

FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO

**GUÍA PARA LA ELABORACION DE UNA TESIS
DE LICENCIATURA**

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO



DISEÑO Y FABRICACIÓN DE DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS ("LAB-ON-A-CHIP"), PARA LA SELECCIÓN DE PARTÍCULAS.

T E S I S

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL TÍTULO DE

BIOINGENIERO

PRESENTA

JUAN MANUEL VILLASEÑOR HERNÁNDEZ

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MEXICO. MARZO DEL 2016

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO

DISEÑO Y FABRICACIÓN DE DISPOSITIVOS MICROFLUÍDICOS (“LAB-ON-A-CHIP”), PARA LA SELECCIÓN DE PARTÍCULAS.

T E S I S

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS
PARA
OBTENER TITULO DE

BIOINGENIERO

PRESENTA

JUAN MANUEL VILLASEÑOR HERNÁNDEZ

Aprobada por:



Dr. Víctor Ruiz Cortés
Director
(Presidente)



Dra. Claudia M. Gómez Gutiérrez
Codirector
(Secretario)



Dr. Rubén Cesar Villarreal Sánchez
Sinodal
(Vocal)



Dr. Oscar Roberto López Bonilla
Sinodal
(Vocal)



Dr. David Cervantes Vásquez
Sinodal
(Vocal)

Resumen:

El objetivo de esta tesis es el diseño y fabricación de un dispositivo microfluídico, para separación de micropartículas por tamaño. El dispositivo microfluídico (lab-on-a-chip) fue fabricado con polidimetilsiloxano (PDMS).

Para el proceso de fabricación, se diseñó un molde con un programa de diseño, el cual se imprimió utilizando una impresora 3D. El dispositivo cuenta con dos entradas por las que se introdujeron las micropartículas atravesando por una serie de obstáculos, se separaran por tamaño y varias salidas por las cuales se diferenciarán con base a sus dimensiones. Este sistema microfluídico se fabricó con polidimetilsiloxano (PDMS) y se unió a un portaobjetos de vidrio (como sustrato) mediante un proceso por reacción de iones.

Dedicatoria

Con mucho cariño a mis padres Juan Manuel Villaseñor Sandoval e Idelia Hernández Rodríguez; a mis abuelos Pedro y Lupita Hernández; a mis tías Isabel, Rosa y Teresa Hernández Rodríguez; mis tíos Roberto y Pedro Hernández; a mis amigos Carlos Zepeda, Rubén Martínez y Pablo Martin que me han acompañado y apoyado a lo largo de mi carrera como si fueran mis hermanos.

Cada una de estas personas fue un gran apoyo para poder concluir esta tesis.

Agradecimientos

Primero que nada le doy gracias a Dios por permitirme terminar con gran satisfacción esta tesis. Gracias al Dr. Javier Sánchez ya que sin él no hubiera sido posible ingresar a este proyecto, así como también gracias al Dr. Víctor Ruiz Cortes que fue mi director de tesis, el cual estuvo apoyándome en cada momento de la realización de la tesis y que además de mi director fue mi amigo. Gracias a mis compañeros de laboratorio Pedro Martínez, Esaú López y Carlos Aguirre que estuvieron ayudándome y apoyándome con cada dificultad que tuve.

Por último, quisiera agradecer a la Dra. Claudia Mariana Gómez Gutiérrez y a la Dra. Dora Luz Flores por el apoyo brindado durante la carrera, así como también a los Doctores Rubén Cesar Villarreal Sánchez, David Cervantes Vásquez y Oscar Roberto López Bonilla por haber formado parte de mi comité y por el apoyo brindado.

Lista de figuras y fotografías

Figura		Página
1	Imagen que muestra A) La matriz utilizada entre obstáculos. B) Como se van transformando las direcciones de flujos. C) El camino que siguen las partículas. Imagen tomada de Huang y Cox 2004 [6].	5
2	Imagen del dispositivo microfluídico propuesto por Peter B. Lillehoj y Hideaki Tsutsui 2010 [7].	6
3	Diagrama de flujo de la metodología usada para el desarrollo del dispositivo microfluídico.	9
4	A) Imagen del diseño utilizado para micropartículas B) Imagen del diseño utilizado para partículas mayores a 200 μm .	11
5	Imagen de las 2 entradas del microcanal.	12
6	Figura demostrativa de las 2 salidas en el diseño, junto a los obstáculos propuestos.	12
7	Imagen de los obstáculos y las salidas propuestas para la separación de partículas más grandes (400 μm , 750 μm y 1000 μm).	13
8	A) Fotografía de la impresora láser 3D Form +1 SDL 3D. B) Fotografía de la impresora durante la impresión.	14

9	Fotografía de la base de metal con el molde adherido a ella.	15
10	A) Agitación del molde en una cama de alcohol B) Baño de ultrasonido.	16
11	A) Diseño utilizado para realizar la prueba de la mínima distancia entre objetos. B) Fotografía del molde fabricado.	16
12	A) Diseño con estructuras cuadradas capturado para poder determinar la resolución mínima que maneja la impresora con una buena definición. B) Fotografía del molde fabricado.	17
13	Fotografía electrónica (tomada con un microscopio electrónico SEM Hitachi SU3500) de un diseño con figuras cuadradas de 250 μm y separación de 150 μm entre ellas.	18
14	Figura donde se muestra la separación entre los obstáculos.	19
15	Diseño de microcanal donde se muestran las 2 salidas diseñadas en el molde por donde las partículas pequeñas pueden entrar por los obstáculos sin ningún problema y dirigirse por la salida número 1, mientras que las más grandes serán empujadas a la salida número 2.	20
16	Imagen del pesado del kit de elastómero.	21
17	Imagen del molde maestro con PDMS dentro de la cámara al vacío.	22
18	A) Fotografía del corte del PDMS. B) Fotografía después de haber retirado el molde.	23

19	Fotografía del procedimiento de Reactive-ion etching.	25
20	A) Fotografía electrónica del molde fabricado con la impresora 3D (tomada con un microscopio electrónico SEM Hitachi SU3500) mostrando las dimensiones entre los obstáculos. B) La figura corresponde al molde utilizado para la fotografía electrónica que muestra las dimensiones entre obstáculos.	27
21	A) Fotografía tomada desde el microscopio óptico donde se muestran las partículas de 160 μm en pixeles. B) Fotografía correspondiente a las partículas de 160 μm en micrómetros. C) La figura corresponde a la sección del microcanal mostrada en las figuras (A) y (B).	28
22	A) Fotografía tomada del microscopio óptico donde se puede observar la separación entre obstáculos dentro del microcanal en pixeles. B) Fotografía correspondiente a la separación entre obstáculos dentro del microcanal en micrómetros. C) La figura corresponde a la sección del microcanal mostrada en las figuras (A) y (B).	28
23	Esquema del arreglo óptico experimental utilizado en las pruebas con el microcanal.	29
24	Fotografía del arreglo experimental utilizado en el laboratorio, mostrando cada una de las partes que lo conforman.	30

25	Fotografía donde se muestran 2 flujos diferentes (tinta verde y roja) en el molde propuesto para partículas más grandes. Los flujos fueron A) 2600 y 180 B) 1250 y 1850 C) 720 y 2250 y D) 900 y 2100 para tinta roja y verde respectivamente.	31
26	Esquema que muestra cómo es que viajan los 2 flujos introducidos dentro del canal, así como el proceso de la separación de las partículas para el diseño mostrado en la figura 14 (A).	33
27	Fotografía tomada del arreglo experimental, con 2 tintas diferentes para así poder observar la diferencia entre los flujos en el dispositivo para micropartículas.	33
28	Fotografía que muestra la salida número 1 representada con tinta color rojo.	34
29	Imagen tomada en la salida número 2, en la cual solo la tinta color azul entró, esto representando al flujo que lleva las partículas de 160 μm .	34
30	A) Fotografía tomada en el borde del canal, donde viaja el flujo que contiene a las partículas de 80 y 160 μm . B) Imagen donde se muestra el área tomada por la cámara.	35
31	Fotografía tomada en la sección de obstáculos, mostrando como las partículas de 160 μm no entran entre las aperturas y siguen la trayectoria planeada.	35

32	Fotografía de las partículas de 80 μm pasando entre los obstáculos.	36
33	Fotografía tomada en la salida número 1, mostrando como fueron separadas las partículas de 80 μm .	36
34	Fotografía tomada en la salida número 2, mostrando como fueron separadas las partículas de 160 μm .	37
35	Fotografías que muestran la secuencia de cuadros para el movimiento una partícula de 400 μm .	38
36	Fotografías que muestran una partícula de 1000 μm siguiendo la trayectoria propuesta.	39
37	Gráfica del tiempo con respecto a la temperatura, donde la temperatura utilizada fue de 60 grados centígrados.	46
38	Gráfica del tiempo con respecto a la temperatura, donde la temperatura utilizada fue de 90 grados centígrados.	46

Índice

	Página
Resumen	i
Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Lista de figuras y fotografías	iiii
Estructura de la tesis	1
1. Introducción	2
1.1 Objetivo General	7
1.2 Objetivos Específicos	7
2. Metodología	8
2.1 Diseño del molde patrón	10
2.2 Fabricación del molde en impresora 3D	13
2.3 Fabricación de microcanales con PDMS	20
2.4 Pegado con el sustrato	24

3.	Resultados y discusión	26
	3.1 Caracterización de dispositivos	26
	3.2 Sistema óptico para captura de imágenes	29
	3.3 Pruebas de flujo	30
4.	Conclusiones	39
	4.1 Trabajo a futuro	41
5.	Bibliografía, literatura citada o referencias	42
6.	Apéndice A	44

Estructura de la tesis

En el capítulo uno de esta tesis se comenta brevemente, a manera de introducción, el concepto de un dispositivo microfluídico, algunos antecedentes de trabajos que se han realizado, así como el objetivo general y los objetivos específicos que se persiguen en este trabajo.

En el capítulo dos se habla de la metodología o el proceso, descrito detalladamente, que se utilizó para llevar a cabo la fabricación del dispositivo microfluídico.

En el capítulo tres se muestran los resultados experimentales obtenidos en el guiado de partículas dentro del dispositivo microfluídico.

En el capítulo cuatro se exponen las conclusiones a las que se llegaron del proceso de fabricación de dispositivos microfluídicos.

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

En el ámbito de la bioingeniería, el reducir las cantidades de reactivos bioquímicos en los análisis y el manejo de volúmenes muy pequeños son cruciales. En esta área, la microfluídica constituye una herramienta fundamental, abriendo un amplio campo de posibilidades mediante el desarrollo de microcanales y componentes activos como pueden ser microválvulas o microbombas, por mencionar algunos. Los materiales empleados en esta disciplina son sustratos poliméricos, en combinación con técnicas estándar de micro y nano fabricación [1].

La microfluídica es un campo de la ciencia que está alcanzando un crecimiento acelerado. Un gran número de aplicaciones surgen continuamente para procesos en microescala y microdispositivos. Estos avances han beneficiado, en particular a procesos de bioseparación en biotecnología y en farmacéutica, así como en diagnóstico médico y ambiental. A pesar de ser un campo aun en pleno progreso, el desarrollo de los dispositivos microfluídicos es considerable, ya que se han logrado microlaboratorios, conocidos en inglés como “lab on a chip”, que son capaces de llevar a cabo todas las funciones de equipos convencionales, con ventajas atractivas como tiempos más cortos, menor requerimiento de muestra y reactivos, portabilidad, mayor resolución y sensibilidad, y bajo costo. El desarrollo de este tipo de sistemas en microescala

ha seguido avanzando, y una de las áreas con mayor potencial para estos sistemas es en el análisis y manipulación de biopartículas. La microfluídica es esencial para el desarrollo de herramientas para análisis celulares, particularmente en el desarrollo de dispositivos para migración celular, ingeniería de tejidos, mecánica celular y estudios de células [2].

