kHz, uma vez que o pico de resposta observado tem uma largura estreita. De modo a ser conseguida esta sintonia, colocou-se um dos condensadores do circuito de realimentação é variável de modo a permitir a definição adequada dessa frequência de oscilação. Os valores escolhidos foram  $L = 10$  mH,  $C_1 = 1$  nF e  $C_2 = 5,2$  a 30 pF. Estes valores foram escolhidos através da expressão (4.1),

tendo em conta as restrições face à gama de condensadores variáveis disponíveis. A frequência de ressonância teoricamente esperada para  $L = 10\text{mH}$ ,  $C_1 = 1\text{nF}$  e  $C_2 = 18\text{pF}$  é de 378 kHz, como demonstrado por:

$$f_r = \frac{\sqrt{\frac{1}{10e^{-3}} \times \left(\frac{1e^{-9} + 18e^{-12}}{1e^{-9} \times 18e^{-12}}\right)}}{2\pi} \cong 378 \text{ kHz}$$

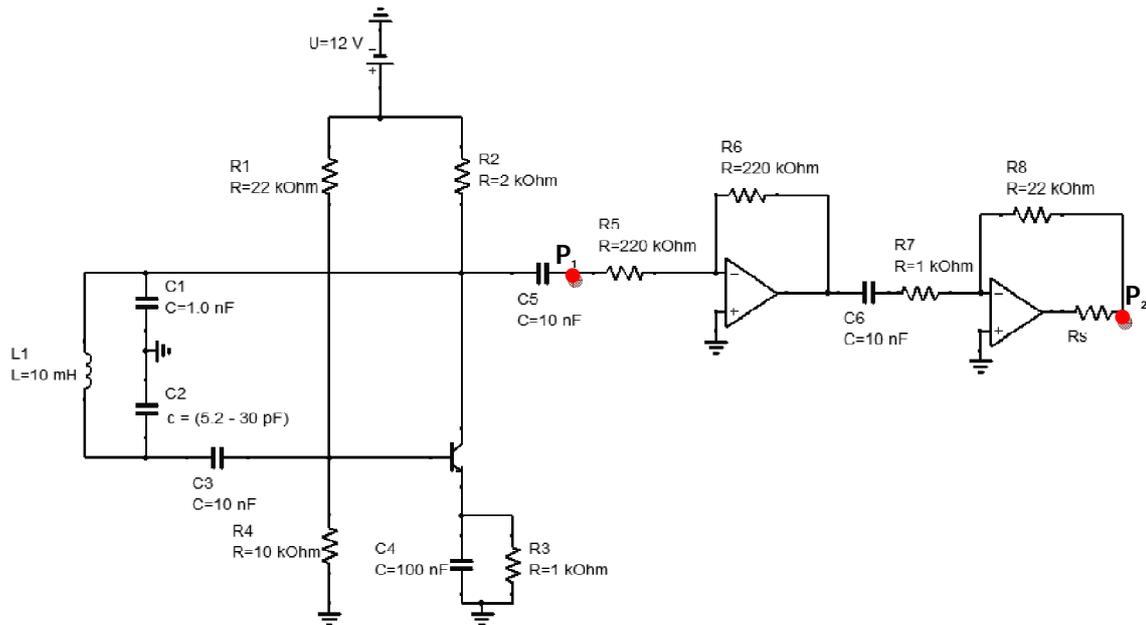
Através da sintonia do condensador variável,  $C_2$  é possível o ajustaste da frequência em torno deste valor (desde 295 kHz a 700 kHz).

#### 4.4.2 Amplificador

Uma vez que a corrente de saída do circuito anterior é baixa, quando este for ligado ao transdutor, ele não tem potência suficiente para atuar diretamente o transdutor piezoelétrico de forma eficiente, verificando-se uma elevada atenuação do sinal. Assim, foi necessário aumentar a potência elétrica do sinal, através quer do aumento da corrente, quer do aumento da tensão do sinal de saída, com recurso à amplificação do mesmo. Para tal, foram implementados dois andares de amplificação. O primeiro consiste numa montagem inversora com ganho -1, cujo principal objetivo é aumentar a potência do sinal elétrico resultante do oscilador de Colpitts, seguido de um amplificador inversor cujo ganho é definido através da resistência de realimentação, de modo a ser obtido um sinal com maior amplitude.

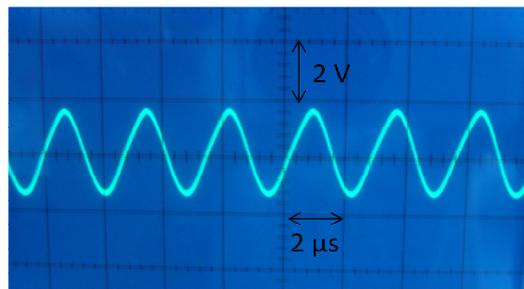
O amplificador escolhido foi o amplificador operacional HA5023, que é utilizado para sinais de elevada frequência e que tem uma largura de banda de ganho unitário de elevada (125 MHz) [66].

Na Figura 4.20 encontra-se o circuito final implementado para a atuação do PZT. A resistência  $R_S$  é utilizada com base na recomendação da *datasheet* do amplificador, para isolamento do amplificador da capacidade de carga associada ao transdutor [66]. Esta última foi estipulada em 27 ohm, como recomendado.



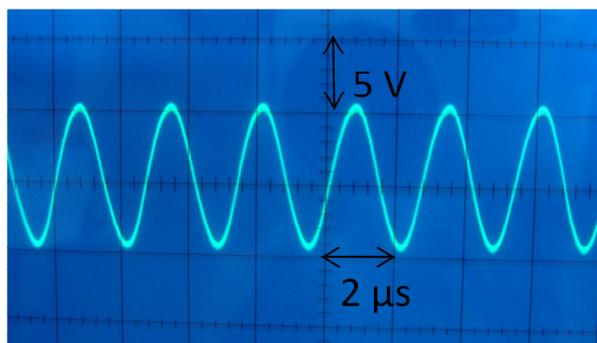
**Figura 4.20** Circuito eletrônico para atuação do PZT, para uma frequência de 377 kHz.

Na Figura 4.21 pode ser visto o sinal de saída de Colpitts, medido no ponto  $P_1$  (Figura 4.20), em circuito aberto, ou seja, sem qualquer carga em  $P_2$ .



**Figura 4.21** Sinal de saída do oscilador de Colpitts, medida no ponto  $P_1$ .

Na Figura 4.22 é apresentado o sinal à saída do circuito, medida em  $P_2$ , em circuito aberto. Como se pode observar a amplitude deste sinal é aproximadamente 10 Vpp. Quando se ligou o PZT, como carga, foi verificada uma atenuação do sinal para 8 Vpp. Independentemente do ganho atribuído no segundo amplificador, a tensão aplicada ao piezoelétrico não subia mais que 8 Vpp.



**Figura 4.22** Sinal de saída do circuito da Figura 4.20, no ponto  $P_2$ .

A atenuação do sinal referida deve-se à impedância associada ao PZT (que é baixa) e à corrente máxima de saída fornecida pelo amplificador, que não permite a obtenção de uma maior diferença de potencial.

Numa fase posterior, foi testado o amplificador AD811, cuja maior corrente de saída permite a obtenção de um sinal de atuação de 10 Vpp (com o PZT) [67]. Este amplificador foi utilizado nos testes finais do perfil de temperaturas e para o cálculo dos consumos energéticos do sistema.

#### 4.5 Reflexão nas interfaces

Como referido em 2.3 quando uma onda sonora atinge uma interface parte da onda é transmitida através dessa interface, sendo a restante refletida. A fração da onda que é refletida é dada pela Equação 2.6. Como esta equação mostra, quanto maior a diferença entre as impedâncias acústicas dos meios que constituem a interface maior será a fração de energia refletida.

As impedâncias associadas ao PZT, PVDF e poliestireno, material que constitui a microplaca, são, respetivamente, 29,75, 2,7 e 2,52 MRayl. No entanto, há outro fator importante a ter em conta. Uma vez que os poços da microplaca apresentam um fundo côncavo, existe uma camada de ar intermédia entre o transdutor e estes, mesmo estando o poço diretamente colocado sobre o transdutor, sendo que o ar apresenta uma impedância acústica característica de 0.0004 MRayl. Neste caso, as frações de reflexão associadas são:

$$\alpha_{R(PZT-AR)} = \left( \frac{0,0004 - 29,75}{0,0004 + 29,75} \right)^2 \approx 1$$

$$\alpha_{R(PVDF-AR)} = \left( \frac{0,0004 - 2,7}{0,0004 + 2,7} \right)^2 \approx 1$$

Como se pode observar este é um sério problema. Efetivamente, quando os poços, individualmente, foram colocados em contacto direto com o transdutor não foram observados quaisquer indícios de agitação acústica. Numa fase posterior e, recorrendo a um gel de ultrassons depositado entre o transdutor e o poço, foram observados padrões de movimento no fluido, o que vai de encontro à teoria.

Neste caso, para o cálculo da fração de energia refletida é necessário ter em conta as diversas interfaces com as quais o ultrassom interage. É o caso do gel, microplaca e fluido.

Uma vez que as impedâncias do gel, microplaca e fluido são baixas e relativamente semelhantes, para o cálculo da energia refletida e transmitida para a placa é apenas considerada a interface transdutor/microplaca, para efeitos ilustrativos da quantidade de sinal perdido. Na Tabela 4.1 são apresentadas as várias reflexões a que o sinal ultrassónico se encontra sujeito, com e sem gel de acoplamento.

**Tabela 4.1** Reflexão dos ultrassons nas diferentes interfaces com e sem gel de acoplamento

Transdutor	Transdutor/Ar	Transdutor/Microplaca
PZT	~1	$\left(\frac{2,52-29,75}{2,52+29,75}\right)^2 = 0,71 = 71\%$
PVDF	~1	$\left(\frac{2,52-2,7}{2,52+2,7}\right)^2 = 0,01 = 1\%$

É esperada que a utilização de uma camada de adaptação acústica, com as características ideais, leve a uma redução ainda maior na reflexão da onda sonora e, conseqüente, a um aumento na eficiência do sistema. Como referido anteriormente, no caso do PVDF os problemas associados à reflexão não são tão críticos uma vez que a sua impedância acústica é relativamente pequena, 2,7 MRayl e, assim, mais próxima das impedâncias acústicas associadas tanto ao material da microplaca como à dos fluidos. Como tal, o PVDF poderá não necessitar de camada de adaptação. No entanto, o gel, ou outro meio de acoplamento, continuará a ser necessário devido à concavidade do poço, referida anteriormente.

### 4.6 Adaptação Mecânica

É necessário ter em conta que apesar da camada composta por gel de ultrassons melhorar a eficiência das ondas sonoras transmitidas, esta não é a camada ideal, uma vez que tem uma impedância característica de cerca de 2 MRayl e a sua espessura foi escolhida de forma a preencher o vazio do fundo do poço, não sendo por isso dimensionada essa espessura. No entanto, uma vez que a impedância do gel de ultrassons e do PVDF é semelhante, a espessura desta camada não é preocupante, basta garantir que a camada de ar é eliminada.

A camada de adaptação acústica ideal deve ter uma espessura igual a  $1/4\lambda$  na frequência desejada e uma impedância acústica de:

$$Z_{\text{meio acoplamento PZT}} = \sqrt{29,75 \times 2,52} \approx 8,7 \text{ MRayl}$$

$$Z_{\text{meio acoplamento PVDF}} = \sqrt{2,7 \times 2,52} \approx 2,6 \text{ MRayl}$$

No caso do PZT, a impedância ideal da camada de adaptação acústica seria de 8,7 MRayl. No entanto, pode não ser fácil de desenvolver uma camada com esta impedância e com a espessura desejada.

Uma solução explorada foi a combinação de *epoxy* com elementos cerâmicos. Os valores descritos na literatura apresentam valores de impedância acústica numa gama de 2,8 a 11,3 MRayl, o que engloba o valor de interesse nesta aplicação [43, 68].

Tendo em conta os materiais disponíveis para a implementação de uma camada de adaptação utilizou-se o Titanato de Bário (*Nanostructured & Amorphous Material, Inc.*) e a resina fotossensível SU-8 como *epoxy*. A camada de adaptação foi depositada, por *sputtering* numa área localizada de um dos PZTs (Figura 4.3), por colegas do grupo. Uma vez que este processo nunca tinha sido realizado não foi possível impor uma espessura adequada para a camada depositada. Foi utilizada uma razão de 10% entre o SU-8 e o BaTiO<sub>3</sub>, isto é, por cada grama de SU-8 foram utilizadas 0,1 g de BaTiO<sub>3</sub>. Como se pode constatar pela Figura 4.23 a camada resultante tem uma distribuição não uniforme e a superfície é irregular. Consequentemente, a camada de adaptação realizada pode não obter os resultados esperados, ou seja, pode não obter uma melhoria significativa na transmissão das ondas sonoras para os fluidos dos poços da microplaca, uma vez que continua a existir ar entre o transdutor e o poço, o que obriga à utilização de gel de ultrassons. Para além disso, a impedância acústica da camada de adaptação fabricada não é conhecida.

No entanto, é esperada que esta combinação resulte numa camada com impedância acústica superior à verificada pelo material que constitui a placa (i.e. 2,52 MRayl) e, como tal, melhore a transmissão das ondas acústicas entre transdutor e gel/placa, uma vez que reduz a diferença acentuada de impedâncias acústica verificadas entre estes.



**Figura 4.23** Diferentes perspetivas da camada de adaptação mecânica depositada por *sputtering*. Esta é composta por SU-8 com Titanato de Bário.



## Capítulo 5 - Resultados obtidos na mistura de fluidos e sua discussão

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos nos diferentes testes realizados. Numa primeira fase, é analisado qualitativamente o processo de mistura de dois líquidos, tanto na superfície do transdutor como nos poços da microplaca, com o intuito de provar o conceito da agitação acústica como técnica de intensificação de misturas. Numa fase posterior, são realizados testes espectrofotométricos para uma análise quantitativa da melhoria introduzida com esta agitação acústica. Por fim, é feita uma monitorização da temperatura, tanto na superfície dos transdutores como nos fluidos presentes nos poços da microplaca.

### 5.1 Resultados observados

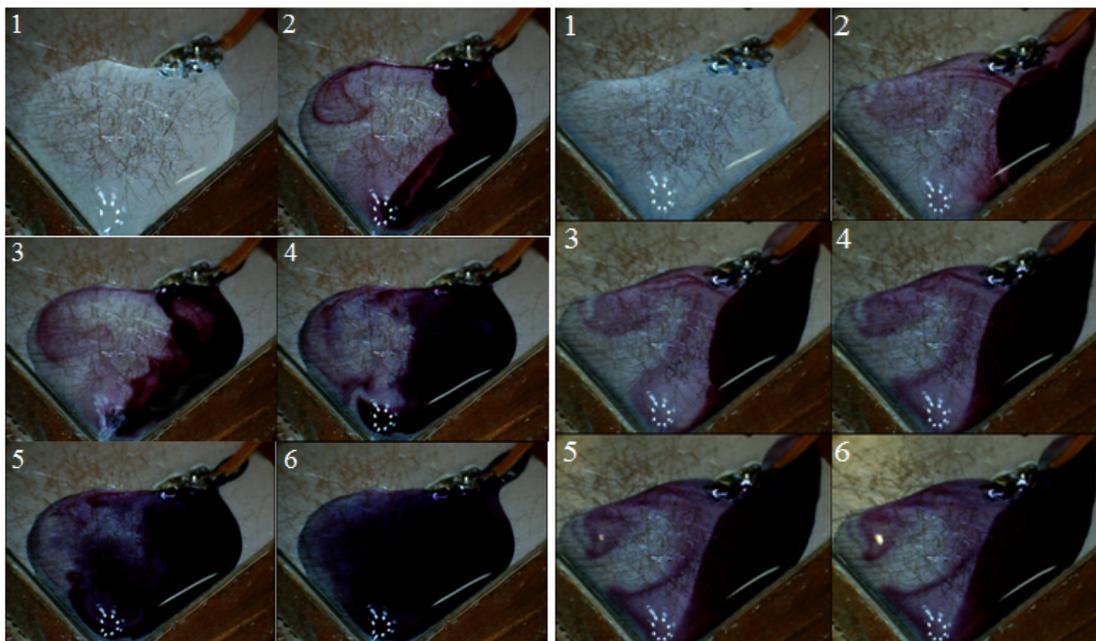
Para provar o conceito da agitação acústica realizam-se, inicialmente, testes qualitativos, nos quais se pretende verificar, visualmente, o movimento criado no fluido devido à ação das ondas ultrassónicas. Estes testes preliminares foram realizados diretamente na superfície do transdutor.

