

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño



**GENERACIÓN DE DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO *IN SILICO* Y
EXPERIMENTAL PARA LA OBTENCIÓN DE MICROGOTAS**

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO

DE

BIOINGENIERO

PRESENTA:

JONATHAN KENETH RODRÍGUEZ BERNAL

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO

2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO

GENERACIÓN DE DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS *IN SILICO* Y EXPERIMENTAL
PARA LA OBTENCIÓN DE MICROGOTAS

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIOINGENIERO

PRESENTA:

JONATHAN KENETH RODRÍGUEZ BERNAL

Aprobada por:



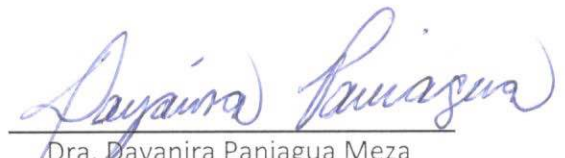
Dr. Víctor Ruíz Cortés
Director



Dr. David Cervantes Vásquez
Co-Director



Dra. Dora Luz Flores Gutiérrez
Sinodal



Dra. Dayanira Paniagua Meza
Sinodal



Dr. Franklin Muñoz Muñoz
Sinodal

Resumen

De la tesis que presenta **Jonathan Keneth Rodríguez Bernal** como requisito para la obtención del título de **BIOINGENIERO**. Ensenada, Baja California, Diciembre del 2022

GENERACIÓN DE DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS *IN SILICO* Y EXPERIMENTAL PARA LA OBTENCIÓN DE MICROGOTAS

Resumen aprobado por:



Dr. Victor Ruiz Cortés

Director



Dr. David Cervantes Vásquez

Codirector

Los sistemas “Lab-on-a-chip” son sistemas novedosos que prometen la optimización de recursos y el aumento de la productividad de sistemas macros a través de su replicación a micro y nano-escalas. Estos sistemas engloban múltiples áreas disciplinarias, tales como micro y nano fabricación, micro y nano fluidos, micro y nano sistemas, microfluídica, etc. Sus enfoques en el área microfluídica, han aportado grandes avances para la optimización de los sistemas basados en la interacción fluido-fluido y fluido-sólido. Así mismo, su uso en simulaciones numéricas como método de validación previo a su implementación, figura como una doble ventaja de funcionalidad y ahorro de recursos. El presente proyecto de tesis tiene como objetivo el diseñar e implementar un sistema microfluídico generador de microgotas de agua en aceite mineral mediante el uso de métodos computacionales y experimentales con el propósito de optimizar la producción de microgotas con las características deseadas. Para ello, se elaboraron dos diseños microfluidicos, uno tipo “Cruz” y otro tipo “Y” a través del uso de dos herramientas de diseño asistido por computadora, SolidWorks y CorelDraw. Se generaron dos modelos computacionales para cada diseño mediante el uso de la herramienta de simulación numérica “COMSOL Multiphysics”, posteriormente se fabricaron dos dispositivos microfluídicos con los diseños tipo “Cruz” y tipo “Y” utilizando la fotolitografía como método de microfabricación. Los resultados obtenidos en las simulaciones numéricas y en los experimentos realizados en el laboratorio mostraron una relación entre la geometría del dispositivo y su capacidad de formar microgotas. Así mismo, se encontró que el modelo tipo cruz presentó una tendencia lineal entre la velocidad de entrada del agua destilada y la tasa de formación de

microgotas evidenciando una proporción entre velocidad y la tasa de producción de microgotas. Adicionalmente, se encontró que la relación entre velocidades de los fluidos debe ser mayor a tres para producir microgotas. Los resultados obtenidos en ambos métodos sugieren que tanto la geometría de los dispositivos y la velocidad y/o flujo de los fluidos son factores clave para producir microgotas funcionales.

Palabras Clave: Microfluídica, microgotas, tasa de producción de microgotas, diseño tipo “Cruz”, diseño tipo “Y”.

Abstract

From the thesis of **Jonathan Keneth Rodríguez Bernal**, presented as a requirement to get the **BIOENGINEER** title. Ensenada, Baja California. November 2022

Abstract Approved by:



Dr. Victor Ruiz Cortés

Advisor



Dr. David Cervantes Vásquez

Co-Advisor

The novel “Lab-on-a-chip” systems are systems that promise the optimization of the resources and the increase of the productivity of macro systems through their replication to micro and nano scales. These systems include multiples disciplinary fields such as micro and nanofabrication, micro and nanofluids, micro and nanosystems, microfluidic systems, etc. Their approaches to the microfluidic field have provided great advances in the optimization of the systems based on the fluid-fluid and fluid-solute interaction. Moreover, their use in numeric simulation as a validation method before its implementation, figures as a double advantage of the functionality and sources saving. The present thesis project has aim to design and implement a microdroplet-generating microfluidic system of water in mineral oil through the use of computational and experimental methods with the purpose to optimize microdroplet production. It elaborated on a cross-microfluidic design and a Y-microfluidic design through the use of computational design assist as SolidWorks and CorelDraw. Two computational models were generated and tested for each design using the numeric simulator COMSOL Multiphysics, subsequently, using photolithography as a microfabrication method was elaborated and tested in the laboratory the cross-microfluidic and T-microfluidic devices. The numeric simulation results showed a relation between the geometry and their microdroplet production. Furthermore, it was found that the cross-design model presented a linear tendency between the distilled water inlet velocity and the microdroplet production rate. In addition, it was found that the ratio between fluid's inlet velocity should be almost three times higher to produce microdroplets. In both methods, the obtained results suggest that the geometry devices and the fluid's inlet velocity are key to producing functional microdroplets.

Keywords: Microfluidic devices, microfluidic, microdroplets, cross-microfluidic design, Y-microfluidic design.

Agradecimientos

A **Dios**, por brindarme su misericordia, bondad y amor durante todo mi trayecto estudiantil y por darme la fortaleza y resiliencia para culminar mis estudios de licenciatura a través de este proyecto de tesis.

A mi institución, la **Universidad Autónoma de Baja California (UABC)**, por proporcionar todas las herramientas necesarias para forjar mi formación profesional.

A la institución, **Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)**, por brindarme el espacio, los recursos y el apoyo para llevar a cabo este proyecto.

A mi Director, **Dr. Víctor Ruiz Cortés**, por brindarme toda su paciencia, guía, confianza, apoyo y amistad. Agradezco su generosidad y persistencia, al proporcionarme todos los recursos físicos, anímicos e intelectuales para impulsar el término de este proyecto.

A mi Co-Director, **Dr. David Cervantes Vásquez**, por brindarme todo su apoyo, amabilidad y guía durante el tiempo que curse como su estudiante y como su tesista.

A los miembros del comité, **Dra. Dora-Luz Flores Gutiérrez, Dra. Dayanira Paniagua Meza, , Dr. Franklin Muñoz Muñoz**, por brindarme su apoyo y haber formado parte de mi comité.

A el grupo de trabajo del **laboratorio de pinzas ópticas del departamento de física aplicada**, por sus consejos y su apoyo.

A mi familia y amigos, por sus sabios consejos y sus palabras de ánimo, las cuales, siempre me han impulsado a dar lo mejor.

Dedicatoria

Mi tesis la dedico con amor y cariño a **DIOS**, que a través de su bondad, su guía y su provisión, he logrado concluir mi ciclo universitario.

A mi mamá, **Norma Alicia Bernal Archuleta**, por todo el amor, el esfuerzo y el sacrificio que dio para que yo pudiera continuar y culminar con mis estudios

A mis hermanos, **Alicia Rodríguez Bernal** y **Ángel Vicente Yocupicio Bernal**, quienes siempre estuvieron ahí, apoyándome y animándome.

A mi mejor amiga, **Brisa Bañuelos Escamilla**, quien con su apoyo, cariño y palabras de ánimo, me impulsó a dar lo mejor de mí en éste proyecto

A **Aurelia Ramírez Muñoz**, quién considero un gran ejemplo de esfuerzo, dedicación y bondad, y que través de su apoyo, sus consejos, sus regaños y sus palabras de ánimo, me ayudaron a mejorar como estudiante y persona.

A mis compañeros y amigos: **Germán Berrelleza, Luis Dorado, Jesús Quijano, Madrigal Muñoz, Myrna Cárdenas, Keily del Águila, Diana Soto** quienes durante este viaje siempre fueron un gran apoyo.

A todas aquellas personas que directa o indirectamente participaron en mi formación profesional y personal.

Tabla de Contenido

Resumen	I
Abstract	III
Agradecimientos	V
Dedicatoria	VI
Lista de Figuras	3
Listado de Tablas	7
Capítulo 1	8
1. Introducción	8
1.2 Hipótesis	12
1.3 Objetivo General	12
1.3.1 Objetivos Específicos.....	12
1.4 Organización del Documento	13
Capítulo 2	14
2. Antecedentes	14
2.1 Dispositivos microfluídicos generadores de microgotas.....	14
2.2 Fabricación de Microdispositivos.....	17
2.3 Simulado computacional.....	23
Capítulo 3	28
3. Metodología	28
3.1. Diseño de los Dispositivo Microfluídico	29
3.2. Modelado y Simulación <i>in silico</i>	32
3.3. Fabricación del Sistema Microfluídico para Pruebas Experimentales	36
Capítulo 4	49
4. Resultados	49
4.1 Resultados de las simulaciones computacionales.....	49
4.1.1 Dispositivo microfluídico tipo cruz.....	49
A) Análisis del comportamiento de la velocidad, presión y distancia de separación de microgotas	49
B) Análisis de relación velocidad y tasa de formación de microgotas	56

4.1.1 Dispositivo microfluídico tipo Y.....	59
4.2. Resultados experimentales	62
Capítulo 5	71
5. Conclusiones	71
5.1 Conclusiones generales	72
5.2 Trabajo a futuro.....	73
Literatura	74

Lista de Figuras

FIGURA 1. REPRESENTACIÓN GENERAL DEL FUNCIONAMIENTO DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO (A) ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA CÚRCUMA Y EL PLGA. (B) MECANISMOS DE NANOPRECIPITACIÓN DE CÚRCUMA-PLGA. (C) REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL SISTEMA MICROFLUÍDICO UTILIZADO PARA LA SÍNTESIS DE CÚRCUMA CON PLGA. (LEUNG & SHEN, 2018).....	9
FIGURA 2. DISEÑO DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO (RECTÁNGULO EN GRIS) ENCAPSULANTE DE CÉLULAS INMUNITARIAS. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL PROCESO DISEÑADO DEL ENSAYO DE ACTIVACIÓN (YUAN ET AL., 2020, FIG. 1).....	10
FIGURA 3. MODELO VASCULAR MICROFLUÍDICO. (CHARWAT ET AL., 2018, FIG. S-1).....	11
FIGURA 4. DISPOSITIVO MICROFLUÍDICOS EN UNIÓN-T. DIBUJO DEL DISEÑO (RECUADRO IZQUIERDO) Y MICROGRAFÍA (RECUADRO DERECHO) TOMADA DEL MICROCANAL DE URETANO ACRILATO (THORSEN ET AL., 2001, FIG. 1)	15
FIGURA 5. DIAGRAMA QUE MUESTRA LOS DIFERENTES DISEÑOS DE FLUJOS TRANSVERSALES (KARIMI ET AL., 2019, FIG. 2).....	15
FIGURA 6. IMAGEN ESQUEMÁTICA (A) E IMAGEN TOMADA POR MICROSCOPIO ÓPTICO (B) DE SERIE DE UNIONES GENERADORAS DE GOTAS AGUA-ACEITE-AGUA-ACEITE (EMULSIÓN CUÁDRUPLE). IMAGEN ESQUEMÁTICA (C) E IMAGEN TOMADA POR MICROSCOPIO ÓPTICO (D) DE TRES DISPOSITIVOS TIPO “INTERSECCIÓN CRUZ” CONECTADOS ENTRE SÍ (LEE ET AL., 2016, FIG. 3)	16
FIGURA 7. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE LA FORMACIÓN DEL GRABADO CON LA IMAGEN PATRÓN EN LA FOTORRESINA (THOMPSON ET AL., 1983).....	18
FIGURA 8. MICROENGRANE CON 2-3 MICRÓMETROS DE ESPESOR CONSTRUIDO POR MICROMAQUINADO DE SUPERFICIE. IMAGEN TOMADA A TRAVÉS DE UN MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (SCME,2017).....	19
FIGURA 9. PROCESO DE CREACIÓN DEL MOLDE MAESTRO A TRAVÉS DE FOTOLITOGRAFÍA CONVENCIONAL. (MASK= MASCARILLA). PROCESO COMÚNMENTE USADO PARA LA CREACIÓN DE CIRCUITOS ELECTRÓNICOS (WHITESIDES & CHRISTOPHER LOVE, 2001).....	21
FIGURA 10. ESQUEMA DE OBTENCIÓN DEL POLÍMERO ESTAMPADO MEDIANTE LITOGRAFÍA SUAVE (WHITESIDES & CHRISTOPHER LOVE, 2001).....	21
FIGURA 11. ESQUEMATIZACIÓN DEL ANÁLISIS GEOMÉTRICO REALIZADO POR EL MÉTODO DE ELEMENTO FINITO PARA UNA PLACA ELÁSTICA (A), TUBERÍA DE VAPOR Y (B) FLUJO ALREDEDOR DE UN TUBO O TUBERÍA (MADENCI & GUVEN, 2015, FIG. 1.1).....	24
FIGURA 12. GEOMETRÍA DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO USADA PARA EL MODELADO COMPUTACIONAL: CANALES LATERALES A Y B (VERDE Y AZUL) Y CÁMARA CENTRAL (ROSA) LA CUAL ESTA LLENA DE HIDROGEL. LINEA DE REFERENCIA Y PUNTO CENTRAL EN LA MICROCÁMARA USADAS PARA LAS VARIABLES REPRESENTADAS DENTRO DEL DISPOSITIVO (BONIFACIO ET AL., 2019, FIG. 1)	25
FIGURA 13. DISEÑO GEOMÉTRICO DEL MODELO MICROFLUÍDICO PARA INMUNOENSAYOS DE SUPERFICIE. DISEÑO EN 2D (A), 3D (B) Y MALLADO EN 2D (C), (HAJJI ET AL., 2018, FIGS. 1 Y 2).....	26
FIGURA 14. (A) CONDICIONES INICIALES PARA EL MODELO EN T (FLUJO MEDIO: ACEITE, FLUJO DE RECUBRIMIENTO Y FLUJO CRUZADO: AGUA). (B) ANCHO DEL FLUJO MEDIO (W_M), FLUJO RECUBRIMIENTO (W_O) Y FLUJO CRUZADO (W_C) (LEI ET AL., 2015, FIGS. 2 Y 3).....	27
FIGURA 15. GEOMETRÍA ESQUEMÁTICA EN 3D DEL DISPOSITIVO TIPO UNIÓN T PARA EL ANÁLISIS EXPERIMENTAL Y COMPUTACIONAL	27
FIGURA 16. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA METODOLOGÍA EMPLEADA PARA LA FABRICACIÓN DE UN SISTEMA MICROFLUÍDICO.....	28
FIGURA 17. DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO CON GEOMETRÍA CIRCULAR TIPO CRUZ MODIFICADO REALIZADO A TRAVÉS DEL SOFTWARE SOLIDWORKS 2019. LA LONGITUD HORIZONTAL FUE DE 7.62 CM Y LA LONGITUD VERTICAL DE 2.54 CM.....	29
FIGURA 18. ACERCAMIENTO DEL DISPOSITIVO TIPO CRUZ. SE MUESTRAN LO ANCHO DE LOS MICROCANALES DADA EN MILÍMETROS ASÍ COMO LAS PUERTAS DE ENTRADA Y LA SALIDA DE LOS FLUIDOS.....	30

FIGURA 19. DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO CON GEOMETRÍA TIPO Y REALIZADO A TRAVÉS DEL SOFTWARE DE DISEÑO SOLIDWORKS 2019.	31
FIGURA 20. ACERCAMIENTO DEL DISEÑO CREADO PARA EL DISPOSITIVO TIPO Y. LAS DIMENSIONES DEL MICROCANAL FUERON DE 500 μ M Y EL DIÁMETRO DE CADA ENTRADA Y SALIDA DE 3 MM.	31
FIGURA 21. DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ GENERADO A TRAVÉS DEL SOFTWARE DE SIMULACIÓN "COMSOL MULTIPHYSICS 5.5".	32
FIGURA 22. DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO Y CREADO A TRAVÉS DEL SOFTWARE DE SIMULACIÓN "COMSOL MULTIPHYSICS 5.5"	33
FIGURA 23. UBICACIÓN DE LA ENTRADA DE LOS FLUIDOS EN LOS DISPOSITIVOS GENERADOS EN COMSOL. (A) DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ CON UNA ENTRADA DE AGUA DESTILADA EN EL MICROCANAL HORIZONTAL Y DOS ENTRADAS DE ACEITE MINERAL EN LOS MICROCANALES PERPENDICULARES AL FLUJO DEL AGUA. (B) DISPOSITIVO TIPO Y CON UNA ENTRADA DE AGUA DESTILADA EN EL MICROCANAL HORIZONTAL Y UNA ENTRADA DE ACEITE MINERAL EN EL MICROCANAL INCLINADO A 45°	34
FIGURA 24. DISEÑO EN 2 DIMENSIONES DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ CONVERTIDO A ARCHIVO .BMP EN BLANCO Y NEGRO OBTENIDO A TRAVÉS DEL SOFTWARE DE DISEÑO CORELDRAW CON RESOLUCIÓN DE 3840x2160 PÍXELES.....	36
FIGURA 25. DISEÑO EN 2D DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO Y CONVERTIDO A ARCHIVO .BMP EN BLANCO Y NEGRO OBTENIDO A TRAVÉS DEL SOFTWARE CORELDRAW CON RESOLUCIÓN DE 3840x2160 PÍXELES.	36
FIGURA 26. VISTA POSTERIOR A LA CÁMARA ANÁLOGA OMEGA VIEW 45 POSICIONADA EN LA UBICACIÓN ESPECÍFICA PARA CAPTURAR LA IMAGEN PROYECTADA POR EL TELEVISOR.	37
FIGURA 27. EXPOSICIÓN DEL PAPEL FOTOGRÁFICO A LA LUZ PROYECTADA DEL DISEÑO DEL DISPOSITIVO TIPO Y.	38
FIGURA 28. MASCARILLAS OBTENIDAS PARA LA FABRICACIÓN DEL MOLDE MAESTRO PARA LOS DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS. (A) MASCARILLA OBTENIDA DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ. (B) MASCARILLA OBTENIDA DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO Y.	39
FIGURA 29. FOTOGRAFÍA DE LOS MAESTROS OBTENIDOS PARA LOS DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS. (A) MAESTRO DEL DISEÑO DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO Y. (B) MAESTRO DEL DISEÑO DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ.	40
FIGURA 30. ESQUEMA GENERAL DEL PROCESO DE PREPARACIÓN Y FABRICACIÓN DEL GEL DE PDMS. (A) KIT SYLGARD UTILIZADO PARA GENERAR EL POLÍMERO DE PDMS, DEL LADO IZQUIERDO EL PREPOLÍMERO Y DEL LADO DERECHO EL CURADOR O ENDURECEDOR. (B) BALANZA ANALÍTICA UTILIZADA PARA PESAR LA CANTIDAD DE PREPOLÍMERO Y CURADOR. (C) AGITADOR CASERO Y MEZCLA DE PREPOLIMERO-CURADOR CONTENIDO EN EL INTERIOR DEL VASO COLOR AZUL. (D) CÁMARA DE VACÍO (ESTRUCTURA DE ACRÍLICO, TRANSPARENTE QUE CONTIENE EN EL INTERIOR LA MEZCLA PREPOLÍMERO-CURADOR) UTILIZADA PARA EXTRAER BURBUJAS DE AIRE. (E) MOLDE DE ALUMINIO CON COMPARTIMIENTO ESPECIAL PARA EL MAESTRO PARA DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO. (F) HORNO UTILIZADO PARA GENERAR LA REACCIÓN DE POLIMERIZACIÓN DEL PREPOLÍMERO-CURADOR CONTENIDOS EN EL MOLDE DE ALUMINIO.	42
FIGURA 31. PISTOLA DE CORONA DE PLASMA. EN LA PARTE SUPERIOR SE OBSERVA EL REGULADOR DE VOLTAJE Y CONTROLADOR. EN LA PARTE INFERIOR SE OBSERVA LA PISTOLA DE PLASMA CON ELECTRODO DE CABLE ARQUEADO.	44
FIGURA 32. ELECTRODO DE ARCO GENERANDO PLASMA OBTENIDO POR EL ALTO VOLTAJE Y LA IONIZACIÓN DEL AIRE. (A) ARCO DE PLASMA EXPUESTO AL CONTACTO CON UN MATERIAL METÁLICO. (B) ARCO DE PLASMA EXPUESTO AL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO PDMS EN PRESENCIA DE POCA LUZ.	44

FIGURA 33. LA FIGURA A-I ES LA IMAGEN DE LA PARTE SUPERIOR DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ ASÍ COMO LA FIGURA A-II ES LA PARTE ANTERIOR DEL MISMO DISPOSITIVO. LA FIGURA B-I ES LA IMAGEN DE LA PARTE SUPERIOR DEL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO Y ASI COMO LA FIGURA B-II ES LA PARTE ANTERIOR DEL MISMO. CADA DISPOSITIVO PRESENTA ORIFICIOS CREADOS CON LA FINALIDAD DE PERMITIR LA ENTRADA Y SALIDA DE LOS FLUIDOS DENTRO DE LOS SISTEMAS. (EN=ENTRADA DE FLUIDO, SA=SALIDA DE FLUIDO Y MC=MICROCANAL).....	45
FIGURA 34. MICROSCOPIO INVERTIDO NIKON ECLIPSE TI UTILIZADO PARA LA VISUALIZACIÓN DE LAS GOTAS GENERADAS POR LOS DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS.....	46
FIGURA 35. MICROBOMBA SYRINGE PUMP MULTI-PHASE NE-4000 UTILIZADA PARA IMPULSAR EL ACEITE MINERAL Y EL AGUA DESTILADA CON COLORANTE.....	47
FIGURA 36. DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO UNIÓN TIPO Y INSTALADO SOBRE LA PLATINA DEL MICROSCOPIO. CADA MANGUERA DE ENTRADA DE LOS FLUIDOS DESEMBOCA EN UNA PUNTA DE MICROPIPETA PARA FACILITAR LA ADHERENCIA DE LA MANGUERA A LOS DISPOSITIVOS.. (EN. AC= ENTRADA DE ACEITE MINERAL, EN. AR= ENTRADA DE AGUA DESTILADA CON COLORANTE ROJO Y MP=MICROPIPETA). ...	47
FIGURA 37. DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ INSTALADO SOBRE LA PLATINA DEL MICROSCOPIO. CADA MANGUERA DE ENTRADA DE LOS FLUIDOS DESEMBOCA EN UNA PUNTA DE MICROPIPETA PARA FACILITAR LA ADHERENCIA DE LA MANGUERA A LOS DISPOSITIVOS. (EN. AC= ENTRADA DE ACEITE MINERAL, EN. AR= ENTRADA DE AGUA DESTILADA CON COLORANTE ROJO Y MP=MICROPIPETA). ...	48
FIGURA 38. SIMULACIÓN DEL SISTEMA MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ A TEMPERATURA DE 20°C, VEL. ACEITE MINERAL= 5 MM/S Y VEL. AGUA= 0.5 MM/S, DE T=0 A T=1 S. (I) SE MUESTRA LA ENTRADA DE ACEITE MINERAL (COLOR ROJO) Y SU INTERACCIÓN CON EL AGUA DESTILADA (COLOR AZUL) CON DIRECCIÓN PERPENDICULAR AL FLUJO DEL ACEITE. (II) SE OBSERVA EL COMIENZO DEL CORTE DEL FLUJO DEL AGUA DESTILADA PROVOCADA POR LA INTERACCIÓN DEL ACEITE MINERAL, CREANDO LA INTERFASE AGUA-ACEITE (COLOR AMARILLO). (III) SE MUESTRA MAYOR INTERACCIÓN ENTRE LOS FLUIDOS PRODUCIENDO EL CUELLO DE LA MICROGOTA. (IV) SE OBSERVA LA FORMACIÓN DE LA MICROGOTA DE AGUA DESTILADA (AZUL OSCURO) CON UNA INTERFASE ACEITE MINERAL (VERDE-AMARILLO) QUE FLUYE EN DIRECCIÓN A LA SALIDA DEL SISTEMA.....	51
FIGURA 39. PERFIL DE VELOCIDAD CON LÍNEAS DE FLUJO DEL SISTEMA MICROFLUÍDICO.....	51
FIGURA 40. MAPA DE PRESIONES INTERNAS EN ATM DEL SISTEMA MICROFLUÍDICO. EL RECUADRO NEGRO SEÑALA LA REGIÓN DONDE LA PRESIÓN ALCANZA SUS LÍMITES MÁS BAJOS EN LA ESCALA.	52
FIGURA 41. TABLA COMPARATIVA DEL MODELO MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ A DIFERENTES TASAS DE PRODUCCIÓN DE MICROGOTAS; (A) TASA BAJA (15 MICROGOTAS POR MINUTO), (B) TASA MEDIA (210 MICROGOTAS POR MINUTO) Y TASA ALTA (360 MICROGOTAS POR MINUTO).....	55
FIGURA 42. RESULTADOS OBTENIDOS DEL DISPOSITIVO TIPO CRUZ MEDIANTE EL SIMULADO EN COMSOL. DATOS OBTENIDOS TRAS LA EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO DEL SISTEMA MICROFLUÍDICO MEDIANTE LA VARIACIÓN DE LA VELOCIDAD DEL AGUA DESTILADA CON UN LA VELOCIDAD DEL ACEITE MINERAL CONSTANTE (5 MM/S).	56
FIGURA 43. GRÁFICOS DE DISPERSIÓN. CORRELACIÓN LINEAL DE PRIMER ORDEN (I) Y CORRELACIÓN POLINOMIAL DE SEGUNDO ORDEN (II).	57
FIGURA 44. INESTABILIDAD DE RAYLEIGH-PLATEAU PRODUCIDA EN FORMA DE ONDULACIONES. GRAFICO OBTENIDO AL TERMINAR 2 SEGUNDOS DE SIMULACIÓN, SE DESPRECIÓ LA FUERZA DE GRAVEDAD, A 20°C Y CON VELOCIDADES DE ENTRADA: AGUA DESTILADA 6.3 MM/S Y ACEITE MINERAL 5 MM /s.	58

FIGURA 45. RESULTADOS OBTENIDOS DEL MODELO MICROFLUÍDICO CON GEOMETRÍA TIPO Y EN CONDICIONES DE 20°C Y TRAS TERMINAR 2 SEGUNDOS DE SIMULACIÓN, COLOR GUINDA= AGUA DESTILADA Y COLOR AZUL= ACEITE MINERAL. LA FLECHA DE COLOR AMARILLO INDICA LA DIRECCIÓN DE FLUJO DEL ACEITE MINERAL Y LA FLECHA DE COLOR BLANCO INDICA LA DIRECCIÓN DE FLUJO DEL AGUA DESTILADA.....	61
FIGURA 46. FOTOGRAFÍA DE UNA MICROGOTA FORMADA EN EL SISTEMA MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ A UNA TASA DE PRODUCCIÓN DE 2.76 MICROGOTAS/MIN.....	63
FIGURA 47. FOTOGRAFÍA DE UNA MICROGOTA FORMADA EN EL SISTEMA MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ A UNA TASA DE PRODUCCIÓN DE 0.72 MICROGOTAS/MIN.....	64

Listado de Tablas

TABLA 1. PARÁMETROS UTILIZADOS EN FUNCIÓN DE LA RELACIÓN (ACEITE MINERAL/AGUA DESTILADA) PARA LA OBTENCIÓN DE MICROGOTAS EN EL DISPOSITIVO MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ.....	50
TABLA 2. RESUMEN DE MODELOS UTILIZADOS CON ESTADÍSTICOS. PARÁMETROS OBTENIDOS CON EL SOFTWARE R.....	57
TABLA 3. RESUMEN GENERAL DE LOS PARÁMETROS UTILIZADOS EN EL MODELO DEL SISTEMA MICROFLUÍDICO CON GEOMETRÍA TIPO Y. .	59
TABLA 4. CONFIGURACIÓN DE ARREGLO DE JERINGAS Y CAUDALES UTILIZADOS EN EL SISTEMA MICROFLUÍDICO TIPO CRUZ.....	62
TABLA 5. CONJUNTO DE CONFIGURACIONES UTILIZADAS EN EL SISTEMA MICROFLUÍDICO TIPO Y.....	67

Capítulo 1

1. Introducción

Hoy en día, el uso de fármacos en la sociedad es cada vez más demandante, ya que la medicina moderna ha crecido a pasos agigantados y en el área de farmacología no ha sido la excepción. El empleo de fármacos para el tratamiento de patologías o padecimientos, ha hecho que la medicina farmacéutica sea el primer campo de acción de los médicos como tratamiento paliativo, siendo una de las razones por las cuales haya un incremento significativo en la producción de medicamentos. En la actualidad, la industria farmacéutica ha ganado más impulso y los trabajos para generar sistemas capaces de encapsular fármacos con mayor eficiencia y con una buena relación costo-calidad han permitido ampliar los horizontes en la búsqueda de nuevas alternativas que permitan resolver y optimizar los procesos de transporte y liberación de fármacos. Una de las alternativas que actualmente están innovando en tal área son los sistemas de “*Lab-on-a-Chip*”.

En un sentido amplio, un sistema “*Lab-on-a-chip*” para la mayoría de sus aplicaciones comerciales consiste de un microchip, un instrumento de control y detección, una computadora con software de control y análisis de datos y, ensayos y reactivos. Estos sistemas se basan en la generación de dispositivos a micro o nano-escalas en múltiples áreas disciplinarias tales como: micro y nano fabricación, micro y nano fluidos, micro y nano sistemas, microfluídica digital, etc. Además presentan un abanico de aplicaciones en distintas áreas, tales como áreas biológicas, químicas, médicas, ambientales y energéticas (*Lab on a Chip*, 2020). Dentro de los sistemas “*Lab-on-a-Chip*” se encuentran los sistemas microfluídicos, los cuales son sistemas que permiten la manipulación eficiente de líquidos en cantidades de micro y nano litros, a través de trayectorias con longitudes que van desde el orden de decenas a cientos de micrómetros. La manipulación de los fluidos y solutos en pequeñas cantidades posibilita la optimización de recursos, controlar las concentraciones utilizadas y generar medios de transportes adecuados.

