

POLITECNICO DI MILANO

Facoltà di Ingegneria dei Sistemi

Corso di Laurea Magistrale in Ingegneria Biomedica



**PROGETTAZIONE NUMERICA DI UN MICRO
MISCELATORE PER APPLICAZIONI
BIOMEDICALI**

Relatore: Prof. Gabriele DUBINI

Correlatore: Prof. Luca CORTELEZZI

Tesi di Laurea di:

Simone FERRARI

Matricola 783137

Anno Accademico 2013-2014

Indice

| | |
|---|----|
| Sommario | I |
| Abstract | VI |
| Obiettivo della Tesi | X |
| Capitolo 1 | |
| Introduzione e Stato dell'arte | 1 |
| 1.1 Tecnologie microfluidiche e sistemi Lab-on-Chip..... | 1 |
| 1.2 Micro miscelatori..... | 3 |
| 1.3 Applicazioni dei micro miscelatori..... | 5 |
| 1.4 Classificazione dei micro miscelatori..... | 8 |
| Capitolo 2 | 12 |
| Formulazione Matematica e Numerica del problema | |
| 2.1 Definizione del problema..... | 12 |
| 2.2 Formulazione analitica..... | 15 |
| 2.3 Adimensionalizzazione delle equazioni governanti..... | 17 |
| 2.4 Risoluzione numerica..... | 20 |
| Capitolo 3 | 25 |
| Design e Performance del micro miscelatore | |
| 3.1 Dimensioni e portate di riferimento..... | 25 |
| 3.2 Relazione tra numero di Strouhal e performance del miscelatore..... | 27 |
| 3.3 Relazione tra geometria e performance del miscelatore..... | 33 |
| 3.4 Inserimento di un ostacolo..... | 44 |
| 3.5 Modelli tridimensionali..... | 49 |
| 3.6 Scaling del dispositivo..... | 57 |
| Capitolo 4 | |
| Conclusioni | 59 |
| Bibliografia | 62 |

Sommario

Introduzione

La microfluidica è “la scienza e tecnologia dei sistemi che processano o manipolano piccole (da 10^{-9} a 10^{-18} litri) quantità di fluidi all’interno di canali con dimensioni che vanno dalle decine alle centinaia di micrometri” (Whitesides, 2006). Gli stimoli all’iniziale sviluppo della microfluidica, cresciuto enormemente soprattutto a partire dagli anni ’80, vennero da quattro settori principali: analisi molecolare, biodifesa, biologia molecolare e microelettronica. Il successivo sviluppo di tecniche di micro fabbricazione sempre più sofisticate e di nuovi componenti è andato di pari passo con la rapida crescita del numero di applicazioni, soprattutto in ambito biotecnologico. La nuova frontiera della microfluidica è però rappresentata dalla possibilità di integrare tutte le funzioni di un laboratorio su di un sistema di pochi centimetri quadrati, realizzando un cosiddetto Lab-on-a-Chip (Figura A).

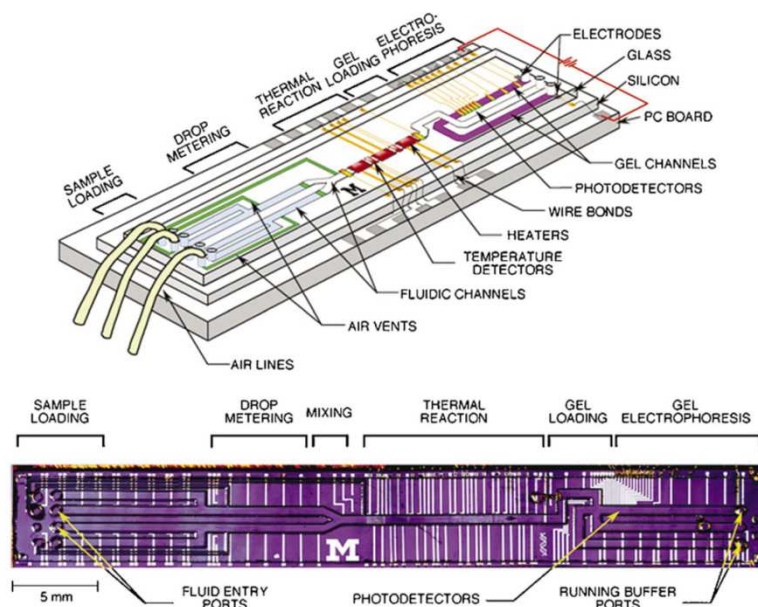


Figura A Esempio di Lab-On-a-Chip (riprodotta da “An integrated nanoliter DNA analysis device” by Burns et al., 1998)

I micro miscelatori sono una delle componenti più importanti dei sistemi microfluidici. Sono infatti necessari nella maggior parte dei sistemi integrati per applicazioni chimiche, biologiche e biomedicali. La progettazione dei micro miscelatori presenta alcune criticità legate soprattutto all'impossibilità di operare una semplice miniaturizzazione dei miscelatori macroscopici. Proprietà come il rapporto superficie-volume e caratteristiche fisiche come la tensione superficiale e la diffusione non scalano infatti linearmente nel passare da dispositivi macroscopici a dispositivi microscopici. Le peculiari condizioni di funzionamento dei micro miscelatori, spesso operanti in regimi di moto fortemente laminari e debolmente diffusivi, rendono necessaria la generazione della chaotic advection (Aref, 1984) per realizzare dispositivi sufficientemente compatti e veloci.

I micro miscelatori vengono generalmente classificati in due grandi categorie: passivi e attivi. I primi non richiedono fonti di alimentazione esterna oltre a quella di alimentazione del flusso e sono geometricamente progettati per massimizzare l'interfaccia tra le specie e minimizzare le distanze di diffusione. I secondi sfruttano invece l'azione di un campo esterno applicato per generare chaotic advection. I micro miscelatori attivi presentano, in generale, miglior efficienza e minor tempo e lunghezza di miscelazione. Sono però più difficilmente integrabili in sistemi complessi rispetto a molti micro miscelatori passivi, che sono stati quindi spesso preferiti.

Questo lavoro ha l'obiettivo di progettare numericamente un micro miscelatore di tipo attivo per applicazioni in ambito biomedicale integrabile in sistemi Lab-on-Chip.

Formulazione matematica e numerica del problema

Il problema consiste nel modellare la miscelazione di due fluidi incomprimibili all'interno di un micro miscelatore di tipo attivo. La progettazione comprende sia l'individuazione della geometria in grado di fornire la migliore miscelazione, sia la scelta e l'implementazione del tipo di attuazione esterna (forcing) da applicare per accelerare il processo di miscelazione. La geometria è stata ripresa da un lavoro di Cubaud (2009), ed è riportata in Figura B, mentre il tipo attuazione, ripreso da un lavoro di Sugano e collaboratori (2011) consiste nel forzare l'oscillazione nel tempo delle portate nei canali laterali in modo da favorire la formazione di lamelle alternate di differente concentrazione successivamente sottoposte a folding e stretching.

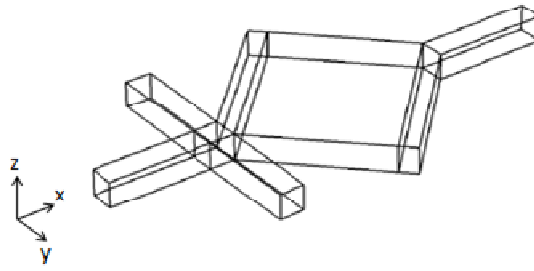


Figura B Geometria del problema

Le equazioni governanti del problema sono le equazioni di Navier-Stokes per fluidi incomprimibili e l'equazione di diffusione trasporto, non risolvibili analiticamente in questo caso particolare e quindi discretizzate e risolte per mezzo di metodi numerici quali il Metodo degli Elementi Finiti e il Metodo dei Volumi Finiti, su cui si basa la maggior parte dei codici commerciali. Le simulazioni numeriche effettuate sono state mirate ad indagare la relazione tra frequenza di forcing e performance del micro miscelatore e la relazione tra geometria e performance del micro miscelatore. E' stata infine studiata la possibilità di ottenere la stessa miscelazione a scale dimensionali differenti, ovvero la scalabilità del micro miscelatore.

Design e performance del micro miscelatore

Per caratterizzare la relazione tra frequenza di forcing e performance del micro miscelatore sono stati testati quattro diversi valori di frequenza di forcing mantenendo costante il volume di fluido pompato durante ogni ciclo. I risultati ottenuti mostrano che passando da basse a medie frequenze di forcing la performance del micro miscelatore migliora sensibilmente. A più alte frequenze di forcing, invece, ad incrementi anche notevoli della frequenza di forcing non corrispondono altrettanto importanti miglioramenti della miscelazione (Figura C). La relazione individuata spinge a studiare la possibilità di migliorare la performance del micro miscelatore migliorandone la geometria.

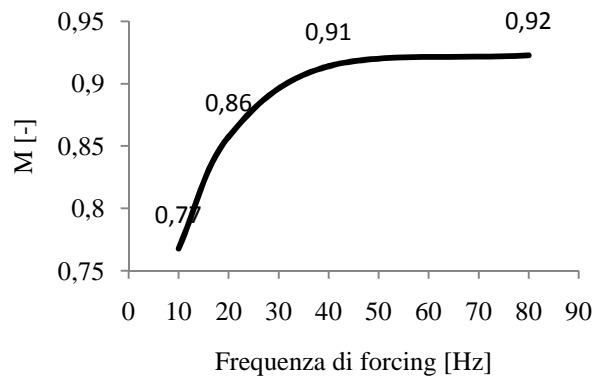


Figura C Relazione tra frequenza di forcing e performance del micro miscelatore (M)

Fissando la frequenza di forcing è stata quindi indagata la possibilità di ottenere un miglioramento della performance del miscelatore per mezzo di alcune modifiche alla geometria. Le modifiche apportate hanno avuto un duplice obiettivo: estendere l'azione del forcing anche all'interno della cameretta attraverso la biforcazione del flusso proveniente dai canali laterali, e favorire una maggiore espansione del flusso e quindi un maggiore stretching delle lamelle. Per il primo è stata modificata l'inclinazione dei canali laterali, per il secondo è stata invece cambiata la forma della cameretta, da quadrata a circolare. Infine è stata valutata l'opportunità di inserire un ostacolo circolare all'interno della cameretta, per migliorare ulteriormente la miscelazione.

I risultati ottenuti dimostrano la possibilità di ottenere miglioramenti notevoli della performance del micro miscelatore attraverso il miglioramento del design, più che applicando elevate frequenze di forcing. I modelli bidimensionali con la geometria ottimizzata, senza e con inserito l'ostacolo sono stati estesi a modelli tridimensionali, con l'obiettivo di riprodurre più realisticamente il flusso dei due fluidi all'interno del micro miscelatore. Confrontando i risultati con quelli ottenuti con i modelli bidimensionali si notano alcune differenze principalmente dovute all'effetto delle forze di attrito agenti lungo le pareti superiore e inferiore della cameretta.

Nell'analizzare la possibile scalabilità del micro miscelatore, sono stati mantenuti costanti i valori dai numeri adimensionali utilizzati per descrivere le condizioni di funzionamento del dispositivo (numeri di Reynolds, Strouhal e Peclèt). La legge di scalabilità ottenuta indica un rapporto quadratico inversa tra il fattore di scala e la frequenza di forcing.

Conclusioni

Le principali conclusioni del presente studio si possono riassumere nei seguenti punti:

- l'attuazione attiva gioca un ruolo cruciale nel determinare la performance del micro miscelatore, promuovendo la formazione di lamelle alternate di concentrazione.
- per basse frequenze di forcing la performance del micro miscelatore progettato migliora notevolmente con modesti incrementi della frequenza. Per alte frequenze di forcing invece, ad elevati incrementi della frequenza non corrispondono altrettanto importanti miglioramenti della miscelazione.
- la performance del micro miscelatore può essere notevolmente migliorata, mantenendo costante la frequenza di forcing, apportando modifiche mirate alla geometria.
- la scalabilità del dispositivo è condizionata dal rapporto quadratico inverso tra fattore di scala frequenza di forcing.
- complessivamente il micro miscelatore ha una performance competitiva con i migliori prodotti esistenti e risulta integrabile in sistemi Lab-on-Chip per un vasto insieme di applicazioni.

Abstract

Introduction

Microfluidics is the “the science and technology of systems that process or manipulate small amounts of fluids (10^{-9} to 10^{-18} liters), using channels with dimensions of ten to hundreds of micrometers” (Whitesides, 2006). Stimuli to the initial development of microfluidics, grown above all since the 80s, came from four main areas: molecular analysis, biodefence, molecular biology and microelectronics. The development of manufacturing techniques more and more sophisticated has accompanied the rapid growth in the number of applications, especially in the field of biotechnology. The new goal of microfluidics is represented by the possibility to integrate all the functions of a laboratory on a system of few square centimeters, realizing a so-called Lab-on-a-Chip (Figure A).

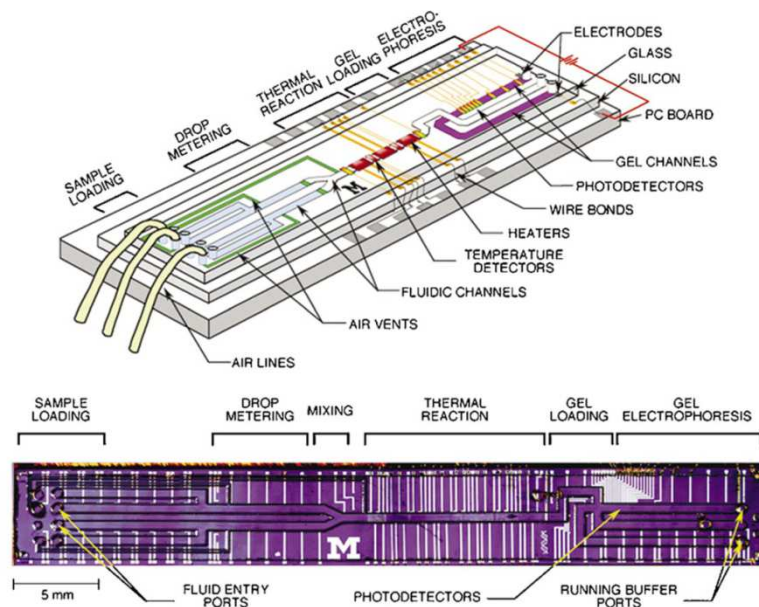


Figure A Example of Lab-On-a-Chip (reproduced from “An integrated nanoliter DNA analysis device” by Burns et al., 1998)

Micromixers are one of the most important components of microfluidic systems. They are indeed necessary in most of chemical, biological and biomedical applications. The design of micromixers presents some problems mainly due to the impossibility of simply miniaturizing macroscopic mixers. Properties such as surface-to-volume ratio and physical characteristics such as surface tension and diffusion do not scale linearly in going from large to small devices. The peculiar operating conditions of micromixers, often operating in highly laminar and weakly diffusive flow regime, makes necessary the generation of chaotic advection (Aref, 1984) to realize sufficiently compact and fast devices.

In general, micromixers can be classified in two major categories: passive micromixers and active micromixers. The former do not require external power sources in the addition to the power of the flow and are geometrically designed to maximize the interface between species and minimize the distances of diffusion. The second, instead, exploit the action of an external field applied to generate chaotic advection. Active micromixers have, in general, better efficiency and less time and length of mixing. However, they are more difficult to integrate in complex systems compared to many passive micromixers, which were therefore often preferred.

Mathematical and numerical formulation of the problem

We want to model the mixing of two incompressible fluids within an active micromixer. The design process includes both the identification of the geometry that can provide the better mixing, and the choice and implementation of the type of external actuation (forcing) which must be applied to accelerate the mixing process. The geometry was taken from a work of Cubaud (2009), and is shown in Figure B, while the type of actuation, taken from a work of Sugano et al. (2011) consists in forcing the oscillations of the flow rates in the side channels in order to favor the formation of alternate lamellae of different concentration subsequently subjected to stretching and folding.

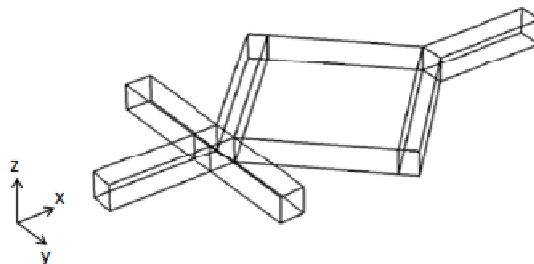


Figure B Geometry of the problem

The governing equations of the problem are the Navier-Stokes equations for incompressible fluids and the advection-diffusion equation, not solvable analytically in this case and then discretized and solved using numerical methods such as the Finite Elements Method (Quarteroni, 2007) and the Finite Volume Method (Versteeg, 2007), on which are based most of the commercial codes. We performed numerical simulations in order to investigate the relationship between the frequency of forcing and the performance of the micromixer and the relationship between the geometry and the performance of the micromixer. Then we studied the possibility of obtaining the same performance at different dimensional scales (i.e. scalability of the device).

Design and performance of the micromixer

To characterize the relationship between the frequency of forcing and the performance of the micromixer, we tested four different values of frequency, keeping constant the volume of fluid pumped during each cycle. The results obtained show that going from low to medium frequencies of forcing the performance of the micromixer significantly improves. At higher frequencies of forcing, however, significant increases in the forcing frequency do not produce equally important improvements of the mixing (Figure C). The identified relationship suggests to investigate the possibility of improving the performance of the micromixer improving the geometry.

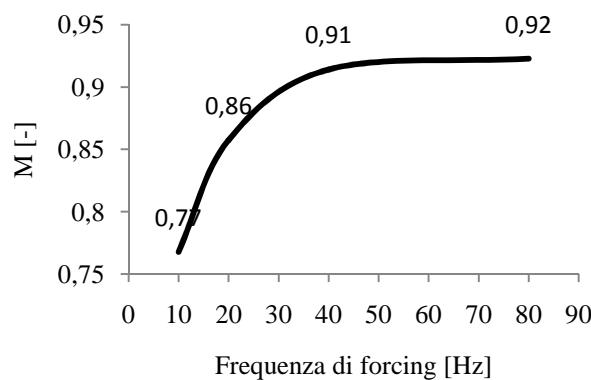


Figure C Relationship between frequency of forcing and performance of the micromixer

Thus setting the frequency of forcing to 40 Hz, we investigated the possibility of obtaining an improvement of the performance of the mixer through some changes in the geometry. The changes made have had a dual purpose: to extend the action of forcing even inside the

chamber through the bifurcation of the flow coming from the side channels, and encourage a greater expansion of the flow and therefore a greater stretching of the lamellae. For the first, we changed the angle of the side channels, for the second we changed the shape of the chamber, from square to circular. Finally, we evaluated the opportunity of insert a circular obstacle inside the chamber, to further improve mixing.

The results obtained demonstrate the possibility of obtaining significant improvements of the performance of the micromixer through the improvement of the design, rather than applying higher frequencies of forcing. The two-dimensional models with the optimized geometry, with and without the added obstacle have been extended to three-dimensional models, with the goal of reproduce the flow of the two fluids inside the micromixer more realistically. Comparing the results with those obtained with the two-dimensional models we noticed some differences mainly due to the effects of the frictional forces acting along the upper and lower walls of the chamber.

Analyzing the possible scalability of the micromixer, we kept constant the values of the dimensionless numbers used to describe the operating conditions of the device (Reynolds, Strouhal and Peclet numbers). The scaling law obtained indicates an inverse quadratic relationship between the scale factor and the frequency of forcing.

Conclusions

The main conclusions of this study can be summarized as follow:

- the active actuations plays a crucial role in determining the performance of the micromixer, promoting the formation of alternate lamellae of concentration.
- At low frequencies of forcing the performance of the micromixer designed greatly improves with little increases of frequency. At high frequencies of forcing, high increases of frequency do not produce equally important improvements of mixing.
- The performance of the micromixer can be significantly improved, while maintaining a constant frequency of forcing, making targeted changes of the geometry.
- Scalability of the device is characterized by an inverse square relationship between scale factor and frequency of forcing.
- The micromixer has a competitive performance and can be integrated into Lab-on-Chip systems for a wide range of applications.

Obiettivo della Tesi

L'obiettivo dell'attività di ricerca svolta è stato progettare un micro miscelatore attivo integrabile in un Lab-on-Chip (LoC) per applicazioni in campo biomedicale. Il progetto deve rispettare i seguenti requisiti: 1) *dimensioni ridotte*. Il miscelatore deve poter trattare volumi di fluido molto piccoli, dell'ordine del nanolitri; 2) *velocità di mescolamento elevata*. Il dispositivo deve essere in grado di miscelare completamente due fluidi in tempi dell'ordine dei secondi; 3) *semplicità costruttiva*; 4) *riutilizzabilità*. Si vuole poter utilizzare lo stesso miscelatore per differenti applicazioni, per cui il dispositivo deve essere anche abbastanza facile da pulire; 5) *scalabilità*, un obiettivo di molti progetti ingegneristici. La possibilità di riprodurre condizioni di funzionamento confrontabili su scale dimensionali differenti, rappresenta un traguardo notevole, tuttavia, nella maggior parte dei casi, i dispositivi sono difficilmente scalabili o comunque è molto difficile risalire alla legge di scalabilità.

La scelta di un micro miscelatore di tipo attivo è strettamente legata ai requisiti posti. Si vuole infatti progettare un micro miscelatore che abbia dimensioni ridotte rispetto alla maggior parte dei dispositivi passivi in uso e che offra tempi di mescolamento inferiori. Nella scelta del tipo della forzante da applicare per accelerare il processo di miscelazione si vuole mantenere da una parte quanto più possibile semplice l'integrazione del dispositivo all'interno di sistemi LoC, e dall'altra quanto più possibile ampio l'insieme delle potenziali applicazioni.

Capitolo 1

Introduzione e Stato dell'arte

1.1 Tecnologie microfluidiche e sistemi Lab-on-Chip

La microfluidica è “la scienza e tecnologia dei sistemi che processano o manipolano piccole (da 10^{-9} a 10^{-18} litri) quantità di fluidi all'interno di canali con dimensioni che vanno dalle decine alle centinaia di micrometri” (Whitesides, 2006). Le origini della microfluidica possono essere rintracciate in quattro principali campi: analisi molecolare, biodifesa, biologia molecolare e microelettronica. Tecniche come la cromatografia a fase gassosa, la cromatografia liquida ad alta pressione e l'elettroforesi capillare hanno rivoluzionato il settore delle analisi chimiche rendendo possibile l'ottenimento di elevate sensibilità e risoluzione utilizzando sempre minori quantità di materiale. Gli ottimi risultati forniti da questi metodi hanno incoraggiato lo sviluppo di micro- e nano-dispositivi per effettuare analisi chimiche a scale sempre minori.

Una differente motivazione per lo sviluppo dei sistemi microfluidici venne dalla necessità di fronteggiare le minacce poste dalle armi chimiche e biologiche. Nei primi anni '90, il dipartimento della difesa degli USA finanziò una serie di programmi finalizzati allo sviluppo di dispositivi microfluidici portatili per la rilevazione di sostanze pericolose, che stimolarono la rapida crescita della tecnologia microfluidica. Altri stimoli vennero dalla biologia molecolare, soprattutto a partire dagli anni '80, in coincidenza con il crescente interesse, da parte del mondo scientifico, nel campo della genomica che richiedeva metodi di elevata velocità, sensibilità e risoluzione, ottenibili solo con la microfluidica. Un'altra importante sollecitazione venne dalla microelettronica. Si pensava infatti che la fotolitografia e le tecnologie associate, di uso consolidato nella microelettronica del silicio e nei sistemi microelettromeccanici (MEMS), potessero essere direttamente applicate alla

microfluidica, ottenendo risultati simili. Alcuni dei primi sistemi microfluidici impiegavano infatti silicio e vetro, ma presto questi materiali vennero rimpiazzati dai polimeri, principalmente per il fatto che né il vetro né il silicio possiedono le proprietà di biocompatibilità richieste per lavorare con cellule e campioni biologici.

Nel corso degli ultimi due decenni, lo sviluppo di nuove tecniche di fabbricazione e di nuovi componenti (micro canali, valvole, miscelatori, pompe) è cresciuto rapidamente insieme al numero di nuove applicazioni. La nuova frontiera della microfluidica è rappresentata dalla possibilità di integrare tutte le funzioni di un laboratorio, compresi trasferimento dei campioni, prelievo di un preciso volume di prodotto, miscelazione, riscaldamento, titolazione ecc., su di un sistema di pochi centimetri quadrati, attraverso la realizzazione di un cosiddetto *Lab-On-a-Chip*, come mostrato nella Figura 1.1.