Na Figura 5.1 ilustra-se a mistura realizada entre água e um corante roxo (*Calcium Arsenazo* da *Beckman Coulter*) com e sem a ação de ultrassons. Esta mistura foi efetuada diretamente na superfície de um dos PZTs, para uma frequência de 377 kHz e um sinal de saída do gerador de 9 dBm. Uma vez que o amplificador utilizado tem um ganho fixo de aproximadamente 25 dB na frequência utilizada, o sinal de atuação fornecido pelo sistema laboratorial, isto é, gerador mais amplificador, é de cerca de 34 dBm (i.e. 2,5 W).

Pela análise da Figura 5.1 constata-se que a diferença na velocidade do processo de mistura com e sem a utilização de ondas sonoras é significativa. A imagem 3 à esquerda da Figura 5.1 corresponde ao exato momento de atuação do PZT. Após este, a taxa de mistura é claramente acelerada, tornando-se homogénea 17 segundos depois. Na imagem da direita o PZT não é atuado e a mistura processa-se a uma velocidade significativamente mais lenta. A última imagem apresentada, imagem 6, mostra a mistura 50 segundos após a colocação do corante, onde se observa que a homogeneidade da solução ainda não foi conseguida.

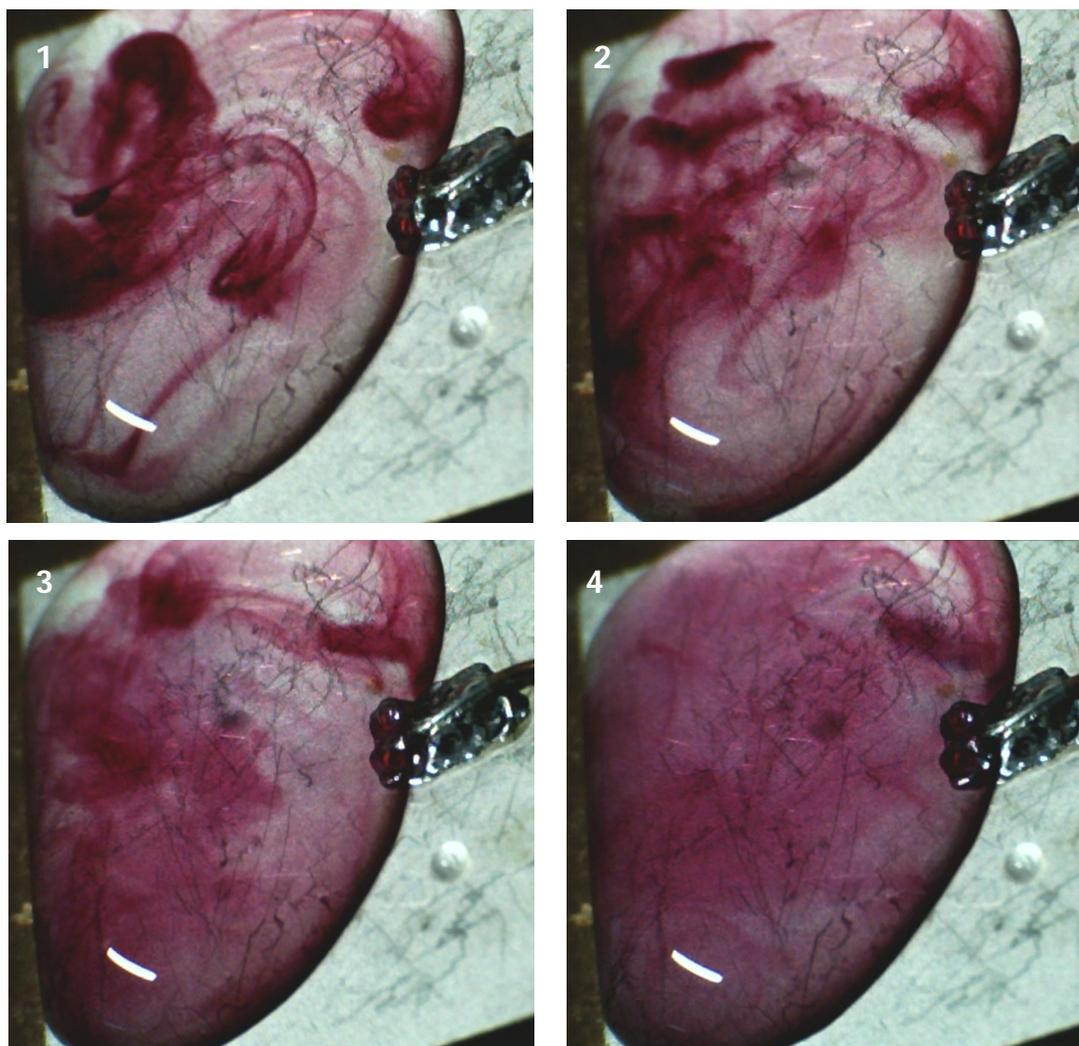
A experiência realizada permite comprovar dois importantes factos: a agitação acústica criada pela absorção dos ultrassons pode aumentar a rapidez do processo de mistura; e a

frequência de atuação escolhida, de 377 kHz para o sinal de excitação do PZT mostra bons resultados para a aplicação em vista.



**Figura 5.1** Avaliação experimental da mistura entre água e um agente corante, quando os fluidos são colocados imediatamente acima da superfície do transdutor PZT, para a frequência de 377 kHz. À esquerda é usada agitação acústica e os momentos das imagens são: (1) antes de ser adicionado o corante; (2) imediatamente após a adição do corante; (3) PZT é ligado; (4) 6 s após ligar; (5) 9 s; (6) 17 s. À direita não é utilizada agitação e os tempos são: (1) antes de ser adicionado o corante; (2) imediatamente após a adição do corante; (3) 10 s após ser adicionado; (4) 30 s; (5) 40 s; (6) 50 s.

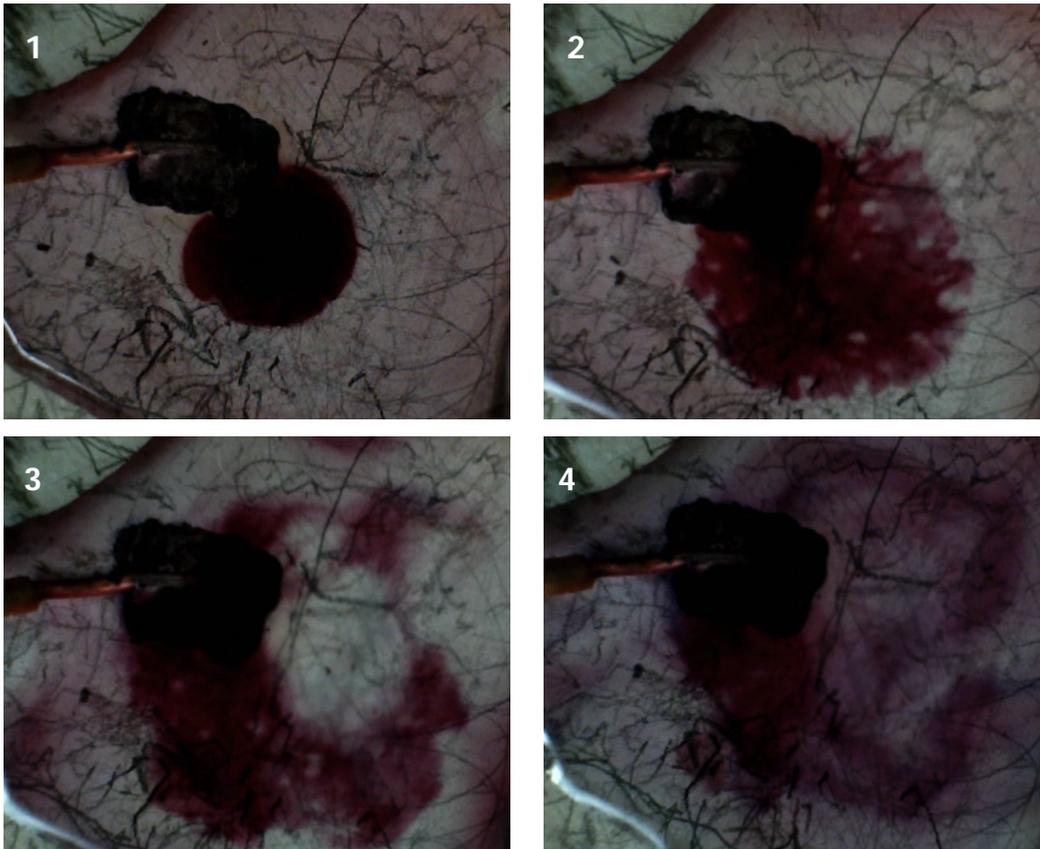
O teste é repetido com o sistema eletrônico desenvolvido, para um sinal de atuação de 8 Vpp. Na Figura 5.2 podem ser visualizados os padrões de agitação acústica criada. Os reagentes utilizados foram os mesmos descritos anteriormente. Como se pode observar o sistema eletrônico atua de forma eficiente o PZT, sendo obtida uma grande melhoria do processo de mistura, melhoria esta comparável à obtida na Figura 5.1. A partir do momento em que o PZT é atuado, imagem 1 da Figura 5.2, a mistura é realizada em poucos segundos. Como se pode observar pela imagem 4, correspondente a um tempo de 7 segundos após a atuação do PZT, a mistura já se encontra próximo da homogeneidade.



**Figura 5.2** Vibração gerada na mistura realizada na superfície dos transdutores, quando atuados pelo sistema eletrônico de atuação desenvolvido para 377 kHz, com um sinal de 8 Vpp. Em (1) atuação do PZT; (2) 3 segundos depois; (3) 5 segundos depois; (4) 7 segundos depois.

Como referido na secção 4.2.1 foi também explorada a possibilidade da utilização de uma frequência de atuação do PZT de 2 MHz. Na Figura 5.3 podem ser vistos os fluxos de agitação acústica criados quando o PZT é atuado pelo sistema comercial, com uma potência de 34 dBm. A imagem 2 mostra o momento em que o PZT é atuado. O efeito da agitação acústica torna-se claro nos momentos subsequentes, 3 e 4.

Com base na visualização dos resultados obtidos para o PZT pode concluir-se que ambas as frequências permitem a criação de fluxos no fluido, intensificando assim o processo de mistura. Numa fase posterior o desempenho do transdutor nestas frequências será comparado através de análises espectrofotométricas.



**Figura 5.3** Fluxos gerados na superfície do transdutor de PZT quando excitado pelo sistema comercial por um sinal de 2 MHz e 34 dBm. Em: (1) espalhamento do corante antes do PZT ser atuado; (2) atuação do PZT; (3) 3 segundos depois (4) 6 segundos depois.

A mistura realizada nos testes do PVDF foi diferente. Para estes, foi utilizada água juntamente com partículas fluorescentes (*Fluospheres polystyrene microspheres* da *Invitrogen*), uma vez que os efeitos de agitação criados não eram perceptíveis com a mistura previamente utilizada. Adicionalmente, foi utilizado outro amplificador que possibilita um ganho mais elevado (*Coaxial High Power Amplifier ZHL-20W-13+* da *Mini-Circuits*).

Os resultados obtidos para o PVDF não são apresentados na tese uma vez que a percepção, através de fotografias, do movimento criado devido à agitação acústica, é perdida. Apesar de terem sido verificados padrões de agitação acústica, estes não foram tão acentuados como os observados com o PZT, devido à menor resposta piezoelétrica. Em [PVDF 34.2 dBm.wmv](#), encontra-se um vídeo da agitação criada pelo PVDF, para um sinal com uma frequência de 10,77 MHz e com uma potência de 34.2 dBm. Foi também verificado que a partir de um sinal de atuação de 36,2 dBm o transdutor sofria uma deformação permanente na sua conformação, pelo que a potência utilizada para atuar o PVDF deve ser menor que esta.

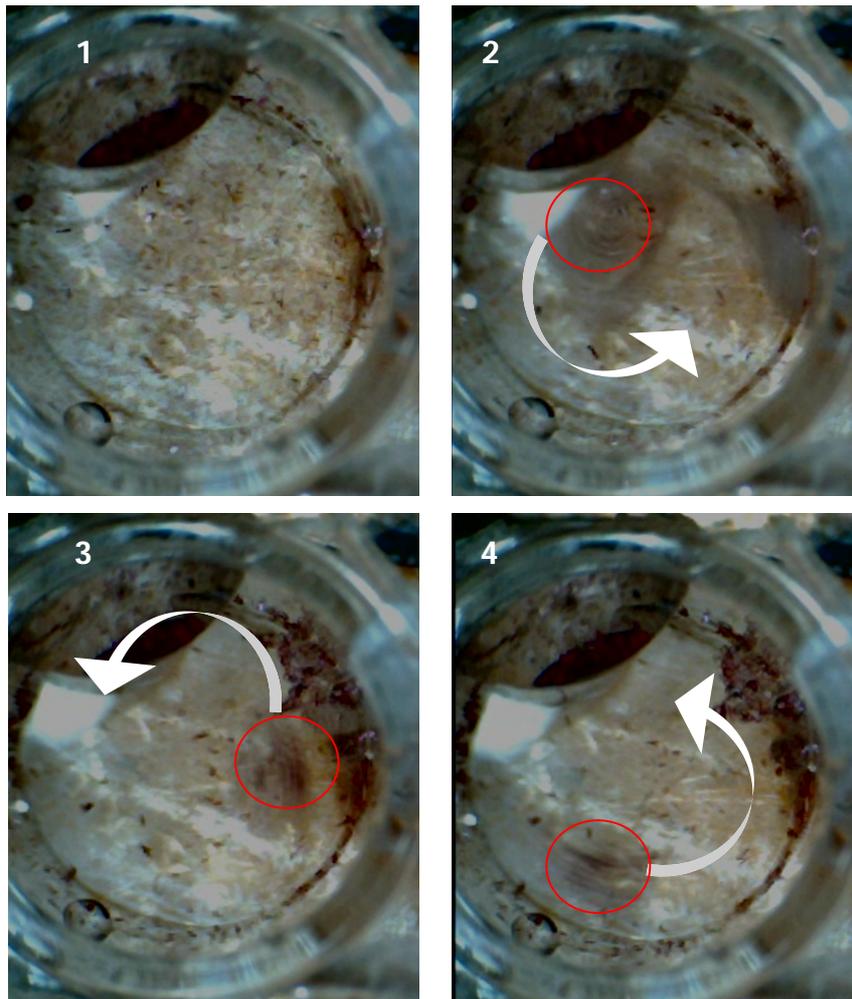
É importante referir, nesta fase, que dependendo da localização e distribuição da gota na superfície do transdutor, os efeitos da agitação acústica variavam de forma significativa. A razão

para tal não é, nesta fase, compreendida e serão necessárias simulações e/ou testes práticos para a total compreensão do fenómeno.

O trabalho prosseguiu com testes em fluidos presentes nos poços, previamente separados da microplaca, e colocados sob o transdutor piezoelétrico. No entanto, nesta fase algumas considerações são importantes. Em primeiro lugar, quando se iniciaram os testes na microplaca não foram observados quaisquer efeitos aparentes de agitação acústica nos fluidos presentes nos poços. A razão para tal pode ser explicada pela concavidade existente no fundo do poço, o que leva à existência de uma camada de ar intermédia entre o transdutor e a microplaca. Como realçado na secção 4.5 a existência desta camada leva à reflexão quase total do sinal acústico. Em segundo lugar, para os testes posteriores apenas foi utilizado o transdutor PZT, uma vez que a agitação acústica gerada pelo PVDF foi extremamente reduzida aquando do teste na superfície do transdutor e, apenas conseguida quando foram utilizadas maiores potências de atuação.