Actualmente, si la detección o separación de células se realiza por métodos de microbiología tradicionales, que en su mayoría dependen de cultivo celular, los resultados de algunos análisis pueden demorarse de 24 a 72 horas. En aplicaciones como análisis de contaminación de alimentos o cuerpos de agua, control de calidad y análisis clínicos, se requieren métodos y sistemas que proporcionen resultados con mayor rapidez. Es precisamente en este tipo de situaciones donde la microfluídica puede ser la solución requerida [3].

Durante las últimas décadas se ha producido gran interés en la conexión entre la forma de las células, su función general y sus redes moleculares. Sin embargo, se ha hecho un esfuerzo limitado para desarrollar formas rápidas y eficientes para ordenar con base en su forma o tamaño. La citometría de imagen es un ejemplo; sin embargo, está limitada por la resolución y la velocidad de la clasificación [3].

En la actualidad se han desarrollado un pequeño número de técnicas microfluídicas para abordar estas inquietudes, la deformabilidad de las células es un importante indicador clínico de una amplia variedad de condiciones

médicas y se mide en masa utilizando ectacitometria. Los enfoques de microfluidos incluyen el uso de láser, la separación utilizando obstáculos, la marginación y el enfoque inercial [4].

En la actualidad, los últimos avances utilizando dispositivos microfluídicos han sido en base al uso de células activadas por una fluorescencia versátil que utiliza como activación el medio acústico para ordenar células de altas tasas. El clasificador acústico combina las ventajas del uso tradicional de células activadas por fluorescencia y la clasificación de gotas, es aplicable a una gran multitud de objetos [4].

En el trabajo de Schmid *et al* [5], clasifican gotas en un medio acuoso en tasas de hasta varios kHz, en dos o incluso más canales de salida, también pueden ordenar las células directamente desde el medio sin encapsulación antes en gotas. Este método es compatible con citómetros de clasificación celulares normales, sin embargo, al mismo tiempo, permite una gran variedad de aplicaciones más sofisticadas [5].

Existen otros trabajos que reportan la separación de partículas en dispositivos microfluídicos, en estos se utiliza una bifurcación asimétrica en un flujo laminar alrededor de obstáculos. Las partículas eligen su camino dependiendo de las bases de su tamaño. Todas las partículas tienen un camino de migración equivalente a su tamaño. Las micropartículas de 0.8, 0.9 y 1 μm fueron utilizadas para caracterizar el dispositivo y se caracterizaron en 40 segundos

con una resolución de 10 nanómetros, lo que mejora el tiempo y la resolución comparado con las técnicas de flujo convencionales. [6]

En la figura 1(A) se observan los parámetros geométricos que definen la matriz del obstáculo. Un flujo de fluido se aplica en la dirección vertical (flecha naranja). En la figura 1(B) se muestran tres corrientes de fluido (rojo, amarillo y azul) en una brecha no se mezclan, ya que al fluir a través de la matriz el carril 1 en la primera fila del obstáculo se convierte en el carril 3 en la segunda fila, el carril 3 se convierte en el carril 2 en la tercera fila, y así sucesivamente. Por lo tanto, las partículas pequeñas siguientes a las líneas de corriente se quedarán en el mismo carril. En la figura 1(C) se muestra una partícula que sigue una línea de corriente que pasa a través del centro de la partícula (punto negro), moviéndose hacia el carril 1. La partícula se desplaza físicamente cuando entra en el siguiente espacio. Las líneas de puntos negros marcan los carriles [6].

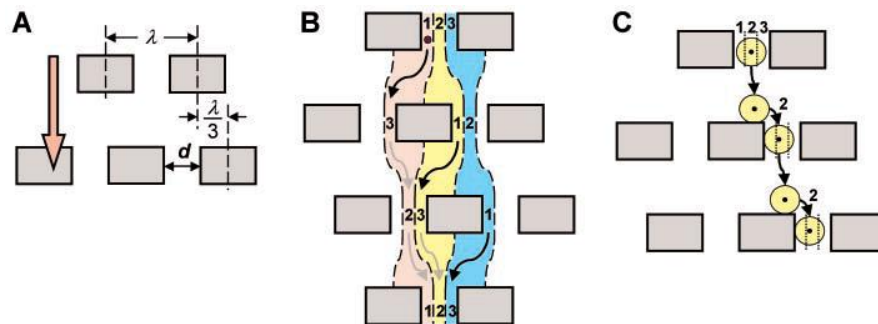


Figura (1). Imagen que muestra A) La matriz utilizada entre obstáculos. B) Como se van transformando las direcciones de flujos. C) El camino que siguen las partículas. Imagen tomada de Huang y Cox 2004 [6].

En la figura 2, se muestra otro dispositivo microfluídico para la clasificación de cuerpos de embriones con tamaños dinámicos mayores a $300\text{ }\mu\text{m}$. En este trabajo [7] se propone un escape de separación que utiliza apropiadamente pilares separados en un microcanal para alterar la vía de flujo del fluido, permitiendo así que las partículas de tamaños definidos se desvíen hacia trayectorias de flujo específicas. En esa propuesta, se puso a prueba la funcionalidad del dispositivo mediante la separación de esferas de poliestireno de 90 , 175 y $275\text{ }\mu\text{m}$ de diámetro, lo que demostró la eficiencia de separación con un 100% .

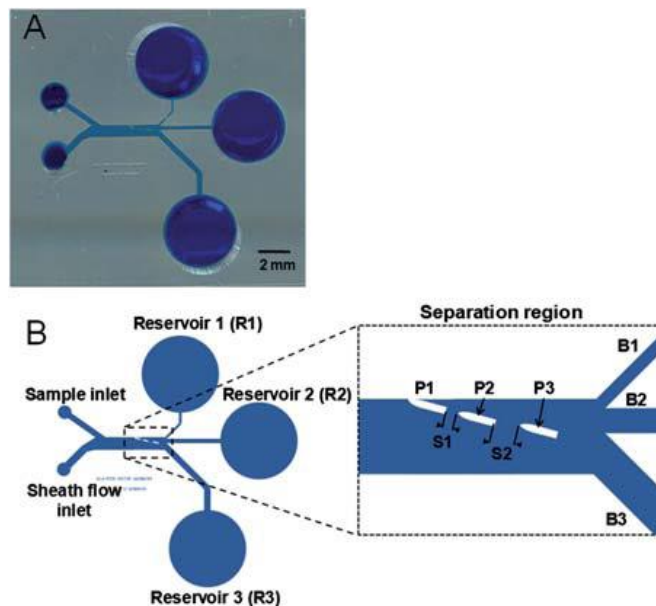


Figura (2). Imagen del dispositivo microfluídico propuesto por Peter B. Lillehoj y Hideaki Tsutsui 2010 [7].

1.1 Objetivo General

El objetivo principal de este proyecto es el diseño y fabricación de un dispositivo microfluídico para la selección de micropartículas por tamaño. Se usarán impresoras 3D para la fabricación de los moldes de los microcanales y una vez realizados, se fabricará un sistema microfluídico con Polidimetilsiloxano (PDMS).

1.2 Objetivos específicos

- Diseño de la estructura de los dispositivos microfluídicos.
- Fabricación de moldes para dispositivos utilizando impresoras 3D.
- Fabricación de los dispositivos microfluídicos.
- Selección de micropartículas mediante el sistema microfluídico.

Capítulo 2

En este capítulo se describe la metodología utilizada para la fabricación de los dispositivos microfluídicos que permitieron la selección de micropartículas.

Metodología

El procedimiento para la fabricación de dispositivos microfluídicos a base de PDMS constan, típicamente, de un molde patrón que es fabricado en fotorresina[8], sin embargo, en este trabajo se utilizaran impresoras 3D para obtener el molde por considerarse como una mejor alternativa a la fotolitografía, siempre y cuando queramos estructuras mayores a los 110 μm , ya que esta es la mayor resolución que se pudo manejar en la impresora 3D, además de que es más sencillo y rápido de realizar[9]. El molde patrón representa la estructura negativa (inversa) de la estructura deseada de PDMS. Para crear estructuras de PDMS, el líquido prepolímero PDMS se mezcla con un agente endurecedor y se deposita sobre el molde patrón. El PDMS se endurece y se quita el molde patrón, produciendo la réplica final que contiene las microestructuras [8].

El proceso de fabricación de un dispositivo microfluídico consta de varios pasos, estos se muestran en el diagrama de la fig (3).

Los pasos de fabricación son los siguientes: A) Diseño del molde patrón, B) Fabricación del molde en la impresora 3D, C) Fabricación de microcanales con

PDMS, D) Pegado del PDMS al sustrato y e) La prueba del dispositivo microfluídico

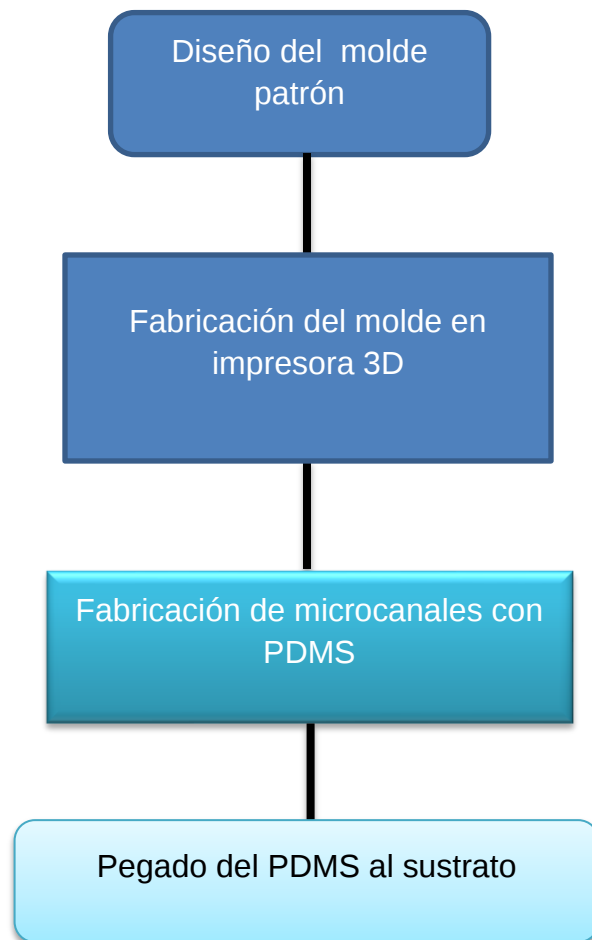


Figura (3). Diagrama de flujo de la metodología usada para el desarrollo del dispositivo microfluídico.

2.1 Diseño del molde patrón

Lo primero que se hizo fue hacer el diseño del molde utilizando algún programa como podría ser AutoCad, SolidWorks o Sketchup. En este caso se utilizó Sketchup ya que se tenía conocimiento previo de este, una vez que ya se tuvo listo el diseño lo siguiente fue utilizar la impresora 3D para crear el molde patrón, la cual maneja archivos stl y utiliza resina para hacer los diseños.

Una vez listo el molde lo siguiente es utilizar un material conocido como PDMS (polidimetilsiloxano) el cual es una silicona, debido a sus propiedades lo hace perfecto para hacer el dispositivo microfluídico ya que es transparente y fácil de pegar con vidrio entre otras cosas. En este caso el sustrato elegido para adherir el PDMS es un porta objetos de 3 x 1 pulgadas, el cual se pega utilizando una pistola de plasma.

Finalmente se realizó la prueba con el dispositivo listo para usarse.