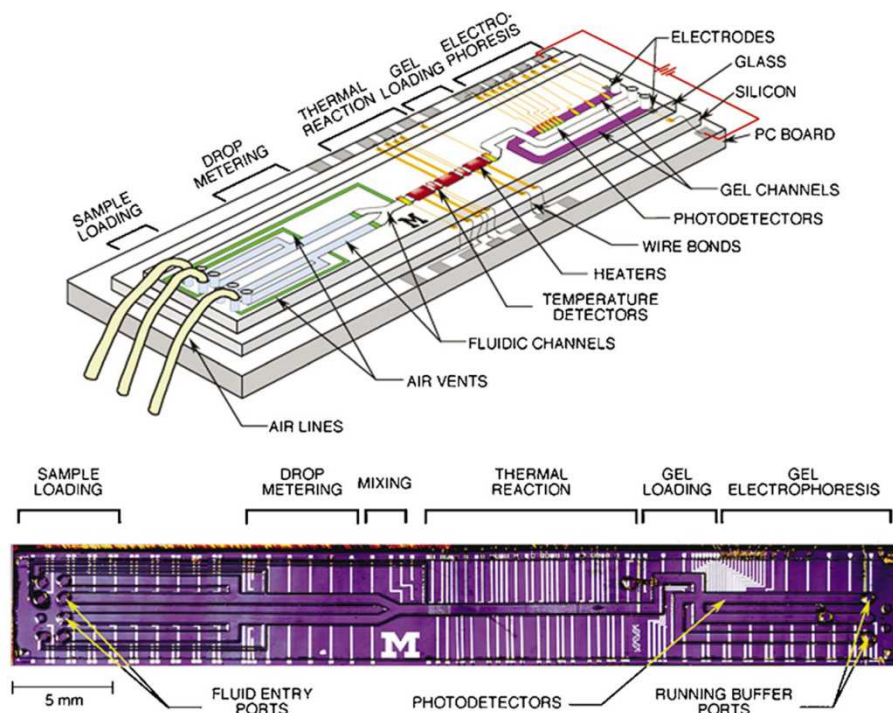


Figura 1.1 Esempio di Lab-On-a-Chip (riprodotta da “An integrated nanoliter DNA analysis device” by Burns et al., 1998)

Un Lab-on-Chip (LoC) è un microsistema complesso che comprende, oltre a una fitta rete di canali, componenti quali pompe, miscelatori, valvole, sensori ecc. a seconda dell'applicazione a cui è rivolto. La microfluidica presenta alcuni vantaggi intrinseci molto promettenti per la realizzazione di LoC: volumi ridotti dei fluidi trattati, elevata velocità

delle reazioni, basso consumo di energia e basso costo. L'obiettivo di realizzare dispositivi LoC per applicazioni pratiche va incontro però alla difficoltà di integrare numerosi componenti, comprese attrezzature di supporto (e.g. pompe), componenti per la rilevazione (e.g. sensori) e moduli per la preparazione dei campioni (e.g. miscelatori) in un'unica piattaforma completamente automatizzata, facilmente accessibile da parte degli utenti finali (Mark et al., 2010; Mariella, 2008).

Negli ultimi anni sono stati sviluppati numerosi sistemi microfluidici per un'ampia gamma di applicazioni in bioingegneria, fornendo risultati positivi nei test di laboratorio. Tuttavia, la maggior parte dei sistemi microfluidici esistenti sono praticamente chip-in-a-lab, invece che lab-on-a-chip, e possiedono solo funzionalità limitate (Whitesides, 2010). Più recentemente sono state sviluppate diverse strategie per l'effettiva integrazione di più componenti microfluidici sullo stesso chip, rendendo realistici sistemi LoC completamente automatizzati per sofisticate analisi biomediche (Haeberle & Zengerle, 2007).

1.2 Micro miscelatori

I micro miscelatori sono una componente importante dei sistemi microfluidici. La miscelazione rapida è essenziale nei sistemi microfluidici integrati per applicazioni chimiche, biologiche e biomedicali. Quando si progettano micro miscelatori, non è in generale possibile operare una semplice miniaturizzazione dei dispositivi macroscopici. Proprietà come il rapporto superficie-volume, e caratteristiche fisiche come la tensione superficiale e la diffusione, infatti, non scalano linearmente nel passaggio da dispositivi macroscopici a dispositivi microscopici. E' importante quindi tenere in attenta considerazione alcune caratteristiche peculiari del comportamento dei fluidi alle microscale.

Per descrivere le condizioni di funzionamento dei micro miscelatori generalmente si usano tre parametri adimensionali:

1) Il *numero di Reynolds*

$$Re = \frac{\rho v L}{\mu},$$

dove ρ e μ sono la densità e la viscosità dinamica del fluido, v è la velocità del fluido e L è il diametro idraulico del canale. Il numero di Reynolds rappresenta il rapporto tra le forze inerziali e le forze viscosi e viene utilizzato per classificare i regimi di flusso. A bassi

numeri di Reynolds (≤ 100) gli effetti viscosi dominano e il flusso è laminare. Ad alti numeri di Reynolds (≥ 5000), vice versa, le forze inerziali dominano e il flusso è turbolento. Tra questi due regimi di flusso, esiste un intervallo di transizione (per esempio nei canali, in molte situazioni, $Re=1500-2500$ (Nguyen & Wereley, 2002)) che è funzione di molti parametri quali la forma e rugosità superficiale del dispositivo considerato.

2) Il numero di Peclèt

$$Pe = \frac{vL}{D}$$

dove D è il coefficiente di diffusività molecolare. Il numero di Peclèt rappresenta il rapporto tra trasporto di massa dovuto alla convezione e quello dovuto alla diffusione. Ad alti numeri di Peclèt ($Pe \geq 10^4$) la convezione è dominante, mentre a bassi numeri di Peclèt ($Pe \leq 10^2$) la diffusione è dominante.

E nel caso di micro miscelatori attivi

3) Il numero di Strouhal

$$St = \frac{fL}{v}$$

dove f è la frequenza della forzante usata per migliorare la performance di un micro miscelatore attivo. Individuando nel rapporto tra lunghezza e velocità caratteristiche (L/v) il tempo durante il quale un fluido risiede all'interno del dispositivo, il numero di Strouhal rappresenta il rapporto tra il tempo di permanenza delle specie nel miscelatore e il periodo della forzante.

In ambiente microfluidico, il numero di Reynolds è, nella maggior parte dei casi, molto piccolo (spesso $Re < 1$). In molti casi comuni, inoltre, il trasporto convettivo è più veloce del trasporto diffusivo, cioè il numero di Peclèt è solitamente grande. In questi regimi di moto la miscelazione è difficile. Per mischiare due fluidi che si muovono parallelamente di moto laminare in un micro canale dritto e liscio, per mezzo della sola diffusione, la lunghezza necessaria per completare la miscelazione è molto elevata e cresce linearmente con il numero di Peclèt. Per ridurre la lunghezza e quindi il tempo di miscelazione deve essere generata nel flusso la chaotic advection (Aref, 1984) tramite una sequenza di stretching e folding.

L'azione di stretching e folding fa crescere esponenzialmente con il tempo l'interfaccia tra i fluidi da mischiare e crea lamelle esponenzialmente fini. Si riduce in questo modo la distanza lungo la quale deve agire la diffusione, lo spessore delle lamelle, per

omogeneizzare il fluido. Di conseguenza è possibile progettare micro miscelatori più compatti e più veloci delle convenzionali spirali o serpentine.

1.3 Applicazioni dei micro miscelatori

La microfluidica presenta diverse caratteristiche potenzialmente utili in biologia, chimica, ingegneria e medicina. In particolare, essa offre strutture con scale di lunghezza confrontabili con le dimensioni intrinseche delle cellule procariote ed eucariote, degli organelli, e con la scala di lunghezza della diffusione dell'ossigeno e dell'anidride carbonica nei tessuti (Weibel & Whitesides, 2006), vedi Figura 1.2.

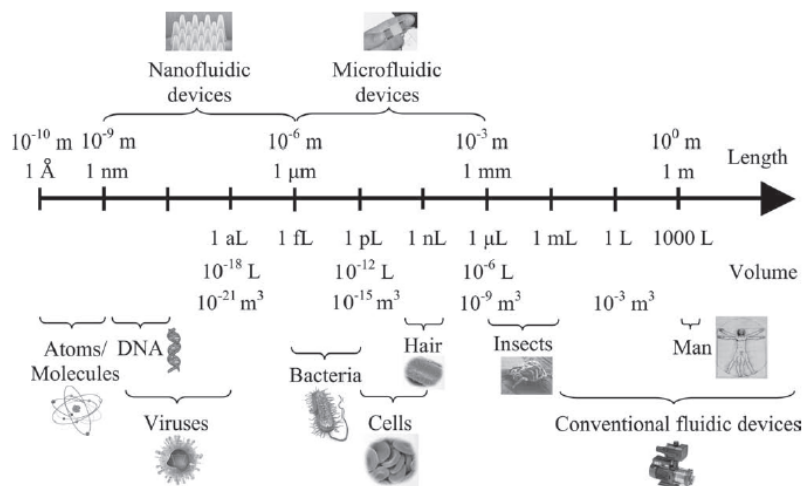


Figure 1.2 Scale di lunghezza caratteristiche dei sistemi micro- e nano-fluidici in relazione a varie entità biologiche (riprodotta da “Microfluidic devices for bioapplications” by Yeo et al., 2011)

Le principali applicazioni dei micro miscelatori, sia integrati in sistemi LoC che operanti come dispositivi a sé stanti, appartengono a tre campi principali: chimica, biologia e analisi di rilevamento. Le applicazioni chimiche comprendono: 1) *cristallizzazione* (Stahl et al., 2001), che gioca un ruolo importante nel settore dello sviluppo farmaceutico e rispetto ai metodi convenzionali, fornisce un'elevata flessibilità e controllabilità. 2) *estrazione* (soprattutto estrazione di solvente), importante nei processi biochimici come analisi del sangue, nei sistemi di micro dosaggio e negli esperimenti cellulari. L'elevato rapporto superficie-volume e le brevi lunghezze di miscelazione favoriscono il trasporto di massa all'interfaccia tra le fasi. In un importante studio, condotto da Yun e Yoon (2004), ad esempio, fu sviluppato un micro miscelatore a serpentina per l'estrazione di campioni di DNA dal sangue, in portate comprese tra 10 e 70 μL/min (vedi Figura 1.3). 3)

polimerizzazione. Fattori critici per la buona riuscita del processo sono temperatura, identità e concentrazione di un iniziatore acido e caratteristiche del micro miscelatore. L'elevato rapporto superficie-volume permette un migliore controllo termico delle reazioni. La soluzione è facilmente omogeneizzata a causa della piccola scala di miscelazione, che permette un rapido trasporto di massa diffusivo relativamente alla durata della reazione di polimerizzazione. 4) *sintesi organica*, ad esempio per lo sviluppo di farmaci. Molti processi chimici sono stati studiati e riportati nel corso degli ultimi decenni (per esempio Pennemann et al., 2004; Hessel & Lowe, 2005; Daito et al., 2006), mostrando che la microfluidica, in questo campo, può portare a un incremento di resa e selettività attraverso miscelazione rapida e miglior controllo termico.

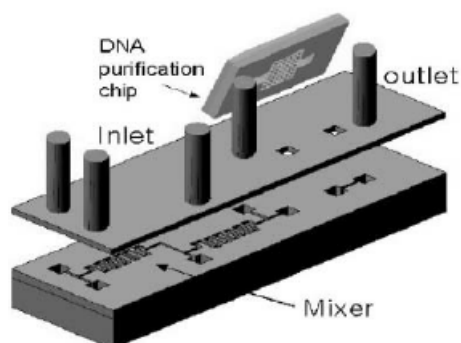


Figure 1.3 Sistema microfluidico per la preparazione di campioni di DNA (riprodotto da “Microfluidic components and bio-reactors for miniaturized bio-chip applications” by Yun & Yoon, 2004)

Le applicazioni biologiche includono: 1) *saggi enzimatici*, ampiamente utilizzati in chimica clinica e biologica per misurare l'attività enzimatica (Burke, 2003). L'integrazione dei saggi enzimatici in sistemi microfluidici riduce i costi e i consumi di campioni, e potenzialmente può portare alla rapida miscelazione dei reagenti con gli enzimi e al rilevamento di concentrazioni di piccole molecole. Pionieristica fu la ricerca di Hadd et al. (1997), che integrarono un saggio enzimatico in un T-mixer (vedi Figura 1.4), dove precise concentrazioni di substrato, enzima e inibitore, venivano miscelate in volumi di poche decine di nanolitri.

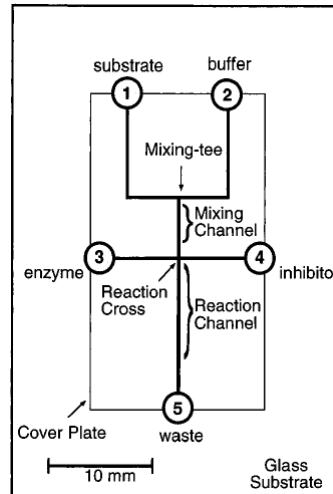


Figura 1.4 Schema del chip per l'analisi enzimatica (riprodotto da "Microchip device for performing enzyme assays" by Hadd et al., 1997)

2) *screening biologico*, che è stato implementato in micro canali per il sorting selettivo di biomolecole (per esempio Sundberg, 2000; Dunn & Feygin, 2000; Battersby & Trau, 2002) e il sorting di cellule bersaglio (Dittrich et al., 2005). Le tecniche di micro miscelazione sono in grado di produrre l'elevata velocità necessaria per la parallelizzazione massiva del sorting molecolare, e per l'investigazione di piccoli volumi di campioni al fine di trovare una specifica molecola. 3) *processi bio-analitici*, quali separazione cellulare (Hsu & Folch, 2006), lisi cellulare (Lu et al., 2005), analisi di DNA (Chang, Y H et al., 2006), e μ TAS (Min et al., 2004). Chun et al. (2008), ad esempio, impiegarono un micro miscelatore integrato con un estrattore ionico polielettrolitico per indagare il processo di lisi cellulare. Il micro miscelatore realizzò la rapida ed efficiente lisi di globuli rossi con minimo danno dei globuli bianchi. 4) *folding delle proteine*, rilevante in una serie di tumori e malattie genetiche, e studiato nelle attività di genomica. Poiché il folding si verifica su scale temporali da nano a millisecondi, i micro miscelatori adatti per processi di folding delle proteine permettono una rapida miscelazione entro tempi dell'ordine di millisecondi (Roder & Wuthrich, 1986).

Le applicazioni per il rilevamento di prodotti chimici o biochimici si basano sulle tecniche di spettroscopia NMR e FT-IR. I metodi analitici non distruttivi hanno prodotto una serie di vantaggi per i processi chimici e biochimici. Le tecniche spettroscopiche sono ad esempio utilizzate per analizzare i prodotti delle reazioni chimiche, per rilevare folding delle proteine su brevi scale temporali, mentre la NMR può essere utilizzata per analizzare le strutture molecolari. Recentemente, sono state introdotte alcune tecniche analitiche per

la rilevazione di prodotti chimici e biochimici usando micro miscelatori. Queste potrebbero rilevare cambiamenti nella composizione del solvente in una soluzione proteica su scala temporale di alcuni secondi.

L'integrazione di micro miscelatori con strumenti miniaturizzati per la NMR ha permesso l'analisi strutturale di una proteina utilizzando volumi di pochi microlitri, senza significativa perdita di sensibilità (Wensink et al., 2005). L'integrazione di una cella di trasmissione IR convenzionale con un micro miscelatore fu usata per studiare il cambiamento di conformazione di una proteina indotto chimicamente (Kakuta et al., 2003). Quest'approccio è particolarmente attraente perché richiede un tempo di reazione dell'ordine dei secondi, un piccolo consumo di reagente e un percorso di reazione micrometrico, e fornisce quindi un metodo semplice e affidabile.

1.4 Classificazione dei micro miscelatori

In generale i micro miscelatori possono essere classificati, a seconda del principio di base che adottano, in due grandi categorie: passivi e attivi. Nei micro miscelatori passivi, che non richiedono fonti di energia esterne oltre a quella di alimentazione del flusso, la geometria del micro canale è specificamente progettata per aumentare area e tempo di contatto tra le specie e per ridurre le distanze di diffusione. I micro miscelatori attivi sfruttano invece la perturbazione generata da un campo esterno sul flusso per generare chaotic advection ed accelerare il processo di diffusione.

I micro miscelatori passivi possono essere ulteriormente classificati a seconda della disposizione delle fasi miscelate: 1) laminazione parallela, il cui design di base è un lungo microcanale con due inlet, il cosiddetto T-mixer (Kamholz et al., 1999) vedi Figura 1.5(a), o lo Y-mixer (Ismagilov et al., 2000) vedi Figura 1.5(b). Poiché tuttavia T- e Y-mixer dipendono interamente dalla diffusione molecolare e di conseguenza richiedono un canale molto lungo, sono stati sviluppati altri metodi per ridurre la lunghezza di miscelazione tra i quali laminazione parallela con flussi multipli (Jackman et al., 2001) vedi Figura 1.5(c) e focalizzazione idrodinamica (Knight et al., 1998) vedi Figura 1.5(d).

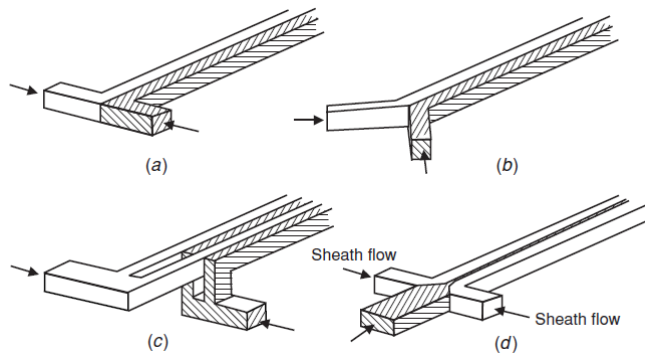


Figura 1.5 Micro miscelatori a laminazione parallela (riprodotta da “Micromixers - A review” by Nguyen & Wu, 2005)

2) laminazione seriale (per esempio Schwesinger et al., 1996, Gray et al., 1999); 3) iniezione (per esempio Miyake et al., 1993, Voldman et al., 2000); 4) chaotic advection (per esempio Johnson et al., 2002, Stroock et al., 2002, Kim et al., 2004). La chaotic advection può essere generata passivamente modificando la forma del canale di miscelazione per generare splitting, stretching, folding o breaking del flusso. I primi a studiare questo fenomeno furono Johnson e collaboratori (2004), che modificarono un microcanale a T creando una serie di solchi inclinati sulla parete di fondo utilizzando un laser (vedi Figura 1.6), la presenza dei quali determina un elevato grado di trasporto laterale all'interno del canale e la rapida miscelazione dei due fluidi.

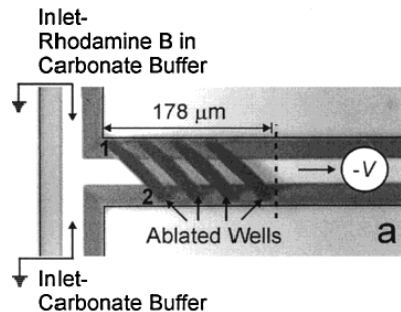


Figura 1.6 Configurazione del set up sperimentale di un microcanale a T con una serie di solchi inclinati sulla parete di fondo (riprodotta da “Rapid microfluidic mixing” by Johnson et al., 2002)

Un altro importante lavoro fu condotto da Stroock e collaboratori (2002) che, creando dei solchi sulla parete del micro canale, produssero il cosiddetto “herringbone mixer” (vedi Figura 1.7), che presenta interessanti caratteristiche: semplicità del design, che permette di integrarlo in strutture microfluidiche con tecniche di micro fabbricazione standard, versatilità (operando efficientemente in un vasto intervallo di numeri di Re e di Pe), aggiunge una resistenza trascurabile al flusso se confrontata con quella di un canale

semplice delle stesse dimensioni. 5) droplet (per esempio Paik et al., 2003, Song et al., 2003).

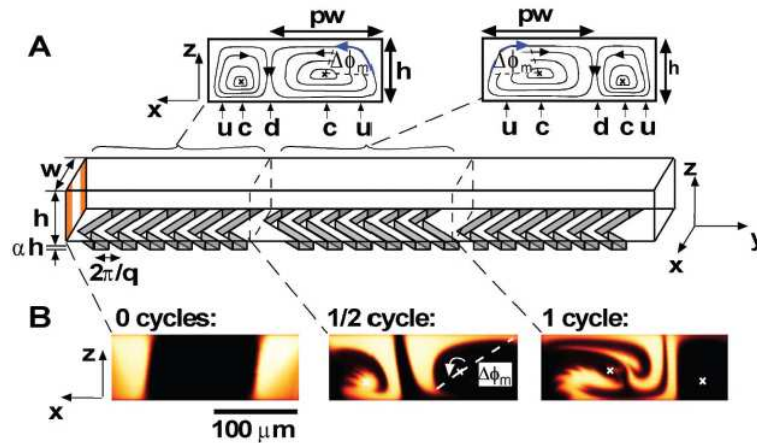


Figura 1.7 Schema dell'”herringbone mixer” (riprodotta da “Chaotic mixer for microchannels” by Stroock et al., 2002)

I micro miscelatori attivi possono essere ulteriormente classificati a seconda del tipo di effetti di disturbo esterno: 1) pressione, il cui primo esempio fu riportato da Deshmukh e collaboratori (2000), che integrarono un T-mixer con una micro pompa. Iniettando alternativamente i due fluidi dai due inlet viene realizzata la segmentazione seriale degli stessi, vedi Figura 1.8. Un altro modo per produrre disturbi di pressione è la generazione di velocità pulsanti, analizzato da Glasgow & Aubry (2003). Questo metodo presenta numerosi vantaggi come miscelazione rapida, efficacia di miscelazione anche a Re molto bassi ($Re=0.3$) e in geometrie molto semplici.

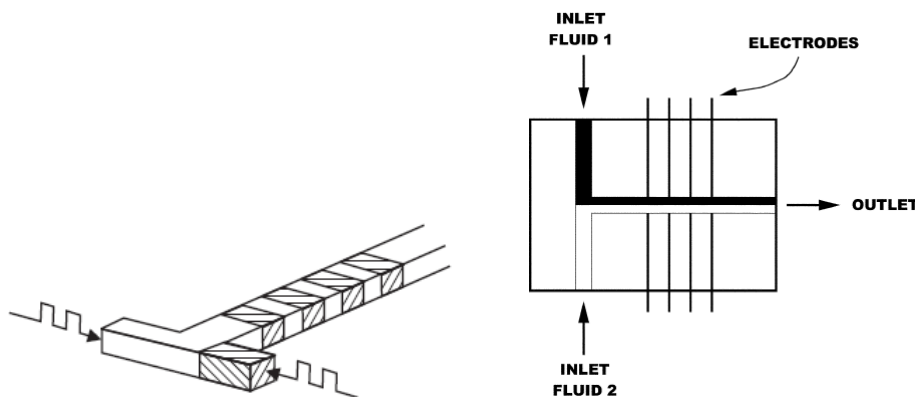


Figura 1.8 (a sinistra) Micro miscelatore a segmentazione seriale (riprodotta da “Micromixers - A review” by Nguyen & Wu, 2005); (a destra) schema di un T-channel con disturbi elettrodinamici (riprodotta da “Electrohydrodynamic microfluidic mixer” by El Moutar et al., 2003)

2) temperatura (per esempio Mao et al., 2002, Tsai & Lin, 2002). 3) elettroidrodinamici (El Moctar et al., 2003), per miscelare fluidi con differenti proprietà elettriche, implementabili ponendo una serie di elettrodi lungo il canale di miscelazione (Figura 1.8). Il campo elettrico generato, perpendicolare all'interfaccia tra i due fluidi, crea un flusso secondario trasversale, migliorando la miscelazione tra i due fluidi. 4) dielettroforetici (per esempio Lee et al., 2001, Deval et al., 2002); 5) elettrocinetici (per esempio Lettieri et al., 2000, Oddy et al., 2001). 6) magnetoidrodinamici, utilizzabili in presenza di soluzioni elettrolitiche (Bau et al., 2001). 7) acustici (Moroney et al., 1991), più difficili da applicare per l'analisi chimica e biologica a causa dell'aumento di temperatura.

Generalmente, i micro miscelatori attivi presentano migliori prestazioni in termini di efficienza, tempo e lunghezza di miscelazione. Rispetto ai micro miscelatori passivi, sono però più difficilmente integrabili in sistemi microfluidici complessi (LoC) e difficilmente implementabili per applicazioni pratiche, soprattutto a causa della necessità di una fonte di alimentazione esterna per generare le perturbazioni nel flusso. Sono stati quindi spesso sostituiti con più semplici micro miscelatori passivi.

Capitolo 2

Formulazione Matematica e Numerica del problema

2.1 Definizione del problema

Si vuole modellare la miscelazione di due fluidi incomprimibili all'interno di un micro miscelatore attivo. La geometria del problema, che costituirà il dominio del modello matematico corrispondente, è illustrata in Figura 2.1. I due fluidi da mescolare vengono iniettati da tre identici micro canali di ingresso a sezione quadrata che si intersecano all'imbocco di una cameretta, dove ha luogo gran parte del processo di miscelazione. La soluzione risultante fluisce quindi attraverso un micro canale di uscita, identico a quelli di ingresso, posto a valle della cameretta stessa.

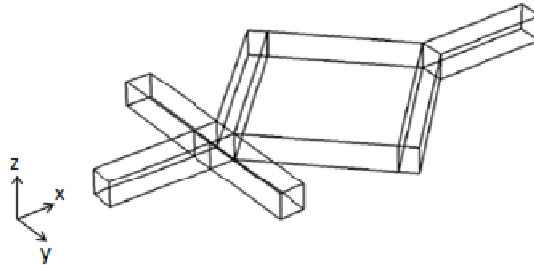


Figura 2.1. Geometria del problema

Questa particolare geometria è stata ispirata dal lavoro di Cubaud & Mason (2009), che hanno costruito il dispositivo schematizzato in Figura 2.2. Gli autori hanno studiato l'interazione tra fluidi con proprietà diverse, in particolare con viscosità molto differenti. Essi hanno sfruttato le deformazioni dell'interfaccia tra i due fluidi, prodotte per effetto della tensione superficiale, per mescolarli parzialmente.

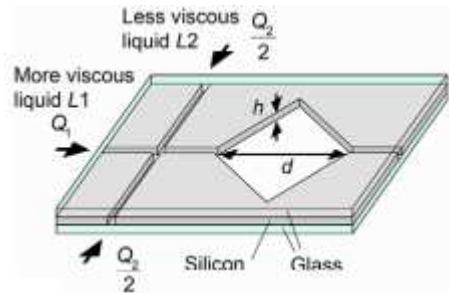


Figura 2.2 Geometria schematizzata del dispositivo utilizzato da Cubaud e Mason (riprodotta da “High-viscosity fluid threads in weakly diffusive microfluidic systems”, by Cubaud & Mason, 2009).