Numa segunda fase, recorrendo ao gel de ultrassons, como camada intermediária, puderam ser observados efeitos da agitação acústica. Os efeitos visualizados são, no entanto, muito menos acentuados que os verificados na superfície dos transdutores, o que era expectável, e pode ser justificado pela desadaptação existente entre as impedâncias acústicas do PZT e do gel/placa de ultrassons, como apresentado na secção 4.6. Posteriormente, é explorada a utilização da camada de adaptação descrita na secção 4.6 e os resultados obtidos serão discutidos na secção 5.4.

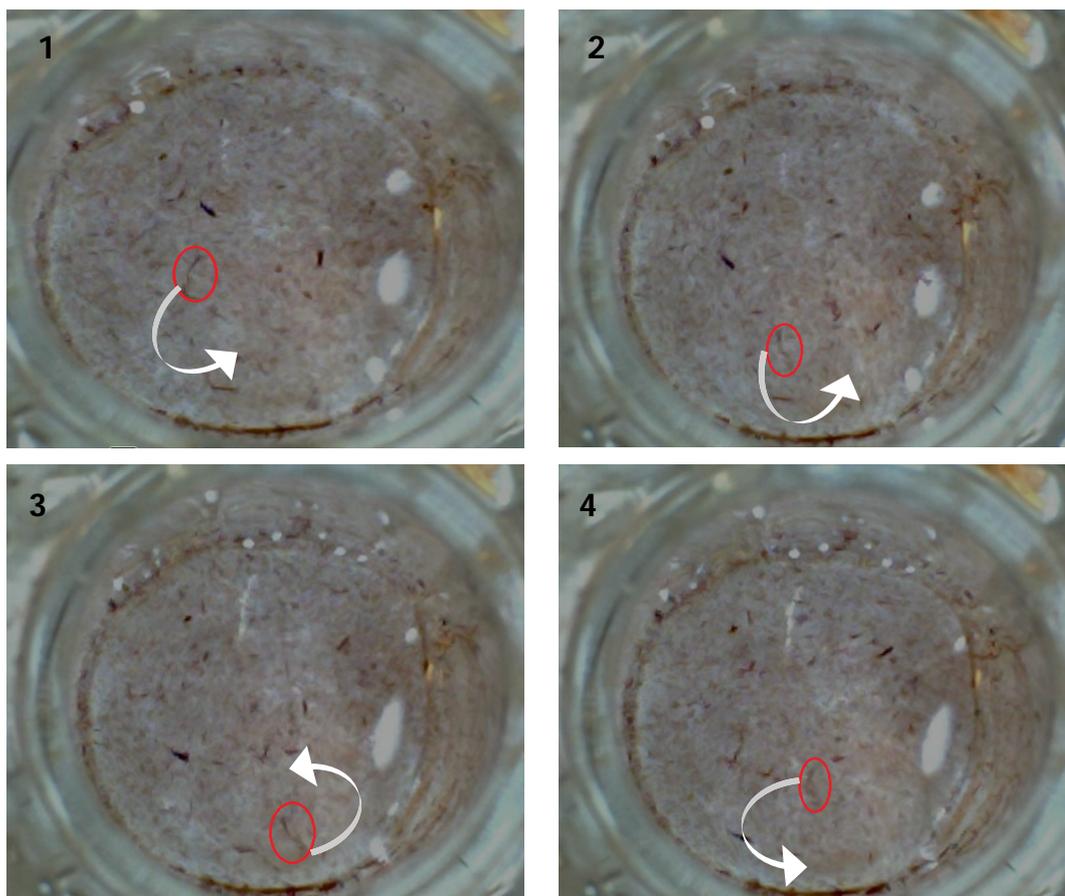
Na Figura 5.4 observam-se os efeitos da agitação acústica quanto é utilizado um sinal de atuação de 34 dBm e uma frequência de 377 kHz. Neste caso, a mistura realizada consistiu em água e partículas vermelhas suspensas na solução (partículas da *Sigma-ALDRICH*). A vermelho na Figura 5.4 realça-se um aglomerado de partículas e através de setas é retratado o movimento verificado por estas. Como demonstrado, forma-se uma espécie de redemoinho dentro do poço, sendo esperado que este movimento resulte numa intensificação do processo de mistura.



**Figura 5.4** Agitação acústica criada por um sinal de atuação de 34 dBm com frequência de 377 kHz. É seguido um aglomerado de partículas para fins ilustrativos. Em: (1) sem atuação; (2) (3) e (4) momentos subsequentes após atuação do PZT.

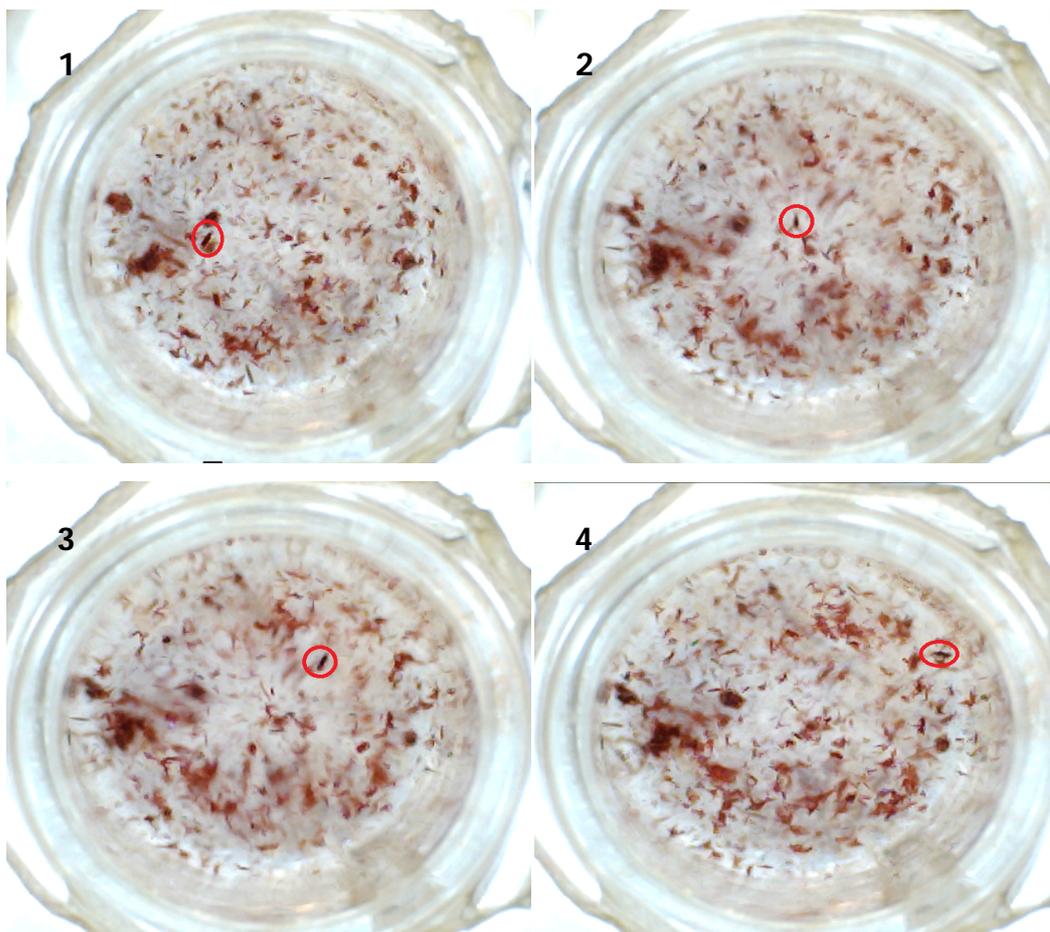
A Figura 5.5 mostra a agitação acústica gerada pela atuação do PZT com o sistema eletrónico desenvolvido. Como anteriormente, foi necessária a utilização de gel de ultrassons. Com o intuito de demonstrar o padrão de movimento gerado realçou-se o movimento de uma partícula de maiores dimensões (círculo vermelho).

As setas da Figura 5.5 mostram o movimento seguido por esta partícula que, como se pode observar, foi semelhante ao obtido anteriormente.



**Figura 5.5** Movimento criado pelo sistema eletrônico de atuação desenvolvido com um sinal de atuação de 8 Vpp e frequência de 377 kHz. É seguida uma partícula de maiores dimensões para fins ilustrativos. Em (1) antes do PZT ser atuado; (2) (3) e (4) momentos subsequentes após atuação do PZT.

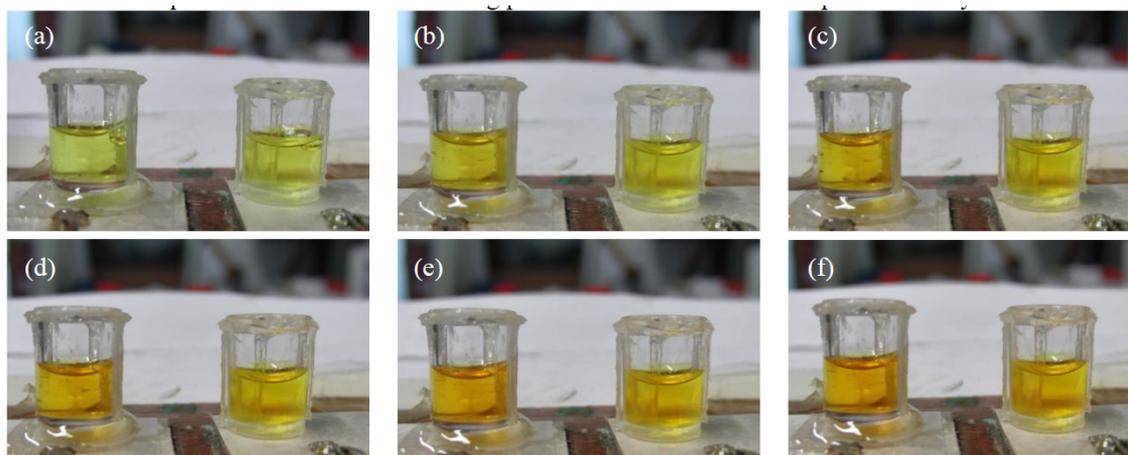
Para fins comparativos, foram visualizados os padrões de agitação acústica gerados pela atuação do PZT, com o sistema comercial, para um sinal de atuação com frequência de 2 MHz e 34 dBm. Estes resultados encontram-se na Figura 5.6. Com o intuito de demonstrar o padrão de movimento gerado foi realçado o movimento de uma partícula de maiores dimensões (círculo vermelho). Neste caso, verifica-se visualmente o movimento das partículas, mas estes movimentos aparentavam ser aleatórios, não seguindo assim o movimento rotacional anteriormente verificado. Além disso, o efeito do ultrassom, isto é, a agitação acústica visualizada, não foi tão acentuada como a verificada para a frequência de 377 kHz, o que pode levar a concluir que a frequência de 377 kHz poderá ser a mais adequada para uma mistura mais eficiente nesta aplicação específica. No entanto, esta análise é baseada apenas na visualização dos padrões gerados e é, como tal, subjetiva. Posteriormente, serão realizados testes espectrofotométricos para ser obtida uma análise mais concreta da melhoria introduzida com a agitação acústica para as duas frequências de atuação distintas.



**Figura 5.6** Agitação acústica criada por um sinal de atuação de 34 dBm com frequência de 2 MHz. É seguida uma partícula de maiores dimensões para fins ilustrativos. Em: (1) sem atuação; (2) (3) e (4) momentos subsequentes após atuação do PZT.

Na Figura 5.7 apresenta-se a evolução de uma reação colorimétrica com e sem agitação acústica. A reação processa-se da seguinte forma: adição de Urine Chemistry 2 (*Microgenics Corporation*) seguida de CREA R1 (*Beckman Coulter*), H<sub>2</sub>O e finalmente CREA R2 (*Beckman Coulter*).

A mistura presente no poço da esquerda é sujeita a agitação acústica, através do PZT atuado com o sistema eletrónico desenvolvido, para a frequência de 377 kHz. No poço da direita a reação segue a sua evolução normal. A reação utilizada tem uma cor amarelada inicial, evoluindo, com o tempo, para um tom mais alaranjado. Como perceptível na Figura 5.7, a reação no poço da esquerda processa-se mais rapidamente, uma vez que adquire um tom mais alaranjado num tempo menor.



**Figura 5.7** Mistura de Controlo de Urina ( $3 \mu\text{L}$ ) + Creatinine R1 ( $50 \mu\text{L}$ ) + H<sub>2</sub>O ( $40 \mu\text{L}$ ) + Creatinine R2 ( $50 \mu\text{L}$ ), onde o transdutor da esquerda é atuado enquanto o da esquerda é mantido desligado, nos tempos (a) 0 s; (b) 2 min; (c) 4 min; (d) 6 min; (e) 8 min; (f) 10 min.

## 5.2 Análise espectrofotométrica

Nesta fase foram realizados testes quantitativos baseados numa análise espectrofotométrica. Apesar da reação utilizada ser a mesma que a apresentada na Figura 5.7, as quantidades desta foram modificadas, de modo a ser obtido um total enchimento do poço, de forma a possibilitar as medições espectrofotométricas. Nesta, as quantidades de reagentes utilizadas foram:  $7 \mu\text{L}$  de Controlo de Urina,  $70 \mu\text{L}$  de Creatinine R1,  $56 \mu\text{L}$  de H<sub>2</sub>O e  $70 \mu\text{L}$  de Creatinine R2. Numa primeira fase, foi determinado o comprimento de onda adequado para efetuar as medições óticas do reagente utilizado, ou seja, o comprimento de onda para o qual se verifica uma maior sensibilidade de deteção do reagente responsável pela reação colorimétrica. Analisando o espectro de absorvência desta reação, no fim do tempo estabelecido para a mesma (i.e. 10 minutos), determinou-se um comprimento de onda de  $490 \text{ nm}$ .

Recorrendo depois à montagem da Figura 5.8, constituído por um fotodetector e por um LED com pico de emissão nos  $501 \text{ nm}$  (perto dos  $490 \text{ nm}$ ), estudou-se a evolução da reação ao longo do tempo, concretamente da absorvência no comprimento de onda determinado anteriormente.

Uma vez que esta mistura é colorimétrica e *endpoint*, é esperado que a absorvência, no comprimento de onda em questão, aumente até atingir um estado de equilíbrio, ou seja, quando terminada a reação. Com a utilização do transdutor piezoelétrico, espera-se que o tempo necessário para esse estado seja menor.

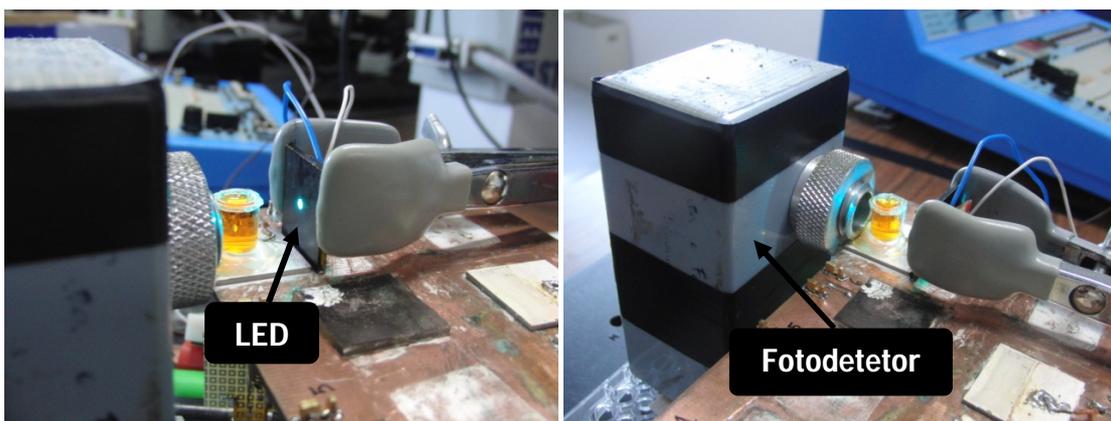


Figura 5.8 Diferentes perspetivas da montagem utilizada para os teste espectrofotométricos.