La microfluídica juega un rol importante en el área médica-farmacéutica ya que permite controlar la interacción y el flujo de diferentes fluidos, lo que facilita su aplicación en el área farmacéutica. Con estos dispositivos se han obtenido avances en la generación de sistemas capaces de liberar fármacos de forma controlada. Las atractivas propiedades que poseen en comparación con los sistemas convencionales a escala normal, han cautivado la atención de los investigadores y como consecuencia, han sido exploradas y puestas en marcha en diferentes áreas de medicina y síntesis de materiales. Las propiedades bondadosas como la capacidad de controlar la cantidad de líquido introducido al sistema, la estructura y dimensiones, las características físicoquímicas del material estructural y la capacidad de transferir masa y

calor, son algunas de las características y aspectos fundamentales de dichos sistemas (Kung *et al.*, 2020) y que en comparación con los sistemas de escala normal, proveen un ambiente favorable para manipular y ajustar a criterio parámetros del proceso, sin realizar gastos significativos.

Un ejemplo de esto, es el sistema realizado por Leung y Shen (Leung & Shen, 2018). Crearon un exitoso sistema microfluídico para generar nanocápsulas de ácido poli láctico-co-glicólico (PLGA) con cúrcuma como elemento activo, con la finalidad de mejorar absorción de la cúrcuma y producir una respuesta anticancerígena en las células leucémicas de Jurkat, de tal manera que controlaron en un solo sistema, cada etapa de síntesis de las nanopartículas encapsuladas (figura 1).

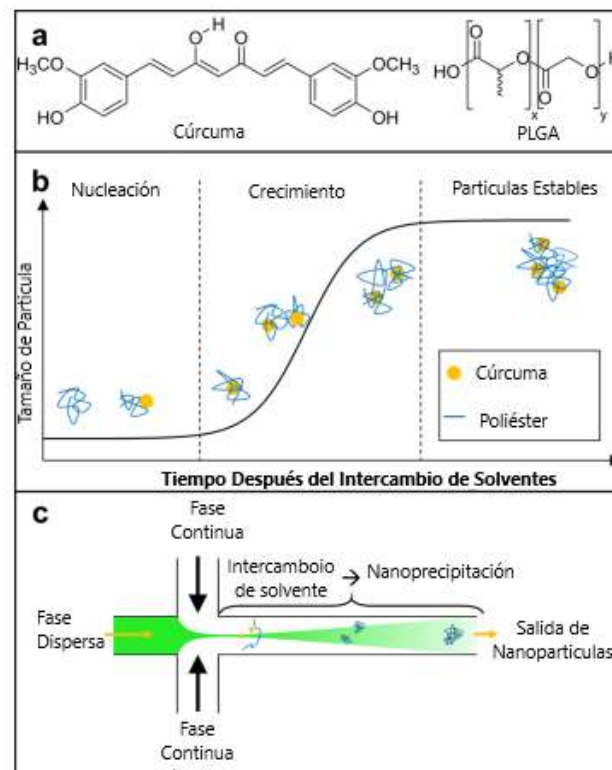


Figura 1. Representación general del funcionamiento del dispositivo microfluídico (a) Estructura química de la cúrcuma y el PLGA. (b) Mecanismos de nanoprecipitación de Cúrcuma-PLGA. (c) Representación esquemática del sistema microfluídico utilizado para la síntesis de cúrcuma con PLGA. (Leung & Shen, 2018)

Así mismo, Yuan *et al* (Yuan *et al.* 2020), diseñaron un dispositivo microfluídico generador de gotas (figura 2) con la finalidad de aislar células Natural Killer (NK-92 MI) con sus células objetivo (K652) dentro de las gotas creadas, permitiéndoles observar la afinidad que tienen las células Natural Killer a sus células objetivo. El encapsulamiento celular con gotas previno la difusión a las células vecinas de los productos de señalización celular reduciendo falsos positivos y negativos en el ensayo.

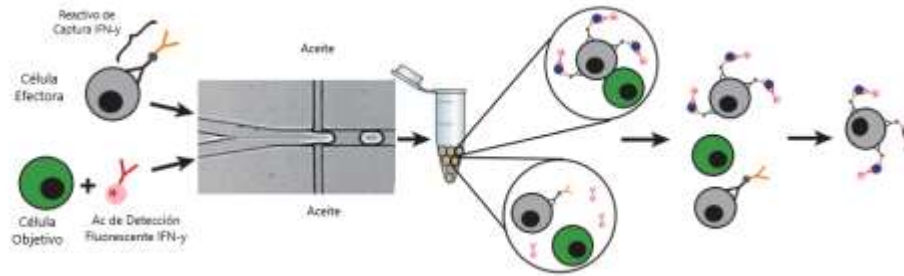


Figura 2. Diseño del dispositivo microfluídico (rectángulo en gris) encapsulante de células inmunitarias. Representación esquemática del proceso diseñado del ensayo de activación (Yuan et al., 2020, fig. 1).

Si bien, la naturaleza de los sistemas microfluídicos permite la optimización de los recursos, estos no están exentos a errores de diseño o implementación. Esto puede ocurrir por diferentes factores experimentales que pueden ser corregidos a través de la “prueba y error”, a pesar de ello, esto implica riesgos económicos no contemplados que podrían traducirse en un aplazamiento en el flujo de trabajo. Por ello, es necesario la búsqueda de estrategias de trabajo que permitan optimizar procesos con mayor precisión y reducir los riesgos de errores de diseño y experimentales.

Una de las estrategias de la ingeniería que permiten la optimización de procesos y sistemas son los métodos computacionales *In silico*. Estos métodos permiten construir modelos matemáticos de sistemas físicos de tal manera que sea un sistema simplificado que refleja las propiedades del sistema real (Fritzson, 2006). La ventaja del modelado computacional es la facilidad relativa de realizar experimentos para responder preguntas específicas sin necesidad de realizarlos sobre el sistema real (Fritzson, 2006). Esto tiene grandes implicaciones para la microfluídica, ya que posibilita la evaluación del dispositivo previo a su fabricación, lo que se traduce en un mejor rendimiento de tiempo y recursos.

Un ejemplo de las aplicaciones del modelado computacional en el área de la microfluídica es el trabajo hecho por Gleichmann *et al* (Gleichmann *et al.*, 2015). En este realizaron un kit complejo de herramientas microfluídicas para observar el comportamiento de microgotas en un sistema microfluídico a través de la simulación matemática de redes microfluidicas altamente integradas con el objetivo futuro de modelar reacciones químicas en microgotas. Así mismo, Charwat et al (Charwat *et al.*, 2018) realizaron un estudio comparativo basado en datos experimentales *in vitro* y un enfoque computacional *in silico* para definir el esfuerzo cortante crítico como un parámetro alternativo para evaluaciones nanotoxicológicas y nanomédicas a través de la utilización de un modelo vascular microfluídico (Figura 3).

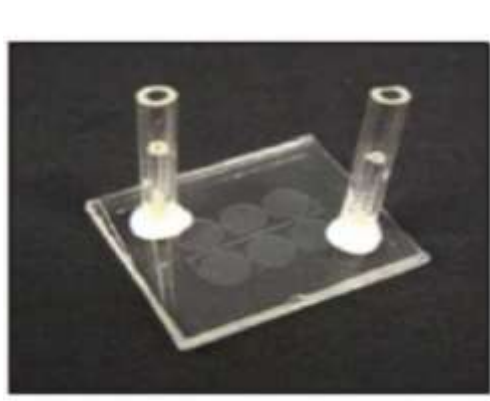


Figura 3. Modelo vascular microfluídico. (Charwat et al., 2018, fig. S-1)

Dado lo anterior, realizar un sistema microfluídico que pueda ser evaluado de manera computacional y experimental posibilitará el uso eficiente de los recursos. Determinar el comportamiento del sistema *in silico* suministrará de herramientas analíticas para valorar su desempeño de forma experimental, y por consiguiente, se logrará la disminución del tiempo de ajuste y operación del dispositivo, produciendo como resultado la formación de cápsulas o microgotas con las características esperadas.

1.2 Hipótesis

Es posible optimizar la producción de microgotas de agua recubiertas con aceite mineral controlando la geometría de un dispositivo microfluídico y los parámetros de flujo y/o velocidad.

1.3 Objetivo General

Diseñar e implementar un sistema microfluídico generador de microgotas de agua en aceite mineral mediante métodos computacionales y experimentales con el objetivo de optimizar la producción de microgotas con las características deseadas.

1.3.1 Objetivos Específicos

- i. Diseñar un sistema microfluídico generador de microgotas a través del uso de herramientas de diseño asistido por computadora.
- ii. Realizar un modelado y simulación del sistema microfluídico generador de microgotas de agua en aceite mineral a través de herramientas computacionales.
- iii. Implementar de manera experimental el sistema microfluídico generador de microgotas de agua en aceite mineral usando técnicas de fotolitografía.
- iv. Comparar la tasa de producción de microgotas y datos paramétricos de flujo y velocidad obtenidos del modelo computacional y experimental.

1.4 Organización del Documento

La presente tesis está organizada con cinco capítulos. En el primer capítulo se muestra una breve introducción sobre los sistemas microfluídicos y las simulaciones computacionales, se aborda panoramas generales y se presentan algunas aplicaciones. En el capítulo dos se proporciona algunos antecedentes de los dispositivos microfluídicos, sus características, principales diseños y modos de fabricación. Además, se definen términos que competen a las simulaciones computacionales. En el capítulo tres se aborda la metodología utilizada en esta tesis; los diseños realizados, el modo de simulación computacional utilizado y el proceso de fabricación de un sistema microfluídico. En el capítulo cuatro se muestran los resultados obtenidos de forma experimental y computacional. Por último, en el capítulo cinco se realiza una conclusión general de los resultados y alcances obtenidos así como conclusiones específicas. Además, se hace una breve proyección del trabajo futuro para continuar el desarrollo de este proyecto.

Capítulo 2

2. Antecedentes

En este capítulo se hace un breve repaso bibliográfico de los diseños más documentados de los dispositivos productores de microgotas, los métodos de fabricación de dispositivos “*Lab-on-a-Chip*” y se definen conceptos básicos de las simulaciones computacionales.

2.1 Dispositivos microfluídicos generadores de microgotas

Los dispositivos microfluídicos son pequeñas plataformas que comprenden sistemas de canales conectados a depósitos a través de tubos vinculados a jeringas. El tamaño de los canales se sitúa en órdenes de micrómetros hasta nanómetros, mismo que facilitan mayormente la manipulación de volúmenes más pequeños que un microlitro. El diseño apropiado de los microcanales y las herramientas integradas tales como electrodos o patrones específicos de superficie facilitan la incorporación de muchos pasos operacionales permitiendo que compuestos químicos, células y algunos otros solutos pasen de una unidad a otra de manera adecuada. Estas unidades pueden ser secciones que promuevan la separación, el enriquecimiento de la muestra (solutos, compuestos químicos, células, etc), el mezclado, además, pueden contener módulos de reacción (por ejemplo, zonas de calentamiento) que faciliten las reacciones químicas, unidades para la separación de los productos obtenidos, unidades de aislamiento y de análisis (Dittrich & Manz, 2006).

El diseño del dispositivo microfluídico implica la determinación de la geometría del dispositivo basado en su función. Las dimensiones y la forma del dispositivo pueden variar de acuerdo a la complejidad del mismo, desde sistemas con geometría y funcionalidad simple como son los sistemas microfluídico separadores de células y solutos hasta sistemas complejos que pueden lograr suministrar dosis de insulina de forma autónoma. Dentro de los dispositivos microfluídicos de diseño simple, se encuentran los sistemas generadores de microgotas, los cuales a pesar de ser visualmente simples, pueden llegar a ser complejos de fabricar y de manipular. Dentro de los diseños más utilizados debido a su sencillez geométrica y su funcionalidad (Xu *et al.*, 2006) son los diseños en unión tipo Y (figura 4). Este fue uno de los primeros diseños reportados por Thorsen *et al.* y tiene la característica de generar microgotas monodispersas con flujos laminares y presiones controladas (Thorsen *et al.*, 2001).

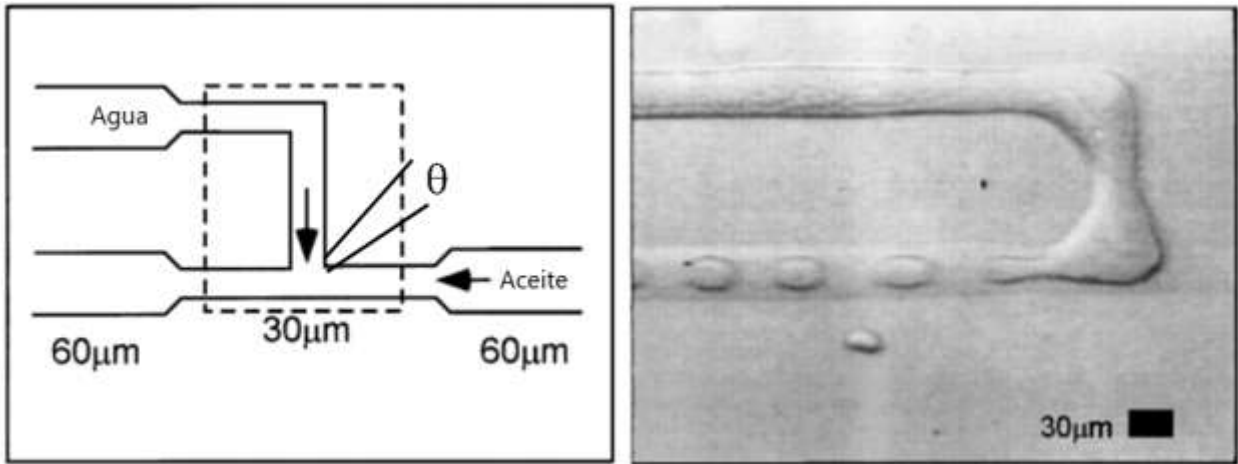


Figura 4. Dispositivo microfluídicos en unión-T. Dibujo del diseño (recuadro izquierdo) y micrografía (recuadro derecho) tomada del microcanal de uretano acrilato (Thorsen et al., 2001, fig. 1).

La Figura 4 muestra un flujo transversal con una entrada de líquido tipo aceite y otra con agua. Se les inyectó aire comprimido a diferentes presiones (0-25 psi). El flujo transversal presenta un ángulo θ que se crea de la intersección de los dos canales establecidos para los fluidos. El ángulo θ puede variar desde 0° hasta 180° según sea la función del dispositivo.

El diseño de flujo transversal o “cross-flow” ha sido modificado con fines de optimización, se han realizado algunos cambios en el ángulo de intersección (ángulo θ) y en la geometría, cuyo objetivo es obtener diferentes vías para lograr generar microgotas con características específicas. En la figura 5, se muestran diferentes esquemas de dispositivos microfluídicos para obtener variaciones en el flujo transversal al modular el ángulo de intersección y la geometría del dispositivo.

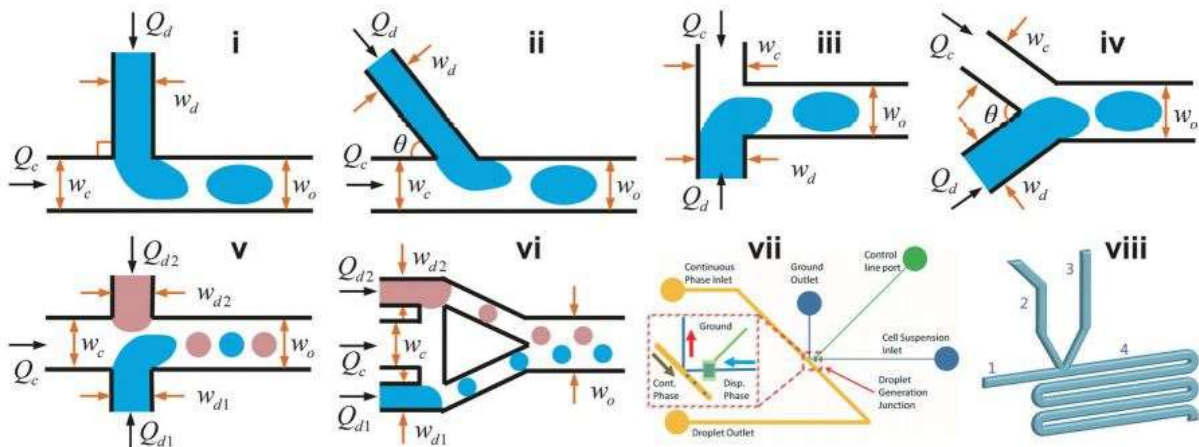


Figura 5. Diagrama que muestra los diferentes diseños de flujos transversales (Zhu & Wang, 2016, fig. 2).

En la Figura 5 se observan las geometrías basadas en el ángulo θ . Una geometría de unión tipo-T normal con un ángulo de intersección de $\theta=90^\circ$ (i) con fase continua (Q_c) y fase dispersa (Q_d) que concurren en un mismo punto de longitud Wo . Unión tipo-T con un ángulo θ entre $0^\circ < \theta < 180^\circ$ (ii). En la parte (iii) se observa una unión-T “Head-on” o de frente que presenta un ángulo $\theta=180^\circ$. En la figura 5 (iv) se observa una geometría en forma de “Y” con un ángulo de intersección entre $0^\circ < \theta < 180^\circ$. La geometría que se observa en (v) de forma paralela con gotas de diferentes fluidos y con dimensiones cercanas a Wo , presenta un flujo continuo con dos flujos dispersos para generar microgotas en el mismo sitio. La geometría (vi) es una unión-T doble con la capacidad de generar dos tipos de microgotas con diferentes fluidos. Las geometrías (vii) y (viii) son dos tipos de uniones tipo K y tipo V, respectivamente.

Como se observa en las figuras 4 y 5, la geometría de los dispositivos microfluídicos puede cambiar de acuerdo a las características y función que se desea obtener del sistema. Por ejemplo, Lee *et al.*, realizaron un sistema continuo que genera microgotas de dos líquidos con propiedades diferentes (figura 6), la generación de microgotas fue a través de la conexión de tres diseños como el “v” de la figura 5 para obtener emulsiones de agua-aceite-agua con una mayor frecuencia de producción y con las dimensiones controladas. Dado a que los fluidos utilizados son hidrofóbicos (aceite) e hidrofílicos (agua), la gotas obtenidas generaron una separación dado a las propiedades de los líquidos lo que no permitió la interacción de una con otra de forma que se mantienen las dimensiones (Lee *et al.*, 2016).

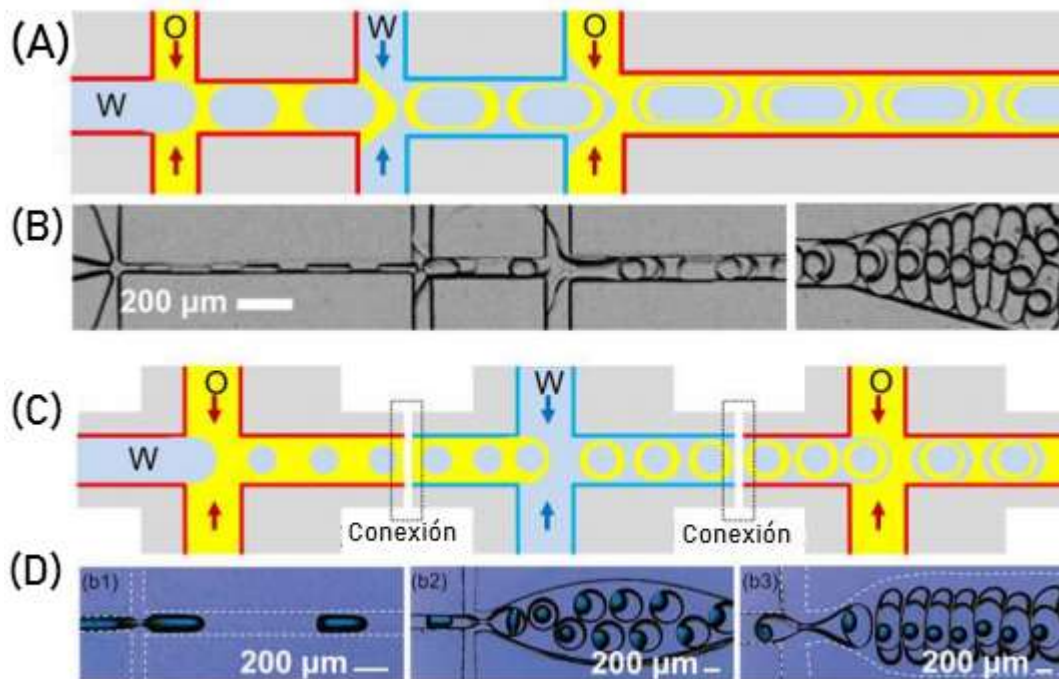


Figura 6. Imagen esquemática (A) e imagen tomada por microscopio óptico (B) de serie de uniones generadoras de gotas agua-aceite-agua-aceite (emulsión cuádruple). Imagen esquemática (C) e imagen tomada por microscopio óptico (D) de tres dispositivos tipo “intersección cruz” conectados entre sí (Lee *et al.*, 2016, fig. 3) .

2.2 Fabricación de Microdispositivos

La fabricación de microdispositivos se realiza a través de técnicas que si bien, pueden variar en principio, el objetivo final es obtener un molde con el diseño deseado para obtener las dimensiones requeridas del dispositivo y poder fabricar más de un sistema generador de microgotas.

La fabricación permite generar dispositivos con dimensiones en el orden de micro y nanómetros, lo que facilita el uso de micro y nano flujos. Esta involucra el grabado, estampado y la superposición de películas delgadas mediante procesos de fabricación como: depósito químico de vapor, depósito físico de vapor, galvanizado, etc. (Aggas & Guiseppi-Elie, 2020). Una de las ventajas es que permite producir partículas homogéneas y uniformes, con forma y arquitectura controlada lo que llega a ser muy complicado con otros métodos de fabricación (Chew *et al.*, 2017).

Mijatovic *et al.*, resume en dos tipos los métodos de fabricación que son utilizados comúnmente para el diseño de microsistemas o sistemas microelectromecánicos (MEMS) y que son utilizados en la fabricación de dispositivos “Lab-on-a-Chip” (Mijatovic *et al.*, 2005). El primero llamado descendente (“*top-down*”) y el segundo ascendente (“*botton-up*”). El método descendente se basa en crear patrones a escala y reducir luego las dimensiones laterales, básicamente se inicia con un estructura macro y se obtiene una estructura a microescala. El método ascendente se basa en organizar átomos o moléculas en nanoestructuras que tienen propiedades específicas, es decir, es una construcción que inicia en la escala molecular (microscópico) hasta lo macroscópico (Rivas, 2011).

El método descendente está dividido en tres subtipos: (a) maquinado en masa, (b) maquinado de superficie y (c) maquinado de molde.

(a) Maquinado en masa

Es el proceso donde el canal es creado a través del grabado de zanjas en una película delgada. Este tipo de grabados se han hecho de manera estandarizada a través de las técnicas de fotolitografía, seguidos de grabados secos, húmedos y químicos. El maquinado en masa incluye tres pasos, los cuales son: la formación del patrón por técnicas de fotolitografía, grabado y sellado/unión.

Para la formación del patrón, la técnica más utilizada es la fotolitografía estándar. Esta es una extensión de la fotografía que fue desarrollada para ser usada en la fabricación de semiconductores en la industria electrónica. En ella, se utiliza el análogo a una fotografía negativa que contiene la imagen del diseño deseado, el cual es llamado “máscara o maestro” y es usado para copiar el molde patrón (Whitesides & Christopher Love, 2001). En general, en la fotolitografía estándar un haz de luz

(normalmente ultravioleta con una longitud de onda de 250 nm) pasa a través de una mascarilla y de un objetivo, para enfocar una imagen sobre una fotorresina situada sobre la superficie de una oblea de silicio o sustrato (Mijatovic *et al.*, 2005). Dado a las características propias de la fotorresina (recubrimiento polimérico fotosensible), el grabado del diseño se crea de dos formas, positiva o negativa. Si la fotorresina es positiva, se solidifican las zonas no expuestas a la luz UV y aquellas que fueron expuestas son removidas con un revelador. Si la fotorresina es negativa, ocurre lo inverso, la zona en la que la luz UV incidió se solidifica y aquellas que no, son removidas. En la figura 7 se observa un esquema sencillo del proceso de grabado con los dos tipos de fotorresina.

La fotolitografía involucra tres secuencias de pasos (H. V. Jansen, N. R. Tas and J. W. Berenschot, 2005):

- La aplicación de la fotorresina, la cual es una capa o película delgada fotosensible que es aplicada, sobrepuesta o puesta encima de un sustrato.
- Exposición a la luz ultravioleta, esto se hace para imprimir la imagen sobre la fotorresina.
- Revelado, se sumerge la fotorresina expuesta a la luz UV sobre una disolución acuosa que disuelve el exceso no requerido de fotorresina.

El grabado se crea cuando el diseño molde que tiene las características deseadas es plasmado sobre un sustrato. El sellado o unión, tiene como objetivo mejorar los puntos de contacto entre el grabado y el sustrato asegurando su unión y adherencia. Hay diferentes métodos que dependerán en gran medida del tipo sustrato donde se realiza el grabado. Los más utilizados son: sellado anódico, de difusión, polimérico y unión directa (Mijatovic *et al.*, 2005).

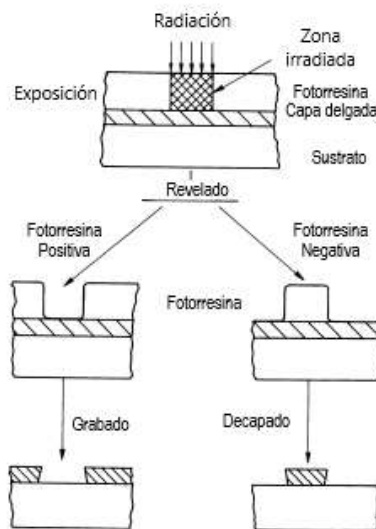


Figura 7. Diagrama esquemático de la formación del grabado con la imagen patrón en la fotorresina (Thompson *et al.*, 1983)

(b) Maquinado de superficie

Es el proceso que usa capas de películas delgadas depositadas sobre la superficie de un sustrato para construir componentes estructurales. En comparación con el maquinado en masa el cual se construye la estructura deseada o componente deseado dentro del sustrato, el maquinado de superficie construye sobre el sustrato. Esta técnica fabrica componentes delgados y sistemas mecánicos sobre la superficie de un sustrato a través del depósito, el estampado y grabado de películas delgadas de forma alterna (SCME, 2017).

El maquinado de superficie ha sido utilizado para fabricar dispositivos y sistemas microelectromecánicos (MEMS), los cuales son ampliamente utilizados en sensores de presión, giroscopios, acelerómetros, micrófonos de silicio y aplicaciones en microfluídica, industria automotriz, industria médica, industria de electrodomésticos, etc., (Estrada, 2009). En la Figura 8 se observa la imagen de un microengrane creado a través del maquinado de superficie.

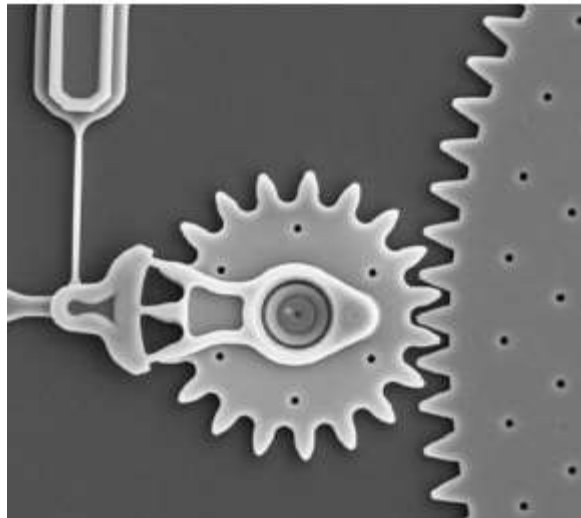


Figura 8. Microengrane con 2-3 micrómetros de espesor construido por micromaquinado de superficie. Imagen tomada a través de un microscopio electrónico de barrido (SCME,2017).

(c) Maquinado de molde

En este proceso se fabrica un molde que tiene la forma inversa de la estructura que se desea formar. El molde es llenado con un material que llevará la forma de la estructura, después, este material es removido manteniendo la forma de la estructura deseada. El maquinado del molde es principalmente realizado a través de fotolitografía suave (Mijatovic *et al.*, 2005). La fotolitografía suave es una rama de la fotolitografía que presenta las características de tener mayor resolución en la creación de estructuras nanométricas (menor a 100 nanómetros) y es llamada “suave” porque involucra un amplio intervalo de materiales elastómeros que son materiales mecánicamente suaves (Whitesides & Christopher Love, 2001; F. Zhang *et al.*, 2018). En comparación con la fotolitografía estándar, la fotolitografía suave puede procesar materiales suaves como polímeros, geles y monocapas orgánicas. El polidimetilsilaxano (PDMS) es un polímero elastómero, hidrofóbico, transparente y flexible. Este ha sido ampliamente utilizado en fotolitografía suave debido a las propiedades ya mencionadas así como por su bajo costo, biocompatibilidad, baja toxicidad, por ser inerte, por tener superficie versátil y no degradarse (F. Zhang *et al.*, 2018).

En la fotolitografía suave el molde (maestro) es realizado a través de la fotolitografía convencional en donde un haz de luz (comúnmente UV) pasa a través de una máscara con el diseño deseado y una lente, proyectando la imagen en una capa de fotorresina u oblea de silicio (figura 8). Después, se vierte un líquido precursor (generalmente, polidimetilsilaxano) sobre él y se cura. El proceso de curación permite realizar la polimerización del líquido precursor para obtener una estructura sólida y flexible, esto permite obtener una figura por o estampado del maestro. Finalmente, el estampado es desprendido del maestro para su posterior uso.