Per il tipo di applicazioni a cui è rivolto, il dispositivo che si vuole progettare ha decisamente un altro scopo. Esso deve essere in grado di miscelare completamente due fluidi, generalmente soluzioni acquose, con proprietà molto simili. Tuttavia è parso interessante l'utilizzo di una cameretta di miscelazione per favorire il mescolamento dei due fluidi pur conservando due importanti caratteristiche. Primo, la semplicità costruttiva, posta come requisito del progetto, non viene compromessa dall'inserimento della cameretta, a cui vengono semplicemente connessi i canali di ingresso e di uscita. Secondo, l'“efficienza energetica” del dispositivo, inversamente proporzionale alle perdite di carico, viene solo marginalmente peggiorata.

Il regime di moto fortemente laminare e debolmente diffusivo in cui deve operare il micro miscelatore oggetto dello studio non consente di ottenere una buona miscelazione in assenza di un'attuazione esterna (forcing) che promuova stretching e folding. Per verificarlo è stata effettuata una simulazione di riferimento in cui sono state applicate condizioni al contorno di velocità uniforme costante su tutte e tre le sezioni di ingresso (vedi Figura 2.3)

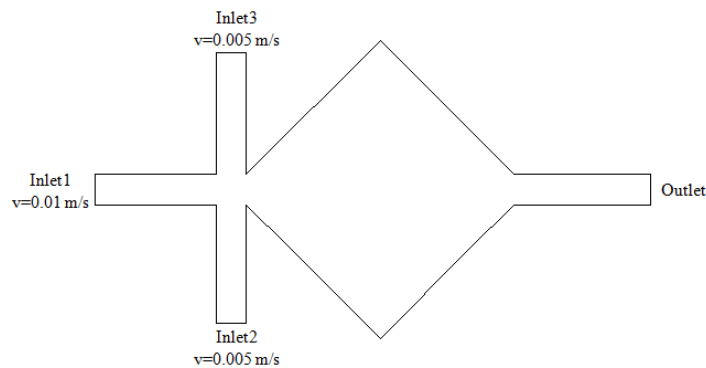


Figura 2.3 Condizioni di inlet stazionarie, applicate per verificare la necessità di applicare il forcing

La mappa di concentrazione ottenuta (Figura 2.4) mostra che in queste condizioni i due fluidi non vengono miscelati. All'intersezione dei canali di ingresso, dove si incontrano i due fluidi, si forma un'interfaccia molto regolare. Fluendo all'interno della cameretta il fluido a concentrazione $c=1$ (nelle figure, il fluido di colore bianco) si espande leggermente nel tratto divergente, per poi venire ricompresso nel tratto convergente che conduce al canale di uscita, sempre circondato dal fluido a concentrazione $c=0$ (nelle figure, il fluido di colore nero). I due fluidi fuoriescono separati: il fluido nero fluisce lungo le pareti mentre quello bianco rimane confinato al centro del canale. L'interfaccia tra i due fluidi si mantiene abbastanza netta, a conferma della debole azione svolta dalla diffusione molecolare.

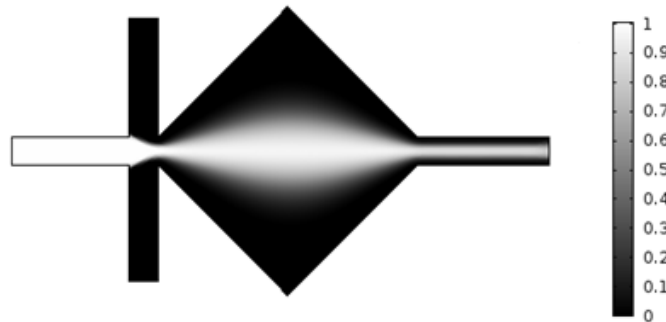


Figura 2.4 Mappa di concentrazione per condizioni di inlet stazionarie

Per ottenere una adeguata miscelazione, ovvero un valore di concentrazione dello scalare pari a 0.5 uniformemente distribuito sulla sezione di uscita del dispositivo, è quindi necessario produrre un'attuazione che agisca sul flusso per far crescere esponenzialmente la lunghezza dell'interfaccia tra i due fluidi e diminuire lo spessore delle lamelle di concentrazione in modo da sfruttare la diffusione molecolare per completare il miscelamento.

Per l'implementazione di un meccanismo efficace è stato ripreso il metodo proposto da Sugano e collaboratori (2011). Essi hanno sviluppato un micro miscelatore in cui i fluidi da miscelare sono alternativamente pompate dai canali di ingresso, con uno specifico protocollo, al fine di produrre diversi strati, come illustrato in figura 2.5. L'espansione del canale a valle dell'intersezione dei tre ingressi determina l'assottigliamento dei diversi strati dei due fluidi formati dall'iniezione alternata, cosicché essi possono rapidamente

diffondere. Gli autori, inoltre, verificarono la possibilità di regolare la velocità del processo di miscelazione modificando la frequenza con cui i fluidi vengono alternativamente iniettati.

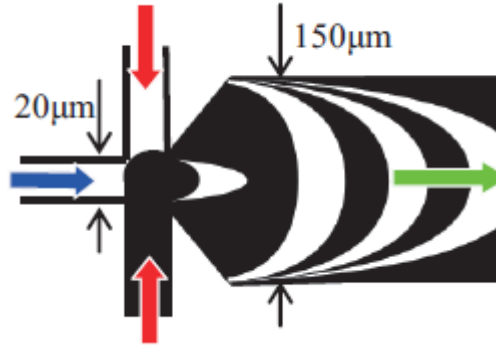


Figura 2.5 Metodo di miscelazione proposto da Sugano e collaboratori (riprodotta da “High-speed pulsed mixing with high-frequency switching of pumping from three inlet microchannels” by Sugano et al., 2011)

2.2 Formulazione analitica

L'evoluzione temporale dei due fluidi all'interno del micro miscelatore è governata dalle equazioni di Navier-Stokes per fluidi incomprimibili:

$$\begin{cases} \nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \\ \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} = -\frac{1}{\rho} \nabla P + \frac{1}{\rho} \mu \nabla^2 \mathbf{u}, \end{cases} \quad [1]$$

dove ρ è la densità del fluido, che è costante, \mathbf{u} è il vettore velocità del fluido, P è la pressione e μ è la viscosità dinamica, mentre il miscelamento del campo di concentrazione è governato dall'equazione di diffusione-trasporto:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla) c = \nabla \cdot (D \nabla c) \quad [2]$$

dove c è la concentrazione (scalare) e D è il coefficiente di diffusione molecolare.

Nella risoluzione del problema, vengono fatte due importanti assunzioni. Primo, poiché l'obiettivo è miscelare fluidi con proprietà fisiche molto simili, i fluidi di lavoro possono essere considerati identici. La fluidodinamica di entrambi i fluidi può quindi essere descritta da un'unica equazione di Navier-Stokes (equazione [1]). In particolare, dato il tipo di applicazioni a cui si rivolge questo dispositivo, i due fluidi sono entrambi modellati come se fossero acqua ($\rho=1000\text{kg/m}^3$, $\mu=0.001\text{Pa}\cdot\text{s}$, $D= 10^{-10}$ (valore tipico per la diffusività di piccole proteine in soluzione acquosa)). Essi differiscono solamente nel

valore di concentrazione di uno scalare passivo (per esempio temperatura), che trasportano. Secondo, si assume che i gradienti di concentrazione che si sviluppano all'interno del micro miscelatore siano sufficientemente piccoli da poter considerare il problema *one-way coupled*, cosa che ne semplifica considerevolmente la soluzione. In altre parole, la soluzione dell'equazione di Navier-Stokes determina quella dell'equazione di diffusione-trasporto, cioè prima viene risolta l'equazione di Navier-Stokes e successivamente, il campo di velocità ottenuto viene passato all'equazione di diffusione-trasporto.

Per avere un problema ben posto, alle equazioni [1] e [2] devono essere assegnate le appropriate condizioni al contorno. Per l'equazione di Navier-Stokes, sono applicate le seguenti condizioni al bordo (Figura 2.4):

-inlet1: velocità uniforme (profilo piatto) costante (steady) $\mathbf{u} = -U_0 \mathbf{n} = v$

-inlet2: velocità uniforme tempo-dipendente $\mathbf{u} = -U_0(t) \mathbf{n} = v/2 + A \sin(2\pi f t)$

-inlet3: velocità uniforme tempo-dipendente $\mathbf{u} = -U_0(t) \mathbf{n} = v/2 - A \sin(2\pi f t)$

-wall: non penetrazione e non scivolamento $\mathbf{u} = 0$

-outlet: pressione uniforme $P=0$ e sforzi viscosi nulli $\mu(\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T) \mathbf{n} = 0$,

dove \mathbf{n} è la normale uscente dalla faccia del dominio considerata, A ed f rispettivamente l'ampiezza e la frequenza delle forzanti.

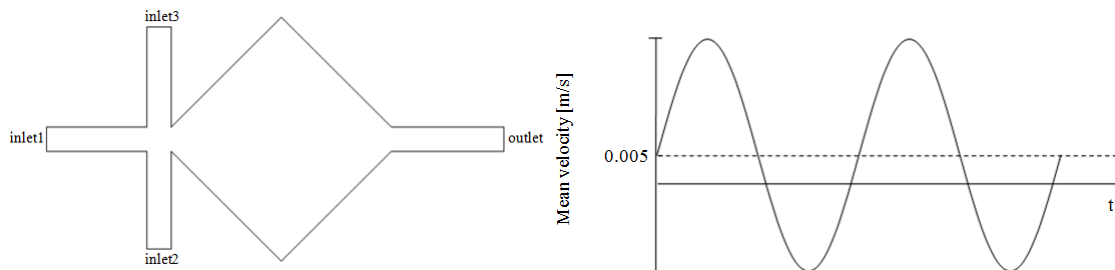


Figura 2.6 (a sinistra) Condizioni al contorno applicate per risolvere il problema; (a destra) tempo-dipendenza delle velocità imposte in corrispondenza di inlet2 e inlet3

La portata sinusoidale sovrapposta a una portata stazionaria applicata sui bordi inlet2 e inlet3 risulta facilmente implementabile in sistemi con micro pompe (Glasgow & Aubry, 2003). Inoltre la forma d'onda sinusoidale è più facilmente implementabile numericamente rispetto ad esempio ad un'onda quadra, poiché è una funzione continua. Per mantenere costante la portata in uscita dal micro miscelatore è stato scelto di porre le due portate pulsatili in controfase (sfasate di 180°).

Per l'equazione di diffusione trasporto, sono invece applicate le seguenti condizioni al contorno:

-inlet1: concentrazione normalizzata (adimensionale) $c=1$

-inlet2 e inlet3: concentrazione normalizzata $c=0$

-wall: flusso nullo $-\mathbf{n} \cdot \mathbf{N}_i = 0$

-outflow: $-\mathbf{n} \cdot D \nabla c = 0$.

Con la condizione applicata all'outlet si assume che la convezione è il meccanismo di trasporto dominante attraverso questo bordo, ovvero che il trasporto diffusivo può essere trascurato.

Trattando un problema evolutivo (unsteady), è necessario imporre anche una condizione iniziale. Per l'equazione di Navier-Stokes, si impone un campo di velocità nullo $\mathbf{u}=0$ e pressione uniforme $P=0$ in tutto il dominio. Per l'equazione di diffusione-trasporto, inizialmente si assume il dispositivo riempito di liquido a concentrazione $c=0$.

2.3 Adimensionalizzazione delle equazioni governanti

L'adimensionalizzazione delle equazioni governanti consiste nel trasformare le variabili del problema in grandezze prive di dimensioni, dividendole per opportuni fattori di scala (grandezze caratteristiche). Concretamente l'adimensionalizzazione fornisce la possibilità di stabilire dei criteri di similitudine, ovvero di "universalizzare" le relazioni ottenute. Rappresenta quindi un utile strumento per operazioni di riscalaggio, in cui è richiesto di stabilire una legge di scalabilità tra sistemi equivalenti ma posti su scale dimensionali differenti. Quali grandezze caratteristiche del problema si assumono il diametro idraulico della sezione di imbocco della cameretta (L), la velocità costante imposta sulla sezione di ingresso inlet1 (v) e la frequenza delle forzanti applicate sulle sezioni di ingresso inlet2 e inlet3 (f).

Partendo dall'equazione di Navier-Stokes:

$$\begin{cases} \nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \\ \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} = -\frac{1}{\rho} \nabla P + \frac{1}{\rho} \mu \nabla^2 \mathbf{u} \end{cases}$$

si introducono le seguenti variabili adimensionali:

$$\mathbf{X} = \mathbf{x}/L,$$

$$\mathbf{U} = \mathbf{u}/v,$$

$$P = p / \rho v^2$$

$$T = tf,$$

L'equazione di continuità si modifica semplicemente sostituendo alla velocità \mathbf{u} , la velocità adimensionale \mathbf{U} , ottenendo

$$\nabla \cdot \mathbf{U} = 0$$

L'equazione di conservazione della quantità di moto viene riscritta nella seguente forma:

$$\rho v f \frac{d\mathbf{U}}{dT} + \frac{\rho v^2}{L} (\mathbf{U} \cdot \nabla \mathbf{U}) = -\frac{\rho v^2}{L} \nabla P + \frac{\mu v}{L^2} \nabla^2 \mathbf{U}$$

e, dividendo per $\mu v / L^2$, si ottiene:

$$\frac{\rho L^2 f}{\mu} \frac{d\mathbf{U}}{dT} + \frac{\rho v L}{\mu} (\mathbf{U} \cdot \nabla \mathbf{U}) = -\frac{\rho v L}{\mu} \nabla P + \nabla^2 \mathbf{U}$$

In questa è possibile riconoscere nel secondo e terzo termine, la definizione del numero di Reynolds

$$Re = \frac{\rho v L}{\mu}$$

per cui l'equazione diventa:

$$\frac{\rho L^2 f}{\mu} \frac{d\mathbf{U}}{dT} + Re (\mathbf{U} \cdot \nabla \mathbf{U}) = -Re \nabla P + \nabla^2 \mathbf{U}$$

Moltiplicando e dividendo quindi il primo termine per v , si ottiene

$$\frac{\rho v L}{\mu} \frac{L f}{v} \frac{d\mathbf{U}}{dT} + Re (\mathbf{U} \cdot \nabla \mathbf{U}) = -Re \nabla P + \nabla^2 \mathbf{U}$$

dove si riconosce la definizione del numero di Strouhal:

$$St = \frac{fL}{v}$$

L'equazione può quindi essere riscritta come:

$$St \frac{d\mathbf{U}}{dT} + (\mathbf{U} \cdot \nabla \mathbf{U}) = -\nabla P + \frac{1}{Re} \nabla^2 \mathbf{U}$$

Passando all'equazione di diffusione-trasporto

$$\frac{\partial c}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla) c = \nabla \cdot (D \nabla c)$$

Si introduce l'ulteriore variabile adimensionale

$C = c/\rho$, che sostituita nell'equazione insieme a X , U e T , fornisce:

$$\rho f \frac{\partial C}{\partial T} + \rho \left(\frac{\mathbf{U} v}{L} \cdot \nabla \right) C = \rho \nabla \cdot \left(\frac{D}{L^2} \nabla C \right)$$

dividendo per D/L^2 , si ottiene

$$\frac{fL^2}{D} \frac{\partial C}{\partial T} + \frac{vL}{D} (\mathbf{U} \cdot \nabla) C = \nabla^2 C$$

nella quale è possibile riconoscere la definizione del numero di Peclet

$$Pe = \frac{vL}{D}$$

Riscrivendo l'equazione otteniamo:

$$\frac{fL^2}{D} \frac{\partial C}{\partial T} + Pe(\mathbf{U} \cdot \nabla) C = \nabla^2 C$$

Moltiplicando e dividendo il primo termine per v , è possibile scomporlo ottenendo

$$\frac{fL}{v} \frac{vL}{D} \frac{\partial C}{\partial T} + Pe(\mathbf{U} \cdot \nabla) C = \nabla^2 C$$

che riscritta diventa:

$$St \frac{\partial C}{\partial T} + (\mathbf{U} \cdot \nabla) C = \frac{1}{Pe} \nabla^2 C$$

Alle equazioni governanti adimensionalizzate vanno applicate condizioni al contorno anch'esse adimensionalizzate. Per l'equazione di Navier-Stokes, si hanno le seguenti condizioni al contorno:

-inlet1: velocità uniforme costante $\mathbf{U} = -U_0 \mathbf{n} / v = 1$

-inlet2: velocità uniforme tempo-dipendente $\mathbf{U} = -U_0(t) \mathbf{n} / v = 0.5 + (A/v) \sin(2\pi f)$

-inlet3: velocità uniforme tempo-dipendente $\mathbf{U} = -U_0(t) \mathbf{n} / v = 0.5 - (A/v) \sin(2\pi f)$

-wall: non penetrazione e non scivolamento $\mathbf{U} = 0$

-outlet: pressione uniforme $P=0$ e sforzi viscosi nulli $\mu(\nabla \mathbf{U} + (\nabla \mathbf{U})^T) \mathbf{n} = 0$,

dove \mathbf{n} è la normale uscente dalla faccia del dominio considerata, A ed f rispettivamente l'ampiezza e la frequenza delle forzanti.

Per l'equazione di diffusione trasporto, si hanno invece:

-inlet1: concentrazione normalizzata $C=0.001$

-inlet2 and inlet3: concentrazione normalizzata $C=0$

-wall: flusso nullo $-\mathbf{n} \cdot \mathbf{N}_i = 0$

-outflow: $-\mathbf{n} \cdot D \nabla C = 0$.

Infine si impongono anche condizioni iniziali adimensionalizzate, che sono: per l'equazione di Navier-Stokes, $\mathbf{U}=0$ e $P=0$ mentre per l'equazione di diffusione-trasporto è $C=0$, in entrambi i casi applicate su tutto il dominio.

2.4 Risoluzione numerica

Le equazioni differenziali alle derivate parziali che governano il problema non sono risolvibili analiticamente nel caso del micro miscelatore. E' necessario perciò discretizzarle e risolverle con metodi numerici. In particolare due sono le tecniche su cui si basa la maggior parte dei software commerciali per la risoluzione numerica di equazioni differenziali alle derivate parziali: Metodo degli Elementi Finiti (FEM) (Quarteroni, 2007), e Metodo dei Volumi Finiti (FVM) (Versteeg, 2007).

Inizialmente sono state condotte delle simulazioni numeriche con modelli bidimensionali, con due obiettivi principali. Primo, caratterizzare la miscelazione rispetto alla frequenza delle forzanti, o meglio rispetto al numero di Strouhal, parametro adimensionale caratterizzante i flussi oscillanti. Secondo, individuare la configurazione geometrica del miscelatore che produce la migliore miscelazione a parità di frequenza delle forzanti. In questa fase, le simulazioni sono state condotte con il codice a elementi finiti Comsol Multiphysics (versione 4.3b), il quale ha dimostrato buona flessibilità grazie alla possibilità di realizzare l'intero modello (costruzione della geometria, definizione dei materiali, applicazione della condizioni al contorno, generazione della mesh e lancio della simulazione) nello stesso ambiente.

Nella seconda fase dell'attività di ricerca, si è esteso il semplice modello bidimensionale al più realistico modello tridimensionale. Per realizzare le simulazioni numeriche del flusso nel modello tridimensionale, si è cambiato software, passando al codice a volumi finiti ANSYS Fluent 14 (ANSYS, Canonsburg, PA, USA). Il cambio è stato fatto perché la mesh tridimensionale ha un numero molto elevato di nodi (nell'ordine di 1 milione), necessario per avere una soluzione sufficientemente accurata. Il costo computazionale e quindi il tempo di calcolo risultava eccessivo per un codice agli elementi finiti, come Comsol. Una volta caratterizzata la performance del miscelatore tridimensionale, si è successivamente operato il riscalaggio del dispositivo di un fattore 10, con l'obiettivo di riprodurre la stessa miscelazione a scale più piccole in modo da estendere l'applicabilità del micro miscelatore. Per la risoluzione numerica del problema, le condizioni al contorno presentate nella formulazione analitica devono essere implementate nel modello computazionale. Le condizioni analitiche imposte sui bordi del dominio vengono tradotte in condizioni numeriche applicate sui nodi della mesh rappresentanti il rispettivo bordo. Le condizioni al contorno numeriche sono le seguenti. Per le equazioni di Navier-Stokes, si impongono:

- velocità uniforme costante $\mathbf{u}=-U_0\mathbf{n}=v$ all'inlet1
- velocità uniforme tempo-dipendente $\mathbf{u}=-U_0(t)\mathbf{n}=v/2+A\sin(2\pi f)$ m/s all'inlet2
- velocità uniforme tempo-dipendente $\mathbf{u}=-U_0(t)\mathbf{n}=v/2-A\sin(2\pi f)$ m/s all'inlet3
- wall: non penetrazione e non scivolamento $\mathbf{u}=0$ sulle pareti
- pressione uniforme $P=0$ e sforzi viscosi nulli $\mu(\nabla\mathbf{u} + (\nabla\mathbf{u})^T)\mathbf{n} = 0$ all'outlet

dove \mathbf{n} è la normale uscente dalla faccia del dominio considerata.

Per l'equazione di diffusione-trasporto, si applicano:

- concentrazione normalizzata $c=1$, all'inlet1
- concentrazione normalizzata $c=0$, agli inlet2 e inlet3
- flusso nullo $-\mathbf{n}\cdot\mathbf{N}_i=0$, alle pareti
- $-\mathbf{n}\cdot D\nabla c = 0$, all'outlet

Le condizioni iniziali imposte sono: per le equazioni di Navier-Stokes $\mathbf{u}=0$ e $P=0$ in tutti i nodi della mesh; per l'equazione di diffusione trasporto $c=0$ in tutti i nodi della mesh, ovvero dispositivo riempito di fluido a concentrazione 0 (vedi Figura 2.5).

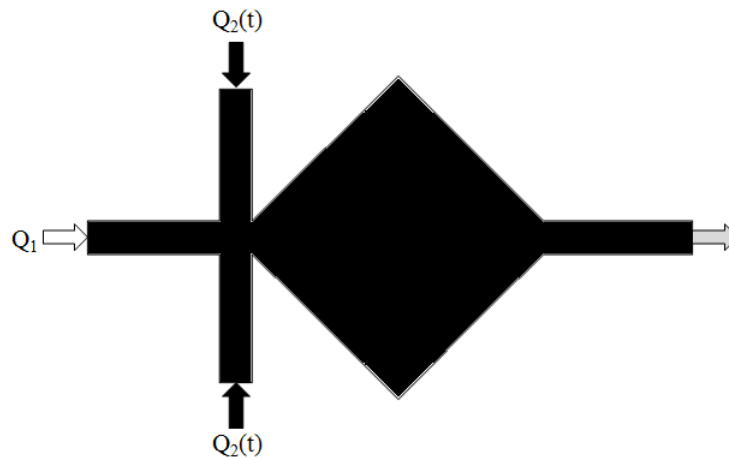


Figura 2.7 Condizione iniziale (micro miscelatore pieno di fluido a concentrazione $c=0$) e condizioni di inlet

La geometria del modello bidimensionale è stata discretizzata con una mesh di tipo *free* a elementi triangolari (Figura 2.8). Il numero degli elementi è in questo caso determinato dalla geometria del dominio computazionale e da alcuni parametri che possono essere controllati (Tabella 2.1). Benché con la scelta *free* la disposizione degli elementi è interamente determinata dal software, si ottiene una maggiore flessibilità nel discretizzare domini complessi. Come già accennato, parte dell'attività di ricerca ha riguardato

l'individuazione della migliore geometria per il micro miscelatore, per cui diverse sono state le geometrie analizzate. Per questo motivo si è deciso di condurre l'analisi di sensitività della soluzione rispetto alla mesh utilizzata dopo aver individuato la configurazione geometrica ottimale, ritenendo comunque valido il confronto tra risultati ottenuti con griglie equivalenti.