El diseño del molde patrón puede ser realizado utilizando cualquiera de los programas ya mencionados, en este caso fue seleccionado Sketchup 2014, ya que fue el que dio mejores resultados a la hora de diseñar el molde, además de su simplicidad y efectividad.

Al momento de ejecutar este programa se dan una serie de plantillas a elegir, esto dependiendo del trabajo que vayamos a realizar, en el caso de este proyecto debido a los requerimientos del mismo y al material con el que se

disponía, fue seleccionada la plantilla de “Impresión 3D en milímetros”, una vez elegida nuestra plantilla empezamos a diseñar nuestro molde patrón.

Los diseños mostrados en la figuras 4 (A) y (B) tienen una base de 3 mm, sobre la que se encontrará el microcanal que tendrá 2 entradas (ver detalle en figura 5), una que abarca aproximadamente un 80% del canal, donde se introducirá agua y la otra entrada que abarca el resto, en la que encontraremos el fluido que contendrá las micropartículas.

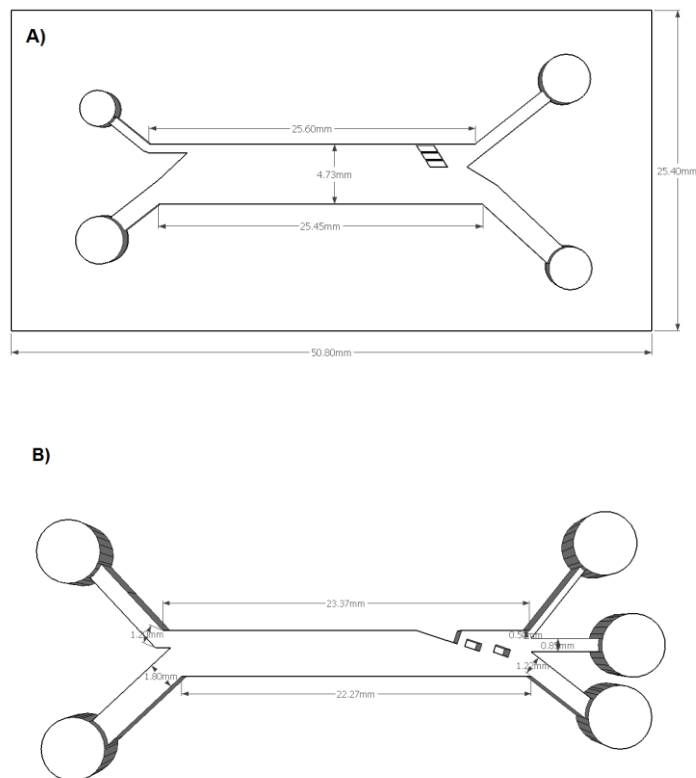


Figura (4). A) Imagen del diseño utilizado para micropartículas B) Imagen del diseño utilizado para partículas mayores a 200 μm .

Luego de esto tendrá una serie de obstáculos donde la separación entre cada uno de estos será solo para que puedan pasar partículas menores a $160\text{ }\mu\text{m}$, de esta manera las partículas mayores seguirán su camino hacia la salida 2, mientras que las partículas menores a ese tamaño se quedarán alojadas en la salida 1 (ver figura 6). Para el diseño del molde patrón para partículas más grandes los obstáculos tendrán separación de $500\text{ }\mu\text{m}$ y $850\text{ }\mu\text{m}$, de igual forma separando las partículas por 3 tamaños distintos, cada una dirigiéndose a la salida correspondiente, como se muestra en las figuras 6 y 7.

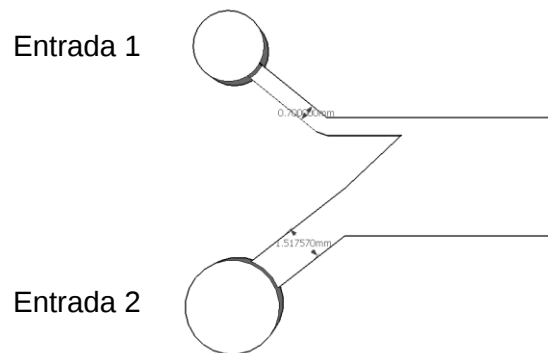


Figura (5). Imagen de las 2 entradas del microcanal.

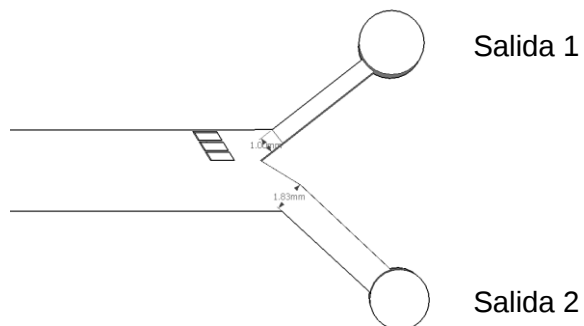


Figura (6). Figura demostrativa de las 2 salidas en el diseño, junto a los obstáculos propuestos.

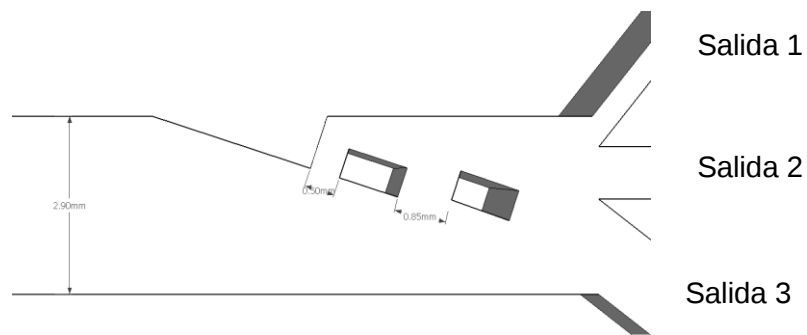


Figura (7). Imagen de los obstáculos y las salidas propuestas para la separación de partículas más grandes ($400\text{ }\mu\text{m}$, $750\text{ }\mu\text{m}$ y $1000\text{ }\mu\text{m}$).

2.2 Fabricación del molde en impresora 3D

Los moldes fueron fabricados utilizando una impresora Form 1+ SLA 3D como se muestra en la figura 8, la cual maneja una resina especial disponible en varios colores. Para este trabajo se utilizó la resina transparente en la fabricación del molde patrón.

Una vez que ya se tuvo hecho el diseño del molde patrón se exportó el archivo .skp (la extensión nativa de Sketchup) a .stl que es el tipo de archivo que maneja y reconoce la impresora 3D.

El primer paso para fabricar el molde fue cargar el archivo .stl al software que utiliza la impresora, este fue descargado desde la página de la misma compañía. En esta parte se dispusieron de diversas opciones de configuración, la que más importó fue el grosor de la capa (Layer Thickness), en esta parte utilizamos la mayor resolución posible para asegurar que todo estuviera más definido, una vez que estuvo configurado todo en el software, se cargó el

archivo y se esperó a que la impresora hiciera su trabajo, el tiempo de espera depende de que tan complejo sea el diseño, en este caso el tiempo necesario para este molde fue de 1 hora con 36 minutos. En la figura 8 (A) se muestra la impresora, mientras que en la 8 (B) se ve durante el proceso de impresión.

Cabe mencionar que al momento de realizar todo este procedimiento se tuvieron que cumplir con ciertos cuidados, la habitación donde se realizó la impresión estuvo completamente cerrada, sin luz, a menos que fuera luz roja, ya que en caso de que la resina tuviera contacto con la luz empezaría a polimerizarse, lo cual es algo que no queremos porque si eso pasara la resina quedaría inutilizable.

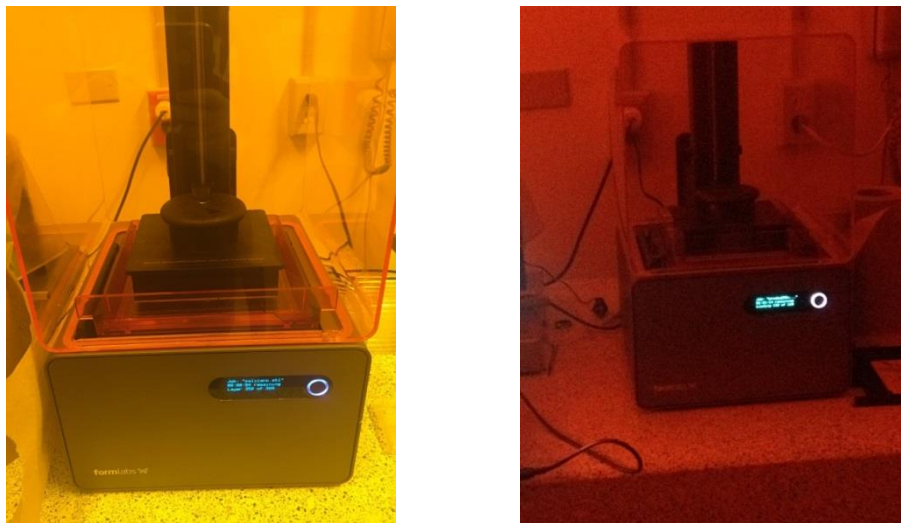


Figura (8). A) Fotografía de la impresora láser 3D Form +1 SDL 3D. B) Fotografía de la impresora durante la impresión.

Una vez que el proceso de imprimir terminó, lo siguiente fue retirar la placa metálica donde se encontraba adherido el molde y con una espátula se despegó con mucho cuidado, ya que si se utilizaba demasiada fuerza se podía cuartear o romper el molde patrón, como se muestra en la figura 9.



Figura (9). Fotografía de la base de metal con el molde adherido a ella.

Cuando se despegó el molde, el siguiente paso fue meterlo a un baño de alcohol etílico y agitarlo durante 2 minutos como se muestra en la figura 10 (A), esto se hizo para remover la resina no polimerizada que quedara en el molde patrón. Luego de agitarlo se colocó en otro recipiente con alcohol etílico y fue sometido a un baño de ultrasonido por 5 minutos como se muestra en la figura 10 (B), de igual forma para retirar la resina adherida. Por último, después de sacarlo del baño en el ultrasonido, se volvió a lavar con alcohol, tallándolo suavemente con las manos para así tenerlo completamente listo para usarlo.



Figura (10). A) Agitación del molde en una cama de alcohol B) Baño de ultrasonido.

En este punto cabe mencionar un detalle muy importante, se tuvieron que realizar muchas pruebas para poder conocer los límites de la impresora al momento de imprimir, entre las cuales dos fueron las que más resaltaron, la primera fue para conocer la distancia mínima que se podría manejar entre obstáculos, para hacer esto se empezó con una separación de 900 μm , disminuyendo 100 μm en cada línea así hasta llegar a 400 μm , una vez aquí la disminución fue de 50 en 50 hasta llegar a 50 μm de separación como se muestra en la figura 11 (A) y (B).

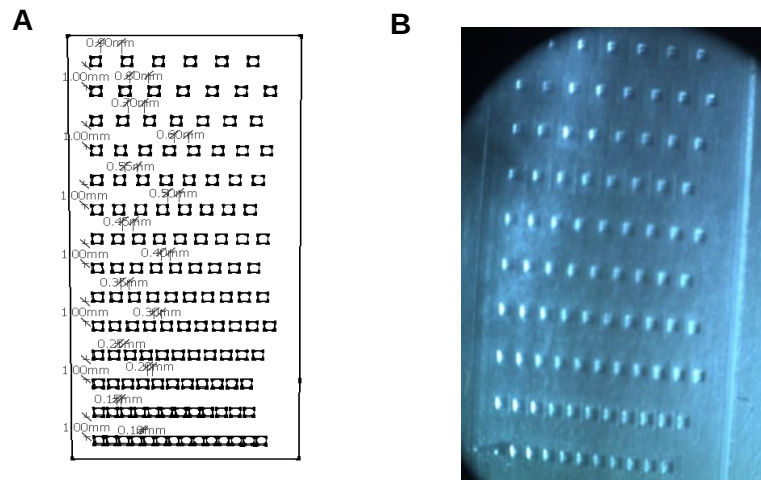


Figura (11). A) Diseño utilizado para realizar la prueba de la mínima distancia entre objetos. B) Fotografía del molde fabricado.