En microfluídica, el estampado es el que lleva el diseño de los microcanales que serán utilizados en los dispositivos. Esencialmente, el estampado es el dispositivo en sí, que mediante un proceso de unión con un sustrato, hace que se forme el dispositivo microfluídico deseado. En la figura 9 se observa el proceso de obtención del sólido suave con el estampado deseado, iniciando con la colocación del líquido precursor y terminando con la obtención del dispositivo con el diseño deseado.

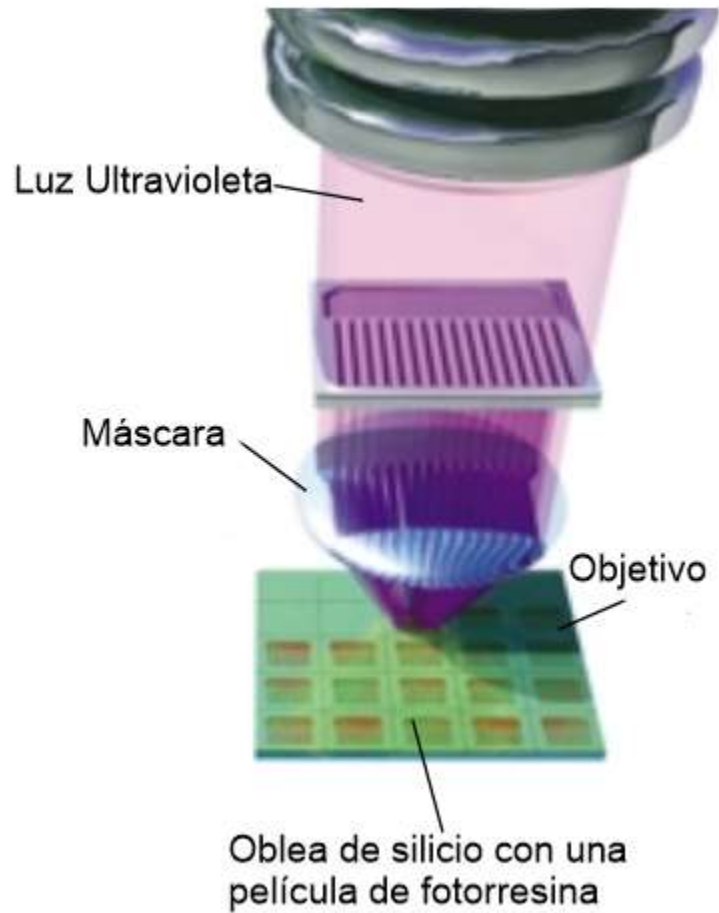


Figura 9. Proceso de creación del molde maestro a través de fotolitografía convencional. (Mask= mascarilla). Proceso comúnmente usado para la creación de circuitos electrónicos (Whitesides & Christopher Love, 2001)

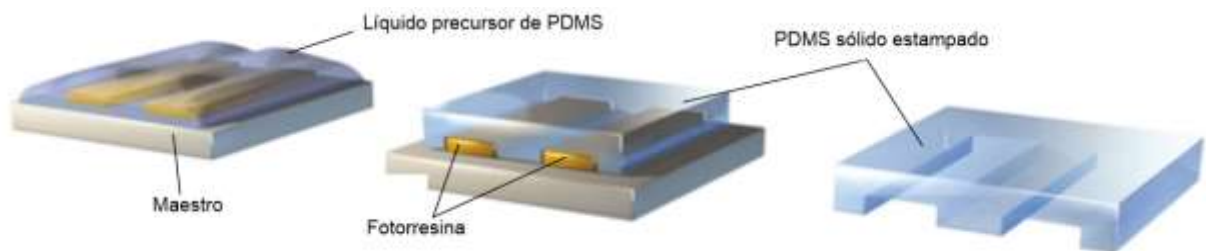


Figura 10. Esquema de obtención del polímero estampado mediante litografía suave (Whitesides & Christopher Love, 2001).

En general, la creación de dispositivos microfluídicos está basada en la técnica descendente de maquinado de molde, ya que es accesible económicamente, relativamente fácil de operar y presenta la característica de trabajar con materiales flexibles y transparentes, además de ser escalable en laboratorios sencillos sin necesidad de tener cuartos limpios o infraestructura de alto nivel. Esta técnica fue utilizada en este proyecto de tesis debido a las características mencionadas.

2.3 Simulado computacional

Las simulaciones computacionales son el producto del modelado numérico de sistemas físicos, biológicos o químicos. El modelado computacional es el uso de computadoras para emular o estudiar sistemas complejos utilizando las matemáticas, la física, la informática, entre otras. Éste contempla numerosas variables que caracterizan al sistema bajo estudio, lo que permite ejecutar numerosos experimentos en computadora y seleccionar aquellos experimentos que tienen una alta probabilidad de resolver el problema (NIBIB, 2021). El uso de las simulaciones permite comprender, analizar y optimizar el problema sin la necesidad de recurrir a la experimentación, esto ofrece una gran ventaja porque permite ahorrar recursos y obtener mejores resultados experimentales. Las simulaciones imitan el sistema de interés, realizando el experimento en la computadora como se haría en el laboratorio, por ello, se considera que la computadora es el objeto físico donde se experimenta (Seoane *et al.*, 2015).

El inicio de las simulaciones fue a través del uso del método Monte Carlo (Mize y Cox, 1968) el cual consistía en un método para resolución de ecuaciones diferenciales no lineales mediante un isomorfismo formal con la teoría de probabilidad. Posteriormente, se fue adaptando el uso de las simulaciones en las diferentes disciplinas científicas resolviendo ecuaciones diferenciales ordinarias, polinomios, etc., las cuales no tienen una solución analítica conocida. Las ecuaciones de Lotka-Volterra en biología, por ejemplo, son resueltas mediante sistemas computacionales, ésta describe la interacción de un sistema biológico de dos especies, una actuando como presa y la otra como depredador. En el caso de la física, específicamente dinámica de fluidos y gases, las ecuaciones de Navier-Stokes son las que modelan y simulan el comportamiento de los fluidos y, finalmente, la obtención de las soluciones próximas a la solución analítica solo pueden ser encontradas mediante el uso de equipo computacional (Durán Juan, 2015).

En la actualidad, existen diferentes técnicas o métodos de resoluciones de ecuaciones diferenciales parciales complejas que modelan la realidad, uno de ellos es el método de elementos finitos. El método de elementos finitos es una herramienta computacional poderosa, esta resuelve ecuaciones diferenciales parciales a través de la discretización de las mismas en sus dimensiones espaciales. Los dominios complicados se subdividen en una serie de pequeñas regiones en las cuales las ecuaciones son resueltas de manera aproximada. Este proceso reúne un conjunto de ecuaciones para cada región y se determina el comportamiento de todo el dominio del problema. Cada región se denomina elemento, el proceso de subdivisión de un dominio en un número finito de elementos se denomina discretización y los elementos que están conectados en puntos específicos son llamados nodos. Las ecuaciones relacionan la

entrada de los nodos específicos de los elementos con la salida de esos mismos nodos. De acuerdo a las condiciones de frontera y la caracterización del sistema físico, al final se realiza un análisis de respuesta de cada nodo mediante la conversión del sistema geométrico subdividido en cálculos matriciales mediante ecuaciones específicas de acuerdo a la física utilizada (Olabi & Casalino, 2014).

En la figura 11 se observa una representación esquemática de cómo una geometría es discretizada a través del método de Elementos Finitos. Se observa que la geometría es dividida en secciones (elementos) y que dependiendo de la naturaleza del problema la división en elementos cambiará. Los puntos de unión entre cada sección son los nodos, mencionados anteriormente, estos especifican las coordenadas en el espacio donde los grados de libertad y las acciones del problema físico existen (Madenci & Guven, 2015).

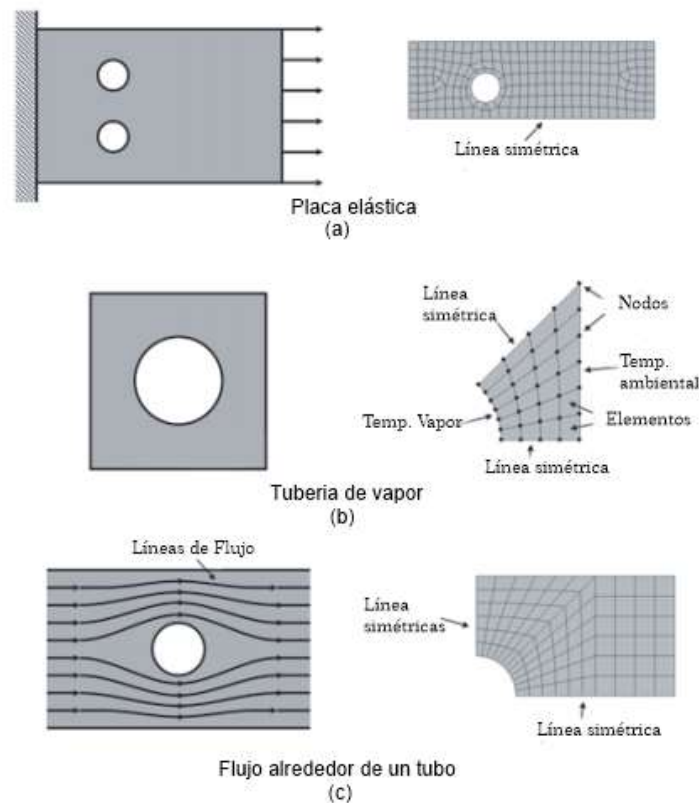


Figura 11. Esquemización del análisis geométrico realizado por el método de Elemento Finito para una placa elástica (a), tubería de vapor y (b) flujo alrededor de un tubo o tubería (Madenci & Guven, 2015, fig. 1.1)

En la actualidad, el método de Elementos Finitos es utilizado para las simulaciones computacionales en el área de la microfluídica. Por ejemplo, Bonifacio *et al.* desarrollaron un modelo de elemento finito usando una geometría de dos dimensiones (figura 12) para investigar los patrones de las concentraciones de glucosa contenida en un hidrogel dentro de un dispositivo microfluídico. Evaluaron las diferentes combinaciones de la tasa de flujo del medio de cultivo así como la permeabilidad y

porosidad del medio para dos hidrogeles de colágeno tipo I y de fibrina. A través del modelo encontraron que la permeabilidad es el parámetro más importante cuando el fluido está presente y que los cambios de la tasa de flujo del medio de cultivo no generaba ninguna modificación significativa en los patrones de concentración de la glucosa dentro del chip microfluídico. (Bonifacio *et al.*, 2019)



Figura 12. Geometría del dispositivo microfluídico usada para el modelado computacional: Canales laterales A y B (verde y azul) y cámara central (rosa) la cual está llena de hidrogel. Línea de referencia y punto central en la microcámara usadas para las variables representadas dentro del dispositivo (Bonifacio *et al.*, 2019, fig. 1).

Asimismo, Hajji *et al.* realizaron un modelo teórico que simulaba numéricamente la unión antígeno-anticuerpo en los inmunoensayos conducidos electrocinéticamente en un biosensor, mediante la resolución de cálculos numéricos en 2D y 3D por el método de elementos finitos. En dicho modelo, se simuló el comportamiento de un microcanal (figura 13) que contenía una superficie de reacción con anticuerpos inmovilizados y observaron si absorbía el flujo de determinados analitos. El modelo analizaba la convección y difusión del flujo del analito, así como las reacciones de unión en la superficie del microcanal. Observaron que al ir incrementando la concentración del complejo antígeno-anticuerpo utilizado se puede reducir el crecimiento de la capa límite de difusión y aumentar el rendimiento del biosensor, lo que puede ser útil para un mejor diseño de biosensores (Hajji *et al.*, 2018).

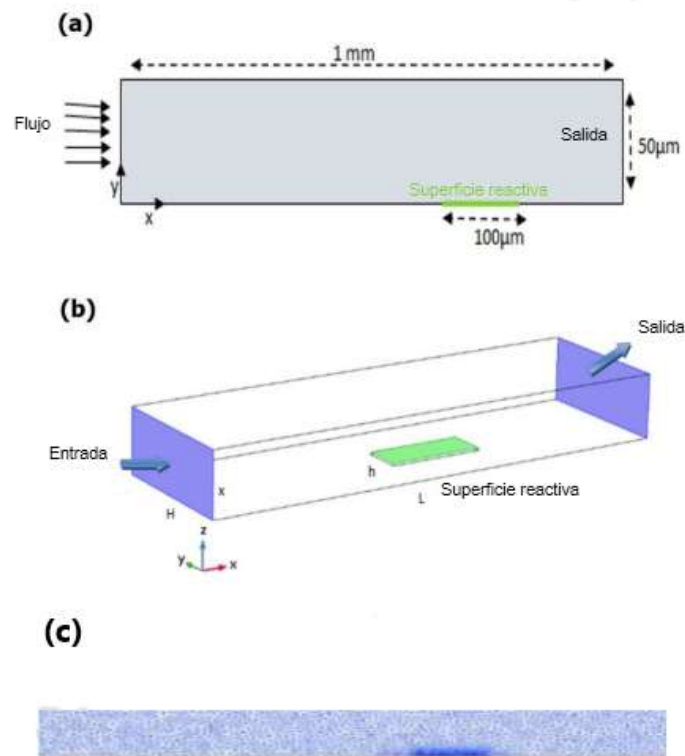


Figura 13. Diseño geométrico del modelo microfluidico para inmunoensayos de superficie. Diseño en 2D (a), 3D (b) y mallado en 2D (c), (Hajji et al., 2018)

En cuanto a las simulaciones numéricas para la generación y evaluación de microgotas, Lei *et al.* realizaron un modelado de generación de microgotas con un dispositivo con geometría tipo Y a través del software de simulación “COMSOL Multiphysics” utilizando agua y aceite como fluidos de entrada, así como diferentes condiciones de flujo. Los resultados que obtuvieron fueron comparados con los datos experimentales realizados. Encontraron que el número de capilaridad era la clave para el proceso de generación de microgotas. También encontraron cuatro diferentes regímenes para la generación de microgotas, el primero, un flujo continuo sin generar microgotas, el segundo, un exitoso generador de microgotas, el tercero, un flujo estancado con nula generación de microgotas y por último, el cuarto, un flujo desconectado con una fallida generación de microgotas (Lei *et al.*, 2015). En la figura 14 se observa el diseño implementado por Lei *et al.*, con la configuración establecida para la obtención de microgotas.

Asimismo, Mbanjwa *et al.*, realizaron un estudio experimental y computacional para la obtención de microgotas de agua en aceite en un dispositivo de unión tipo Y. El modelo realizado (figura 15) fue a través del software de simulación “COMSOL Multiphysics” el cual está basado en el método de elemento finito y el dispositivo experimental se realizó a través de la técnica descendente de maquinado de molde,

técnica ya mencionada con anterioridad. Los resultados obtenidos fueron similares a los de Lei *et al.* (Lei *et al.*, 2015), obtuvieron que el número de capilaridad juega un papel importante en los flujo bifásico y en la formación de microgotas (Mbanjwa *et al.*, 2011).

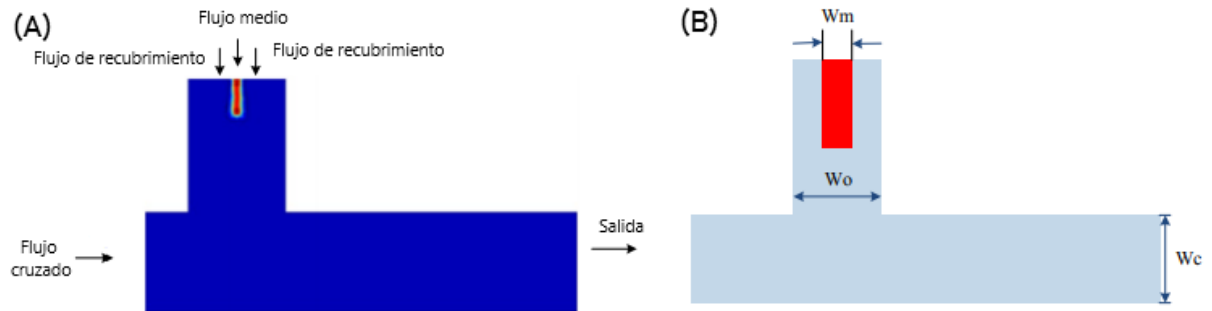


Figura 14. (A) condiciones iniciales para el modelo en T (flujo medio: aceite, flujo de recubrimiento y flujo cruzado: agua). (B) ancho del flujo medio (W_m), flujo recubrimiento (W_o) y flujo cruzado (W_c) (Lei *et al.*, 2015).

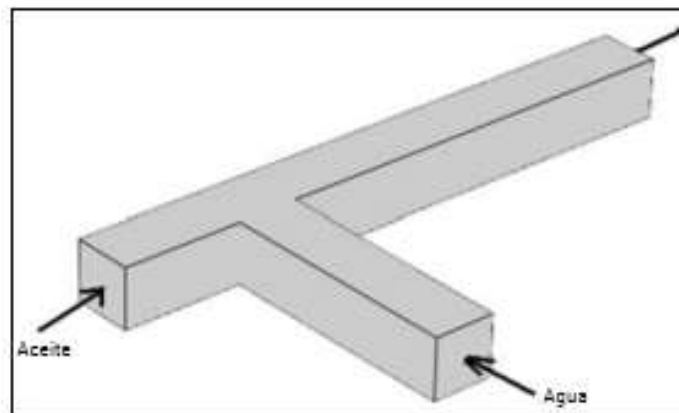


Figura 15. Geometría esquemática en 3D del dispositivo tipo unión T para el análisis experimental y computacional

En este proyecto de tesis se utilizó el análisis computacional de elemento finito a través del software de simulación numérica “COMSOL Multiphysics” como herramienta de análisis para evaluar la formación de microgotas.

Capítulo 3

3. Metodología

En este capítulo se describe la metodología utilizada para la fabricación de los dispositivos microfluídicos y las condiciones en las cuales se realizaron las simulaciones numéricas para poder producir microgotas.

De forma general, se muestra en el diagrama de flujo de la figura 16 la metodología utilizada, a lo largo de este proyecto de tesis, para la fabricación de un sistema microfluídico y posteriormente se describe cada una de las etapas de fabricación, así como sus características de operación.

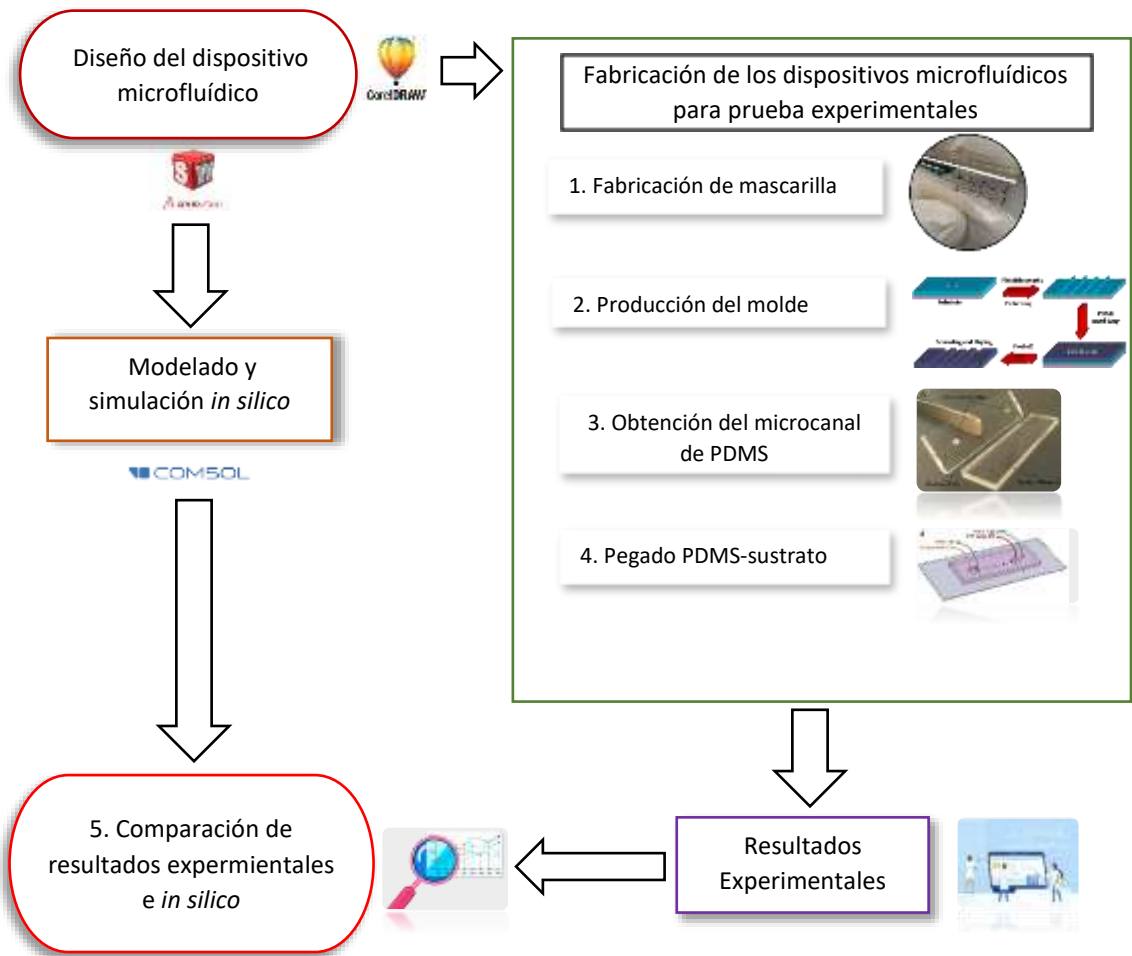


Figura 16. Diagrama de flujo de la metodología empleada para la fabricación de un sistema microfluídico.

3.1. Diseño de los Dispositivo Microfluídico

El diseño del dispositivo de forma experimental como el diseño para las simulaciones numéricas fue similar en geometría. Inicialmente se realizó el diseño en el software SolidWorks 2019, dado que éste ofrece una gran versatilidad y control en las dimensiones del diseño. A través de este se desarrollaron dos dispositivos con diferentes geometrías que fueron utilizados en este proyecto. Los diseños realizados se obtuvieron tras un análisis bibliográfico y fueron seleccionados dos dado a que eran geometrías que ofrecían mayor control en la generación de microgotas. Los diseños seleccionados son los propuestos por Zhu y Wang, 2016, mostrados en la figura 5 (geometría i y v).

Se consideró el diseño tipo cruz de la figura 5 (v) con ligeras modificaciones en cuanto a la geometría general y las longitudes de los microcanales de intersección. Este se realizó a través del software SolidWorks 2019. Las dimensiones máximas del dispositivo microfluídico fueron de 7.62 cm x 2.54 cm. El ancho del canal horizontal fue de 500 μm y la intersección con el canal vertical comenzó desde 500 μm hasta reducirse a 300 μm tras crear la intersección entre el canal horizontal y vertical (figura 17). La finalidad de crear la reducción de las dimensiones del microcanal vertical fue propiciar un aumento de la velocidad del fluido circulante, para provocar una mayor fuerza de corte del flujo del líquido proveniente del canal horizontal.

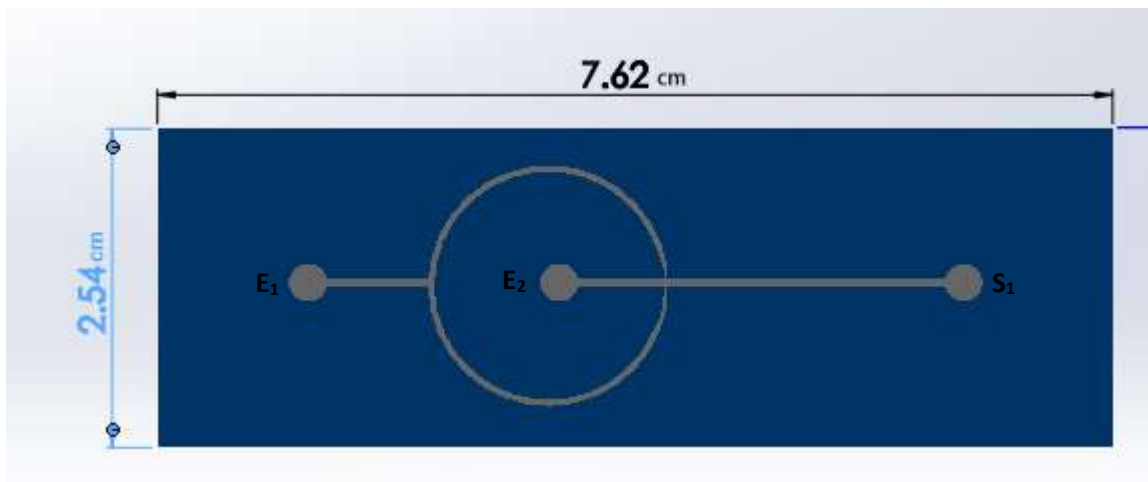


Figura 17. Dispositivo microfluídico con geometría circular tipo cruz realizado a través del software SolidWorks 2019.

La figura 17 muestra el primer dispositivo obtenido. El diseño creado presenta dos entradas (E_1 y E_2) y una salida (S_1). La entrada uno (E_1) es para introducir el aceite mineral, la entrada dos (E_2) fue para

introducir el agua destilada con colorante rojo y finalmente, la salida (S_1) fue la zona donde convergían las microgotas. En la figura 18 se hace un acercamiento en la zona central-izquierda y zona derecha del dispositivo en donde se muestra las longitudes utilizadas en el diseño de los microcanales así como de los orificios circulares de entrada de los fluidos. El diámetro de la entrada 1, entrada 2 y la salida de los fluidos fueron de 3 mm de diámetro.

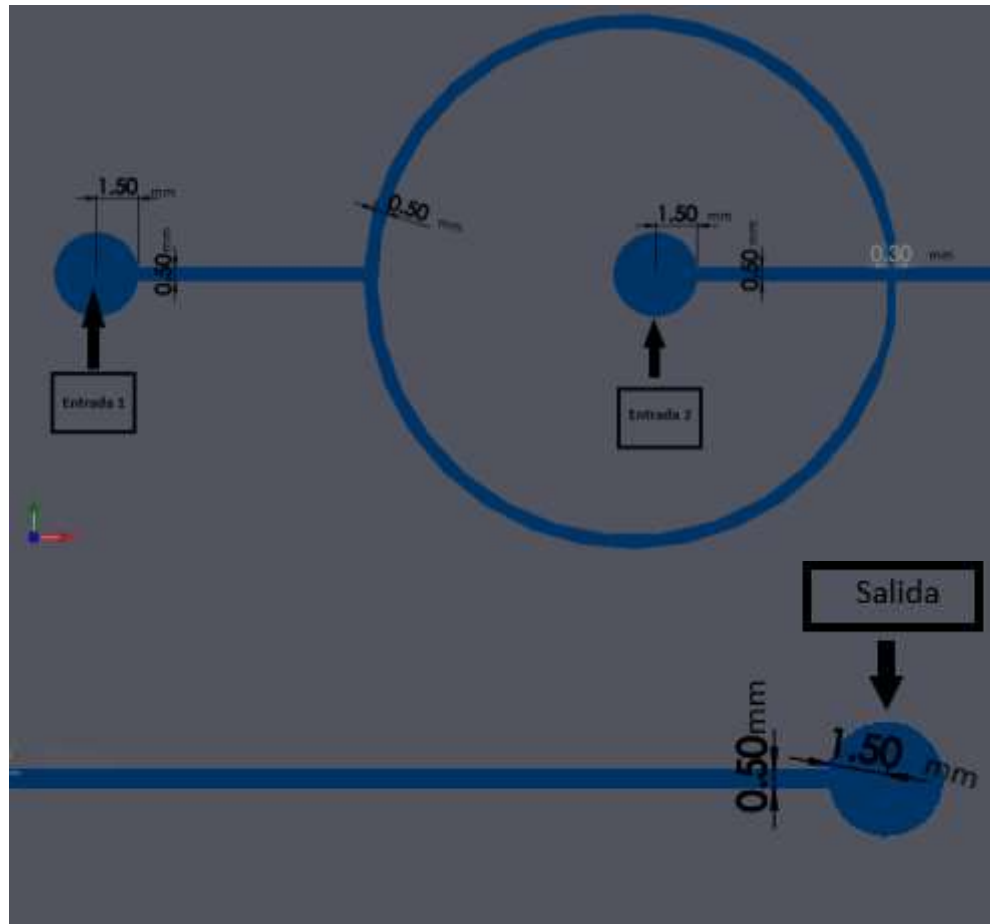


Figura 18. Acercamiento del dispositivo tipo cruz. Se muestran lo ancho de los microcanales dada en milímetros, así como las puertas de entrada y la salida de los fluidos

Posteriormente, se utilizó el mismo software para crear el diseño tipo Y (figura 19). Este se realizó con las medidas 500 μm para el canal horizontal y un canal inclinado a 45° con la misma longitud. En la entrada 1 se introdujo el aceite mineral y en la entrada 2 el agua destilada con colorante rojo vegetal (figura 19). Las puertas de entrada 1, 2 y la salida tuvieron un diámetro de 3 mm. Las dimensiones máximas del dispositivo fueron de 7.62 cm x 2.54 cm. No se realizó ninguna reducción de las dimensiones en el punto de intersección de los dos microcanales debido a que se quería observar si había alguna diferencia entre las dimensiones y la formación de la microgota.

Cabe destacar que para cada dispositivo diseñado fueron creados inicialmente en 3 dimensiones tan solo por fines prácticos, posteriormente se trasladaron al plano en 2D con la ayuda de la herramienta de “Dibujo” de SolidWorks.