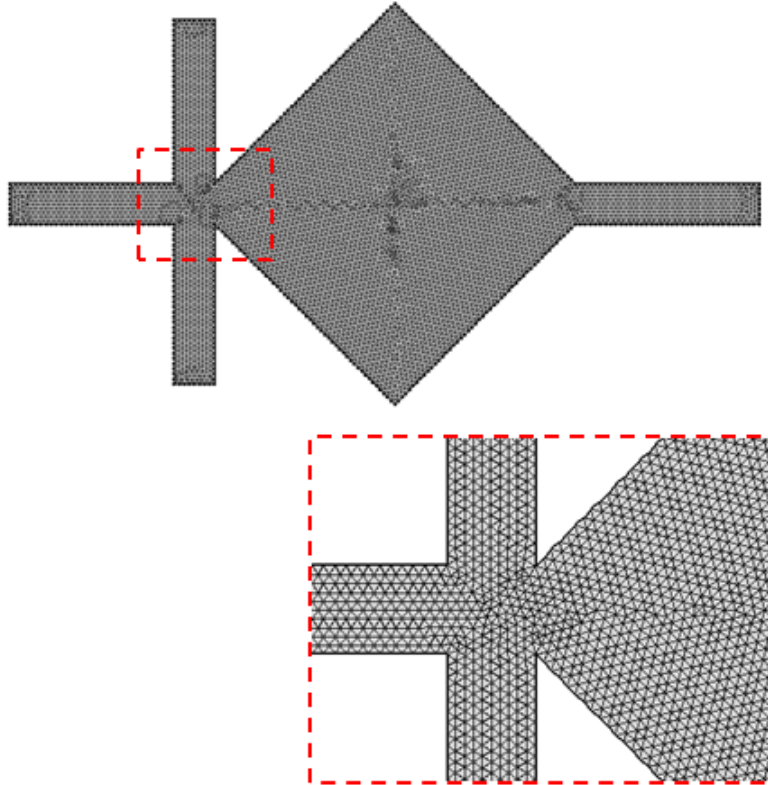
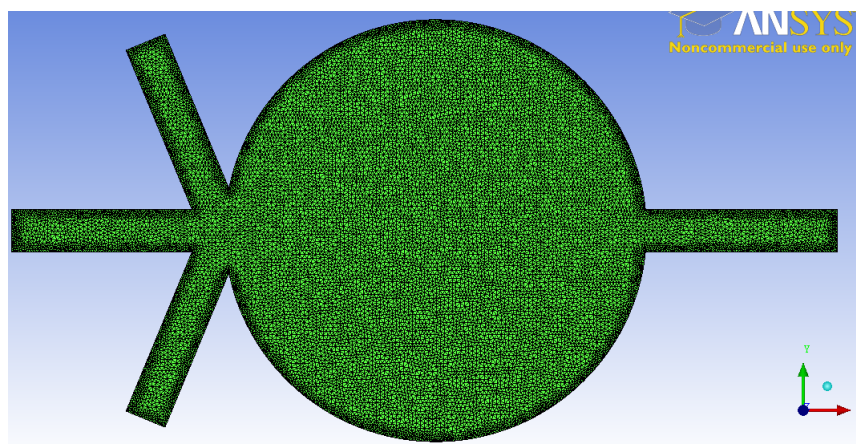


Figura 2.8 Free triangular mesh generated to discretize two-dimensional problem domain

Tabella 2.1 Parametri controllabili nella generazione della mesh e valori inizialmente utilizzati: maximum e minimum element size indicano le dimensioni massima e minima degli elementi utilizzati per la generazione della mesh; maximum element growth rate indica il massimo tasso di crescita delle dimensioni di un elemento passando da regioni con elementi piccoli a regioni con elementi più grandi. Ad esempio, maximum element growth rate=1.5 significa che passando da un elemento le dimensioni possono aumentare al massimo del 50%; resolution of curvature dà la dimensione degli elementi al contorno rispetto alla curvatura del contorno geometrico. Moltiplicando la resolution of curvature per il raggio di curvatura si ottiene la dimensione massima consentita per gli elementi lungo il bordo; resolution of narrow regions, permette di controllare il numero di strati di elementi creati in regioni approssimativamente strette. Un valore più alto dà una griglia più fine nelle regioni più strette.

| Element Size Parameters | |
|--------------------------------|------------|
| Maximum element size | 0.0129 mm |
| Minimum element size | 1.48e-4 mm |
| Maximum element growth rate | 1.08 |
| Resolution of curvature | 0.25 |
| Resolution of narrow regions | 1 |

La geometria dei modelli tridimensionali è stata discretizzata con elementi tetraedrici, utilizzando il software ICEM (Ansys). Vicino agli spigoli e in prossimità di angoli acuti la mesh è stata gradualmente infittita (Figure 2.9). Dal punto di vista numerico, date le caratteristiche di laminarità del flusso che si vuole modellare, l'infittimento non è stato rivolto tanto ad una migliore risoluzione dello strato limite, quanto piuttosto alla riduzione degli errori che si generano in corrispondenza di angoli acuti, zone critiche dove è richiesta la realizzazione di una mesh più fine.



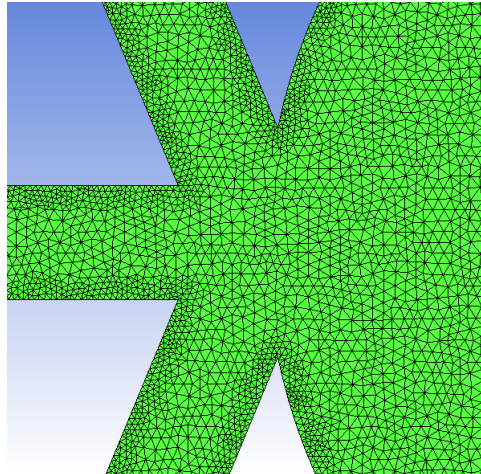


Figure 2.9 (in alto) Mesh a elementi tetraedrici generata per il modello tridimensionale (vista piano xy); (in basso) dettaglio in corrispondenza di angoli acuti, dove la mesh è stata gradualmente infittita

Le simulazioni del flusso nel micro miscelatore sono state effettuate in due fasi. Poiché infatti i gradienti nel campo di concentrazione sono stati assunti piccoli, non influenzano il campo di velocità, calcolabile indipendentemente. Cioè il problema è one-way coupled. Nella prima fase vengono risolte le equazioni di Navier-Stokes, nella seconda viene risolta l'equazione di diffusione-trasporto. Per le simulazioni in due dimensioni, effettuate con Comsol, è stato utilizzato il solutore diretto PARDISO (PARallel sparse Direct linear Solver), indicato per modelli 2D. Per quelle in tre dimensioni è stato utilizzato un solutore iterativo di tipo coupled, più oneroso dal punto di vista della memoria utilizzata ma in grado di raggiungere la convergenza in un minor numero di iterazioni rispetto ad esempio al SIMPLE.

I valori dei residui scesi al di sotto dei quali si è considerato che la soluzione avesse raggiunto la convergenza sono diversi per gli elementi finiti e i volumi finiti. Nel primo caso (EF) sono stati posti, rispettivamente per velocità e concentrazione, valori dei residui normalizzati pari a 5×10^{-4} e 1×10^{-3} . Nel secondo (VF) sono stati invece scelti i seguenti valori: 1×10^{-6} per le velocità e 1×10^{-5} per la concentrazione. Il time step è stato scelto in modo da avere 20 time step per ciclo delle forzanti (es. 0.00125s per frequenza delle forzanti di 40 Hz).

Capitolo 3

Design e performance del micro miscelatore

3.1 Dimensioni e portate di riferimento

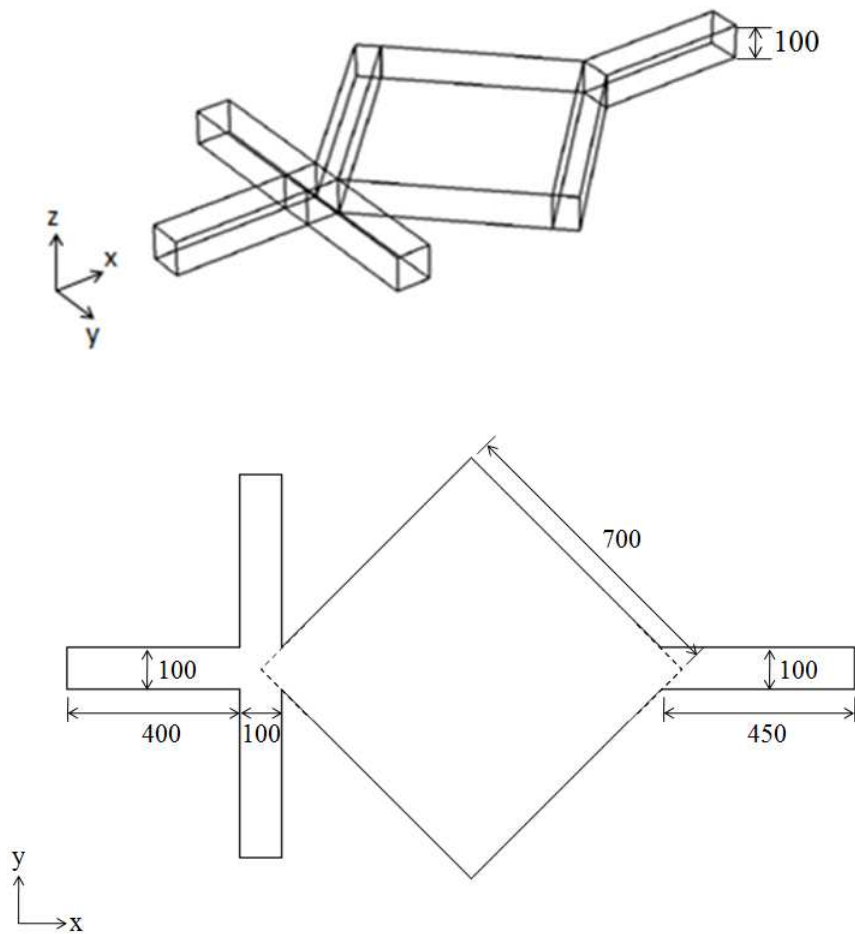


Figura 3.1 Dimensioni del micro miscelatore (espresse in micrometri)

Le dimensioni assunte inizialmente per il micro miscelatore sono riportate in Figura 3.1. La scelta delle portate da trattare deve essere fatta in considerazione delle applicazioni a cui è rivolto il dispositivo. Generalmente, considerando diversi tipi di applicazioni, dalle analisi chimiche di campioni biologici allo sviluppo di farmaco, le portate trattate vanno dalle decine di microlitri alle decine di millilitri per ora.

Al dispositivo che si vuole progettare sono applicate in ingresso le seguenti condizioni di velocità:

$v=0.01$ m/s (costante), sul bordo inlet1

$v/2+A\sin(2\pi ft)=0.005+A\sin(2\pi ft)$ m/s, sul bordo inlet2 (vedi Figura 3.2)

$v/2-A\sin(2\pi ft)=0.005-A\sin(2\pi ft)$ m/s, sul bordo inlet3

La portata complessivamente elaborata dal micro miscelatore risulta quindi pari a:

$$Q_{TOT}=0.01*10^{-4}*10^{-4}+2*(0.005*10^{-4}*10^{-4}) \text{ m}^3/\text{s}=2*10^{-10} \text{ m}^3/\text{s}=0.72\text{mL/h}$$

La portata totale (Q_{TOT}) risulta equamente suddivisa tra i due fluidi a concentrazione $c=0$ e $c=1$, in modo tale che la concentrazione media in uscita dal micro miscelatore è pari a 0.5

Inizialmente, per una frequenza di forcing pari a 10 Hz, si è assunta un'ampiezza di forcing $A=0.01$ m/s. I valori di ampiezza corrispondenti a frequenze di forcing maggiori sono invece calcolati in modo tale da mantenere costante il volume di fluido pompato durante ogni ciclo.

3.2 Relazione tra numero di Strouhal e performance del miscelatore

In questa sezione viene caratterizzata la relazione tra la frequenza di forcing e omogeneità del prodotto ottenuto, cioè la performance del miscelatore. Secondo quanto riportato da Sugano e collaboratori (2011), la frequenza delle forzanti determina in gran parte la qualità della miscelazione. Sono stati testati quattro diversi valori di frequenza di forcing: 10, 20, 40 e 80 Hz e mantenuto costante il volume di fluido pompato durante ogni ciclo (portata integrata lungo la durata del ciclo), altro fattore importante per la qualità della miscelazione (Glasgow et al., 2004). In altre parole, per analizzare l'effetto di raddoppiare la frequenza di forcing (f) si è raddoppiata l'ampiezza di forcing (A) in modo da compensare il dimezzamento del periodo di forcing.

Per la valutazione si utilizzano le mappe di concentrazione dell'intero dominio computazionale e i profili di concentrazione nella sezione di outlet. In **Errore. L'origine riferimento non è stata trovata.** è riportata la mappa di concentrazione per una frequenza di forcing di 10 Hz. All'interno della cameretta si osserva la formazione di lamelle alternate di concentrazione pari a zero (nero) e a uno (bianco). Il forcing agisce in modo tale che, pompando alternatamente il fluido a concentrazione $c=0$ da due canali di ingresso laterali, il flusso di fluido a concentrazione $c=1$ viene suddiviso in lamelle bianche interposte a lamelle nere aventi concentrazione $c=0$.

La lunghezza dell'interfaccia risulta notevolmente aumentata rispetto al miscelatore passivo (vedi Figura 2.4). Tuttavia, per frequenze di forcing troppo basse, lo spessore delle singole lamelle rimane troppo elevato per permettere alla diffusione molecolare di agire efficacemente prima che i fluidi fuoriescano dal miscelatore.

A regime si osserva come gli estremi superiori e inferiori delle lamelle, che si accumulano nelle zone superiore e inferiore della cameretta, stirati dall'espansione del flusso, vengono omogeneizzati dall'azione della diffusione e la concentrazione raggiunge in queste zone una buona omogeneità (Figura 3.3, a destra). La parte centrale delle lamelle, che si muove lungo l'asse di simmetria del miscelatore, ha spessore maggiore e viene trasportata verso l'uscita del miscelatore senza avere il tempo di diffondere sufficientemente. Ne consegue che il profilo di concentrazione nella sezione di uscita risente, anche a regime, di forti oscillazioni dovute al passaggio di lamelle di differenti concentrazioni (vedi Figura 3.4)

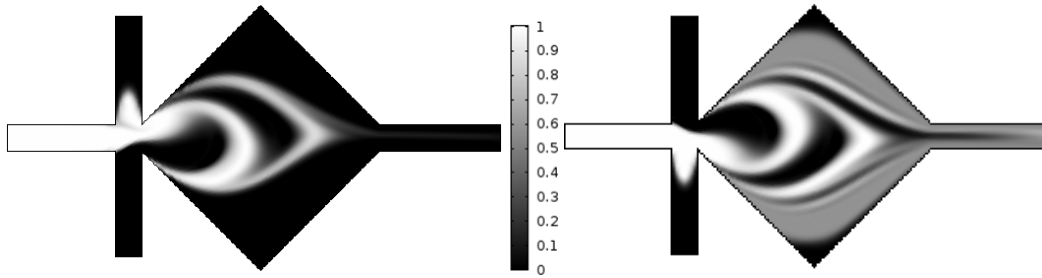


Figura 3.3 (a sinistra) Formazione delle lamelle di concentrazione alternate; (a destra) Mappa di concentrazione a regime (f di forcing=10Hz)

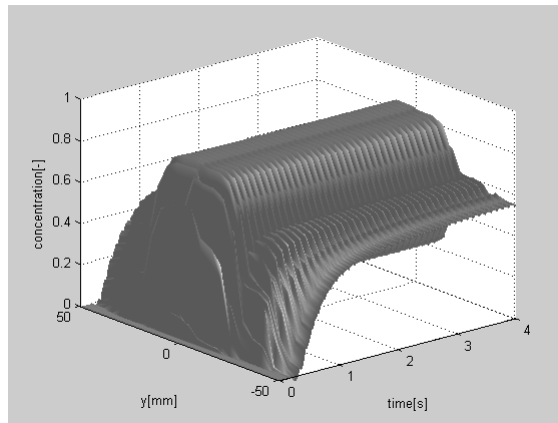


Figura 3.3 Profilo di concentrazione nella sezione di uscita per frequenza di forcing di 10 Hz

Portando la frequenza di forcing a 20 Hz, il meccanismo di formazione delle lamelle viene notevolmente migliorato. A parità di volume di fluido pompato, infatti, il liquido a concentrazione $c=1$ viene alternativamente spinto più a fondo all'interno dei canali laterali per effetto della maggiore ampiezza di forcing. A differenza del caso precedente (frequenza di forcing di 10Hz), in cui le lamelle di concentrazione erano congiunte su un lato, in questo caso si formano singole lamelle a forma di “mezza luna”, più spesse al centro e sottili alle estremità (vedi Figura 3.5).

La più elevata frequenza di forcing determina chiaramente, a parità di portate elaborate, la formazione di un più elevato numero di lamelle di concentrazione aventi uno spessore inferiore. La lunghezza dell'interfaccia tra i due fluidi risulta quindi ulteriormente aumentata e, considerando il minore spessore delle lamelle, l'azione della diffusione molecolare viene amplificata. Si noti che data la particolare conformazione delle lamelle, lo stretching dovuto dall'espansione del flusso nella cameretta risulta più efficace.

A regime (Figura 3.5, a destra) si nota che le porzioni più esterne delle lamelle, già inizialmente molto sottili e successivamente stirate dall'espansione del flusso nella

cameretta di miscelamento, vengono omogeneizzate efficientemente dall'azione della diffusione molecolare, come dimostra la distribuzione della concentrazione nelle zone superiore e inferiore della cameretta. La parte centrale delle lamelle, più spessa, non ha invece il tempo di diffondere prima di essere trasportata verso l'uscita del miscelatore. Nel canale di uscita si osserva quindi una distribuzione abbastanza omogenea (con valore prossimo a 0.5) della concentrazione alle pareti, dovuta al trasporto delle porzioni più esterne delle lamelle. Al centro del canale, invece, a causa del passaggio delle porzioni centrali poco diffuse delle lamelle, si osserva il periodico passaggio di macchie (blobs) di concentrazione pari a zero e a uno (vedi Figura 3.6). Queste, di conseguenza, generano delle forti oscillazioni nell'andamento del profilo di concentrazione al centro della sezione di uscita, come mostrato, in Figura 3.6.

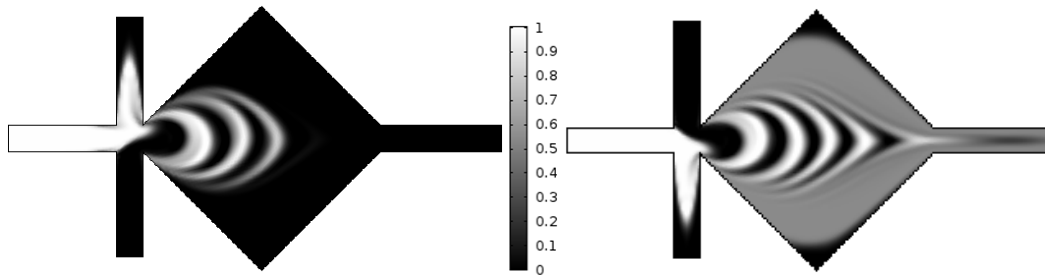


Figura 3.5 (a sinistra) Formazione delle lamelle di concentrazione alternate; (a destra) Mappa di concentrazione a regime (f di forcing=20Hz)

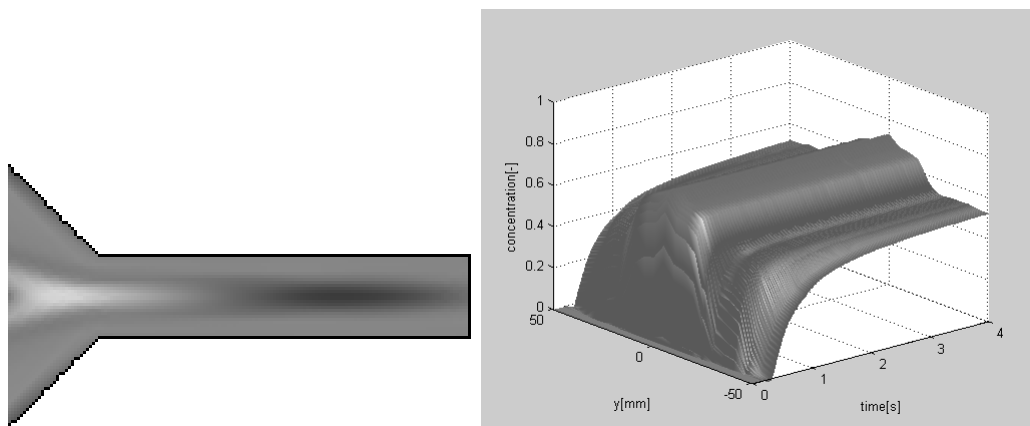


Figura 3.6 (a sinistra) Dettaglio della mappa di concentrazione in cui è possibile evidenziare la presenza di blobs di concentrazione al centro del canale di uscita; (a destra) Profilo di concentrazione nella sezione di uscita per frequenze di forcing di 20 Hz

Aumentando la frequenza di forcing a 40 Hz, le mappe di concentrazione mostrano come la formazione delle lamelle avvenga con caratteristiche diverse dalle precedenti. Mentre

nel caso di frequenza di forcing di 20 Hz erano sostanzialmente simmetriche rispetto all'asse di simmetria del dominio, in questo caso assumono un orientamento diverso a seconda che siano formate durante l'iniezione di fluido a concentrazione $c=0$ dal canale inferiore (inlet2) piuttosto che da quello superiore (inlet3).

L'ulteriore aumento del numero e la riduzione dello spessore delle lamelle permettono alla diffusione molecolare di agire ancora più efficacemente. Prima di imboccare il canale di uscita la porzione centrale delle lamelle ha avuto tempo a sufficienza per diffondere maggiormente (vedi Figura 3.7). La concentrazione nel canale di uscita non risulta però ancora distribuita omogeneamente a causa del trasporto, al centro del canale, di alcuni blobs di concentrazione derivanti dalla ricompressione della porzione centrale delle lamelle (con valori comunque più vicini a 0.5) (vedi Figura 3.8, a sinistra). Il profilo di concentrazione nella sezione di uscita (Figura 3.8, a destra) assume un aspetto notevolmente più regolare, avendo come riferimento l'ottenimento di un profilo di concentrazione piatto.

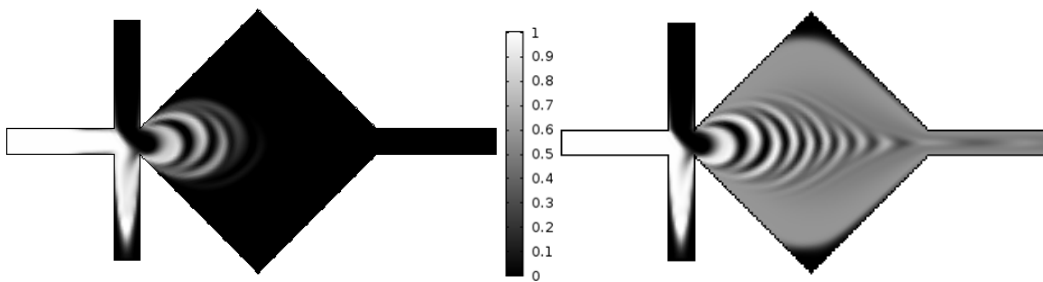


Figura 3.7 (a sinistra) Formazione delle lamelle di concentrazione alternate; (a destra) Mappa di concentrazione a regime (frequenza di forcing=40Hz)

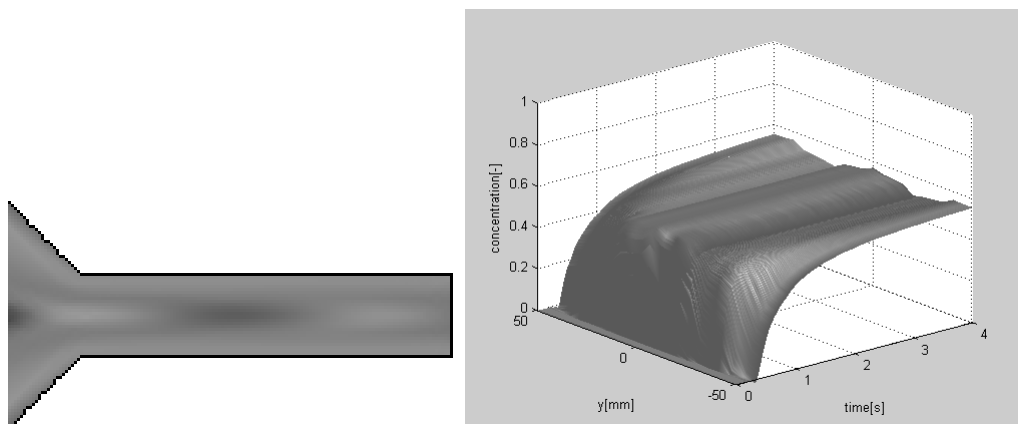


Figura 3.8 (a sinistra) Dettaglio della mappa di concentrazione in corrispondenza del canale di uscita, in cui è possibile evidenziare la presenza di blobs di concentrazione; (a destra) Profilo di concentrazione nella sezione di outlet per frequenze del forcing di 40 Hz

A frequenze di forcing ancora maggiori (80 Hz), per effetto dell'orientamento impresso alle lamelle dalla maggiore ampiezza del forcing, già osservato in misura minore per frequenza di forcing di 40 Hz, dalla mappa di concentrazione ottenuta (Figura 3.9) si nota la formazione di un doppio pattern di lamelle molto sottili, disposte da entrambe le parti rispetto all'asse di simmetria del miscelatore. L'interfaccia tra i due fluidi risulta notevolmente aumentata e le distanze di diffusione notevolmente diminuite. Per avere un'idea dell'aumentata efficacia dell'azione della diffusione molecolare si può osservare l'estensione delle zone del dominio in cui, a regime, la concentrazione risulta distribuita più omogeneamente, che sono le zone superiore e inferiore della cameretta (Figura 3.9, a destra). Queste risultano notevolmente più estese rispetto ad esempio al primo caso (frequenza di forcing=10 Hz) poiché gran parte di ciascuna lamella viene omogeneizzata meglio prima di fluire all'esterno del miscelatore.

Il profilo di concentrazione nella sezione di uscita risulta molto più regolare (vedi Figura 3.10, a destra), anche se caratterizzato da un "doppio picco". La distribuzione della concentrazione, infatti, non è omogenea in direzione radiale, essendo maggiore lungo le pareti rispetto al centro del canale.