Con esas pruebas realizadas se llegó a la conclusión que la separación mínima que la impresora podía fabricar sin problemas fue 100 μm entre objetos, ya que con la distancia de 50 μm la impresora lo que hizo fue hacer una línea recta, es decir juntó cada uno de los obstáculos.

Una vez conociendo esto lo siguiente que se deseaba saber era el tamaño de objetos que la impresora podía manejar, logrando que el obstáculo se mantuviera bien definido. Para esto se realizaron pruebas con figuras cuadradas desde 300 μm , aumentando su tamaño en 50 μm en cada línea, hasta llegar a 500 μm . El diseño utilizado para esto se muestra en la figura número 12 (A) y (B).

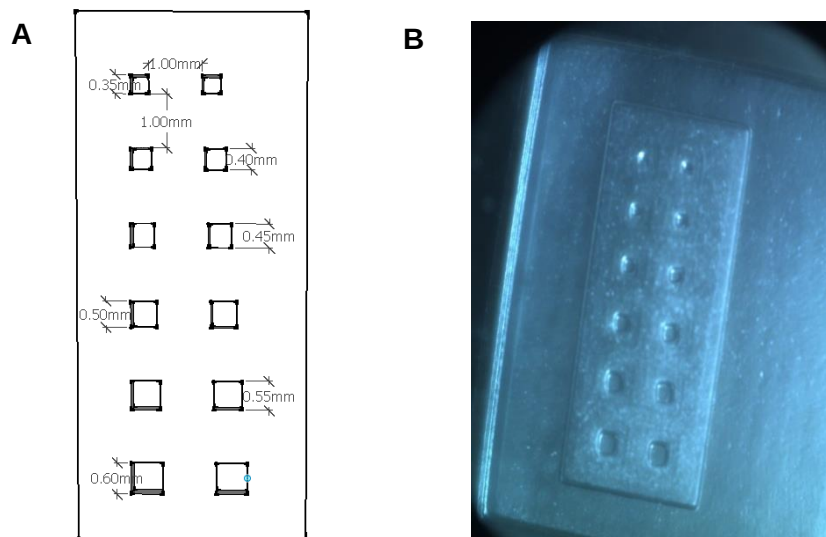


Figura (12). A) Diseño con estructuras cuadradas capturado para poder determinar la resolución mínima que maneja la impresora con una buena definición. B) Fotografía del molde fabricado.

Con esto, se pudo determinar que la medida mínima que manejaba con buena definición era a partir de 400 μm . Todas estas pruebas realizadas ayudaron a poder tener una buena base de las limitaciones que se tenían con la impresora, esto es saber con exactitud qué es lo que se podía hacer y qué no.

Un detalle importante a mencionar con las pruebas de distancia mínima entre objetos, es que la impresora detectaba separaciones a partir de 100 μm , pero esto no significa que las pudiera hacer de manera correcta, para esto lo que se hizo fue una medición de los objetos realizados en el molde patrón y de su separación como se muestra en la figura 13 donde se pueden apreciar las dimensiones obtenidas de los obstáculos y entre cada uno de ellos.

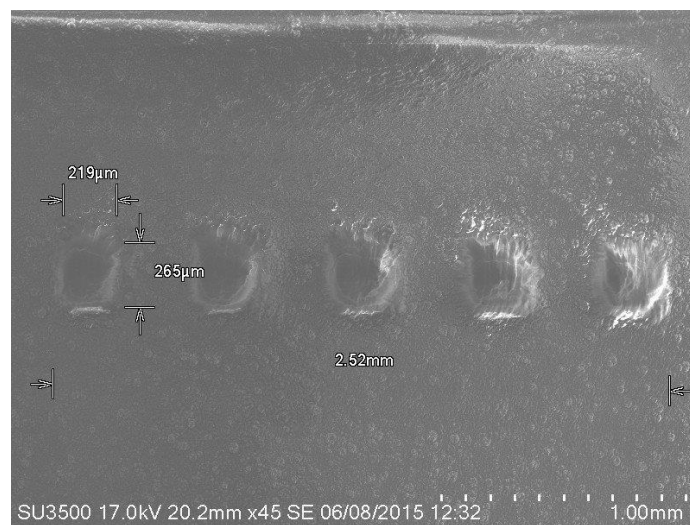


Figura (13). Fotografía electrónica (tomada con un microscopio electrónico SEM Hitachi SU3500) de un diseño con figuras cuadradas de 250 μm y separación de 150 μm entre ellas.

Las especificaciones del diseño fueron las siguientes, los primeros obstáculos cuadrados fueron de un tamaño de 600 x 1400 μm , lo cual nos aseguró una

buena definición de estos. Esto teniendo en cuenta que las partículas idóneas a utilizar (debido a las limitaciones de tamaño de la impresora) eran de 80 y 160 μm , por lo que las separaciones entre obstáculos fueron de 100 μm como lo muestra la figura 14.

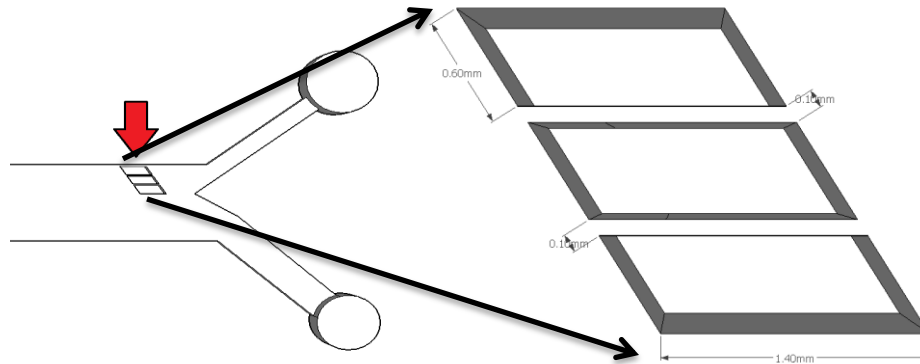


Figura (14). Figura donde se muestra la separación entre los obstáculos.

Se realizó el molde de esta manera para así forzar a que las partículas de 160 μm no tuvieran otra opción más que elegir el camino de la derecha, ya que no pueden entrar por ninguna de las separaciones de 100 μm o cambiar su camino, además al ser un flujo constante se aseguró el hecho de que las partículas no se atorarían obstruyendo el paso a las demás, ya que como por una de las entradas estuvo fluyendo un 80% de agua, esto no permite que las partículas pudieran cambiar su dirección, hasta el momento en el que llegaran a los obstáculos, donde solo las que son menores a 150 μm podrán entrar, dirigiéndose de esta manera a la salida número 1, mientras que las más grandes quedarían en la salida número 2 como se muestran en la figura 15.

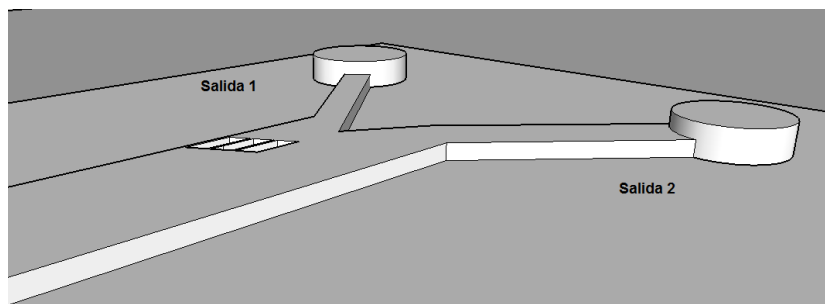


Figura (15). Diseño de microcanal donde se muestran las 2 salidas diseñadas en el molde por donde las partículas pequeñas pueden entrar por los obstáculos sin ningún problema y dirigirse por la salida número 1, mientras que las de mayor tamaño serán empujadas a la salida número 2.

2.3 Fabricación de microcanales en PDMS (Polidimetilsiloxano)

Para hacer el dispositivo microfluídico en PDMS, se utilizó el kit de Corning Sylgard 184 Silicone Elastomer, el cual consta de dos partes; la primera es de una resina y la segunda de un curador. En las especificaciones del polímero (PDMS) establece que debe prepararse con una relación de 10 partes de elastómero por 1 de curador (10:1).

Una vez conocido esto se llevó a cabo su preparación, en este trabajo se utilizó la relación 40 g de resina por 4 g de curador como se muestra en la figura 16, ya que previamente se tomó esta medida introduciendo el molde en una caja de Petri y llenándolo con agua destilada para así conocer la medida necesaria para cubrir el molde patrón por completo y dejar una capa de PDMS de aproximadamente 3 mm, esto para que al momento de despegarse se pudiera evitar el rompimiento en dado caso de ser muy delgado.

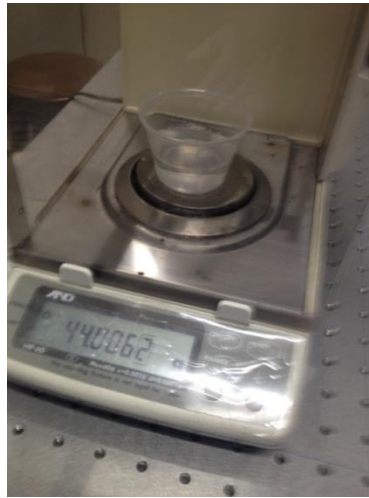


Figura (16). Imagen del pesado del kit de elastómero.

Una vez que se tuvo la medida exacta, lo siguiente fue homogenizar bien la mezcla agitándola por un periodo de 2 a 3 minutos para tener una mezcla homogénea. Con la mezcla bien hecha, lo siguiente fue introducirla a una cámara al vacío, eso se hizo debido a que al momento de estar agitando constantemente la mezcla se generaron burbujas, las cuales solo arruinarían el PDMS. Lo que se hizo fue dejar la mezcla por un periodo de 40 minutos en la cámara de vacío como se muestra en la figura 17, en este intervalo de tiempo se hicieron pausas cada 10 minutos, esto fue para poder alejar las burbujas que se encontraban cerca de nuestro canal con una pequeña punta y empujar a nuestro molde al fondo de la caja de Petri, esto solo en caso de que se hubiera levantado un poco.

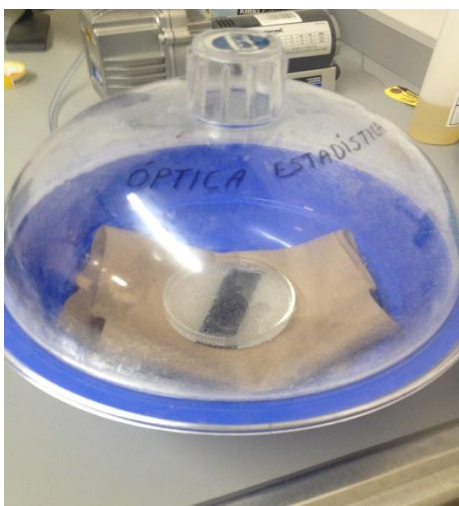


Figura (17) Imagen del molde maestro con PDMS dentro de la cámara al vacío.

Posteriormente se dejó el molde secando por 24 horas, para posteriormente meterlo al horno por un periodo de 2 horas a 65°C. Antes de introducir el molde al horno, éste se pre-calentó por un periodo de 15 minutos, esto para que no tuviera altas y bajas de temperatura.