O valor de corrente medido pelo fotodetetor ao fim de 10 minutos de reação foi estipulado como o valor correspondente ao final da reação, isto é 100 % de reação realizada. Estes 10 minutos encontram-se estipulados no protocolo como o tempo necessário para a reação em questão. O primeiro valor medido pelo fotodetetor (i.e. aos 30 segundos de reação) foi definido como 0% de reação concluída. Os valores intermédios encontram-se, deste modo, entre 0% e 100%, referentes à percentagem de reação concluída.

Na Figura 5.9 apresentam-se os resultados obtidos para três situações distintas: reação realizada sem agitação acústica e com agitação acústica para um sinal de atuação de 2 MHz e de 377 kHz, ambos com uma potência 34 dBm.

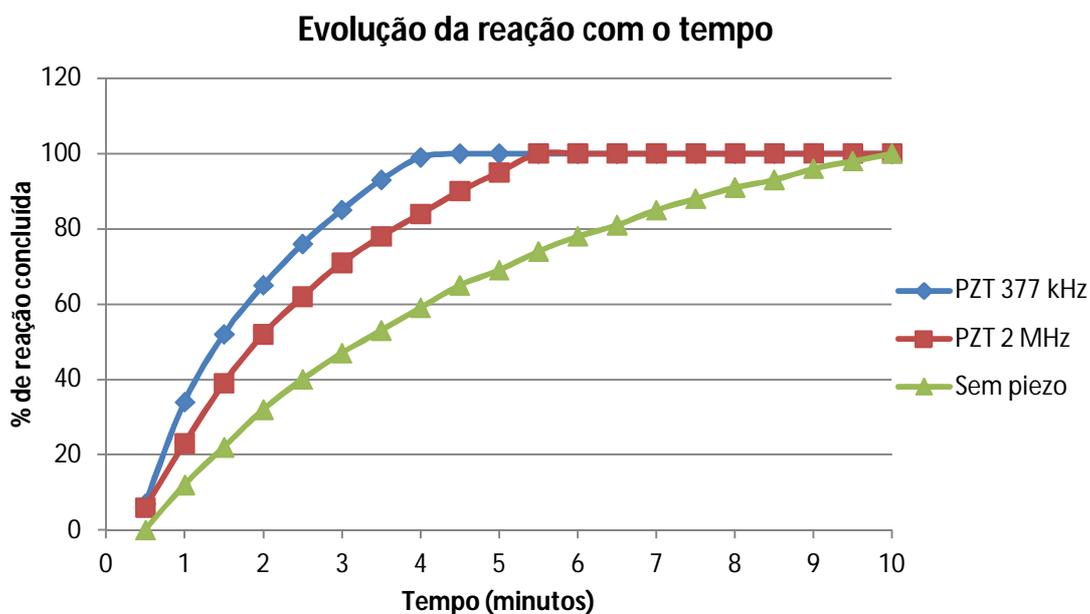


Figura 5.9 Percentagem da reação concluída com o tempo decorrido.

Na Figura 5.9 observa-se o benefício que advém da utilização de agitação acústica com o intuito de intensificar o processo de mistura. Quando é utilizada uma frequência de atuação de 2 MHz o valor correspondente aos 100% da reação ocorre por volta dos 5,5 minutos. Para uma frequência de 377 kHz os resultados obtidos foram melhores, sendo a reação completa obtida por volta dos 4 minutos. Estes resultados encontram-se de acordo com os testes preliminares qualitativos, realizados nos poços da microplaca, que mostravam que os padrões de agitação acústica formados eram mais acentuados na frequência de 377 kHz.

Esta análise espectrofotométrica prova que a agitação acústica melhora a taxa de mistura associada e, como tal, poderá ser uma alternativa viável para a agitação dos fluidos de uma microplaca.

Os testes com o sistema eletrónico desenvolvido não foram possíveis devido a uma avaria no equipamento espectrofotométrico utilizado para as medições espectrofotométricas.

### **5.3 Estudo da variação ao longo do tempo com a agitação acústica**

Foi ainda estudada a evolução da temperatura tanto na superfície do transdutor como nos fluidos dentro do poço da microplaca. Este estudo torna-se relevante uma vez que a temperatura é um fator importante na evolução das reações, podendo também potenciar o processo de reações endotérmicas.

#### **5.3.1 Evolução da temperatura ao longo do tempo na superfície do transdutor**

De modo a medir a temperatura na superfície do transdutor foi utilizado um termopar conectado a um multímetro (*EX200 SERIES Autoranging MultiMeter* da *EXTECH INSTRUMENTS A FLIR COMPANY*). O termopar foi então colocado em contacto direto com a superfície do transdutor sendo mantido no lugar com recurso a uma simples fita adesiva. A montagem utilizada apresenta-se na Figura 5.10.



**Figura 5.10** Montagem utilizada para a medição da temperatura na superfície do transdutor. Neste caso para o PZT.

Na Figura 5.11 e na Figura 5.12 apresentam-se a evolução da temperatura na superfície do transdutor para o caso do PZT para a frequência de atuação de 377 kHz e 2 MHz, respetivamente. Na Figura 5.14 é apresentado o perfil de temperaturas obtido com o sistema de atuação eletrónico desenvolvido para o PZT, para uma frequência de 377 kHz. Por fim, na Figura 5.13 apresentam-se os resultados obtidos para o PVDF e o perfil de temperaturas obtido com o sistema eletrónico desenvolvido para dois sinais de atuação com amplitudes distintas.

É importante referir que para a frequência de 2 MHz, apenas foi testado um sinal de atuação com potência de 34 dBm. Esta opção deveu-se principalmente ao facto da frequência de 377 kHz ter apresentado resultados, aparentemente, mais promissores e, por isso, ser importante um estudo mais detalhado do perfil de temperaturas obtido nesta frequência. Além disso, o perfil de temperaturas obtido com esta potência de atuação foi semelhante em ambas as frequências, pelo que são esperados perfis semelhantes para as outras potências de atuação.

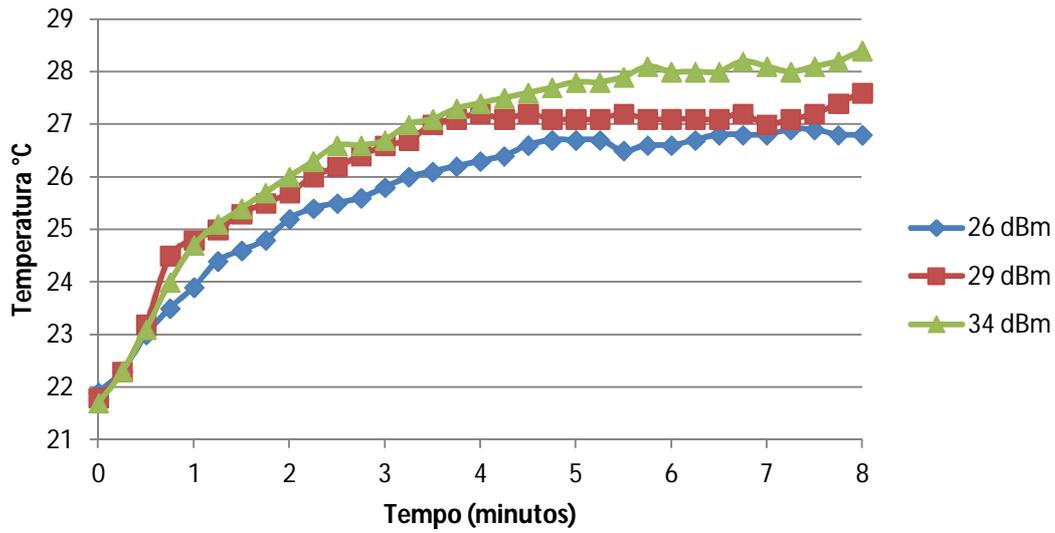


Figura 5.11 Evolução da temperatura na superfície do transdutor PZT<sub>2</sub> para um sinal de frequência 377 kHz para diferentes níveis de potência.

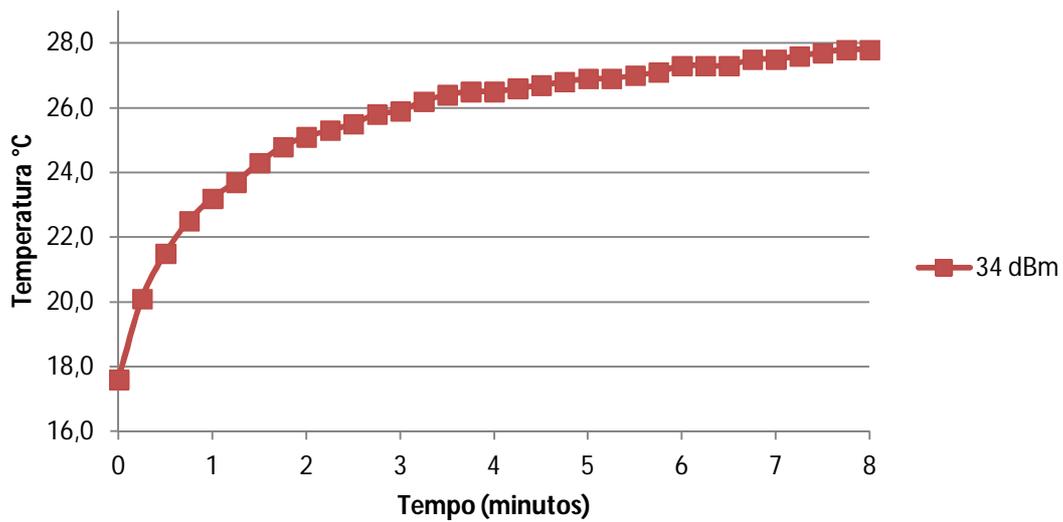
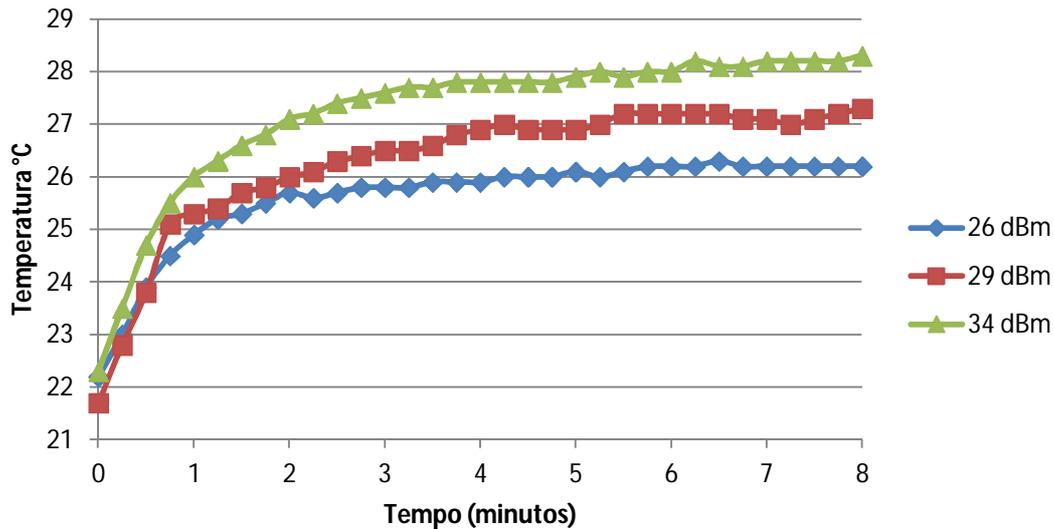
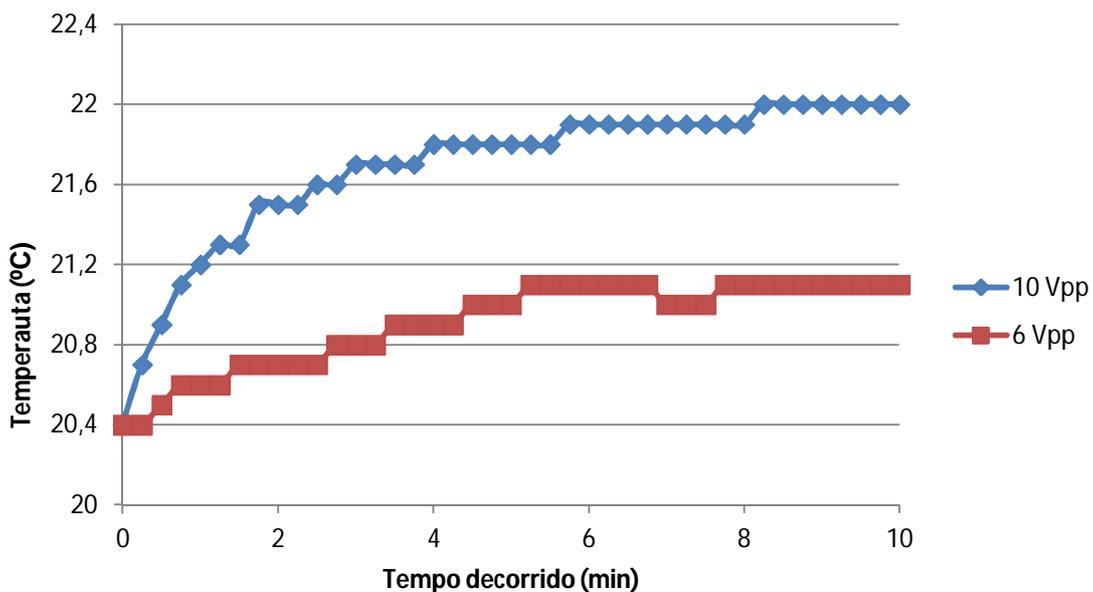


Figura 5.12 Evolução da temperatura na superfície do transdutor PZT<sub>2</sub> para um sinal de frequência 2 MHz para uma potência de 34 dBm.



**Figura 5.13** Evolução da temperatura na superfície do transdutor PVDF para um sinal de frequência de 10,77 MHz para diferentes níveis de potência.



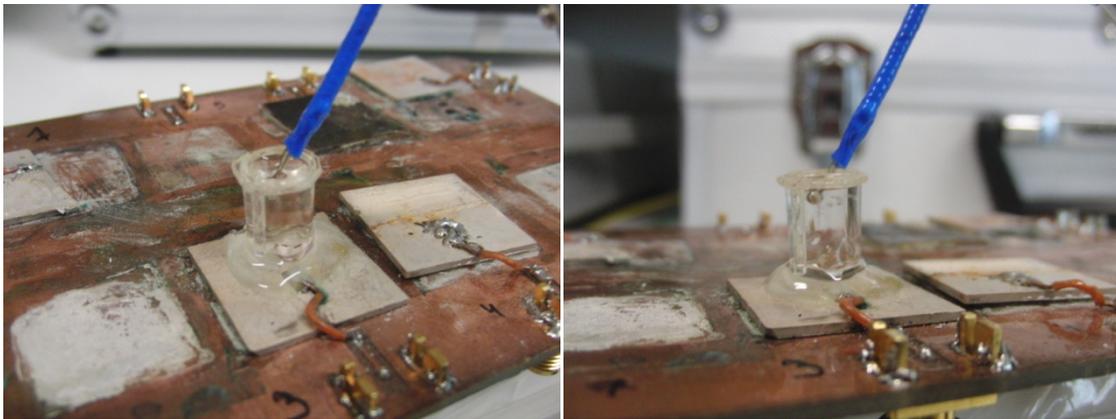
**Figura 5.14** Evolução da temperatura na superfície do transdutor PZT quando este é atuado pelo sistema desenvolvido utilizando sinais com amplitudes diferentes.