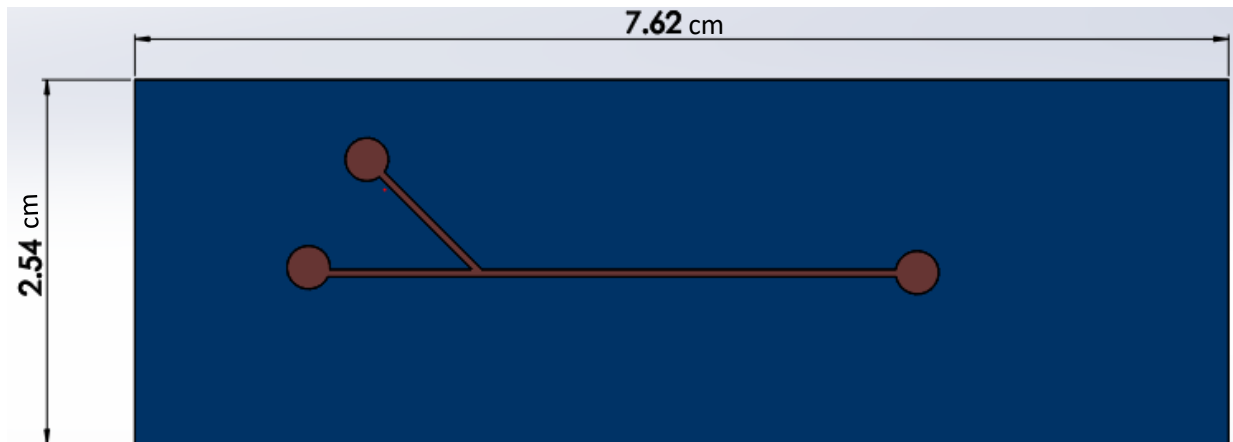


Figura 19. Dispositivo microfluídico con geometría tipo Y realizado a través del software de diseño SolidWorks 2019.

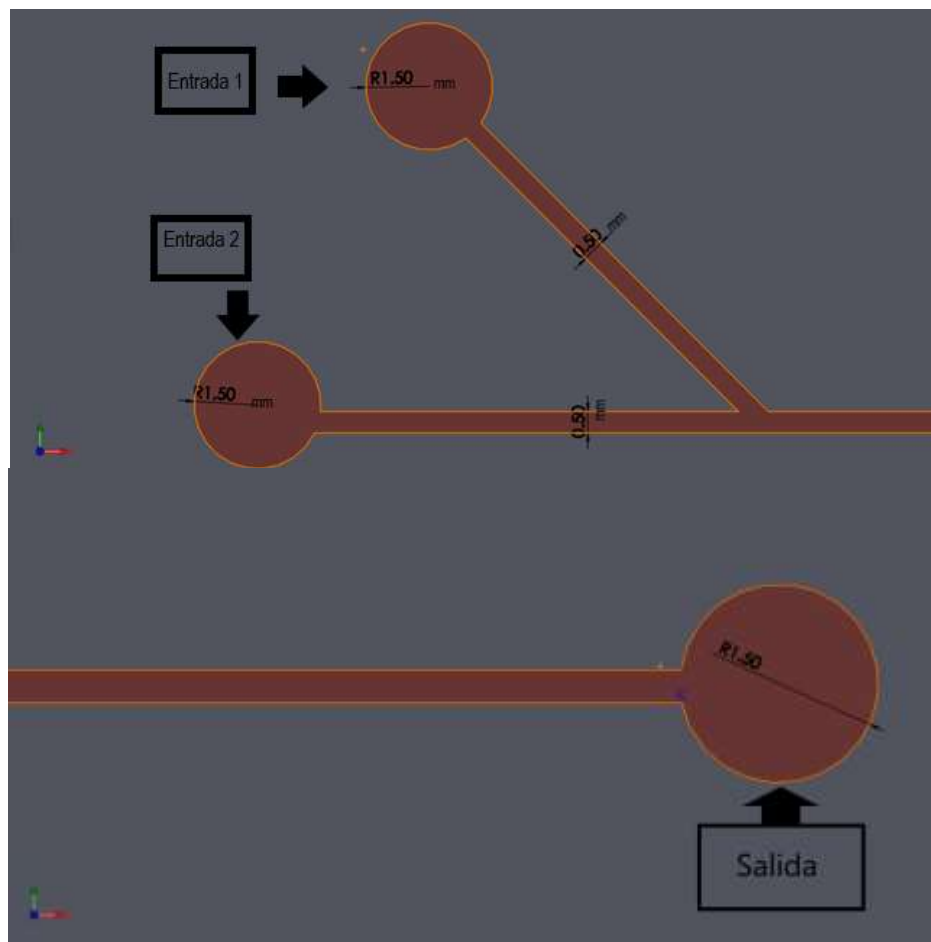


Figura 20. Acercamiento del diseño creado para el dispositivo tipo Y.

3.2. Modelado y Simulación *in silico*

Para la realización de las simulaciones numéricas se utilizó el programa COMSOL Multiphysics 5.5. Éste es un programa de modelado computacional que trabaja con el método de elemento finito, método explicado en la sección de antecedentes. Dado a la facilidad de crear diseños en COMSOL, se optó por crear uno para cada dispositivo los cuales son diseños homólogos a los generados en SolidWorks.

Utilizando COMSOL Multiphysics 5.5 se generó el diseño del dispositivo cruz y tipo Y utilizando el apartado de geometría y dibujo de las herramientas del programa. Para cada dispositivo solamente se consideró la zona central en donde se producen las microgotas.

En la figura 21 se logra observar el diseño creado a través del COMSOL para el dispositivo tipo cruz. En la zona donde se intersectan los microcanales hay una disminución similar a la realizada en el diseño con SolidWorks, el microcanal vertical inicia desde 500 μm de ancho y se reduce a 300 μm . El microcanal horizontal permanece con las mismas dimensiones de 500 μm de ancho, tal como se observa en la imagen. En este modelo se utilizó agua destilada y aceite mineral como fluidos para la generación de microgotas. La entrada respectiva para cada fluido se visualiza en la figura 23 (A).

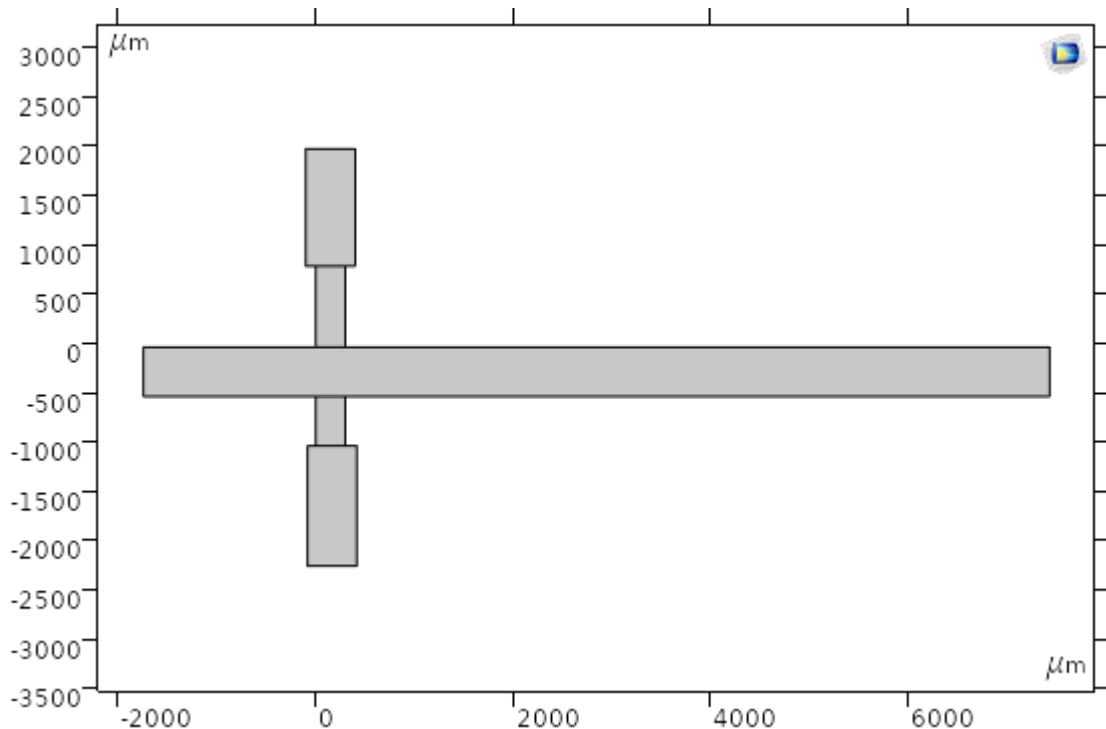


Figura 21. Dispositivo microfluídico tipo cruz generado a través del software de simulación "COMSOL Multiphysics 5.5".

En cuanto al diseño del dispositivo tipo Y, se creó la geometría en COMSOL a través de la sección de geometría y dibujo, proporcionada por el mismo software de manera que se obtuvo un diseño similar al creado en SolidWorks. En la figura 22 se muestra la geometría del dispositivo mencionado en donde el ancho del microcanal horizontal es de $500\ \mu\text{m}$ y el microcanal que tiene una inclinación de 45° , así mismo presenta un ancho de $500\ \mu\text{m}$. La longitud del microcanal horizontal se determinó de forma arbitraria con la finalidad de poder observar mejor el comportamiento del sistema, se utilizó agua destilada y aceite mineral como fluidos para la generación de microgotas, las respectivas entradas de los fluidos en el sistema se pueden observar en la figura 23 (B).

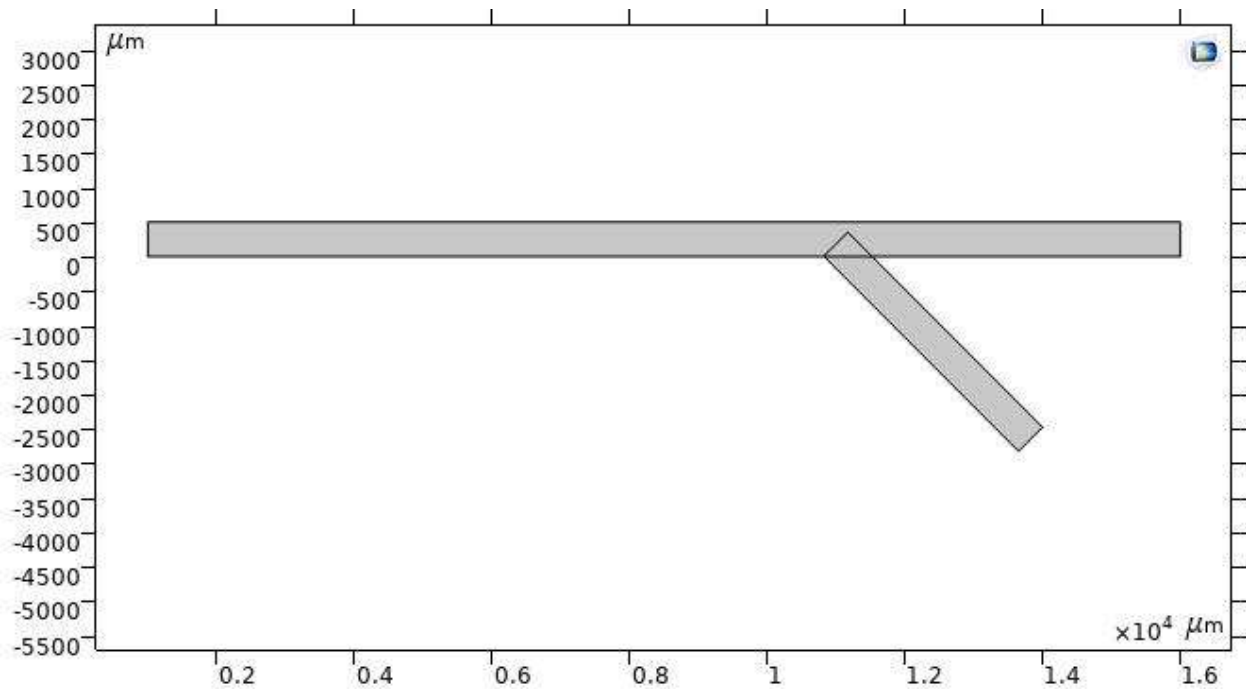


Figura 22. Dispositivo microfluídico tipo Y creado a través del software de simulación "COMSOL Multiphysics 5.5".



Figura 23. Ubicación de la entrada de los fluidos en los dispositivos generados en COMSOL. (A) Dispositivo microfluídico tipo cruz con una entrada de agua destilada en el microcanal horizontal y dos entradas de aceite mineral en los microcanales perpendiculares al flujo del agua. (B) Dispositivo tipo Y con una entrada de agua destilada en el microcanal horizontal y una entrada de aceite mineral en el microcanal inclinado a 45°

Para determinar el comportamiento de los fluidos en los dos diseños creados se realizaron simulaciones a través de la física de flujo laminar con el método de conjunto de niveles (*level set method*). El modelo seleccionado se estableció en el programa y se determinaron las condiciones de frontera y los parámetros de entrada discriminando la gravedad. Este modelo resuelve ecuaciones parciales de Navier-Stokes, así como las ecuaciones del método de conjunto de niveles. El método de conjunto de niveles modela el comportamiento de dos fluidos inmiscibles y su interacción al formar una interfase. La ecuación del método de conjunto de niveles que resuelve COMSOL para determinar el comportamiento de los fluidos al interactuar entre sí, está dado por la siguiente ecuación (Lei *et al.*, 2014):

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + u \cdot \nabla \phi = \gamma \nabla \cdot \left[\epsilon \nabla \phi - \phi(1 - \phi) \frac{\nabla \phi}{|\nabla \phi|} \right] \quad (1)$$

donde $\phi(x, t)$ es la función de ajuste de nivel, x es la coordenada del sistema, u es la velocidad (m/s), t es el tiempo (s), γ, ϵ son parámetros de estabilización numérica donde ϵ determina el grosor de la interfase y γ es el parámetro de re-inicialización. En este proyecto se utilizó $\phi = 0$ para la fase del fluido de aceite mineral, $\phi = 1$ para la fase del fluido de agua destilada y $\phi = 0.5$ como la interfase entre el aceite y el agua destilada. Así mismo, COMSOL resuelve simultáneamente la ecuación de Navier-Stokes y la ecuación de continuidad. La ecuación de Navier-Stokes es la base de la mecánica de fluidos y describe el movimiento tridimensional de un fluido viscoso (Connor, 2019), esta es una ecuación parcial de segundo orden, no lineal e inestable y la mayoría de sus soluciones son realizadas a través de sistemas computacionales. La ecuación (2) es la ecuación de Navier-Stokes aplicada para el comportamiento

laminar de los fluidos y la ecuación (3) la ecuación de continuidad para un flujo incompresible, esta última es necesaria para poder llegar a aproximar la solución analítica.

$$\rho \frac{\partial u}{\partial t} - \nabla \cdot [\mu(\nabla u + (\nabla u)^T)] + (\rho u \cdot \nabla u) + \nabla p = 0 \quad (2)$$

$$\nabla \cdot u = 0 \quad (3)$$

donde ρ es la densidad (kg/m^3), μ es la viscosidad dinámica ($\text{N}\cdot\text{s/m}^2$), u representa la velocidad (m/s) y p denota la presión en (Pa).

El cálculo de la viscosidad dinámica (μ) y la densidad (ρ) de cada fluido se realizó a través de la ecuación (4) y (5) y se basa en las características propias de cada fluido.

$$\rho = \rho_1 + (\rho_1 - \rho_2)\phi \quad (4)$$

$$\mu = \mu_1 - (\mu_1 - \mu_2)\phi \quad (5)$$

donde ρ_1, ρ_2, μ_1 y μ_2 son la densidad del aceite mineral, densidad del agua destilada, viscosidad del aceite mineral y la viscosidad del agua destilada, respectivamente.

Cada ecuación es resuelta por el software a través de la lógica computacional dado cada condición de frontera y parámetros iniciales seleccionados. En general, se varió la velocidad de entrada de cada fluido en los dos dispositivos por lo que es la única variable que tuvo diferentes valores. Para el dispositivo tipo cruz y tipo Y, se realizaron relaciones donde la velocidad del agua destilada iba cambiando y la velocidad del aceite se mantenía constante. Se obtuvo un factor a través de la división de la velocidad de entrada del aceite entre la velocidad de entrada del agua destilada $(\frac{\text{Velocidad}_{\text{aceite}}}{\text{Velocidad}_{\text{agua}}})$ hasta obtener un factor que produjera microgotas uniformes y con distancias de separación del orden de 5 a 10 micrómetros

3.3. Fabricación del Sistema Microfluídico para Pruebas Experimentales

Como se mostró en el diagrama de flujo en la figura 16, la fabricación de un sistema microfluídico consta de varios pasos, lo cuales se describen a continuación.

3.3.1. Fabricación de Mascarilla

Los diseños desarrollados que se describen en el apartado 3.1, se exportaron en un formato “.AI” (adobe ilustrador), el cual es una extensión que permite hacer modificaciones con software de edición. La selección de ese formato fue para facilitar la manipulación de los diseños en 2 dimensiones con el programa de edición “CorelDraw”. Este fue utilizado debido a la facilidad que tiene para convertir el archivo “.AI” en “.bmp” (imagen de mapa de bits). Los diseños se exportaron a un archivo tipo .bmp con una resolución de 3840x2160 pixeles en blanco y negro dicha resolución era necesaria para poder proyectar la imagen en el televisor. En las figura 24 y 25 se muestran los diseños convertidos a archivo .bmp a través del software de CorelDraw.

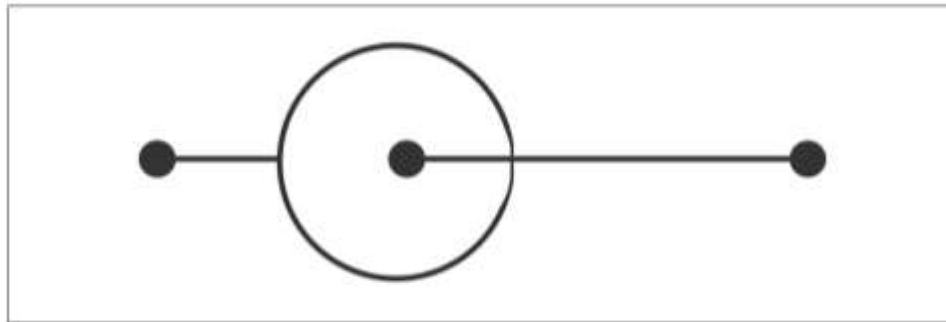


Figura 24. Diseño en 2 dimensiones del dispositivo microfluídico tipo cruz convertido a archivo .bmp en blanco y negro obtenido a través del software de diseño CorelDraw con resolución de 3840x2160 pixeles.

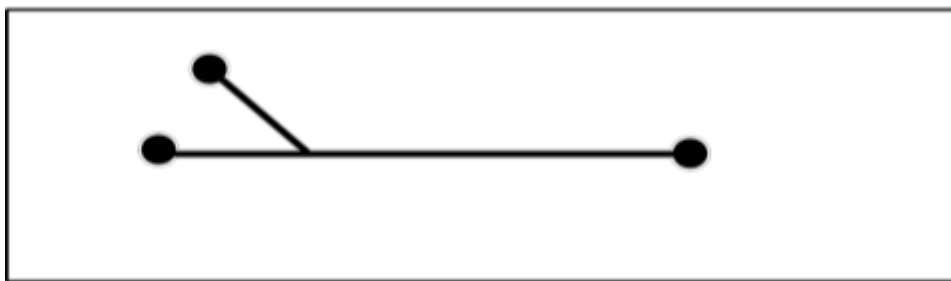


Figura 25. Diseño en 2D del dispositivo microfluídico tipo Y convertido a archivo .bmp en blanco y negro obtenido a través del software CorelDraw con resolución de 3840x2160 pixeles.

Cada diseño fue proyectado en un televisor con una resolución 3840x2160 pixeles (4k) en un cuarto oscuro con únicamente una cámara fotográfica analógica OMEGA VIEW 45E. La cámara se ubicó

frente al televisor en una posición específica (figura 26) de tal manera que capturarán las dimensiones a escala del diseño proyectado. Se expuso la película fotográfica contenido en la cámara a la luz procedente de la imagen del televisor, para plasmar el diseño el dispositivo en la película (figuras 26 y 27).

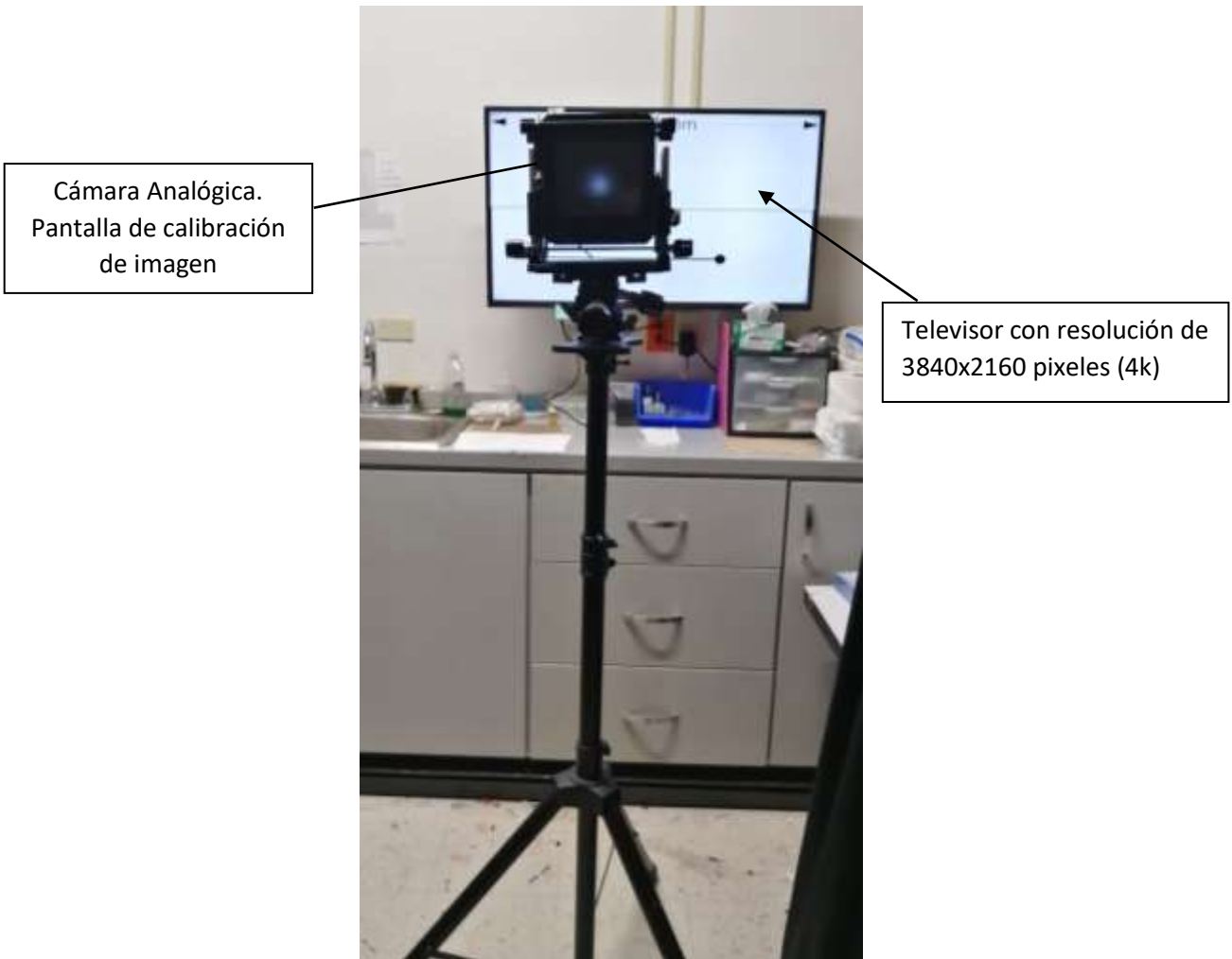


Figura 26. Vista posterior a la cámara análoga OMEGA VIEW 45 posicionada en la ubicación específica para capturar la imagen proyectada por el televisor.



Figura 27. Exposición del papel fotográfico a la luz proyectada del diseño del dispositivo tipo Y.

Posterior a ello, la película fotográfica con la imagen plasmada se reveló usando luz de seguridad (filtro rojo) para evitar la sobreexposición de la película fotográfica a la luz. Este proceso involucró el uso de cuatro líquidos; un revelador RAD 5 diluido 1:9 (agua destilada y concentrado de RAD 5), un enjuague (agua destilada), un fijador (“Rapid fixer kodak) y un líquido protector llamado “photo-flo”. Para el proceso de revelado, se sumergió la película fotográfica durante 1 min a 1.5 min de acuerdo con lo sugerido por (Clayton, 2001), posteriormente, se pasó la película al líquido de enjuague durante 30 segundos, seguido de eso, se sumergió en la disolución fijadora durante 5 min después de terminar el tiempo, se enjuagó nuevamente 30 segundos y finalmente, la película fotográfica se sumergió en el líquido protector photo-flo durante 1 min y secó con nitrógeno gaseoso. Esta metodología se aplicó para cada diseño. Como se puede apreciar en la figura 28, la película fotográfica adquirió el diseño de la imagen proyectada obteniéndose una mascarilla tanto para el diseño del dispositivo tipo cruz como el diseño del dispositivo tipo Y.

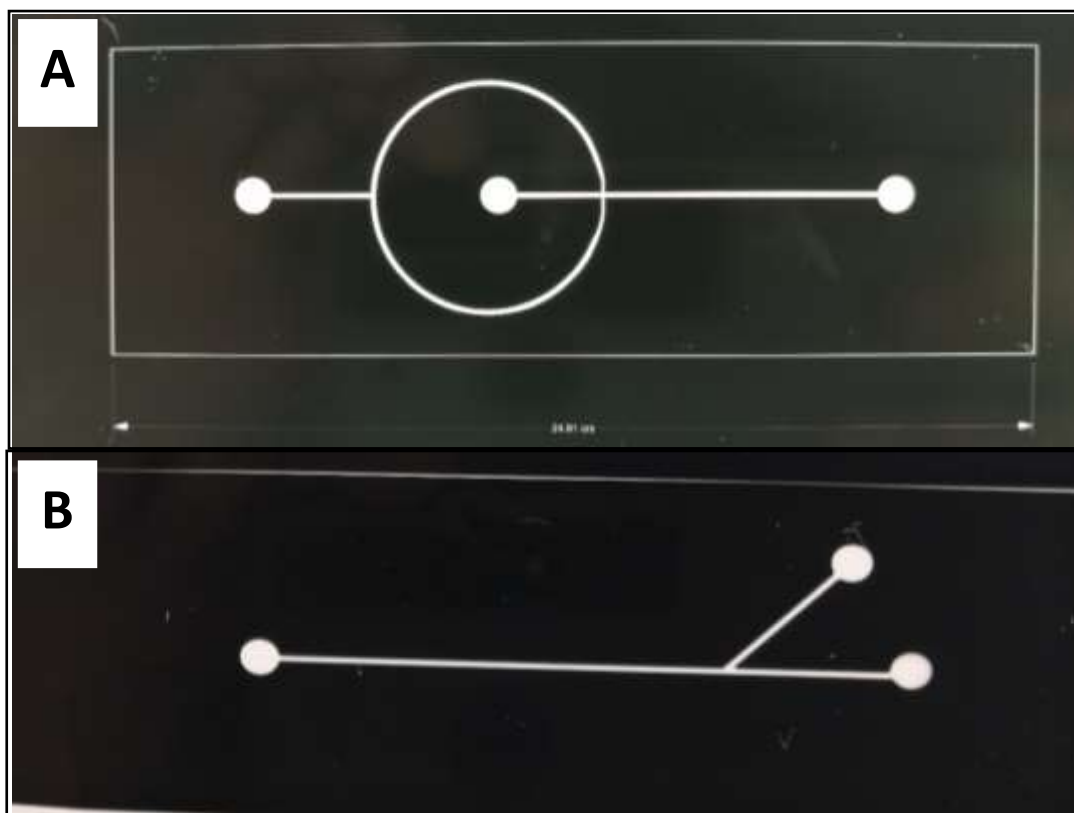


Figura 28. Mascarillas obtenidas para la fabricación del molde maestro para los dispositivos microfluídicos. (A) Mascarilla obtenida del dispositivo microfluídico tipo cruz. (B) Mascarilla obtenida del dispositivo microfluídico tipo Y.

3.3.2. Fabricación del molde (maestro)

Con las mascarillas obtenidas de los diseños de los dispositivos tipo cruz y tipo Y, se procedió a realizar el molde o también llamado molde maestro. El molde, como se mencionó anteriormente, tiene las características del dispositivo microfluídico a fabricar con PDMS. Este se realizó basada en la metodología propuesta por Stephan et al., 2007; SVA-NYC, 2015, la cual se modificó con fines prácticos y se describe a continuación.

Para obtener el molde de cada diseño, se realizó inicialmente una limpieza de sustratos como se menciona en el Anexo A. Fue necesario limpiar cada sustrato para obtener una superficie libre de grasa y libre de partículas que intervinieran en el proceso. Se utilizó la luz amarilla de seguridad como fuente de iluminación. Se realizaron cortes de la fotorresina “dry-film” en forma de rectángulos con las dimensiones de 25.4 mm x 76.2 mm, aproximadamente, para cada diseño y de cada corte se despegó una porción del

plástico protector dejando una cara de la fotorresina expuesta. La cara expuesta se puso en contacto con agua destilada, de tal manera que el pegamento obtuviera poca fuerza de adherencia. Posterior a ello, la zona expuesta se situó sobre un portaobjetos (sustrato) limpio y con una pistola de aire caliente, se roció sobre el dry-film-sustrato durante 30 segundos, tras hacerlo se aplicó fuerza en sobre el dry-film con ayuda de un rodillo de plástico. Este último procedimiento se repitió hasta obtener una adherencia adecuada entre el sustrato y el dry-film. Esta adherencia se logra observar tras retirar el segundo plástico protector del dry-film que no trae residuos de la fotorresina con él. Finalmente, sobre los sistemas dry-film-sustrato se sobrepuso en la cara expuesta del dry-film la mascarilla del dispositivo microfluídico. Posterior a eso, se introdujo en una cámara de exposición a luz UV en donde se irradió durante aproximadamente 2 minutos. Al finalizar este proceso, se retiró la mascarilla del sistema y se sumergió en una disolución de hidróxido de sodio al 3% hasta que el material restante se disolviera y únicamente prevaleciera el diseño inverso del dispositivo microfluídico y se secó con nitrógeno gaseoso. En la figura 29 se observa los maestros obtenidos para el dispositivo microfluídico tipo Y (A) y tipo cruz (B).

