

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE PACHUCA

Diseño de un dispositivo microfluídico de bajo costo,  
para la separación de microorganismos y células de  
interés médico y biotecnológico de tamaño entre 10  
a 200  $\mu\text{m}$ .

*Bajo la opción:*

TESIS

*Para obtener el grado de Maestro en Ingeniería Mecánica*

*Presenta:*

ING. GERMÁN GODÍNEZ CARDOZA

DIRECTOR:

*Dr. Celerino Reséndiz Rosas*

CO-DIRECTORES:

*Dr. Abdiel Gómez Mercado*

*Dr. Ignacio Ramírez Vargas*

Pachuca de Soto Hidalgo, Noviembre de 2016



Pachuca de Soto, Hgo., **23/noviembre/2016**

ASUNTO: Autorización de Impresión

OFICIO No. DEPI-218-16

**C. ING. GERMAN GODÍNEZ CARDOZA  
PRESENTE**

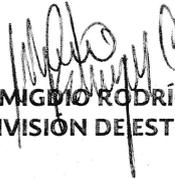
El que suscribe Jefe de la División de Estudios de Posgrado e Investigación, le comunica que los miembros de la Comisión Revisora, designada por el Consejo de Posgrado de la Maestría en Ingeniería Mecánica se han reunido y después de intercambiar opiniones manifiestan la aprobación de su Tesis:

**“Diseño de un dispositivo microfluídico de bajo costo, para la separación de microorganismos y células de interés médico y biotecnológico de tamaño ente 10 a 200  $\mu\text{m}$ ”**

en virtud que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes y en consecuencia, se autoriza su impresión.

Sin otro particular por el momento, quedo de usted.

**ATENTAMENTE**  
*EL HOMBRE ALIMENTA EL INGENIO EN CONTACTO CON LA CIENCIA*

  
**DR. MARIO EMIGDIO RODRÍGUEZ CASTILLO  
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**



SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA  
TECNOLÓGICO NACIONAL  
DE MÉXICO  
I.T. PACHUCA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE  
POSGRADO E INVESTIGACIÓN

C.p. Coordinación de Ingeniería Mecánica  
Archivo

EOAD/epr

**División de Estudios de Posgrado e Investigación**  
**Maestría en Ingeniería Mecánica**  
**ACTA**

Siendo las 13:00 horas del 11 de noviembre de 2016, reunidos en el aula U10, el Consejo de Posgrado en Ingeniería Mecánica manifiesta la APROBACIÓN del trabajo de Tesis titulado: Diseño de un dispositivo microfluídico de bajo costo, para la separación de microorganismos y células de interés médico y biotecnológico de tamaño entre 10 a 100  $\mu\text{m}$ , con el siguiente contenido:

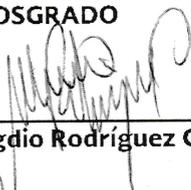
Resumen/Abstract  
Nomenclatura  
Introducción  
Contenido  
Índice de cuadros, gráficas y figuras.  
1. Introducción  
2. Marco teórico  
3. Marco metodológico  
4. Resultados  
Conclusiones y recomendaciones  
Trabajos futuros  
Bibliografía  
Apéndices

Para cubrir el requisito correspondiente a la Tesis para que el Ing. Germán Godínez Cardoza obtenga el grado de Maestría en Ingeniería Mecánica, bajo la dirección del Dr. Celerino Reséndiz Rosas, profesor de la Maestría en Ingeniería Mecánica de la División de Estudios de Posgrado e Investigación.

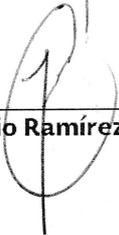
**ATENTAMENTE**

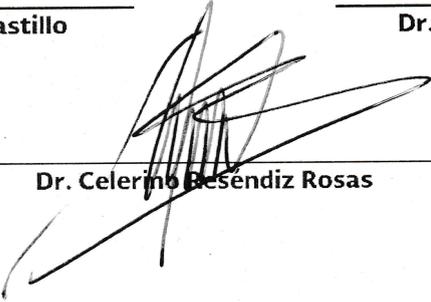
*"EL HOMBRE ALIMENTA EL INGENIO EN CONTACTO CON LA CIENCIA"*

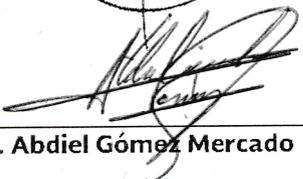
**EL CONSEJO DE POSGRADO**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Mario Emigdio Rodríguez Castillo**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Luis Manuel Palacios Prieta**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Ignacio Ramírez Vargas**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Celerino Reséndiz Rosas**

  
\_\_\_\_\_  
**Dr. Abdiel Gómez Mercado**

# Agradecimientos

*A mis padres Blanca Estela y Justino, quienes me han inculcado los diferentes valores y la disciplina que me han permitido dedicarme y desarrollarme en una de las cosas que mas me apasiona, "la Ingeniería".*

*A mis pequeñas hermanitas Estefany y Blanca, que siempre me han apoyado en los proyectos en lo que me he involucrado.*

*A mi pequeña sobrinita, quien me ha inspirado a aprender cada día mas acerca de los fenómenos de la naturaleza, para en un futuro cultivar parte de ese conocimiento en ella.*

*A mi asesor el Dr. Celerino, quien en todo momento me ha apoyado para el desarrollo de este proyecto.*

*Al consejo del posgrado en Ingeniería Mecánica, Dr. Luis, Dra. Osiris, Dr. Mario, Dr. Ignacio y Dr. Abdiel, ya que sus enseñanzas han sido un enorme paso para mi desarrollo profesional.*

*A mis amigos Cristobal, Roberto, Jonathan, Giovanni, Deby, Mar, Ing. Esteban, quienes me han apoyado y aportado consejos en esta etapa.*

*Al CONACyT, por otorgarme la beca de posgrado para el desarrollo de este proyecto.*

# Resumen

La microfluídica es un área multidisciplinaria muy prometedora, que ha presentado un desarrollo acelerado en los últimos 15 años, por las ventajas potenciales la caracterizan.

Esta área del conocimiento tiene como meta, el diseño de sistemas que sustituyan métodos analíticos que se llevan a cabo dentro de un laboratorio, con el objeto de reducir los costos de fabricación y llevar dichos métodos a lugares y personas que antes no tenían acceso a este tipo de determinaciones.

Este trabajo tiene como meta el diseño, simulación numérica, fabricación y puesta a punto de un sistema microfluídico de bajo costo para separar células, el cual sería uno de los primeros diseñados en el estado de Hidalgo, con miras a generar otros dispositivos similares para otras aplicaciones analíticas.

Para lograr esta meta se utilizan, técnicas de Dinámica Computacional de Fluidos (CFD), así como la implementación de metodologías de bajo costo, para la fabricación de sistemas microfluídicos, que previamente han sido propuestos por diferentes autores.

[Índice](#)

# Abstract

Microfluidics is a very promising multidisciplinary area, which has presented an accelerated development over the last 15 years, due to the potential advantages that characterize it.

This area of knowledge is aimed at the design of systems that substitute analytical methods which are carried out in a laboratory in order to reduce manufacturing costs and bring these methods to places and people who previously had no access to such determinations.

This work aims to design, numerically simulate, manufacture and develop a low cost microfluidic system for separating cells, which would be one of the first designed in the state of Hidalgo, with a view to generate similar devices for other analytical applications.

To achieve this goal techniques of Computational Fluid Dynamics (CFD) are employed, as well as the implementation of low-cost methods for the manufacture of microfluidic systems, which have previously been proposed by different authors.

[Índice](#)

# Índice general

<b>Resumen</b>	<b>IV</b>
<b>Abstract</b>	<b>V</b>
<b>Contenido</b>	<b>VI</b>
<b>Lista de Figuras</b>	<b>VII</b>
<b>Lista de Tablas</b>	<b>VIII</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
1.1. Antecedentes . . . . .	1
1.1.1. Aplicaciones de la microfluídica . . . . .	3
1.1.1.1. Aplicaciones en Biomedicina . . . . .	3
Detección de patógenos . . . . .	3
Biomarcadores . . . . .	4
Manipulación, separación y caracterización de células . . . . .	5
Órganos artificiales . . . . .	5
Hematología . . . . .	6
Dosificación de fármacos . . . . .	7
Diagnóstico y tratamiento del Cáncer . . . . .	8
1.1.1.2. Aplicaciones en ganadería, acuicultura y agricultura . . . . .	8
1.1.1.3. Aplicaciones en Biotecnología . . . . .	9
1.1.1.4. Aplicaciones en el área ambiental . . . . .	10
1.1.2. Materiales para sistemas microfluídicos . . . . .	10
1.1.2.1. Materiales inorgánicos . . . . .	10
1.1.2.2. Elastómeros y plásticos . . . . .	11
Elastómeros. . . . .	11
Plásticos termoestables. . . . .	11
Termoplásticos. . . . .	11
Hidrogeles. . . . .	11
Papel. . . . .	12
1.1.3. Métodos de bajo costo para la fabricación de sistemas microfluídicos . . . . .	12
1.1.3.1. Moldeo de PDMS . . . . .	12
1.1.3.2. Plotter digital de corte . . . . .	12

1.1.3.3.	Grabado láser	13
1.1.3.4.	Impresión 3D	13
1.1.3.5.	Bloques ensamblables	14
1.1.4.	Dinámica computacional de fluidos CFD	15
1.1.4.1.	Principios de la dinámica computacional de fluidos	15
1.1.4.2.	Metodología CFD	16
1.1.4.3.	Dinámica computacional de fluidos aplicada a microfluídica	18
1.2.	Justificación	19
1.3.	Planteamiento	21
1.4.	Hipotesis	22
1.5.	Objetivos	23
1.5.1.	Objetivo general	23
1.5.2.	Objetivos específicos	23
<b>2.</b>	<b>Marco Teórico</b>	<b>24</b>
2.1.	Procesos de transporte	24
2.2.	Hidrodinámica en sistemas microfluídicos	25
2.2.1.	Noción de la partícula del fluido	25
2.2.2.	Noción de viscosidad	26
2.2.3.	Ecuaciones hidrodinámicas	26
2.3.	Modelo de partículas para el estudio del flujo de fluidos	27
2.3.1.	Modelo de fase discreta	28
<b>3.</b>	<b>Marco Metodológico</b>	<b>29</b>
3.1.	Simulación numérica	30
3.1.1.	Diseño del sistema	30
3.1.2.	Simulación con Ansys Fluent	30
3.1.3.	Evaluación de resultados de simulación numérica	30
3.2.	Implementación de técnicas de fabricación de bajo costo	31
3.2.1.	Grabado láser de acrílico	31
3.2.2.	Fabricación de microcanales en PDMS	32
3.2.2.1.	Diseño de molde	32
3.2.2.2.	Moldeo	32
3.2.3.	Evaluación microscópica y polaroscópica de los diseños grabados con las técnicas láser y con PDMS	32
3.3.	Fabricación de dosificador para microflujo	33
3.4.	Obtención de algas microscópicas	33
3.4.1.	Obtención de muestra de algas	34
3.4.2.	Evaluación microscópica de morfología de algas	34
3.4.3.	Medición de células	34
3.5.	Implementación de microfluídica digital	35
3.5.1.	Diseño del sistema	35
3.5.2.	Construcción de la PCB de control y electrodos	37
3.5.3.	Pruebas de funcionamiento	37

---

<b>4. Resultados</b>	<b>39</b>
4.1. Simulación numérica . . . . .	39
4.2. Implementación de técnicas de fabricación de bajo costo . . . . .	41
4.2.1. Grabado láser . . . . .	41
4.2.2. Fabricación de microcanales en PDMS . . . . .	46
4.3. Fabricación de dosificador para microflujo . . . . .	51
4.3.1. Diseño mecánico . . . . .	51
4.3.2. Diseño electrónico . . . . .	53
4.4. Obtención de algas microscópicas . . . . .	55
4.4.1. Obtención de muestra . . . . .	55
4.4.2. Evaluación microscópica y medición . . . . .	55
4.5. Implementación de microfluídica digital . . . . .	57
<b>5. Conclusiones y recomendaciones</b>	<b>59</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>60</b>

# Índice de figuras

1.1. Chip microfluídico [1] . . . . .	2
1.2. Microfluídica digital [2] . . . . .	3
3.1. Ruta crítica de metodología . . . . .	29
3.2. Simulación tridimensional de una célula dentro de un microcanal [3] . . . . .	31
3.3. Espectro de tensiones alrededor de dos tornillos de 2 mm del sistema convencional [4]. . . . .	33
3.4. Imagen de una muestra de algas microscópicas, observadas con microscopio óptico 400x . . . . .	34
3.5. Camara de Neubauer . . . . .	35
3.6. Configuración de la fuente de alimentación. . . . .	36
3.7. Tarjeta MSP430 Launchpad con microcontrolador MSP430G2553. . . . .	36
3.8. Circuito de protección para etapa de control. . . . .	37
4.1. Diseño de geometría en SolidWorks . . . . .	39
4.2. Mallado de geometría . . . . .	40
4.3. Trayectorias con líneas . . . . .	40
4.4. Trayectoria con esferas de geometría . . . . .	40
4.5. Diseño de patrón de canales en Freecad . . . . .	41
4.6. Pieza tras corte láser . . . . .	42
4.7. Grabado lineal 1 . . . . .	42
4.8. Grabado lineal 2 . . . . .	42
4.9. Grabado lineal 3 . . . . .	43
4.10. Grabado lineal 4 . . . . .	43
4.11. Grabado lineal 5 . . . . .	43
4.12. Grabado lineal 6 . . . . .	43
4.13. Grabado lineal 7 . . . . .	44
4.14. Grabado lineal 8 . . . . .	44
4.15. Prueba con polariscopio 1 . . . . .	44
4.16. Prueba con polariscopio 2 . . . . .	45
4.17. Prueba con polariscopio 3 . . . . .	45
4.18. Prueba con polariscopio 4 . . . . .	45
4.19. Prueba con polariscopio 5 . . . . .	46
4.20. Molde para microcanales previo a grabado . . . . .	46
4.21. Molde para microcanales grabado . . . . .	46
4.22. PDMS sometido a vacío para retirar burbujas de aire . . . . .	47

---

4.23. PDMS al termino del curado . . . . .	47
4.24. PDMS solidificado . . . . .	47
4.25. Microcanales de PDMS desmontados del molde . . . . .	48
4.26. Chip microfluídico a detalle . . . . .	48
4.27. Acetato usado como molde . . . . .	49
4.28. Microcanales de chip microfluídico fabricados con técnica de la impresión láser en acetato . . . . .	49
4.29. Microcanales de mezclador microfluídico fabricados con técnica de la impresión láser en acetato . . . . .	49
4.30. Microcanales ampliados 100 veces con colorante azul para contraste . . . . .	50
4.31. Lugar de inyección de fluido ampliado 100 veces . . . . .	50
4.32. Medición de microcanales 100X . . . . .	51
4.33. Medición de microcanales 400X . . . . .	51
4.34. Diseño de dosificador en SolidWorks . . . . .	52
4.35. Vista explosionada del dosificador . . . . .	52
4.36. Partes terminadas del dosificador . . . . .	53
4.37. Motor y circuito de control . . . . .	53
4.38. Circuito de control . . . . .	53
4.39. Ensamble completo del dosificador . . . . .	54
4.40. Lugar del muestreo . . . . .	55
4.41. Cuadrados de 50 $\mu\text{m}$ sobre la cámara de Neubauer . . . . .	56
4.42. Muestra con algas microscópicas a 40x . . . . .	56
4.43. Acercamiento de la muestra a 40x . . . . .	56
4.44. Tarjetas de circuito impreso terminadas . . . . .	57
4.45. Tarjetas ensambladas . . . . .	57
4.46. Tarjetas de circuito impreso terminadas . . . . .	58
4.47. Prueba de sistema de control . . . . .	58
4.48. Prueba de sistema DMF . . . . .	58

# Índice de tablas

4.1. Costo de materiales de dosificador . . . . .	54
4.2. Parámetros de fuente de Alto voltaje . . . . .	57

# Capítulo 1

## Introducción

### 1.1. Antecedentes

Actualmente existe una creciente necesidad de reducir los tiempos y costos de diferentes técnicas analíticas y de separación en los sectores médico, veterinario, fitosanitario e industrial. Una de las posibles soluciones a esta necesidad se encuentra en el desarrollo y uso de microsistemas conocidos como laboratorios en chip (Lab-on-a-chip en inglés), los cuales están tomando cada vez mayor importancia en la industria biotecnológica y farmacéutica, ya sea en aplicaciones analíticas o preparativas [5]. La microfluídica se define como la ciencia y tecnología de manipulación y control de fluidos y partículas en canales y redes con dimensiones de entre 5 a 500  $\mu\text{m}$ , así como la tecnología asociada para el desarrollo de dichos dispositivos [6] [5]. Los sistemas microfluídicos transportan volúmenes de fluido que varían desde los microlitros, hasta los femtolitros, en canales que usualmente son grabados en la superficie de polímeros, pero ocasionalmente son grabados en vidrio u otros materiales [7].

La microfluídica surgió como resultado de cuatro áreas diferentes:

1. Análisis instrumental: Gracias al desarrollo de los métodos microanalíticos.
2. Biodefensa: Por la necesidad del desarrollo de sistemas portátiles para la detección de armas químicas y biológicas.
3. Biología molecular: Con el desarrollo de métodos microanalíticos para biomoléculas como el DNA, RNA y proteínas.

[Índice](#)

#### 4. Microelectrónica: Contribuyó con los métodos de microfabricación. [8]

El primer reporte de un sistema de esta naturaleza fue publicado en 1979, con el desarrollo de un cromatógrafo de gases fabricado en su mayoría sobre una oblea de silicio, utilizando técnica de fotolitografía y ataque químico. El sistema fue usado para separar una mezcla de hidrocarburos, llevándose a cabo en un tiempo menor a 10 segundos [9]. Este trabajo fue el punto de partida para el desarrollo las técnicas de fabricación que han sido desarrolladas hasta nuestros días.

El número de publicaciones en este campo, considerado como emergente, se han multiplicado de manera exponencial, pasando de menos de 1000 en el año 2003 a más de 3000 en el 2010, hablando de aplicaciones en el área de las ciencias biológicas [10]. La figura 1.1 muestra un chip microfluídico típico, en el que se han utilizado líquidos teñidos para resaltar los microcanales.

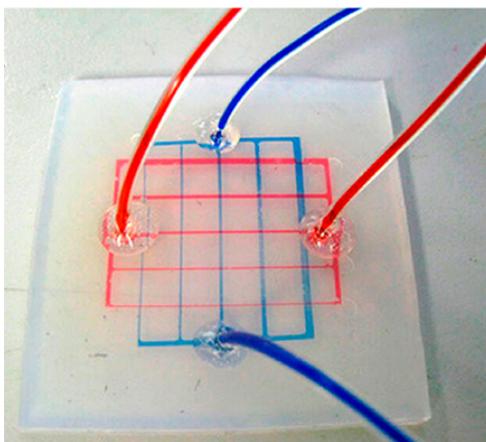


FIGURA 1.1: Chip microfluídico [1]

Una variante a las técnicas de microfluídica basadas en microcanales, es la llamada microfluídica digital o DMF. La microfluídica digital (DMF) es una tecnología emergente de manipulación de líquidos, que permite el control individual de gotas en una serie abierta de electrodos aislados electricamente del líquido. Estas gotitas con volumen entre picolitros a microlitros, sirven como un recipiente aislado para procesos químicos y pueden moverse, fusionarse, dividirse y dispensarse desde pequeños reservorios. Debido a sus ventajas únicas, incluyendo la instrumentación simple, la geometría flexible del dispositivo y el fácil acoplamiento con otras tecnologías, la DMF se está aplicando a una amplia gama de campos [2]. La figura 1.2 muestra un ejemplo de esta tecnología.

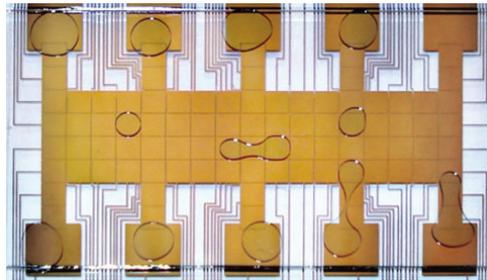


FIGURA 1.2: Microfluídica digital [2]

## 1.1.1. Aplicaciones de la microfluídica

### 1.1.1.1. Aplicaciones en Biomedicina

Dentro del área biomédica se han llevado a cabo los mayores avances en cuanto a microfluídica se refiere. Han sido desarrollados, sistemas de diagnóstico para la detección de patógenos, biomarcadores, tipificación de grupo sanguíneo [11], clasificación y aislamiento de células humanas o de patógenos [12], entre otras aplicaciones. Algunas de las propuestas innovadoras, son la dosificación de fármacos por medio de dispositivos implantados en el cuerpo del paciente [6] [13] y la creación de órganos artificiales conteniendo células dentro de chips microfluídicos [14].

**Detección de patógenos** Para determinar la presencia de un organismo patógeno, se debe llevar a cabo la detección de componentes biológicos que forman parte de dicho organismo, los cuales pueden ser, partes del genoma, proteínas u organelos. La detección puede utilizar técnicas electroquímicas, ópticas, PCR, RT-PCR [6], métodos inmunológicos [15], entre otros.