A análise das Figuras anteriores permite concluir que existe sempre um aquecimento associado à atuação dos transdutores que é tanto maior quanto maior é a potência de atuação do piezoelétrico. Este aquecimento é exetável devido às perdas térmicas inerentes ao transdutor e ao próprio aquecimento do contacto elétrico. Quando o transdutor piezoelétrico é atuado pelo sistema eletrônico desenvolvido (Figura 5.14) o aquecimento verificado,  $\sim 1,6$  °C, é significativamente menor, comparativamente ao verificado quando este é atuado pelo sistema comercial, cerca de  $\sim 6$  °C (Figura 4.11). Isto pode dever-se, quer à potência de atuação

utilizada quer à sintonia desadequada da frequência de atuação de 377 kHz. Enquanto no sistema comercial, a frequência de atuação é definida diretamente no gerador, no sistema desenvolvido esta é ajustada manualmente através do condensador variável e da visualização do sinal no osciloscópio. Como consequência, este é um processo que não apresenta tanto rigor e é sujeito a erro humano.

### 5.3.2 Evolução da temperatura ao longo do tempo nos poços da microplaca

A evolução da temperatura no interior dos poços da microplaca foi também estudada. É utilizada água para encher o poço, sendo que depois o termopar é mergulhado nesta, como se pode observar na Figura 5.15.



**Figura 5.15** Diferentes perspectivas da montagem utilizado para a medição da temperatura do líquido presente no poço da microplaca. Neste caso para o PZT.

Na Figura 5.16 e Figura 5.17 observa-se a evolução da temperatura na superfície do transdutor para o caso do PZT para as frequências de atuação de 377 kHz e 2 MHz, respetivamente. Na Figura 5.18 são apresentados os resultados obtidos para o PVDF e na Figura 5.19 o perfil de temperaturas obtido com o sistema eletrónico desenvolvido para dois sinais de atuação com amplitudes distintas.

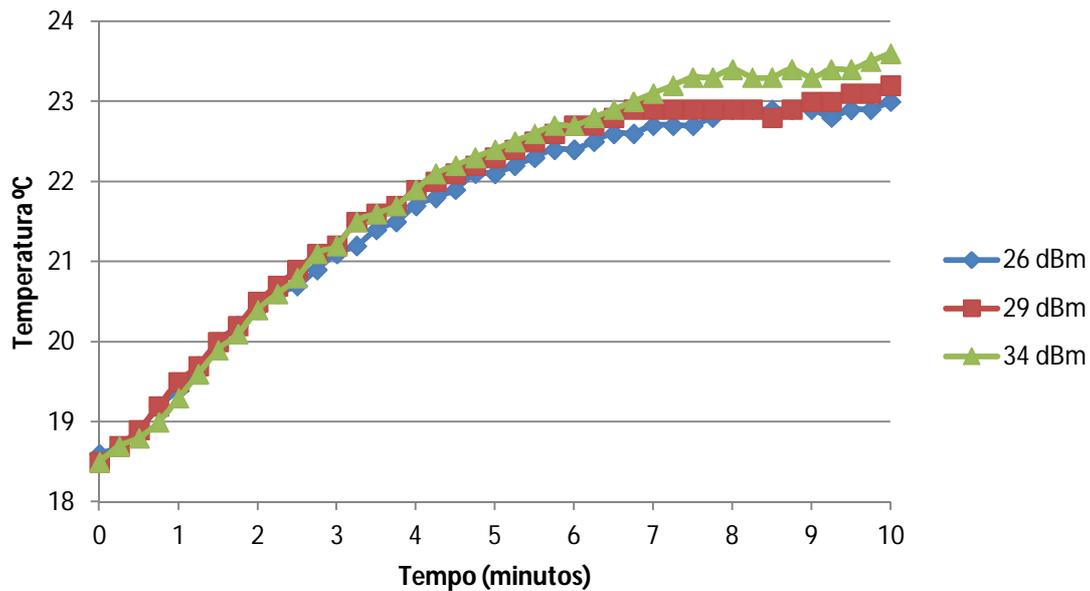


Figura 5.16 Evolução da temperatura num poço colocado na superfície do transdutor PZT<sub>2</sub> para um sinal com uma frequência de 377 kHz e com diferentes níveis de potência.

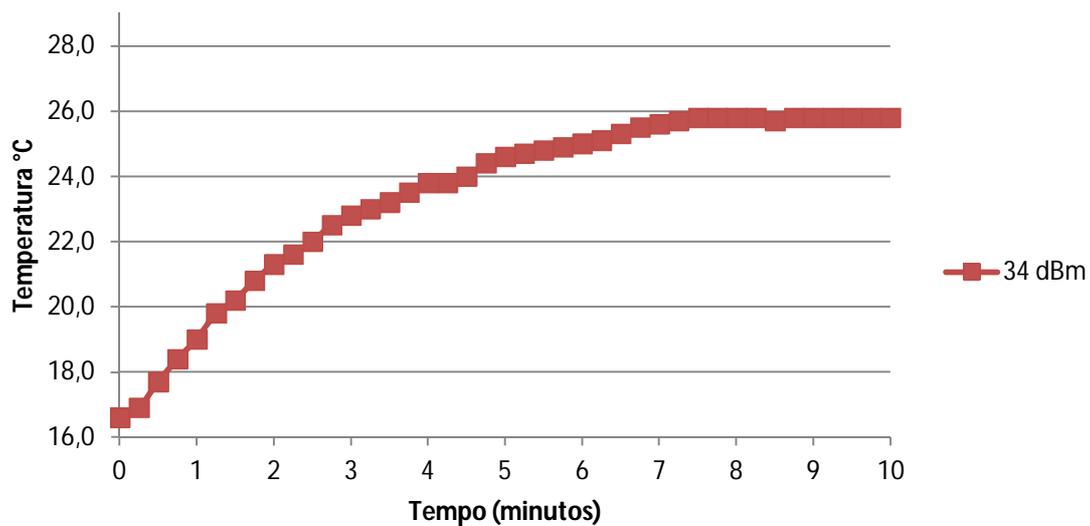
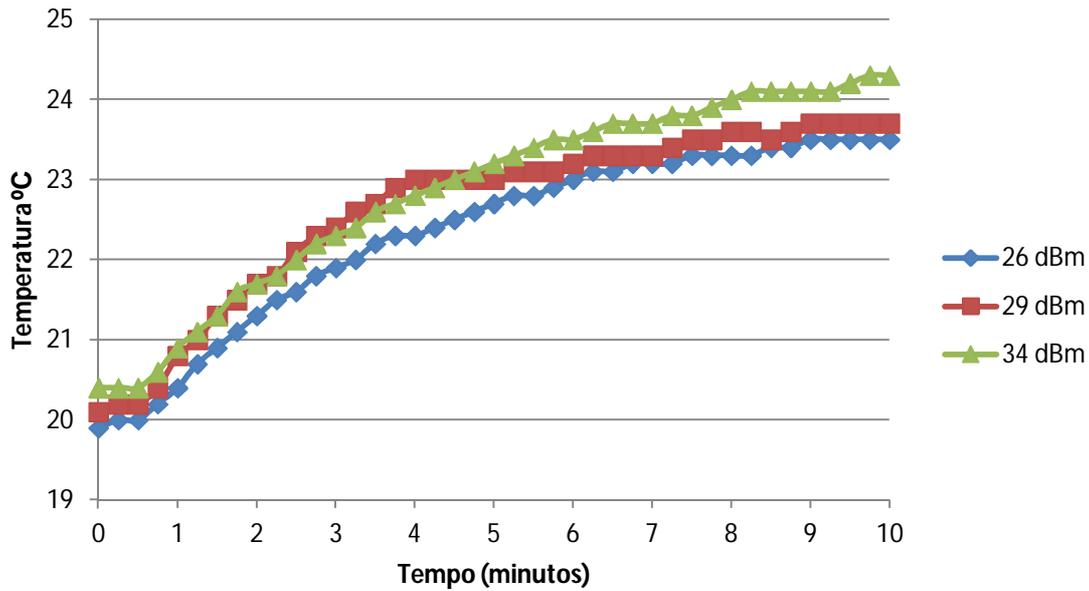
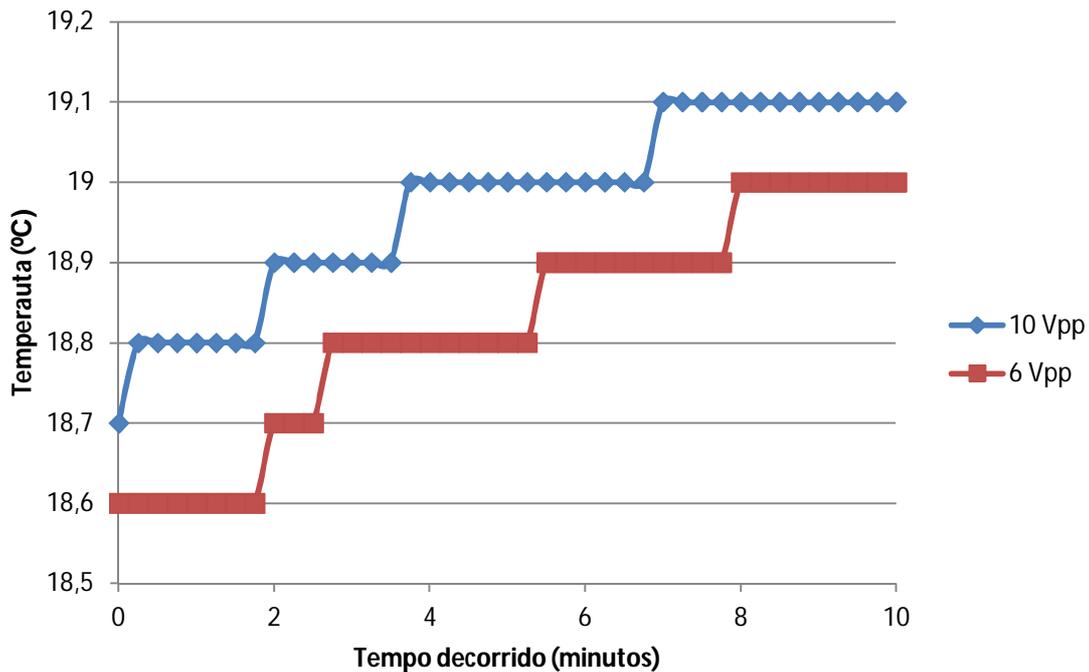


Figura 5.17 Evolução da temperatura num poço colocado na superfície do transdutor PZT<sub>2</sub> para um sinal com uma frequência de 2 MHz e com uma potência de 34 dBm.



**Figura 5.18** Evolução da temperatura num poço colocado na superfície do transdutor PVDF para um sinal com uma frequência de 10,77 MHz e com diferentes níveis de potência.



**Figura 5.19** Evolução da temperatura num poço colocado na superfície do transdutor PZT<sub>2</sub> quando este é atuado pelo sistema desenvolvido utilizando sinais com amplitudes diferentes.

Como esperado o perfil de temperaturas apresentado nas Figuras anteriores é semelhante àquele que foi obtido na superfície dos transdutores. Contudo as variações de temperatura obtidas são menores, o que pode ser explicado pelas perdas térmicas entre a superfície do transdutor e o poço devido aos fenómenos de condução e convecção térmica. A título de exemplo, na Figura 5.11 pode ser observado que um sinal de atuação de 34 dBm

origina um aquecimento de 22 °C para 28,5 °C (+6,5 °C), enquanto que no interior do poço (Figura 5.16) o aquecimento verificado é de 18,5 °C para 23,5 °C (+5 °C). O mesmo comportamento pode ser constatado nos outros gráficos.

Com o sistema desenvolvido é verificada uma igual variação de temperatura, isto é 0,4 °C, para ambos os sinais de atuação, isto é, 6 Vpp e 10 Vpp, ao contrário do que seria expectável. No entanto, uma vez que a variação de temperatura obtida é pequena, comparativamente à obtida com o sistema comercial, fatores como, localização exata do poço na superfície do transdutor ou a quantidade e distribuição do gel utilizado, podem justificar estas variações semelhantes.

A análise dos gráficos anteriores mostra que a variação da temperatura está relacionada com a potência de atuação do sinal utilizada. Assim, pode concluir-se que é possível realizar um controlo da temperatura controlando o sinal que é aplicado ao piezoelétrico.

### 5.4 Camada de adaptação acústica

Para a avaliação da melhoria introduzida, com a utilização da camada de adaptação, foram, numa primeira fase, realizados testes qualitativos do processo de mistura, através da visualização dos padrões de agitação acústica gerados no interior de poços da microplaca. Estes não mostraram uma aparente melhoria significativa na agitação gerada. Estes resultados podem ser explicados quer pela não uniformidade da camada de adaptação quer pela espessura, que não pôde ser definida. Além do que a densidade e velocidade do som nesta camada não são conhecidas e, conseqüentemente, não foi possível determinar a sua impedância acústica.

Uma vez que estes testes são baseados apenas na visualização dos padrões, a interpretação dos mesmos é subjetiva. Por esta razão, estava previsto, numa segunda fase a realização de testes espectrofotométricos. No entanto, como referido anteriormente, devido à avaria do equipamento, tal não foi possível.

### 5.5 Consumos energéticos associados

Nesta fase são apresentados os diferentes consumos energéticos associados aos vários testes realizados. No caso do sistema laboratorial a potência utilizada para atuar o piezoelétrico é dada pela potência definida na saída do gerador mais o ganho fixo do amplificador para a frequência em uso. Nestes equipamentos a unidade de potência utilizada é dBm. A conversão de um valor em dBm, definido como  $x$ , para Watts, definido como  $P$ , é realizada através da expressão:

$$P = \frac{1}{1000} 10^{\frac{x}{10}} \quad (5.1)$$

Como exemplo, para 0 dBm a potência em W será:

$$P = \frac{1}{1000} 10^{\frac{0}{10}} = 0.001 W = 1 mW$$

Tabela 5.1 Valores de consumo energético associados ao sistema laboratorial

Potência (Gerador)		Ganho (dB)			Potência de saída (dBm)			Potência de saída (W)		
dBm	mW	Frequência (MHz)			Frequência (MHz)			Frequência (MHz)		
		0,377	2	10,77	0,377	2	10,77	0,377	2	10,77
1	1,26				25,8	25,8	26	0,4	0,4	0,4
4	2,51	24,8 <sub>[69]</sub>		25 <sub>[69]</sub>	28,8	28,8	29	0,8	0,8	0,8
9	7,94				33,8	33,8	34	2,4	2,4	2,5
-13*	0,05						36,2			4,2
-15*	0,03			49,2 <sub>[70]</sub>			34,2			2,6

\*utilizado o amplificador *Coaxial High Power Amplifier ZHL-20W-13+* da *Mini-Circuits*

No caso do sistema eletrônico, foi calculado o consumo energético com base na potência extraída da fonte da alimentação. Como tal, esta não é a potência de atuação do piezoelétrico, mas sim um valor superior a este devido às perdas inerentes a qualquer sistema eletrônico.

São utilizadas duas fontes para alimentação do circuito, definidas em +12 V e -12 V. É colocado um amperímetro em série com as alimentações e retirado o valor da corrente. A partir deste é possível calcular o valor da potência, com base na expressão:

$$P = V \times I \quad (5.2)$$

Na Tabela 5.2 são apresentados os consumos energéticos associados ao sistema de atuação elétrico desenvolvido. São apresentados os valores relativos a dois ganhos distintos.

Tabela 5.2 Valores de consumo energético associados ao sistema de atuação elétrico para a frequência de 377 kHz

Saída	Corrente (mA)		Tensão (V)		P (W) = V × I		P <sub>total</sub> (W)
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	
10 Vpp	45	- 80,5	+ 12	- 12	0,54	0,97	1,51
6 Vpp	35	- 60	+ 12	- 12	0,42	0,72	1,14

Neste estudo é importante ter em conta que o cálculo da potência de atuação realizado é referente aos transdutores utilizados ao longo deste projeto. Uma vez que a ideia final é a colocação de um transdutor circular com menores dimensões, dimensões essas adaptadas ao diâmetro do fundo do poço, a potência de atuação necessária será menor. Adicionalmente, uma vez obtida a geometria dos transdutores finais, será interessante um estudo espectrofotométrico que relacione esta análise com a potência de atuação aplicada, uma vez que existirá um ponto no qual a melhoria introduzida por uma maior potência de atuação não é significativa, ou os custos energéticos associados a esta não compensem a sua utilização.