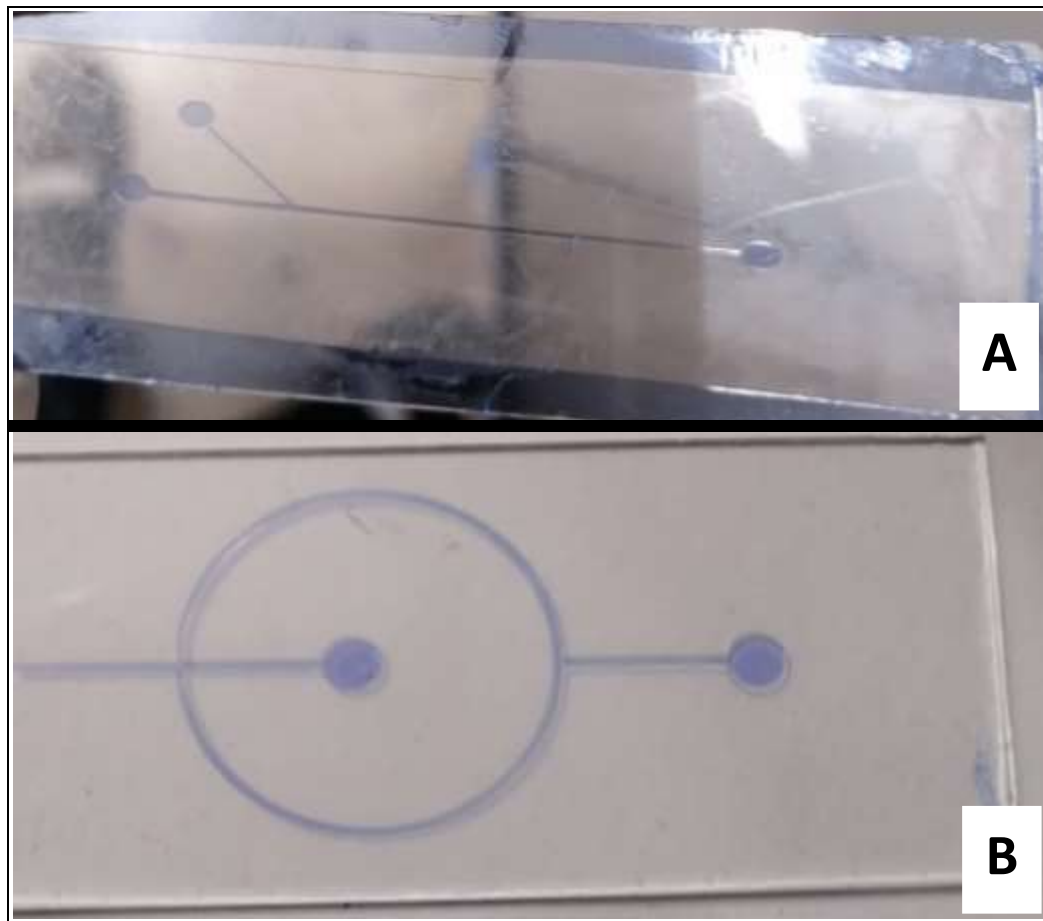


Figura 29. Fotografía de los maestros obtenidos para los dispositivos microfluídicos. (A) Maestro del diseño del dispositivo microfluídico tipo Y. (B) Maestro del diseño del dispositivo microfluídico tipo cruz.

3.3.3. Obtención del microcanal de polidimetilsiloxano (PDMS)

Para la creación de los dispositivos microfluídicos se necesitó plasmar el diseño en un polímero flexible, hidrofóbico y transparente, de tal manera que se pudiera utilizar y se lograra visualizar la entrada y la salida de los líquidos. Se seleccionó el polímero polidimetilsiloxano (PDMS) dado a las características que presenta. Se utilizó el kit de Dow Corning Sylgard 184, (figura 30-A), el cual lo compone un prepolímero de PDMS y un curador o endurecedor. Para la preparación del gel, se empleó la proporción recomendada por el fabricante (Corning, 2005) quien indica que debe de ser de 10 partes de prepolímero (Silicone Elastomer Base) y 1 parte de curador (Elastomer Curing).

Se pesaron 8 g de PDMS y 0.8 g de curador en una balanza analítica para obtener una proporción 10:1 y se mezcló en un vaso de plástico hasta que la proporción curador-PDMS fuese uniforme (figura 30, B y C). Posteriormente, con ayuda de una cámara de vacío, se extrajeron las burbujas producidas por el agitador con la finalidad de evitar imperfecciones en el gel de PDMS (figura 30-D). Se colocó la mezcla del prepolímero-curador en un molde de aluminio (figura 30-E) que contenía el maestro de cada dispositivo a crear y se introdujo en un horno con una temperatura de 300°F durante 45 min (figura 30-F). Una vez finalizado la etapa de horneado, se dejó enfriar y se cortaron los extremos del gel con una navaja de tal manera que no se recortara las zonas donde se encontraba plasmado el diseño y se perforaron orificios para la entrada y salida de fluidos. Este procedimiento se realizó para cada dispositivo (dispositivo tipo cruz y tipo Y).

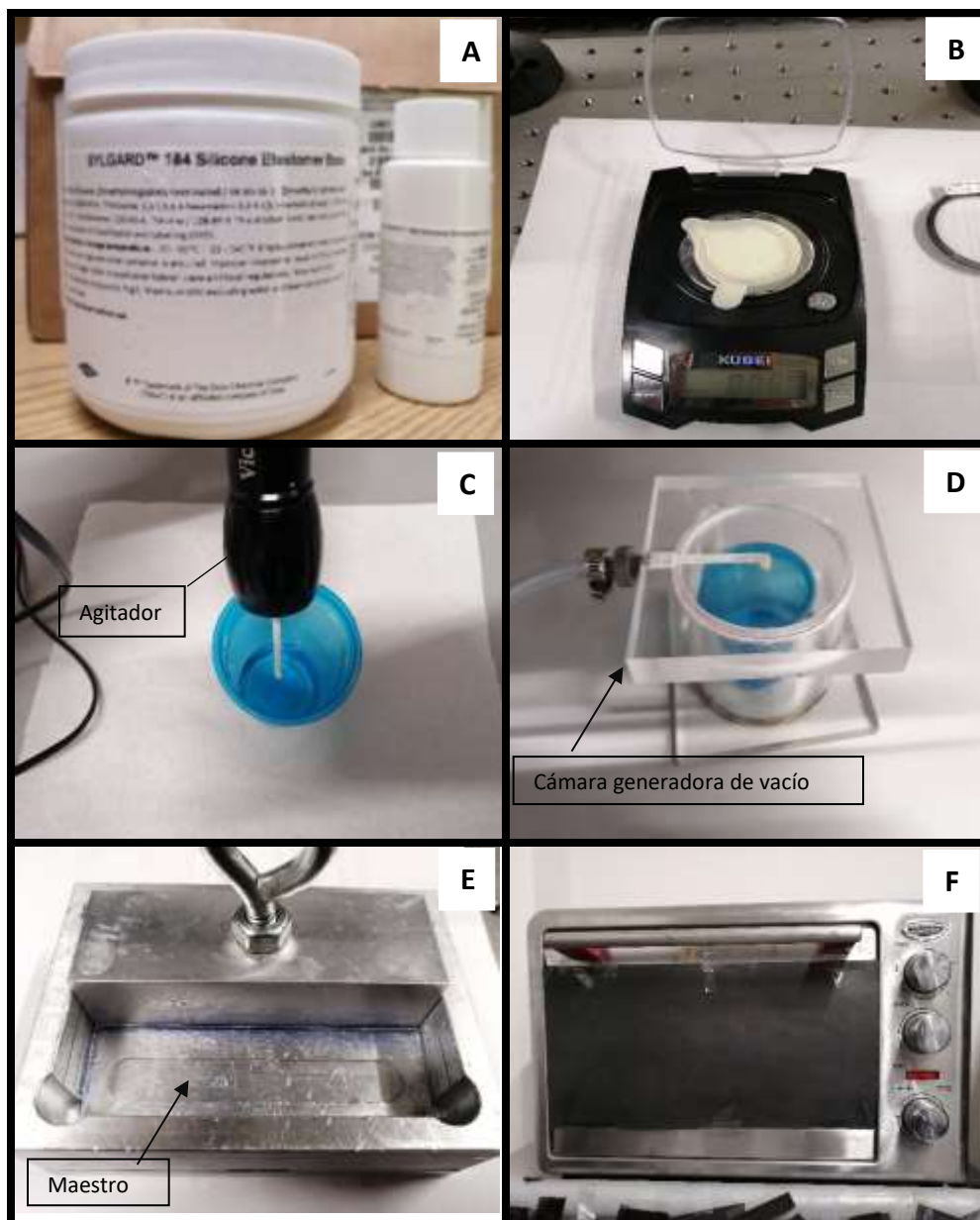


Figura 30. Esquema general del proceso de preparación y fabricación del gel de PDMS. (A) Kit SYLGARD utilizado para generar el polímero de PDMS, del lado izquierdo el prepolímero y del lado derecho el curador o endurecedor. (B) Balanza analítica utilizada para pesar la cantidad de prepolímero y curador. (C) Agitador casero y mezcla de prepolímero-curador contenido en el interior del vaso color azul. (D) Cámara de vacío (estructura de acrílico, transparente que contiene en el interior la mezcla prepolímero-curador) utilizada para extraer burbujas de aire. (E) Molde de aluminio con compartimiento especial para el maestro para del dispositivo microfluídico. (F) Horno utilizado para generar la reacción de polimerización del prepolímero-curador contenidos en el molde de aluminio.

3.3.4. Pegado del PDMS-sustrato

En el proceso de pegado, se unió el gel PDMS de cada diseño obtenido a un sustrato limpio. La unión se realizó a través de una pistola de plasma oxigenado. Se optó por este tipo de unión ya que ofrece mayor estabilidad y homogeneidad en la adherencia del PDMS con el sustrato. Una correcta adherencia permite que el flujo de los fluidos sea el adecuado de manera que no haya fugas y tanto la presión como la velocidad del fluido permanezcan constantes, por tanto, el proceso de pegado a través del uso de plasma oxigenado fue la opción más viable para obtener uniones fuertes y estables. El plasma oxigenado es producido a través de una pistola, ésta tiene en uno de sus extremos un electrodo que al pasar una alta corriente ($I > 500A$) se produce una nube densa de electrones, iones, átomos y moléculas (Tan & Tao, 2019), lo que ocasiona una ionización del aire circundante creando una especie de plasma localizado o corona (figura 32) (Haubert *et al.*, 2006).

En la figura 31 se muestra la pistola utilizada para el proceso de unión y pegado de los dispositivos microfluídicos. Para generar la unión entre los dos sólidos (PDMS y sustrato), se utilizó la pistola de plasma modelo BD 50 de Electro-Technic Products y se empleó el electrodo mostrado en la figura 30. Se irradió el PDMS en la zona que presentaba el diseño del dispositivo deseado, de la misma manera, se irradió un lado del sustrato (portaobjetos) que se encontraba previamente lavado como se indica en el anexo A. El tiempo de exposición al plasma tanto del gel de PDMS como del sustrato fue de 10 minutos cada uno. Tras haber concluido con ese tiempo se mantuvieron unidos a una presión constante durante 24 horas. En la figura 33 se observa las uniones obtenidas de los dispositivos microfluídicos. Esta unión es producida debido a que el plasma genera una oxidación de la superficie del PDMS, lo que expone a los grupos silanol en la superficie del PDMS y que al juntarse con el sustrato produce un enlace covalente siloxano (Si-O-Si) (Eddings *et al.*, 2008). Esta unión produjo una fuerte adherencia entre el sustrato y el gel de PDMS lo que permitió operar el sistema con mayor libertad.



Figura 31. Pistola de corona de plasma. En la parte superior se observa el regulador de voltaje y controlador. En la parte inferior se observa la pistola de plasma con electrodo de cable arqueado.

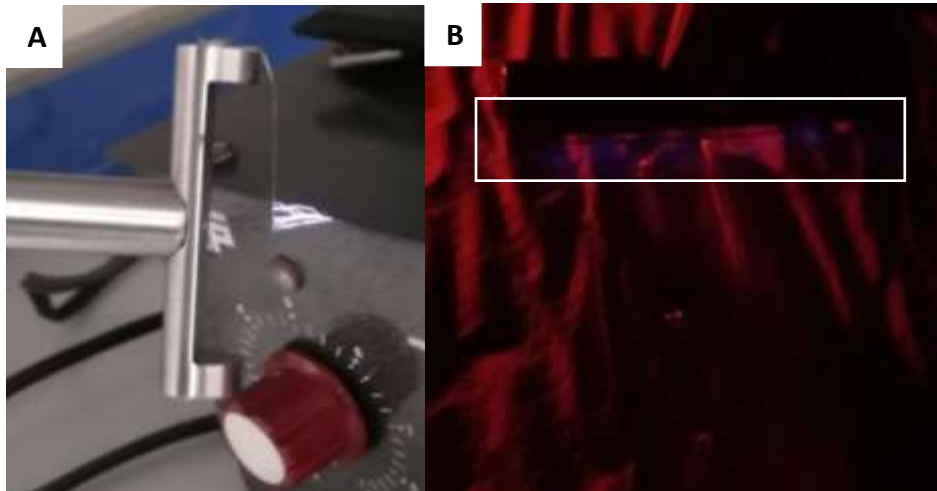


Figura 32. Electrodo de arco generando plasma obtenido por el alto voltaje y la ionización del aire. (A) Arco de plasma expuesto al contacto con un material metálico. (B) Arco de plasma expuesto al dispositivo microfluídico PDMS en presencia de poca luz.

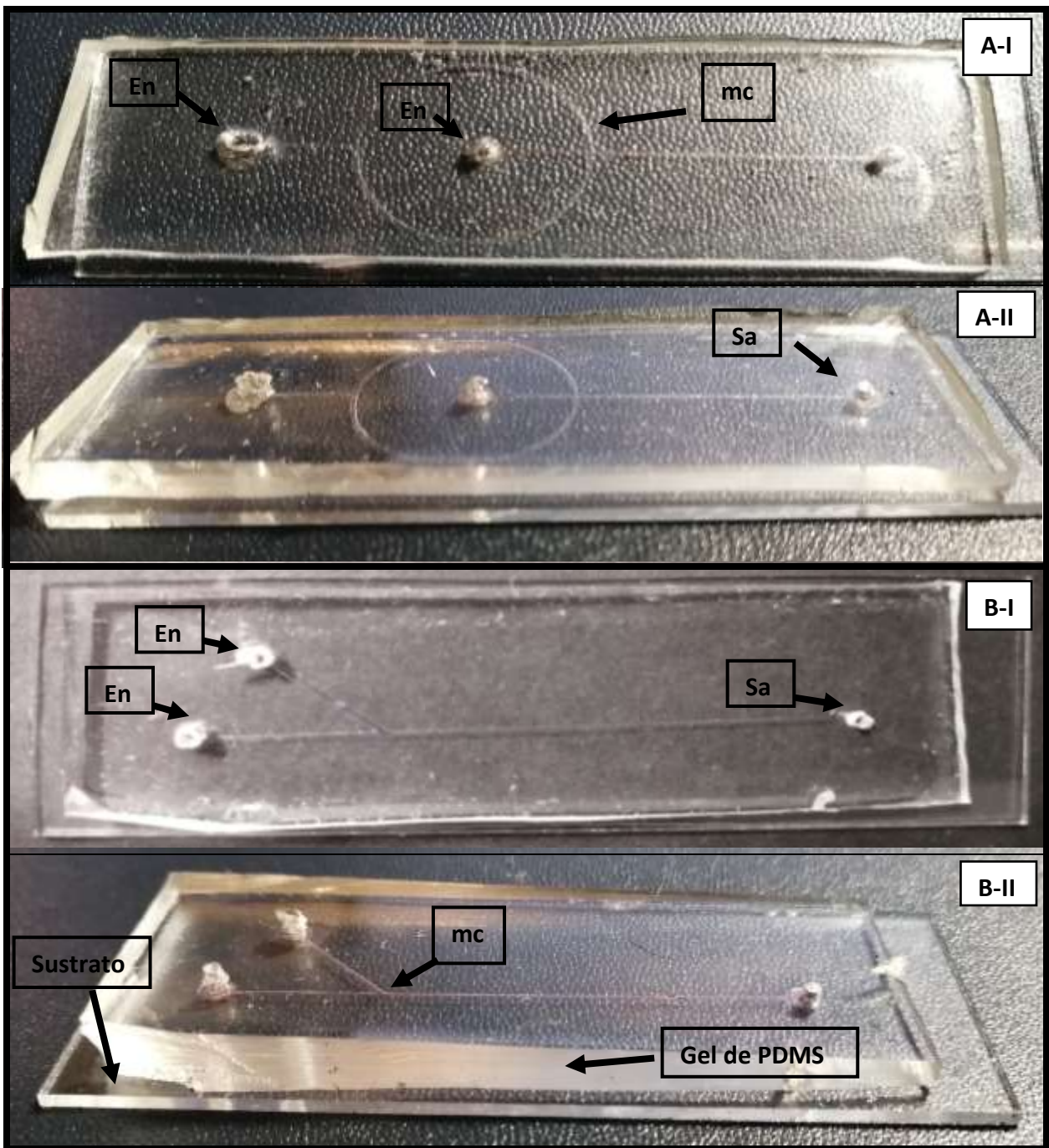


Figura 33. La figura A-I es la imagen de la parte superior del dispositivo microfluídico tipo cruz, así como la figura A-II es la parte anterior del mismo dispositivo. La figura B-I es la imagen de la parte superior del dispositivo microfluídico tipo Y. La figura B-II es la parte anterior del mismo. Cada dispositivo presenta orificios creados con la finalidad de permitir la entrada y salida de los fluidos dentro de los sistemas. (En=Entrada de fluido, Sa=Salida de fluido y mc=microcanal)

3.3.5 Instalación de los dispositivos microfluídicos

Los dispositivos microfluídicos tanto el tipo cruz como el tipo Y, se colocaron en un microscopio invertido marca Nikon modelo eclipse Ti como el que se muestra en la figura 34. Se instalaron los dispositivos microfluídicos sobre la platina del microscopio para su visualización. Para el transporte de los fluidos como el aceite mineral y el agua con colorante, se utilizaron mangueras y puntas de micropipeta automática con capacidad de 200 microlitros. Para el almacenamiento de los fluidos se utilizaron jeringas con volúmenes de 1 ml, 3 ml y 5 ml empleando diferentes configuraciones, de tal manera que se obtuvieran las microgotas a través de distintos caudales. Los líquidos se bombearon por medio de una microbomba marca Syringe Pump Multi-Phaser modelo NE-4000, la cual permitía utilizar dos jeringas al mismo tiempo, lo que permitió bombear los fluidos con un mismo caudal (figura 35). En las figuras 36 y 37 se observa la configuración utilizada para el ingreso de los fluidos en cada dispositivo microfluídico. Se modificaron los caudales de la microbomba hasta obtener las microgotas deseadas empleando un intervalo de caudal de 200 hasta 600 microlitros por hora.

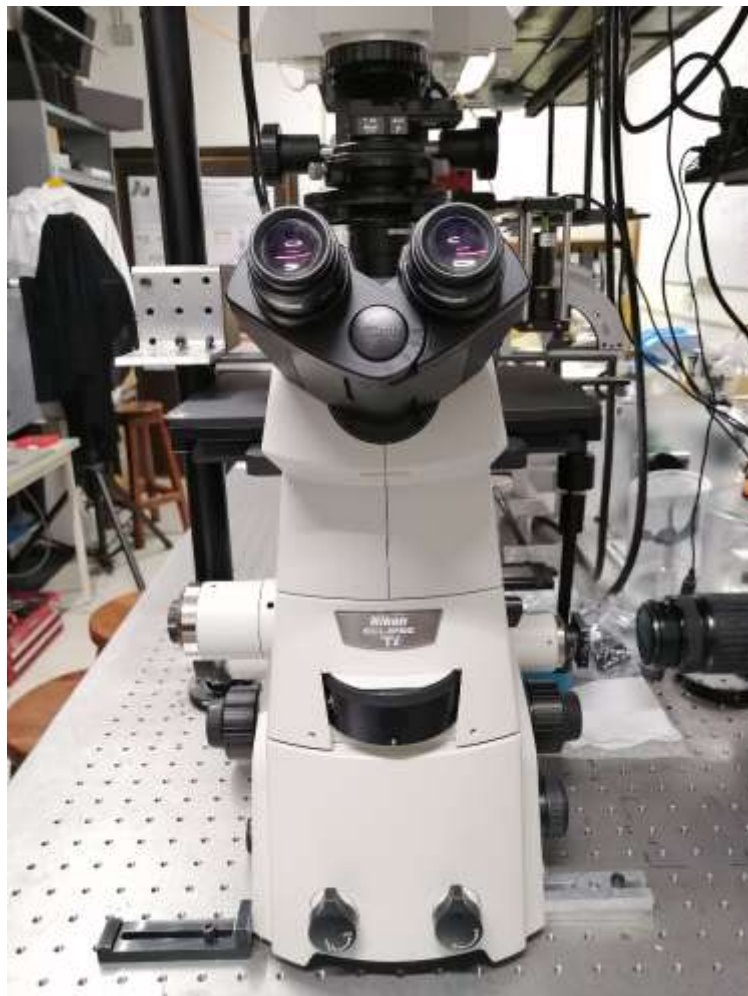


Figura 34. Microscopio invertido Nikon ECLIPSE Ti utilizado para la visualización de las gotas generadas por los dispositivos microfluídicos.



Figura 35. Microbomba Syringe Pump Multi-Phaser NE-4000 utilizada para impulsar el aceite mineral y el agua destilada con colorante.

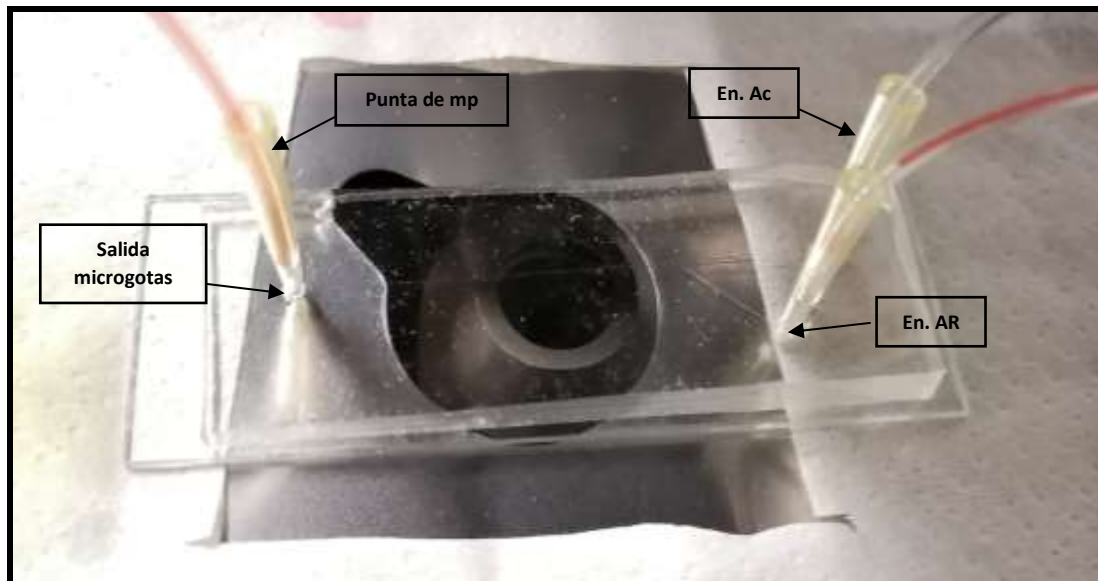


Figura 36. Dispositivo microfluídico unión tipo Y instalado sobre la platina del microscopio. Cada manguera de entrada de los fluidos desemboca en una punta de micropipeta para facilitar la adherencia de la manguera a los dispositivos.. (En. Ac= Entrada de aceite mineral, En. AR= Entrada de agua destilada con colorante rojo y mp=micropipeta).

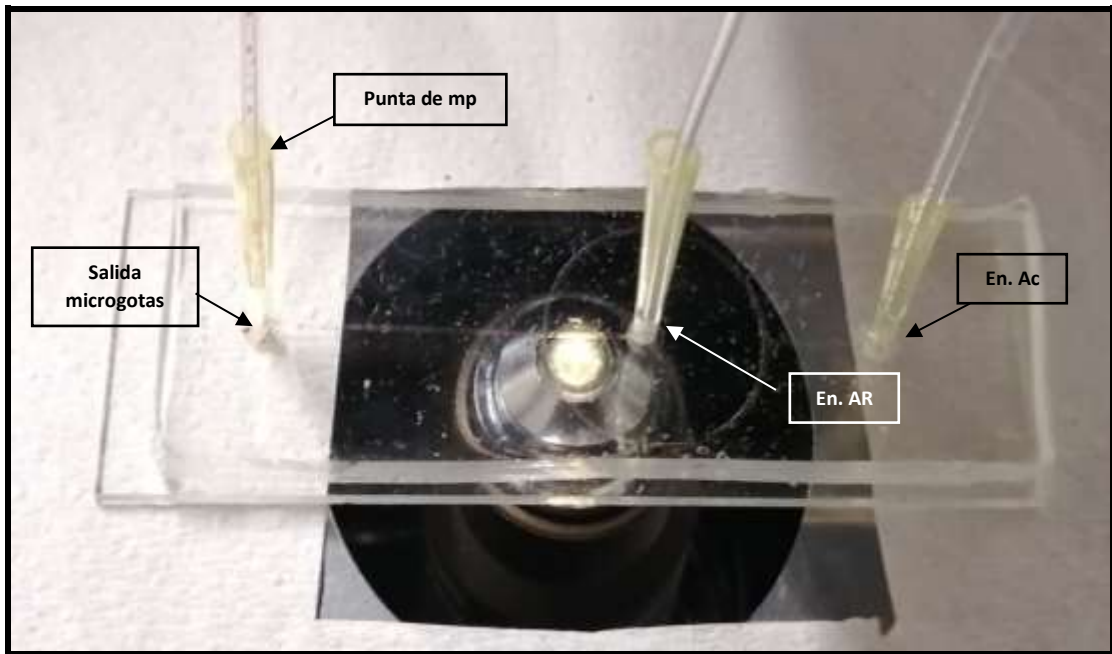


Figura 37. Dispositivo microfluidico tipo cruz instalado sobre la platina del microscopio. Cada manguera de entrada de los fluidos desemboca en una punta de micropipeta para facilitar la adherencia de la manguera a los dispositivos. (En. Ac= Entrada de aceite mineral, En. AR= Entrada de agua destilada con colorante rojo y mp=micropipeta).

Capítulo 4

4. Resultados

En este capítulo se muestran los resultados obtenidos de la generación de microgotas de agua destilada con colorante e inmersas en aceite mineral. Se muestran los resultados de simulaciones computacionales y de experimentos realizados en el laboratorio

4.1 Resultados de las simulaciones computacionales

Como se mencionó anteriormente, las simulaciones se realizaron a través del software de elemento finito “COMSOL Multiphysics”. Inicialmente se creó la simulación para el diseño tipo cruz y posteriormente en dispositivo tipo Y, en ambos se varió la velocidad de los fluidos para observar la generación de microgotas. Se buscó la formación de microgotas de agua destilada recubiertas con una capa de aceite mineral, que presentaran una adecuada distancia de separación de entre cada una de ellas.

4.1.1 Dispositivo microfluídico tipo cruz

A) Análisis del comportamiento de la velocidad, presión y distancia de separación de microgotas

Primeramente, se evaluó cuál era el intervalo de velocidades en donde se producían microgotas y cuáles eran los límites de producción, esto se realizó con la finalidad de establecer las velocidades aplicables de forma experimental en el laboratorio. En la Tabla 1 se muestra un resumen general de las relaciones encontradas, así como las velocidades asociadas a cada fluido, si produjeron o no microgotas y la tasa de formación asociada a cada relación (para conocer la tabla 1 completa, ver anexo B). La tasa de formación se determinó como la cantidad de microgotas obtenidas por cada minuto de simulación. Se estableció como constante la velocidad del aceite mineral debido a que se observó que ésta proporcionaba la presión de corte del flujo necesaria para generar las microgotas de agua destilada con recubrimiento de aceite mineral. Los datos de la tabla 1 se graficaron (figura 42) con el propósito de evaluar visualmente el comportamiento del sistema. Se excluyó la velocidad del aceite mineral debido a que ésta no presentaba variación en los parámetros de entrada.

En la Figura 38 se muestran los primeros resultados obtenidos de las simulaciones numéricas del modelo creado para el sistema tipo cruz. En ella se empleó una relación de velocidad 10:1 aceite mineral: agua (5 mm/s para el aceite mineral y 0.5 mm/s para el agua destilada). La simulación presenta 4 etapas que fueron seccionadas de acuerdo a la evolución de la microgota. En ella se muestran una escala de colores de 0 (azul fuerte) a 1 (rojo vino) asociadas a los fluidos en simulación. El valor 1 (rojo vino) representa al aceite mineral y el valor 0 (azul fuerte) representa el agua destilada.

En la figura 38-I se observa el aceite mineral (color rojo) en contacto directo con al agua destilada (color azul) sin producir la fuerza necesaria para obstruir el flujo del agua. En la figura 38-II se muestra que el aceite mineral produjo una obstrucción total del flujo del agua destilada creando un dominio sobre el microcanal central. En la figura 38-III permanece el mismo fenómeno que en la figura II, sin embargo, se observa un ligero empuje del agua destilada, con una mayor interacción con el aceite mineral. Finalmente, en la figura 38-IV se observa la generación de una microgota (color azul en el interior y amarillo al exterior) de agua destilada recubierta por aceite mineral. El color amarillo de la microgota es la representación que COMSOL crea para mostrar gráficamente las interfaces de líquido-líquido o líquido-gas por lo que en la microgota generada se muestra la interfase líquido-líquido creado por el agua destilada (azul) y el aceite mineral (rojo). La microgota obtenida fue agua rodeada de aceite mineral y fue generada tras pasar 2 segundos de simulación.