Para conocer los tiempos de horneado se tuvieron que realizar pruebas en las que se dejó el horno calentando a cierta temperatura por un periodo de tiempo, monitoreando las variaciones que tenía cada minuto. Las curvas de caracterización del horno se muestran en el apéndice A.

Lo siguiente fue abrir el horno, esperando a que se enfriara un poco, para posteriormente cortar el PDMS y así, sacar el molde como se muestra en la figura 18 (A) y (B), este procedimiento requirió de mucho cuidado, ya que lo más importante era no dañar los obstáculos diseñados en el molde patrón.

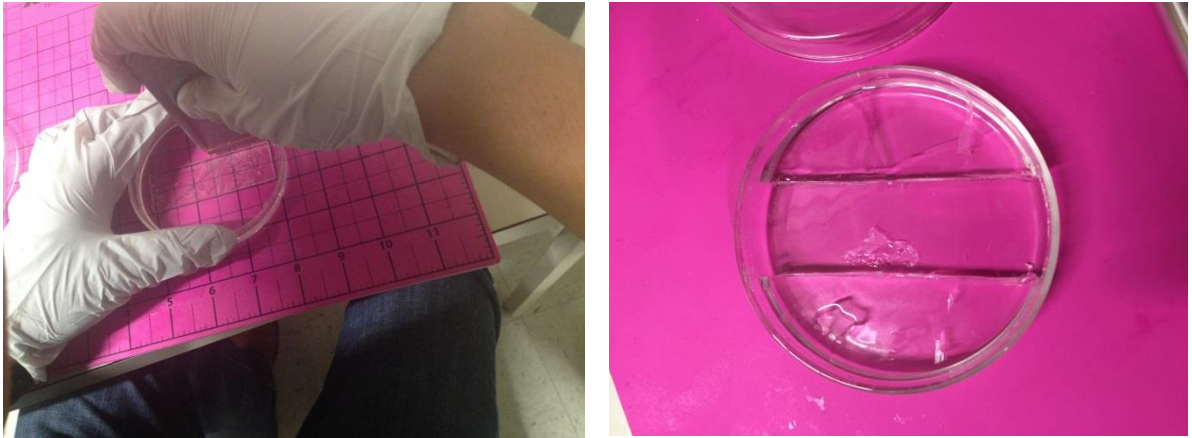


Figura (18). A) Fotografía del corte del PDMS. B) Fotografía después de haber retirado el molde.

Una vez que se tuvo el PDMS con el diseño, lo siguiente fue hacerle las perforaciones en las regiones que correspondían a las salidas y las entradas. Estas perforaciones se realizaron en este paso ya que si se hacían después de pegarlo al portaobjetos, existía una gran probabilidad de que se dañara el canal o los obstáculos, ya que se ejercía una presión sobre este.

El siguiente paso en el proceso de fabricación del dispositivo microfluídico fue el pegado del PDMS al sustrato.

2.4 Pegado con el sustrato

Luego de tener el PDMS listo, se tomó el portaobjetos, el cual se limpió previamente, ya que aun después de sacarlo completamente nuevo de su caja, se podían observar manchas como si fuera un poco de grasa, para limpiarlo se utilizó un papel especial para limpiar lentes, además de alcohol, sin correr el riesgo de que este se fuera a rayar.

Posteriormente, se colocaron el PDMS y el portaobjetos sobre una superficie sólida y utilizando una pistola de plasma fueron adheridas como se muestra en la figura 19. Esto se debe a algo conocido como “Reactive-ion etching” (RIE), este proceso utiliza plasma químicamente reactivo para eliminar el material depositado en el vidrio. El plasma se genera por un campo electromagnético, donde los iones de muy alta energía se generan en forma de un plasma que ataca a la superficie del vidrio y reacciona con él. El plasma se inició en el sistema mediante la aplicación de un fuerte campo electromagnético. El campo eléctrico oscilante ioniza las moléculas de gas despojándolos de electrones, de esta forma los electrones son acelerados en la cámara golpeando el objetivo a velocidades muy altas. Cuando los electrones se desvían hacia el vidrio, estos chocan con la muestra y si el campo eléctrico es suficientemente alto se puede golpear el material en él.

El plasma de oxígeno es muy eficaz en la mayoría de las superficies orgánicas, esto ayuda a romper los contaminantes de alto peso molecular, haciéndolos

reaccionar y debido al vacío, el residuo resultante tiende a vaporizarse en una fácil extracción de ellos. Al final del proceso el sustrato está muy limpio y se ioniza.

El PDMS es hidrófobo y la superficie no reactiva, por lo que es difícil para unirse con otras superficies. Al exponer el PDMS al plasma, su superficie se convierte en hidrófila y más reactiva. Esto resulta en una unión irreversible cuando se pone en contacto con vidrio, silicio, o incluso otra pieza de PDMS que haya sido expuesta a la misma pistola de plasma, de esta forma es como se logra la unión entre el sustrato y el PDMS.

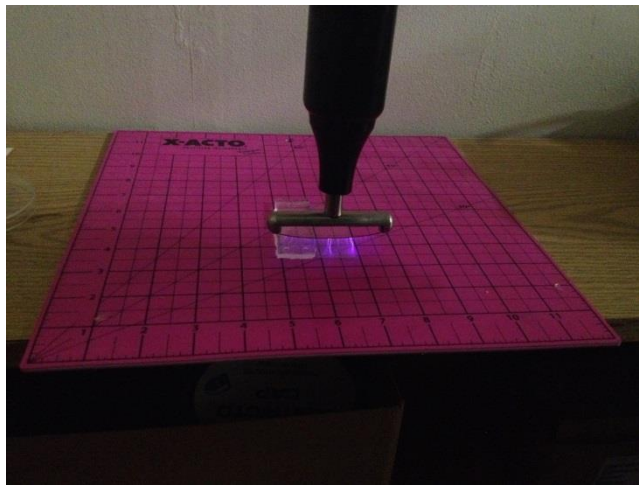


Figura (19). Fotografía del procedimiento de Reactive-ion etching

Luego de realizar este procedimiento, lo último que se hizo fue cubrir el portaobjetos adherido al PDMS y ponerlo debajo de un objeto sólido (o una pesa) durante 24 horas, para ejercer presión sobre los mismos, esto para que se llevara a cabo la unión entre ambos materiales.

Capítulo 3

Resultados y discusión

3.1 Caracterización de dispositivos

En esta sección se describe la caracterización de dispositivos fabricados, lo primero que se hizo fue determinar las dimensiones de las estructuras del microcanal para así asegurarse que las medidas eran las del diseño con el fin de que las partículas pudieran separarse con base en su tamaño.

Una forma para determinar las dimensiones del microcanal fue utilizar un microscopio electrónico SEM Hitachi SU3500 para así poder obtener las dimensiones reales entre cada uno de los obstáculos

En la figura 20 (A) se muestra la fotografía obtenida del microscopio electrónico, esta imagen es la obtenida del diseño mostrado en la figura 20 (B). En el diseño las dimensiones en el borde fueron de 350 μm , 550 μm , 700 μm y 850 μm , mientras que las medidas obtenidas fueron de 367 μm , 582 μm , 711 μm y 877 μm y las dimensiones en el diseño entre los obstáculos fueron de 350 μm y 500 μm , mientras que las obtenidas son de 480 μm y 367 μm .

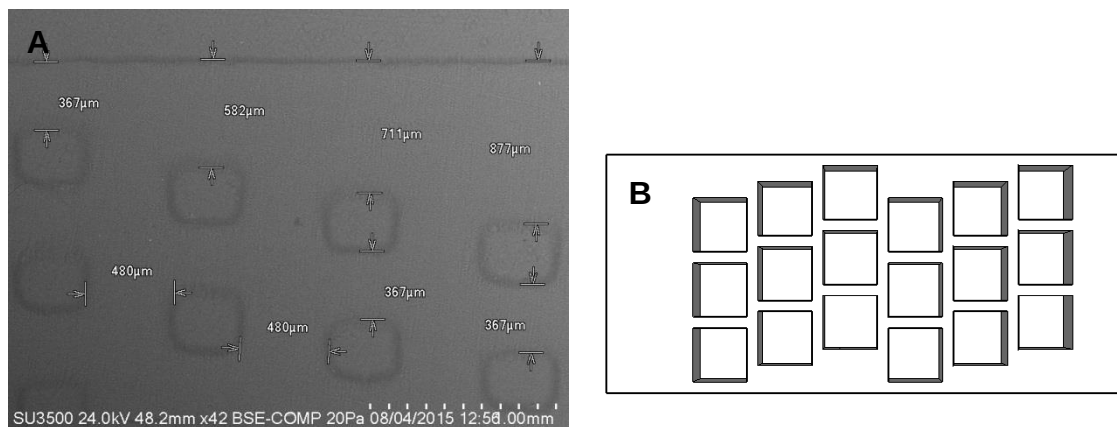


Figura (20) A) Fotografía electrónica del molde fabricado con la impresora 3D (tomada con un microscopio electrónico SEM Hitachi SU3500) mostrando las dimensiones entre los obstáculos. B) La figura corresponde al molde utilizado para la fotografía electrónica que muestra las dimensiones entre obstáculos.

Otra forma de determinar las dimensiones del microcanal fue utilizar como referencia partículas de poliestireno certificadas por el Instituto Nacional de Estándares y Tecnología (NIST) con un diámetro de $157 \mu\text{m} \pm 3.1 \mu\text{m}$, introduciéndolas dentro de nuestro dispositivo para así poder compararlas con las dimensiones de los obstáculos, posteriormente se tomaron fotografías desde un microscopio óptico modelo Nikon Eclipse TI-DH. Luego de esto utilizando el software de MatLAB se tomaron las medidas de las partículas en pixeles, haciendo así una relación entre micrómetros y pixeles, logrando así poder obtener datos precisos sobre las medidas del microcanal.

En la figura 21 se muestra la fotografía tomada desde el microscopio óptico, donde se muestran las partículas utilizadas como base para determinar el tamaño entre obstáculos, con un diámetro de $157 \mu\text{m} \pm 3.1 \mu\text{m}$ (certificado

NIST) y se hizo una comparación entre una escala de pixeles y otra de micrómetros.

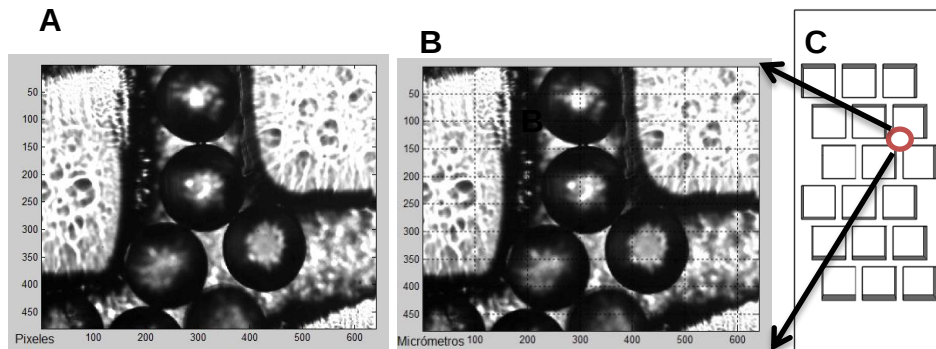


Figura (21). A) Fotografía tomada desde el microscopio óptico donde se muestran las partículas de $160\ \mu\text{m}$ en pixeles. B) Fotografía correspondiente a las partículas de $160\ \mu\text{m}$ en micrómetros. C) La figura corresponde a la sección del microcanal mostrada en las figuras (A) y (B).