Bridle et al. [16] hace una revisión sobre métodos para la detección de patógenos transmitidos por el agua y menciona a diferentes autores con sus respectivas metodologías para la detección de virus, bacterias y protozoarios. Algunos de los organismos mayormente detectados por estos autores, son *E.coli*, *Salmonella spp.* y *Cryptosporidium spp.* Esto se debe a que son organismos con un impacto mayoritario en la salud humana. En sus conclusiones, el autor menciona un creciente mercado para los microdispositivos enfocados en el campo anteriormente mencionado. Li et al. [17] desarrolló un dispositivo de bajo costo, fabricado en agarosa, capaz de llevar a cabo la concentración de microorganismos a partir de una muestra, con una eficiencia de recuperación de 90 % y logrando un enriquecimiento de 7 ordenes de magnitud en la densidad de células. Esto es importante debido a que dentro de las muestras, los microorganismos se encuentran acompañados de una gran cantidad de contaminantes, lo cual puede reducir la efectividad del método de detección.

Zhang et al. [18] reportó la fabricación de un dispositivo desechable elaborado en polímero, con

el que logró concentrar el virus de la Influenza tipo A, a partir de una muestra nasofaríngea. El método empleado para este propósito es la evaporación, que se llevo a cabo con el uso de una bomba de vacío y un desecador, los cuales fueron conectados en los extremos opuestos del dispositivo. Por la efectividad lograda por este método, podría reemplazar el uso de la centrifugación en microdispositivos.

Lee et al. [15] fabricó un inmunosensor microfluídico capaz de detectar el virus de la influenza H1N1. Para reducir el error de este dispositivo, se diseñó con 3 cámaras y 3 microcanales independientes. El dispositivo mencionado anteriormente se puede adaptar para la detección de otros virus patógenos. La Salmonelosis es una de las principales enfermedades causada por el genero *Salmonella* y es considerada un problema de salud pública a nivel global. Sayad et al. ha desarrollado un sistema, utilizando microfluídica y la tecnica LAMP (loop mediated isothermal amplification) para amplificar el DNA de este microorganismo, logrando detectar  $5e^{-3} ng/\mu L$ . La técnica LAMP presenta la ventaja de que solo requiere mantener la temperatura de la muestra en un solo valor, en contraste de la amplificación convencional, que requiere variar la temperatura en un ciclo de 4 valores diferentes. Lo anterior simplifica el diseño del sistema [19].

Piraino et al. desarrolló un dispositivo que utiliza muestras de tan solo  $5 \mu L$  y fue capaz de detectar y diferenciar 3 de las cepas más comunes del virus Ébola. El costo del sistema de control fue \$1666 USD a lo que se debe agregar el costo de un microscopio USB de bajo costo, lo cual representa un precio muy bajo si se compara con sistemas comerciales [20]. Tay et al. hace una revisión de los recientes avances en el diagnóstico de la malaria, VIH, sepsis, SARS, tuberculosis y dengue, las cuales son enfermedades con gran impacto en la salud de las poblaciones. En este trabajo se destaca el desarrollo de dispositivos con capacidad de detectar el parásitos causante de la malaria y bacterias o levaduras causantes de sepsis, directamente de muestras sanguíneas. En algunos de los casos expuestos en esta revisión, el limite de detección es menor a  $20 \text{ parásitos}/\mu L$  lo cual representa una ventaja al hacer el diagnóstico más preciso [21].

**Biomarcadores** Los biomarcadores son biomoléculas que se presentan o incrementan en ciertas patologías y/o estados fisiológicos. Como ejemplo podemos mencionar a los marcadores tumorales, la HCG (human chorionic gonadotropin) para la detección y seguimiento del embarazo, la glucosa en suero para la diabetes, entre otros. El término biomarcador, aparece en la literatura médica en 1977 y posteriormente en el 2001 un grupo formado por NIH (National Institutes of Health) acordó la definición “Un biomarcador es una característica que es objetivamente medida y evaluada como indicador de un proceso biológico normal, proceso patogénico o respuesta farmacológica a una intervención terapeutica”[22].

Coltro et al. reporta sistemas para la detección de biomarcadores, desarrollados por diferentes autores. Entre los sistemas mencionados, encontramos aplicaciones para determinar la concentración de fosfatasa alcalina, aspartato aminotransferasa, glucosa, ácido úrico, entre otros [11].

Cesaro-Tadic et al. detectó TNF- $\alpha$  (factor de necrosis tumoral) por medio de un dispositivo microfluídico. Esta molécula tiene una gran importancia en los procesos inflamatorios crónicos [23]. Eletxigerra et al. desarrolló un trabajo similar para la detección de esta molécula. Sin embargo los trabajos se diferencian en el tipo de detección, ya que en el primer caso se utiliza un sistema por fluorescencia y en el segundo detección electroquímica [24].

Una propuesta innovadora es el uso de biomarcadores mecánicos en dispositivos microfluídico. Este tipo de marcadores, se basan en la medición de las propiedades mecánicas de las células, ya que éstas cambian al presentarse algunas enfermedades. Como ejemplo, podemos mencionar la anemia falciforme, la cual tiene como característica la producción de eritrocitos en forma de media luna. Este tipo de biomarcadores presenta la ventaja de tener un costo de implementación menor a los métodos tradicionales, tiempo de ensayo reducido y no requieren moléculas de marcaje [25].

**Manipulación, separación y caracterización de células** Hay situaciones en las que se requiere la separación o concentración de células, para llevar a cabo un diagnóstico o para estudiar dicha célula de manera independiente. Sósol-Fernández et al. hace una revisión acerca de los métodos y aplicaciones de la concentración y separación de células. En las aplicaciones desarrolladas por otros autores, menciona la detección de células cancerígenas, células de tumor circulantes en sangre, caracterización rápida de glóbulos rojos para diferenciar su grupo y factor Rh, cultivo y diferenciación de células madre, así como el estudio de células completas [26]. La detección y clasificación de células usando herramientas sofisticadas, como la citometría de flujo o la técnica FACS (fluorescence activated cell sorters) son potentes herramientas para el apoyo al diagnóstico clínico. Sin embargo al ser equipos complejos, solo se encuentran dentro de laboratorios especializados, por lo que se hace atractivo desarrollar dispositivos fáciles de operar, compactos y accesibles para instituciones de salud con poca infraestructura. En este sentido, Wu et al. desarrolló un sistema optofluídico, capaz de hacer el conteo de neutrófilos en sangre completa, lo cual tiene la ventaja de no requerir los pasos previos de preparación de muestra como agregar anticoagulante, centrifugar, teñir y filtrar [27]. Guo et al. desarrolló un dispositivo para la diferenciación de eritrocitos infectados por *Plasmodium falciparum* (parásito causante de la malaria) midiendo la deformabilidad de la membrana celular, la cual se ve reducida a causa de la infección por este parásito [28]. En una línea de investigación similar, Holm et al. logró separar, a partir de una muestra de sangre, al parásito no patógeno *T. cyclops* el cual esta emparentado con *T. brucei*, que provoca la tripanosomiasis africana humana. Esta enfermedad es transmitida por la picadura de la mosca tsetse y puede provocar daño cardíaco, disfunción del sistema nervioso y la muerte del paciente [12].

**Órganos artificiales** La creación de órganos *on-chip*, representa un área de desarrollo excitante, donde se integran las ciencias biológicas con la ingeniería. Gracias a esta unión es posible

crear dispositivos microfluídicos con células vivas, que pueden recrear el funcionamiento de un tejido u órgano. Sería posible estudiar la interacción de la interfase entre tejido y conocer más acerca de su microambiente. Otra aplicación futura es la evaluación del efecto de fármacos utilizando biochips como modelos in-vitro, remplazando los modelos animales y celulares utilizados en la actualidad [14] [29].

El cultivo de tejidos es la base para obtener un tejido u órgano completo, para lo cual existen diferentes metodologías publicadas, sin embargo la revisión hecha por Ng et al. destaca el uso de la microfluídica digital o DMF. Esta técnica se basa en el uso de campos eléctricos que manipulan microgotas en una superficie plana, con la particularidad de no tener contacto con los electrodos. Con DMF es posible manipular cultivos de células en suspensión, cultivos en 2D y 3D, manipular picolitros o microlitros de reactivos y muestras, además que la instrumentación requerida para su implementación es compacta [30]. Se han diseñado diferentes sistemas con células vivas, para estudiar la administración de fármacos y conocer los efectos fisiológicos de los mismo, dentro de dispositivos microfluídicos. Algunas plataformas desarrolladas son con células vasculares, cardiacas, de hígado, riñón y de otros órganos [29].

Un concepto novedoso es el de "*human-on-a-chip platform*", en la que diferentes módulos o modelos de órganos dentro de un chip son interconectados con el objeto de estudiar el sistema en conjunto. Lo anterior tiene el potencial de evaluar la eficacia y toxicidad de fármacos en un sistema que mimetiza el cuerpo humano [31]. Todo esto, reducirá el tiempo y costo de investigación del desarrollo de fármacos [29].

**Hematología** La sangre es un fluido biológico complejo, el cual esta constituido por un 45 % de componentes celulares suspendidos en un plasma rico en proteínas. Cada uno de los componentes hematológicos realizan diferentes funciones in vivo. Por lo anterior, fraccionar la sangre de manera eficiente, tiene innumerables aplicaciones en el diagnóstico clínico e investigación biológica [32]. Para lograr el fraccionamiento celular, utilizando sistemas microfluídicos, se han desarrollado diferentes mecanismos. Sollier et al. comparó la separación de plasma en 3 sistemas diferentes: filtración, centrifugación en espiral y migración lateral, encontrando que este último presenta mayores ventajas [33]. Nakashima et al. como en el caso anterior, logró llevar a cabo la separación de plasma en un tiempo menor a 10 minutos, utilizando un método dielectroforético. Esta técnica tiene la ventaja de no requerir centrífuga o una bomba de jeringa para generar presión. El dispositivo consiste de un chip microfluídico con 2 electrodos, en los que se aplica un voltaje de 10V a 1Mhz [34].

Liu et al. construyó un dispositivo que se basa en la sedimentación celular y la filtración por tamaño, a través de una membrana de polisulfona y el plasma obtenido fue adecuado para la detección molecular de VIH [35]. Yang et al. desarrolló un método de separación microfluídico en papel, el cual tiene como objeto retirar las células sanguíneas para llevar a cabo una determinación colorimétrica en el plasma [36]. A pesar de ser para aplicaciones totalmente distintas,

los dos métodos anteriores, utilizan principios de funcionamiento bastante simples y presentan ventajas enormes, ya que no requieren energía eléctrica, son desechables, la separación es rápida y su costo de fabricación es bajo. Yang et al. desarrolló utilizando técnicas de microfluídica en papel, un método para determinar la concentración de hemoglobina. El desarrollo de la prueba consiste en colocar 20  $\mu\text{L}$  de una mezcla de sangre y el reactivo de Drabkin, para después leer la concentración por medio de un escáner portátil [37].

La deformabilidad de los eritrocitos es una característica crítica, ya que de ella depende su capacidad para pasar a través de los vasos capilares del sistema circulatorio. La reducción de esta capacidad, puede estar relacionada con estrés celular o algún estado patológico, además de impedir el correcto tránsito de estas células en el sistema microvascular. Por lo anterior, esta propiedad es un indicador de la salud de las células. Guon et al. desarrolló una metodología para verificar en microcanales la tensión cortical de los eritrocitos, la cual es un indicador de la deformabilidad [38].

**Dosificación de fármacos** Las vías de administración de fármacos en ocasiones no son tan eficientes para lograr la correcta administración del principio activo. Esto debido a los diferentes mecanismos de protección que el cuerpo humano tiene para prevenir la entrada de entidades externas. La creación de dispositivos microfluídicos implantables, con la capacidad de liberar *in-vivo* un fármaco, pueden ser usados en pacientes que tienen la necesidad de tomar un medicamento de manera repetida a intervalos regulares. El fármaco podría ser liberado aplicando un estímulo externo, a través de microonda o ultrasonido [6].

Los dispositivos microfluídicos ofrecen nuevas posibilidades para la producción de micro y nanopartículas. El transporte de masa en fluidos es gobernado por efectos inerciales y viscosos, los cuales dan lugar a no linealidades como la turbulencia. Sin embargo cuando el flujo de fluidos se lleva a cabo en sistemas miniaturizados como en el caso de la microfluídica, algunos efectos inerciales son despreciables. Lo anterior puede ser utilizado para la producción de dispositivos donde el flujo de fluidos puede ser controlado y reproducible, lo cual es difícil de lograr a nivel macroscópico [39]. Este tipo de dispositivos pueden ser utilizados para producir partículas orgánicas, inorgánicas, nanomateriales y biomateriales para aplicaciones biomédicas [39] [40]. Bjonmalm et al. menciona cinco metodologías para este propósito:

1. Formación de microgotas o *droplets*.
2. Flujo de enfoque para obtención de nanoprecipitados.
3. Microvórtices para obtención de nanoprecipitados.
4. *Template assembly* que consiste en crear una partícula recubierta con múltiples capas.
5. *Flow lithography* que por medio de luz UV y una máscara crea partículas usando un mecanismo de fotopolimerización.

Las tendencias en este campo es el uso de polímeros modernos para la fabricación de acarreadores controlables y multifuncionales de fármacos, sistemas microfluídicos biodegradables que se absorban al ser aplicados in vivo, la combinación de plataformas de sensado y dosificación, baterías biodegradables entre otras innovaciones [41].

**Diagnóstico y tratamiento del Cáncer** La detección oportuna del cáncer, incrementa el porcentaje de éxito al combatir esta enfermedad, por esta razón existe una gran cantidad de trabajos relacionados con biomarcadores. Ortega et al. presenta un inmunosensor microfluídico con nanopartículas de plata para la detección de cáncer epitelial en muestras de sangre [42]. Ali et al. desarrolló un inmuno-biochip para detectar cáncer de seno. Este chip tiene como blanco, las proteínas EGFR2 y ErbB2. Se probaron dos métodos de detección electroquímica, probando que el de impedancia dio mejores resultados [43]. Acimovic et al. en 2014, presentó un dispositivo en el que detectó biomarcadores para cáncer con un sistema de resonancia en superficie de plasmones dentro de un bio-chip. Este sistema hizo la detección de una concentración menor a 500 pg/mL [44]. Weigum et al. desarrolló un dispositivo para el análisis del marcador EGFR, el cual es usado para la detección de cáncer oral. Por medio de una membrana se logra capturar y enriquecer la concentración de células en fluidos biológicos o suspensiones de biopsias. Una vez capturadas las células, un ensayo inmunofluorescentes revela la presencia del marcador anteriormente mencionado. Este ensayo se completa en 10 minutos y aunque se utilizó una línea celular ya caracterizada, se espera que tenga resultados similares en muestras clínicas [45].

Para lograr procesar una gran cantidad de muestras, Garcia-Cordero et al. ha combinado la tecnología de microarreglos con la microfluídica para medir 4 biomarcadores proteicos en 1024 muestras. Esta combinación logró reducir el costo en 4 ordenes de magnitud y sus resultados tuvieron correlación con los obtenidos por el método de ELISA [46].

Otra metodología para la detección de metástasis y seguimiento de la evolución del cáncer es la captura y caracterización de células circulantes con tecnología microfluidica. Esta técnica tiene la ventaja de no utilizar biomarcadores, ya que se estudia directamente las células tumorales extraídas de sangre periférica [47], [48].

#### 1.1.1.2. Aplicaciones en ganadería, acuicultura y agricultura

Muchas de las aplicaciones en el área médica se pueden aplicar en la ganadería. Algunos casos los tenemos por ejemplo con Arévalo et al. [49] quien desarrolló un inmunosensor para la determinación de progesterona en suero de bovinos, aplicado en la reproducción de este ganado, ayudando a determinar el tiempo de ovulación y programar el animal para la inseminación artificial. En este mismo tipo de ganado, Heinze et al. [50], investigó el uso de un ensayo de inmunoaglutinación microfluídico, para detectar partículas del virus de diarrea bovina. El método ensayado demostró ser mas sensible que el protocolo de detección, por medio de la técnica

molecular RT-PCR. García-Cordero et al. [51] diseñó un citómetro sedimentador microfluídico portátil, con el propósito de determinar el contenido de grasa y hacer el conteo de células. Lo anterior con el propósito de evaluar la calidad de la leche, además del monitoreo de la mastitis bovina.

En la acuicultura el grupo de trabajo de Chang et al. [52] logró fabricar un sistema de aislamiento y detección de patógenos de importancia acuícola. En este sistema se lleva a cabo el aislamiento del DNA del patógeno y posteriormente se lleva a cabo la detección, teniendo la capacidad de detectar hasta 4 diferentes microorganismos.

En el área agrícola, existen diferentes aplicaciones, Julich et al. [53] desarrolló un dispositivo para la detección de organismos patógenos para plantas, utilizando como organismo modelo a *Phytophthora spp.* El dispositivo basado en la técnica de PCR (reacción en cadena de la polimerasa), logró una sensibilidad cercana a la obtenida con PCR en tiempo real.

Se han desarrollado plataformas para el cultivo de células vegetales con tecnología microfluídica, con propósito de reducir espacio y costos en el estudio de la fisiología vegetal. Algunas aplicaciones incluyen los sistemas [54] [55]:

1. Planta-chip para el estudio de raíces, caracterización de polen.
2. Estimulación química de células vegetales
3. Microfluídica para el estudio de la biomecánica en células vegetales
4. Sistemas de detección de deficiencias nutricionales
5. Electrofusión de protoplastos

#### 1.1.1.3. Aplicaciones en Biotecnología

La biotecnología se define como un conjunto de técnicas para la obtención de materias primas y productos de valor agregado con el uso de células y/o parte de las mismas, ya sean de plantas, animales o microorganismos. Entre las aplicaciones de la microfluídica en la biotecnología podemos mencionar la revisión hecha por Miyazaki et al. [56], acerca del uso de microreactores enzimáticos microfluídicos. Entre las ventajas clave podemos encontrar que el intercambio de calor y la transferencia de masa, se llevan a cabo a mayor velocidad. Otra ventaja es que los microcanales proveen una mayor superficie de contacto. Vladislavljević et al. [57] describe la aplicación de los microsistemas para la síntesis y descubrimiento de nuevos fármacos. Li et al. [58] hace una revisión sobre la cristalización de proteínas en sistemas microfluídicos. La ventaja de esta metodología es la capacidad de llevar a cabo pruebas múltiples para evaluar diferentes condiciones de cristalización. Deng et al. [59] logró separar microalgas con diferente contenido de lípidos por diaelectroforesis en un dispositivo microfluídico. El potencial de esta aplicación se debe a que puede ser utilizada para la búsqueda de microalgas productoras de biocombustibles.

#### 1.1.1.4. Aplicaciones en el área ambiental

El área ambiental requiere de métodos para el monitoreo de contaminantes, así como el tratamiento de sus efluentes. Jokerst et al. hace una pequeña revisión, acerca de los avances en monitoreo ambiental, haciendo énfasis en los métodos para la detección de moléculas contaminantes. Esta revisión menciona también algunos trabajos previos, donde ha sido posible determinar la concentración de compuestos como: Parabenos, iones metálicos inorgánicos, metales pesados, compuestos explosivos, herbicidas, entre otros [60]. Marle et al. [61] hace otra revisión de aplicaciones ambientales, como la detección de compuestos tóxicos en agua, extractos de suelo y muestras atmosféricas. McGraw et al. [62] diseñó un sistema autónomo para la determinación de fosfato, el cual es un nutriente clave en los procesos de eutroficación. Este proceso provoca el incremento en la población de algas que rápidamente agotan el oxígeno disuelto y puede destruir el ecosistema de ese cuerpo acuático. Medina-Sánchez et al. han desarrollado un sistema microfluídico electroquímico para la detección del herbicida Atrazina, el cual es un contaminante persistente, debido a que se solubiliza en sustancias polares como el agua. Este compuesto junto con sus productos de degradación pueden encontrarse contaminando las aguas subterráneas [63]. Das et al. hace una revisión acerca de las diferentes técnicas de fabricación, sustratos y parámetros operativos, de reactores fotocatalíticos microfluídicos. Este tipo de dispositivos presentan grandes ventajas para ser usados en la degradación de colorantes [64]. Otra línea de investigación, es el estudio de organismos provenientes del suelo, en el interior de un chip microfluídico. Lo anterior con el propósito de estudiar organismos vivos o células dentro de un microambiente o la interacción entre diferentes especies. En este sentido, se ha logrado experimentar con bacterias, nematodos, hongos y plantas [60].

#### 1.1.2. Materiales para sistemas microfluídicos

En sus inicios la microfluídica utilizó para la fabricación de los dispositivos, materiales de la industria de semiconductores. Sin embargo a través de los años se ha experimentado con nuevos materiales, con la finalidad de reducir los costos de producción de los sistemas. Una nueva tendencia en el área de bioaplicaciones es el uso de biomateriales. Los materiales utilizados, los podemos clasificar en los siguientes cinco grupos.