Tabla 1. Parámetros utilizados en función de la relación (aceite mineral/agua destilada) para la obtención de microgotas en el dispositivo microfluídico tipo cruz.

Relación	Velocidad del agua destilada (mm/s)	Velocidad del aceite mineral (mm/s)	¿Hubo formación de microgotas?	Tasa de formación de microgotas (microgotas/min)
0.76	6.5	5	No	0
1	5	5	Si	300
1.3	3.8	5	Si	240
2	2.5	5	Si	180
3.3	1.5	5	Si	120
5	1	5	Si	90
8	0.625	5	Si	60
10	0.5	5	Si	45
40	0.125	5	Si	15

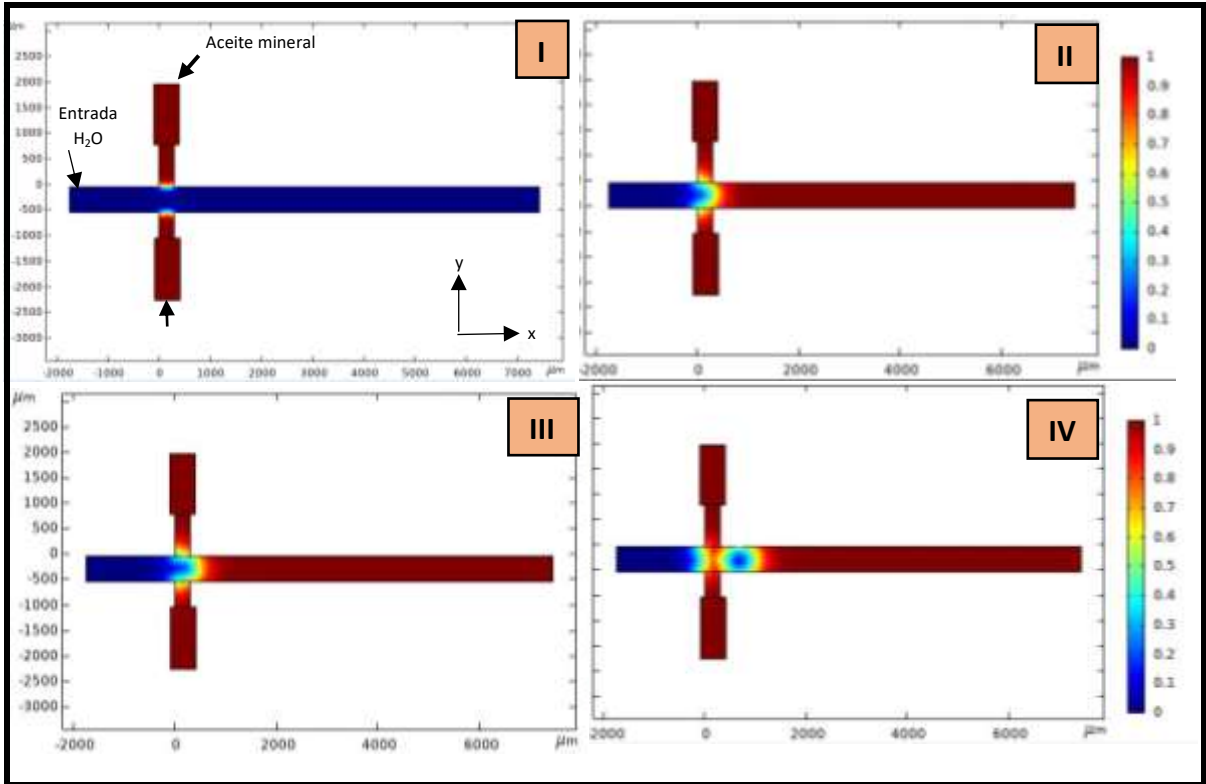


Figura 38. Simulación del sistema microfluídico tipo cruz a temperatura de 20°C, vel. aceite mineral= 5 mm/s y vel. agua= 0.5 mm/s, de t=0 a t=1 s. (I) Se muestra la entrada de aceite mineral (color rojo) y su interacción con el agua destilada (color azul) con dirección perpendicular al flujo del aceite. (II) Se observa el comienzo del corte del flujo del agua destilada provocada por la interacción del aceite mineral, creando la interfase agua-aceite (color amarillo). (III) Se muestra mayor interacción entre los fluidos produciendo el cuello de la microgota. (IV) Se observa la formación de la microgota de agua destilada (azul oscuro) con una interfase aceite mineral (verde-amarillo) que fluye en dirección a la salida del sistema

Adicionalmente, con la finalidad conocer el comportamiento de la presión y de la velocidad para el sistema anterior, se generó un mapa de presión y un mapa de velocidad para el dispositivo microfluídico en el momento donde se creó la microgota mostrada en la figura 38- IV. Los esquemas generados se muestran en la figura 39 y 40. En la figura 39 se presentan un diagrama del perfil de velocidades con líneas de flujo, se observan zonas donde la interacción agua-aceite presenta una mayor velocidad ya que las líneas de flujo (líneas gruesas) se encuentran muy próximas entre ellas, esto además, se confirma debido a las diferentes coloraciones obtenidas en el mapa de velocidades, dentro de las cuales se muestra el color rojo intenso, color que representa la velocidad máxima obtenida en todo el sistema, aproximadamente 12×10^{-3} m/s

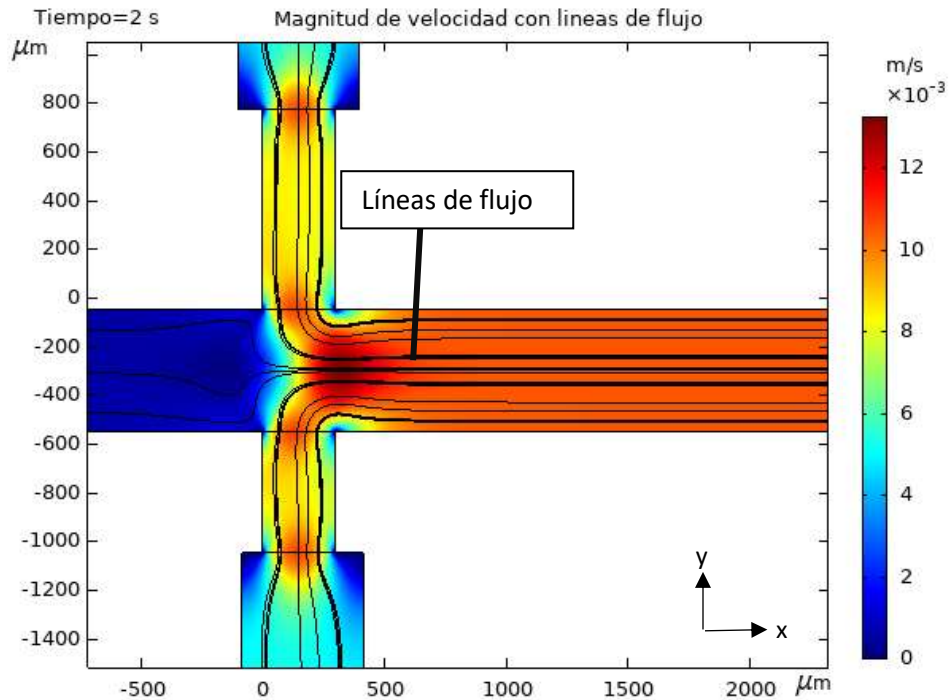


Figura 39. Perfil de velocidad con líneas de flujo del sistema microfluídico.

Del mismo modo, en la figura 40 se muestra un mapa de presiones del dispositivo microfluídico, en él se puede notar que las presiones en las entradas del aceite mineral fueron las más altas registradas según la escala, con aproximadamente 954.7×10^{-3} atm de presión y en la medida que el agua destilada y el aceite mineral se expandían en la superficie de contacto, la presión fue disminuyendo hasta obtener valores cercanos a -38.24×10^{-3} atm lo que indica que la presión en esa zona fue menor a la atmosférica.

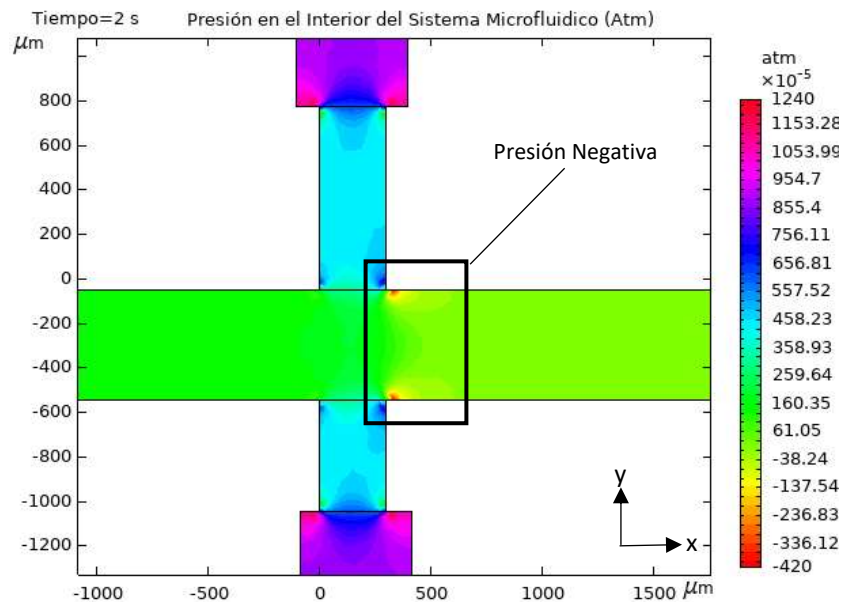


Figura 40. Mapa de presiones internas en atm del sistema microfluídico. El recuadro negro señala la región donde la presión alcanza sus límites más bajos en la escala.

Como se observó en las figuras 39 y 40, la velocidad disminuye en las zonas donde la presión es mayor y en aquellas regiones donde la velocidad es menor, la presión es aumenta. Este fenómeno es explicado por el principio de Bernaoulli que indica que aquellos puntos de presión elevada en la trayectoria que recorre un fluido, la velocidad del fluido en dichos puntos será menor, del mismo modo, las regiones en las que el fluido presenta mayor velocidad serán aquellas regiones que tendrán menor presión.

Asimismo, se observó que las simulaciones generaban presiones negativas (recuadro negro, figura 40) justamente en las regiones y en los momentos donde las microgotas se comenzaban a producir. Es interesante mencionar que esto presenta relación con lo publicado por Teo *et al.*, 2017, quienes crearon un sistema experimental “a demanda” (On-demand) para generar microgotas utilizando presiones negativas como método de generación. Ellos reportaron que dentro de los intervalos de -98.6 hasta -493.4 mAtm de presión, se generaban microgotas funcionales (Teo *et al.*, 2017). Estos hallazgos publicados coinciden con los resultados obtenidos en la simulaciones de este proyecto, y pueden ser indicativos de una relación en donde la presión negativa juega un papel importante en la tasa de generación de microgotas.

Por otra parte, se valoró la diferencia que había entre cada microgota generada en el punto de contacto entre los dos fluidos, es decir, la distancia de separación obtenida entre cada microgota producida por el modelo. Este parámetro se consideró importante dado que determina la forma que las microgotas tendrán tras terminar su recorrido en el microcanal. Diferencias pequeñas pueden producir unión de dos o más gotas, lo que afectaría en la forma final de cada una de ellas. Por ello, se realizó una evaluación de algunos modelos seleccionando aquellos que presentaron bajas, medianas y altas tasas de producción de microgotas. Esto con el objetivo de analizar cuáles de ellas producían distancias de separación considerables para evitar uniones y colapsos.

En la figura 41 se muestran tres modelos seleccionados. Como se mencionó, cada modelo se clasificó de acuerdo a la tasa de producción de microgotas asociada. El modelo (A) con tasa baja (15 microgotas por minuto) y velocidad de entrada de 0.125 mm/s presentó una distancia de separación de 7.5 mm, aproximadamente, entre cada microgota. En el caso del modelo (B) con tasa mediana (210 microgotas por minuto), se le introdujo una velocidad de entrada de 3 mm/s produciendo una distancia de separación de 4 mm entre cada microgota, la cual es considerablemente favorable para prevenir unión entre microgotas. Finalmente, el modelo (C) con tasa alta (360 microgotas por minuto) y velocidad de entrada de 6 mm/s obtuvo una distancia de separación de 2.5 mm entre cada microgota.

Se logra observar que los modelos presentan una asociación entre la velocidad, la tasa de producción y la distancia de separación. Para los tres modelos (A, B, C, fig 41) la velocidad de entrada del aceite fue aumentando (modelo A=0.125 mm/s, modelo B= 3 mm/s y modelo C= 6mm/s) y la tasa de producción de microgotas aumentó del mismo modo demostrando cierta relación velocidad de entrada-tasa de producción. Sin embargo, al comparar la velocidad de entrada contra la distancia de separación y, la tasa de producción de microgotas contra la distancia de separación, los modelos presentaron un comportamiento contrario. Se observó que en la medida que aumenta la velocidad de entrada, la tasa de producción de microgotas era mayor y la distancia entre cada microgota producida era menor como se muestra en la figura 41 (Modelo A, B y C). Considerando únicamente la velocidad de entrada del fluido (ya que a partir de ella depende la tasa de producción), se observó que mientras más aumenta la velocidad, la distancia de separación entre cada microgota disminuye, demostrando una proporcionalidad inversa entre la velocidad de entrada y la distancia de separación entre cada microgota.

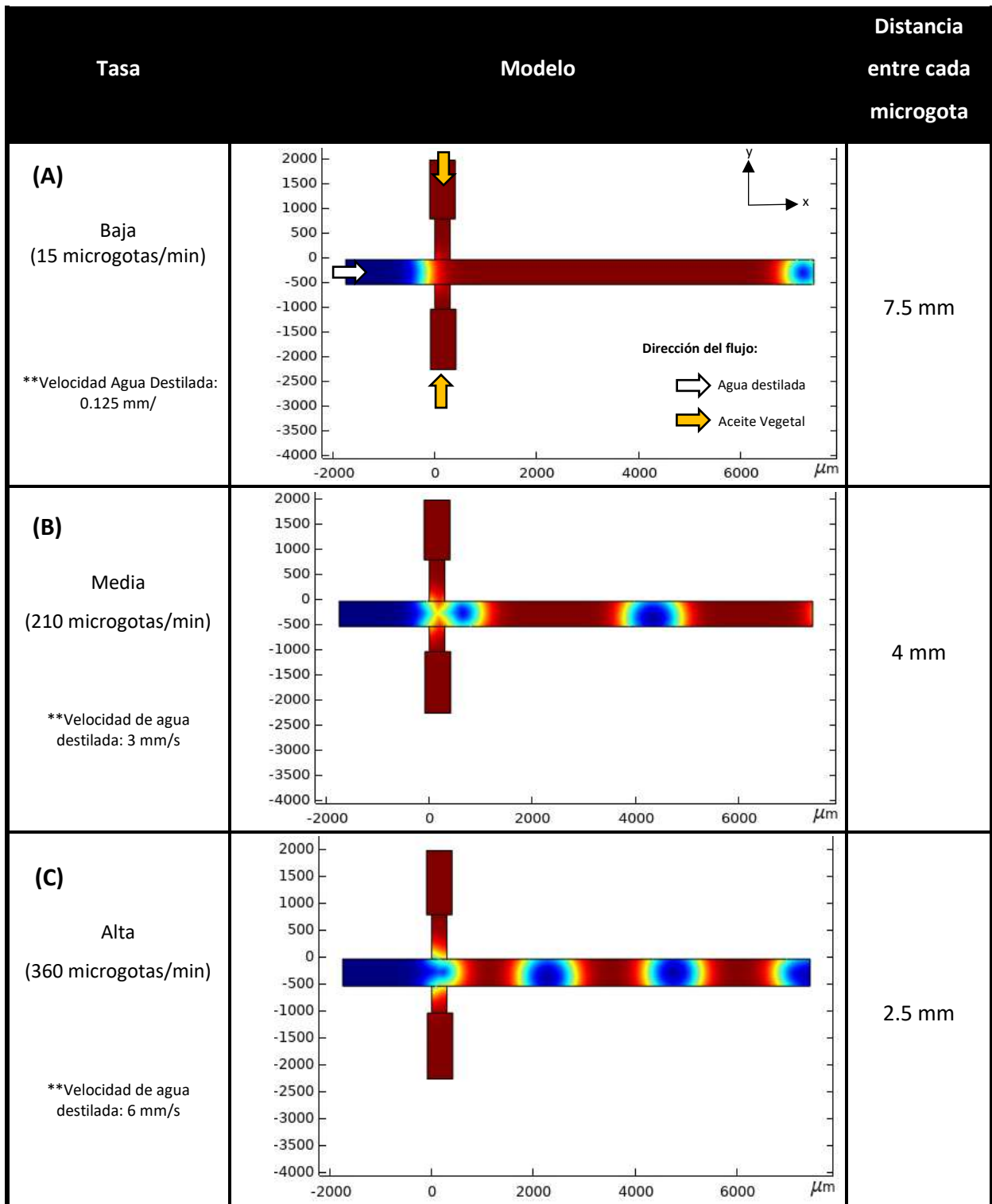


Figura 41. Tabla comparativa del modelo microfluídico tipo cruz a diferentes tasas de producción de microgotas; (A) Tasa baja (15 microgotas por minuto), (B) Tasa media (210 microgotas por minuto) y tasa alta (360 microgotas por minuto).

B) Análisis de relación velocidad y tasa de formación de microgotas

Por otro lado, los resultados generales obtenidos de la tabla 1 (anexo B-I) se graficaron con la finalidad de estudiar el comportamiento del sistema, detectar tendencias o desviaciones atípicas. En la figura 42 se muestran los resultados de tasa de producción de microgotas en función de la velocidad del agua.

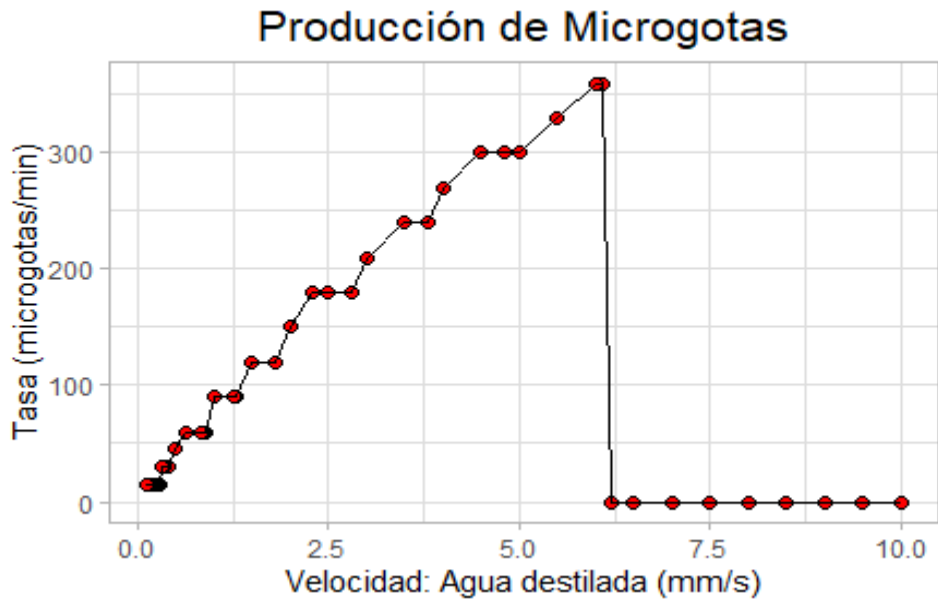


Figura 42. Resultados obtenidos del dispositivo tipo cruz mediante el simulado en COMSOL. Datos obtenidos tras la evaluación del desempeño del sistema microfluídico mediante la variación de la velocidad del agua destilada con la velocidad del aceite mineral constante (5 mm/s).

Se utilizó un amplio intervalo de velocidades de entrada del agua destilada, que fueron desde 0.125 mm/s hasta 10 mm/s obteniéndose tasas de 0 microgotas por minuto hasta tasas máximas de 360 microgotas por minuto. Durante todo ese intervalo la velocidad del aceite mineral permaneció constante (5 mm/s).

En la figura 42 se muestra una tendencia de aparente linealidad con abrupta caída a cero para aquellos valores de velocidad iguales o superiores a 6.2 mm/s. Para un intervalo de velocidades que comprende 0.125 mm/s a 6.1 mm/s, la tasa de producción de microgotas presentó un comportamiento ascendente obteniendo tasas cercanas a cero en aquellas velocidades aproximadas a 0.125 mm/s hasta tasas máximas de 360 microgotas/min con velocidades de 6.1 mm/s. Es interesante mencionar que para ese intervalo el modelo se comporta de forma lineal hasta llegar a la velocidad crítica (6.2 mm/s) en la cual la tasa de producción decae a cero.

Como se mencionó, con el fin de identificar la correlación de posible linealidad existente entre la velocidad del agua destilada y la tasa de producción de microgotas, se crearon y se compararon dos modelos de regresión para encontrar el que mejor se ajustara al comportamiento del sistema. Para esto únicamente se utilizaron el intervalo velocidad que produjo microgotas que van desde 0.125 mm/s hasta 6.1 mm/s.

Se realizaron gráficas de dispersión con la finalidad de visualizar cual tendencia se ajustaba mejor. En la figura 43 se muestran dos gráficos de dispersión, en el primero (fig. 43-I), una función lineal de primer orden y en el segundo (fig. 43-II), una función de segundo orden. En ambos se presenta una tendencia aparente que puede ajustarse al comportamiento del sistema. Para verificar cual era el modelo que matemáticamente se ajustaba mejor al comportamiento del sistema, se generaron dos modelos (lineal y cuadrático) en el software estadístico R y se desplegaron los resúmenes estadísticos, los cuales se muestran en la tabla 3.

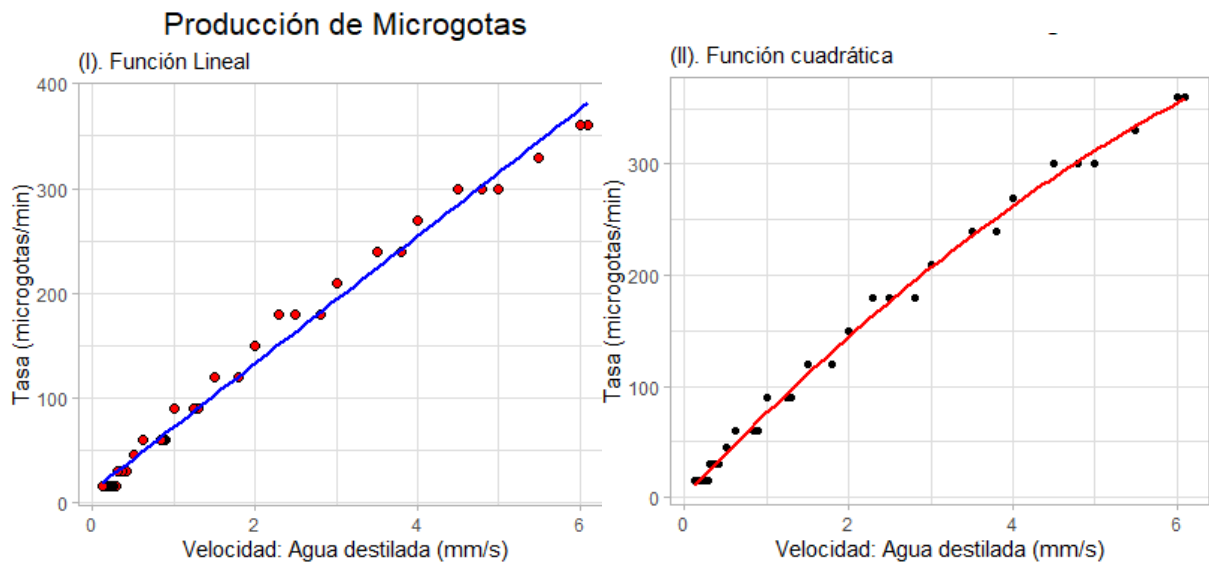


Figura 43. Gráficos de dispersión. Correlación lineal de primer orden (I) y Correlación polinomial de segundo orden (II).

Tabla 2. Resumen de modelos utilizados con estadísticos. Parámetros obtenidos con el software R.

Modelo	Coeficientes						Estadístico F (p<0.05)	R ² ajustada
	Intercepto estimado	P-valor (p<0.05)	Velocidad (variable independiente estimada)	P-valor (p<0.05)	Velocidad ²	P-valor (p<0.05)		
Lineal	10.964	0.00013	60.78	<2x10 ⁻¹⁶	NA	NA	3636, p<2.2x10 ⁻¹⁶	0.9894
Cuadrático	1.3954	0.505	77.95	<2x10 ⁻¹⁶	-3.1722	<2x10 ⁻¹⁶	4517, p<2.2x10 ⁻¹⁶	0.9957

Como se observa en la tabla 2, ambos modelos presentan una F significativa que demuestra que la variable “velocidad” tiene la capacidad de explicar el sistema en cuestión. Del mismo modo, el modelo

lineal presenta los coeficientes con $p < 0.05$ lo que implica que tanto el intercepto como la variable “velocidad” se ajustan adecuadamente a los datos. A pesar de ello, el modelo cuadrático es el que presenta una R^2 ajustada cercana al 1 y una homogeneidad en la distribución de los datos con respecto a la línea de tendencia. Evaluado lo mencionado, se puede concluir que un polinomio de segundo orden explica mejor del sistema microfluídico tipo cruz. Por lo tanto, la ecuación que mejor describe el comportamiento de los datos del sistema microfluídico tipo cruz es la siguiente:

$$Tasa = 77.95(velocidad) - 317.22(velocidad^2) + 1.3954 \quad (6)$$

donde la tasa está dada en microgotas/ min, y la velocidad en mm/s.

Es importante mencionar que tras superar la velocidad crítica (velocidad del agua destilada superior a 6.2 mm/s) el modelo computacional produjo inestabilidad de Rayleigh-Plateau en forma de ondulaciones, tal como se muestra en la figura 44. Esto concuerda con lo reportado por Tenorio-Barajas *et al.*, (2019), quienes registraron que se producía dicha inestabilidad cuando la velocidad de entrada del agua era superior a la velocidad de entrada del aceite. Esto es consistente con lo encontrado en este proyecto, ya que valores de velocidad de entrada del agua destilada ligeramente superiores a la velocidad de entrada del aceite mineral (>5 mm/s) producían dicha inestabilidad.

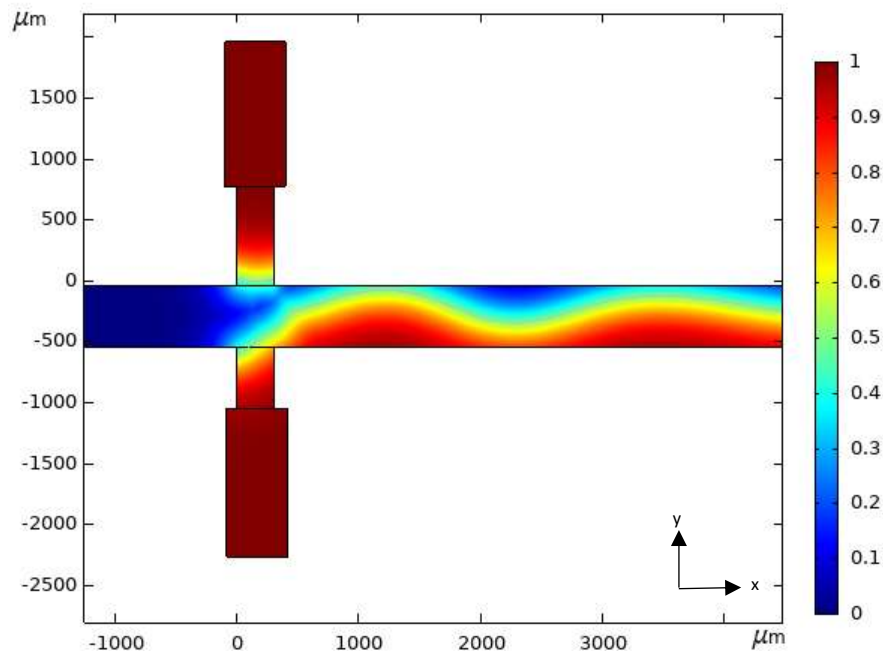


Figura 44. Inestabilidad de Rayleigh-Plateau producida en forma de ondulaciones. Grafico obtenido al terminar 2 segundos de simulación, se despreció la fuerza de gravedad, a 20°C y con velocidades de entrada: agua destilada 6.3 mm/s y aceite mineral 5 mm/s.

4.1.1 Dispositivo microfluídico tipo Y

Para el segundo modelo creado, el cual fue el modelo microfluídico con geometría tipo Y. Se utilizaron las velocidades mostradas en el anexo B, sin embargo, se muestra un resumen general de algunas de las velocidades utilizadas en este sistema (Tabla 4).

Tabla 3. Resumen general de los parámetros utilizados en el modelo del sistema microfluídico con geometría tipo Y.

Relación	Velocidad del aceite mineral (mm/s)	Velocidad del agua destilada (mm/s)	¿Hubo formación de microgotas?	Tasa de formación de microgotas (microgotas/min)
0.5	10	5	No	0
5	1	5	No	0
10	0.5	5	No	0
20	0.25	5	No	0
40	0.125	5	No	0

Se determinó fijar la velocidad del agua destilada a 5 mm/s y se utilizó al aceite mineral como el fluido de velocidad variable.

Como se muestra en la tabla resumen (tabla 3) y en los datos completos (anexo B), los parámetros de entrada utilizados no produjeron microgotas. Sin embargo, se logró observar un régimen predominante en todo el sistema a pesar de variar escaladamente la velocidad del aceite mineral.

En la figura 45 se muestra los resultados obtenidos del modelo, estos se seleccionaron de acuerdo a la relación calculada (velocidad del agua destilada/velocidad del aceite mineral) esto con la finalidad de mostrar las diferentes relaciones obtenidas y evidenciar la respuesta asociada del sistema ante tales parámetros de entrada.