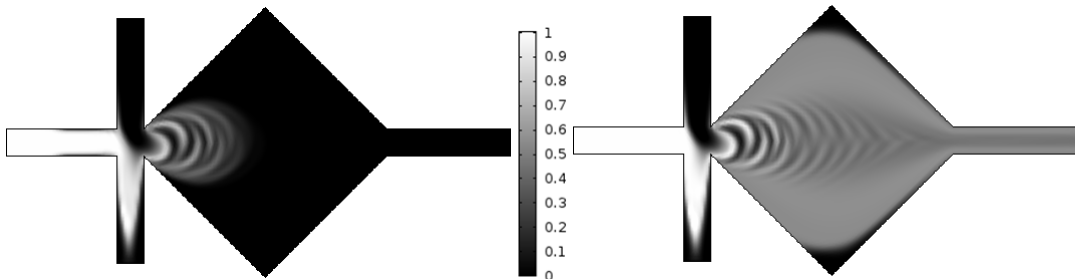


Figura 3.9 (a sinistra) Formazione delle lamelle di concentrazione alternate; (a destra) Mappa di concentrazione a regime (f di forcing=80Hz)

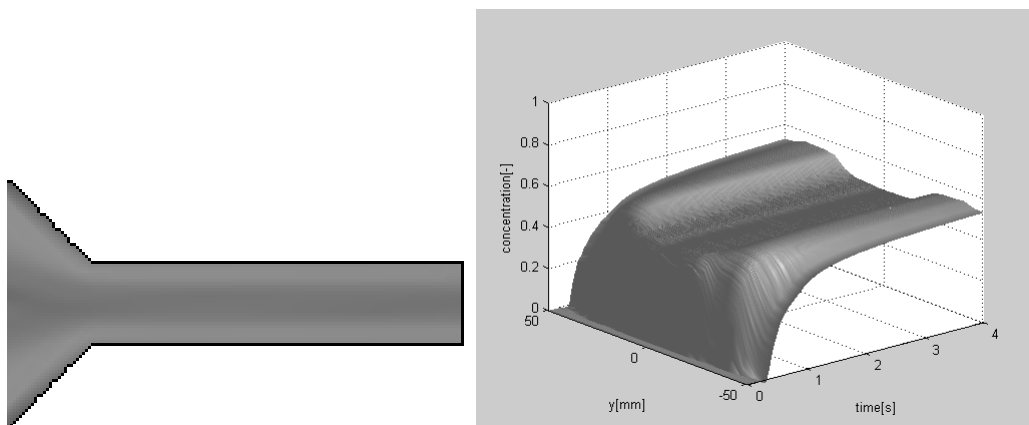


Figura 3.10 (a sinistra) Dettaglio della mappa di concentrazione in corrispondenza del canale di uscita, in cui è possibile evidenziare la diversa distribuzione della concentrazione al centro e lungo le pareti del canale; (a destra) Profilo di concentrazione nella sezione di outlet per frequenza di forcing di 80 Hz

Per quantificare il grado di miscelazione ottenuto, è stata prima calcolata la varianza della concentrazione rispetto alla concentrazione media in una sezione trasversale rispetto alla direzione principale del flusso (la sezione di uscita):

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N} \sum (c_i - c_m)^2}$$

dove N è il numero di punti della sezione considerata in cui viene fatta la valutazione, c_i è la concentrazione nel punto i-esimo, e c_m è la concentrazione ottimale, pari a 0.5. Si è definito quindi un indice di miscelazione nel seguente modo:

$$M = 1 - \sqrt{\frac{\sigma^2}{\sigma_{max}^2}}$$

Dove σ_{max} è la varianza massima nell'intervallo di dati (0.5).

$M=0$ indica fluidi totalmente non miscelati, $M=1$ fluidi completamente miscelati. Essendo il problema oggetto dello studio non stazionario, ed essendo presenti numerose oscillazioni nel campo di concentrazione anche in corrispondenza della sezione di outlet, è stato calcolato un valor medio di M sul periodo delle oscillazioni, una volta che il dispositivo ha raggiunto la condizione di regime.

Osservando la relazione tra M e frequenza di forcing (Figura 3.11) notiamo che, all'incirca in corrispondenza di frequenza di forcing di 40 Hz, M raggiunge un asintoto. La tendenza di M in realtà è ancora di aumentare all'aumentare della frequenza di forcing tuttavia per determinare incrementi molto minori di M è necessario aumentare moltissimo la frequenza di forcing. Per questo motivo, soprattutto considerando le difficoltà nel generare elevate frequenze di forcing con pompe meccaniche e specialmente con pompe a siringa, e la tecnologia relativamente nuova, si è deciso di fissare la frequenza di forcing a 40 Hz. Il successivo miglioramento della performance del micro miscelatore si baserà sulla modifica della geometria.

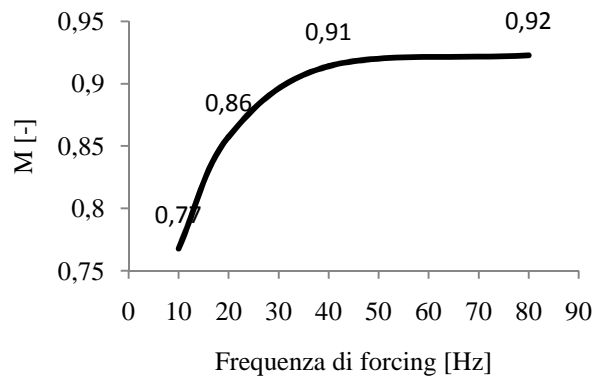


Figure 3.11M (indice di miscelazione) vs Forcing frequency

3.3 Relazione tra geometria e performance del miscelatore

Si riprendono e analizzano un po' più nel dettaglio i risultati ottenuti per frequenza di forcing di 40 Hz. Dalle mappe di concentrazione (Figura 3.12, in alto) si era rilevato il modificato schema di formazione delle lamelle. Se ne era osservato, in particolare, l'orientamento differente rispetto all'asse di simmetria del miscelatore, dovuto all'aumentata ampiezza di forcing, che le porta ad aprirsi sul lato superiore o inferiore della cameretta a seconda del canale laterale di inlet che sta pompando o aspirando.

Nel canale di uscita si era evidenziato il periodico passaggio di blobs di concentrazione, originati dalla ricompressione della parte centrale delle lamelle, più spessa e quindi più difficilmente omogeneizzabile dall'azione della diffusione molecolare. Un modo semplice per verificare la relazione diretta che esiste tra formazione delle lamelle (per effetto del forcing) e trasporto dei blobs di concentrazione attraverso il canale di uscita, è quello di rappresentare l'andamento del valor medio della concentrazione calcolato sulla sezione di uscita del micro miscelatore (vedi Figura 3.12, in basso). Da esso è possibile ricavare che il dispositivo va a regime dopo circa 3.5 secondi, dopo i quali la concentrazione media risulta pari a 0.5. Inoltre, sia durante il transitorio che a regime, sono presenti oscillazioni ad alta frequenza. Queste derivano esattamente dal passaggio dei blobs di concentrazione, che avviene con frequenza doppia rispetto alla frequenza di forcing per il fatto che le due forzanti sono state poste in controfase.

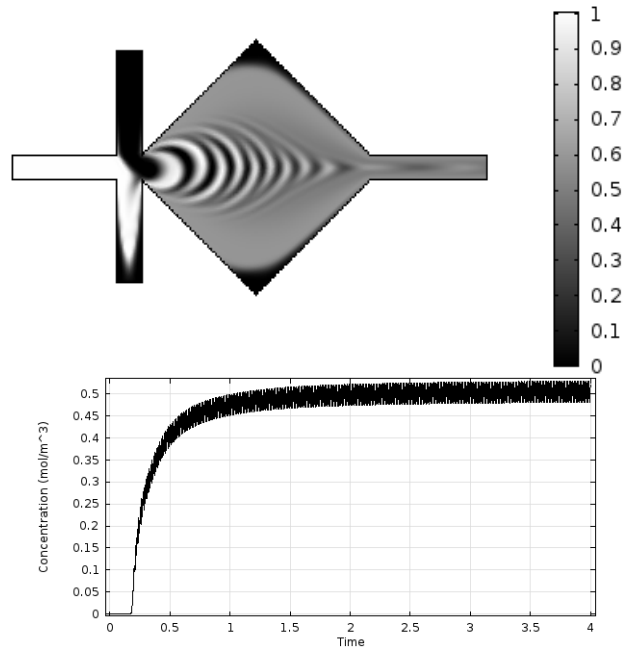


Figura 3.12 (in alto) Mappa di concentrazione a regime per frequenza del forcing di 40 Hz; (in basso) Andamento del valor medio della concentrazione calcolato sulla sezione di uscita

Osservando le mappe di velocità (Figura 3.13), e i vettori velocità soprattutto (Figura 3.14), si è appreso che l'azione del forcing è solo debolmente percepita all'interno della cameretta, dove il campo di velocità rimane sostanzialmente stazionario. L'effettiva perturbazione del campo di velocità dovuta all'azione del forcing è strettamente limitata alla zona di confluenza dei tre canali di ingresso (vedi Figura 3.14, a destra). Di conseguenza, lo spazio a disposizione del flusso all'interno della cameretta non viene sfruttato secondo il potenziale che offre. Per impiegare al meglio la geometria adottata per il micro miscelatore si vorrebbe che il campo di velocità all'interno della cameretta di espansione fosse sensibilmente perturbato dall'azione del forcing e, se possibile, che si formassero delle ricircolazioni nel flusso.

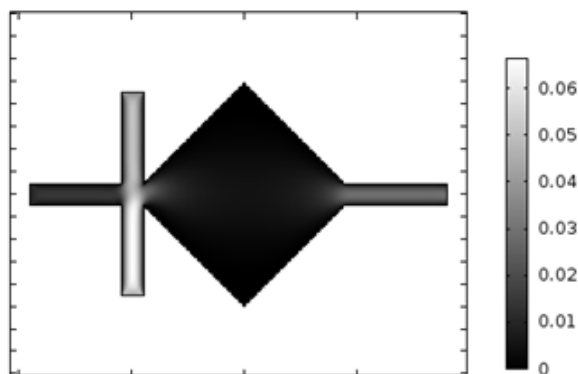


Figure 3.13 Campo di velocità (ampiezza) istantaneo in corrispondenza del picco di forcing inferiore

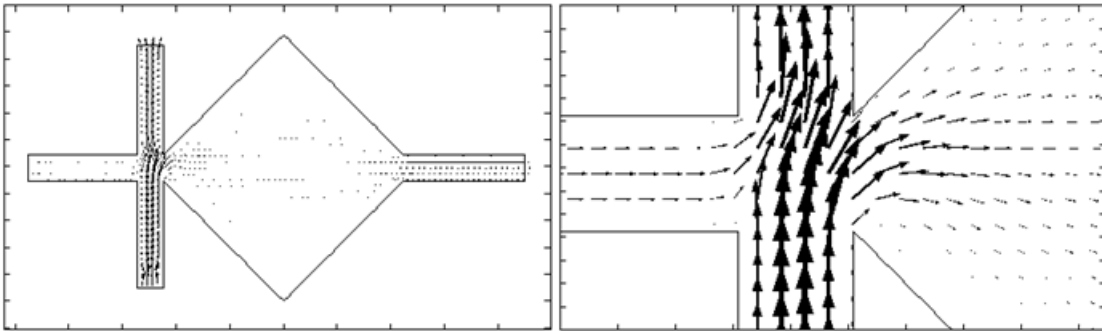


Figure 3.14 (a sinistra) Vettori velocità istantanei in corrispondenza del picco del forcing inferiore; (a destra) dettaglio della zona di confluenza dei tre canali di ingresso, a cui è limitata la perturbazione dovuta all'azione del forcing

Per perturbare in misura apprezzabile il campo di velocità all'interno della cameretta, si è deciso di modificare l'inclinazione dei canali di ingresso laterali, quelli attraverso i quali viene esercitato il forcing, rispetto al canale centrale (vedi Figura 3.15). L'obiettivo è provocare la biforcazione del flusso proveniente dai canali laterali. Consideriamo ad esempio il flusso entrante dal canale inferiore: una volta raggiunta la zona che collega i canali di ingresso alla cameretta, parte di esso dovrebbe continuare a fluire nel canale di ingresso superiore, favorita dall'azione di aspirazione agente esattamente in controfase rispetto al pompaggio. Una parte non trascurabile di esso però dovrebbe fluire all'interno della cameretta, perturbando il campo di velocità altrimenti stazionario. La porzione di fluido deviata nella cameretta dovrebbe, proprio per la direzione assunta, fluire lungo le pareti della cameretta stessa, promuovendo una maggiore espansione del flusso. In questo modo si sfrutterebbe meglio il volume della cameretta, inserita appositamente per migliorare la performance del miscelatore.

Sono stati valutati due differenti inclinazioni dei canali laterali. Detto α (alpha) l'angolo compreso tra il canale di ingresso centrale e ciascuno dei canali di ingresso laterali, esso è stato ridotto a 67.5° e 45° , rispetto agli iniziali 90° . Per verificare l'efficacia della modifica effettuata si utilizzano i vettori di velocità istantanei in corrispondenza di istanti significativi. Tramite il successivo confronto con i risultati ottenuti dalla geometria originale è possibile ricavare indicazioni circa l'effettivo piuttosto che il mancato miglioramento della miscelazione.

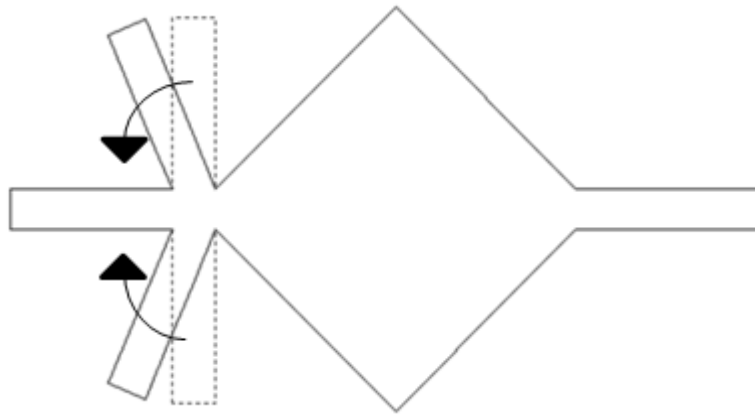


Figura 3.15 Modifica dell'inclinazione dei canali di ingresso laterali

Osservando ad esempio i vettori velocità istantanei in corrispondenza del picco di forcing inferiore si deduce che la modifica non ha permesso di raggiungere l'obiettivo prefissato. Né per $\alpha=67.5^\circ$ (Figura 3.16) né per $\alpha=45^\circ$ (Figura 3.17) si verifica l'effettiva biforcazione del flusso proveniente dai canali laterali, che continua ad andare quasi interamente nel canale opposto. I vettori plottati su tutto il dominio computazionale (Figure 3.16, 3.17, a sinistra) mostrano che il campo di velocità all'interno della cameretta conserva la "stazionarietà" già osservata per $\alpha=90^\circ$ (geometria iniziale). Ingrandendo in corrispondenza dell'intersezione dei canali di ingresso (Figura 3.17, 3.18, a destra) si osserva che la perturbazione continua ad interessare quasi esclusivamente questa zona.

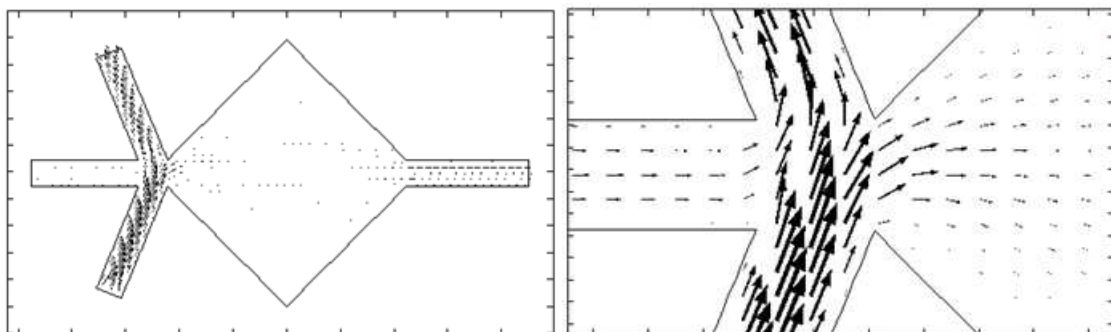


Figura 3.16 (a sinistra) Vettori velocità istantanei in corrispondenza del picco di forcing inferiore per $\alpha=67.5^\circ$; (a destra) dettaglio della zona di confluenza dei tre canali di ingresso

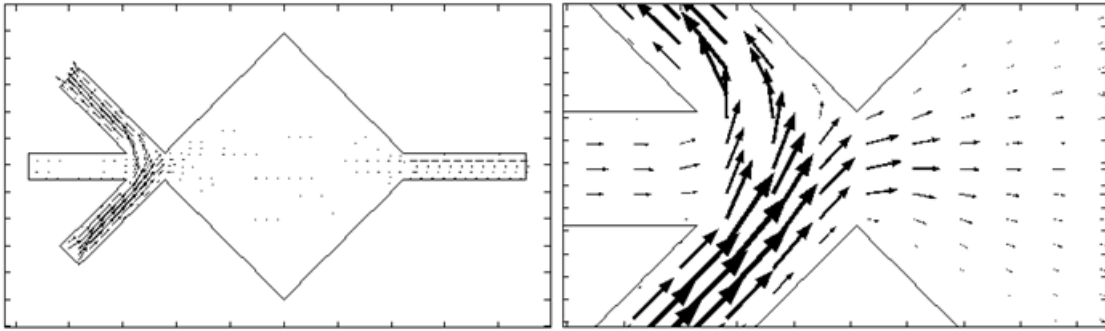


Figura 3.17 (a sinistra) Vettori velocità istantanei in corrispondenza del picco di forcing inferiore per $\alpha=45^\circ$; (a destra) dettaglio della zona di confluenza dei tre canali di ingresso

Le ragioni della mancata biforcazione dei flussi provenienti dai canali di ingresso laterali, a dispetto della modifica effettuata, sono da cercare soprattutto nei valori di due grandezze alle quali è legato il flusso di fluidi nei canali: gradiente di pressione e resistenza idraulica. Il gradiente di pressione rappresenta il motore del flusso, che procede nella direzione tracciata dal massimo gradiente di pressione. Nel caso del micro miscelatore, il fluido alternativamente pompato dai canali laterali, giunto all'intersezione dei tre canali di ingresso, è sottoposto all'azione di due gradienti di pressione: quello rispetto alla sezione di inlet del canale laterale opposto a quello di provenienza e quello rispetto alla sezione di outlet (vedi Figura 3.18).

La pressione nella sezione di uscita è fissata a zero dalle condizioni al contorno. Nelle due sezioni di ingresso laterali, invece, la pressione può assumere valori negativi, quando il fluido viene aspirato. Avendo inoltre posto le forzanti in controfase, al pompaggio in una sezione corrisponde sempre l'aspirazione nell'altra, per cui il fluido è alternativamente sottoposto a gradienti di pressione maggiori in direzione degli ingressi piuttosto che della cameretta.

Anche le resistenze idrauliche dei due percorsi sono diverse. Dall'intersezione dei tre canali di ingresso alle sezioni laterali la distanza è breve (pari alla lunghezza dei canali) e il flusso non va incontro a perdite di carico concentrate. Vice versa, per fluire all'interno cameretta incontra il restringimento dell'imbocco (il flusso, per la direzione che assume, non vede l'ampiezza dell'imbocco, ma la sua proiezione ortogonale). Nonostante gradienti di pressione e resistenze idrauliche sfavorevoli, per inerzie maggiori ci si aspetta che il flusso si biforchi. Nel caso in studio però, la scarsa inerzia del flusso ne rende difficile la deviazione.

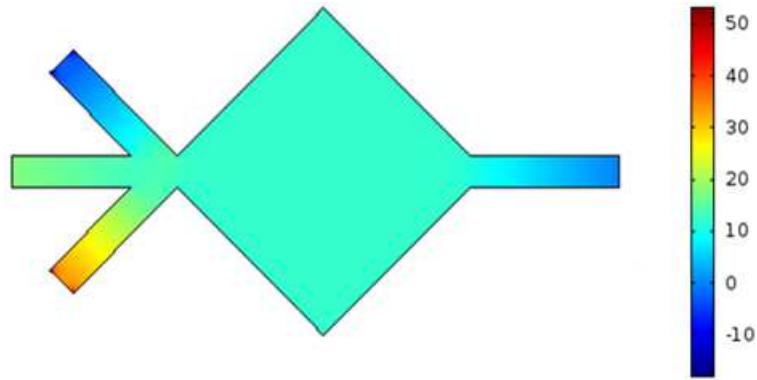


Figura 3.18 Campo di pressione corrispondente al picco del forcing esercitato dal canale inferiore

Osservando le mappe di concentrazione a regime per le due nuove configurazioni (Figura 3.19) non si osservano sostanziali miglioramenti della miscelazione. Le lamelle assumono, per valori di α minori, una maggiore curvatura (raggio di curvatura minore) conservando tuttavia lo stesso schema. A valle della cameretta si assiste ancora alla formazione di blobs di concentrazione, che successivamente fluiscono nel canale di uscita determinando oscillazioni nel profilo di concentrazione. La sola modifica di questo parametro risulta quindi inefficace in termini di miglioramento della qualità della miscelazione.

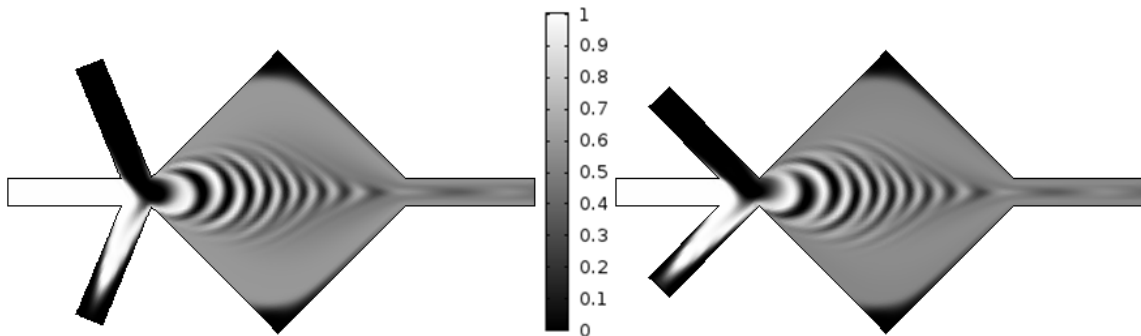


Figure 3.19 Mappe di concentrazione a regime relative alle configurazioni con $\alpha=67.5^\circ$ (a sinistra) e $\alpha=45^\circ$ (a destra).

Oltre a modificare l'inclinazione dei canali di ingresso laterali, si è deciso di cambiare la forma della cameretta, da quadrata a circolare (vedi Figura 3.20) con l'obiettivo di migliorare l'espansione del flusso nella suddetta pur mantenendo limitato l'ingombro del miscelatore. Questa nuova geometria favorisce l'espansione del flusso e, conseguentemente, lo stretching delle lamelle di concentrazione. Non ci si aspetta, invece, di osservare importanti cambiamenti nella morfologia del flusso, che dovrebbe mantenersi analoga a quella con la geometria quadrata.

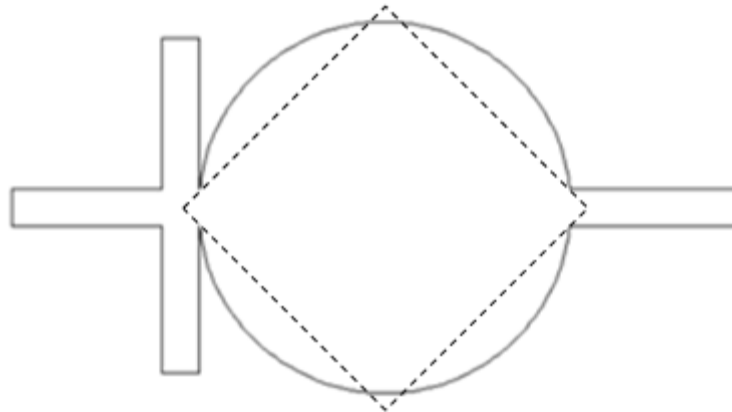


Figure 3.20 Modifica della geometria della cameretta (tratteggiato il profilo della forma precedente)

Confrontando le mappe di concentrazione ottenute a regime con le geometrie quadrata e circolare (Figura 3.21), si osservano alcune importanti differenze. Con la geometria circolare il flusso sfrutta meglio l' aumentato spazio a disposizione e va ad occupare quasi interamente il volume della cameretta. Le lamelle che si formano per l'azione del forcing sono più allungate. Alla maggiore espansione del flusso all'ingresso della cameretta corrisponde un migliore stretching delle lamelle, che favorisce l'azione della diffusione molecolare. Nel canale di uscita si osserva ancora il trasporto di sottili aggregati aventi differenti concentrazioni dovuti all'incompleta diffusione della porzione centrale delle lamelle. Tuttavia questi aggregati sono maggiormente omogeneizzati che nei casi precedenti.

A conferma della maggiore omogeneizzazione della concentrazione prodotta all'uscita del dispositivo, si può confrontare l'andamento del valor medio della concentrazione nella sezione di uscita per le due differenti geometrie (Figura 3.22). Mentre nel caso della geometria quadrata si erano già osservate oscillazioni con ampiezza picco-picco fino a 0.04, con la geometria circolare queste si riducono a 0.01.

Confrontando i profili di concentrazione nella sezione di outlet (Figura 3.23) ottenuti con le geometrie quadrata e circolare, si nota che il profilo di concentrazione è più regolare nel caso della geometria circolare a causa della maggiore omogeneizzazione delle lamelle. Tuttavia, muovendosi dal centro del canale verso le pareti la concentrazione è più bassa al centro del canale mentre lungo le pareti è più elevata, per il profilo mostra due picchi.