##### 1.1.2.1. Materiales inorgánicos

En este grupo se pueden mencionar el vidrio, cuarzo, silicio y metales. Estos materiales presentan ventajas y desventajas, además de ser los primeros que se utilizaron para la microfabricación. El vidrio resalta entre los demás materiales, ya que es ópticamente transparente, aislante eléctrico, termoestable, compatible con solventes, químicamente inerte. Entre las desventajas de los

sistemas fabricados en vidrio o silicio encontramos la alta dureza, y los altos costos de fabricación, además del hecho de que se requiere de productos químicos peligrosos para el proceso de fabricación como el HF (ácido fluorhídrico). Adicionalmente la fabricación de válvulas es más compleja [65].

### 1.1.2.2. Elastómeros y plásticos

Los chips basados en polímeros se introdujeron varios años después de que los sistemas vidrio-silicio [65]. Los fabricantes comerciales de dispositivos microfluídicos, han encontrado en los polímeros muchos beneficios, entre los que destacan el bajo costo de fabricación y procedimientos de manufactura más sencillos. Un beneficio adicional es el amplio rango de materiales existentes en el mercado para diferentes tipos de aplicación [66]. Dependiendo del tipo de material también las propiedades elásticas cambian, lo cual es una enorme ventaja. Entre los materiales más utilizados para la fabricación encontramos los siguientes:

**Elastómeros.** El más popular es el polidimetilsiloxano o PDMS, debido a la facilidad y bajo costo de fabricación. Puede ser moldeado con una resolución de nanómetros y posee una elevada elasticidad con lo que facilita la fabricación de válvulas basadas en microcanales de dos capas. En contraste con el silicio y vidrio, el PDMS es permeable a los gases lo cual es indispensable en cultivo de células en microcanales [65].

**Plásticos termoestables.** Antes de su introducción en la microfluídica, estos materiales habían sido utilizados como fotorresinas en microelectrónica. Estos plásticos tienen las características de ser polimerizados en presencia de calor o radiación, no pudiendo ser retrabajados una vez curados. Estos materiales son estables a las altas temperaturas, resistentes a muchos solventes y ópticamente transparentes [65].

**Termoplásticos.** A diferencia de los plásticos termoestables, estos materiales pueden ser moldeados nuevamente tras alcanzar su temperatura de transición vítrea. Algunos ejemplos de estos materiales son el PET, PVC, poliestireno, polietileno, Teflón PFA, Teflón FEP. A excepción del Teflón, los demás materiales presentan baja resistencia a los solventes orgánicos [65].

**Hidrogeles.** Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales hidrofílicas. Durante la última década, estos materiales han ganado un considerable reconocimiento como herramienta en el desarrollo de sensores y en diagnóstico [67]. Difiere de otros polímeros por tener una

estructura similar a la matriz extracelular de las células vivas. Debido a la citocompatibilidad y alta permeabilidad son excelentes materiales para la encapsulación de células vivas [68].

**Papel.** El papel es una matriz altamente porosa, hecha de celulosa [65]. Las propiedades únicas del papel como al bajo costo, la alta compatibilidad química y el transporte pasivo de líquidos, lo convierten en una excelente elección para el desarrollo de sistemas analíticos portátiles [69]. La fabricación de dispositivos microfluídicos en este caso es simple. En general cualquier método que genere patrones hidrofóbicos en el papel es factible [65].

### 1.1.3. Métodos de bajo costo para la fabricación de sistemas microfluídicos

Los primeros métodos para la fabricación de microsistemas requerían equipo especializado y una serie de pasos complicados. Lo anterior aunado a una creciente demanda de dispositivos desechables, han motivado el desarrollo de técnicas de fabricación alternativas, para la rápida manufactura de prototipos [70].

#### 1.1.3.1. Moldeo de PDMS

Este método, también denominado litografía suave, consiste en replicar un patrón, por medio de un molde, usando un material elastomérico como el PDMS. El procedimiento más común consiste fabricar un molde en una oblea de silicio por medio de técnicas fotolitográficas. Una vez que el patrón se ha grabado en el silicio, se procede a preparar las réplicas de PDMS, polimerizando el monómero. La principal desventaja de esta metodología es el acceso al grabado de las obleas de silicio [71].

#### 1.1.3.2. Plotter digital de corte

Este método ha sido descrito por Yuen et al. [72] y por Do et al. [70] y se basa en el uso de una máquina similar a una impresora, sin embargo en lugar de un sistema para inyección de tinta, cuenta con una navaja que lleva a cabo el corte de patrones, que previamente han sido dibujados por un software CAD. Los resultados de Yuen et al., muestran la obtención de microcanales con una resolución de 200  $\mu\text{m}$ . Además de poder fabricar sistemas microfluídicos planares y 3D, Do et al. logró mejorar la resolución, al obtener canales de 20  $\mu\text{m}$ , utilizando una variación de la técnica. El proceso de fabricación completo, desde el diseño en el software CAD, hasta el dispositivo final se logró en 30 minutos, sin la necesidad del uso de un cuarto limpio.

### 1.1.3.3. Grabado láser

Los sistemas láser han sido utilizados como herramientas de corte y grabado en diferentes materiales. Las aplicaciones van desde materiales tan blandos como el papel, pasando por madera y plásticos, hasta el corte de piezas metálicas. En la microfluídica su uso no podría ser menos importante. El micromaquinado, es una técnica bien establecida y muy flexible para la rápida manufactura de microestructuras sencillas. Aunque presenta inconvenientes, como un costo comparativamente alto, velocidad de maquinado lenta y un desgaste considerable de la herramienta. El micromaquinado con láser es altamente preciso, rápido y sin contacto con el material, siendo así, una alternativa al micromaquinado clásico [73].

Malek et al. [74] menciona diferentes fuentes láser que han sido utilizadas para llevar a cabo el grabado, entre las que podemos mencionar, el láser de CO<sub>2</sub>, Nd:YAG y los diodos láser. Wayne-lovich et al. [75], han desarrollado un sistema fotolitografía, con un diodo láser con una longitud de onda de 405 nm y 350 mW, teniendo el sistema completo un costo de \$955 dolares. A pesar que este sistema no lleva a cabo el proceso de micromaquinado, se menciona por ser una propuesta innovadora. En este sistema el láser polimeriza el monómero en lugar de retirar el material.

### 1.1.3.4. Impresión 3D

La impresión tridimensional (3D) ofrece el potencial de fabricar dispositivos microfluidicos de alto rendimiento y de bajo costo como una alternativa prometedora a las técnicas tradicionales que permite iteraciones de diseño eficientes en la etapa de desarrollo [76]. Aunque la microfluídica se ha desarrollado rápidamente durante la última década, la tasa de aceptación en la investigación biológica ha sido lenta. Esto podría deberse al tedioso proceso de fabricar un chip y a la ausencia de una “aplicación asesina” que superaría a los métodos tradicionales existentes. En los últimos años, la impresión tridimensional (3D) ha atraído mucho interés de la comunidad científica. Tiene la capacidad de hacer estructuras complejas con alta resolución. Además, el rápido tiempo de construcción y la facilidad de aprendizaje han simplificado el proceso de fabricación de dispositivos microfluídicos en un solo paso. Esto podría ayudar al campo de la microfluídica en la búsqueda de su “aplicación asesina” que conducirá a su aceptación por los investigadores, especialmente en el campo biomédico [77].

Actualmente las mejores impresoras 3D pueden fabricar objetos de escala micrométrica, lo que ha hecho posible la fabricación de dispositivos microfluídicos. La resolución más alta alcanzable ya está a escala nanométrica y sigue bajando. Dado que la complejidad geométrica no es una preocupación para la impresión 3D, los nuevos sistemas de microfluídica 3D y de laboratorio en un chip que de otro modo son imposibles de producir con la tecnología tradicional de microfabricación 2D han comenzado a surgir en los últimos años [78].

He et al. demostró cómo imprimir rápida y eficazmente chips microfluídicos bidimensionales (2D) y tridimensionales (3D) con una impresora de azúcar 3D de bajo costo. La impresora de azúcar se modificó a partir de una impresora 3D de escritorio mediante el rediseño de la extrusora, por lo que el azúcar de fusión podría ser extruido con la conducción neumática. Las líneas de azúcar se imprimieron por primera vez sobre una capa de base seguido de fundición de polidimetilsiloxano (PDMS) sobre la capa y se repitieron. Los microcanales se sumergieron a continuación en el PDMS, el dispositivo microfluídicos se depositó en agua caliente para disolver las líneas de azúcar después de que se solidificó el PDMS, y los chips microfluídicos no necesitaban sellado adicional. Se estudiaron diferentes tipos de azúcar utilizados para material de impresión con resultados que indicaban que el maltitol exhibía una propiedad de flujo estable en comparación con otros azúcares tales como caramelo o sacarosa. El bajo costo es una ventaja significativa de este tipo de impresora de azúcar, ya que la máquina se puede comprar por sólo \$800 dolares aproximadamente [79].

Knowlton et al. llevó a cabo un estudio, demostrando una fabricación en un solo paso de un chip microfluídico transparente 3D usando dos técnicas alternativas: una impresora 3D de escritorio basada en estereolitografía y una fabricación en dos pasos usando una impresora 3D industrial basada en tecnología polyjet. Este método, comparado con la fabricación convencional utilizando materiales relativamente caros y procesos de trabajo intensivo, presenta una técnica de prototipado rápido y de bajo costo para imprimir chips microfluídicos 3D funcionales. Se mejoraron las capacidades de los dispositivos microfluídicos impresos en 3D acoplando la encapsulación de células 3D y el patrón espacial dentro de la gelatina fotorreticulable metacrilato (GelMA). La plataforma presentada sirve como un entorno de cultivo en 3D para el cultivo de células a largo plazo y su crecimiento. También, demostró el uso novedoso de chips microfluídicos impresos en 3D como entornos de cultivo de células 3D controlables, avanzando la aplicabilidad de la impresión 3D a sistemas fisiológicos de ingeniería para aplicaciones futuras en bioingeniería [76].

Parekh et al. muestra un método simple para fabricar microcanales 3D a temperatura ambiente mediante la escritura directa de metal líquido (una mezcla de Galio e Indio) como una plantilla de los microcanales. La formación de una capa de óxido superficial sobre el metal líquido (Galio) de baja viscosidad estabiliza la forma del metal impreso para las estructuras planas y fuera del plano. Las estructuras impresas se pueden incrustar en una variedad de materiales blandos por ejemplo, elastómeros y plásticos termoestables.

#### 1.1.3.5. Bloques ensamblables

Rhee et al. [80] ha construido microdispositivos, utilizando componentes prefabricados. Esta opción innovadora, estaría enfocada a usuarios no expertos o que no cuentan con las herramientas

y equipos para la fabricación de los microsistemas.

## 1.1.4. Dinámica computacional de fluidos CFD

### 1.1.4.1. Principios de la dinámica computacional de fluidos

Actualmente los métodos CFD (Dinámica Computacional de Fluidos) se aplican de manera rutinaria en la resolución de problemas de ingeniería [81]. Los ingenieros modernos utilizan, tanto el análisis experimental como métodos CFD, complementándose entre sí [82]. La dinámica computacional de fluidos (CFD) se define como la técnica numérica que busca la simulación del movimiento de los fluidos. Es una rama de la mecánica de fluidos que emplea métodos numéricos y algoritmos para analizar y resolver los problemas que implican a los flujos de los fluidos. Comprende una gran variedad de ciencias, como las matemáticas, la computación, la ingeniería o la física, las cuales van a trabajar conjuntamente para proporcionar los medios para modelar fluidos. La creciente potencia de cálculo de las computadoras, así como su menor precio, han permitido el progreso de la CFD, en la que las ecuaciones de Navier-Stokes son resueltas bajo el dominio a estudio. Estas ecuaciones son las que gobiernan el movimiento de los fluidos y fueron descubiertas hace más de 150 años simultáneamente por el ingeniero francés Claude Navier y el matemático irlandés George Stokes. Se derivan de las leyes del movimiento de Newton y son las mismas para cualquier flujo. Su resolución permite conocer la velocidad y la presión de un fluido en cualquier punto del espacio, y por lo tanto también su comportamiento. La particularización a los casos concretos viene definida por las denominadas condiciones de contorno y por los valores iniciales que se señalen. Estas ecuaciones son lo suficientemente complejas como para que su solución analítica solo sea posible en casos muy elementales, y por ello es imprescindible disponer de software avanzado diseñado para el tratamiento y la resolución de estos datos. Las principales ventajas de la técnica de CFD sobre otro tipo de estudios de mecánica de fluidos, son la reducción sustancial de tiempo y costes en los experimentos, así como la posibilidad de analizar sistemas o condiciones muy difíciles de simular experimentalmente [83].

La historia de CFD nos remonta a la década de 1960, cuando la industria aeroespacial integró esta técnica en el diseño, la investigación y el desarrollo, y la fabricación de aeronaves y motores a reacción. En los años 70s, CFD se convirtió en un acrónimo de una combinación de física, matemáticas numéricas y en cierta medida las ciencias de la computacionales utilizados para simular flujos de fluidos. Sin embargo, las aplicaciones se limitaron a los modelos de flujo bidimensional (2D) debido a las bajas capacidades de almacenamiento de las computadoras. El inicio de CFD fue desencadenado por la disponibilidad de supercomputadoras más potentes. Los avances en CFD todavía están estrechamente acoplados a la evolución de la tecnología informática. Hacia mediados de la década de 1980, las predicciones informáticas del flujo de fluidos se han utilizado rutinariamente tanto en ciencia como en ingeniería para producir resultados. Con los avances

de las metodologías numéricas, particularmente de los esquemas implícitos, la solución de los problemas de flujo que requieren el modelado verdadero del gas llegó a ser factible a finales de los años ochenta. Hacia el decenio de 1990, el modelado 3D se hizo posible y dio lugar a un aumento de interés en una gran cantidad de aplicaciones industriales. Hoy en día, software CFD se emplean rutinariamente en diseño de aeronaves, turbo maquinaria, automoviles y diseño de buques. Además, el CFD también se aplica en meteorología, oceanografía, astrofísica, arquitectura, ingeniería biomédica y ciencias de la salud, entre otras [84]. El estado actual de la dinámica de fluidos computacional es éste: puede manejar flujos laminares con facilidad, pero los flujos turbulentos de interés práctico son imposibles de resolver sin tener que recurrir a los modelos de turbulencia. Por desgracia, ningún modelo de turbulencia es universal, y una solución de la CFD de flujo turbulento es tan buena dependiendo qué tan apropiado es el modelo de turbulencia aplicado. Pese a esta limitación, los modelos de turbulencia estándares producen resultados razonables para muchos problemas de ingeniería prácticos [82].

Existen en el mercado, diferentes programas CFD, dentro de los que podemos destacar: Ansys-Fluent® , Flow3D® , Comsol® , Autodesk® CFD, FloVENT® , OpenFoam, por mencionar algunos.

#### 1.1.4.2. Metodología CFD

Para resolver un problema haciendo uso de esta metodología, Cengel et al. [82] recomienda usar el siguiente procedimiento:

1. Se elige un dominio computacional y se genera una malla (conocida también como red de nodos); el dominio se divide en muchos elementos pequeños llamados celdas. Puede considerarse a cada celda como un pequeño volumen de control en el que se resuelven las versiones separadas de las ecuaciones de conservación y transporte. Note que aquí el análisis se limita a paquetes de CFD basados en el método de volumen finito centrado en la celda. La calidad de una solución de CFD depende mucho de la calidad de la malla. Por lo tanto, se recomienda cerciorarse que la malla sea de alta calidad antes de proceder con el siguiente paso.
2. Las condiciones de frontera se especifican en cada lado del dominio computacional (flujos 2-D) o en cada cara del dominio (flujos 3-D).
3. Se especifica el tipo de fluido (agua, aire, gasolina, entre otros), junto con las propiedades del fluido (temperatura, densidad, viscosidad, etc.). La mayoría de los paquetes de CFD tienen integrada la base de datos de propiedades de fluidos más comunes, lo que hace este paso relativamente fácil.

4. Se seleccionan los parámetros numéricos y los algoritmos de solución. Éstos son específicos para cada paquete de CFD, y no se tratan aquí. Los parámetros predeterminados de los paquetes de CFD más modernos son apropiados para los problemas simples que se analizan en este capítulo.
5. Los valores de primera aproximación para las variables de campo de flujo se especifican para cada celda. Éstas son condiciones iniciales, que podrían ser correctas o no, pero son necesarias como un punto de partida, para que el proceso de iteración pueda proceder (paso 6). Se nota que para los cálculos apropiados de flujo no estacionario, las condiciones iniciales deben ser correctas.
6. Al comenzar con los valores de primera aproximación, las formas discretizadas de las ecuaciones (1.1) y (1.2) se resuelven por iteración, por lo general en el centro de cada celda. Si se trasladaran todos los términos de la ecuación 15-2 a un lado para obtener cero del otro lado de la ecuación, entonces la solución numérica sería “exacta” cuando la suma de todos estos términos, llamada el residuo, se volvería cero para cada celda del dominio. En una solución CFD, sin embargo, esta suma nunca es igual a cero, pero es de esperar que disminuya conforme se efectúen las iteraciones. Un residuo puede considerarse como una medida de la desviación de una solución numérica para determinada ecuación de conservación o transporte respecto a la solución exacta, y se tiene que monitorear el residuo promedio relacionado con cada ecuación de conservación o transporte para ayudar a determinar cuándo converge la solución. A veces se necesitan cientos, o inclusive miles, de iteraciones para que converja la solución a una solución final, y los residuos pueden disminuir en varios órdenes de magnitud.

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{V} = 0 \quad (1.1)$$

$$(\vec{\nabla} \cdot \vec{V})\vec{V} = -\frac{1}{\rho}\vec{\nabla}P' + \nu\nabla^2\vec{V} \quad (1.2)$$

7. Cuando converge la solución, las variables de campo de flujo como la velocidad y la presión se trazan y analizan de manera gráfica. Los usuarios pueden definir y analizar también otras funciones particulares que se forman mediante combinaciones algebraicas de variables de campo de flujo. La mayoría de los paquetes de CFD tienen integrados posprocesadores, diseñados para analizar el campo de flujo de manera gráfica y rápida. Para esta finalidad existen también paquetes posprocesadores autónomos. Debido a que el resultado gráfico se muestra por lo general en colores brillantes.
8. Las propiedades globales del campo de fluido, como la caída de presión, y las propiedades integrales, como las fuerzas (de sustentación y de arrastre) y las torques que actúan sobre un cuerpo, se calculan a partir de la solución que se obtiene por convergencia. Con la

mayoría de los paquetes de CFD esto puede hacerse “sobre la marcha” a medida que proceden las iteraciones. En numerosos casos, de hecho, es aconsejable monitorear estas cantidades junto con los residuos durante el proceso de iteración; cuando converge una solución, las propiedades globales e integrales deben establecerse en valores constantes también [82].

#### 1.1.4.3. Dinámica computacional de fluidos aplicada a microfluídica

La aplicación de CFD en microfluídica, viene asociada con algunas particularidades. En los microambientes, las fuerzas superficiales dominan sobre las fuerzas de los cuerpos, requiriendo especial atención en los problemas que involucran flujos bifásicos con superficies libres, los cuales a menudo son manejados por las fuerzas capilares. Los números adimensionales de Reynolds y Weber para flujos en estos sistemas, se caracterizan por poseer valores bajos [81].

Glatzel et al. [81] llevó a cabo la evaluación de cuatro diferentes programas computacionales para CFD (CFD-ACE, CFX, Flow-3D y Fluent), llevando a cabo la simulación de sistemas típicos, presentes en microfluídica.

Townsend et al. [85] evaluó el diseño de un dispositivo separador ultrasónico, variando los parámetros geométricos. Siegrist et al. [86] llevó a cabo la simulación numérica y la validación experimental del llenado de una microcámara centrífuga. La simulación numérica logró una aproximación de 99 % comparado con el modelo real. Chen et al. [87] simuló con CFD la formación de microgotas en una unión tipo T. Gracias a los datos obtenidos por CFD, se demostró que la formación de las microgotas se divide en tres pasos: aparición de la gota y crecimiento, separación con la fase dispersa y desprendimiento de la pared del canal. Finalmente también se obtuvo como resultado, que la velocidad de flujo de la fase dispersa, puede afectar significativamente, el tamaño de la microgota, así como también al mecanismo de formación de la misma.