En la fig 45-A, se observa que el fluido de aceite mineral tiene la velocidad dos veces mayor que la del agua destilada, se posicionó en casi en todo el canal central generando un interfase entre el aceite mineral y agua destilada con un desplazamiento del agua destilada hacia las periferias del microcanal central. Este desplazamiento es evidente dado que el aceite mineral es inmisible y presenta mayor velocidad que el agua. En el caso cuando la relación de velocidades es 1 como se observa en la fig 45-B, los fluidos interactúan generando una interfase y en la cual, ambos circulan en el centro del microcanal sin que ningún fluido produzca sobre el otro, un desplazamiento a las periferias. En el caso cuando la velocidad del agua destilada es 10 veces mayor que la del aceite mineral (fig 45-C), el dominio del

microcanal es tomado por el agua destilada desplazando al aceite mineral hacia la periferia del microcanal central y minimizando el flujo del aceite mineral en el microcanal. Cuando la velocidad del agua destilada llega a ser de 20 a 40 veces mayor (fig 45- D y E) que la del aceite mineral, la participación del aceite se ve limitada, de tal manera que su flujo por el microcanal llega a ser insignificante.

Una de las posibles causas que produjeron que el sistema no generara microgotas fue el diseño. El diseño seleccionado jugó un papel clave dado que no fue capaz de generar el esfuerzo cortante necesario y romper la tensión superficial del agua, para así producir microgotas. Debido a que el flujo era laminar, era necesario disminuir más el ancho del microcanal del aceite mineral, de esta forma, la velocidad aumentaría y la superficie de contacto del aceite mineral con el agua destilada sería mayor. Además, el ángulo de contacto del microcanal de aceite fue otro factor determinante para generar microgotas, a mayor ángulo, mayor interacción aceite mineral-agua destilada, lo que permitiría mayor contacto entre fluidos y mayor posibilidades de generar obstrucciones del flujo del agua destilada (Venkateshwarlu & Bharti, 2022).

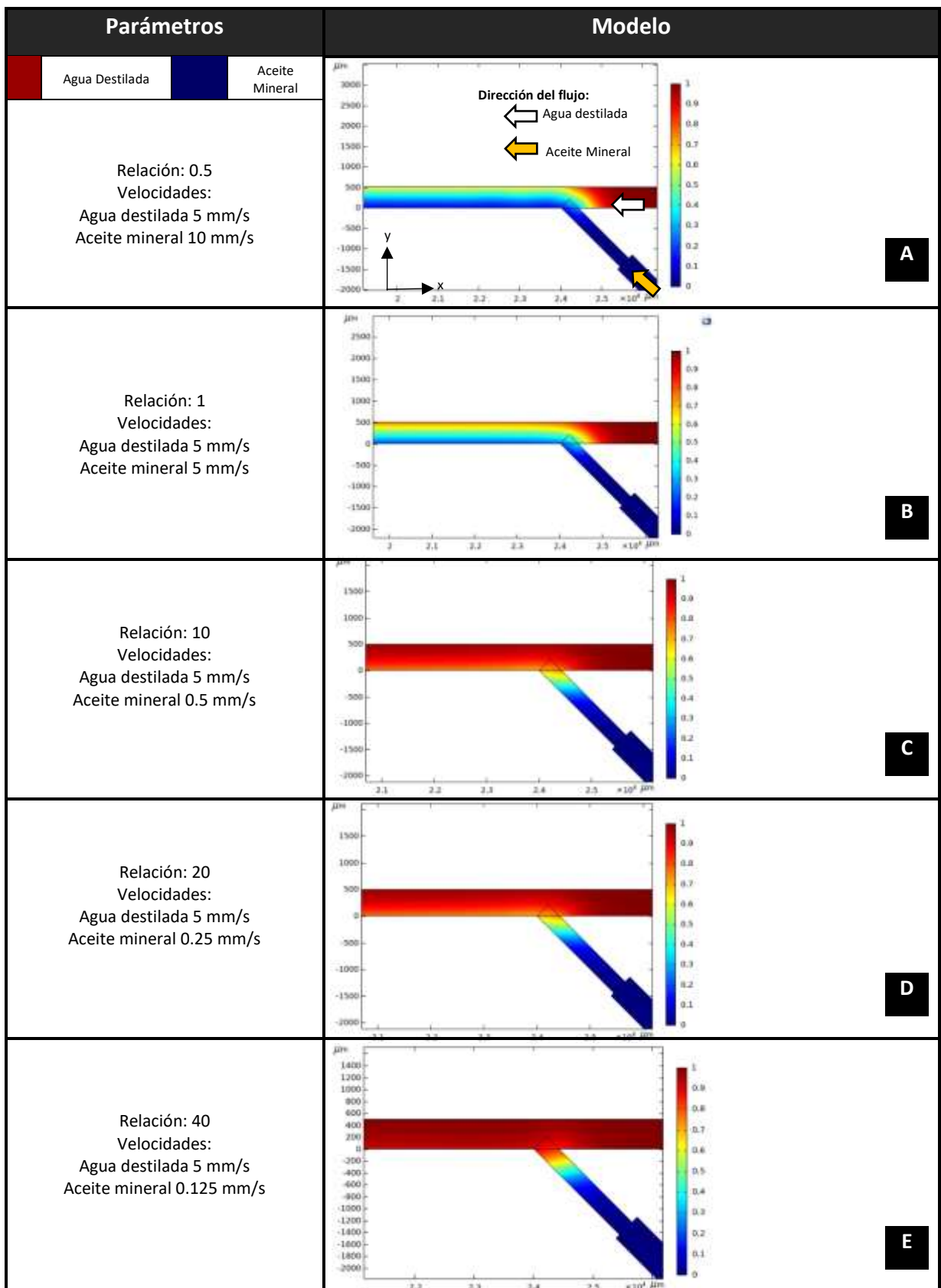


Figura 45. Resultados obtenidos del modelo microfluidoico con geometría tipo Y en condiciones de 20°C y tras terminar 2 segundos de simulación, Color guinda= agua destilada y color azul= aceite mineral. La flecha de color amarillo indica la dirección de flujo del aceite mineral y la flecha de color blanco indica la dirección de flujo del agua destilada.

4.2. Resultados experimentales

En esta sección se muestran los resultados experimentales de los dos sistemas microfluídicos desarrollados en este trabajo de tesis, el sistema microfluídico con geometría tipo “Y” (figura 35) y el sistema tipo cruz (figura 36).

4.2.1 Sistema Microfluídico tipo Cruz

El sistema microfluídico tipo cruz que se muestra en la figura 36, fue sometido a diferentes caudales de flujo mediante el intercambio de jeringas con los distintos volúmenes utilizados. Se emplearon tres diferentes volúmenes de jeringas graduadas marca BD con volúmenes de 1 ml, 3 ml y 5 ml. Para el agua con colorante se seleccionó una sola jeringa marca BD de 3 ml cuyo uso fue constante para la mayoría de los experimentos realizados. La configuración utilizada para este sistema se muestra en la tabla 4. En esta tabla se observan los arreglos utilizados en el sistema, las velocidades en función de los caudales en cada configuración y la tasa de producción de microgotas por minuto

Tabla 4. Configuración de arreglo de jeringas y caudales utilizados en el sistema microfluídico tipo cruz.

Sistema Microfluídico Tipo Cruz						
Agua con colorante			Aceite Mineral			
Jeringa	Caudal (μL/h)	Velocidad (μm/s)	Jeringa	Caudal (μL/h)	Velocidad (μm/s)	Tasa (microgotas/min)
3 mL	220	0.97	1 mL	220	3.52	0
	320	1.42		320	5.12	0
	420	1.85		420	6.72	2.76
	520	2.29		520	8.32	0.72
	620	2.73		620	9.93	0
3 mL	220	0.97	3 mL	220	0.97	0
	320	1.42		320	1.42	0
	420	1.85		420	1.85	0
	520	2.29		520	2.29	0
	620	2.73		620	2.73	0
3 mL	220	0.97	5 mL	220	0.54	0
	320	1.42		320	0.78	0
	420	1.85		420	1.03	0
	520	2.29		520	1.28	0
	620	2.73		620	1.52	0

En la tabla 4 se muestran las velocidades de cada jeringa, la cuales fueron distintas a pesar de obtener el mismo caudal de flujo. Esto fue debido a que el diámetro de cada jeringa utilizada era diferente para cada volumen de capacidad y de acuerdo a la ecuación de caudal (7) al despejar para S, la velocidad de cada fluido estuvo dada en función del caudal de flujo y de la sección transversal en donde circula (8).

$$Q = V * S \quad (7)$$

donde Q es el caudal , V es la velocidad del fluido y S es la sección transversal que recorre el fluido.

Durante los experimentos se evaluó la funcionalidad particular del sistema de cada configuración utilizada y se encontró que para gran mayoría de los caudales utilizados la tasa de producción de microgotas obtenida fue cero pero para aquellas configuraciones donde se utilizó una jeringa de 3 ml para el fluido con colorante y una de 1 ml para el fluido de aceite mineral, la producción de microgotas obtenida fue diferente de cero. Esto se encontró específicamente en el arreglo de jeringas con volúmenes de 3 ml y 1 ml con un caudal de 420 $\mu\text{L/h}$ donde se obtuvo una tasa de producción de microgotas de 2.76 microgotas por minuto. Para el mismo arreglo pero con un caudal de 520 $\mu\text{L/h}$ la tasa de producción decreció significativamente, obteniéndose una tasa de 0.72 microgotas por minuto, aproximadamente dos unidades por debajo de la tasa de producción obtenida con el caudal anterior.

La figura 46 muestra una fotografía de uno de los resultados obtenidos del sistema. El arreglo utilizado para esa configuración fue de jeringas de 3 ml y de 1 ml para el agua con colorante y aceite mineral, respectivamente. Las velocidades obtenidas dados a los caudales fueron de 1.85 $\mu\text{m/s}$ para el agua con colorante y 6.72 $\mu\text{m/s}$ para el aceite mineral. Con respecto al agua con colorante, la velocidad del aceite mineral fue 3.7 mayor que la del agua con colorante, esto es consistente con lo obtenido en las simulaciones numéricas. En contraste con los resultados de la figura 47, donde la velocidad del agua con colorante fue constante y la velocidad del aceite mineral varió hasta 8.32 $\mu\text{m/s}$, 4.5 veces mayor que la velocidad del agua con colorante, se obtuvo una tasa de producción de 0.72 microgotas/min, tasa dos cifras menor que la tasa anterior.

Los dos experimentos presentaron una relación de velocidades de 0.27 con un régimen compresivo predominante. A pesar que ambos arreglos presentaron la misma relación de velocidades, la velocidades de cada fluido cambiaron. El agua con colorante cambió a una diferencia de 0.44 $\mu\text{m/s}$, así como la velocidad del aceite mineral que cambio a una diferencia de 1.6 $\mu\text{m/s}$, dichos cambios impactaron significativamente a la tasa de formación de microgotas. Adicionalmente, se observó una variabilidad en la forma en que se producen las microgotas. Inicialmente en ambos arreglos se produjo una cabeza de microgota con elongación predominante y en el caso específico del arreglo de la figura 46, se observó que la elongación se produjo a una distancia de 2000 micrómetros de la zona de intersección de los fluidos. En comparación con el arreglo de la figura 47, el cual se generó casi en la zona de intersección de los fluidos. Esto puede ser un indicador de una relación entre las velocidades de los fluidos y la tasa de

formación de microgotas, la cual está intrínsecamente ligada a la manera en que se forma la microgota en el dispositivo microfluídico.

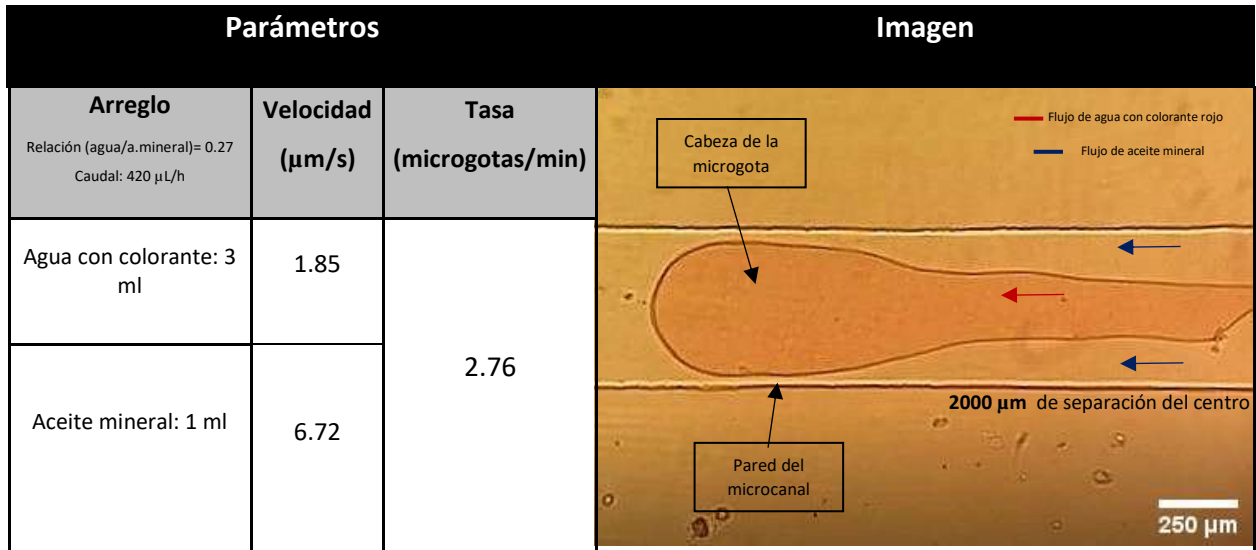


Figura 46. Fotografía de una microgota formada en el sistema microfluídico tipo cruz a una tasa de producción de 2.76 microgotas/min

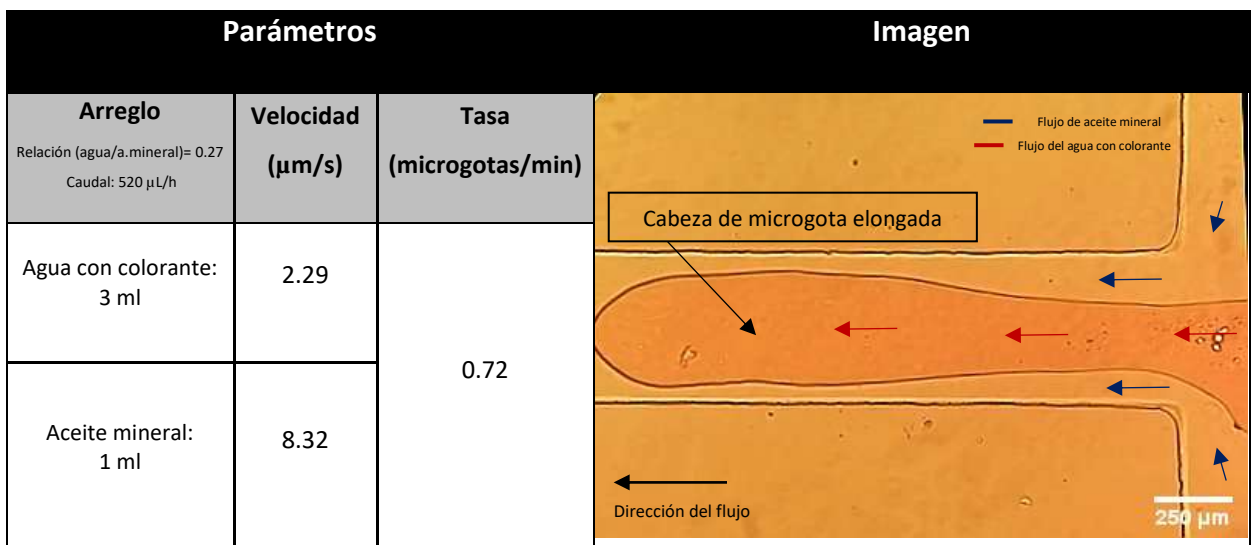


Figura 47. Fotografía de una microgota formada en el sistema microfluídico tipo cruz a una tasa de producción de 0.72 microgotas/min.

Una de los argumentos que pueden sostener dicha conexión es el reportado por Zhang *et. al*, (Y. Zhang & Liu, 2012; Zhu & Wang, 2016). Zhang *et. al*, registraron que el régimen compresivo es uno de los cinco tipos de regímenes pasivos que han sido asociadas a las relaciones pequeñas de velocidades (fig 48-I) y que a causa del esfuerzo cortante obtenido por la diferencia de velocidades, éste cambia a un “régimen de goteo” (fig 48-II), el cual lleva a la producción constante de las microgotas. Este cambio de régimen está mayormente asociado a la variación en la relación de las velocidades o caudales de los fluidos, dicha relación se basa en la división de la velocidad del fluido discontinuo entre la velocidad del fluido continuo (en nuestro caso Relación velocidad= $V_{\text{agua}}/V_{\text{aceite}}$). En relaciones pequeñas, el cambio del régimen compresivo al régimen de goteo se lleva acabo a una distancia cercana a la zona “cruz” la cual es la zona de cruce entre los dos fluidos, y para relaciones mayores, el cambio de régimen se produce después de la zona de intersección entre los fluidos (Y. Zhang & Liu, 2012). Esto explica el comportamiento obtenido en la figura 47, el cual cambia de un régimen compresivo a un régimen de goteo muy cerca de la zona “cruz” de intersección con una relación de velocidades de 0.27.

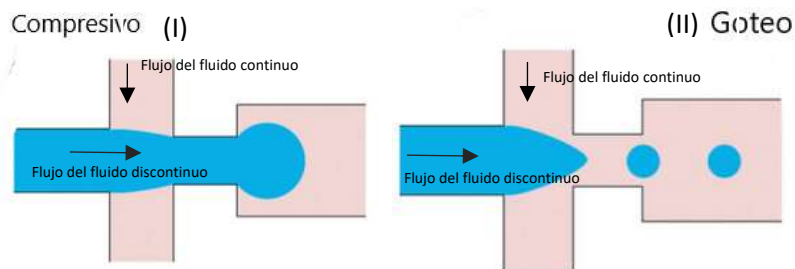


Figura 48. Visualización del régimen compresivo (I) y régimen de goteo (II).

Algo importante a destacar es que a pesar de tener la misma relación de 0.27, el comportamiento del arreglo mostrado en la figura 46 fue contrario a lo mencionado por los autores, se sostiene que debido a que las velocidades que fueron menores en comparación con la figura 47, la formación de microgotas se produjo posterior al punto de intersección. A unos aprox 500 μm , esto se pudo producir dado a la acumulación del flujo, generándose la presión necesaria para romper la tensión superficial del fluido y producir el esfuerzo cortante requerido para generar las microgotas. Por otro lado, un factor determinante encontrado que pudo propiciar a que esto ocurriera fue la irregularidad intrínseca asociada al sistema microfluidico. Las irregularidades minúsculas pero significativas de las paredes del microcanal central, podrían ser una pieza clave para ocasionar la formación de microgotas a una distancia considerable del punto de contacto entre ambos fluidos, esto puede deberse al choque continuo de los

fluidos sobre tales irregularidades. Cabe mencionar que tales irregularidades están asociadas a errores inherentes del método de fabricación.

4.2.2 Sistema Microfluídico Tipo Y

Para el sistema microfluídico con geometría tipo Y, se utilizó el conjunto de configuraciones que se muestran en la tabla 7. La velocidad en la jeringa del agua con colorante se mantuvo constante por conveniencia de manera que se modulara únicamente las jeringas del aceite mineral para obtener velocidades diferentes entre cada arreglo. Como se muestra en la tabla 7, para el caso del sistema en cuestión, ningún arreglo produjo microgotas íntegras con los parámetros utilizados. En la figura 49 se muestra una fotografía del sistema microfluídico tipo Y, utilizando un objetivo de 40x, para una configuración de jeringas de 3 ml para agua con colorante y 1 ml para el aceite mineral, con velocidades de $2.73 \mu\text{m/s}$ y $9.93 \mu\text{m/s}$, respectivamente. Se observa la obstrucción del flujo del agua con colorante debido a la velocidad que presenta el aceite mineral, la cual es mayor para este arreglo utilizado. En esta fotografía se logra observar una nula formación de microgotas y presentó una espontánea discontinuidad en el flujo del agua con colorante.

La figura 50 muestra una fotografía de la zona de intersección de los fluidos con un amplio campo de visualización. Se utilizó una cámara convencional digital adaptable para el microscopio y se empleó un objetivo de 40x para visualizar el campo. Se utilizó un arreglo de jeringas de 3 ml para el aceite mineral y para el agua con colorante empleando una velocidad de $1.85 \mu\text{m/s}$ para ambos fluidos. Sin embargo, como se muestra en la tabla 8, el sistema no obtuvo formación de microgotas, en cambio, se creó una reducción y obstrucción del flujo del agua con colorante debido al aceite mineral que repelía al agua de forma constante. μ

Tabla 5. Conjunto de configuraciones utilizadas en el sistema microfluídico tipo Y

Agua con colorante			Aceite mineral			Tasa (microgotas/min)
Jeringa	Caudal (μL/h)	Velocidad (μm/s)	Jeringa	Caudal (μL/h)	Velocidad (μm/s)	
3 mL	220	0.97	1 mL	220	3.52	0
	320	1.42		320	5.12	0
	420	1.85		420	6.72	0
	520	2.29		520	8.32	0
	620	2.73		620	9.93	0
3 mL	220	0.97	3 mL	220	0.97	0
	320	1.42		320	1.42	0
	420	1.85		420	1.85	0
	520	2.29		520	2.29	0
	620	2.73		620	2.73	0
3 mL	220	0.97	5 mL	220	0.54	0
	320	1.42		320	0.78	0
	420	1.85		420	1.03	0
	520	2.29		520	1.28	0
	620	2.73		620	1.52	0

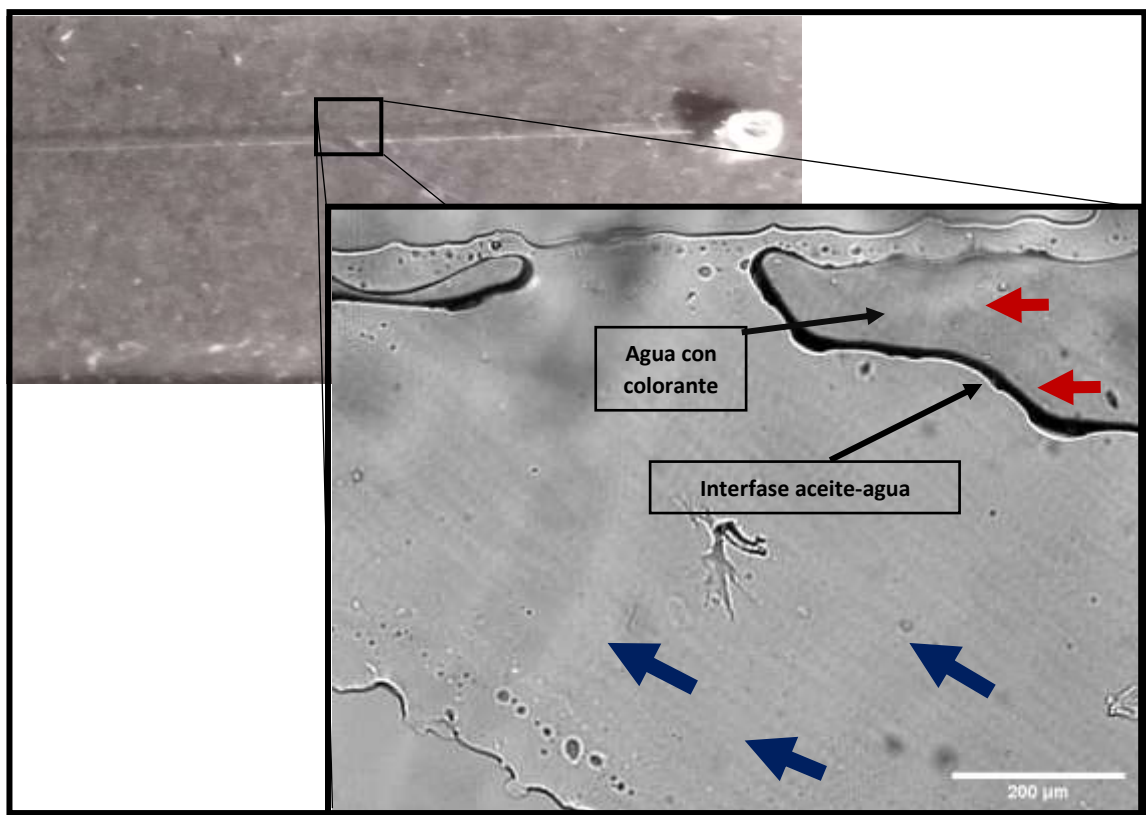


Figura 49. Imagen del sistema microfluídico tipo Y tomada a través de cámara IDS con microscopio Nixon con objetivo de 40x. Las flechas color rojo indican la dirección del flujo del agua con colorante. Las flechas color azul indican la dirección del flujo del aceite mineral.

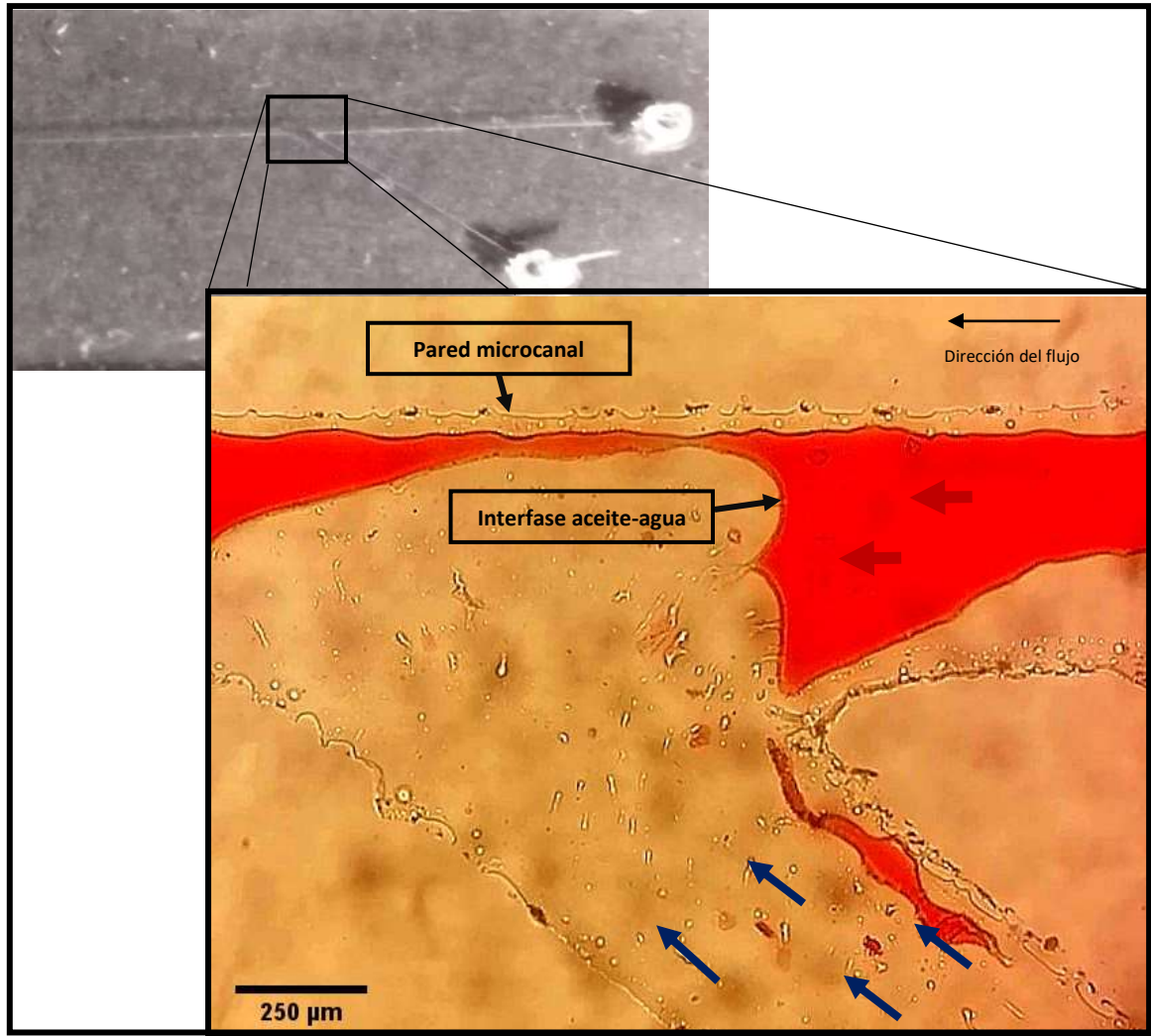


Figura 50. Fotografía de la zona de intersección de fluidos del sistema microfluídico tipo Y. Se utilizó una cámara convencional con un campo de visualización a 40x. Las flechas color rojo indican la dirección del agua con colorante rojo y las flechas color azul indican la dirección del aceite mineral.

Los resultados mostrados en la tabla 7, así como los mostrados gráficamente en las figuras 49 y 50 presentaron consistencia con los resultados obtenidos en las simulaciones numéricas para el sistema microfluídico tipo Y. Los resultados mostraron un común denominador, el dominio del aceite mineral con respecto al agua con colorante lo que produjo dos fenómenos:

1. Obstrucción del flujo del agua con colorante generando discontinuidad irregular sin generación de microgotas,
2. Regreso del agua con colorante a su punto de origen minimizando su presencia en el microcanal.

Para la mayoría de las configuraciones del sistema microfluídico tipo Y se produjeron los dos fenómenos mencionados, siendo el segundo el más frecuente cuando las velocidades del aceite mineral mayores o iguales a dos veces la velocidad del agua con colorante. Una de las posibles razones encontradas para explicar estos fenómenos es la del diseño, específicamente el ángulo del microcanal donde fluye el aceite mineral. Este microcanal permite producir un ángulo de superficie de contacto entre ambos fluidos, el cual es crucial para la formación de microgotas. Se ha reportado que ha ángulos superiores a 45° , la formación de microgotas es más probable, así como el tamaño de las microgotas y la forma están mejor controladas y presentan mayor calidad (Venkateshwarlu & Bharti, 2022). En nuestro diseño, el ángulo de contacto fue de aproximadamente de 45° , valor por debajo de lo reportado y que se asocia a una producción de microgotas irregulares y de poca calidad (Venkateshwarlu & Bharti, 2022), lo que explica el comportamiento de poca producción de microgotas del sistema microfluídico en cuestión, adicionalmente, es posible considerar que el sistema de inyección utilizado para proveer la propulsión de ambos fluidos hacia el sistema microfluídico, no permitió el aumento del caudal de forma independiente para cada líquido, lo que impidió generar mayores diferencias de velocidades entre los fluidos.