En la figura 22 se muestra la fotografía obtenida del microscopio óptico, esta imagen es la obtenida del diseño de la figura 22 (C), donde muestra que las dimensiones obtenidas entre los canales fueron de $145\ \mu\text{m}$, mientras que las propuestas fueron de $150\ \mu\text{m}$

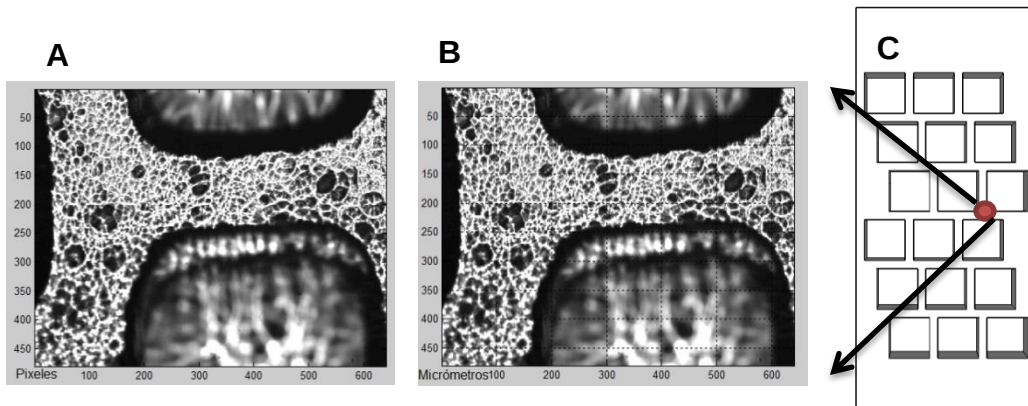


Figura (22). A) Fotografía tomada del microscopio óptico donde se puede observar la separación entre obstáculos dentro del microcanal en pixeles. B) Fotografía correspondiente a la separación entre obstáculos dentro del microcanal en micrómetros. C) La figura corresponde a la sección del microcanal mostrada en las figuras (A) y (B).

3.2 Sistema óptico para la captura de imágenes en el dispositivo optofluídico

Para poder observar el comportamiento de flujo y la trayectoria de las partículas se implementó un sistema óptico que consta de una montura XYZ, la cual permitió que el dispositivo se pudiera mover libremente sobre los ejes X, Y y Z, una cámara CCD con un objetivo de 10X con el que pudimos observar lo que ocurrió dentro del microcanal, está conectada a una laptop y fue posible visualizarse detalladamente por medio de un software llamado PixelINK Capture además, una lámpara con la que se ilumina la parte de interés dentro del microcanal y la micro bomba Syringe Pump NE-4000 con la cual se inyectaron los fluidos en nuestro diseño, en la figura 23 se muestra un diagrama del arreglo experimental.

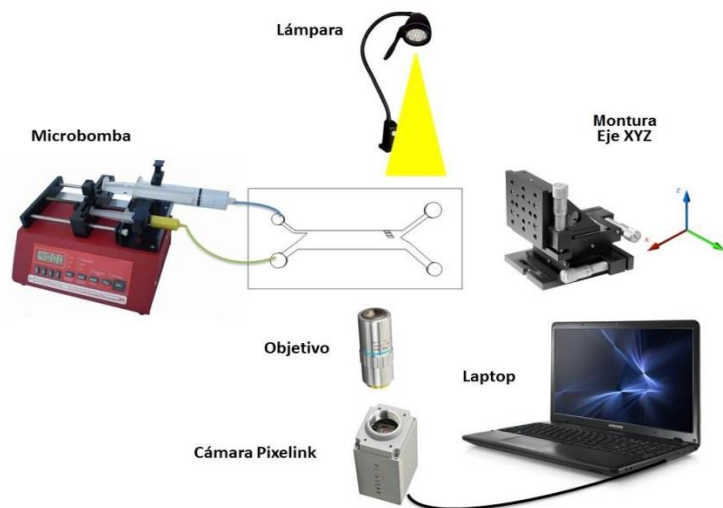


Figura (23). Esquema del arreglo óptico experimental utilizado en las pruebas con el microcanal.

En la figura 24 se muestra una fotografía del arreglo experimental donde se aprecian cada uno de los componentes utilizados.

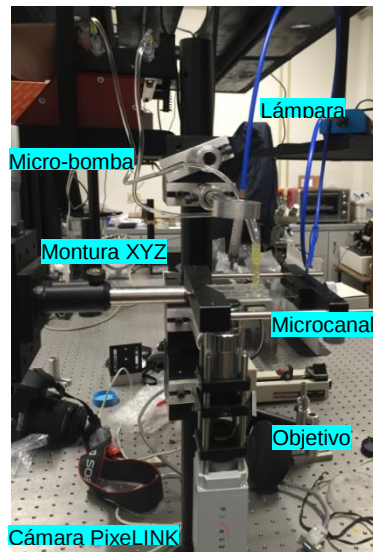


Figura (24). Fotografía del arreglo experimental utilizado en el laboratorio, mostrando cada una de las partes que lo conforman.

3.3 Pruebas de Flujo

Luego de conocer que las medidas de los obstáculos propuestos en el molde fueron las correctas y tener un sistema óptico para la captura de imágenes, lo siguiente a realizar fueron algunas pruebas de flujo utilizando 2 tintas de distintos colores empleando el molde de la figura 4 (B) como se muestra en la figura 25, donde se puede observar cómo es que a medida que las velocidades se van modificando, va aumentando el tamaño del flujo de las tintas, esto se realizó para poder conocer las velocidades que se utilizarían posteriormente con las partículas.

En la Figura 25 (A) se puede observar como la tinta roja abarca aproximadamente un 95% del canal, para este caso los flujos fueron de 2600 $\mu\text{L/hr}$ en tinta roja y 180 $\mu\text{L/hr}$ en tinta verde, en la figura 25 (B) esta relación cambia y ahora es de un 35% en la tinta roja, para esto los flujos fueron de 1250 $\mu\text{L/hr}$ en tinta roja y 1850 en tinta verde, en la figura 25 (C) la tinta roja llena un 20% del ancho del canal, esto con flujos de 720 $\mu\text{L/hr}$ para la tinta roja y 2250 $\mu\text{L/hr}$ mientras que en la figura 25 (D) tiene un 25% del mismo con velocidades de 900 $\mu\text{L/hr}$ para la tinta roja y 2100 $\mu\text{L/hr}$ para la tinta verde, las velocidades propuestas en la figura 25 (D) fueron las seleccionadas para realizar las pruebas con micropartículas, ya que la concentración de fluidos mostrada cumple con los requerimientos para que las partículas sigan el camino y pasen por cada uno de los obstáculos propuestos, de esta forma se pudieron seleccionar las velocidades para nuestro experimento.

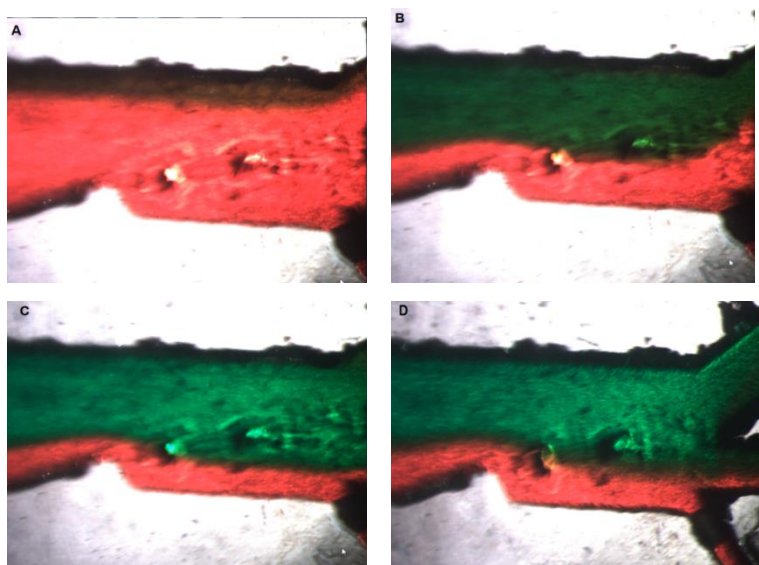


Figura (25). Fotografía donde se muestran 2 flujos diferentes (tinta verde y roja) en el molde propuesto para partículas más grandes. Los flujos fueron A) 2600 y 180 B) 1250 y 1850 C) 720 y 2250 y D) 900 y 2100 para tinta roja y verde respectivamente.

Una vez conociendo lo anterior, se trabajó con las partículas de 80 y 160 μm con el molde para partículas menores a 200 μm mostrado en la figura 4 (A), para esto se utilizaron jeringas para insulina de 1 mL y 4.5 mm de volumen, por las cuales se inyectaron las partículas y el agua, esto con una micro-bomba Syringe Pump NE-4000.

La velocidad utilizada para inyectar las partículas fue de 300 $\mu\text{L/hr}$, para así poder observar el desplazamiento de las partículas a lo largo del canal y durante los obstáculos, mientras que la velocidad con la que se inyectó el agua destilada fue de 1000 $\mu\text{L/hr}$.

El diseño cuenta con 2 entradas, en la que en una de ellas (entrada 1 ver figura 5) se introdujo un fluido con las partículas de 80 y 160 μm , mientras que en el otro (entrada 2) se inyectó agua a una velocidad un poco más rápida que la que contiene las partículas, lo cual nos aseguró que el flujo de agua entrante ocupó aproximadamente el 80% del microcanal y que mantuvo en un borde de este al flujo que contiene las partículas. De esta forma las partículas pudieron seguir los obstáculos correctamente y las de dimensiones más pequeñas pasaron entre las estructuras para así dirigirse a la salida número 1; en cambio las más grandes al no poder entrar por ninguno de los obstáculos siguieron su camino, guiados por la forma de los obstáculos y del flujo de agua hasta llegar a la salida número 2 como se muestra en el esquema de la figura 26.

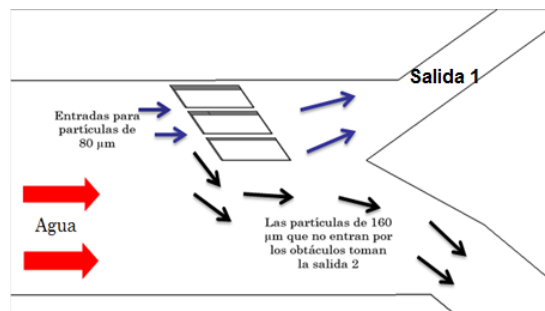


Figura (26). Esquema que muestra cómo es que viajan los 2 flujos introducidos dentro del canal, así como el proceso de la separación de las partículas para el diseño mostrado en la figura 14 (A).

En la Figura 27 se muestra el arreglo experimental utilizado para el molde de la figura 4 (A), con 2 tintas de diferente color (roja y azul), esto se hizo para así poder observar correctamente la diferencia de flujo planteada anteriormente, lo cual nos indicó que el color azul (flujo que es igual al agua destilada que fue introducida en el experimento normal) abarcó aproximadamente un 80% del canal, mientras que la tinta de color rojo (la cual hace referencia al fluido que contenía las micropartículas) siguió la trayectoria propuesta, dirigiéndose por el borde del microcanal.

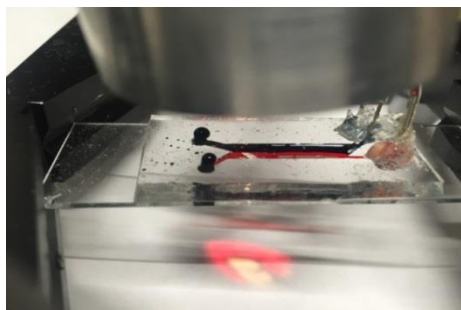


Figura (27). Fotografía tomada del arreglo experimental, con 2 tintas diferentes para así poder observar la diferencia entre los flujos en el dispositivo para micropartículas.