Huang et al. discute la importancia de las técnicas CFD en el desarrollo de cultivos de tejidos en sistemas microfluídicos. Existen diferentes factores involucrados en el correcto desarrollo de las células, dentro de los que podemos mencionar el transporte de masa (que se relaciona con el transporte de nutrientes), el transporte de fluidos (relacionado con el dimensionamiento de los canales del sistema) así como factores biomecánicos. Este último punto, tienen un impacto significativo en el comportamiento de las células como la adhesión, proliferación y diferenciación [88]. O'Connor et al. lleva a cabo una revisión donde demuestra que el método de lattice Boltzmann (LBM), es una potente herramienta para la resolución de problemas aplicados a procesos biológicos complejos, destacándose de otras metodologías CFD. La naturaleza mesoescalar del LBM lo hace adecuado para la incorporación de efectos fluido-estructura, interacciones molécula/partícula y dinámica interfacial [89]

## 1.2. Justificación

Actualmente existe la tendencia en la reducción de costos en sistemas analíticos de separación y de prueba, que involucran reacciones químicas o bioquímicas. Sistemas de este tipo son utilizados para el diagnóstico clínico, veterinario, fitopatológico, control de calidad en alimentos, monitoreo ambiental, separación de biomoléculas y células de importancia biotecnológica. Comparado con otros países, México tiene un bajo nivel de desarrollo tecnológico, lo que repercute directamente en el desarrollo económico, reduciendo la eficiencia y competitividad de nuestro país a nivel mundial. La dependencia de la tecnología desarrollada por otros países provoca el encarecimiento de muchos productos y servicios, debido al transporte, aranceles y gestiones de importación de materias primas y equipos. La microfluídica puede impactar en el área biomédica, ya que es posible el desarrollo de sistemas de diagnóstico clínico de muy bajo costo con las mismas prestaciones que los sistemas comerciales que actualmente son utilizados en laboratorios de referencia altamente especializados. La disminución de los costos en las pruebas de diagnóstico clínico es un factor que puede ayudar a los sistemas de salud pública en el monitoreo de enfermedades crónico degenerativas y/o enfermedades con una alta tasa de mortalidad y morbilidad. Patologías como el cáncer, la tuberculosis, la enfermedad de chagas y las enfermedades gastrointestinales son ejemplos de lo mencionado anteriormente. Llevando un adecuado monitoreo epidemiológico es posible encaminar de manera correcta los programas sociales y de salud pública, hacia la toma de acciones para disminuir los efectos de estas patologías. Logrando lo anterior podemos reducir el impacto económico sobre la población y en los sistemas de salud haciendo eficiente el uso de los recursos asignados a dichas entidades. Otra área importante dentro del desarrollo de nuestro país es el desarrollo de sistemas portátiles y de bajo costo para la detección de enfermedades que atacan los cultivos de importancia alimentaria e industrial, así como en la ganadería. Cada año en nuestro país, se generan pérdidas económicas millonarias para los agricultores y ganaderos, que en algunas ocasiones pierden su único patrimonio debido a la dificultad de acceso a un laboratorio especializado adecuado y de esta manera diagnosticar de manera rápida y eficaz el estado de su núcleo productivo. En el caso de algunas enfermedades que afectan al ganado se puede reducir la incidencia de enfermedades zoonóticas que también afectan la salud humana. Otra ventaja de la reducción del costo de los sistemas de diagnóstico agropecuarios es la posibilidad de llevar a cabo la vigilancia epidemiológica de enfermedades de importancia cuarentenaria, las cuales en algunas ocasiones son un impedimento para la exportación de productos del campo mexicano hacia la Unión Europea o los Estados Unidos de Norteamérica. Al ser los sistemas microfluídicos entidades miniaturizadas de los sistemas reales se reduce la cantidad de reactivo, muestra y como consecuencia también de residuos. En el caso de los sistemas para el área de diagnóstico, en el que se manipulan muestras potencialmente patógenas esto toma una gran relevancia, ya que estos residuos requieren un tratamiento especial en el cual el costo incrementa con una mayor masa y volumen. A través de sistemas microfluídicos pueden ser obtenidas de células y biomoléculas de importancia biotecnológica,

que se encuentran dentro de los ecosistemas de nuestro país y que forman parte de la riqueza biológica de México. Ejemplo de ello es el aislamiento de algas microscópicas con potencial biotecnológico, que puede llevarse a cabo por dos formas diferentes: Manualmente o con ayuda de la citometría de flujo. La técnica manual requiere mucha habilidad y tiempo; en contra parte, con la citometría de flujo se puede efectuar la misma actividad en menor tiempo y con mayor eficiencia, solo que el precio del equipo no permite que sea adquirido fácilmente. Una propuesta intermedia puede ser el diseño de un chip microfluídico con un precio mucho menor al equipo de citometría de flujo y fácil de operar. El desarrollo de este trabajo puede permitir llevar a cabo la fabricación del primer dispositivo microfluídico en el estado de Hidalgo, ya que a la fecha no se tienen reportes de grupos de investigación o publicaciones desarrolladas dentro de nuestra entidad. Por estas razones se propone el desarrollo de un dispositivo microfluídico para separar microorganismos y células en un rango entre 10 a 200  $\mu\text{m}$ , implementando y comparando el uso de las técnicas de grabado láser y moldeo de PDMS, y haciendo uso de dinámica de fluidos computacional.

### 1.3. Planteamiento

La microfluídica ha tenido en los últimos años un ritmo de desarrollo acelerado, debido al enorme potencial en diferentes áreas del conocimiento como lo son el diagnóstico médico, veterinario y fitopatológico, biotecnología, entre otras. Sin embargo en nuestro país su desarrollo se ha visto limitado debido a la carencia de infraestructura necesaria para la fabricación de estos dispositivos. Por esta razón, solo algunas instituciones educativas han podido incursionar y generar desarrollos técnicos en esta área. Lo anterior puede generar un impacto negativo en el desarrollo tecnológico de nuestro país y aumentar la dependencia de tecnología extranjera en las áreas que se mencionaron previamente. La manufactura de sistemas microfluídicos requiere de infraestructura de gran complejidad tecnológica debido a que, desde sus inicios, las técnicas empleadas se basaron en métodos de microfabricación usados en la industria de semiconductores, en la que se hace uso de obleas de silicio y equipos de deposición y abrasión de películas delgadas. La adquisición de toda esta infraestructura representa un costo muy elevado, ya que involucra cuatro elementos principales:

1. Equipamiento especializado en el que se incluye cuartos limpios, equipo de manipulación, caracterización y para tratamientos.
2. Reactivos y materiales con un alto grado de pureza.
3. Personal altamente calificado.
4. Presupuesto para el mantenimiento de los equipos y la compra de insumos.

El poder cumplir con los cuatro elementos anteriores requiere una inversión económica muy elevada que no puede ser solventada por la mayoría de las instituciones académicas y de investigación. Sin embargo en los últimos 10 años diferentes autores han propuesto sistemas para la fabricación de dispositivos microfluídicos con herramientas y materiales de bajo costo, con los cuales se han podido obtener dispositivos funcionales y con un nivel de complejidad aceptable. Algunas de las técnicas que entran dentro de esta categoría incluyen el grabado por medio de láser, grabado con plotter de corte, grabado en vidrio por medio de derivados del ácido fluorhídrico y mascara de vinil, impresión 3D. Haciendo uso de estas técnicas se puede llevar a cabo el desarrollo de tecnología microfluídica dentro de instituciones con un bajo nivel de recursos económicos dedicados a investigación, logrando de esta manera incrementar la presencia de nuestro país en este sector.

## 1.4. Hipotesis

Es posible desarrollar dispositivos microfluídicos de bajo costo para llevar a cabo operaciones de separación de células con tamaño en un rango de  $10\ \mu\text{m}$  a  $200\ \mu\text{m}$ , utilizando materiales de uso común como el acrílico y el plástico para plastificar credenciales, así como equipo de bajo costo.

## 1.5. Objetivos

### 1.5.1. Objetivo general

Diseñar un dispositivo microfluídico para la separación de células de entre 10 a 200  $\mu\text{m}$ .

### 1.5.2. Objetivos específicos

Diseñar y simular con herramientas de CFD el comportamiento del sistema microfluídico.

Implementar técnicas de fabricación de sistemas microfluídicos con herramientas y materiales de bajo costo.

Evaluar la funcionalidad de los sistemas fabricado.

Publicar los resultados en una revista científica y/o en un congreso.

# Capítulo 2

## Marco Teórico

### 2.1. Procesos de transporte

Los sistemas microfluídicos, presentan un reto desde el punto de vista de diseño, debido a los múltiples procesos que se llevan a cabo dentro del microambiente de los microsistemas.

Hay un conjunto de procesos particularmente sencillos, los procesos de transporte, en los cuales alguna cantidad física tal como la masa, la energía, el momentum o la carga eléctrica, son transportadas de una región a otra. Consideramos los siguientes casos: el calor que fluye por una varilla de una zona de alta temperatura hacia otra región de baja temperatura; el transporte de carga eléctrica por un conductor entre cuyos extremos se ha establecido una diferencia de potencial; un fluido que circula por un tubo debido a una diferencia de presión o cuando en una mezcla se presenta un gradiente de concentración. En todos los casos mencionados, el flujo, (la cantidad de la magnitud física transportada a través de una unidad de superficie perpendicular a la dirección de flujo en la unidad de tiempo) es proporcional al gradiente de alguna propiedad física. Si escogemos como dirección de flujo el eje  $z$ ; la ley general de transporte es:

$$J_z = -B \frac{\partial Y}{\partial z} \quad (2.1)$$

Donde  $J_z$  es el flujo, cantidad de la magnitud transportada por  $\text{cm}^2$  por segundo,  $-B$  es la constante de proporcionalidad, y  $(\frac{\partial Y}{\partial z})$  es el gradiente de  $Y$  en la dirección del flujo.  $Y$  puede ser

[Índice](#)

la temperatura, potencial eléctrico, presión o concentración. Las ecuaciones individuales para los ejemplos mencionados anteriormente, cuando el flujo es en la dirección  $z$ , son:

$$\text{Flujo calórico} \quad J_z = -k_T \frac{\partial T}{\partial z} \quad \text{ley de Fourier} \quad (2.2a)$$

$$\text{Corriente eléctrica} \quad J_z = -k \frac{\partial V}{\partial z} \quad \text{ley de Ohm} \quad (2.2b)$$

$$\text{Flujo de fluidos} \quad J_z = -C \frac{\partial p}{\partial z} \quad \text{ley de Poiseulle} \quad (2.2c)$$

$$\text{Difusión} \quad J_z = -D \frac{\partial c}{\partial z} \quad \text{ley de Fick} \quad (2.2d)$$

En estas ecuaciones,  $k_T$  es el coeficiente de conductividad térmica,  $k$  es la conductividad eléctrica,  $C$  es el coeficiente de fricción relativa a la viscosidad y  $D$  es el coeficiente de difusión [90].

## 2.2. Hidrodinámica en sistemas microfluídicos

El flujo de fluidos en sistemas microfluídicos presenta una serie de problemas particulares, debido a las dimensiones reducidas de sus canales y demás componentes. El movimiento browniano y el balance inusual de sus fuerzas son un ejemplo de lo anterior.

### 2.2.1. Noción de la partícula del fluido

La hidrodinámica está gobernada por una serie de ecuaciones obtenidas usando como la del continuo, la cual considera a los fluidos como un medio continuo. Para el caso de los sistemas microfluídicos esta suposición se puede tomar sin ningún problema, ya que las partículas son demasiado pequeñas comparadas con el tamaño de los canales. Sin embargo en los sistemas con canales de tamaño nanométrico, esto se debe examinar cuidadosamente para no caer en errores.

### 2.2.2. Noción de viscosidad

Los líquidos poseen el efecto de tener cierto orden cristalino determinado a corta distancia (nanómetros), sin dejar de tener desorden en dimensiones mayores. Las moléculas deben cruzar una barrera de energía para salir de la "jaula" formada por sus vecinos inmediatos, y el intercambio de impulso por la capa de fluido en movimiento a una velocidad diferente. Los cálculos han conducido a la formulación de la siguiente ecuación para fluidos simples:

$$\mu = A \exp \frac{E}{kT} \quad (2.3)$$

donde  $A$  es constante y  $E$  es energía. El razonamiento anterior asume que la idea de viscosidad, solo aplica en líquidos contenidos en sistemas donde el tamaño del mismo es varios ordenes de magnitud la distancia intermolecular.

### 2.2.3. Ecuaciones hidrodinámicas

Asumiendo que las partículas del fluido son mucho más pequeñas que el tamaño del sistema, obtenemos las siguientes ecuaciones para el movimiento del fluido.

$$\rho \frac{Du_i}{Dt} = F_i + \frac{\partial \sigma_{ij}}{\partial x_j} \quad (2.4)$$

donde  $\rho$  es la densidad,  $u_i$  es el componente de velocidad a lo largo de  $i$ , y  $F_i$  es la componente de fuerza externa a lo largo de la componente unitaria de volumen de  $i$ . En esta ecuación el operador  $\frac{D}{Dt}$  es la derivada material, cuya expresión está escrita como:

$$\frac{D}{Dt} = \frac{\partial}{\partial t} + u_j \frac{\partial}{\partial x_j} \quad (2.5)$$

La ecuación previa debe ser completada por el principio de conservación de la masa y es escrita así:

$$\frac{D\rho}{Dt} + \rho \frac{\partial u_i}{\partial x_i} = 0 \quad (2.6)$$

Una clase importante de fluidos son los Newtonianos, en los cuales el tensor de esfuerzo, es linealmente relacionado con el tensor de deformación, de acuerdo a la ley de Stokes. Obtenemos

así para el caso particular de los fluidos Newtonianos, la ecuación de Navier-Stokes:

$$\rho \frac{Du_i}{Dt} = F_i - \frac{\partial p}{\partial x_i} + \mu \frac{\partial^2 u_i}{\partial x_j^2} \quad (2.7)$$

donde  $\mu$  es la viscosidad dinámica del fluido. Una forma compacta de la ecuación es la siguiente:

$$\frac{Du}{Dt} = -\frac{1}{\rho} \nabla p + \nu \Delta u + \frac{1}{\rho} F \quad (2.8)$$

donde  $\nu = \frac{\mu}{\rho}$  es la viscosidad cinemática y  $F$  es la fuerza externa por unidad de volumen.

### 2.3. Modelo de partículas para el estudio del flujo de fluidos

Además de las ecuaciones que describen el comportamiento de los fluidos, es necesario utilizar un modelo que nos ayude a determinar las trayectorias de partículas individuales dentro del fluido. Lo anterior es posible, utilizando modelos de partículas. Los métodos para partículas, se pueden dividir en los siguientes:

- Modelos de partículas.
  - DPM (Método de Fase Discreta)
  - MPM (Método de Partícula Macroscópica)
  - DP-DPM (Modelo de Partículas Discretas de Fase Densa)
- Métodos Continuos.
  - Euler-Granular
  - Euler-Granular con viscosidad friccional para fase densa
- Métodos híbridos.
  - DEM (Método del Elemento Discreto)

A través de estos modelos, puede llevarse a cabo la simulación de diferentes condiciones, como la trayectoria de partículas individuales y promedio local, flujo a través de partículas individuales, modelo de continuidad [91].

### 2.3.1. Modelo de fase discreta

DPM es un modelo que consiste en la interacción de dos fases una continua o euleriana y otra(s) lagrangiana(s). Resulta un modelo muy útil en el modelamiento de muchos sistemas en el campo de la ingeniería como separadores ciclónicos, lechos fluidizados, aerosoles, emisiones de material particulado.

Las ecuaciones de transporte y Navier Stokes cuando se consideran fases lagrangianas deben incluir la interacción de la fase continua con las esferas correspondientes a la fase densa discreta, estas interacciones básicamente se basan en el arrastre. La ecuación de continuidad se escribe como:

$$\frac{\partial(\rho)}{\partial t} + \nabla(\rho\vec{u}) = S_{DPM} + S_{otros} \quad (2.9)$$

Donde  $S_{DPM}$  es la fuente de partículas de la fase densa discreta del sistema; éstas pueden estar localizadas en cualquier lugar del dominio incluyendo las fronteras.  $S_{otros}$  es el término fuente de materia de la fase euleriana o continua. La ecuación de movimiento se puede escribir como:

$$\frac{\partial(\rho\vec{u})}{\partial t} + \nabla(\rho\vec{u}\vec{u}) = -\nabla p + \nabla \cdot \tau + \rho\vec{g} + \vec{F}_{DPM} + \vec{F}_{otros} \quad (2.10)$$

Donde  $F$  son las fuerzas debidas a las interacciones con las partículas que conforman la fase discreta  $F_{DPM}$ , y los efector de fuerzas externas adicionales que interactúan con la fase continua  $F_{otros}$  [92].

# Capítulo 3

## Marco Metodológico

La ruta crítica de las actividades para el desarrollo del proyecto se muestra en la figura 3.1. Con el fin de organizar las tareas, el trabajo se dividió en cuatro líneas diferentes: Diseño del sistema, desarrollo de técnicas de fabricación, obtención de algas microscópicas e implementación de un sistema de microfluídica digital. Cada actividad es descrita a continuación.

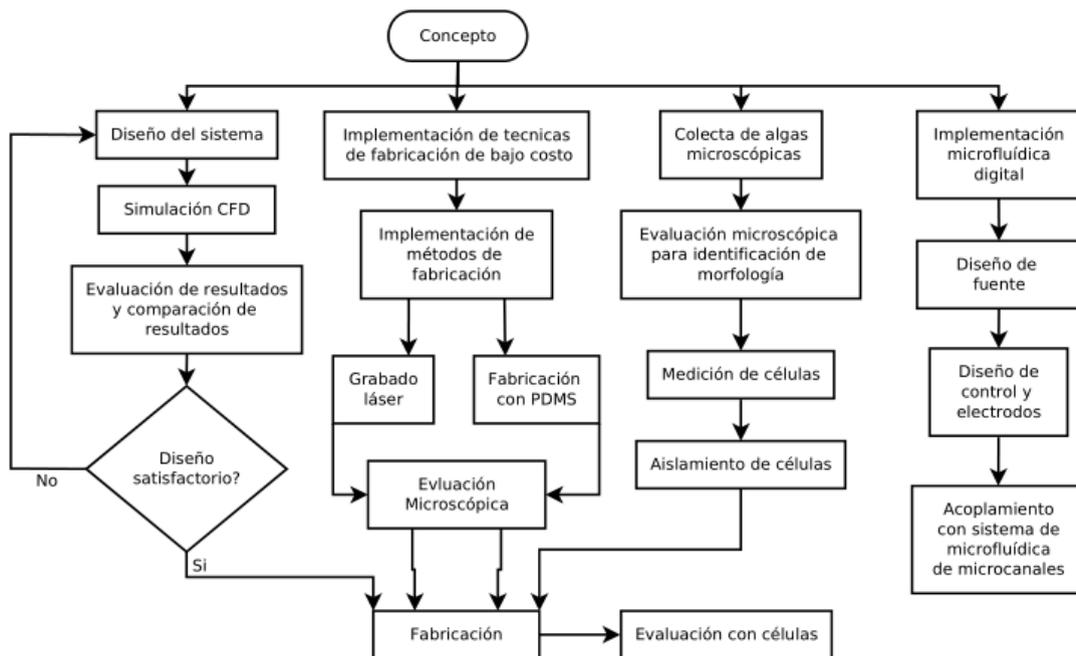


FIGURA 3.1: Ruta crítica de metodología

[Índice](#)

## 3.1. Simulación numérica

### 3.1.1. Diseño del sistema

El diseño del sistema se llevó a cabo utilizando como referencia las metodologías revisadas por Takagiet et al. [93], Yamada et al. [94] Sosol et al. [26], Bhagat et al. [95] y Chen et al. [96], quienes describen diferentes técnicas de separación celular, aunque solo serán considerados los mecanismos que no ocupan campos eléctricos.

Se considerará para la propuesta, el trabajar con células de tamaño en un rango entre 10 a 200  $\mu\text{m}$ . Como fuente de flujo, se usarán, jeringas de 3 y 5 ml, y/o el flujo producido por los efectos de la capilaridad. Previo al uso de Fluent, el diseño 3D de los modelos propuestos son elaborados en SolidWorks y guardados en formato \*.ige.

### 3.1.2. Simulación con Ansys Fluent

La simulación computacional del modelo elegido se lleva a cabo con el software Ansys Fluent. Lo anterior debido a que es una herramienta de simulación confiable y utilizada en el ámbito industrial y académico. Ansys cuenta con módulos para el estudio de diferentes fenómenos, además que tiene la capacidad de evaluar modelos multifísicos, llevando a cabo la interacción de los diferentes módulos. La figura 3.2 muestra un ejemplo de los resultados obtenidos por esta herramienta. Los pasos para llevar a cabo la simulación computacional de los sistemas diseñados en Fluent, se toman del procedimiento propuesto Cengel et al. [82] que previamente se mencionaron en los antecedentes.

Esta metodología se aplica a cada unos de los diseños propuestos. El modelo en formato \*.iges es importado y para que la simulación se aproxime al comportamiento real del fenómeno, es necesario utilizar el Modelo de Fase Discreta (DPM), el cual es configurado en las opciones de modelos dentro de Fluent. Se considera una velocidad de 0.5 mm/s, para entrada de fluido. Dentro de la configuración del modelo DPM, se considera una inyección de partículas de antracita.

### 3.1.3. Evaluación de resultados de simulación numérica

Al terminarse las simulaciones realizadas en Fluent, se evalúa el comportamiento de las partículas y flujos. De los sistemas simulados, el que presenta mejores características de separación es considerado para su fabricación.