Como se mostró, los resultados experimentales se apegaron significativamente a los obtenidos en las simulaciones numéricas. En ambos casos, se encontraron puntos en común que impactaron en la eficiencia de operación de los sistemas microfluídicos, uno de los cuales es la velocidad de los fluidos. Como se mencionó en la sección de resultados de las simulaciones computacionales, la velocidad de los fluidos jugó un papel crucial para el aumento de la tasa de producción de microgotas. A mayores velocidades, mayor tasa de producción y para aquellas menores, menor capacidad del sistema en generar microgotas funcionales. Este fenómeno se observó en ambos métodos, destacando que las magnitudes de las velocidades en las simulaciones computacionales y las magnitudes de velocidades de los experimentos presentaron tres órdenes de magnitud en diferencia, es decir, la velocidad de los fluidos en las simulaciones se presentó en unidades de mm/s y en los experimentos en el laboratorio fueron de $\mu\text{m/s}$. Esta diferencia logró ser un factor determinante en la eficiencia de la producción de microgotas, dado que las simulaciones mostraron mayor rendimiento en la generación de microgotas con respecto al rendimiento mostrado en experimentos en el laboratorio. Esto se puede deber a varios factores, los cuales, son predominantes en los métodos experimentales debido a que se involucran variables que no pueden ser controladas en su totalidad a diferencia de las simulaciones computacionales, en la cuales las condiciones ambientales se logran mitigar dado a la naturaleza del método. Las variables que se encontraron en este proyecto y que se consideró que impactaron en el rendimiento de las velocidades de los fluidos y en el rendimiento general de los sistemas microfluídicos experimentales, se mencionan a continuación; funcionalidad y rendimiento del equipo de bombeo, eficiencia en la fabricación de los

microcanales, operatividad del sistema microfluídicos tras múltiples usos, resistencia del fluido a circular por el microcanal, la hidrofobicidad de los microcanales asociado al polímero utilizado, entre otros. Todo este conjunto de variables tanto propias del sistema como externas pudo propiciar e impulsar la diferencia en las magnitudes de las velocidades de los fluidos de los métodos utilizados en este proyecto de tesis, afectando así el rendimiento y funcionalidad de los sistema microfluídicos especialmente, los sistemas microfluídicos fabricados y probados en el laboratorio.

Capítulo 5

5. Conclusiones

En general en este trabajo de tesis se ha observado el comportamiento de los sistemas microfluídicos generadores de microgotas de agua recubiertas con aceite minera de acuerdo a las características geométricas que presentan y los parámetros de flujo y velocidad de introducidos en cada sistema. Se han comparado los sistemas de forma experimental con simulaciones computacionales y se ha evidenciado en ambos procesos que la geometría del dispositivo y el caudal de flujo son valores críticos para la obtención de microgotas de agua recubiertas con aceite mineral. Estas caracterizas y parámetros se han demostrado que son claves para obtener microgotas con una buena calidad estructural y distancias de separación adecuadas. Como se observó, en el caso del dispositivo con geometría T la simulación no arroja producción de microgotas, lo que concuerda con los resultados experimentales para esta geometría, por lo que, se puede observar que las simulaciones generadas describen correctamente el comportamiento experimetal observado. Esto además, fundamenta la hipótesis que la geometría de los sistemas influye en la producción de microgotas, ya que afecta la forma en que los fluidos interactúan entre sí. Así mismo, la velocidad y el flujo de los fluidos demostraron ser un factor determinante para producir microgotas, en la medida que se aumente o disminuya el flujo y la velocidad de los fluidos, aumentará o disminuirá la tasa de producción y la distancia de separación de las microgotas.

Dado lo expuesto y lo visto a lo largo de este proyecto de tesis, se acepta la hipótesis planteada, en donde se puede observar que para una geometría tipo cruz es posible optimizar la producción de microgotas de agua con cubierta de aceite mineral a través del control de la geometría del dispositivo microfluídico y de la modulación de los parámetros de velocidad y flujo.

5.1 Conclusiones generales

En este proyecto de tesis se realizaron dos tipos de dispositivos microfluídicos generadores de microgotas de agua con cubierta de aceite mineral con geometría tipo cruz y tipo Y. Se evaluaron a través de simulación numérica y de forma experimental para validar su funcionamiento como generadores de microgotas. Se encontró que la producción de microgotas presenta un punto crítico que tras superarlo, la producción decae abruptamente tendiendo a cero. Asimismo, se observó que la distancia de separación de microgotas es inversamente proporcional a la tasa de producción de microgotas, esto presenta relevancia si se desea generar encapsulamientos de ingredientes activos, ya que disminuye la probabilidad de solapamientos entre cada producto encapsulado.

A lo largo de este proyecto se cumplieron los objetivos planteados;

1. Se diseñaron dos tipos de sistemas microfluídicos, a través del uso de herramientas de diseño asistido por computadora, para su aplicación de forma experimental y computacional..
2. Se realizó el modelado y simulado computacional de los dispositivos microfluídicos generadores de microgotas de agua cubierta con aceite mineral a través del software de simulación numérica COMSOL Multhyphysics.
3. Se crearon e implementaron los dispositivos microfluídicos generadores de microgotas utilizando técnicas de fotolitografía.
4. Se compararon los resultados obtenidos a través del modelado y simulación numérica y los obtenidos de forma experimental, evaluando la tasa de producción de microgotas, los datos paramétricos como: velocidad y flujo.

5.2 Trabajo a futuro

Empleando los métodos y metodologías utilizadas en este proyecto de tesis se puede continuar como trabajo a futuro en;

1. Modelos computacionales en 3D para mejorar el modelado y simulación del sistema microfluídico real,
2. Crear modelos y simulaciones y experimentos con dispositivos microfluídicos cuyas geometrías presenten aplicaciones farmacéuticas,
3. Utilizar de forma experimental sistemas microfluídicos generadores de microgotas para evaluar la distancia de separación entre cada microgota,
4. Utilizar técnicas de impresión 3D para la creación de los sistemas microfluídicos, así como el uso microbombas con flujos independientes para evaluar correctamente el funcionamiento del dispositivo.

Los sistemas "*Lab-on-a-Chip*" presentan un abanico amplio de aplicaciones y en conjunto con herramientas de simulaciones numéricas, las oportunidades de mejora y optimización son cada vez más altas, por lo que continuar trabajando en los dispositivos microfluídicos de forma en "*in silico*" proveerá herramientas de avance y optimización de recursos que resultan en mejoras exponenciales, disminuyendo costos y aumentando sus aplicaciones en diversas áreas.

Literatura

- Aggas, J. R., & Guiseppi-Elie, A. (2020). 2.5.13—Responsive Polymers in the Fabrication of Enzyme-Based Biosensors. En W. R. Wagner, S. E. Sakiyama-Elbert, G. Zhang, & M. J. Yaszemski (Eds.), *Biomaterials Science (Fourth Edition)* (pp. 1267–1286). Academic Press.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816137-1.00079-9>
- Bonifácio, E. D., González-Torres, L. A., Meireles, A. B., Guimarães, M. V., & Araujo, C. A. (2019). Spatiotemporal pattern of glucose in a microfluidic device depend on the porosity and permeability of the medium: A finite element study. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 182, 105039. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2019.105039>
- Charwat, V., Olmos Calvo, I., Rothbauer, M., Kratz, S. R. A., Jungreuthmayer, C., Zanghellini, J., Grillari, J., & Ertl, P. (2018). Combinatorial in Vitro and in Silico Approach To Describe Shear-Force Dependent Uptake of Nanoparticles in Microfluidic Vascular Models. *Analytical Chemistry*, 90(6), 3651–3655. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b04788>
- Clayton. (2020, Noviembre 20). *LITHMATIC FIXER & REPLENISHER*. Clayton.
<http://www.claytonchem.com/>
- Connor, N. (2019, septiembre 18). *¿Qué es la ecuación de Navier-Stokes? Definición*. Thermal Engineering. <https://www.thermal-engineering.org/es/que-es-la-ecuacion-de-navier-stokes-definicion/>
- Corning, D. (2005). *Information About Dow Corning Brand Silicone Encapsulants*. 8.
- Dittrich, P. S., & Manz, A. (2006). Lab-on-a-chip: Microfluidics in drug discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(3), Art. 3. <https://doi.org/10.1038/nrd1985>
- Durán Juan. (2015). Nociones de simulación computacional: Simulaciones y modelos científicos. *Argumentos de Razón Técnica*, 18, 87–110.

- Eddings, M. A., Johnson, M. A., & Gale, B. K. (2008). Determining the optimal PDMS–PDMS bonding technique for microfluidic devices. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 18(6), 067001. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/18/6/067001>
- Estrada, H. (2009). *MEMS - Aplicaciones en Metrología*. Encuentro Nacional de Metrología Eléctica 2009, Querétaro, Mexico. http://www.cenam.mx/dme/pdf/PRE_E-Mie-2.pdf
- Fritzson, P. (2006). *Introducción al modelado y simulación de sistemas técnicos y físicos con Modelica*. Addink Software Científico. <https://books.google.com.mx/books?id=qUL1PAAACAAJ>
- Gleichmann, N., Malsch, D., Horbert, P., & Henkel, T. (2015). Toward microfluidic design automation: A new system simulation toolkit for the in silico evaluation of droplet-based lab-on-a-chip systems. *Microfluidics and Nanofluidics*, 18(5), 1095–1105. <https://doi.org/10.1007/s10404-014-1502-z>
- H. V. Jansen, N. R. Tas and J. W. Berenschot. (2005). Fundamentals and Applications of Microfluidics. En *Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology* (Vol. 5). American Scientific Publishers. <http://libcon.rec.uabc.mx:3019/eds/ebookviewer/ebook/ZTAwMHh3d19fMjAyMjYzMV9fQU41?sid=43f67fde-6ffa-4acc-8073-044b4cd846e3%40sessionmgr101&vid=1&format=EB&rid=1>
- Hajji, H., Kolsi, L., Hassen, W., Al-Rashed, A. A. A. A., Borjini, M. N., & Aichouni, M. A. (2018). Finite element simulation of antigen-antibody transport and adsorption in a microfluidic chip. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 104, 177–186. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2018.07.034>
- Haubert, K., Drier, T., & Beebe, D. (2006). PDMS bonding by means of a portable, low-cost corona system. *Lab on a Chip*, 6(12), 1548–1549. <https://doi.org/10.1039/B610567J>
- Kung, C.-T., Gao, H., Lee, C.-Y., Wang, Y.-N., Dong, W., Ko, C.-H., Wang, G., & Fu, L.-M. (2020). Microfluidic synthesis control technology and its application in drug delivery, bioimaging, biosensing, environmental analysis and cell analysis. *Chemical Engineering Journal*, 399, 125748. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125748>

Lab on a Chip. (2020, Noviembre 15). Lab on a Chip. Royal Society of Chemistry.

<https://www.rsc.org/journals-books-databases/about-journals/lab-on-a-chip/>

Lee, T. Y., Choi, T. M., Shim, T. S., Frijns, R. A. M., & Kim, S.-H. (2016). Microfluidic production of multiple emulsions and functional microcapsules. *Lab on a Chip*, *16*(18), 3415–3440.

<https://doi.org/10.1039/C6LC00809G>

Lei, L., Zhang, H. B., Bergstrom, D. J., Zhang, B., & Zhang, W. J. (2014). Modeling of Droplet Generation by a Modified T-Junction Device Using COMSOL. *Applied Mechanics and Materials*, *705*, 112–116. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.705.112>

Lei, L., Zhang, H. B., Bergstrom, D. J., Zhang, B., & Zhang, W. J. (2015). *Modeling of Droplet Generation by a Modified T-Junction Device Using COMSOL*. Applied Mechanics and Materials; Trans Tech Publications Ltd. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.705.112>

Leung, M. H. M., & Shen, A. Q. (2018). Microfluidic Assisted Nanoprecipitation of PLGA Nanoparticles for Curcumin Delivery to Leukemia Jurkat Cells. *Langmuir*, *34*(13), 3961–3970.

<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b04335>

Madenci, E., & Guven, I. (2015). Introduction. En E. Madenci & I. Guven (Eds.), *The Finite Element Method and Applications in Engineering Using ANSYS®* (pp. 1–13). Springer US.

https://doi.org/10.1007/978-1-4899-7550-8_1

Mbanjwa, M. B., Land, K., Jewell, L. L., & Gledhill, I. M. (2011). *Experimental and numerical studies of emulsion formation in a microfluidic T-junction*.

<https://researchspace.csir.co.za/dspace/handle/10204/4817>

Mijatovic, D., Eijkel, J. C. T., & Berg, A. van den. (2005). Technologies for nanofluidic systems: Top-down vs. bottom-up—a review. *Lab on a Chip*, *5*(5), 492–500. <https://doi.org/10.1039/B416951D>

NIBIB. (2021, enero 16). *Modelado Computacional*. National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering (NIBIB). <https://www.nibib.nih.gov/espanol/temas-cientificos/modelado-computacional>

- Olabi, A. G., & Casalino, G. (2014). 6.05 - Mathematical Modeling of Weld Phenomena, Part 1: Finite-Element Modeling. En S. Hashmi, G. F. Batalha, C. J. Van Tyne, & B. Yilbas (Eds.), *Comprehensive Materials Processing* (pp. 101–109). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-096532-1.00606-3>
- Rivas, D. F. (2011). Microfluidos: Nuevas fronteras. *Revista Cubana de fisica*, 28(1), 60–67.
- SCME, S. C. for M. E. (2017). *MEMS Micromachining Overview*. The University of New Mexico; PDF. https://nanohub.org/resources/26748/download/Fab_MicroM_PK00_PG.pdf
- Seoane, M. E., Arriasecq, I., & Greca, I. M. (2015). *Simulaciones computacionales: Un análisis fenomenográfico*. 27, 8.
- Stephan, K., Pittet, P., Renaud, L., Kleimann, P., Morin, P., Ouaini, N., & Ferrigno, R. (2007). Fast prototyping using a dry film photoresist: Microfabrication of soft-lithography masters for microfluidic structures. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 17(10), N69–N74. <https://doi.org/10.1088/0960-1317/17/10/N01>
- SVA-NYC. (2015). PCB Based Microfluidic Chip Fabrication. *IGEM*. <http://2015.igem.org/Team:SVANYC/Experiments>
- Tan, C., & Tao, L. (2019). Numerical Analysis of the Influence of Atmospheric Plasma Gun Structure on Plasma Flow. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 631, 022060. <https://doi.org/10.1088/1757-899x/631/2/022060>
- Tenorio-Barajas, A. Y., de la Luz Olvera-Amador, Ma., Altuzar, V., Ruiz-Ramos, R., Palomino-Ovando, M. A., & Mendoza-Barrera, C. (2019). Microdroplet Formation in Microfluidic Channels by Multiphase Flow Simulation. *2019 16th International Conference on Electrical Engineering, Computing Science and Automatic Control (CCE)*, 1–5. <https://doi.org/10.1109/ICEEE.2019.8884520>

- Teo, A. J. T., Li, K.-H. H., Nguyen, N.-T., Guo, W., Heere, N., Xi, H.-D., Tsao, C.-W., Li, W., & Tan, S. H. (2017). Negative Pressure Induced Droplet Generation in a Microfluidic Flow-Focusing Device. *Analytical Chemistry*, *89*(8), 4387–4391. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b05053>
- Thompson, L. F., Willson, C. G., Bowden, M. J., American Chemical Society, & American Chemical Society (Eds.). (1983). *Introduction to microlithography: Theory, materials, and processing*. The Society.
- Thorsen, T., Roberts, R. W., Arnold, F. H., & Quake, S. R. (2001). Dynamic Pattern Formation in a Vesicle-Generating Microfluidic Device. *Physical Review Letters*, *86*(18), 4163–4166. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.86.4163>
- Venkateshwarlu, A., & Bharti, R. P. (2022). Effect of Contact Angle on Droplet Generation in a T-Junction Microfluidic System. En R. P. Bharti & K. M. Gangawane (Eds.), *Recent Trends in Fluid Dynamics Research* (pp. 137–147). Springer Nature. https://doi.org/10.1007/978-981-16-6928-6_11
- Whitesides, G. M., & Christopher Love, J. (2001). The art of building small. *Scientific American*, *285*(3), 38–47. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0901-38>
- Xu, J. H., Li, S. W., Tan, J., Wang, Y. J., & Luo, G. S. (2006). Preparation of highly monodisperse droplet in a T-junction microfluidic device. *AIChE Journal*, *52*(9), 3005–3010. <https://doi.org/10.1002/aic.10924>
- Yuan, Y., Bouchon, J., Calvo-Calle, J. M., Xia, J., Sun, L., Zhang, X., Clayton, K. L., Ye, F., Weitz, D. A., & Heyman, J. A. (2020). Droplet encapsulation improves accuracy of immune cell cytokine capture assays. *Lab on a Chip*, *20*(8), 1513–1520. <https://doi.org/10.1039/C9LC01261C>
- Zhang, F., Fu, Y., & Yu, X.-Y. (2018). Chapter 9—Microfluidics and Interfacial Chemistry in the Atmosphere. En J. A. Faust & J. E. House (Eds.), *Physical Chemistry of Gas-Liquid Interfaces* (pp. 245–270). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813641-6.00009-1>
- Zhang, Y., & Liu, H. (2012). *Physics of multiphase microflows and microdroplets: Vol. IX* (P. Day, A. Manz, & Y. Zhang, Eds.; pp. 1–21). Springer New York. <https://strathprints.strath.ac.uk/45170/>

Zhu, P., & Wang, L. (2016a). Passive and active droplet generation with microfluidics: A review. *Lab on a Chip*, 17(1), 34–75. <https://doi.org/10.1039/C6LC01018K>

Anexos

Anexo A

PROCEDIMIENTO PARA LA ELABORACIÓN DE MICROCANALES

I. Mascarilla

1.1 Materiales y equipo

Materiales y reactivos	Equipo
<ul style="list-style-type: none">• Película fotográfica• Revelador (RAD)• Fijador (Kodak Rapid Fixer)• Photo-flo• Pinzas• Tijeras• Agua destilada• Nitrógeno (tanque de gas)	<ul style="list-style-type: none">• Microscopio• Cámara (Omega View 45E)• Caja especial para posición del película fotográfica• Televisor 40pg 4K• Lámpara de Seguridad (Luz roja)

1.2 Procedimiento

Pasos para síntesis de microcanales por medio de litografía:

1. Creación de diseño.

Se generó un diseño en CorelDraw, colocando una marca de referencia con el fin de facilitar la toma de la imagen, como se especifica en el punto 3.

2. Ajuste de imagen y guardado de archivo.

El diseño se exportó a un archivo con extensión BMP, cuidando que la resolución de la imagen sea de 3840x2160 pixeles, conforme a la resolución de la pantalla que se tiene en el laboratorio. La imagen se guardó en una memoria USB y se conectó a la televisión.

3. Ubicación y enfoque de la cámara.

Se posicionó la cámara frente al televisor y se aseguró que tanto el televisor como la cámara se encuentren correctamente nivelados.

Se configuró el obturador a una apertura de 11 y el gatillo del obturador en modo T. Después, se ubicó la cámara a una distancia tal que la marca de referencia sea la deseada y, posteriormente, se enfocó la cámara manualmente.

Los pasos 4 y 6 se realizaron con la luz de Seguridad Encendida

4. Se cortó un pedazo de película fotográfica y se colocó en portapelículas.

5. **Exposición.** Se introdujó el portapelículas en la cámara, con el obturador cerrado. Se cargó el gatillo del obturador y se dejó en exposición durante 15 segundos.

6. **Revelado.** Al terminar la exposición, se procedió al revelado de la imagen. Este proceso constó de cuatro líquidos: *i) Revelador (RAD 5, 1:9)*, *ii) Fijador*, *iii) Parador (agua destilada)* y *iv) Photo-flo*¹. Estos líquidos posibilitan la revelación de la imagen, además de fijar y de cuidar la limpieza de la misma. A continuación se muestran los pasos realizados para el revelado:
 - a. **Revelado (RAD):** Se sumergió la película durante 1:30 min.
 - b. **Enjuague:** Se sumergió la película en agua destilada durante 30 s.
 - c. **Fijador:** Se sumergió en el fijador durante 5:00 min.
 - d. **Enjuague:** Se sumergió en agua destilada durante 3 min
 - e. **Photo-flo:** Se sumergió 1 minuto en la solución llamada photo-flo.
7. **Secado.** Una vez terminado el paso 6, se secó la mascarilla con nitrógeno gaseoso comprimido.
8. **Revisión en microscopio.** Por último, se procedió a observar la fotografía en el microscopio para asegurar la calidad de la mascarilla.

II. Limpieza del sustrato

2.1 Materiales y equipo

Materiales y reactivos	Equipo
<ul style="list-style-type: none"> • Detergente neutro • Agua destilada • Paño para pulir lentes (<i>lens paper</i>) • Nitrógeno comprimido • Guantes de nitrilo • Caja Petri • Portaobjetos 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Cole-Parmer Ultrasonic Cleaner</i>

2.2 Procedimiento

1. Se limpió el sustrato con acetona y un paño para pulir lentes (*lens paper*) para remover cualquier exceso de grasa.
2. Se retiró la bandeja del baño ultrasónico y se llenó con agua de la llave hasta la marca indicada.
3. Se lavó el sustrato con una disolución 9:1 de agua destilada y jabón neutro.
4. Se colocó el sustrato en un baño ultrasónico con la disolución antes mencionada durante 15 minutos².
5. Se enjuagó el sustrato con agua destilada.
6. Se vació la solución de detergente neutro con agua destilada y se limpió la bandeja metálica. Después se llenó la bandeja con agua destilada hasta la marca y se introdujeron nuevamente los sustratos en el agua destilada y se realizó el baño ultrasónico por otros 15 minutos.

¹ Proporción 1:9 del revelador con agua destilada, respectivamente. Usar guantes de nitrilo en los pasos 6-8.

² Llene la bandeja metálica hasta la marca puesta. De acuerdo con la experiencia, esa marca se alcanza con 150 mL. Se puede utilizar la probeta que está en el laboratorio para asegurar esta medida y cuidar la proporción 9:1. Se sugiere colocar 4 sustratos, como máximo. Tres dispuestos verticalmente y uno de manera horizontal.

- Finalmente, se secaron los sustratos con nitrógeno comprimido y se guardaron de manera individual en una caja Petri.

III. Molde

3.1 Materiales y equipo

Materiales y reactivos	Equipo
<ul style="list-style-type: none"> • Portaobjetos • <i>Dry-film Photoresist</i> • Sosa cáustica (1:100) • Acetona • Detergente neutro • Nitrógeno comprimido • Agua destilada 	<ul style="list-style-type: none"> • UV • Ultrasonido • Microscopio • Pistola de aire caliente • Rodillo

3.2 Procedimiento

- Antes de iniciar con este procedimiento, se limpiaron los sustratos de acuerdo con la sección II.

Los pasos 2-7 se deberán de realizar con la luz de seguridad (amarilla)

- Se cortó un pedazo de *dry-film* del tamaño de un portaobjetos. Posteriormente, se quitó una de las capas protectoras y se remojó en agua destilada para eliminar el adhesivo.
- Se pegó el *dry-film* en el portaobjetos y se removieron las burbujas de aire con un pedazo de papel.
- Posteriormente, se roció con aire caliente sobre el *dry-film* hasta su pegado completo al portaobjetos.
- Se retiró la capa restante, dejando sólo el *dry-film* adherido al portaobjetos.
- Se colocó la mascarilla sobre el sustrato y se expuso a luz UV por 2 minutos.
- Se quitó la mascarilla y el portaobjetos se introdujo a un tratamiento de descomposición con sosa cáustica (1:100) y agua destilada hasta quitar el exceso de fotorresina.
- Se enjuagó con agua destilada y se secó con nitrógeno gaseoso

IV. PDMS y pegado

4.1 Materiales y equipo

Materiales y reactivos	Equipo
<ul style="list-style-type: none">• PDMS• Portaobjetos• Cinta adhesiva• Navaja• Acetona• Detergente neutro• Nitrógeno comprimido	<ul style="list-style-type: none">• Cámara de vacío• Horno• Portamolde• Minibatidora• Pistola de plasma

4.2 Procedimiento

A. PDMS

1. Se preparó la mezcla de PDMS y curador con una proporción 10:1, respectivamente, esto obtener un grosor de 4 mm, (8 g de PDMS y 0.8 g de curador).
2. Se revolvió con una minibatidora la mezcla hasta que la consistencia de la misma fuera viscosa, densa y blanquecina.
3. Se introdujo la mezcla a un extractor de burbujas durante 10 minutos.
4. Se vierto el PDMS lo más uniforme posible en el portamoldes y se introdujo al horno, previamente calentado, a 300 °F, entre 30-45 minutos.
5. Se dejó enfriar el portamoldes hasta poder ser manipulable.
6. Se retiró el gel PDMS del molde y se colocó cinta adhesiva sobre la zona del microcanal.
7. Se crearon los orificios donde se introducirían la micropuntillas.

B. Pegado

1. Se limpiaron los sustratos necesarios de acuerdo con el procedimiento descrito en la sección II (baño ultrasónico).
2. Se cortó el exceso de gel PDMS.
3. En una zona libre de objetos metálicos cercanos se procedió a utilizar la pistola de plasma rociando sobre el gel de PDMS con el microcanal hacia arriba durante 10 minutos. Se retiró la cinta adhesiva del gel PDMS antes de comenzar el rociado.
4. Se roció un portaobjetos con plasma durante 10 minutos.
5. Por último, se colocó el gel PDMS sobre el portaobjetos, haciendo la unión en los lados donde el tratamiento fue aplicado. Se colocó un imán sobre ambos para ejercer una presión constante, se dejaron en esa posición durante 24 horas.

Anexo B

Anexo B-1. Tabla ampliada de los parámetros utilizados en función de la relación (aceite mineral/agua destilada) para la obtención de microgotas en el dispositivo microfluídico tipo cruz.

<i>Relación</i>	<i>Velocidad del agua destilada (mm/s)</i>	<i>Velocidad del aceite mineral (mm/s)</i>	<i>¿Hubo formación de microgotas?</i>	<i>Tasa de formación de microgotas (microgotas/min)</i>
0.5	10	5	No	0
0.53	9.5	5	No	0
0.56	9	5	No	0
0.59	8.5	5	No	0
0.63	8	5	No	0
0.67	7.5	5	No	0
0.71	7	5	No	0
0.77	6.5	5	No	0
0.83	6	5	Si	360
0.91	5.5	5	Si	330
1	5	5	Si	300
1.04	4.8	5	Si	300
1.11	4.5	5	Si	300
1.25	4	5	Si	270
1.32	3.8	5	Si	240
1.43	3.5	5	Si	240
1.67	3	5	Si	210
1.79	2.8	5	Si	180
2	2.5	5	Si	180
2.17	2.3	5	Si	180
2.50	2	5	Si	150
2.78	1.8	5	Si	120
3.33	1.5	5	Si	120
3.85	1.3	5	Si	90
4	1.25	5	Si	90
5	1	5	Si	90
5.56	0.9	5	Si	60
5.68	0.88	5	Si	60
5.88	0.85	5	Si	60
6.02	0.83	5	Si	60
8.06	0.62	5	Si	60
10	0.5	5	Si	45
31.25	0.16	5	si	30
14.29	0.35	5	Si	30
38.46	0.13	5	Si	30
18.52	0.27	5	Si	15
20	0.25	5	Si	15
18.52	0.27	5	Si	15
25	0.2	5	Si	15
26.32	0.19	5	Si	15

29.41	0.17	5	Si	15
31.25	0.16	5	Si	15
33.33	0.15	5	Si	15
35.71	0.14	5	Si	15
16.67	0.3	5	Si	15
16.13	0.31	5	Si	15
20	0.25	5	Si	15

Anexo B-2. Tabla ampliada de los parámetros utilizadas en el modelo del sistema microfluídico con geometría tipo Y.

<i>Relación</i>	<i>Velocidad del agua destilada (mm/s)</i>	<i>Velocidad del aceite mineral (mm/s)</i>	<i>¿Hubo formación de microgotas?</i>	<i>Tasa de formación de microgotas (microgotas/min)</i>
0.5	10	5	No	0
0.53	9.5	5	No	0
0.56	9	5	No	0
0.59	8.5	5	No	0
0.63	8	5	No	0
0.67	7.5	5	No	0
0.71	7	5	No	0
0.77	6.5	5	No	0
0.83	6	5	No	0
0.91	5.5	5	No	0
1	5	5	No	0
1.04	4.8	5	No	0
1.11	4.5	5	No	0
1.25	4	5	No	0
1.32	3.8	5	No	0
1.43	3.5	5	No	0
1.67	3	5	No	0
1.79	2.8	5	No	0
2	2.5	5	No	0
2.17	2.3	5	No	0
2.50	2	5	No	0
2.78	1.8	5	No	0
3.33	1.5	5	No	0
3.85	1.3	5	No	0
4	1.25	5	No	0
5	1	5	No	0
5.56	0.9	5	No	0
5.68	0.88	5	No	0
5.88	0.85	5	No	0
6.02	0.83	5	No	0
8.06	0.62	5	No	0
10	0.5	5	No	0
31.25	0.16	5	No	0
14.29	0.35	5	No	0
38.46	0.13	5	No	0
18.52	0.27	5	No	0
20	0.25	5	No	0
18.52	0.27	5	No	0
25	0.2	5	No	0
26.32	0.19	5	No	0
29.41	0.17	5	No	0
31.25	0.16	5	No	0

33.33	0.15	5	No	0
35.71	0.14	5	No	0
16.67	0.3	5	No	0
16.13	0.31	5	No	0
20	0.25	5	No	0