## Capítulo 6 - Conclusão e perspectivas futuras

A microplaca de 96 poços é, atualmente, um dos acessórios descartáveis mais comum utilizado em equipamentos de análise laboratorial, destacando-se mesmo como ferramenta *standard* em laboratórios de investigação analítica e de teste de diagnóstico clínico. É, por isso, verificada uma crescente preocupação na obtenção de métodos mais eficientes de mistura nesta microplaca, de forma a otimizar o custo e tempo despendido neste processo.

Pelas razões referidas, foi explorado, nesta dissertação, o fenómeno de agitação acústica, com o intuito de intensificar o processo de mistura decorrente nas microplacas. Numa fase inicial, foi desenvolvido o protótipo para o sistema em questão. Este consiste numa *Printed Circuit Board*, que serve de suporte aos transdutores piezoelétricos e permite estabelecer as várias ligações elétricas necessárias para a posterior atuação dos mesmos. Neste protótipo inicial foram utilizados dois transdutores distintos para comparação do desempenho, o PZT e o PVDF.

Após a caracterização do sistema, através do VNA, foram escolhidas as frequências de atuação dos dois transdutores e realizada a sua adaptação elétrica de modo a garantir a máxima transferência de potência. No caso do PZT foram testadas duas frequências de atuação, 377 kHz e 2 MHz enquanto no PVDF foi utilizada a frequência de 10,77 MHz.

Seguidamente foram realizados testes utilizando dois fluidos de modo a verificar o processo de mistura dos mesmos. Os testes qualitativos preliminares realizados, na superfície dos transdutores, evidenciaram a criação de padrões de agitação e, uma conseqüente, melhoria no processo de mistura. Estes padrões foram verificados tanto para o PZT como para o PVDF sendo que a agitação conseguida foi significativamente mais acentuada com o PZT, devido à maior resposta piezoelétrica associada a este. Como tal, para os testes na microplaca foi utilizado o PZT.

Posteriormente, foram separados vários poços individuais da microplaca e colocados diretamente na superfície do transdutor. Apenas com a utilização de um meio de acoplamento entre o transdutor e o poço, constituído por gel de ultrassons, foi conseguida a visualização de padrões de agitação acústica. Esta constatação vem demonstrar a limitação na transmissão das ondas sonoras devido ao fenómeno de reflexão associado, e como a utilização de uma camada de adaptação acústica intermédia pode aumentar a eficiência com que estas são transmitidas.

Simultaneamente com os vários testes realizados foi desenvolvido um circuito eletrônico de atuação para a frequência de 377 kHz, constituído por um oscilador de Colpitts e amplificador para garantir a potência de atuação adequada. Com este circuito, foram realizados os mesmos testes referidos anteriormente. Foram observados padrões de agitação acústica, semelhantes aos observados com o sistema comercial, tanto na superfície do transdutor como nos fluidos presentes nos poços da microplaca. Estes resultados vêm demonstrar que este sistema poderá vir a ser utilizado com sucesso.

Realizaram-se medições espectralométricas nos fluidos, para verificar de forma quantitativa a eficiência do processo de mistura. Estas medições, que mostraram que com a utilização de agitação acústica o processo de mistura é significativamente acelerado. Com o sistema de atuação comercial e para sinais de atuação de 377 kHz e 2 MHz para o PZT com uma potência de 34 dBm foi conseguida uma diminuição do tempo de mistura de 60% e 45 %, respetivamente. Esta análise não foi realizada com o sistema eletrônico de atuação desenvolvido devido à avaria do equipamento ótico.

A monitorização da temperatura na superfície dos transdutores e no interior dos poços da microplaca evidencia o aumento de temperatura inerente à utilização dos transdutores piezoelétricos, sendo este mais acentuado quanto maior a potência do sinal de atuação utilizado. Este aumento de temperatura pode provar-se benéfico no processo de mistura, mais concretamente, em reações endotérmicas. Estes resultados mostram que, através da regulação da potência de atuação utilizada, a variação de temperatura verificada pode ser controlada.

Relativamente às perspetivas de trabalho futuro, é crucial a compreensão, quer através de simulações quer de testes práticos, do fenómeno da agitação acústica. Neste trabalho, foram verificados padrões de agitação acústicos significativamente mais acentuados para o PZT que o PVDF. No entanto, não se pode afirmar inequivocamente que o PZT será melhor para a aplicação em vista, devido à incompreensão, nesta fase, da agitação acústica gerada.

Torna-se crucial entender a influência de importantes fatores na agitação acústica conseguida, como: a geometria do transdutor, a frequência utilizada, a distribuição da intensidade da energia sonora dentro do poço, entre outros. Este estudo é importante quer para a escolha do transdutor final e respetiva frequência de atuação, como da geometria a utilizar.

Neste trabalho foi ainda explorada a possibilidade da utilização de uma camada composta por Titanato de Bário com SU-8, como meio de acoplamento entre o PZT e a microplaca.

Apesar desta não ter apresentado uma melhoria significativa na agitação visualizada, é esperado que com um estudo mais aprofundado desta alternativa, isto é, com o estudo das características obtidas, como a impedância acústica do composto, e com a otimização do processo de deposição, seja possível a realização de uma camada de adaptação uniforme, com a impedância acústica e espessura apropriadas, de modo a maximizar a transferência de energia acústica e, assim, potenciar os efeitos de agitação conseguidos.

Uma vez obtido o tipo e geometria final dos transdutores, será interessante a realização de um estudo espectrofotométrico que relacione a melhoria no processo de mistura com a potência de atuação aplicada aos transdutores, uma vez que existirá um ponto a partir do qual a melhoria introduzida por uma maior potência de atuação não será significativa, ou os custos energéticos associados a esta não compensarão a sua utilização.



---

## Bibliografia

- [1] E. V. Rokhina, P. Lens e J. Virkutyte, "Low-frequency ultrasound in biotechnology: state of the art," *Trends in Biotechnology*, vol. 27, n.º 5, pp. 298-306, Maio 2009.
- [2] P. R. Gogate, "Cavitation reactors for process intensification of chemical processing applications: A critical review," *Chemical Engineering and Processing*, vol. 47, n.º 4, p. 515-527, April 2008.
- [3] X. Zhu e E. S. Kim, "Microfluidic motion generation with acoustic waves," *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 66, n.º 1-3, pp. 355-360, 1998.
- [4] Z. Yang, S. Matsumoto, H. Goto, M. Matsumoto e R. Maeda, "Ultrasonic micromixer for microfluidic systems," *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 93, n.º 3, pp. 266-272, 2001.
- [5] J. Rife, M. Bell, J. Horwitz, M. Kabler, R. Auyeung e W. Kim, "Miniature valveless ultrasonic pumps and mixers," *Sensors and Actuators*, vol. 86, n.º 1-2, p. 135-140, 2000.
- [6] G. G. Yaralioglu, I. O. Wygant, T. C. Marentis e B. T. Khuri-Yakub, "Ultrasonic Mixing in Microfluidic Channels Using Integrated Transducers," *Anal. Chem.*, vol. 76, pp. 3694-3698, 2004.
- [7] R. J. Shilton, L. Y. Yeo e J. R. Friend, "Quantification of surface acoustic wave induced chaotic mixing-flows in microfluidic wells," *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011.
- [8] A. Toegl, R. Kirchner, C. Gauer e A. Wixforth, "Enhancing Results of Microarray Hybridizations Through Microagitation," *Journal of Biomolecular Techniques*, vol. 14, n.º 3, p. 197-204, 2003.
- [9] Q. Zeng, F. Guo, L. Yao, H. Zhu, L. Zheng, Z. Guo, W. Liu, Y. Chen, S. Guo e X. Zhao, "Milliseconds mixing in microfluidic channel using focused surface acoustic wave," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 160, n.º 1, p. 1552-1556, 2011.
- [10] R. Liu, J. Yang, M. Pindera, M. Athavale e P. Grodzinski, "Bubble-induced acoustic micromixing," *LAB ON A CHIP*, vol. 2, n.º 3, pp. 151-157, 2002.
- [11] R. Liu, R. Lenigk, R. Druyor-Sanchez, J. Yang e P. Grodzinski, "Hybridization enhancement using cavitation microstreaming," *ANALYTICAL CHEMISTRY*, vol. 75, n.º 8, pp. 1911-1917, 2003.
- [12] P. R. Gogate, V. S. Sutkar e A. B. Pandit, "Sonochemical reactors: Important design and scale up considerations with a special emphasis on heterogeneous systems," *Chemical Engineering Journal*, vol. 166, n.º 3, p. 1066-1082, 2011.
- [13] P. R. Gogate e A. M. Kabadi, "A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology," *Biochemical Engineering Journal*, vol. 44, n.º 1, pp. 60-72, April 2009.

- [14] O. Dahlem, J. Reisse e V. Halloin, "The radially vibrating horn: A scaling-up possibility for sonochemical reactions," *Chemical Engineering Science*, vol. 54, n.º 13-14, pp. 2829-2838, July 1999.
- [15] D. P. Banks, "The microplate market past, present and future microplates today – the global market," *Drug Discovery World*, pp. 85-90, Spring 2009.
- [16] J. K. K. Lye, T. W. Ng, A. Neild e O. W. Liew, "A capacity for mixing in capillary wells for microplates," *Analytical Biochemistry*, vol. 410, p. 152–154, 2011.
- [17] ANSI (American National Standards Institute), *for Microplates – Footprint Dimensions; Height Dimensions; Bottom Outside Flange Dimensions; Well positions*, 2006.
- [18] "Fisher Scientific," 2009. [Online]. Available: <https://www.fishersci.ca>. [Acedido em 10 September 2012].
- [19] S. Weiss, G. T. John, I. Klimant e E. Heinzle, "Modeling of Mixing in 96-Well Microplates Observed with Fluorescence Indicators," *Biotechnol. Prog.*, vol. 18, n.º 4, p. 821–830, 2002.
- [20] QUANTIFOIL Instruments GmbH, *Optimization of Mixing Processes in Microplates - A Methodology and Study of Microplate Mixing Techniques Including BioShake 5000*, Jena, Germany.
- [21] HTStec Ltd., "Microplate Mixing Trends," Cambridge, UK, September, 2007.
- [22] J. Comley, "MICROPLATE MIXING, bioassay panacea or of unproven distraction?," *Drug Discovery World*, pp. 35-46, Winter 2007/2008.
- [23] Beckman Coulter, *PlateBooster System User Guide*, Munich, 2009.
- [24] J. Curtis, *High Frequency Focused Acoustic Technology: Evaluation for Compound Mixing and Dissolution*.
- [25] Covaris, *L-Series Datasheet*, Massachusetts, 2010.
- [26] "COVARIS | Advanced, Pre-Analytical Systems For Live Sciences," 2012. [Online]. Available: <http://covarisinc.com/>. [Acedido em January 2012].
- [27] MatriCal, Inc., *SonicMan - High Throughput Sonication System - Brochure*.
- [28] MatriCal, Inc, *A New Aqueous Solubility Screen: High-throughput Sonication*.
- [29] I. Matrical, *APPLICATION NOTE: HIGH-THROUGHPUT DNA SHEARING WITH THE SONICMAN*.
- [30] "Thermo Fisher Scientific Inc.," 2012. [Online]. Available: <https://www.thermoscientific.com>. [Acedido em 20 October 2012].
- [31] "Scientific Industries, Inc.," 2012. [Online]. Available: <http://www.scientificindustries.com/>. [Acedido em January 2012].
- [32] "Tecan Group Ltd.," 2012. [Online]. Available: <http://www.tecan.com>. [Acedido em January 2012].
- [33] Eppendorf, "Eppendorf," [Online]. Available: <http://www.eppendorf.es>. [Acedido em January 2012].

- [34] M. K. HANCOCK, M. N. MEDINA, B. M. SMITH e A. P. ORTH, "Microplate Orbital Mixing Improves High-Throughput Cell-Based Reporter Assay Readouts," *Journal of Biomolecular Screening*, vol. 12, n.º 1, 2007.
- [35] W. A. Duetz, "Microtiter plates as mini-bioreactors: miniaturization of fermentation methods," *TRENDS in Microbiology*, vol. 15, n.º 10, 2007.
- [36] Y. Wen, R. Zang, X. Zhang e S.-T. Yang, "A 24-microwell plate with improved mixing and scalable performance for high throughput cell cultures," *Process Biochemistry*, vol. 47, p. 612–618, 2012.
- [37] V&P Scientific , [Online]. Available: <http://www.vp-scientific.com/>. [Acedido em 20 October 2011].
- [38] E. MITRE, M. SCHULZE, G. A. CUMME, F. RÖBLER, T. RAUSCH e H. RHODE, "Turbo-Mixing in Microplates," *Journal of Biomolecular Screening*, vol. 12, n.º 3, 2007.
- [39] W. Hendee e E. R. Ritenour, *Medical Imaging Physics*, 4ª ed., Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc., 2003.
- [40] J. A. Zagzebski, *Essentials of Ultrasound Physics*, St. Louis, Missouri: Mosby, 1996.
- [41] D. R. Raichel, *THE SCIENCE AND APPLICATIONS OF ACOUSTICS*, 2nd ed., New York: Springer Science+Business Media, 2007.
- [42] J. D. Bronzino, *Biomedical Engineering HANDBOOK Volume I*, U.S.A.: CRC Press LLC, 2000.
- [43] K. K. Shung, *Diagnostic Ultrasound Image and Blood Flow Measurements*, Boca Raton, Florida: Taylor & Francis Group, LLC, 2006.
- [44] J. Lochab e V. R. Singh, "Acoustic beahviou of plastics for medical applications," *Indian Journal of Pure & Applied Physics*, vol. 24, pp. 595-599, 2004.
- [45] S. O. Catarino, *Estudo da Eficiência da Aplicação da Microagitação Acústica, Baseada no Polímero Beta-PVDF, no Processo de Mistura de Fluidos Biológicos em Exames Clínicos Não Rotineiros*, 2009.
- [46] T. G. Leighton, "What is ultrasound?," *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, vol. 93, n.º 1–3, pp. 3-83, 2007.
- [47] A. A. Vives, *Piezoelectric Transducers and Applications*, 2ª ed., Berlin: Springer, 2008.
- [48] L. Rayleigh, "On the circulation of air observed in Kundt's tubes, and on some allied acoustical problems," *Philosophical Transactions of the Royal Society of London (1776-1886)*, vol. 175, pp. 1-21, 1884.
- [49] K. D. Frampton, S. E. Martin e K. Minor, "The scaling of acoustic streaming for application in micro-fluidic devices," *Applied Acoustics*, vol. 64, n.º 7, pp. 681-692, 2003.
- [50] V. F. Cardoso, S. O. Catarino, J. S. Nunes, L. Rebouta, J. G. Rocha, S. Lanceros-Méndez e G. Minas, "Lab-on-a-Chip With  $\beta$ -Poly(Vinylidene Fluoride) Based Acoustic Microagitation," *IEEE TRANSACTIONS ON BIOMEDICAL ENGINEERING*, vol. 57, n.º 5, pp. 1184-1190, 2010.