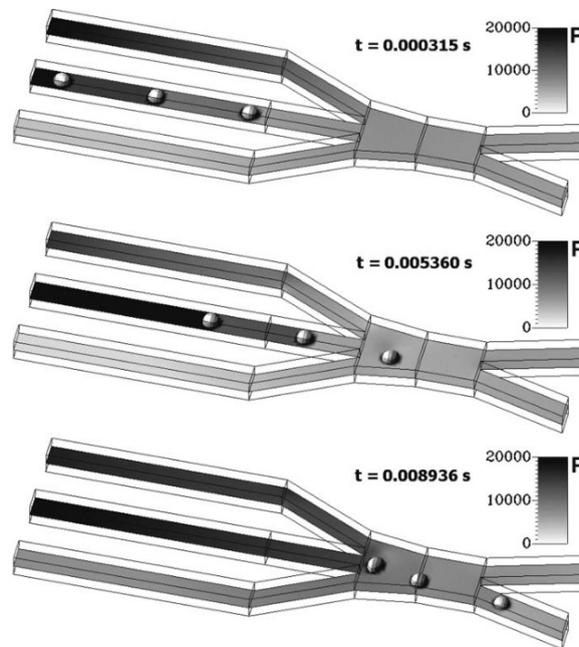


FIGURA 3.2: Simulación tridimensional de una célula dentro de un microcanal [3]

## 3.2. Implementación de técnicas de fabricación de bajo costo

Para la fabricación de sistema microfluídico se emplearán las técnicas de grabado láser y fabricación con PDMS (polímero de polidimetilsiloxano). Cada técnica tiene una serie de ventajas y desventajas, que lo hacen útiles para diferentes aplicaciones.

### 3.2.1. Grabado láser de acrílico

El grabado con láser se llevará a cabo en una empresa en la ciudad de México. Lo anterior debido al mejor precio, ya que en una empresa local con equipos de las mismas características, el corte por minuto se cotizó a \$35.00, siendo que en el DF el costo baja a \$7.00. Por la cantidad de pruebas a llevarse a cabo se prefiere la segunda opción, además de que el proveedor del servicio ofrecer la opción de envío, ahorrándose de esta manera, la mitad del costo del viaje redondo a la Ciudad de México.

Las pruebas de grabado se realizarán solicitando la variación de parámetros como son, la velocidad del mecanismo que posiciona del haz láser y la variación de la potencia de salida del láser. Cabe mencionar que los equipos comerciales, comúnmente utilizados para el grabado en empresas dedicadas a las artes gráficas, utilizan un tubo de CO<sub>2</sub> como fuente láser.

El material que será utilizado para llevar a cabo las pruebas será el acrílico de 3 mm, debido

a que es un material barato y fácil de adquirir en tiendas dedicadas a la venta e instalación de cancelería.

### **3.2.2. Fabricación de microcanales en PDMS**

La fabricación por medio de esta técnica comprende dos etapas, la primera el diseño del molde y la segunda el moldeo y curado del PDMS.

#### **3.2.2.1. Diseño de molde**

El molde se fabrica utilizando la técnica manufactura de circuitos impresos en material FR4 virgen de una cara. El diseño se lleva a cabo en el software Eagle Cadsoft. La transferencia del diseño se lleva a cabo con la técnica de transferencia térmica de tóner, por medio de una plancha para ropa. Posterior a la transferencia, la PCB (Printed Circuit Board) se somete al proceso de grabado en cloruro férrico para retirar el exceso de cobre, al concluir el grabado, se lava la placa para eliminar los restos de cloruro.

#### **3.2.2.2. Moldeo**

Se preparará la mezcla del polímero utilizando 10 partes de polímero y 1 parte de catalizador, posteriormente se mezcla y es sometido a vacío para retirar las burbujas que se forman durante el paso anterior. Se coloca el molde en una caja petri de vidrio y se agrega la mezcla de PDMS. A continuación la caja petri se hornea a 180 grados centígrados por 10 minutos para acelerar el curado. Al finalizar, se recorta con ayuda de una navaja, el área de interés y se coloca sobre un portaobjetos o placa de vidrio.

### **3.2.3. Evaluación microscópica y polaroscópica de los diseños grabados con las técnicas láser y con PDMS**

Con el objeto de poder llevar a cabo la eficiencia del grabado, se analizarán los diferentes diseños fabricados, con ayuda de un microscopio óptico. En el análisis se llevará a cabo la búsqueda de fracturas, se analizará el patrón de los microcanales, así como también se buscarán otro tipo de daños que el material pudiera presentar debido al proceso de fabricación.

Extra a las pruebas microscópicas, se realizará una prueba con un polaroscopio, para identificar zonas de tensión dentro del material, que pudieran generarse durante el maquinado o el ensamble. Este equipo se montará utilizando como fuente de luz polarizada, un monitor tipo LCD en



FIGURA 3.3: Espectro de tensiones alrededor de dos tornillos de 2 mm del sistema convencional [4].

el que se proyectará un fondo blanco. Como filtro se usará una mica recuperada de un display de una computadora portátil dañada. Al colocarse el chip microfluídico entre la fuente de luz y el filtro, se pueden identificar zonas de tensión por el cambio de color en ciertas zonas. La figura 3.3 muestra un ejemplo de la polaroscopia, aplicada a la búsqueda de tensiones en resina epóxica de uso dental. Se observa el cambio de coloración en las zonas donde el tornillo está colocado.

### 3.3. Fabricación de dosificador para microflujo

Para llevar a cabo el suministro constante de fluido dentro de los microcanales, se requiere un dosificador de jeringa en el que se pueda controlar la velocidad y tiempo de activación. En el mercado ya existen estos sistemas, sin embargo por su costo se prefiere diseñar y fabricar uno. El diseño permite llevar a cabo las adecuaciones necesarias para la aplicación en microfluídica. El diseño consiste básicamente en un mecanismo de tres barras paralelas, una de las cuales es un tornillo sinfín que al girar transmite un movimiento lineal. Las otras dos barras son guías lineales sobre las que el mecanismo se desplaza.

### 3.4. Obtención de algas microscópicas

Para los ensayos de funcionalidad del sistema de separación se requieren células reales, que ayuden a evaluar el comportamiento de los modelos desarrollados con CFD. Se eligió trabajar

con microalgas, debido a que son organismos microscópicos abundantes en la naturaleza, fáciles de mantener y resistentes a cambios de condiciones ambientales. La figura 3.4 muestra algas microscópicas observadas con ayuda de un microscópio óptico.

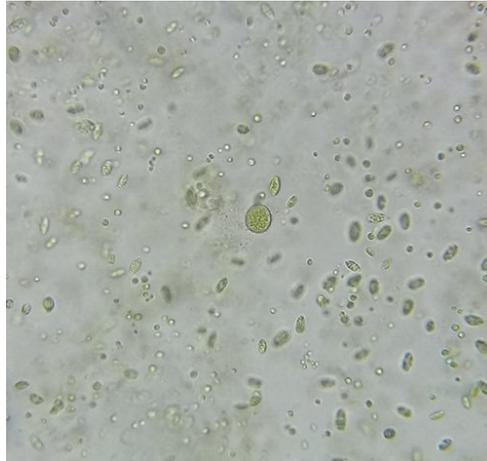


FIGURA 3.4: Imagen de una muestra de algas microscópicas, observadas con microscópio óptico 400x

### 3.4.1. Obtención de muestra de algas

La colecta de muestras de microalgas, se realiza en cuerpos acuáticos con señales de eutrofización, ya que en este tipo de ambientes suele haber una gran concentración de estos microorganismos. Se toma una muestra para ser estudiada dentro del laboratorio. El procedimiento consiste en coleccionar en un frasco estéril de boca ancha, aproximadamente 200 ml de agua con características antes mencionadas. Posteriormente se transporta al laboratorio.

### 3.4.2. Evaluación microscópica de morfología de algas

En este paso se lleva a cabo la caracterización de los diferentes tipos de microalgas presentes en la muestra. Es de especial interés, identificar microalgas de entre 10 a 200  $\mu\text{m}$ , que además presenten morfología circular y/o cilíndrica, ya que las formas filamentosas de gran tamaño podrían quedar atoradas dentro de los microcanales.

### 3.4.3. Medición de células

Una vez identificadas las microalgas de interés, se lleva a cabo la medición de las células, con ayuda de una cámara de Neubauer, la cual es una placa de vidrio a modo de portaobjetos, que

cuenta con una retícula de cuadrados de  $50 \mu\text{m}$  por lado, con lo cual nos podemos dar una idea aproximada de las dimensiones que tienen las células elegidas. En caso de contar con un portaobjetos reticulado de menores dimensiones se hará uso del mismo. En la figura 3.5 se muestra la cámara de Neubauer utilizada para este paso.



FIGURA 3.5: Cámara de Neubauer

## 3.5. Implementación de microfluídica digital

Se ha considerado implementar esta técnica debido a que podría ser bastante útil para la manipulación de células en la salida del sistema. Esta sección del trabajo fue, dividido en tres partes, el diseño del sistema, construcción de PCB de control y electrodos, por último pruebas de funcionamiento.

### 3.5.1. Diseño del sistema

El sistema fue diseñado en tres partes, fuente de alto voltaje, etapa de control y tarjeta DMF. Cada uno de los circuitos impresos (PCB) y esquemas, fueron diseñados utilizando el software Eagle Cadsoft. Para el diseño de la fuente de alto voltaje hay que tomar en cuenta que tanto el voltaje como la frecuencia deben variarse, sin embargo para este diseño, solo se consideró modificar el valor de la frecuencia. De acuerdo a Li et al. 2014, el voltaje mínimo de funcionamiento, para los sistemas DMF abiertos, es de 200 V, por lo que la fuente de alimentación, debe de proporcionar como mínimo este valor. Debido a que el voltaje disponible en la línea doméstica es de 120V AC, se colocó un transformador con relación 1:2 con la finalidad de elevar el voltaje a 240V AC. Posteriormente la entrada de 240V AC es rectificadas por medio de un puente KBL04 y filtrada con cuatro capacitores  $120 \mu\text{F}$  a 400V. Como medida de seguridad, se adicionó una resistencia de sangría de  $100 \text{ k}\Omega$  a 2W a la salida de la fuente, la cual se encarga de descargar los capacitores. La conmutación se lleva a cabo por medio de un transistor ST13007, el cual es posee una configuración NPN y está diseñado para operar hasta los 700V y manejar 8 A, estos valores se encuentran dentro del rango de operación del diseño, ya que el voltaje máximo rectificado a la salida de la fuente de acuerdo a cálculos, será de 340V, además que el consumo

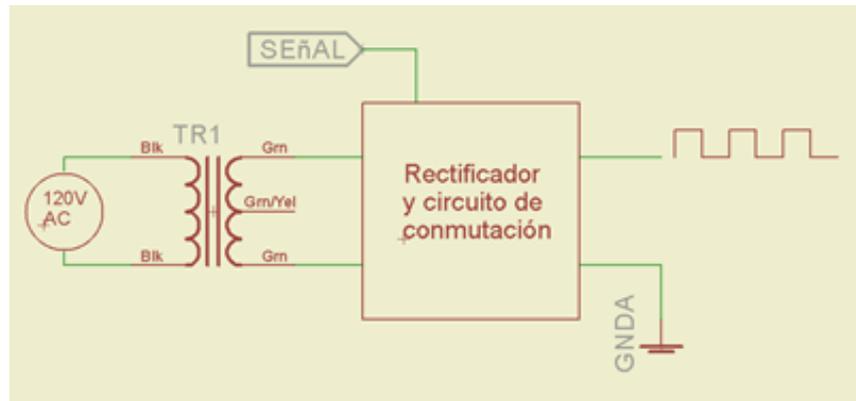


FIGURA 3.6: Configuración de la fuente de alimentación.

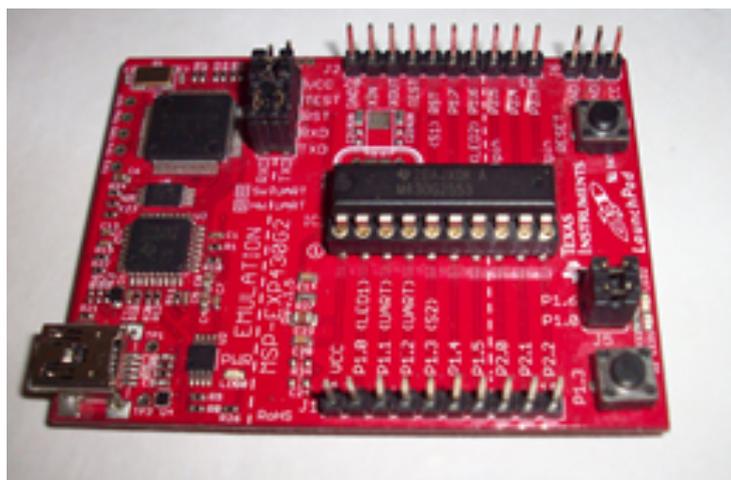


FIGURA 3.7: Tarjeta MSP430 Launchpad con microcontrolador MSP430G2553.

de corriente es casi insignificante, ya que no pasa corriente entre los electrodos del dispositivo DMF. La figura 3.6 muestra la configuración empleada en la fuente.

La etapa de control y los electrodos, se diseñan en la misma tarjeta de circuito impreso, con la finalidad de integrar el dispositivo, en la menor cantidad de partes. Para hacer la conexión de la tarjeta diseñada, con la tarjeta de desarrollo que aloja el microcontrolador, se tomó la distancia entre cada uno de los pines y entre cada uno de los dos headers. La tarjeta de desarrollo elegida para el control, fue la MSP430 Launchpad, la cual es un sistema de desarrollo de bajo costo (precio en el USA, 9.99 USD), la figura 3.7 muestra la tarjeta. Una de las características importantes de este sistema, es que posee un programador/debugger integrado, con protocolo Spy-bi-wire, con lo que podemos llevar a cabo la programación de diferentes microcontroladores que soporten dicho protocolo, pudiendo escalar hacia arriba o hacia abajo el tamaño del sistema.

Para evitar el daño del microcontrolador o de la computadora por la que se programa la tarjeta de desarrollo, se colocaron optoacopladores PC817 y un led indicador, la figura 3.8 muestra la configuración utilizada y se utilizó una fuente de alimentación separada. Para conmutar el alto

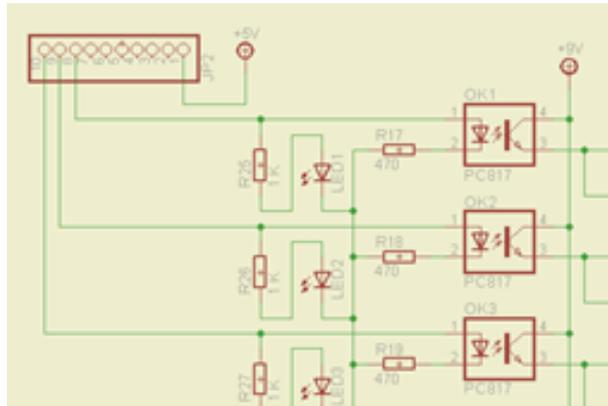


FIGURA 3.8: Circuito de protección para etapa de control.

voltaje se utilizó también el transistor ST13007. Los electrodos se diseñaron en una configuración 2x4, para tener un total de ocho y fueron dibujados en la PCB como cuadrados de 3.175 mm, cada uno se conectó a con su respectivo aislamiento a un pin del microcontrolador. Todos los diseños de circuito impreso se optimizaron para tener la mejor distribución en el espacio.

### 3.5.2. Construcción de la PCB de control y electrodos

Una vez diseñado cada PCB, se procedió a la fabricación. Se utilizó la técnica de grabado por transferencia térmica para la fuente y para la placa de los electrodos, se utilizó la técnica de la película fotosensible y fotolito, esto con la finalidad de tener una mayor resolución del patrón de pistas. Una vez que el patrón se transfiere, se retira el cobre excedente con una solución de cloruro férrico. Al terminar el grabado, las placas se lavan con agua abundante y con detergente en polvo, esto ayuda a retirar el exceso de cloruro férrico que queda depositado en la placa. A continuación se hacen las perforaciones correspondientes y se aplica un tratamiento de estañado químico. Por último se hace la transferencia del patrón de componentes por medio de transferencia térmica de tóner. Una vez terminados los circuitos impresos, se procede a su ensamble. En la placa que tiene el patrón de los electrodos, se cubre con una capa de cinta adhesiva transparente (Diurex®), con el objeto de proporcionar el aislamiento entre los electrodos y las microgotas. Posteriormente se aplica el tratamiento hidrofóbico Rain-X© de acuerdo a las instrucciones proporcionadas por el fabricante. Cabe mencionar que los dos procedimientos anteriores son los utilizados por Abadian et. al. 2014.

### 3.5.3. Pruebas de funcionamiento

A cada una de las dos tarjetas, se le hacen pruebas por separado. En el caso de la fuente de alimentación, se mide el voltaje de salida y se revisa por medio del osciloscopio que se tenga un

filtrado adecuado. Para la tarjeta de control y de electrodos, se carga un programa de prueba y se verifica que cada led encienda de acuerdo a la secuencia enviada. La programación del microcontrolador así como la carga del programa, se lleva a cabo en lenguaje C, con el uso del IDE Code Composer Studio de Texas Instrument. Una vez que las tarjetas funcionan adecuadamente, se procede a ensamblar el sistema completo. Para hacer el movimiento de las microgotas, se programó una secuencia incremental con retardo de 1.5 s, este retardo se eligió, para poder observar con detalle el movimiento de las microgotas. Las microgotas de agua con colorante azul, se colocan sobre el área de los electrodos con ayuda de una micropipeta.

# Capítulo 4

## Resultados

### 4.1. Simulación numérica

El diseño de la geometría se llevo a cabo en SolidWorks y consiste en una "Y", la cual es presentada en la figura 4.1.

Se uso este software debido a problemas para importar la geometría, al usarse FreeCad. La imagen fue guardada en formato \*.iges. Dentro de Ansys se creo un proyecto de Ansys Fluent y se importo el archivo con la geometría. Posteriormente se efectuó el mallado casi completamente estructurado. Se obtuvieron 119071 nodos y 92370 elementos. Los detalles de la malla, se presentan en la figura 4.2.

La simulación fue resuelta en 67 iteraciones, llegando los residuales a los valores establecidos de  $1 \times 10^{-6}$ . La evaluación de los resultados se llevo a cabo visualizando la trayectoria de las partículas dentro del fluido. Se observó que la trayectoria corresponde a un flujo laminar, lo cual es consistente con lo que se esperaba debido a las condiciones iniciales configuradas. La figura 4.3 y 4.4 presentan las trayectorias generadas con la simulación numérica.