La figura 28 muestra la salida número 1 que es de tinta roja (el cual representa el fluido que llevo las partículas de 80 μm a su destino).

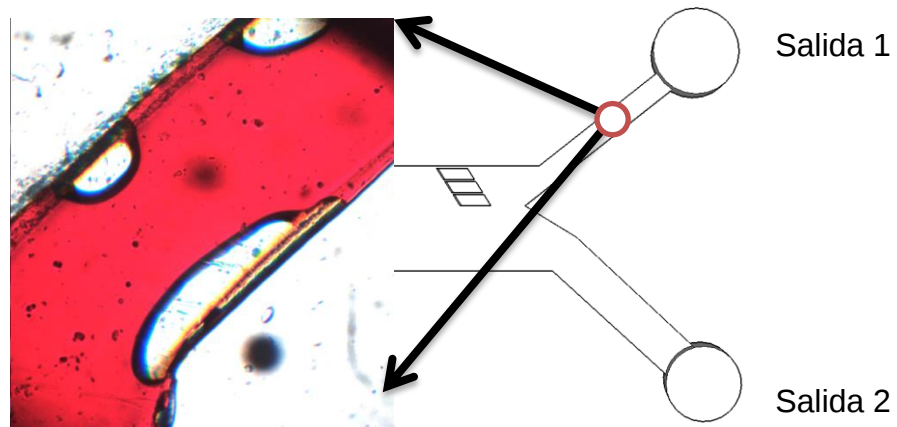


Figura (28). Fotografía que muestra la salida numero 1 representada con tinta color rojo.

La figura 29 muestra la salida número 2, la cual contiene tinta color azul (lo que representara el flujo que llevara las partículas de 160 μm).

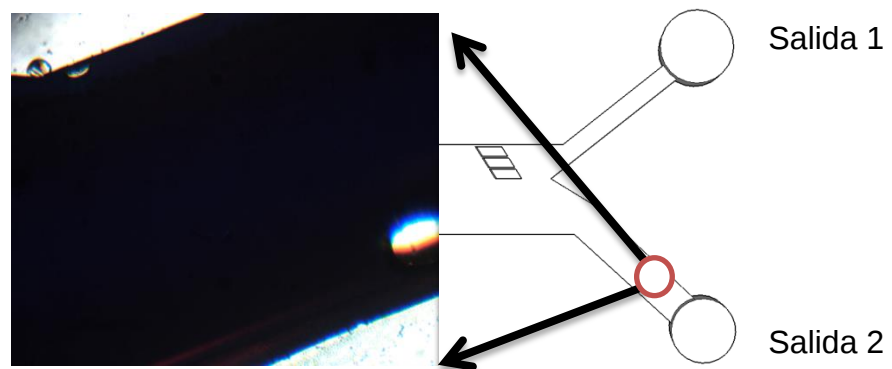


Figura (29). Imagen tomada en la salida número 2, en la cual solo la tinta color azul entró, esto representando al flujo que lleva las partículas de 160 μm .

Después de haber utilizado las tintas para conocer los flujos, lo siguiente fue realizar las pruebas utilizando las partículas dentro del molde propuesto en la figura 4 (A).

En la figura 30 (A) se muestra una fotografía en el borde del canal, donde viaja el fluido que contenía las partículas de 80 y 160 μm . La figura 31 (B) muestra la sección del dispositivo de donde se obtuvo la imagen.

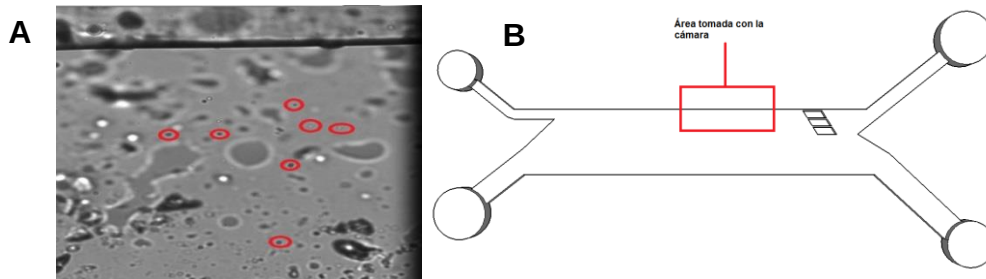


Figura (30). A) Fotografía tomada en el borde del canal, donde viaja el flujo que contiene a las partículas de 80 y 160 μm . B) Imagen donde se muestra el área tomada por la cámara.

En la figura 31 se muestra una parte de los obstáculos en el PDMS, donde las partículas más grandes no fueron capaces de entrar entre los obstáculos, por lo que siguieron su trayectoria sin poder atravesar entre estos.

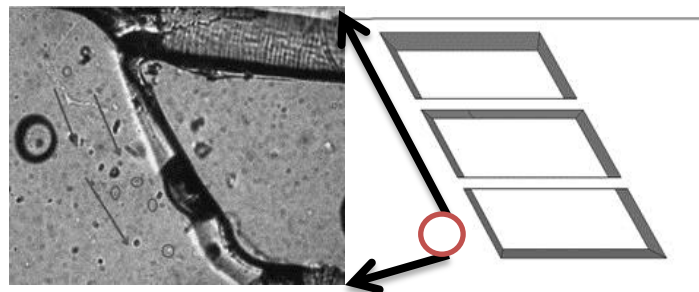


Figura (31). Fotografía tomada en la sección de obstáculos, mostrando como las partículas de 160 μm no entran entre las aperturas y siguen la trayectoria planeada.

En la figura 32 se muestran las partículas de 80 μm que entraron por uno de los obstáculos, siguiendo la trayectoria propuesta.

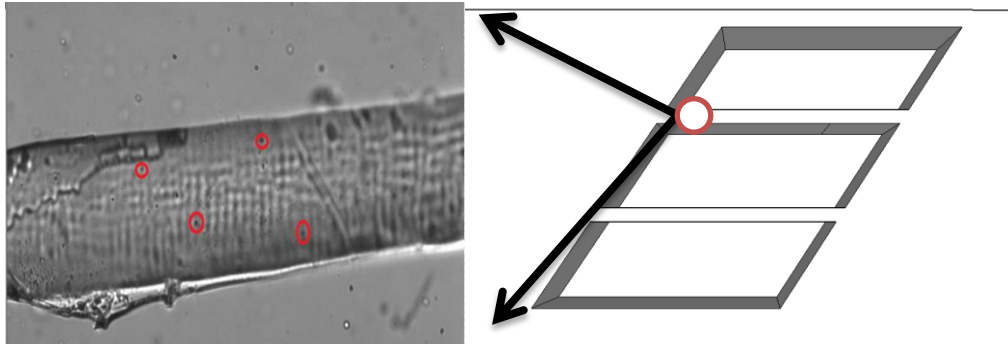


Figura (32) Fotografía de las partículas de 80 μm pasando entre los obstáculos.

La fotografía mostrada en la figura 33 fue tomada con el microscopio óptico descrito anteriormente, donde se muestra la salida número 1 que contuvo únicamente las partículas de 80 μm .

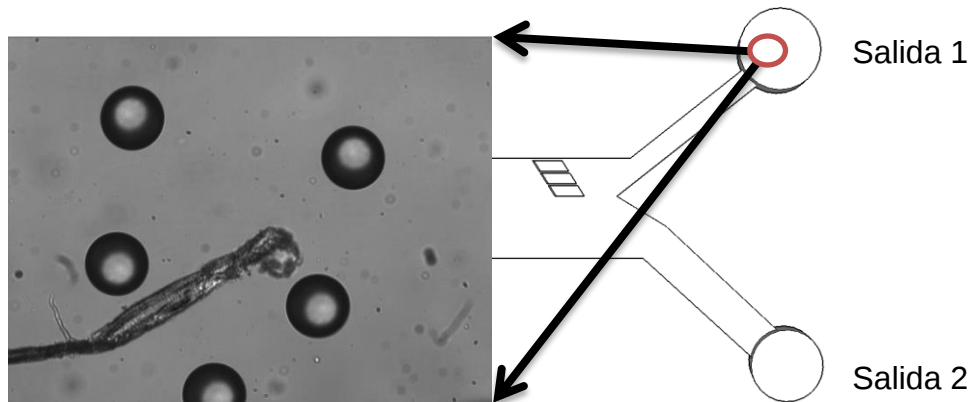


Figura (33) Fotografía tomada en la salida número 1, mostrando como fueron separadas las partículas de 80 μm .

La fotografía mostrada en la figura 34 fue tomada con el microscopio óptico descrito anteriormente, donde se muestra la salida número 2 que contuvo las partículas de 160 μm .

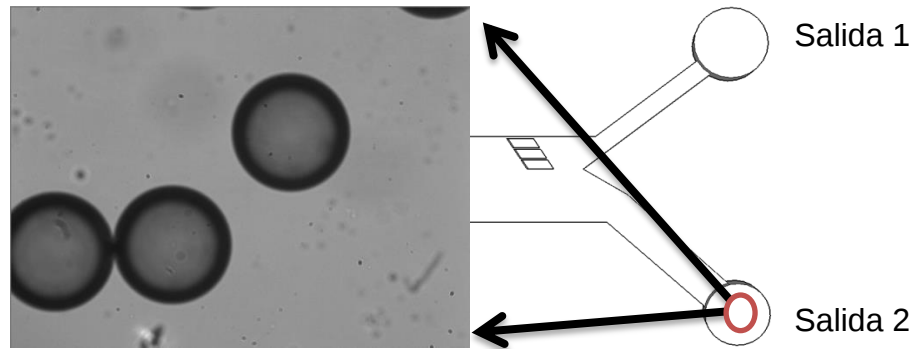


Figura (34) Fotografía tomada en la salida número 2, mostrando como fueron separadas las partículas de 160 μm .

A continuación en las figuras 35 y 36 se muestran las fotografías del dispositivo utilizado en la separación de partículas mostrado en la figura 4(B), divididas en fragmentos para así poder observar detenidamente el movimiento de las partículas, para esto en la entrada número 1 (ver figura 5) se introdujo el flujo con las partículas, mientras que en la entrada 2 (ver figura 5) fue el flujo con agua capaz de empujar a las partículas para así seguir el camino planeado. Como se mencionó anteriormente las velocidades utilizadas para este experimento fueron de 900 $\mu\text{L/hr}$ y 2100 $\mu\text{L/hr}$ para así poder mantener una velocidad más alta en el agua lo cual hace que el flujo contenedor de partículas siga una dirección pegada al borde del canal que es donde se encuentran los obstáculos, en ellos las partículas se dividieron con base en su tamaño, ya que entre cada uno de los obstáculos solo podían entrar partículas de ciertas

dimensiones, para así dirigirse a su salida correspondiente. De esta forma se pudo lograr la separación de partículas por tamaño.