- [51] H. Mitome, "The Mechanism of Generation of Acoustic Streaming," *Electronics and Communications in Japan*, vol. 81, n.º 10, pp. 1614-1620, 1998.
- [52] W. Heywang, K. Lubitz e WolframWersing, *Piezoelectricity Evolution and Future of a Technology*, Berlin: Springer, 2008.
- [53] H. F. A. d. Castro, *Sensores e Atuadores Baseados em Polímeros Piezoelétricos*, 2006.
- [54] A. J. Moulson e J. M. Herbert, *Electroceramics: Materials Properties Applications*, 2ª ed., John Wiley & Sons Ltd, 2003.
- [55] Y. Bar-Cohen, *Electroactive Polymer (EAP) Actuators as Artificial Muscles Reality, Potencial, and Challenges*, 2ª ed., Bellingham, Washington: SPIE.
- [56] APC International, "American Piezo Ceramics, Inc.," [Online]. Available: <http://www.americanpiezo.com/>. [Acedido em 15 April 2012].
- [57] G. Zhu, Z. Zeng, L. Zhang e X. Yan, "Piezoelectricity in  $\beta$ -phase PVDF crystals: A molecular simulation study," *Computational Materials Science*, vol. 44, n.º 2, p. 224–229, December 2008.
- [58] D. M. Esterly, *Manufacturing of Poly(vinylidene fluoride) and Evaluation of its Mechanical Properties*, Blacksburg, Virginia, 2002.
- [59] "NDT Ressource Center," [Online]. Available: <http://www.ndt-ed.org>. [Acedido em September 2012].
- [60] D. M. Pozar, *Microwave Engineering*, 3ª Edição ed., John Wiley & Sons, Inc., 2005.
- [61] L. Besser e R. Gilmore, *Practical RF Circuit Design for Modern Wireless Systems Volume I*, Artech House, 2003.
- [62] F. T. Ulaby, *Fundamentals of Applied Electromagnetics*, 6th ed., Upper Saddle River, New Jersey: Pearson: Prentice Hall, 2010.
- [63] A. Technologies, *Agilent N9310A RF Signal Generator Data Sheet*.
- [64] W. Storr, "Basic Electronics Tutorials Site," [Online]. Available: <http://www.electronicstutorials.ws/>. [Acedido em February 2012].
- [65] R. Gilmore e L. Besser, *Practical RF Circuit Design For Modern Wireless Systems Volume II Active Circuits and Systems*, U.S.A: Artech House, 2003.
- [66] intersil, *HA5023 Dual 125MHz Video Current Feedback Amplifier Datasheet*, 2006.
- [67] Analog Devices, *AD811 High Performance Video Op Amp Datasheet*, 2004.
- [68] A. R. SELFRIDGE, "Approximate Material Properties in Isotropic Materials," *IEEE TRANSACTIONS ON SONICS AND ULTRASONICS*, vol. 32, n.º 3, pp. 381-394, 1985.
- [69] Mini-Circuits, *Coaxial Amplifier ZHL-6A Data Sheet*.
- [70] Mini-Circuits, *Coaxial High Power Amplifier ZHL-20W-13+ Datasheet*.

## Anexos

Nesta secção são apresentados os vários anexos referidos ao longo da dissertação.

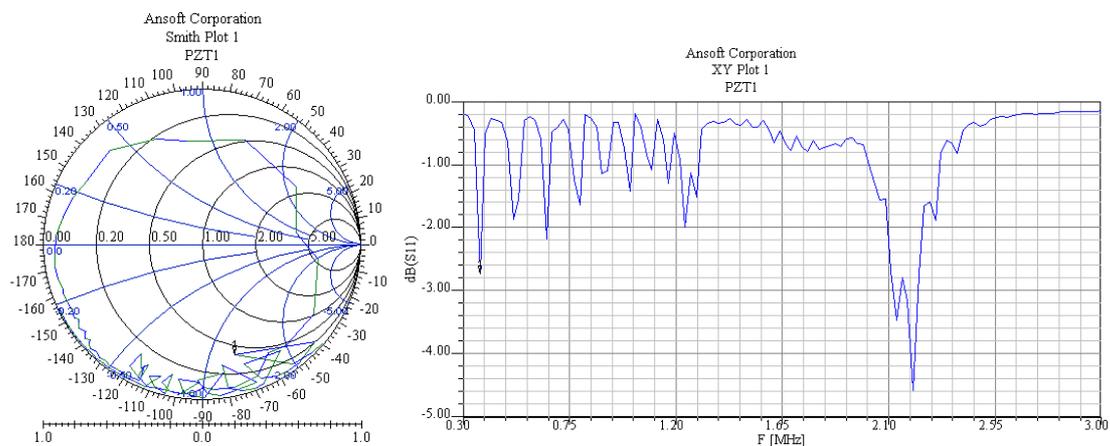
## ANEXO I TECNOLOGIAS DE MISTURA PARA MICROPLACAS

Vendedor	Site	Nome do produto	Tecnologia de Mistura	Especificações importantes	
				Dimensões (cm)	Requisitos energéticos
<i>Advantix</i>	<a href="http://www.advantix.com">www.advantix.com</a>	PlateBooster 96	Surface acoustic waves (SAW),	11L x 7,2P x 1,5A 0,2	100 - 240 V, ~47-63 Hz, 20 VA
<i>Covaris</i>	<a href="http://www.covarisinc.com">www.covarisinc.com</a>	LE220 Focused-ultrasonicator	Adaptative focused acoustics (AFA)	61L x 76P x 48A 50	100 - 240 V, ~50-60 Hz, 500 VAC máximo
<i>Eppendorf</i>	<a href="http://www.eppendorf.com">www.eppendorf.com</a>	MixMate®	Agitador orbital	17L x 23P x 13A 4,2	230 V ~50-60 Hz 40 W
<i>Matrical</i>	<a href="http://www.matrical.com">www.matrical.com</a>	SonicMan™	Sonificador	35.6L x 43.2P x 78.7A 56,7	208 - 240 VAC ~50-60 Hz 10 amp
<i>Scientific Industries</i>	<a href="http://www.scientificindustries.com/microplate.html">www.scientificindustries.com/microplate.html</a>	Microplate Genie™	Agitação orbital	16.5L x 16.5P x 16.5A 2,75	
<i>Tecan</i>	<a href="http://www.tecan.com">www.tecan.com</a>	Te-Shake	Agitador orbital	15.2L x 14.8P x 7.7A 3,460	
<i>Thermo Fisher Scientific</i>	<a href="http://www.thermo.com">www.thermo.com</a>	iEMS® Incubator/Shaker	Incubadora/Agitador	40L x 45P x 20A 15	220 - 240 V ~50-60 Hz
<i>V&amp;P Scientific</i>	<a href="http://www.vp-scientific.com">www.vp-scientific.com</a>	Burt Lancaster Trapeze Stirrers	Agitador magnético baseado num fio de barra de trapézio com forma de 'U'		
		Sandwich Stir Bars	Magnetic stirrer based on encased neodymium iron boron		
		Magnetic Levitation Stirrers	Mistura magnética através de bolas de aço inoxidável		

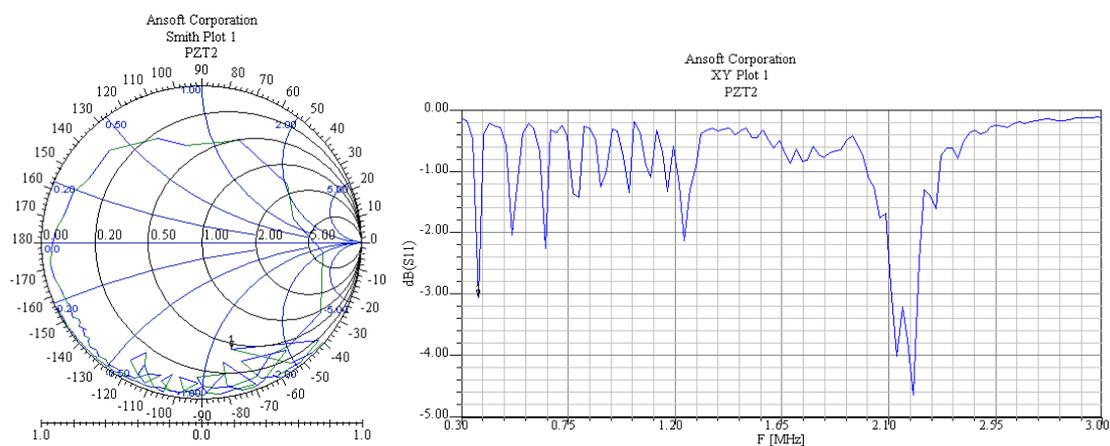
\*L – Largura; P – Profundidade; A – Altura;

Informação não disponível

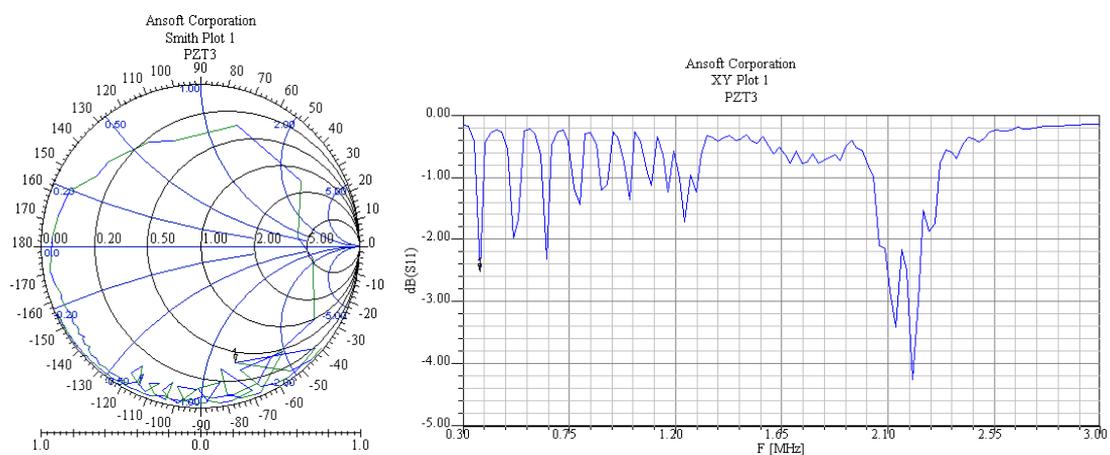
## ANEXO II RESULTADOS DA CARACTERIZAÇÃO DOS TRANSDUTORES PZT ANTES E APÓS A ADAPTAÇÃO ELÉTRICA



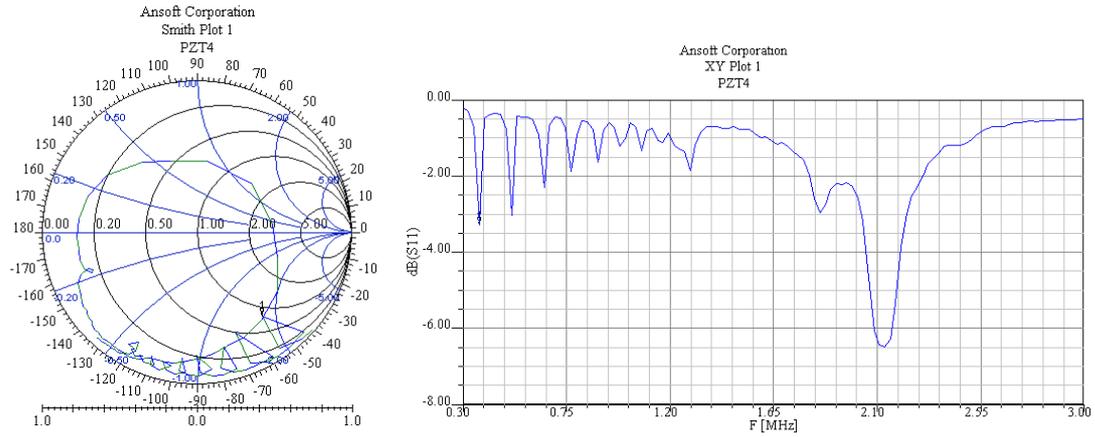
**Figura II.1** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT número 1 antes da adaptação elétrica



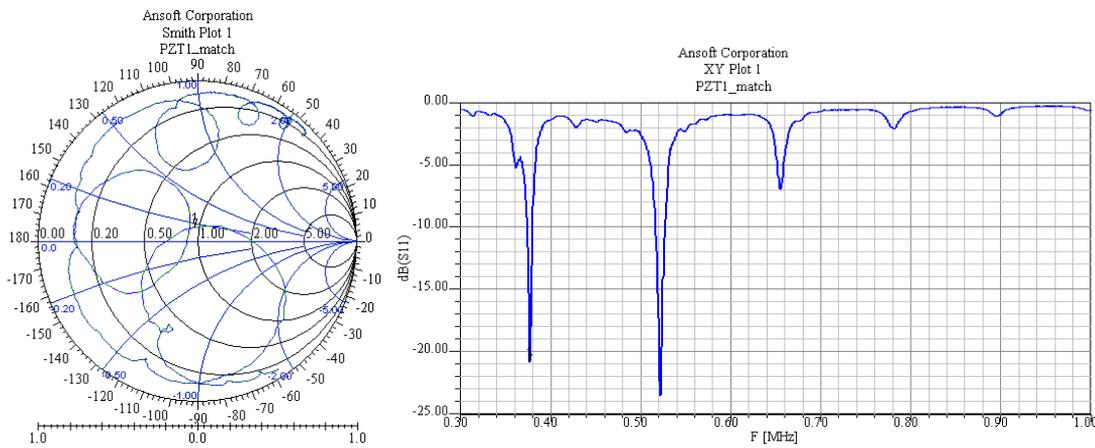
**Figura II.2** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT número 2 antes da adaptação elétrica



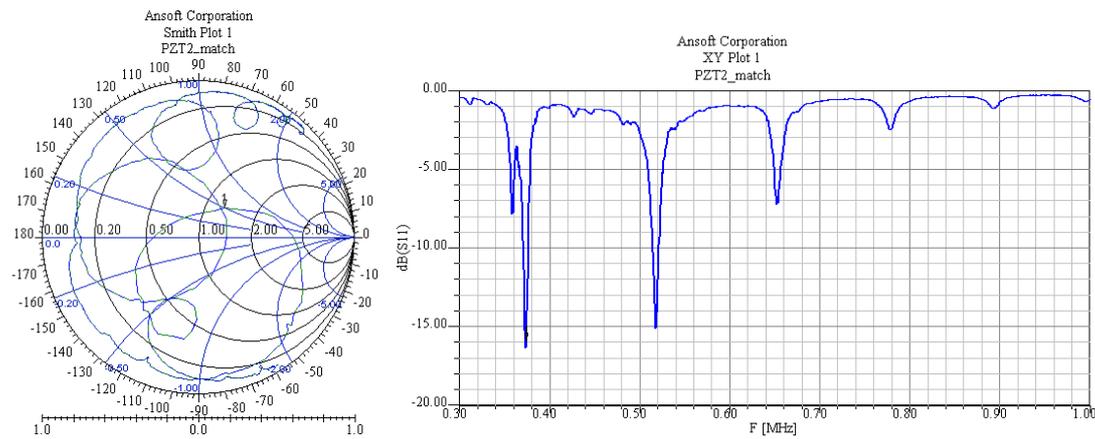
**Figura II.3** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT número 3 antes da adaptação elétrica



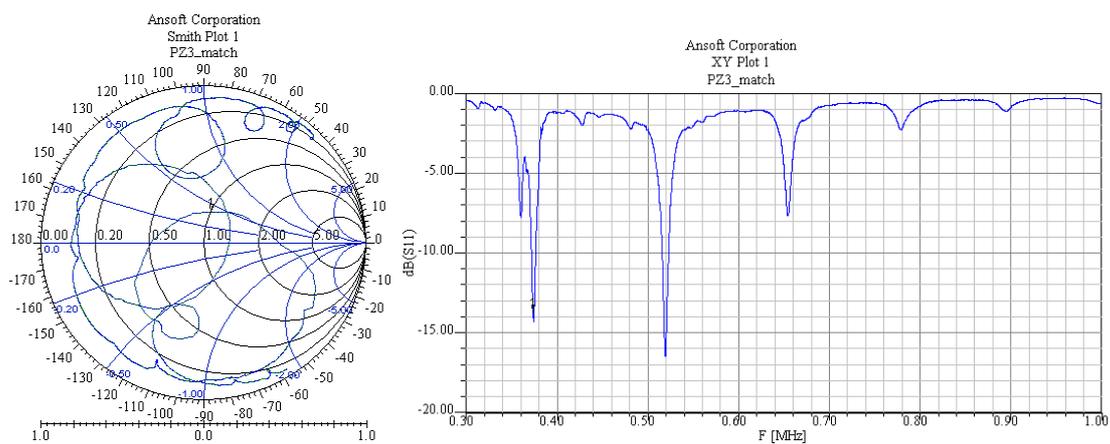
**Figura II. 4** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT número 4 antes da adaptação elétrica