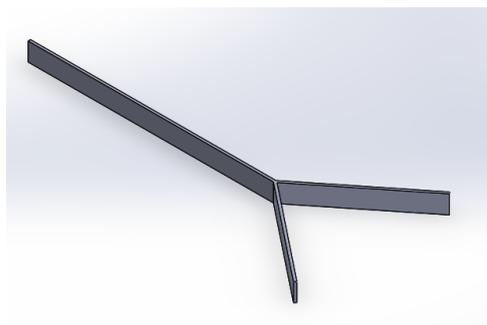


FIGURA 4.1: Diseño de geometría en SolidWorks

[Índice](#)

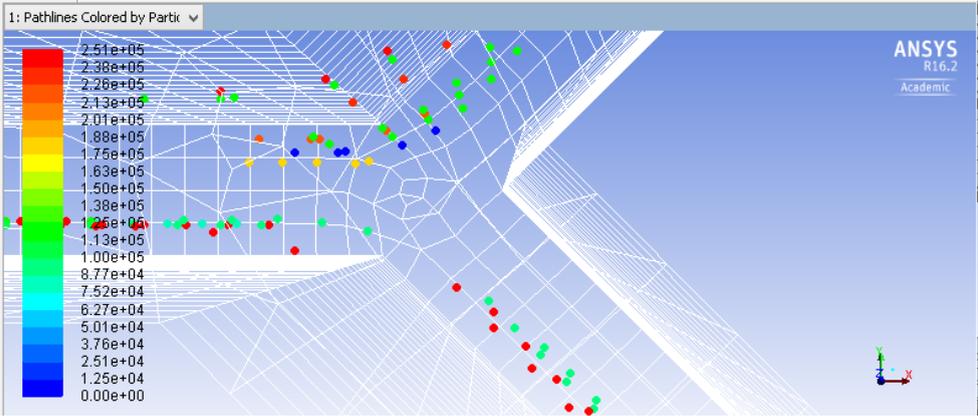


FIGURA 4.2: Mallado de geometría

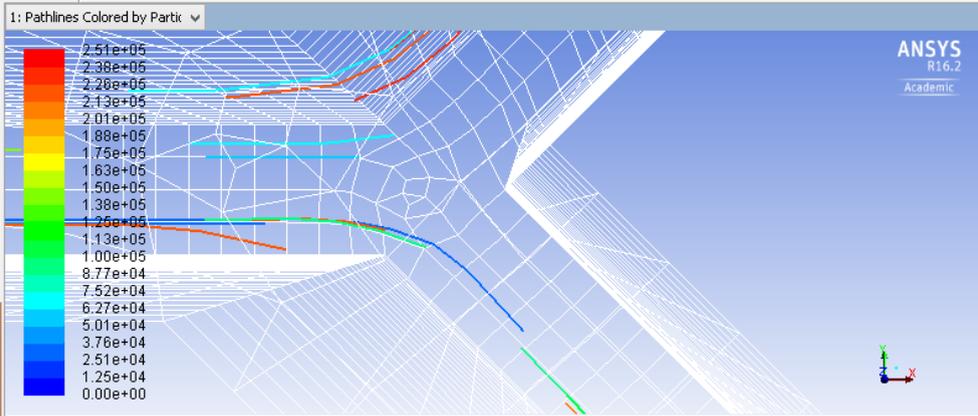


FIGURA 4.3: Trayectorias con líneas

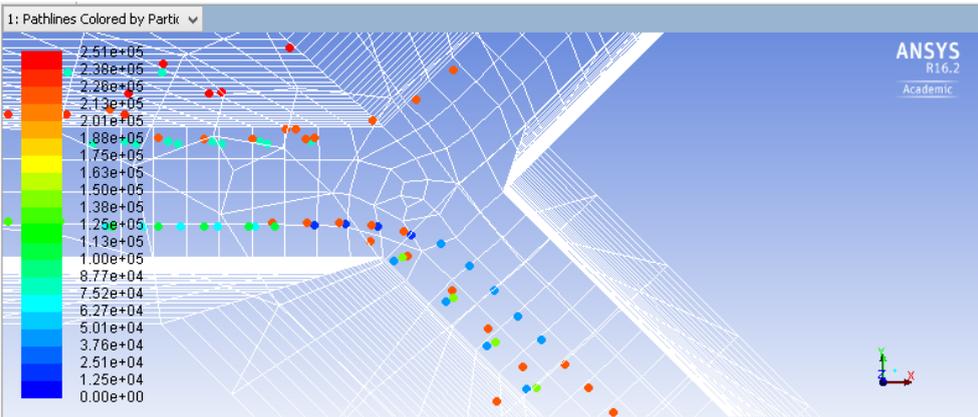


FIGURA 4.4: Trayectoria con esferas de geometría

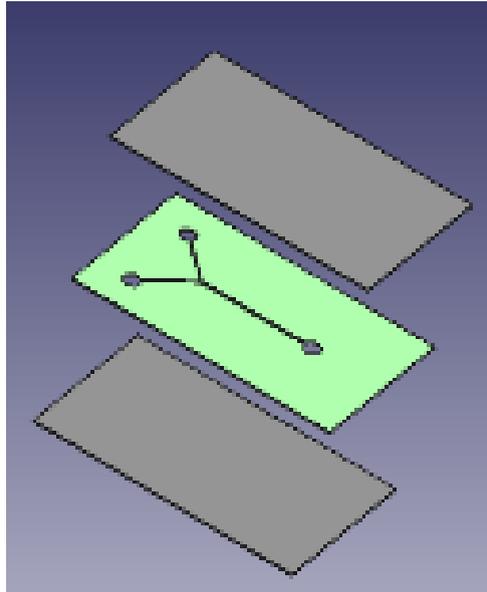


FIGURA 4.5: Diseño de patrón de canales en Freecad

## 4.2. Implementación de técnicas de fabricación de bajo costo

### 4.2.1. Grabado láser

El diseño mostrado en la figura 4.5, corresponde al ensamble del mezclador tipo “Y” desarrollado en FreeCad. Se diseñó cada uno de los 2 mezcladores y se exportó la geometría al formato DXF con el objeto de poder enviar los archivos a la máquina de grabado láser.

El manejo del software fue muy similar al ambiente de diseño de Solid Works, logrando dibujos con una calidad similar. Para el grabado láser, se requirió el ajuste de la potencia de salida del láser, también fue necesario variar la velocidad de avance, logrando con esto, canales con dimensiones menores a 1 mm. El acrílico virgen utilizado para hacer el grabado, cuenta con una cubierta en cada una de sus caras, evitando con esto, que el material se maltrate durante la manipulación previa al ensamble.

La figura 4.6 muestra 4 piezas después del grabado láser, en 3 de las piezas los bordes muestran indicios quemadura, lo que indica que la potencia del láser es un poco mayor a la requerida, no así en la pieza del cuadrante inferior izquierdo, donde la potencia y velocidad fue optimizada.

El ensamble presenta algunos inconvenientes, ya que en las piezas del mezclador tipo “Y” existen regiones donde el pegamento no se distribuyó adecuadamente. Sin embargo en el mezclador tipo “T” la unión fue adecuada. La figura 4.7 muestra los mezcladores ensamblados con acrílico en la parte inferior, lo que sirve como base para el dispositivo.

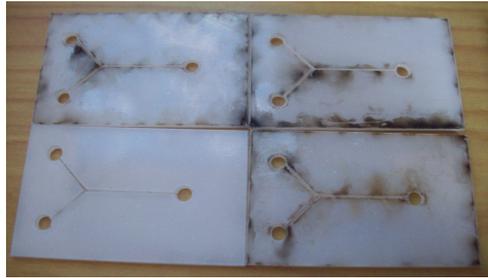


FIGURA 4.6: Pieza tras corte láser

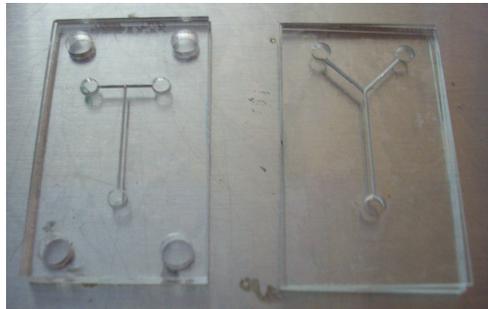


FIGURA 4.7: Grabado lineal 1

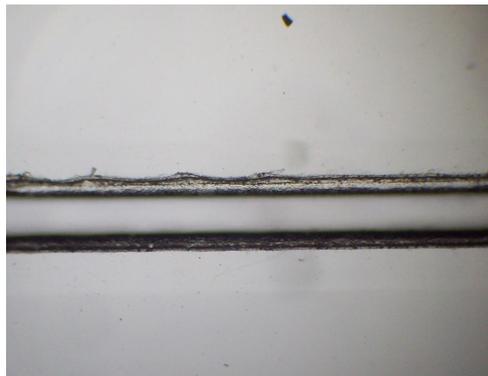


FIGURA 4.8: Grabado lineal 2

La evaluación del grabado se presenta en las figuras 4.8, 4.9, 4.10 y 4.11. El grabado del microcanal a  $0^\circ$  y a  $90^\circ$  grados, presenta a simple vista un corte con pocas imperfecciones (figuras 3.9), no así en el caso de los cortes diagonales, como el presentado en la figura 3.8, donde se observa un efecto de escalonado, lo que puede deberse a que la precisión del mecanismo de posicionamiento del equipo láser, es menor a la requerida.

Para identificar el comportamiento del flujo de líquidos dentro del canal, se colocaron con una jeringa de 3 ml, colorantes azul y rojo. Las figuras 4.12, 4.13 y 4.14 muestran este proceso.

Se observó que no existen taponamientos debido al pegamento y que en el caso del mezclador “T” el sellado fue adecuado.



FIGURA 4.9: Grabado lineal 3

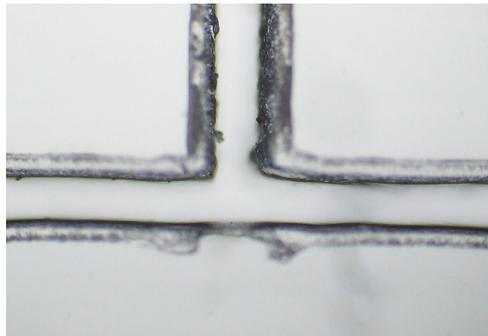


FIGURA 4.10: Grabado lineal 4

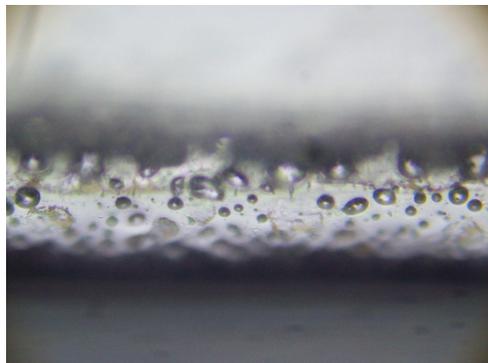


FIGURA 4.11: Grabado lineal 5



FIGURA 4.12: Grabado lineal 6



FIGURA 4.13: Grabado lineal 7

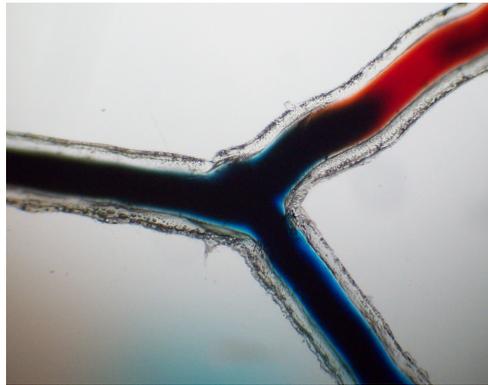


FIGURA 4.14: Grabado lineal 8



FIGURA 4.15: Prueba con polariscopio 1

Los resultados de las pruebas con polariscopio presentados en las figuras [4.15](#), [4.16](#), [4.17](#), [4.18](#) y [4.19](#), muestran que el material sometido a corte láser no presenta fracturas, solo indicios de tensiones. En las figuras antes mencionadas, las tensiones se presentan como zonas claras o cambios en la coloración del material. La cantidad de tensiones en el material es mínima, por lo que no representa un problema para la fabricación del dispositivo.



FIGURA 4.16: Prueba con polariscopio 2

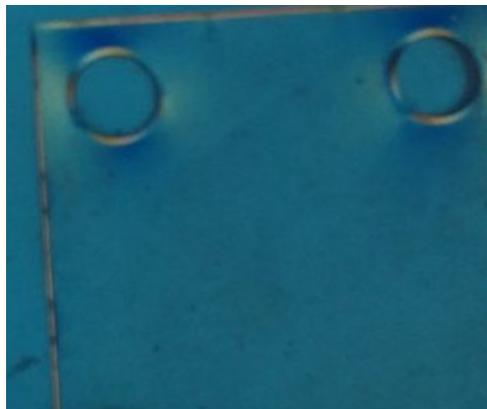


FIGURA 4.17: Prueba con polariscopio 3

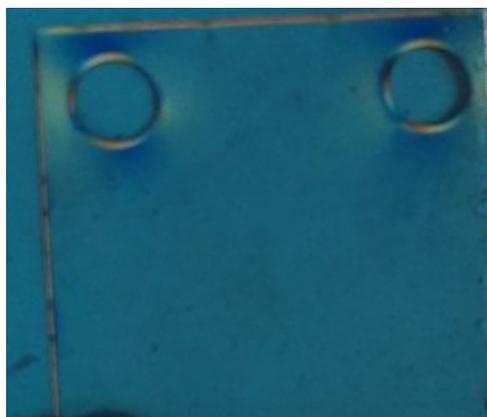


FIGURA 4.18: Prueba con polariscopio 4

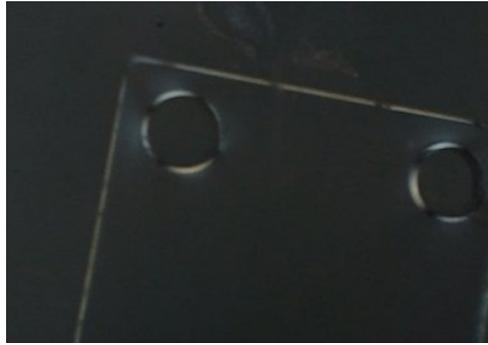


FIGURA 4.19: Prueba con polariscopio 5

#### 4.2.2. Fabricación de microcanales en PDMS

El molde se fabricó en material FR4, con el método de transferencia térmica de toner tal como se muestra en las figuras 4.20 y 4.21.



FIGURA 4.20: Molde para microcanales previo a grabado

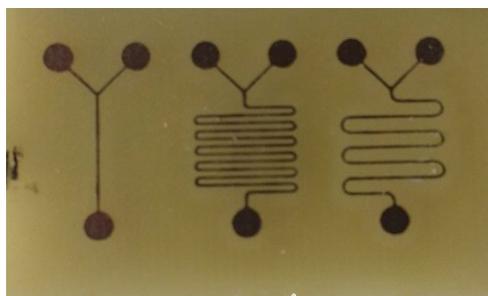


FIGURA 4.21: Molde para microcanales grabado

Una vez obtenido el molde, se procede al vaciado del PDMS. Las figuras 4.22, 4.23, 4.24 y 4.25, muestran el proceso de fabricación.



FIGURA 4.22: PDMS sometido a vacío para retirar burbujas de aire



FIGURA 4.23: PDMS al termino del curado

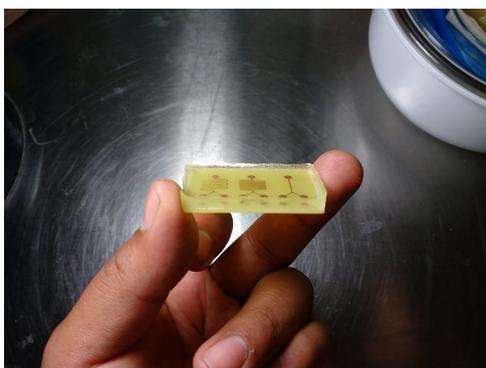


FIGURA 4.24: PDMS solidificado



FIGURA 4.25: Microcanales de PDMS desmontados del molde

Hasta este punto el proceso fue satisfactorio, sin embargo al intentar llevar a cabo el proceso de sellado, es decir, colocar el PDMS sobre un portaobjetos, no hubo adherencia. Al observar el PDMS a detalle tal como se muestra en la figura 4.26, podemos apreciar que la superficie donde no hay canales no es totalmente plana, provocando que el material no se adhiriera al vidrio. Debido a estas circunstancias, se cambio a otro método de fabricación de bajo costo, el cual consiste en utilizar una impresión láser de un acetato como molde para los microcanales [97]. El proceso de fabricación, es igual al utilizado previamente, el único cambio es el uso del molde de acetato. La figura 4.27 muestra el molde usado.



FIGURA 4.26: Chip microfluídico a detalle

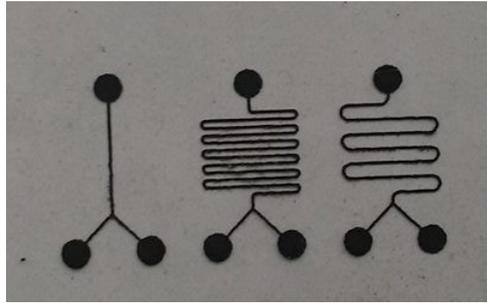


FIGURA 4.27: Acetato usado como molde

Utilizando esta modificación, fue posible moldear chips microfluídicos de PDMS que lograron adherirse correctamente a un portaobjetos de vidrio. Las figuras 4.28 y 4.29 muestran los microcanales fabricados con esta técnica.

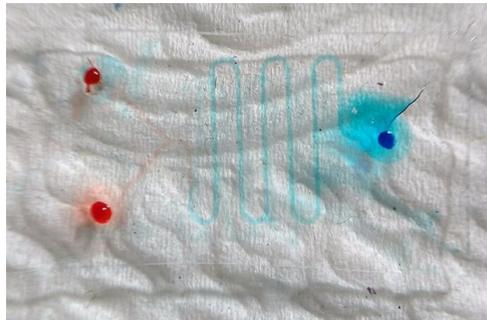


FIGURA 4.28: Microcanales de chip microfluídico fabricados con técnica de la impresión láser en acetato



FIGURA 4.29: Microcanales de mezclador microfluídico fabricados con técnica de la impresión láser en acetato

Se verificó utilizando un microscopio, que el sellado de los canales fuera adecuado, además de medir el ancho del canal, las figuras 4.30 y 4.31 muestran la vista microscópica del microcanal.

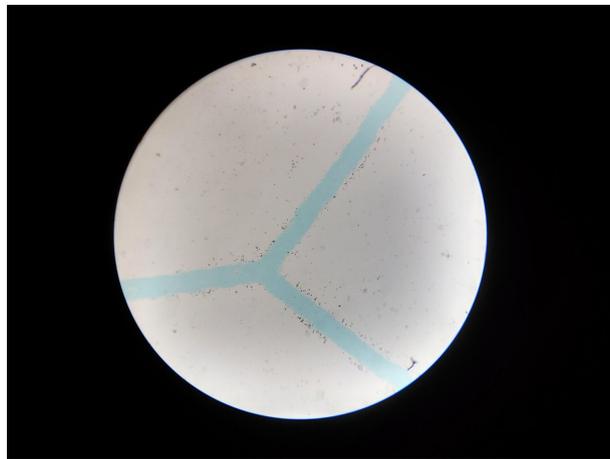


FIGURA 4.30: Microcanales ampliados 100 veces con colorante azul para contraste

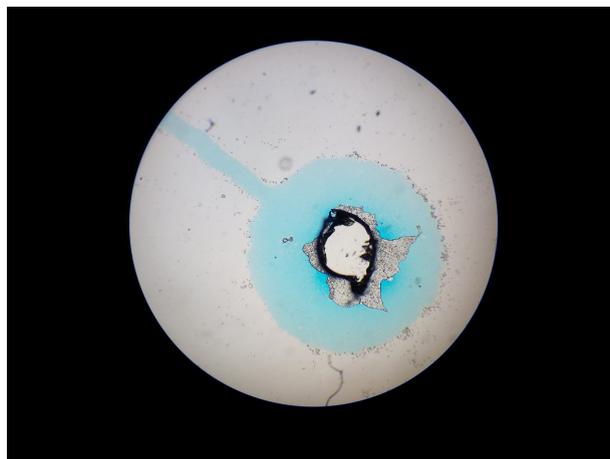


FIGURA 4.31: Lugar de inyección de fluido ampliado 100 veces

Como resultado de la medición se encontró que el ancho del canal es de un  $250 \mu\text{m}$ , tal como se muestra en la figura 4.32 y 4.33 .

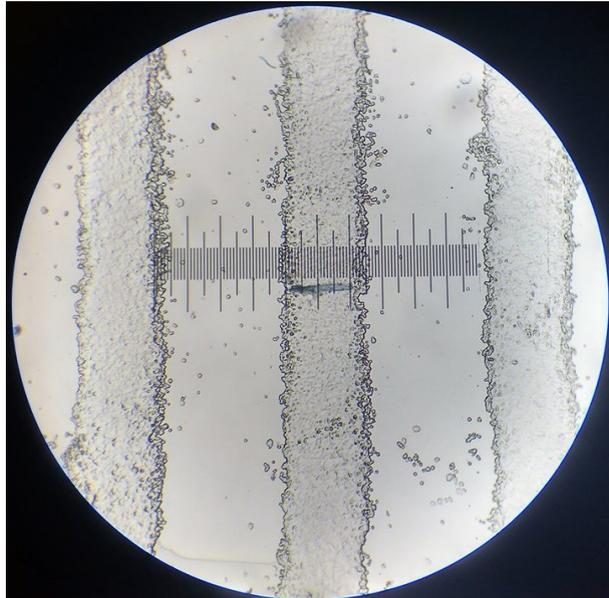


FIGURA 4.32: Medición de microcanales 100X

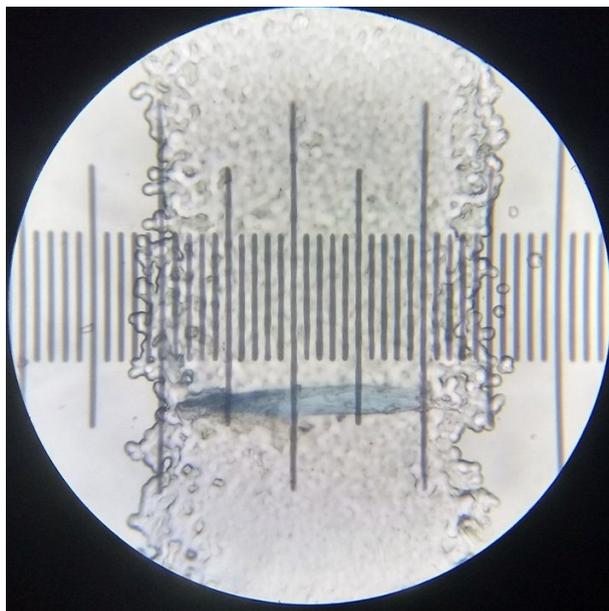


FIGURA 4.33: Medición de microcanales 400X

### 4.3. Fabricación de dosificador para microflujo

#### 4.3.1. Diseño mecánico

El dosificador se dibujó en SolidWorks, basándose en el diseño del sistema de desplazamiento utilizado en los equipos CNC y de impresión 3D. Se utilizó aluminio para la fabricación de la

mayoría de las piezas, excepto el tornillo sinfín, guías lineales, baleros, tornillos y prisioneros. La figura 4.34 muestra el diseño completo y la figura 4.35 la vista explosionada.