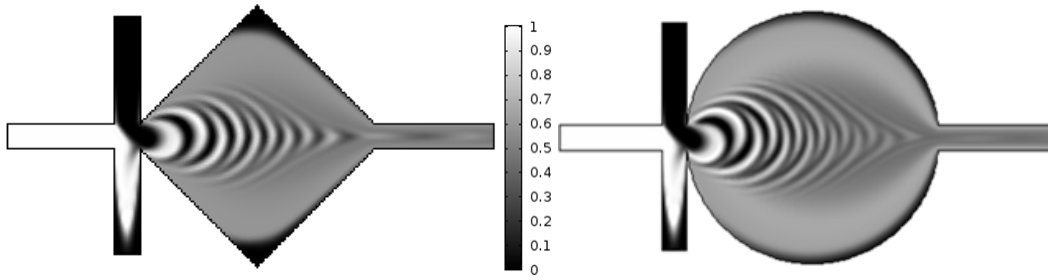


Figura 3.21 Confronto tra le mappe di concentrazione ottenute con le due diverse geometrie della cameretta

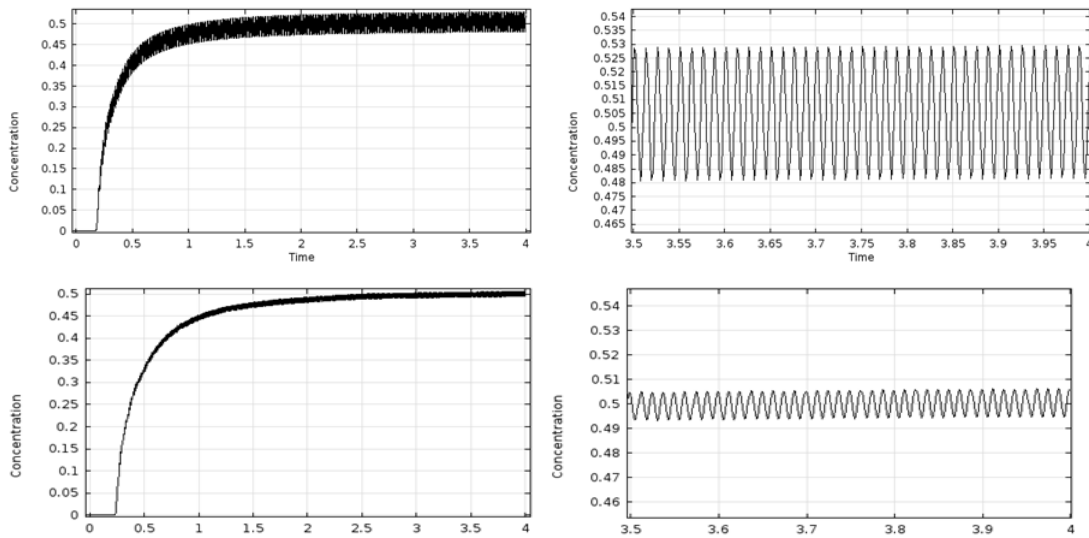


Figura 3.22 Andamento del valor medio della concentrazione calcolato sulla sezione di uscita relativo a geometria: quadrata (in alto) e circolare (in basso). Nei dettagli è possibile riconoscere la relazione tra la frequenza delle oscillazioni e quella di forcing

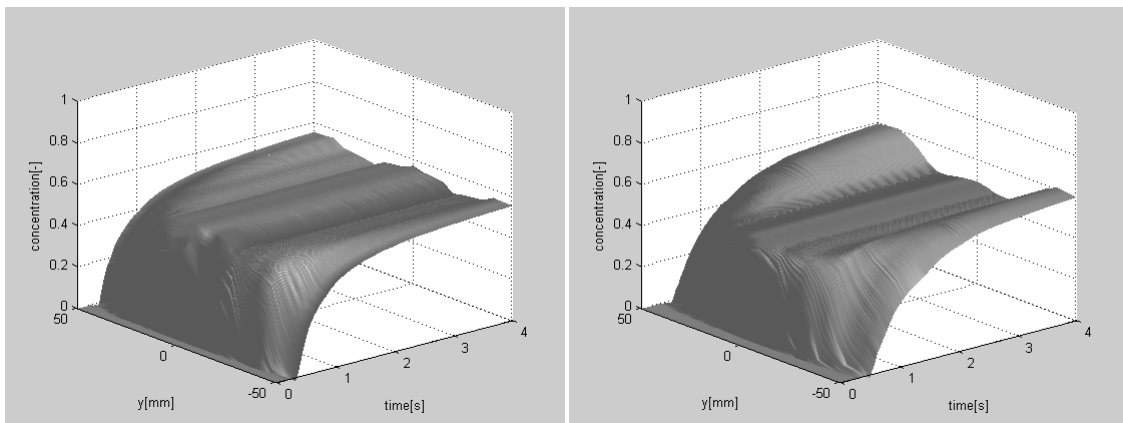


Figure 3.23 Confronto tra i profili di concentrazione nella sezione di uscita ottenuti con geometria: quadrata (a sinistra) e circolare (a destra)

Al fine di migliorarne ulteriormente la performance, è stata introdotta un'altra modifica al design del miscelatore: l'allargamento della sezione di imbocco nella cameretta. Raddoppiandone la larghezza, il fluido proveniente dai canali laterali può espandersi maggiormente all'interno e lungo le pareti della cameretta. Per conservare i miglioramenti introdotti dalla geometria circolare e seguendo il percorso tracciato con la modifica del parametro α , si è scelto di realizzare una geometria circolare con $\alpha=67.5$. Per valutare l'efficacia della modifica effettuata, si analizza, per esempio, il campo di velocità in corrispondenza del picco di forcing inferiore (vedi Figura 3.24). Si nota che la morfologia del flusso è notevolmente cambiata rispetto al caso precedente e all'imbocco della cameretta il flusso si biforca.

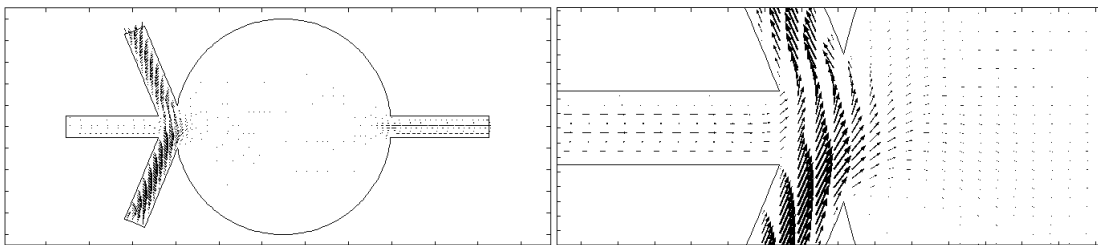


Figure 3.24 (a sinistra) Vettori velocità istantanei in corrispondenza del picco di portata proveniente dal canale laterali inferiore; (a destra) dettaglio della zona di confluenza dei tre canali di ingresso

Dall'osservazione della mappa di concentrazione è possibile identificare la formazione di due configurazioni di lamelle molto sottili e allungate, disposte simmetricamente rispetto al canale centrale (vedi Figura 3.25, sinistra). Lo scorrimento di parte del fluido proveniente dai canali laterali lungo le pareti della cameretta favorisce una maggiore espansione del flusso e quindi maggiore stretching delle lamelle. L'ulteriore riduzione dello spessore delle lamelle favorisce l'azione della diffusione molecolare che ha quindi tempo sufficiente per omogeneizzare meglio la concentrazione. Valutando l'andamento del valor medio della concentrazione calcolato nella sezione di uscita, infatti, non si osservano oscillazioni (Figura 3.25, a destra).

La migliorata performance del micro miscelatore è visibile anche nella forma assunta a regime dal profilo di concentrazione nella sezione di uscita (Figura 3.26). Il doppio picco, già osservato con l'introduzione della geometria circolare, si mantiene assumendo tuttavia una diversa connotazione. Le zone a concentrazione maggiore, poste lungo le pareti, assumono per la maggior parte della loro estensione, valore costante, così come al centro

del canale, dove la concentrazione è minore. Il dislivello tra i due valori di concentrazione risulta inoltre diminuito.

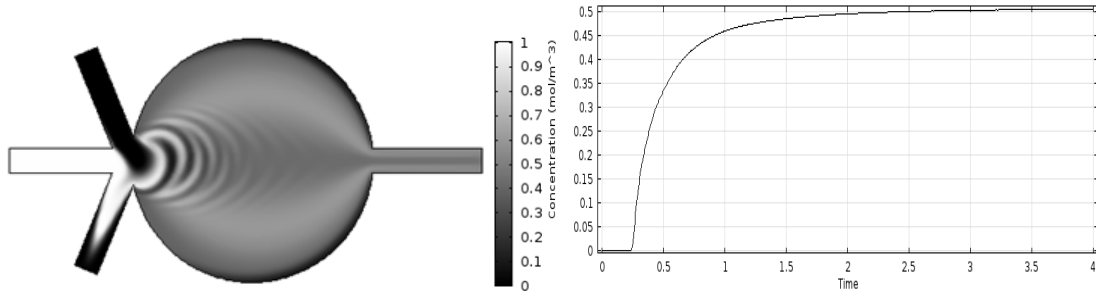


Figure 3.25 (a sinistra) Mappa di concentrazione a regime; (a destra) andamento del valor medio della concentrazione calcolato sulla sezione di uscita

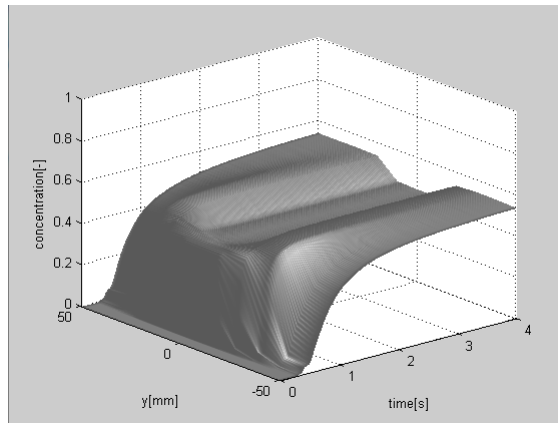
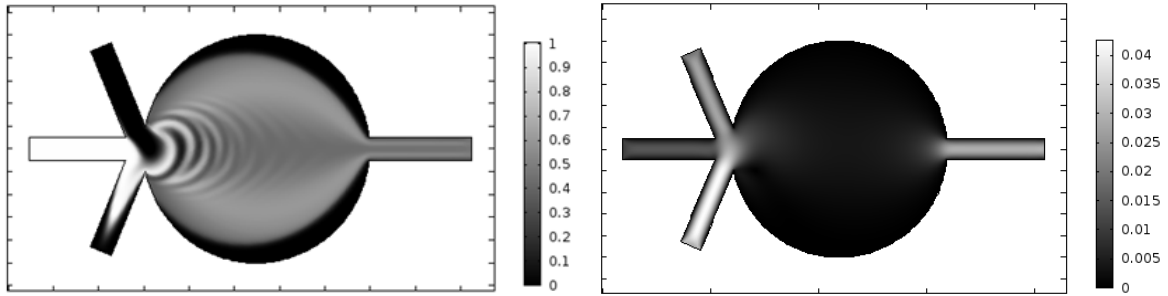


Figure 3.26 Andamento del profilo di concentrazione nella sezione di uscita

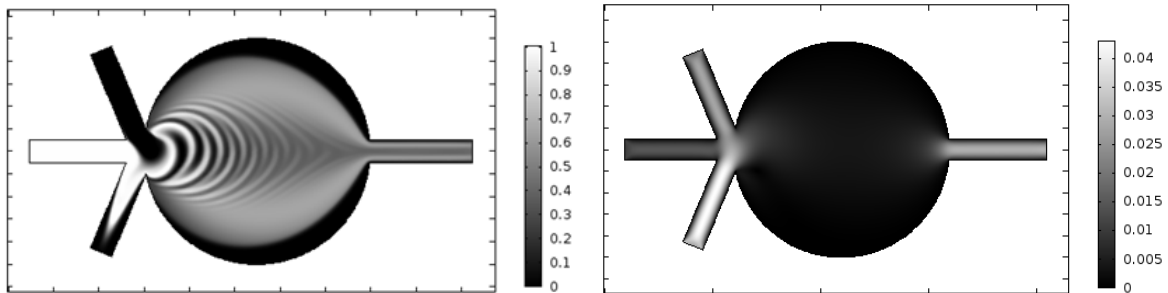
Analisi di sensitività della mesh

E' stata effettuata a questo punto un'analisi di sensitività della soluzione rispetto alla mesh utilizzata. Per indagare la relazione tra accuratezza della soluzione ottenuta e grado di infittimento della griglia utilizzata per la discretizzazione del problema (ovvero numero di elementi della mesh), si confrontano i risultati ottenuti generando tre mesh diverse. Il progressivo infittimento è stato condotto dimezzando le dimensioni massima e minima degli elementi, a partire dai valori utilizzati per le simulazioni effettuate in precedenza (vedi Tabella 2.1). Di seguito sono riportate le mappe di concentrazione e di velocità corrispondenti.

Mesh 1: 17974 elementi



Mesh 2: 70558 elementi



Mesh 3: 271994 elementi

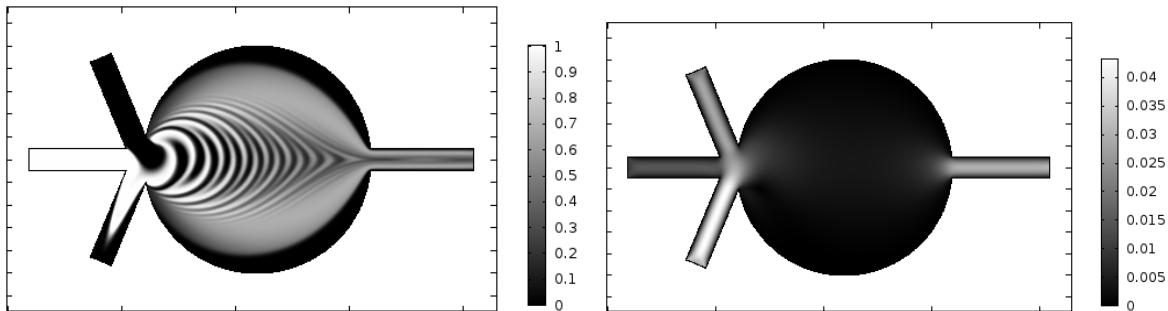


Figura 3.27 Mappe di concentrazione (a sinistra) e di velocità (a destra) relative alle tre mesh testate

La soluzione ottenuta con la Mesh 3 viene assunta quale soluzione di riferimento del problema, utilizzata per quantificare la diffusione numerica introdotta dall'utilizzo di una mesh più coarse. I risultati ottenuti con la Mesh 3 riferiscono della incompleta diffusione delle lamelle di concentrazione anche per questo nuovo design. Nel canale di uscita si osserva ancora il passaggio di blobs di concentrazione non omogenea, che determinano instabilità nel profilo di concentrazione.

La Mesh 2 fornisce invece risultati molto vicini, in termini di accuratezza, a quelli ottenuti con la Mesh 1. A parte una leggermente migliore risoluzione dei gradienti di concentrazione, che favorisce una più chiara visualizzazione del doppio pattern di lamelle che si forma all'interno della cameretta, le due soluzioni sono confrontabili. Nel canale

d'uscita il campo di concentrazione risente della maggiore diffusione numerica, risultando più omogeneo rispetto al caso della Mesh 3. La differenza rispetto ai risultati ottenuti con la Mesh 1 è costituita da una migliore risoluzione delle pendenze nel profilo di concentrazione. Dall'analisi effettuata è possibile stabilire che la scelta della Mesh 1 risulta perfettamente in linea con il principio che ispira la generazione delle griglie di calcolo per la risoluzione numerica di problemi matematici, ovvero quello di adottare un buon compromesso tra accuratezza della soluzione e tempo di calcolo.

3.4 Inserimento di un ostacolo

Per migliorare ulteriormente la qualità della miscelazione è stata considerata l'opportunità di inserire un ostacolo all'interno della cameretta in modo da eliminare il doppio picco nel profilo di concentrazione nella sezione di uscita del micro miscelatore. Dato il regime di moto fortemente laminare in cui deve operare il dispositivo, non ci si attende che l'ostacolo possa indurre un mescolamento convettivo dei due fluidi quanto piuttosto che possa generare un secondo livello di folding delle lamelle che, facendo crescere ulteriormente l'interfaccia tra i due fluidi, migliori la miscelazione. Con l'inserimento dell'ostacolo, inoltre, aumenta la distanza che i due fluidi devono percorrere prima di giungere all'uscita del miscelatore e, di conseguenza, la diffusione molecolare ha più tempo per omogeneizzare i gradienti di concentrazione.

Attraverso alcune prove preliminari è stata individuata nella forma circolare la soluzione più conveniente per l'ostacolo. Essa integra infatti un potenziale miglioramento della qualità della miscelazione con un'intatta semplicità costruttiva e un modesto incremento delle perdite di carico. Per identificarne la dimensione e posizione ottimali, sono state eseguite diverse prove. Prima è stata scelta la dimensione ottimale dell'ostacolo fissandone il centro e valutando tre differenti raggi. Poi sono stati analizzati gli effetti di un differente posizionamento dell'ostacolo, spostandolo alternativamente più vicino all'ingresso o all'uscita della cameretta.

Dimensionamento dell'ostacolo

Fissata la distanza tra la sezione di imbocco della cameretta e il centro dell'ostacolo (x) a 350 μ m, sono state valutate le seguenti dimensioni per il raggio dell'ostacolo: 150, 200 e

250 μm . In questo modo la minima distanza compresa tra le pareti della cameretta e l'ostacolo è di circa 100 μm , pari alla larghezza dei canali di ingresso. L'analisi delle mappe di concentrazione corrispondenti (Figura 3.28) fornisce alcune indicazioni. Con un ostacolo troppo piccolo ($R=150\mu\text{m}$), la ricomprensione delle lamelle a valle dell'ostacolo determina la formazione di un doppio picco nel profilo di concentrazione nella sezione di uscita (vedi Figura 3.28), già osservato in assenza dell'ostacolo. Le lamelle subiscono un secondo livello di folding, tuttavia la lunghezza imposta dall'ostacolo al percorso dei due fluidi non permette alla diffusione di omogeneizzare completamente i gradienti di concentrazione. Il risultato è simile a quello ottenuto senza l'inserimento dell'ostacolo.

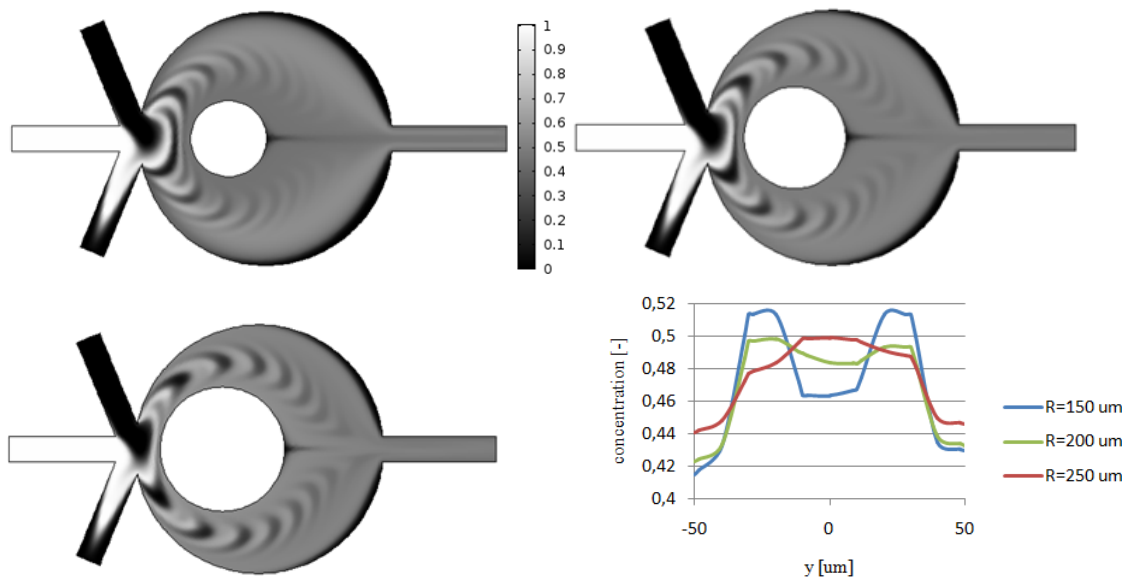


Figura 3.28 Mappe di concentrazione dopo 40 cicli di forcing per tre differenti dimensioni dell'ostacolo introdotto: (in alto, a sinistra) $R=150\mu\text{m}$; (in alto, a destra) $R=200\mu\text{m}$; (in basso, a sinistra) $R=250\mu\text{m}$; (in basso a destra) i corrispondenti profili di concentrazione nella sezione di uscita

Per dimensioni intermedie dell'ostacolo ($R=200\mu\text{m}$), le lamelle subiscono un folding più accentuato e percorrono una distanza maggiore all'interno della cameretta. La diffusione molecolare ha più tempo per agire e, di conseguenza, la concentrazione nel canale di uscita risulta più omogeneamente distribuita. Dopo soli 40 cicli di forcing è già visibile il miglioramento prodotto sul profilo di concentrazione nella sezione di uscita (Figura 3.28), in cui il doppio picco è appena accennato.

Per dimensioni dell'ostacolo troppo elevate ($R=250\mu\text{m}$) il campo di concentrazione nel canale di uscita risulta non stazionario. Le lamelle di concentrazione appena formate si muovono velocemente attorno all'ostacolo fluendo verso l'uscita. La diminuita distanza tra

la parte posteriore dell'ostacolo e il canale di uscita non permette alla diffusione molecolare di omogeneizzare i gradienti di concentrazione. Il periodico trasporto di lamelle di differente concentrazione, provenienti dai due lati dell'ostacolo, genera quindi un profilo di concentrazione che varia nel tempo nella sezione di uscita. Quindi, tra le tre dimensioni dell'ostacolo analizzate, quella intermedia induce un sensibile miglioramento della miscelazione. E' necessario però valutare attentamente il posizionamento dell'ostacolo, che risulta essere un altro parametro importante.

Posizionamento dell'ostacolo

Scelta il raggio $R=200\mu\text{m}$ dell'ostacolo, ne è stato valutato un diverso posizionamento, spostandolo alternativamente più vicino all'ingresso o all'uscita della cameretta di $50\mu\text{m}$ ($\pm 25\%$ del diametro). Arretrando l'ostacolo verso l'ingresso della cameretta, si ottiene un risultato simile a quello osservato quando l'ostacolo ha raggio $R=250\mu\text{m}$. Le lamelle appena formate vengono rapidamente trasportate attorno all'ostacolo e, giunte a valle dell'ostacolo, vengono ricomprese in direzione del canale di uscita, dove fluiscono senza che la diffusione abbia avuto il tempo di omogeneizzarle. Il profilo di concentrazione risultante cambia perciò nel tempo (vedi Figura 3.29).

Spostando invece l'ostacolo verso l'uscita della cameretta si ottiene un risultato analogo a quello ottenuto per l'ostacolo di raggio $R=150\mu\text{m}$. Le lamelle di concentrazione vengono ricomprese nel canale di uscita senza che la diffusione le abbia omogeneizzate completamente e il profilo di concentrazione presenta un doppio picco (vedi Figura 3.29). Quindi l'ostacolo di raggio $R=200\mu\text{m}$, centrato a $350\mu\text{m}$ dalla sezione di imbocco della cameretta, migliora ulteriormente la miscelazione dei due fluidi.

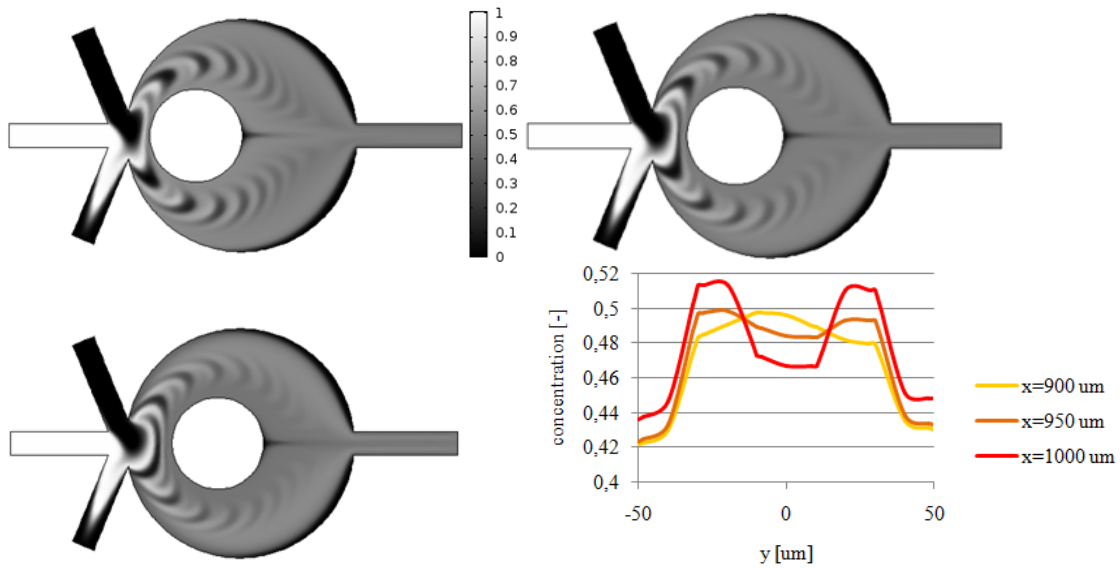


Figura 3.29 Mappe di concentrazione dopo 40 cicli di forcing per tre differenti posizioni dell’ostacolo introdotto: (in alto, a sinistra) $x=300\mu\text{m}$; (in alto, a destra) $x=350\mu\text{m}$; (in basso, a sinistra) $x=400\mu\text{m}$. (in basso a destra) corrispondenti profili di concentrazione nella sezione di uscita

Si analizzano più dettagliatamente qui di seguito i miglioramenti ottenuti inserendo nella cameretta di espansione del miscelatore un ostacolo circolare di raggio $200\mu\text{m}$ centrato a $350\mu\text{m}$ dalla sezione di ingresso della cameretta. Dalla mappa di concentrazione a regime (Figura 3.30) si può notare il doppio folding delle lamelle: il primo generato dall’azione del forcing, e il secondo indotto dalla presenza dell’ostacolo. La concentrazione nel canale di uscita risulta omogeneamente distribuita. Osservando il campo di velocità istantaneo (Figura 3.31), si nota che la biforcazione del flusso proveniente dai canali di inlet laterali continua a verificarsi, nonostante la piccola perdita di carico dovuta alla presenza dell’ostacolo (vedi Figura 3.32).