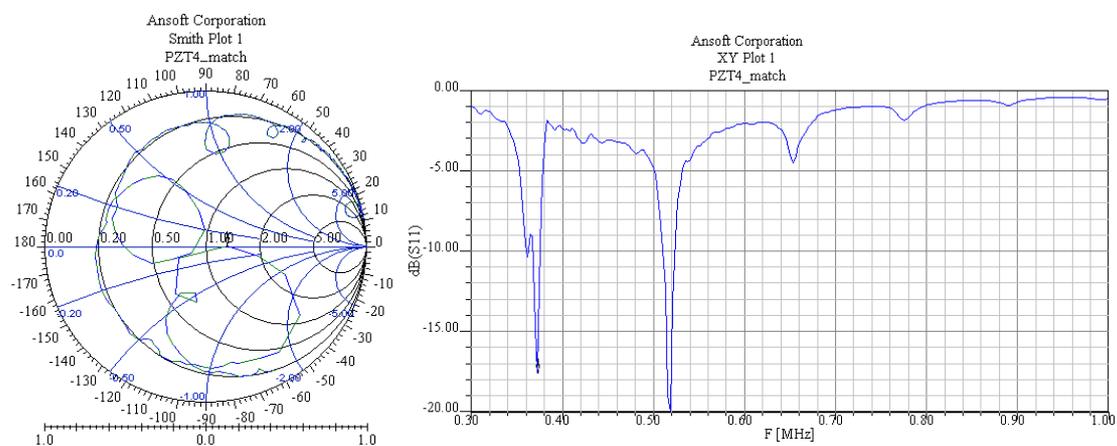
**Figura II.5** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT número 1 após a adaptação elétrica para uma frequência de 377 kHz



**Figura II.6** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT número 2 após a adaptação elétrica para uma frequência de 377 kHz

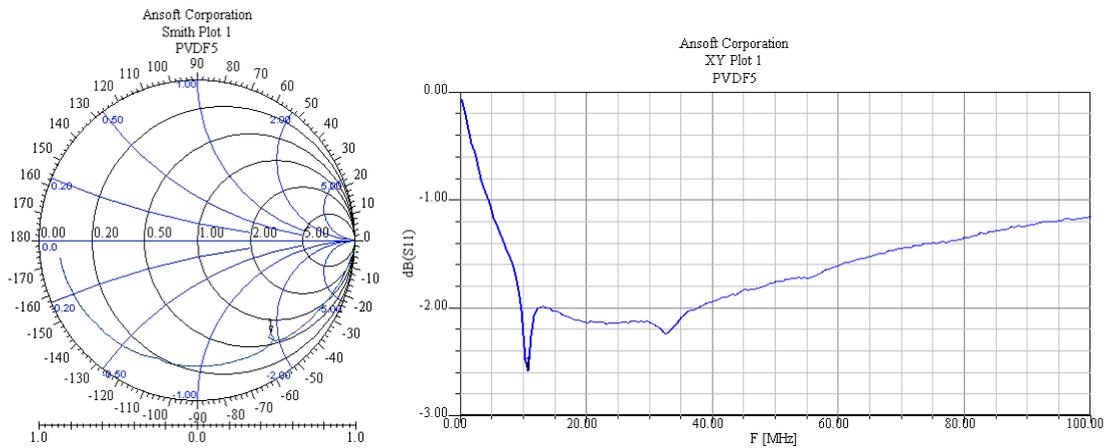


**Figura II.7** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT número 3 após a adaptação elétrica para uma frequência de 377 kHz

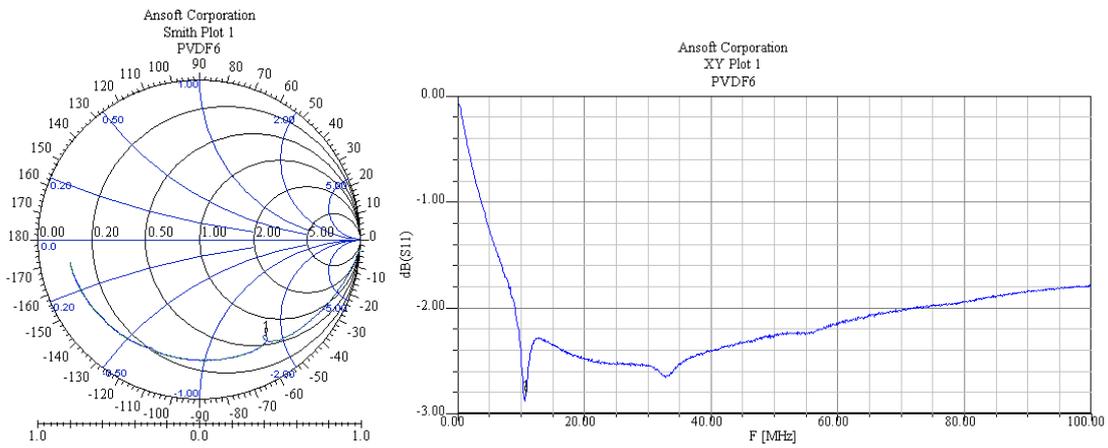


**Figura II. 8** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PZT número 4 após a adaptação elétrica para uma frequência de 377 kHz

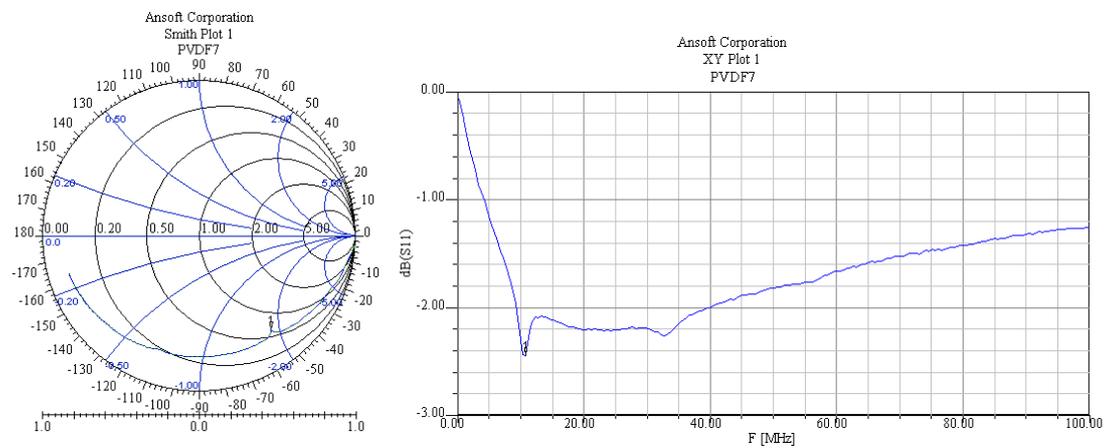
### ANEXO III RESULTADOS DA CARACTERIZAÇÃO DOS TRANSDUTORES PVDF ANTES E APÓS ADAPTAÇÃO ELÉTRICA



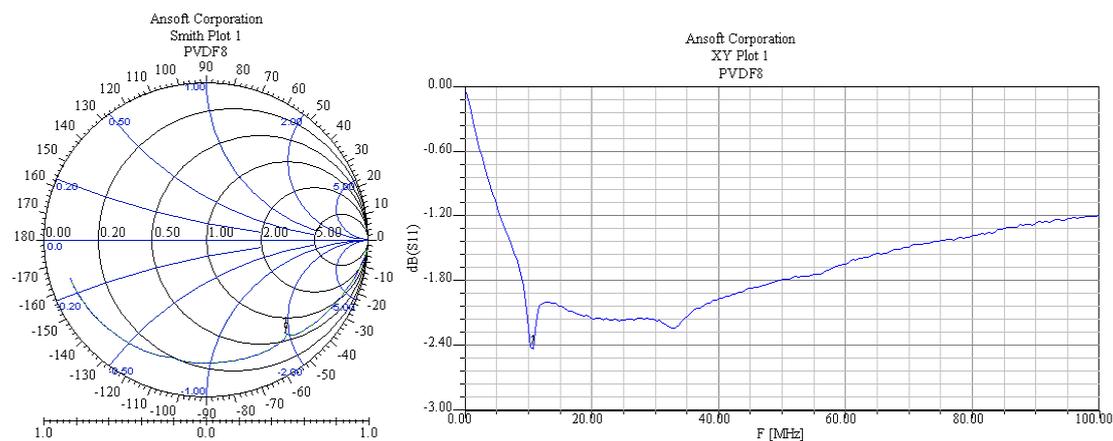
**Figura III. 1** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro  $dB(S_{11})$  com a frequência para o PVDF número 5 antes da adaptação elétrica



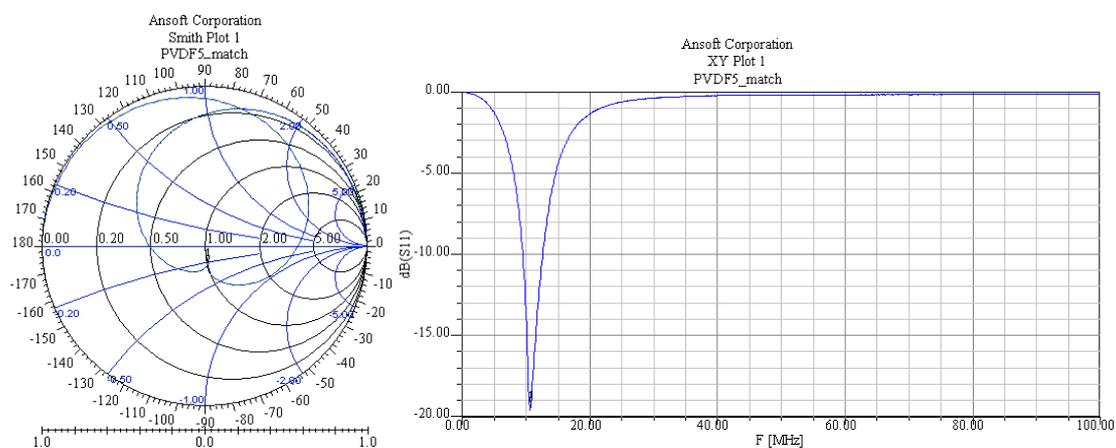
**Figura III.2** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro  $dB(S_{11})$  com a frequência para o PVDF número 6 antes da adaptação elétrica



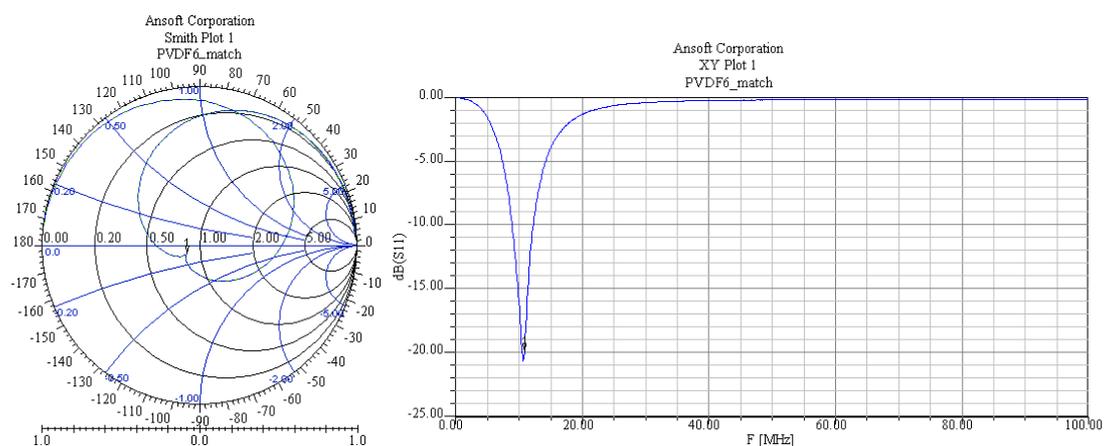
**Figura III.3** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro  $dB(S_{11})$  com a frequência para o PVDF número 7 antes da adaptação elétrica



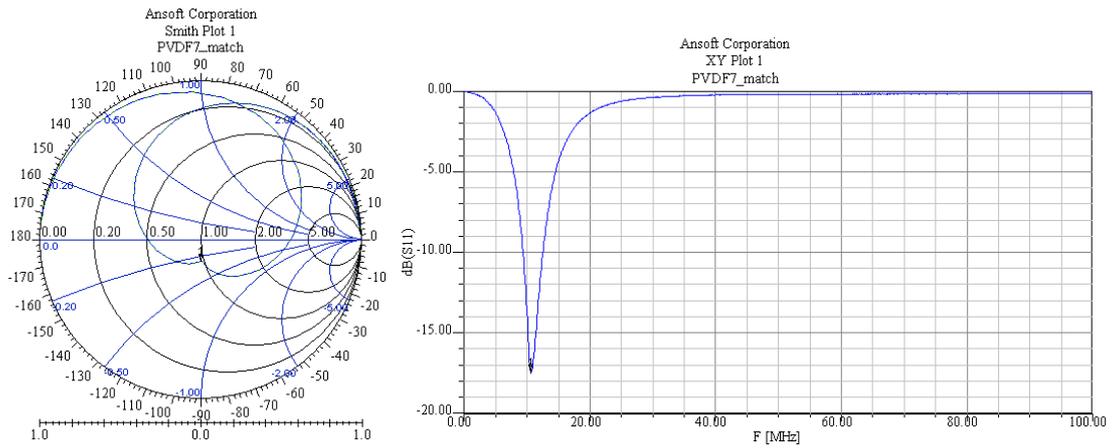
**Figura III.4** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro  $\text{dB}(S_{11})$  com a frequência para o PVDF número 8 antes da adaptação elétrica



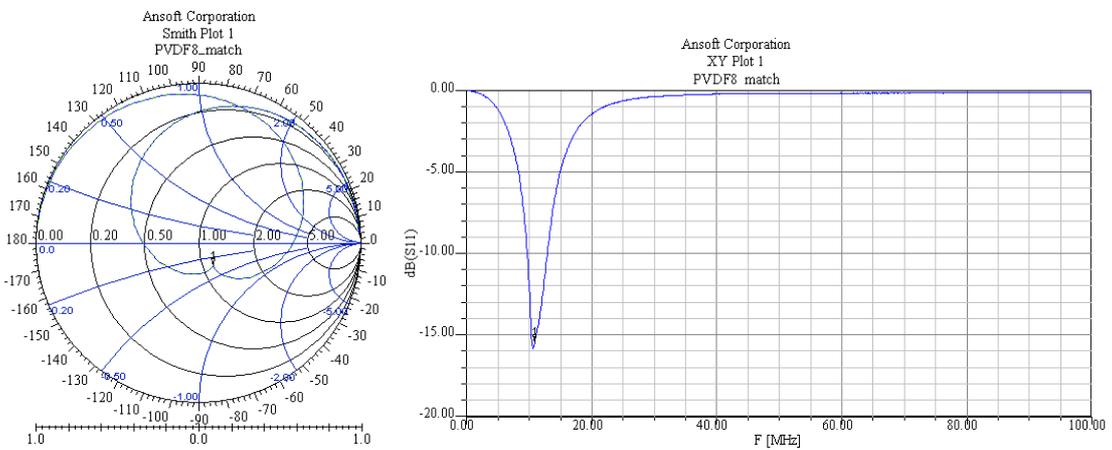
**Figura III. 5** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro  $\text{dB}(S_{11})$  com a frequência para o PVDF número 5 após a adaptação elétrica para uma frequência de 10,77 MHz



**Figura III.6** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro  $\text{dB}(S_{11})$  com a frequência para o PVDF número 6 após a adaptação elétrica para uma frequência de 10,77 MHz



**Figura III.7** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PVDF número 7 após a adaptação elétrica para uma frequência de 10,77 MHz



**Figura III.8** Diagrama de Smith (esquerda) e variação do parâmetro dB ( $S_{11}$ ) com a frequência para o PVDF número 7 após a adaptação elétrica para uma frequência de 10,77 MHz