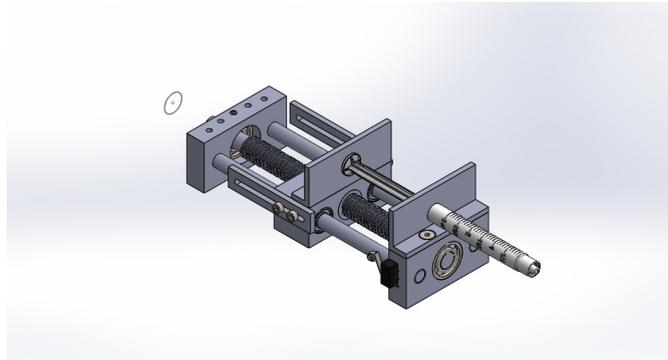


FIGURA 4.34: Diseño de dosificador en SolidWorks

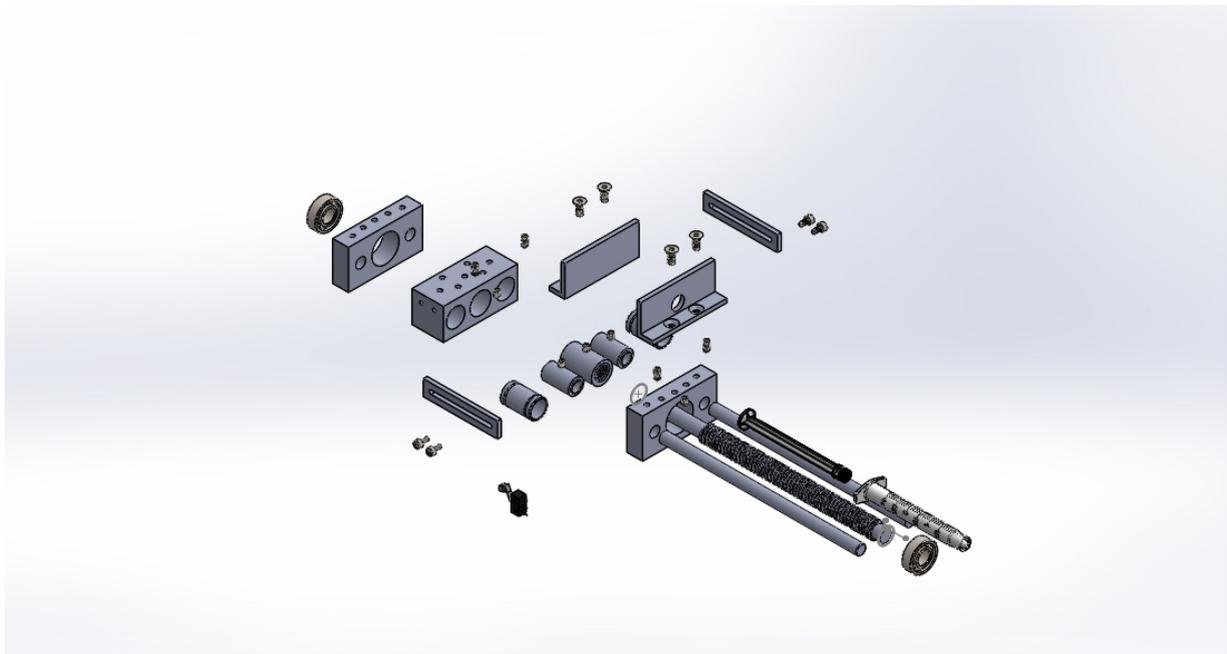


FIGURA 4.35: Vista explosionada del dosificador

Para lograr mayor precisión en las piezas fabricadas, el bloque que alojan los baleros lineales y los bloques de los extremos, se fabricaron en un equipo de control numérico (CNC).

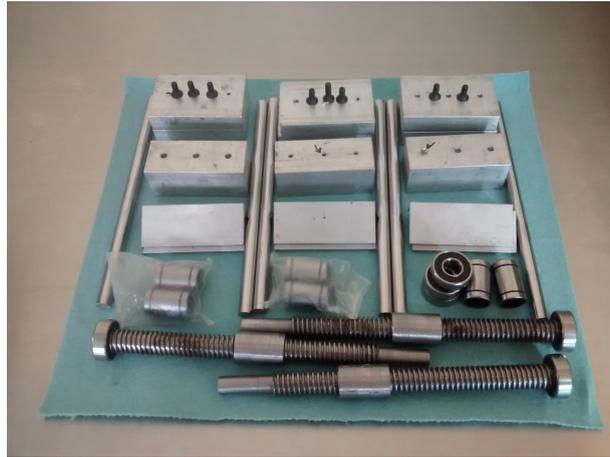


FIGURA 4.36: Partes terminadas del dosificador

### 4.3.2. Diseño electrónico

Se incluyo en el diseño, sensores de limite para evitar la destrucción de alguno de los mecanismos en caso de que el motor, siga funcionando al llegar al final de carrera. Para el movimiento del sistema, se utilizó un motor CD con motoreductor. Para el control del mecanismo se diseño una tarjeta con microcontrolador que permite modificar la velocidad y dirección de avance.

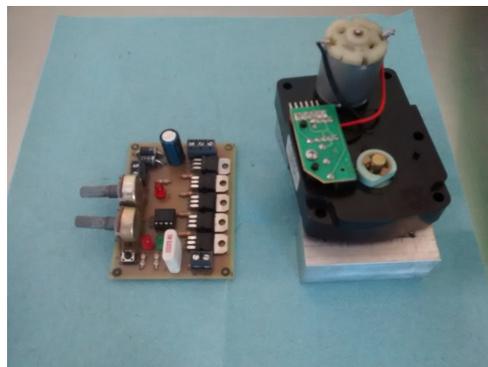


FIGURA 4.37: Motor y circuito de control

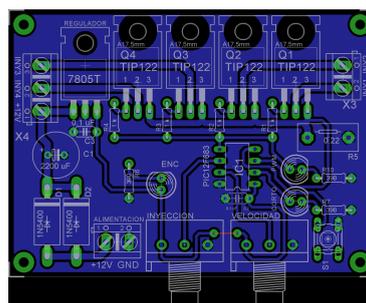


FIGURA 4.38: Circuito de control

El costo de las piezas del dosificador, se muestra en la tabla 4.1. Cabe mencionar que en la página <http://www.ebay.com/> pueden encontrarse equipos usados desde \$30.00 dolares, sin embargo se debe considerar el precio de envío y de importación, además de la posibilidad que no se le permita el ingreso de esta mercancía a nuestro país, por tratarse de equipo médico usado. Otra ventaja del sistema fabricado es que puede modificarse para satisfacer los requerimientos especiales de un experimento en particular. La figura 4.39 muestra el ensamble completo del dosificador.

Pieza	Costo
Bloques de aluminio	\$90.00
Guías lineales	\$60.00
Baleros lineales	\$70.00
Tornillo y tuerca sinfín	\$75.00
Baleros para sinfín	\$70.00
Tornillos y prisioneros para ensamble	\$20.00
Tarjeta electrónica de control	\$250.00
Motoreductor	\$80.00
Costo de fabricación	\$400
Total	\$1115.00

TABLA 4.1: Costo de materiales de dosificador

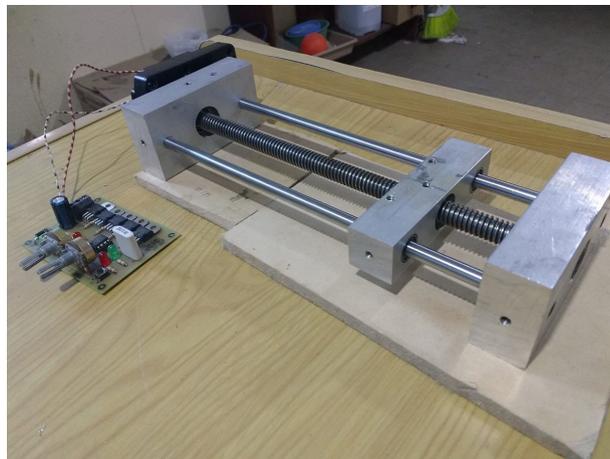


FIGURA 4.39: Ensamble completo del dosificador

## 4.4. Obtención de algas microscópicas

### 4.4.1. Obtención de muestra

La obtención de las microalgas, se llevo a cabo por muestreo del canal pluvial de la ciudad de Pachuca de Soto Hidalgo, entre las salidas de la calle De San Juan y Prolongación Calle 4 en la colonia Ampliación Santa Julia (20.106174, -98.759503). Se uso un recipiente de plástico de 1 L y una cuerda de 3 metros de largo. Una vez colectada, el agua se pasa a una botella de plástico, con el objeto de evitar la evaporación excesiva del agua. El lugar del muestreo, presenta encharcamiento debido a la ausencia de precipitación en días previos. La figura 4.40 indica el lugar del muestreo.

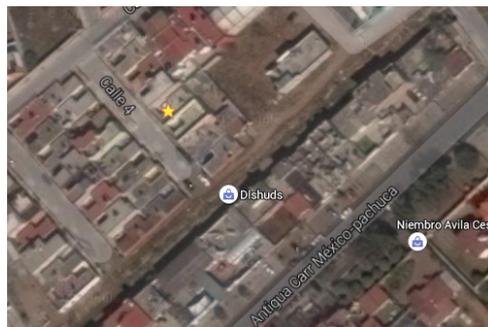


FIGURA 4.40: Lugar del muestreo

### 4.4.2. Evaluación microscópica y medición

La evaluación se llevo a cabo con un microscopio óptico de campo claro utilizando un objetivo de 40x y oculares de 10x, para obtener un aumento total de 400x. Previo a la observación de las muestras, se coloco la cámara para observar el estado de la retícula, en la figura 4.41 se muestra la cuadrícula de 16 cuadrados de 50  $\mu\text{m}$  por lado. Se colocaron 15  $\mu\text{L}$  de la muestra con ayuda de una micropipeta en la cámara de Neubauer. Se llevaron a cabo 5 observaciones diferentes, con el objeto de identificar microalgas de diferente morfología y tamaño. Se identificaron al menos 4 especies diferentes de microalgas, de acuerdo a sus diferencias morfológicas. Es necesario llevar a cabo mediciones posteriores con portaobjetos reticulados con una escala menor. La muestra colectada presenta algas de un tamaño menor al propuesto, por lo que se tiene que llevar a cabo una modificación a los parámetros propuestos en la simulación numérica. Las figuras 4.42 y 4.43 presentan las células dentro de la cámara de Neubauer.



FIGURA 4.41: Cuadrados de  $50 \mu\text{m}$  sobre la cámara de Neubauer

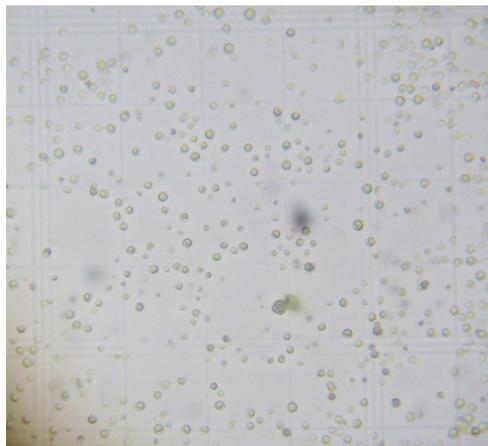


FIGURA 4.42: Muestra con algas microscópicas a 40x

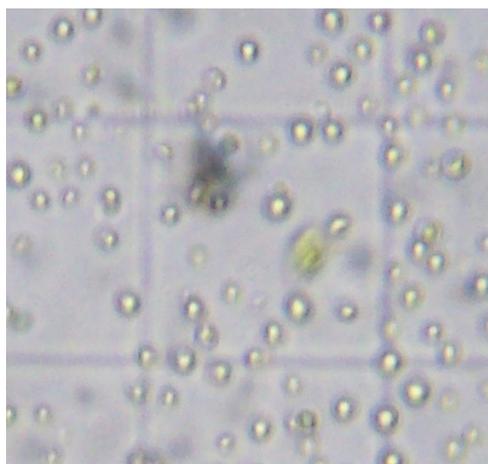


FIGURA 4.43: Acercamiento de la muestra a 40x

## 4.5. Implementación de microfluídica digital

El grabado de las placas resulto satisfactorio, ya que las tarjetas de circuito impreso quedaron con pocos defectos. El ensamble no requirió ningún proceso especial, y todo fue hecho utilizando una estación de soldadura marca Weller de 40W. La figura 4.44 muestra las placas después del proceso de estañado químico, y la figura 4.45, las placas terminadas.

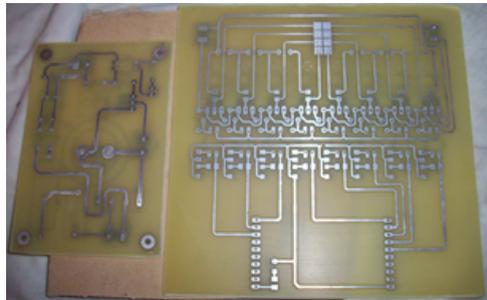


FIGURA 4.44: Tarjetas de circuito impreso terminadas

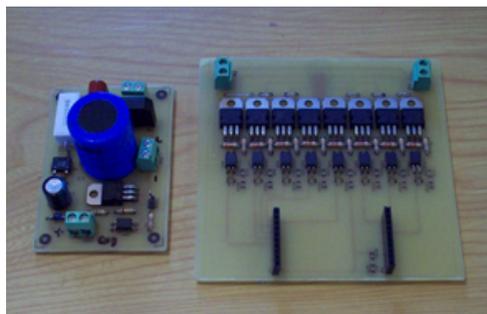


FIGURA 4.45: Tarjetas ensambladas

Para la fuente de alimentación, se obtuvieron los valores de voltaje presentados en la tabla 4.2. Podemos observar que el valor de salida, se encuentra dentro de un rango aceptable, ya que es mayor a los 200V mencionados por Li et al. 2014.

Parametro	Valor
Voltaje de alimentación	127 V AC
Voltaje de salida de transformador	232 V AC
Voltaje de salida rectificado	318 V DC

TABLA 4.2: Parámetros de fuente de Alto voltaje

El transformador usado para elevar el voltaje, fue reciclado de un equipo industrial, y tiene la ventaja de contar con fusibles a la entrada y salida de voltaje. La figura 4.46 muestra el montaje

del transformador y la fuente. Al hacer las mediciones con el osciloscopio, se verificó que la salida de voltaje de la fuente no presentó rizado.

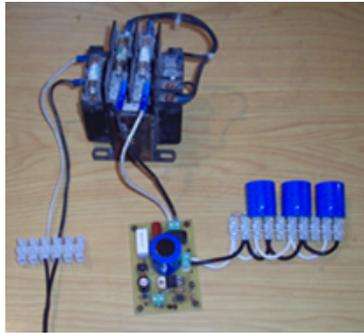


FIGURA 4.46: Tarjetas de circuito impreso terminadas

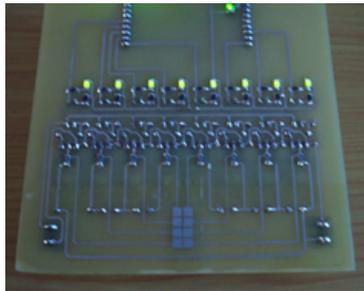


FIGURA 4.47: Prueba de sistema de control

Las pruebas a la tarjeta de control mostraron un error al momento de trazar las pistas, ya que los pines de alimentación de conectados a la tarjeta de desarrollo estaban invertidos. Este error que corregido y se verificó el funcionamiento de cada una de las salidas conectadas a los electrodos. La figura 4.47 muestra la tarjeta con los 8 leds encendidos durante la prueba de funcionamiento de esta etapa. Una vez verificado el funcionamiento de cada etapa, se procedió a verificar el funcionamiento del dispositivo con las rutinas programadas. La capa formada por el Rain-X® favoreció la hidrofobicidad de la capa aislante, ya que los líquidos colocados sobre esta capa muestran un comportamiento diferente al momento de la aplicación con una jeringa. La figura 4.48, muestra las gotas de colorante sobre la superficie de manipulación.

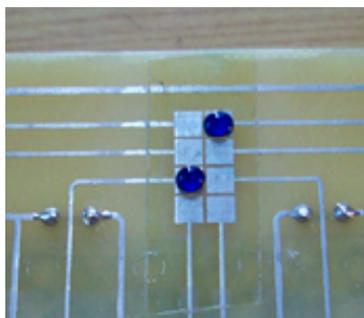


FIGURA 4.48: Prueba de sistema DMF

# Capítulo 5

## Conclusiones y recomendaciones

El desarrollo y fabricación de sistemas microfluídicos requiere una gran inversión económica y de infraestructura, sin embargo debido al gran potencial que nos ofrece esta tecnología, se han desarrollado técnicas de bajo costo para la fabricación de chip microfluídicos. Lo anterior con el objeto de acercar estas metodologías a laboratorios con poca infraestructura o que van comenzando a desarrollar aplicaciones de esta naturaleza. Este trabajo ha logrado implementar con una inversión mínima, diferentes elementos y técnicas para desarrollar aplicaciones microfluídicas en un laboratorio con infraestructura básica. Aunque la metodología propuesta inicialmente para la fabricación de moldes para chips de PDMS no se logró implementar, fue posible fabricar un sistema microfluídico satisfactoriamente, usando un acetato impreso con tóner. Otro acierto ha sido el desarrollo de un dosificador completo, para inyectar los compuestos o soluciones dentro de los chips microfluídicos, logrando un gran ahorro si se compara con un equipo comercial, que nuevo puede costar entre \$300 y \$600 dolares. La simulación numérica como la implementada con Ansys-Fluent, es una herramienta con gran potencial, ya que puede acercarnos a un resultado casi real, sin embargo el costo de las licencia para este tipo de software, lo hace inalcanzable para diferentes empresas e instituciones educativas. Una solución a lo anterior puede ser el uso de software libre como OpenFoam, el cual poco a poco va ganando presencia en las publicaciones técnicas y científicas. Otro acierto de este trabajo es el desarrollo de una placa electrónica para aplicaciones en microfluídica digital, sin embargo en trabajos futuros se debe considerar el aplicar esta tecnología para poder movilizar el flujo de reactivos y/o células a través de los microcanales sin la necesidad de un sistema de bombeo externo. Aunque no se logro la separación de las células como se planteo al principio debido a la limitación de ciertos reactivos y materiales, se ha creado una base sólida que permitirá desarrollar chips microfluídicos para diferentes aplicaciones en trabajos futuros.

# Bibliografía

- [1] Chad I. Rogers Pamela N. Nge and Adam T. Woolley. Advances in microfluidic materials, functions, integration, and applications. *Chemical Reviews*, 113:2550–2583, 2013.
- [2] Kihwan Choi, Alphonsus H.C. Ng, Ryan Fobel, and Aaron R. Wheeler. Digital microfluidics. *Annual Review of Analytical Chemistry*, 5(1):413–440, 2012.
- [3] David Erickson. Towards numerical prototyping of labs-on-chip: modeling for integrated microfluidic devices. *Microfluidics and Nanofluidics*, 1(4):301–318, 2005.
- [4] José Luis Cebrián-Carretero, Rocio Sánchez-Burgos, Maria Teresa Carrascal-Morillo, Germán Vincent-Fraile, Fernando Ortiz de Artiñano, and Miguel Burgueño-Garcia. Comparación biomecánica entre los sistemas convencionales y uni-lock en osteosíntesis del ángulo mandibular. estudio fotoelástico. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*, 34(1): 1–7, 2012.
- [5] Lapizco E.B.H. Aplicaciones de microfluídica en bioseparaciones. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 7:205–214, 2008.
- [6] Leslie Y. Yeo, Hsueh-Chia Chang, Peggy P. Y. Chan, and James R. Friend. Microfluidic devices for bioapplications. *Small*, 7(1):12–48, 2011.
- [7] Douglas B Weibel and George M Whitesides. Applications of microfluidics in chemical biology. *Current Opinion in Chemical Biology*, 10(6):584 – 591, 2006.
- [8] George M Whitesides. The origins and the future of microfluidics. *Nature*, 442(7101):368 – 373, 2006.
- [9] S.C. Terry, J.H. Jerman, and J.B. Angell. A gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer. *Electron Devices, IEEE Transactions on*, 26(12):1880–1886, Dec 1979.
- [10] S.J. Trietsch, T. Hankemeier, and H.J. van der Linden. Lab-on-a-chip technologies for massive parallel data generation in the life sciences: A review. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 108(1):64 – 75, 2011. Analytical Platforms for Providing and Handling Massive Chemical Data.