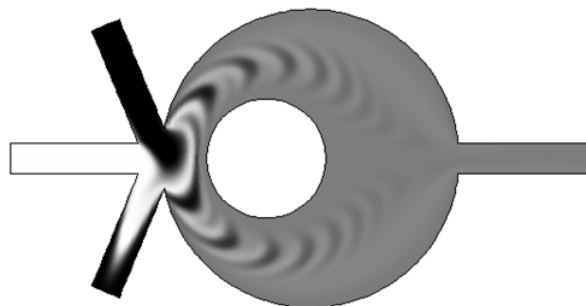


Figura 3.30 Mappa di concentrazione a regime

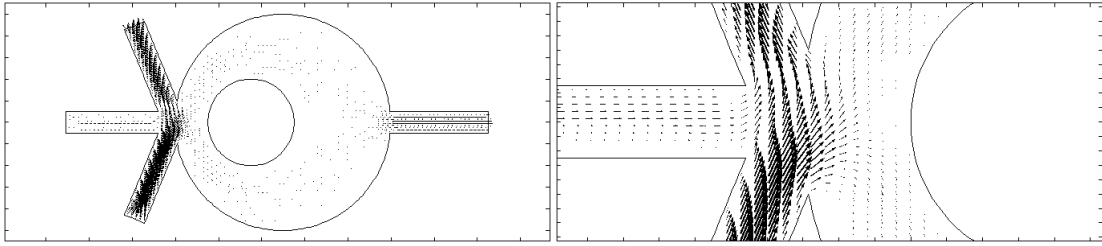


Figura 3.31 (in alto) Vettori velocità istantanei in corrispondenza del picco di forcing inferiore; (in basso) dettaglio della zona di confluenza dei canali di ingresso

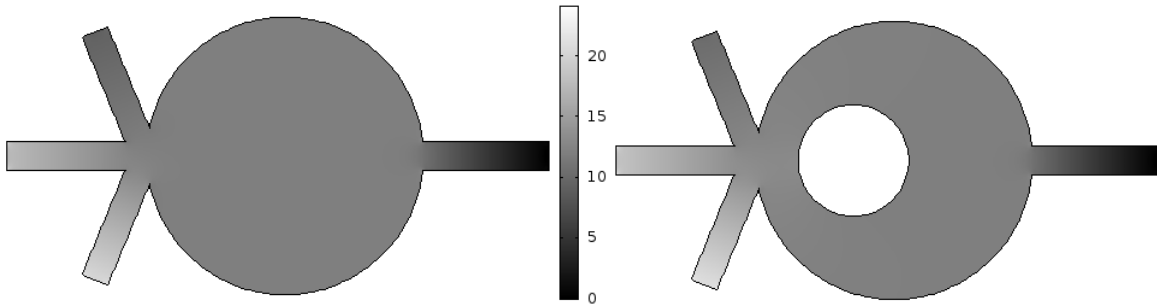
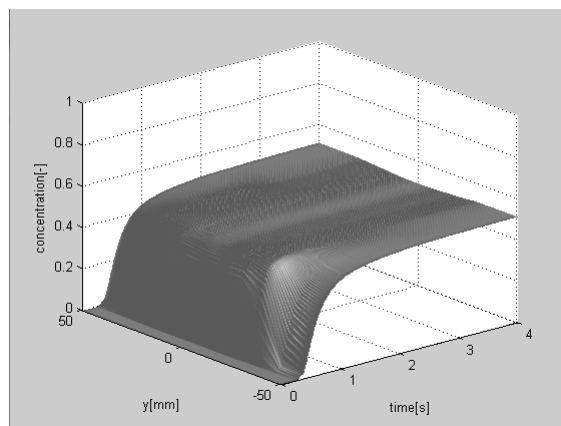


Figura 3.32 Campo di pressione per le due configurazioni senza e con ostacolo (in istanti corrispondenti). Le perdite di carico dovute all'una o all'altra configurazione sono confrontabili

Il profilo di concentrazione nella sezione di uscita è praticamente piatto (Figura 3.33, in alto), con una variazione massima di 0.02 tra le pareti e il centro del canale. Andando a calcolare il valore del Mixing Index (M), definito nel paragrafo 2.3, si ottiene $M=0.9845$, a conferma del notevole miglioramento della miscelazione. Un altro aspetto positivo, derivante dall'introduzione dell'ostacolo, è il più veloce raggiungimento della condizione di regime, che si ottiene dopo circa 3s (Figura 3.33, in basso).



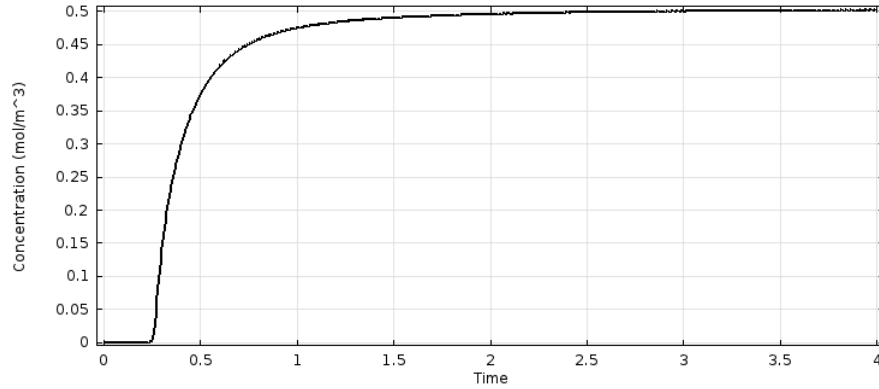


Figura 3.33 (in alto) Andamento del profilo di concentrazione nella sezione di uscita del micro miscelatore con inserito l'ostacolo; (in basso) Andamento del valor medio della concentrazione calcolato sulla sezione di uscita in cui si osserva il più rapido raggiungimento della condizione di regime

3.5 Modelli tridimensionali

Simmetria del flusso

Per ottimizzare lo sfruttamento delle risorse di calcolo disponibili, e considerando la necessità di utilizzare una mesh con un elevato numero di elementi per ottenere una soluzione sufficientemente accurata, si è pensato di applicare una condizione di simmetria al problema rispetto al piano xy. In questo modo viene dimezzato il numero di elementi della mesh, e il tempo di calcolo risulta notevolmente ridotto. Prima di imporre tale condizione però, è stata verificata l'effettiva simmetria del flusso simulandolo nell'intero volume del micro miscelatore (i risultati fanno riferimento a una simulazione effettuata in Comsol con una geometria non ancora ottimizzata). Si sono analizzate le mappe di concentrazione su piani trasversali al flusso in modo da ottenere informazioni circa la simmetria del flusso.

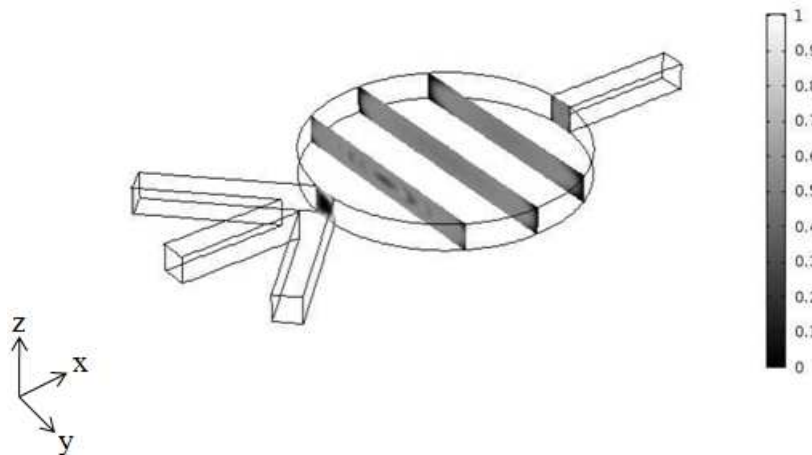


Figura 3.34 Sezioni trasversali scelte per verificare la simmetria del flusso

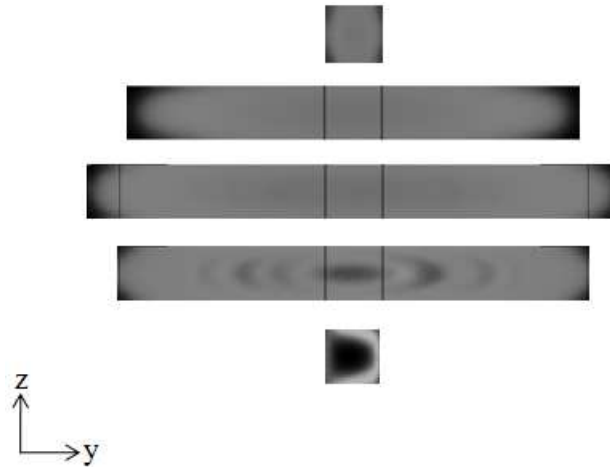


Figura 3.35 Mappe di concentrazione relative alle sezioni trasversali scelte. Procedendo dal basso verso l'alto si va dall'ingresso all'uscita della cameretta

Sono state valutate le mappe di concentrazione in cinque differenti sezioni parallele al piano y - z , equamente distanziate dall'ingresso all'uscita della cameretta (vedi Figura 3.35). Le sezioni dove ci si aspetta di osservare eventuali asimmetrie del flusso sono la sezione di ingresso nella cameretta e quella successiva. Nelle altre, infatti, l'effetto della diffusione rende più complicato il riconoscimento di asimmetrie che potrebbero tuttavia essere presenti. Analizzandole più nel dettaglio si può notare che nella sezione di ingresso della cameretta il flusso è con buona approssimazione simmetrico, così come nelle sezioni che vanno da metà all'uscita della cameretta. Nella seconda sezione invece sono presenti, nella porzione centrale, alcune piccole irregolarità nel profilo delle lamelle. Data però la piccola entità di tali irregolarità, e la sostanziale simmetria osservata nel resto della sezione, queste vengono attribuite agli effetti della discretizzazione (mesh).

Un'ulteriore conferma della simmetria del flusso si può avere visualizzando le mappe di concentrazione in sezioni parallele al piano di simmetria (parallelo al piano x - y). Sono stati quindi scelte due sezioni a 25 μm di distanza dal piano di simmetria (Figura 3.34) e osservate le relative mappe di concentrazione (Figura 3.35). Anche in questo caso la valutazione riguarda soprattutto la zona più critica per la simmetria, ovvero quella immediatamente a valle dell'ingresso nella cameretta. Osservando i bordi delle lamelle appena formate si ha conferma della sostanziale simmetria del flusso. E' quindi possibile assumere comportamento simmetrico del flusso nelle due porzioni superiore e inferiore del micro miscelatore, e applicare al piano di simmetria l'omonima condizione al contorno.

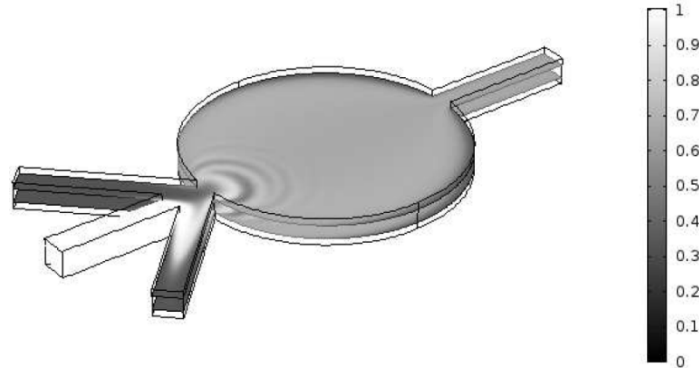


Figura 3.36 Sezioni parallele scelte per verificare la simmetria del flusso

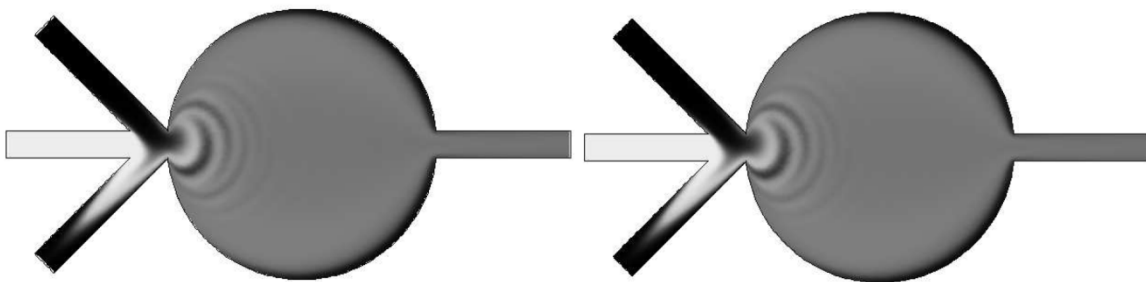


Figura 3.37 Mappe di concentrazione relative alle sezioni parallele scelte

Dei numerosi modelli bidimensionali analizzati in fase di ottimizzazione della geometria due sono stati estesi a modelli tridimensionali: quello con la geometria “ottimizzata”, con e senza inserito un ostacolo nella cameretta. Il passaggio a modelli tridimensionali ha il principale obiettivo di riprodurre più realisticamente il flusso dei due fluidi all’interno del micro miscelatore. Utilizzando modelli bidimensionali, infatti, effetti come l’attrito dovuto alle pareti superiore e inferiore del miscelatore non vengono rilevati. Tali effetti possono giocare un ruolo non trascurabile nel determinare la qualità della miscelazione ed è quindi importante tenerli in dovuta considerazione.

Miscelatore senza ostacolo

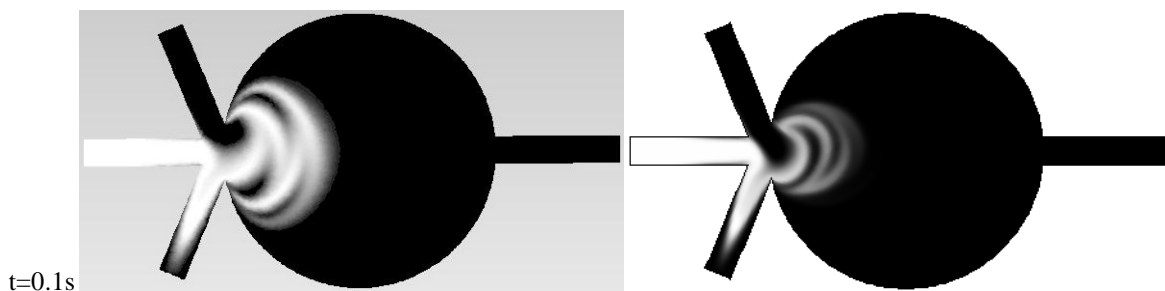
Per questa configurazione, dimostratasi limitatamente efficace rispetto al miglioramento della performance ottenibile ad esempio inserendo un ostacolo, il dispositivo non è stato portato a regime. La breve simulazione condotta (1s) ha però permesso di evidenziare alcune differenze nel campo di concentrazione rispetto ai risultati ottenuti con i modelli 2d. In Figura 3.38 sono riportate a sinistra le mappe di concentrazione sulla sezione in corrispondenza del piano di simmetria del modello 3d e a destra quelle ottenute con il modello 2d, in istanti di tempo corrispondenti. Dal confronto è possibile mettere in luce alcune differenze.

Innanzitutto si osserva che le lamelle di concentrazione che si formano per effetto del forcing applicato assumono una forma notevolmente diversa. Mentre nel caso 2d le lamelle sono molto più curvate e abbastanza strette, almeno nella fase iniziale, attorno all'asse del canale centrale, nel caso 3d esse sono meno curvate e più allungate (verso le porzioni esterne). Le forze di attrito lungo le pareti superiore e inferiore del miscelatore agiscono rallentando l'avanzamento delle lamelle all'interno della cameretta, e favorendone quindi un maggiore stretching. La lunghezza dell'interfaccia tra le lamelle a differente concentrazione risulta quindi ulteriormente aumentata, a vantaggio della diffusione molecolare.

Una altra conseguenza dell'aumentato stiramento delle lamelle è la più rapida occupazione dell'intero volume della cameretta, visibile confrontando le mappe di concentrazione negli stessi istanti di tempo. Dopo 1s nel caso 3d l'espansione del flusso ha stirato le lamelle fino a occupare pressoché interamente il volume della cameretta. Nel caso 2d, invece, parte della cameretta, in prossimità delle pareti, sono ancora occupate dal solo fluido a concentrazione $c=0$.

3D

2D



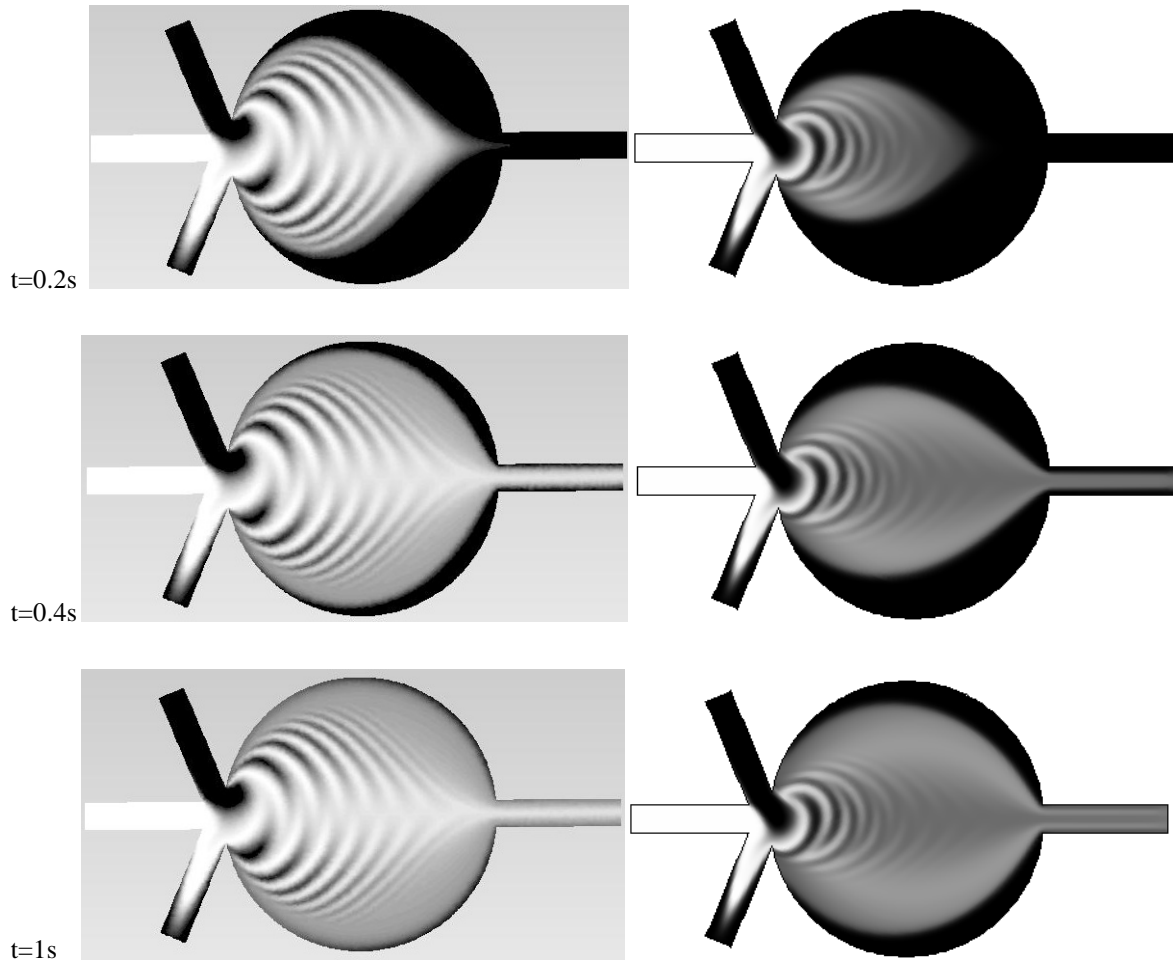


Figura 3.38 Confronto fra le mappe di concentrazione ottenute con i modelli: (a sinistra) tridimensionali (sezione sul piano di simmetria) e (a destra) bidimensionali

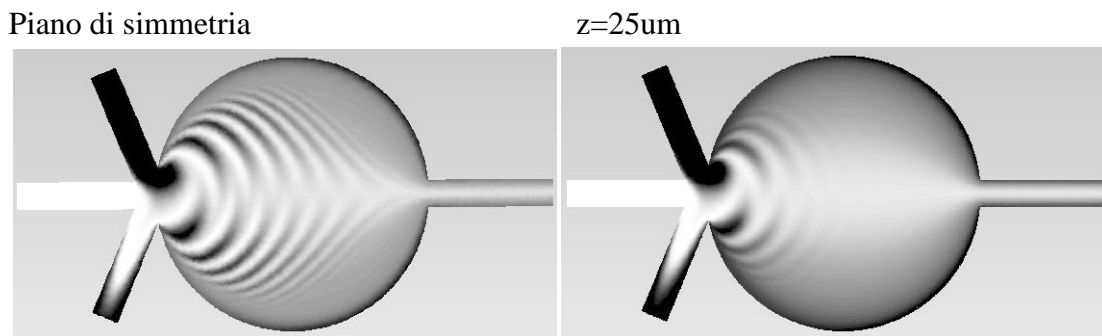


Figura 3.39 Mappe di concentrazione di sezioni in corrispondenza di: (a sinistra) piano di simmetria; (a destra) $z=25\mu\text{m}$

Per valutare l'effetto delle forze di attrito sull'omogeneizzazione dello scalare trasportato a seconda della distanza dalle pareti si visualizza la mappa di concentrazione in una sezione a distanza z di $25\mu\text{m}$ dal piano di simmetria, e la si confronta con la mappa sulla sezione in

corrispondenza del piano di simmetria (vedi Figura 3.39) A distanza minore dalle pareti le singole lamelle sono distinte nella prima metà della cameretta, mentre più a valle vengono omogeneizzate. A distanze minori dalle pareti infatti, anche procedendo più lentamente i due fluidi, la diffusione molecolare agisce più efficacemente. Per valutare anche la distribuzione del campo di concentrazione in direzione z, se ne rappresentano le mappe in alcune sezioni trasversali indicative: la sezione di ingresso della cameretta, dove si osserva l'interfaccia tra i due fluidi che s'incontrano; tre sezioni all'interno della cameretta, dalle quali si hanno informazioni sullo stato di avanzamento del processo di miscelazione; e la sezione di uscita, dove valutare la performance del miscelatore (in termini di omogenea distribuzione della concentrazione).

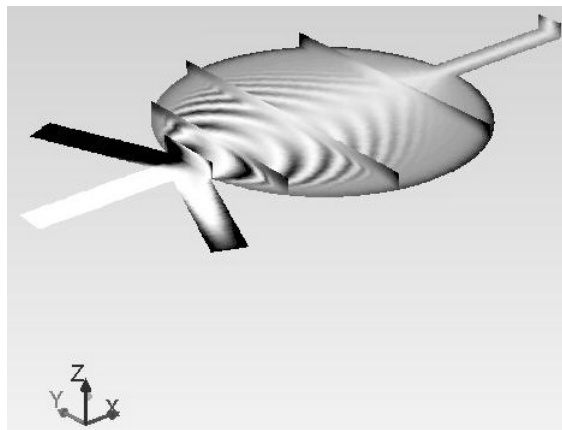
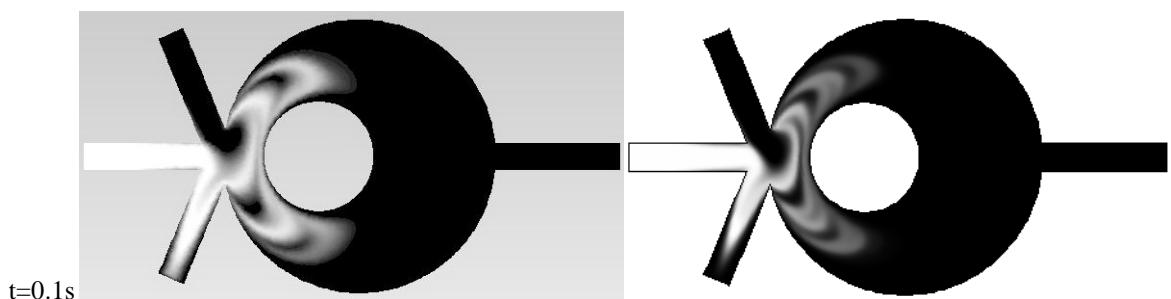


Figura 3.40 Mappe di concentrazione in alcune sezioni trasversali (parallele al piano yz)

Miscelatore con ostacolo

3D

2D



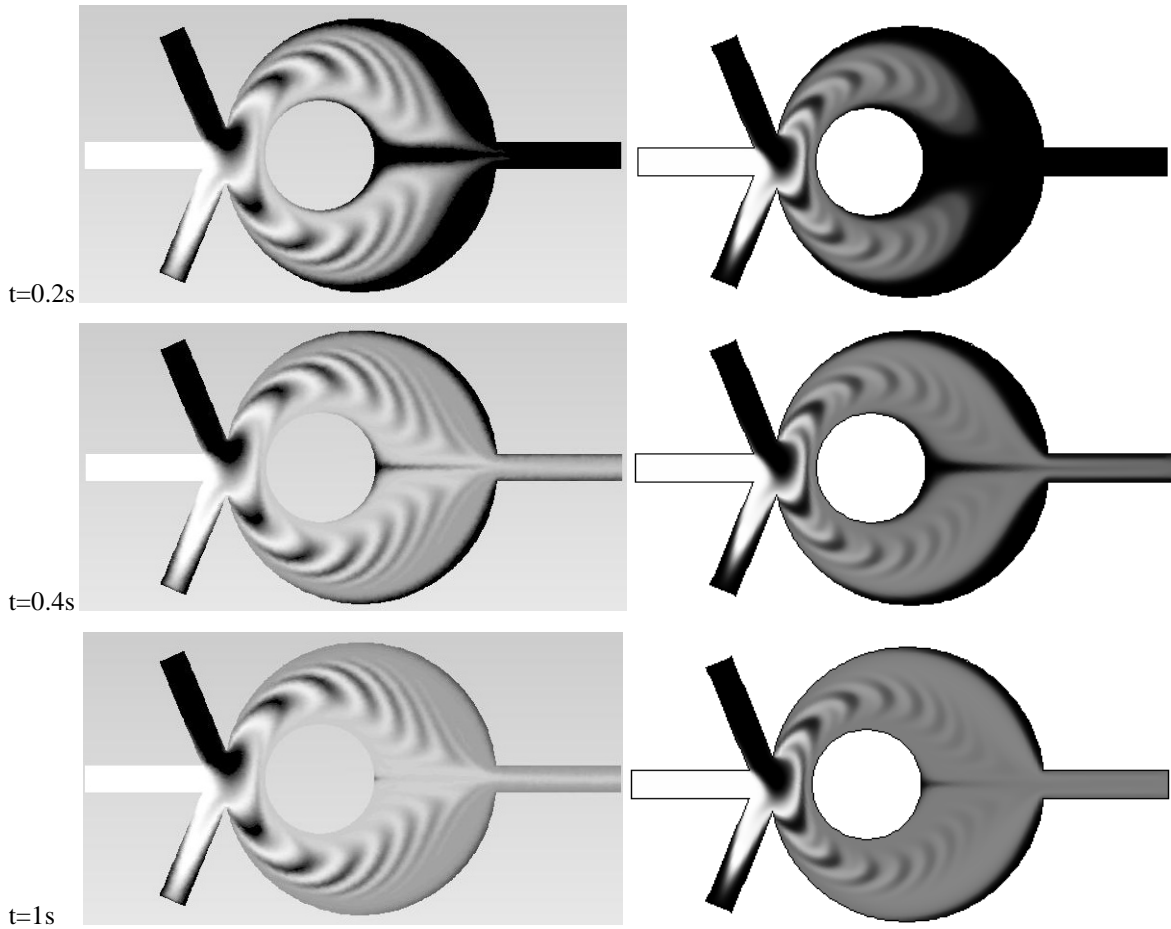


Figura 3.41 Confronto fra le mappe di concentrazione ottenute con i modelli tridimensionali (sezione sul piano di simmetria) e bidimensionali

In Figura 3.41 sono riportate a sinistra le mappe di concentrazione sulla sezione in corrispondenza del piano di simmetria del modello 3d con l'ostacolo inserito e a destra quelle ottenute con il corrispondente modello 2d, negli stessi istanti di tempo. Dal confronto è possibile evidenziare alcune differenze. Le lamelle di concentrazione, quando incontrano l'ostacolo, deviano ai lati dello stesso percorrendo le due sezioni comprese tra le pareti della cameretta e quelle dell'ostacolo e subendo un secondo folding. La principale differenza tra il caso tridimensionale e quello bidimensionale consiste nel diverso percorso seguito dalle lamelle per aggirare l'ostacolo. In 2d le lamelle si mantengono abbastanza compatte e nel superare l'ostacolo, si staccano da esso nella parte posteriore. In 3d, invece, il rallentamento subito per effetto delle forze di attrito e l'aumentato stretching le portano da una parte a restare più vicine all'ostacolo anche nella parte posteriore e dall'altra a occupare un volume maggiore all'interno della cameretta. Il risultato è un più rapido raggiungimento dell'uscita del micro miscelatore (vedi Figura 3.39, $t=0.02s$).