En la figura 35 se puede observar en forma secuenciada como es que la partícula de 400 μm va avanzando a lo largo del camino planeado, en la figura 35 (B) se puede apreciar cómo es que esta por entrar en el primer obstáculo, en la figura 35 (D) la micropartícula está siguiendo su camino después de superar el obstáculo y en la 35 (E) se muestra cómo es que entra por la salida numero 1

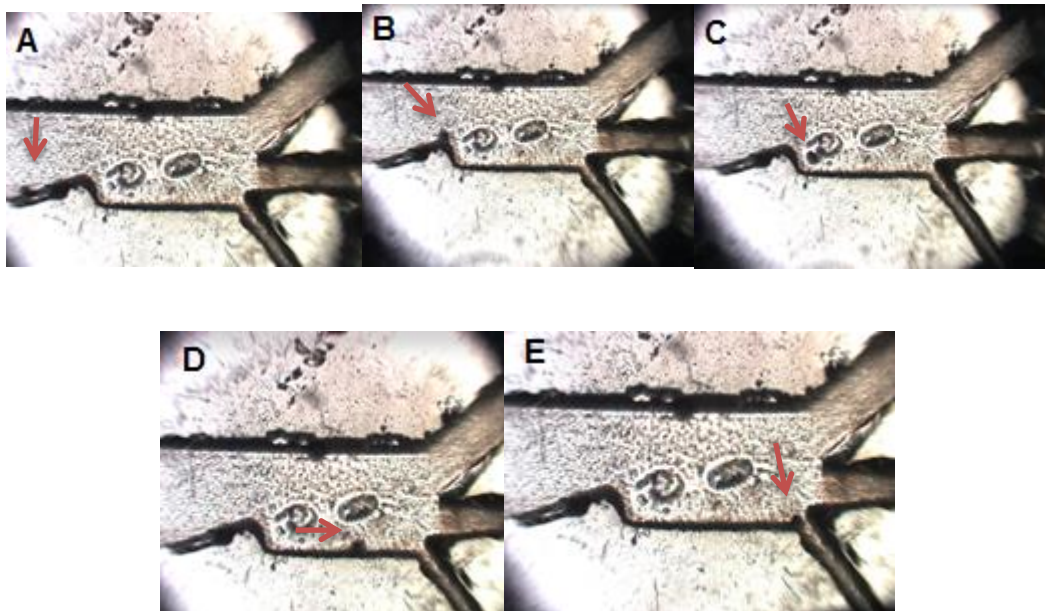


Figura (35) Fotografías que muestran la secuencia de cuadros para el movimiento una partícula de 400 μm .

En la figura 36 se puede observar cómo es que la partícula de 1000 μm sigue la trayectoria planeada, en la figura 36 (A) se ve como no es capaz de entrar en el primer obstáculo por lo que sigue su camino, en la figura 36 (B) tampoco puede entrar por el segundo obstáculo debido a las dimensiones de la partícula por lo que continua con la trayectoria propuesta y en la figura 36 (C) al no haber podido entrar por alguno de los obstáculos la partícula se dirigió hacia la salida numero 3 como se había planeado.

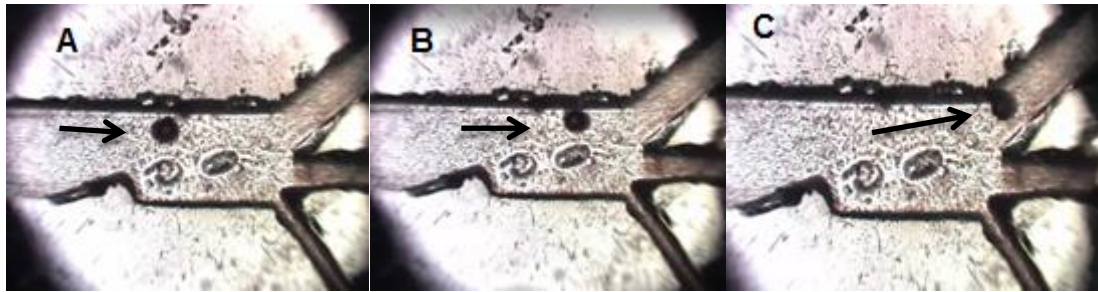


Figura (36). Fotografías que muestran una partícula de 1000 μm siguiendo la trayectoria propuesta.

Capítulo 4

Conclusiones

En este capítulo se presentan los resultados principales obtenidos en la realización de esta investigación

En este trabajo se realizó un estudio experimental de una técnica para la separación de micropartículas por tamaño en un sistema microfluídico de dos entradas, dentro de las cuales se colocaron microestructuras (obstáculos) para realizar la separación de las partículas.

1. Se diseñó la estructura del dispositivo microfluídico utilizando Sketchup, que es un software del tipo CAD (diseño asistido por computadora). Mediante este programa fue posible generar el código que es interpretado por la impresora 3D y de esta manera proveer la información de la geometría y las dimensiones del microcanal
2. Se fabricaron moldes patrón para dispositivos microfluídicos utilizando impresoras 3D. Los moldes patrón fabricados están hechos con una resina fotosensible, las dimensiones mínimas de las estructuras fabricadas fueron de 100 μm en la separación de cada uno de los obstáculos.
3. Se fabricaron los dispositivos microfluídicos seleccionando 2 diseños para su experimentación, el primero cuenta con 2 entradas y 2 salidas

con las cuales se manejaron partículas menores a 180 μm , el canal de entrada es de 500 μm de altura, mientras que el segundo diseño cuenta con 2 entradas y 3 salidas, manejando partículas mayores a 200 μm , con una altura de 1500 μm en el canal de entrada.

4. La selección de micropartículas en el sistema microfluídico mediante obstáculos se pudo completar, logrando seleccionar partículas de 80 y 160 μm en el primer diseño y 400 μm , 750 μm y 1000 μm en el segundo, esto gracias al tamaño y posición de las microestructuras utilizadas, además de las velocidades manejadas en cada uno de los fluidos, lo que permitió que no se mezclaran durante la trayectoria propuesta, guiando así a las partículas a las zonas deseadas.

4.1 Trabajo a futuro

Utilizando los métodos desarrollados durante este trabajo y los resultados experimentales obtenidos, se sugiere el siguiente trabajo a futuro:

1. Encontrar nuevos arreglos de obstáculos que funcionen para seleccionar micropartículas por tamaño.
2. Utilizar biopartículas para realizar más experimentos.
3. Buscar alternativas para mejorar la calidad y la resolución de la impresora 3D.

Aún queda mucho camino por recorrer y muchas aplicaciones para el uso de los dispositivos microfluídicos (lab-on-a-chip), especialmente en el área de la medicina, en un futuro el uso de estos sistemas podrá revolucionar la industria y hacer muchos procedimientos de una manera más simple, rápida, económica y eficaz.

Referencias bibliográficas

- [1] G. M. Whitesides, "The origins and future of microfluidics", Nature, Vol. 442, pp 368-373 (2006).
- [2] D. Fernández Rivas, "Microfluidos: nuevas fronteras", Departamento de Ingeniería Nuclear, Facultad de Ciencias y Tecnología Nuclear, Instituto Superior de Tecnología y Ciencias Aplicadas InSTEC.Cuba (2011).
- [3] R.E. Sósol-Fernández, V.M. Marín-Lizárraga, E.Rosales-Cruzaley y B.H. Lapizco-Encinas, "Análisis de células en dispositivos microfluídicos", Revista mexicana de ingeniería química , Vol. 11, No. 2 , 227-248 (2012).
- [4] Jason P. Beech, Stefan H. Holm, Karl Adolfsson and Jonas O. Tegenfeldt, "Sorting cells by size, shape and deformability" Lab Chip, 12, 1048 (2012).
- [5] Lothar Schmid, David A. Weitz and Thomas Franke, "Sorting drops and cells with acoustics: acoustic microfluidic fluorescence-activated cell sorter", Lab Chip, 14, 3710 (2014).
- [6] Lotien Richard Huang, Edward C. Cox, Robert H. Austin and James C. Sturm, "Continuous particle separation through deterministic lateral displacement" Science, Vol. 304, 14 May (2004).

[7] Peter B. Lillehoj, Hideaki Tsutsui, Bahram Valamehr, Hong Wu and Chih-Ming Ho, "Continuous sorting of heterogeneous-sized embryoid bodies", *Lab Chip*, 10, 1678-1682 (2010).

[8] Elisabeth Verpoorte and Nico F. De Rooij, "Microfluidics meets mems", *Proceedings of the IEEE*, vol. 91, no. 6, junio (2003).

[9] J. Cooper McDonald, Michael L. Chabinyc, Steven J. Metallo, Janelle R. Anderson, Abraham D. Stroock, and George M. Whitesides, "Prototyping of microfluidic devices in poly(dimethylsiloxane) using solid-object printing", *Analytical Chemistry*, 74, 1537-1545 (2002).

Apéndice A

Control de temperatura del horno utilizado.

Para poder determinar las temperaturas utilizadas al momento de hornear el molde, fue necesario realizar pruebas de tiempo con relación a la temperatura que alcanzará el horno, para así poder determinar a partir de qué momento la temperatura del horno se encontraba estable para poder ser utilizado.

Para esta prueba se fijó la temperatura en el control del horno y se utilizó un multímetro con un termopar introducido en el horno, donde se estuvo monitoreando la temperatura del horno durante un periodo de 30 minutos, observado cada minuto los cambios que sufría. Se observó que a partir de los 10 minutos la temperatura se estabilizaba.

En la figura 37 se muestra la respuesta del horno cuando se seleccionó una temperatura de 60 grados centígrados. Se puede observar que después de 12 minutos la temperatura se estabiliza alrededor de 60 grados con oscilaciones de aproximadamente 5 grados centígrados.

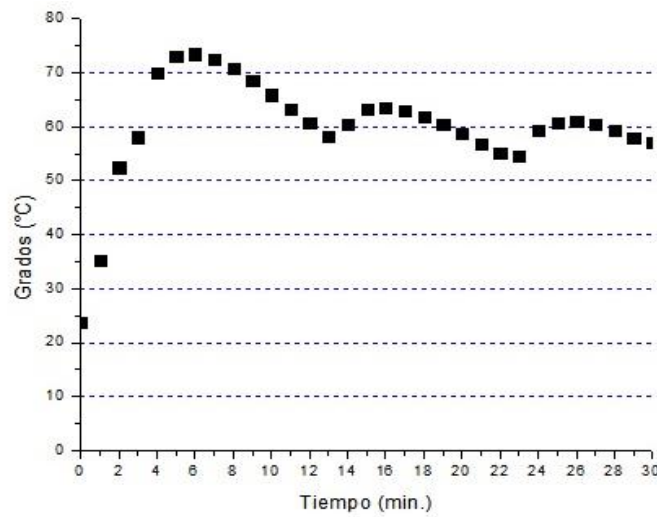


Figura (37). Gráfica de la temperatura con respecto al tiempo, donde la temperatura utilizada fue de 60 grados centígrados.

En la figura 38 se muestra la respuesta del horno cuando se seleccionó una temperatura de 90 grados centígrados. Se puede observar que después de 12 minutos la temperatura se estabiliza alrededor de 90 grados con oscilaciones de aproximadamente 5 grados centígrados.

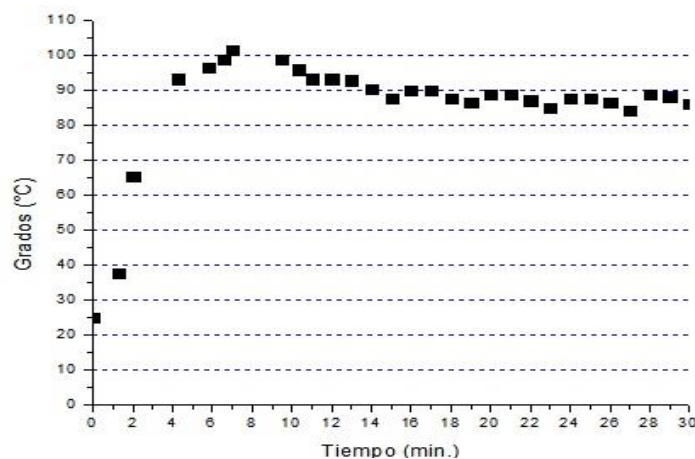


Figura (38). Gráfica de la temperatura con respecto al tiempo, donde la temperatura utilizada fue de 90 grados centígrados.

Las pruebas anteriores nos indicaron que antes de introducir nuestro molde debíamos precalentar el horno por 12 minutos para que no hubiera variaciones en la temperatura.