- [11] Wendell Karlos Tomazelli Coltro, Chao-Min Cheng, Emanuel Carrilho, and Dosil Pereira de Jesus. Recent advances in low-cost microfluidic platforms for diagnostic applications. *Electrophoresis*, 35(16):2309–2324, 2014.
- [12] Stefan H. Holm, Jason P. Beech, Michael P. Barrett, and Jonas O. Tegenfeldt. Separation of parasites from human blood using deterministic lateral displacement. *Lab Chip*, 11: 1326–1332, 2011.
- [13] Nam-Trung Nguyen, Seyed Ali Mousavi Shaegh, Navid Kashaninejad, and Dinh-Tuan Phan. Design, fabrication and characterization of drug delivery systems based on lab-on-a-chip technology. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(11–12):1403 – 1419, 2013.
- [14] David J. Beebe, Donald E. Ingber, and Jaap den Toonder. Organs on chips 2013. *Lab Chip*, 13:3447–3448, 2013.
- [15] Kyoung G. Lee, Tae Jae Lee, Soon Woo Jeong, Ho Woon Choi, Nam Su Heo, Jung Youn Park, Tae Jung Park, and Seok Jae Lee. Development of a plastic-based microfluidic immunosensor chip for detection of h1n1 influenza. *Sensors*, 12(8):10810–10819, 2012.
- [16] Helen Bridle, Brian Miller, and Marc P.Y. Desmulliez. Application of microfluidics in waterborne pathogen monitoring: A review. *Water Research*, 55(0):256 – 271, 2014.
- [17] Yiwei Li, Xinghua Yan, Xiaojun Feng, Jie Wang, Wei Du, Yachao Wang, Peng Chen, Liang Xiong, and Bi-Feng Liu. Agarose-based microfluidic device for point-of-care concentration and detection of pathogen. *Analytical Chemistry*, 86(21):10653–10659, 2014.
- [18] Jane Yuqian Zhang, Madhumita Mahalanabis, Lena Liu, Jessie Chang, Nira R. Pollock, and Catherine M. Klapperich. A disposable microfluidic virus concentration device based on evaporation and interfacial tension. *Diagnostics*, 3(1):155–169, 2013.
- [19] Abkar Ahmed Sayad, Fatimah Ibrahim, Shah Mukim Uddin, Koh Xiu Pei, Mas S. Mohktar, Marc Madou, and Kwai Lin Thong. A microfluidic lab-on-a-disc integrated loop mediated isothermal amplification for foodborne pathogen detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 227:600 – 609, 2016. ISSN 0925-4005.
- [20] Craig Watson Francesco Piraino, Francesca Volpetti and Sebastian J. Maerkl. A digital-analog microfluidic platform for patient-centric multiplexed biomarker diagnostics of ultralow volume samples. *ACS Nano*, 10:1699–1710, 2016.
- [21] Andy Tay, Andrea Pavesi, Saeed Rismani Yazdi, Chwee Teck Lim, and Majid Ebrahimi Warkiani. Advances in microfluidics in combating infectious diseases. *Biotechnology Advances*, 34(4):404 – 421, 2016. ISSN 0734-9750.

- [22] Sofia Nahavandi, Sara Baratchi, Rebecca Soffe, Shi-Yang Tang, Saeid Nahavandi, Arnan Mitchell, and Khashayar Khoshmanesh. Microfluidic platforms for biomarker analysis. *Lab Chip*, 14:1496–1514, 2014.
- [23] Sandro Cesaro-Tadic, Gregor Dernick, David Juncker, Gerrit Buurman, Harald Kropshofer, Bruno Michel, Christof Fattinger, and Emmanuel Delamarche. High-sensitivity miniaturized immunoassays for tumor necrosis factor [small alpha] using microfluidic systems. *Lab Chip*, 4:563–569, 2004.
- [24] U. Eletxigerra, J. Martinez-Perdiguero, and S. Merino. Disposable microfluidic immunobiochip for rapid electrochemical detection of tumor necrosis factor alpha biomarker. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 221:1406 – 1411, 2015. ISSN 0925-4005.
- [25] Xiaole Mao and Tony Jun Huang. Exploiting mechanical biomarkers in microfluidics. *Lab Chip*, 12:4006–4009, 2012.
- [26] R.E. Sósol-Fernández, V.M. Marín-Lizárraga, E. Rosales-Cruzaley, and B.H. Lapizco-Encinas. Análisis de células en dispositivos microfluídicos. *Revista Mexicana Ingeniería Química*, 11:227–248, 2012.
- [27] Tsung-Feng Wu, Zhe Mei, and Yu-Hwa Lo. Optofluidic device for label-free cell classification from whole blood. *Lab Chip*, 12:3791–3797, 2012.
- [28] Quan Guo, Sarah J. Reiling, Petra Rohrbach, and Hongshen Ma. Microfluidic biomechanical assay for red blood cells parasitized by plasmodium falciparum. *Lab Chip*, 12:1143–1150, 2012.
- [29] Nupura S. Bhise, Joao Ribas, Vijayan Manoharan, Yu Shrike Zhang, Alessandro Polini, Solange Massa, Mehmet R. Dokmeci, and Ali Khademhosseini. Organ-on-a-chip platforms for studying drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, 190:82 – 93, 2014. ISSN 0168-3659. 30th Anniversary Special Issue.
- [30] Alphonsus H.C. Ng, Bingyu Betty Li, M. Dean Chamberlain, and Aaron R. Wheeler. Digital microfluidic cell culture. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 17(1):91–112, 2015.
- [31] Christopher Moraes, Joseph M. Labuz, Brendan M. Leung, Mayumi Inoue, Tae-Hwa Chun, and Shuichi Takayama. On being the right size: scaling effects in designing a human-on-a-chip. *Integr. Biol.*, 5:1149–1161, 2013.
- [32] Han Wei Hou, Ali Asgar S. Bhagat, Wong Cheng Lee, Sha Huang, Jongyoon Han, and Chwee Teck Lim. Microfluidic devices for blood fractionation. *Micromachines*, 2(3):319–343, 2011. ISSN 2072-666X.

- [33] Elodie Sollier, Hervé Rostaing, Patrick Pouteau, Yves Fouillet, and Jean-Luc Achard. Passive microfluidic devices for plasma extraction from whole human blood. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 141(2):617 – 624, 2009. ISSN 0925-4005.
- [34] Yuta Nakashima, Sakiko Hata, and Takashi Yasuda. Blood plasma separation and extraction from a minute amount of blood using dielectrophoretic and capillary forces. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 145(1):561 – 569, 2010. ISSN 0925-4005.
- [35] Robert Gross Frederic D. Bushman Paul H. Edelstein Ronald G. Collman Changchun Liu, Michael Mauk and Haim H. Bau. Membrane-based, sedimentation-assisted plasma separator for point-of-care applications. *Anal. Chem.*, 85:10463–10470, 2013.
- [36] Xiaoxi Yang, Omid Forouzan, Theodore P. Brown, and Sergey S. Shevkoplyas. Integrated separation of blood plasma from whole blood for microfluidic paper-based analytical devices. *Lab Chip*, 12:274–280, 2012.
- [37] Xiaoxi Yang, Nathaniel Z. Piety, Seth M. Vignes, Melody S. Benton, Julie Kanter, and Sergey S. Shevkoplyas. Simple paper-based test for measuring blood hemoglobin concentration in resource-limited settings. *Clinical Chemistry*, 59(10):1506 –1513, 2013. ISSN 0009-9147.
- [38] Quan Guo, Simon P. Duffy, Kerry Matthews, Aline T. Santoso, Mark D. Scott, and Hongshen Ma. Microfluidic analysis of red blood cell deformability. *Journal of Biomechanics*, 47(8):1767 – 1776, 2014. ISSN 0021-9290.
- [39] Mattias Bjornmalm, Yan Yan, and Frank Caruso. Engineering and evaluating drug delivery particles in microfluidic devices. *Journal of Controlled Release*, 190:139 – 149, 2014. ISSN 0168-3659. 30th Anniversary Special Issue.
- [40] Rong Tong Michinao Hashimoto and Daniel S. Kohane. Microdevices for nanomedicine. *Mol. Pharmaceutics*, 10:2127–2144, 2013.
- [41] Reza Riahi, Ali Tamayol, Seyed Ali Mousavi Shaegh, Amir M Ghaemmaghami, Mehmet R Dokmeci, and Ali Khademhosseini. Microfluidics for advanced drug delivery systems. *Current Opinion in Chemical Engineering*, 7:101 – 112, 2015. ISSN 2211-3398.
- [42] Francisco G. Ortega, Martin A. Fernández-Baldo, María J. Serrano, Germán A. Messina, José A. Lorente, and Julio Raba. Epithelial cancer biomarker epcam determination in peripheral blood samples using a microfluidic immunosensor based in silver nanoparticles as platform. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 221:248 – 256, 2015. ISSN 0925-4005.
- [43] Yueyi Jiao Seval Oren Zhen Xu Ashutosh Sharma Md. Azahar Ali, Kunal Mondal and Liang Dong. Microfluidic immuno-biochip for detection of breast cancer biomarkers using

- hierarchical composite of porous graphene and titanium dioxide nanofibers. *Appl. Mater. Interfaces*, 8:20570–20582, 2016.
- [44] Srdjan S. Aćimović, Maria A. Ortega, Vanesa Sanz, Johann Berthelot, Jose L. Garcia-Cordero, Jan Renger, Sebastian J. Maerkl, Mark P. Kreuzer, and Romain Quidant. Lspr chip for parallel, rapid, and sensitive detection of cancer markers in serum. *Nano Letters*, 14(5):2636–2641, 2014.
- [45] Shannon E. Weigum, Pierre N. Floriano, Nicolaos Christodoulides, and John T. McDevitt. Cell-based sensor for analysis of egfr biomarker expression in oral cancer. *Lab Chip*, 7: 995–1003, 2007.
- [46] Jose L. Garcia-Cordero and Sebastian J. Maerkl. A 1024-sample serum analyzer chip for cancer diagnostics. *Lab Chip*, 14:2642–2650, 2014.
- [47] Weiyi Qian, Yan Zhang, and Weiqiang Chen. Capturing cancer: Emerging microfluidic technologies for the capture and characterization of circulating tumor cells. *Small*, 11(32): 3850–3872, 2015. ISSN 1613-6829.
- [48] Elan Shlomo Diamond, Guang Yu Lee, Naveed Hassan Akhtar, Brian Kirby, Paraskevi Giannakakou, Scott T Tagawa, and David Nanus. Isolation and characterization of circulating tumor cells in prostate cancer. *Frontiers in Oncology*, 2(131):1–11, 2012. ISSN 2234-943X.
- [49] Fernando Javier Arévalo, Germán Alejandro Messina, Patricia Gabriela Molina, María Alicia Zón, Julio Raba, and Héctor Fernández. Determination of progesterone (p4) from bovine serum samples using a microfluidic immunosensor system. *Talanta*, 80(5):1986 – 1992, 2010.
- [50] Brian C. Heinze, Jae-Young Song, Chang-Hee Lee, Anbar Najam, and Jeong-Yeol Yoon. Microfluidic immunosensor for rapid and sensitive detection of bovine viral diarrhea virus. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 138(2):491 – 496, 2009.
- [51] Jose L. Garcia-Cordero, Louise M. Barrett, Richard O’Kennedy, and Antonio J. Ricco. Microfluidic sedimentation cytometer for milk quality and bovine mastitis monitoring. *Biomedical Microdevices*, 12(6):1051–1059, 2010.
- [52] Wen-Hsin Chang, Sung-Yi Yang, Chih-Hung Wang, Ming-An Tsai, Pei-Chi Wang, Tzong-Yueh Chen, Shih-Chu Chen, and Gwo-Bin Lee. Rapid isolation and detection of aquaculture pathogens in an integrated microfluidic system using loop-mediated isothermal amplification. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 180(0):96 – 106, 2013.

- [53] Sandra Julich, Marko Riedel, Mark Kielpinski, Matthias Urban, Robert Kretschmer, Stefan Wagner, Wolfgang Fritzsche, Thomas Henkel, Robert Möller, and Sabine Werres. Development of a lab-on-a-chip device for diagnosis of plant pathogens. *Biosensors and Bioelectronics*, 26(10):4070 – 4075, 2011.
- [54] A. Sanati Nezhad. Microfluidic platforms for plant cells studies. *Lab Chip*, 14:3262–3274, 2014.
- [55] Suresh Neethirajan, Isao Kobayashi, Mitsutoshi Nakajima, Dan Wu, Saravanan Nandagopal, and Francis Lin. Microfluidics for food, agriculture and biosystems industries. *Lab Chip*, 11:1574–1586, 2011.
- [56] Masaya Miyazaki, Takeshi Honda, Hiroshi Yamaguchi, Maria Portia P. Briones, and Hideaki Maeda. Enzymatic processing in microfluidic reactors. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 25(1):405–428, 2008.
- [57] Goran T. Vladislavljević, Nauman Khalid, Marcos A. Neves, Takashi Kuroiwa, Mitsutoshi Nakajima, Kunihiko Uemura, Sosaku Ichikawa, and Isao Kobayashi. Industrial lab-on-a-chip: Design, applications and scale-up for drug discovery and delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65(11–12):1626 – 1663, 2013.
- [58] Rustem F. Ismagilov Liang Li. Protein crystallization using microfluidic technologies based on valves, droplets, and slipchip. *Annual Review of Biophysics*, 39:139–158, 2010.
- [59] Yu-Luen Deng, Jo-Shu Chang, and Yi-Je Juang. Separation of microalgae with different lipid contents by dielectrophoresis. *Bioresource Technology*, 135(0):137 – 141, 2013. Bio-refineries.
- [60] Jana C. Jokerst, Jason M. Emory, and Charles S. Henry. Advances in microfluidics for environmental analysis. *Analyst*, 137:24–34, 2012.
- [61] Leanne Marle and Gillian M. Greenway. Microfluidic devices for environmental monitoring. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 24(9):795 – 802, 2005.
- [62] Christina M. McGraw, Shannon E. Stitzel, John Cleary, Conor Slater, and Dermot Diamond. Autonomous microfluidic system for phosphate detection. *Talanta*, 71(3):1180 – 1185, 2007.
- [63] Mariana Medina-Sánchez, Carmen C. Mayorga-Martinez, Takeshi Watanabe, Tribidasari A. Ivandini, Yuki Honda, Flavio Pino, Kazuya Nakata, Akira Fujishima, Yasuaki Einaga, and Arben Merkoci. Microfluidic platform for environmental contaminants sensing and degradation based on boron-doped diamond electrodes. *Biosensors and Bioelectronics*, 75: 365–374, 2016. ISSN 0956-5663.

- [64] Susmita Das and Vimal Chandra Srivastava. Microfluidic-based photocatalytic microreactor for environmental application: a review of fabrication substrates and techniques, and operating parameters. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 15:714–730, 2016.
- [65] Kangning Ren, Jianhua Zhou, and Hongkai Wu. Materials for microfluidic chip fabrication. *Account of Chemical Research*, 46(11):2396–2406, 2013.
- [66] Holger Becker and Laurie E. Locascio. Polymer microfluidic devices. *Talanta*, 56(2):267 – 287, 2002.
- [67] Daniel Buenger, Fuat Topuz, and Juergen Groll. Hydrogels in sensing applications. *Progress in Polymer Science*, 37(12):1678 – 1719, 2012.
- [68] Kangning Ren, Yin Chen, and Hongkai Wu. New materials for microfluidics in biology. *Current Opinion in Biotechnology*, 25(0):78 – 85, 2014. Analytical biotechnology.
- [69] Devi D. Liana, Burkhard Raguse, J. Justin Gooding, and Edith Chow. Recent advances in paper-based sensors. *Sensors*, 12(9):11505–11526, 2012.
- [70] Jaephil Do, Jane Y. Zhang, and Catherine M. Klapperich. Maskless writing of microfluidics: Rapid prototyping of 3d microfluidics using scratch on a polymer substrate. *Robotics and Computer-Integrated Manufacturing*, 27(2):245 – 248, 2011.
- [71] Gina S. Fiorini and Daniel T. Chiu. Disposable microfluidic devices: fabrication, function, and application. *BioTechniques*, 38(3):429–446, 2005.
- [72] Po Ki Yuen and Vasiliy N. Goral. Low-cost rapid prototyping of flexible microfluidic devices using a desktop digital craft cutter. *Lab Chip*, 10:384–387, 2010.
- [73] Khan Malek and Chantal G. Laser processing for bio-microfluidics applications (part i). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(8):1351–1361, 2006. ISSN 1618-2642. doi: 10.1007/s00216-006-0514-2.
- [74] Khan Malek and Chantal G. Laser processing for bio-microfluidics applications (part ii). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385(8):1362–1369, 2006.
- [75] John Waynelovich, Abtin Sepehri, Beejal Mehta, Sam Kassegne, and A. Khosla. Low cost uv laser direct write photolithography system for rapid prototyping of microsystems. In *PRIME 2012*, 2012.
- [76] Stephanie Knowlton, Chu Hsiang Yu, Fulya Ersoy, Sharareh Emadi, Ali Khademhosseini, and Savas Tasoglu. 3d-printed microfluidic chips with patterned, cell-laden hydrogel constructs. *Biofabrication*, 8(2):025019, 2016.

- [77] Chee Meng Benjamin Ho, Sum Huan Ng, King Ho Holden Li, and Yong-Jin Yoon. 3d printed microfluidics for biological applications. *Lab Chip*, 15:3627–3637, 2015.
- [78] Alireza Ahmadian Yazdi, Adam Popma, William Wong, Tammy Nguyen, Yayue Pan, and Jie Xu. 3d printing: an emerging tool for novel microfluidics and lab-on-a-chip applications. *Microfluidics and Nanofluidics*, 20(3):50, 2016. ISSN 1613-4990.
- [79] Yong He, Jingjiang Qiu, Jianzhong Fu, Jiong Zhang, Yina Ren, and An Liu. Printing 3d microfluidic chips with a 3d sugar printer. *Microfluidics and Nanofluidics*, 19(2):447–456, 2015. ISSN 1613-4990.
- [80] Minsoung Rhee and Mark A. Burns. Microfluidic assembly blocks. *Lab Chip*, 8:1365–1373, 2008.
- [81] Thomas Glatzel, Christian Litterst, Claudio Cupelli, Timo Lindemann, Christian Moosmann, Remigius Niekrawietz, Wolfgang Streule, Roland Zengerle, and Peter Koltay. Computational fluid dynamics (cfd) software tools for microfluidic applications – a case study. *Computers & Fluids*, 37(3):218 – 235, 2008.
- [82] Yunus A. Cengel and John M. Cimbala. *Mecánica de fluidos Fundamentos y aplicaciones*. McGraw Hill, segunda edición edition, 2012.
- [83] Pere Casan-Clarà Ana Fernández-Tena. Aplicaciones de la dinámica de fluidos computacional a la neumología. *Arch Bronconeumol*, 51(6):293–298, 2015.
- [84] C. Anandharamakrishnan. *Computational Fluid Dynamics Applications in Food Processing*. Springer-Verlag New York, 2013.
- [85] R.J. Townsend, M. Hill, N.R. Harris, N.M. White, S.P. Beeby, and R.J.K. Wood. Fluid modelling of microfluidic separator channels. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 111–112 (0):455 – 462, 2005. Eurosensors {XVIII} 2004 The 18th European Conference on Solid-State Transducers.
- [86] Jonathan Siegrist, Mary Amasia, Navdeep Singh, Debjyoti Banerjee, and Marc Madou. Numerical modeling and experimental validation of uniform microchamber filling in centrifugal microfluidics. *Lab Chip*, 10:876–886, 2010.
- [87] Nicheng Chen, Jizhou Wu, Hanmei Jiang, and Lichun Dong. Cfd simulation of droplet formation in a wide-type microfluidic t-junction. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 33(11):1635–1641, 2012.
- [88] Manguo Huang, Shangchun Fan, Weiwei Xing, and Changting Liu. Microfluidic cell culture system studies and computational fluid dynamics. *Mathematical and Computer Modelling*, 52(11–12):2036 – 2042, 2010. ISSN 0895-7177. The BIC-TA 2009 Special Issue International Conference on Bio-Inspired Computing: Theory and Applications.

- [89] Joseph O'Connor, Philip Day, Parthasarathi Mandal, and Alistair Revell. Computational fluid dynamics in the microcirculation and microfluidics: what role can the lattice boltzmann method play? *Integr. Biol.*, 8:589–602, 2016.
- [90] Gilbert W. Castellan. *Fisicoquímica*. Fondo Educativo Interamericano, segunda edición edition, 1986.
- [91] Ansys Inc. Validation of filtered two-fluid models for gasparticle flows in bubbling fluidized beds. 2014. URL <http://www.ansys.org/staticassets/ANSYS/staticassets/resourcelibrary/presentation/brazil-2014ugm-validation-of-filtered-two-fluid-models-for-gasparticle.pdf>.
- [92] Marco Andrés Guevara Luna. Diseño de un equipo de recuperación de líquidos de gas natural empleando cfd. Master's thesis, Universidad Nacional de Colombia, 2015.
- [93] Masahiro Yasuda Junya Takagi, Masumi Yamada and Minoru Seki. Continuous particle separation in a microchannel having asymmetrically arranged multiple branches. *Lab Chip*, 5:778–784, 2005.
- [94] Megumi Nakashima Masumi Yamada and Minoru Seki. Pinched flow fractionation: Continuous size separation of particles utilizing a laminar flow profile in a pinched microchannel. *Analytical Chemistry*, 76:5465–5471, 2004.
- [95] AliAsgarS. Bhagat, Hansen Bow, HanWei Hou, SweeJin Tan, Jongyoon Han, and ChweeTeck Lim. Microfluidics for cell separation. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 48(10):999–1014, 2010.
- [96] Xing Chen, Da Fu Cui, Chang Chun Liu, and Hui Li. Microfluidic chip for blood cell separation and collection based on crossflow filtration. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 130(1):216 – 221, 2008. Proceedings of the Eleventh International Meeting on Chemical Sensors IMCS-11.
- [97] URL <https://ocw.mit.edu/courses/electrical-engineering-and-computer-science/6-s079-nanomaker-spring-2013/>.