Confrontando le stesse mappe di concentrazione, con il micro miscelatore operante in condizioni di regime (Figura 3.42), si nota un'importante differenza. Nel caso 2d (a destra) la concentrazione nel canale di uscita risulta distribuita uniformemente. Nel caso 3d, invece, la concentrazione al centro del canale è maggiore rispetto a quella lungo le pareti. La differenza è da attribuire alla mesh più fine utilizzata nel caso 3d, che determina minore diffusione numerica.

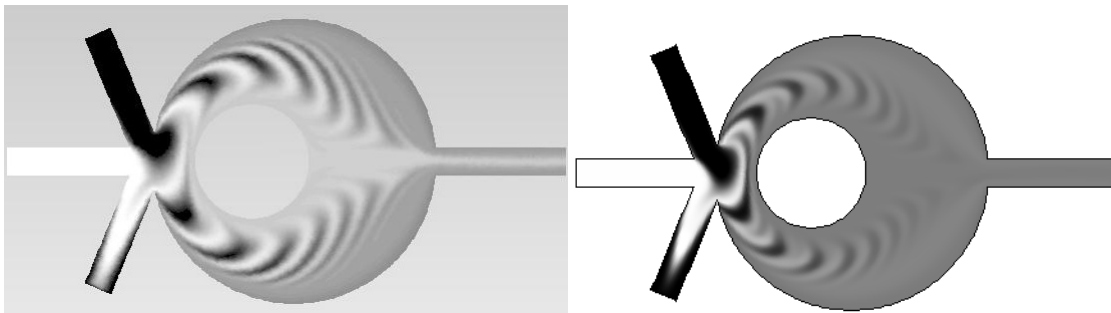


Figura 3.42 Mappe di concentrazione a regime per i modelli: tridimensionale (a sinistra) e bidimensionale (a destra)

Piano di simmetria

$z=25\mu\text{m}$

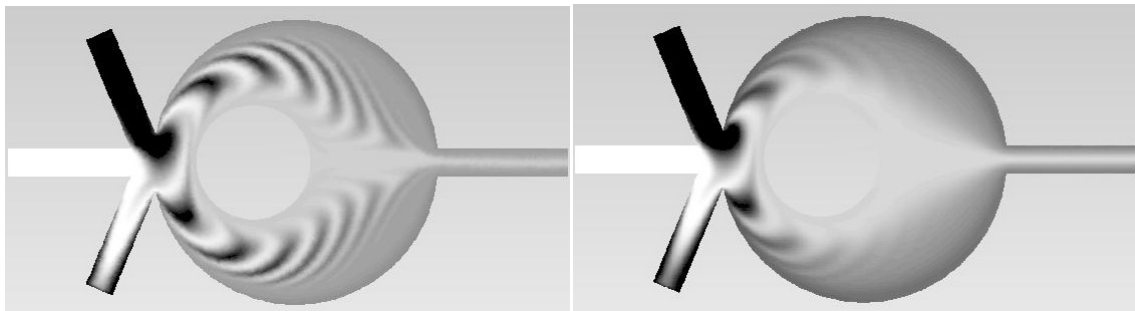


Figura 3.43 Mappe di concentrazione di sezioni in corrispondenza di: (a sinistra) piano di simmetria; (a destra) $z=25\mu\text{m}$

Osservando la mappa di concentrazione in una sezione posta a distanza z di $25\mu\text{m}$ dal piano di simmetria si nota ancora la maggiore omogeneizzazione delle lamelle, anche se la concentrazione risulta distribuita su due livelli (vedi Figura 3.43). Nella parte posteriore dell'ostacolo e poi al centro del canale di uscita la concentrazione è maggiore rispetto alle zone più vicine alle pareti della cameretta e del canale di uscita. In Figura 3.44 sono riportate le mappe di concentrazione in alcune sezioni trasversali del miscelatore, le stesse già utilizzate in assenza dell'ostacolo.

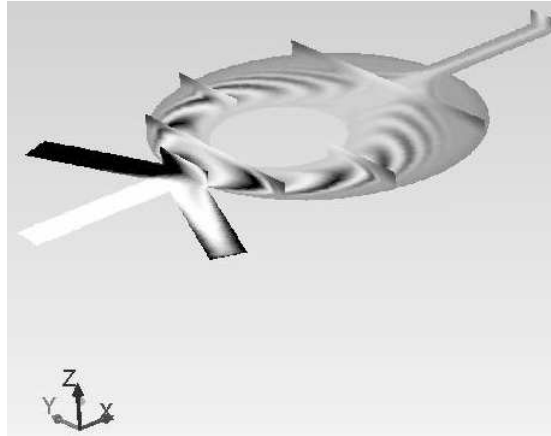


Figura 3.44 Mappe di concentrazione in alcune sezioni trasversali (parallele al piano yz)

3.6 Scaling del dispositivo

Per operare il riscalaggio del dispositivo, mantenendo le stesse condizioni di funzionamento, vanno mantenuti costanti i valori dei numeri adimensionali caratteristici, introdotti nel paragrafo 1.2:

$$\text{numero di Reynolds: } Re = \frac{\rho v L}{\mu},$$

$$\text{numero di Strouhal: } St = \frac{f L}{v}, \text{ e}$$

$$\text{numero di Peclèt: } Pe = \frac{v L}{D}$$

Per le dimensioni di riferimento (originali) del micro miscelatore, assumendo come lunghezza caratteristica L il diametro idraulico della sezione di imbocco della cameretta,

$$L = 4 * A / P_w = 4 * (2 * 10^{-4} * 10^{-4}) / 6 * 10^{-4} = 1.33 * 10^{-4},$$

come velocità caratteristica quella nel canale centrale, pari a 0.01 m/s e come frequenza caratteristica quella di forcing (40 z), i numeri adimensionali assumono i seguenti valori:

$$Re = \frac{\rho v L}{\mu} = 10^3 [\text{kg/m}^3] * 0.01 [\text{m/s}] * 1.33 * 10^{-4} [\text{m}] / 10^{-3} [\text{Pa*s}] = 1.33$$

$$St = f * L / v = 40 [1/s] * 1.33 * 10^{-4} [\text{m}] / 0.01 [\text{m/s}] = 0.532$$

$$Pe = v * L / D = 0.01 [\text{m/s}] * 1.33 * 10^{-4} [\text{m}] / 10^{-10} [\text{m}^2/\text{s}] = 1.33 * 10^4$$

Ricalcolando i valori delle grandezze caratteristiche v ed f , tali da mantenere gli stessi Re , St e Pe , con L che si reduce ad esempio di un fattore 10, si ottiene

$$Re = \frac{\rho v L}{\mu} = 10^3 [\text{kg/m}^3] * v [\text{m/s}] * 1.33 * 10^{-5} [\text{m}] / 10^{-3} [\text{Pa*s}] = 1.33, \text{ da cui si ricava}$$

$$v_{Sc} = 0.1 \text{ m/s}$$

Inserendo la velocità appena ricavata nella definizione del numero di Strouhal si ottiene:

$$St = f_{Sc} * L_{Sc} / v_{Sc} = f_{Sc} [1/s] * 1.33 * 10^{-5} [\text{m}] / 0.1 [\text{m/s}] = 0.532, \text{ da cui}$$

$$f_{Sc} = 4000 \text{ Hz}$$

con il numero di Peclèt che rimane costante

$$Pe = v_{Sc} * L_{Sc} / D = 0.1 [\text{m/s}] * 1.33 * 10^{-5} [\text{m}] / 10^{-10} [\text{m}^2/\text{s}] = 1.33 * 10^4$$

Dalla trattazione svolta il dispositivo risulta difficilmente scalabile verso il basso. La frequenza di forcing richiesta aumenta infatti quadraticamente rispetto al fattore di scala. La relazione ottenuta può risultare interessante nel caso si voglia operare un riscalaggio verso l'alto del dispositivo progettato, per il quale le frequenze di forcing corrispondenti diminuiscono quadraticamente con il fattore di scala

Capitolo 4

Conclusioni

Nel presente lavoro di tesi è stato progettato numericamente un micro miscelatore attivo rivolto ad applicazioni in ambito biomedicale e potenzialmente integrabile in sistemi Lab-On-a-Chip. La scelta di un dispositivo di tipo attivo, in controtendenza rispetto alla maggior parte degli studi riportati in letteratura, è legata agli specifici requisiti del progetto che sono: la semplicità costruttiva, l'elevata velocità di mescolamento e la riutilizzabilità del micro miscelatore.

La geometria adottata, ispirata da un lavoro di Cubaud (2009), combina tre canali di ingresso, uno principale e due secondari, che convergono in una cameretta di mescolamento.

Il flusso nei canali secondari è forzato ad oscillare nel tempo per favorire la creazione e il conseguente stretching e folding di lamelle di differente concentrazione. Questo meccanismo attivo favorisce la crescita esponenziale dell'interfaccia tra i due fluidi e permette alla diffusione molecolare di omogeneizzare i gradienti di concentrazione e completare il processo di mescolamento. Matematicamente il moto dei fluidi è ottenuto risolvendo le equazioni di Navier-Stokes mentre l'evoluzione del campo di concentrazione è ottenuta risolvendo l'equazione di convezione e diffusione.

Queste equazioni differenziali sono state risolte numericamente usando inizialmente il codice a elementi finiti Comsol Multiphysics e successivamente il codice a volumi finiti Ansys Fluent. Le simulazioni numeriche hanno permesso di indagare il rapporto tra semplicità di design e performance del micro miscelatore, con l'obiettivo di rendere meno onerosa l'implementazione dell'attuazione esterna necessaria per ottenere una veloce e adeguata miscelazione.

Il primo passo è stato caratterizzare la relazione tra numero di Strouhal (frequenza di forcing) e performance del micro miscelatore. I risultati mostrano che per basse frequenze di forcing ($f < 40\text{Hz}$) si hanno miglioramenti notevoli della performance del dispositivo con modesti incrementi della frequenza. Viceversa, per alte frequenze di forcing ($f > 80\text{Hz}$), ad

incrementi anche molto elevati della frequenza non corrispondono significativi miglioramenti della miscelazione.

Il secondo passo è stato indagare la possibilità di migliorare la performance del micro miscelatore modificandone la geometria pur mantenendo costante la frequenza di forcing. Le modifiche apportate alla geometria hanno avuto due obiettivi principali. Primo, estendere il più possibile all'interno della cameretta l'azione del campo di velocità generato dal forcing. Secondo, favorire una maggiore espansione del flusso e, quindi, un maggiore stretching delle lamelle di concentrazione, modificando la forma (e le dimensioni) della cameretta. Infine, è stata valutata l'opportunità di inserire un ostacolo all'interno della cameretta per migliorare ulteriormente la performance del micro miscelatore.

Nel terzo e finale passo, è stata valutata la possibilità di riscalare, cioè di ridurre di un ordine di grandezza le dimensioni del micro miscelatore mantenendone inalterate le prestazioni. La scalabilità, obiettivo principe di tutti i progetti ingegneristici, e' nella maggior parte dei casi difficilmente ottenibile e verificabile. Nel nostro caso, abbiamo cercato di risalire alla legge di scalabilità mantenendo costanti i valori dei numeri adimensionali utilizzati per descrivere le condizioni di funzionamento del dispositivo, cioè i numeri di Reynolds, Strouhal e Peclet.

Questo studio ha messo ancora una volta in luce le difficoltà di progettare un micro miscelatore operante in regimi di flusso altamente laminari ($Re < 1$) e con ridotta diffusione molecolare ($Pe > 10^4$). Anche un superbo design della geometria del micro miscelatore non è, in generale, sufficiente a garantire un rapido e completo mescolamento dei due fluidi. Così per progettare un dispositivo robusto e flessibile, capace di funzionare con differenti fluidi e sotto differenti condizioni operative, si è deciso di progettare un micro miscelatore attivo in cui la portata dei canali di ingresso laterali viene modulata nel tempo in modo da favorire la formazione di lamelle di concentrazione e l'omogeneizzazione delle stesse.

La geometria del dispositivo gioca un ruolo importante nel successo del micro miscelatore. Nel nostro caso la geometria si sposa con il sistema di attuazione, questo sistema genera le lamelle di concentrazione e la cameretta circolare con ostacolo circolare permette l'espansione, il folding and lo stretching delle stesse in modo che la diffusione molecolare possa contribuire al massimo al processo di omogeneizzazione.

L'attuazione attiva del micro miscelatore gioca un ruolo cruciale nel suo successo. In assenza di attuazione non si formano lamelle di concentrazione e la performance del micro miscelatore è niente più che mediocre. L'attuazione promuove la formazione di alternate lamelle di concentrazione di cui il flusso nella cameretta e attorno all'ostacolo favorisce lo stretching e il folding. Questi due meccanismi, fondamentali in ogni processo di mescolamento, permettono al micro miscelatore di lavorare a regime e produrre una completa miscelazione dei due fluidi in circa tre secondi.

Il dispositivo progettato in questa tesi, oltre all'ottima performance, è facile da costruire, pulire e riutilizzare. In aggiunta a queste qualità, il dispositivo è anche scalabile. In altre parole, le dimensioni del dispositivo possono essere cambiate e le portate e la frequenza di forcing modificate in modo da ottenere un performance inalterata. La legge di scalabilità ottenuta indica un rapporto quadratico inverso tra il fattore di scala e la frequenza di forcing. In altre parole, riducendo le dimensioni del miscelatore di un fattore 10, la frequenza di forcing necessaria per mantenere le stesse condizioni di funzionamento deve aumentare di un fattore 100.

Complessivamente il micro miscelatore ha una performance competitiva con i migliori prodotti esistenti e risulta integrabile in sistemi Lab-on-Chip per un vasto insieme di applicazioni.

Bibliografia

- Whitesides, G M, *The origins and the future of microfluidics*, Nature, 2006, 442: 368-373
- Burns, M A et al., *An integrated nanoliter DNA analysis device*, Science, 1998, 282: 484-487
- Mark, D et al., *Microfluidic lab-on-a-chip platforms: requirements, characteristics and applications*, Chemical Society Reviews, 2010, 39: 1153-1182
- Mariella, R, *Sample preparation: the weak link in microfluidics-based biodetection*, Biomedical microdevices, 2008, 10: 777-784
- Whitesides, G M, *Solving problems*, Lab on a Chip, 2010, 10: 2317-2318
- Haeberle, S & Zengerle, R, *Microfluidic platforms for lab-on-a-chip applications*, Lab on a Chip, 2007, 7: 1094-1110
- Nguyen, N & Wereley, S, *Fundamentals and applications of microfluidics*, Artech House, Norwood, Massachusetts, USA, 2002
- Aref, H, *Stirring by chaotic advection*, Journal of Fluid Mechanics, 1984, 143: 1-21
- Weibel, D B & Whitesides, G M, *Applications of microfluidics in chemical biology*, Current Opinion in Chemical Biology, 2006, 10: 584-591
- Yeo, L Y et al., *Microfluidic devices for bioapplications*, Small, 2011, 7: 12-48
- Stahl, M, Aslund, B L, Rasmuson, A C, *Reaction crystallization kinetics of benzoic acid*, AIChE Journal, 2001, 47: 1544-1560
- Yun, K S & Yoon, E, *Microfluidic components and bio-reactors for miniaturized bio-chip applications*, Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2004, 9: 86-92
- Pennemann, H et al., *Investigations on pulse broadening for catalyst screening in gas/liquid systems*, AIChE Journal, 2004, 50: 1814-1823
- Hessel, V & Lowe, H, *Organic synthesis with microstructured reactors*, Chemical Engineering & Technology, 2005, 28: 267-284
- Daito, N et al., *Selective condensation reaction of phenols and hydroxybenzyl alcohol using micromixers based on collision of fluid segments*, Industrial and Engineering Chemistry Research, 2006, 45: 4954-4961
- Burke, B J & Regnier, F E, *Stopped flow enzyme assays on a chip using a microfabricated*

- mixer*, Analytical Chemistry, 2003, 75: 1786-1791
- Hadd, A G et al., *Microchip device for performing enzyme assays*, Analytical Chemistry, 1997, 69: 3407-3412
- Sundberg, S A, *High-throughput and ultra-high-throughput: Solution and cell-based approaches*, Current Opinion in Biotechnology, 2000, 11: 47-53
- Dunn, D A & Feygin, I, *Challenges and solutions to ultra-high-throughput screening assay miniaturization: Submicroliters fluid handling*, Drug Discovery Today, 2000, 5: 84-91
- Battersby, B J & Trau, M, *Novel miniaturized systems in high-throughput screening*, Trends in Biotechnology, 2002, 20: 167-173
- Dittrich, P S, Jahnz, M, Schwille, P, *A new embedded process for compartmentalized cell-free protein expression and online detection in microfluidic devices*, ChemBioChem, 2005, 6: 811-814
- Hsu, C H & Folch, A, *Spatio-temporally-complex concentration profiles using a tunable chaotic micromixer*, Applied Physics Letters, 2006, 89: 144102
- Lu, H, Schmidt, M A, Jensen, K F, *A microfluidic electroporation device for cell lysis*, Lab on a Chip, 2005, 5: 23-29
- Chang et al., *Integrated polymerase chain reaction chips utilizing digital microfluidics*, Biomedical Microdevices, 2006, 8: 215-225
- Min, J, Kim, J H, Kim, S, *Microfluidic device for bioanalytical systems*, Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2004, 9: 100-106
- Chun, H, Kim, H, Chung, T, *Ultrafast active mixer using polyelectrolytic ion extractor*, Lab on a Chip, 2008, 8: 764-771
- Roder, H & Wuthrich, K, *Protein folding kinetics by combined used of rapid mixing techniques and NMR observation of individual amide protons*, Proteins: Structure, Function and Genetics, 1986, 1: 34-42
- Wensink, H et al., *Measuring reaction kinetics in a lab-on-a-chip by microcoil NMR*, Lab on a Chip, 2005, 5: 280-284
- Kakuta, M et al., *Time-resolved Fourier transform infrared spectrometry using a microfabricated continuous flow mixer: Application to protein conformation study using the example of ubiquitin*, Lab on a Chip, 2003, 3: 82-85
- Kamholz, A et al., *Quantitative analysis of molecular interaction in microfluidic channel: the T-sensor*, Analytical Chemistry, 1999, 71: 5340-5347

- Ismagilov, R F et al., *Experimental and theoretical scaling laws for transverse diffusive broadening in two-phase laminar flows in microchannels*, Applied Physics Letters, 2000, 76: 2376-2378
- Jackman, R J et al., *Microfluidic systems with on-line UV detection fabricated in photodefinable epoxy*, Journal of Micromechanics and Microengineering, 2001, 11: 263-269
- Knight, J B et al., *Hydrodynamic focusing on a silicon chip: mixing nanoliters in microseconds*, Physical Review Letters, 1998, 80: 3863-3866
- Nguyen, N T & Wu, Z, *Micromixers - A review*, Journal of Micromechanics and Microengineering, 2005, 15: R1-R16
- Schwesinger, N et al., *A modular microfluid system with an integrated micromixer*, Journal of Micromechanics and Microengineering, 1996, 6: 99-102
- Gray, B L et al., *Novel interconnection technologies for integrated microfluidic systems*, Sensors Actuators A, 1999, 77: 57-65
- Miyake, R et al., *Micro mixer with fast diffusion*, pp248-253, Proceedings MEMS'93, 6th IEEE Int. Workshop MicroElectroMechanical System, San Diego CA USA, 1993
- Voldman, J, Gray, M L, Schmidt, M A, *Integrated liquid mixer/valve*, Journal of Microelectromechanical Systems, 2000, 9: 295-302
- Johnson, T J, Ross, D, Locascio, L E, *Rapid microfluidic mixing*, Analytical Chemistry, 2002, 74: 45-51
- Stroock, A D et al., *Chaotic mixer for microchannels*, Science, 2002, 295: 647-651
- Kim, D S et al., *A barrier embedded chaotic micromixer*, Journal of Micromechanics and Microengineering, 2004, 14: 798-805
- Paik, P, Pamula, V K, Fair, R B, *Rapid droplet mixers for digital microfluidic systems*, Lab on a Chip, 2003, 3: 253-259
- Song, H et al., *Experimental test of scaling of mixing by chaotic advection in droplets moving through microfluidic channels*, Applied Physics Letters, 2003, 83: 4664-4666
- Deshmukh, A A, Liepmann, D, Pisano, A P, *Continuous micromixer with pulsatile micropumps*, pp73-76, Technical Digest of the IEE Solid State Sensor and Actuator Workshop, Hilton Head Island, SC, 2000
- Glasgow, I, Aubry, N, *Enhancement of microfluidic mixing using time pulsing*, Lab on a Chip, 2003, 3: 114-120
- Mao, H, Yang, T, Cremer, P S, *A microfluidic device with a linear temperature gradient*

- for parallel and combinatorial measurements*, Journal of the American Chemical Society, 2002, 124: 4432-4435
- Tsai, J H & Lin, L, *Active microfluidic mixer and gas bubble filter driven by thermal bubble pump*, Sensors Actuators A, 2002, 97-98: 665-671
- El Moctar, A O, Aubry, N, Batton, J, *Electro-hydrodynamic microfluidic mixer*, Lab on a Chip, 2003, 3: 273-280
- Lee, Y K et al., *Chaotic mixing in electrokinetically and pressure driven micro flows*, pp483-486, Proceedings MEMS'01, 14th IEEE International Workshop Micro Electromechanical System, Interlaken, Svizzera, 2001
- Deval, J, Tabeling, P, Ho, C M, *A dielectrophoretic chaotic mixer*, pp36-39, Proceedings MEMS'02, 15th IEEE International Workshop MicroElectroMechanical System, Las Vegas, Nevada, USA, 2002
- Lettieri, G L et al., *Consequences of opposing electrokinetically and pressure-induced flows in microchannels of varying geometries*, pp351-354, Proceedings Micro Total Analysis Systems, Enschede, Olanda, 2000
- Oddy, M H, Santiago, J G, Mikkelsen, J C, *Electrokinetic instability micromixing*, Analytical Chemistry, 2001, 73: 5822-5832
- Bau, H H, Zhong, J, Yi, M, *A minute magneto hydrodynamic (MHD) mixer*, Sensors Actuators B, 2001, 79: 207-215
- Moroney, R M, White, R M, Howe, R T, *Ultrasonically induced microtransport*, pp277-282, Proceedings MEMS'91, 3th IEEE International Workshop Micro Electromechanical System, Nara, Giappone, 1991
- Cubau, T & Mason, T G, *High-viscosity fluid threads in weakly diffusive microfluidic systems*, New Journal of Physics, 2009, 11: 1-14 075029
- Sugano, K et al., *High-speed pulsed mixing with high-frequency switching of pumping from three inlet microchannels*, pp75-78, International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, Kaohsiung, Taiwan, 2011
- Glagow, I, Lieber, S, Aubry, N, *Parameters influencing pulsed flow mixing in microchannels*, Analytical Chemistry, 2004, 76: 4825-4832