



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL INSTITUTO POLITÉCNICO
NACIONAL**

Unidad Monterrey

**Lavado de microburbujas para liberación controlada
de fármacos utilizando un dispositivo microfluídico**

Tesis que presenta

Berenice Yólotl Pérez Cacho

para obtener el Grado de

Maestra en Ciencias

en

Ingeniería y Física Biomédicas

Director de la Tesis

Dr. Gabriel Arturo Caballero Robledo

Apodaca, Nuevo León

Agosto 2018

Agradecimientos

- Al CONACYT por beneficiarme con una beca para realizar la maestría.
- Al Dr. Gabriel A. Caballero por la dedicación, experiencia y entusiasmo que compartió conmigo para la realización de este proyecto.
- Al Dr. José L. García y al Dr. Bruno A. Escalante por permitirme usar su equipo de laboratorio.
- A mis compañeros de laboratorio y a los integrantes del Bio-ARTS Lab. por la paciencia y consejos que me brindaron.
- A los profesores de la Unidad por su interés en mi desarrollo académico.
- A Leo por su gran ayuda, en especial en la última etapa proyecto :).

Resumen

Desde hace algunas décadas las microburbujas se han usado como agentes de contraste de ultrasonido, sin embargo, su aplicación como acarreadoras de fármacos es más reciente por lo que es de gran interés mejorar sus características para estos fines. Al finalizar la fabricación de microburbujas para liberación controlada, las moléculas de fármaco quedan no sólo en la membrana de las burbujas, también en la solución que contiene a éstas haciendo necesario un proceso de lavado. Este lavado consiste en la centrifugación de la suspensión de microburbujas, un proceso que tiene varias repeticiones y puede afectar la cantidad de microburbujas. Las burbujas a lavar pueden fabricarse por agitación mecánica (tamaño medio de $\sim 0.8\mu\text{m}$) o por medio de dispositivos microfluídicos. En este trabajo proponemos un lavado basado en la filtración hidrodinámica, la cual consiste en la fabricación de un dispositivo microfluídico que cuenta con un canal principal del cual se ramifican varios canales laterales cuyas características permiten filtrar un ancho del canal principal resultando en una separación en función del tamaño de las partículas. Al diseñar dispositivos que nos permitieran obtener un filtrado muy pequeño, para evitar perder burbujas, nos encontramos con el problema de la difusión, pues las moléculas del flujo a lavar difunden en dirección opuesta a los canales de filtración impidiendo el lavado. Tomando en cuenta a la difusión, se hizo un desarrollo teórico a partir del cual graficamos una aproximación del perfil de la interfase durante el lavado permitiéndonos predecir en qué sistemas podemos lograr el lavado. Además, se fabricaron dispositivos de lavado, que fueron caracterizados considerando como molécula modelo de fármaco a la fluoresceína, obteniendo dispositivos que completaban el lavado. Se fabricaron e introdujeron microburbujas a los dispositivos de lavado, revelando las dificultades de introducir estas burbujas a microcanales.

Abstract

For some decades, microbubbles have been used as ultrasound contrast agents, however, their application as drug carriers is more novel, so it is of great interest to improve their characteristics for these purposes. At the end of the production of microbubbles for controlled release, the drug molecules are not only in the membrane of the bubbles but also in the solution containing them, making a washing process necessary. This washing consists of the centrifugation of the microbubble suspension, a process that has several repetitions and can affect the number of microbubbles. The bubbles to be washed can be produced by mechanical agitation (mean size $\sim 0.8\mu\text{m}$) or by means microfluidic devices. In this work, we propose a washing based on hydrodynamic filtration, which consists on the creation of a microfluidic device that has a main channel from which several side channels branch out, whose characteristics allow filtering a width of the main channel resulting in a separation based on the size of the particles. When designing devices that allow us to obtain a very small filtering, to avoid losing bubbles, we find the problem of diffusion, because the molecules of the flow to be washed diffuse in the opposite direction to the filtration channels avoiding washing. Considering the diffusion, a theoretical development was made, from which we plotted an approximation of the profile of the interface during the washing, allowing us to predict in which systems the washing can be achieved. In addition, washing devices were manufactured, which were characterized considering fluorescein as a model drug molecule, obtaining devices that accomplished washing. Microbubbles were produced and introduced into the washing devices, revealing the difficulties of introducing these bubbles into microchannels.

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Microburbujas para aplicaciones biomédicas	1
1.2. Filtración hidrodinámica (HDF)	4
1.3. Bases de la HDF	6
1.3.1. Resistencias hidráulicas	8
1.4. Difusión como mecanismo de transporte de moléculas	10
1.5. Hipótesis	11
1.6. Objetivos	11
2. Métodos y materiales	13
2.1. Análisis Teórico	13
2.1.1. Determinación de número de canales necesarios para el lavado	15
2.1.2. Número de Péclet	21
2.1.3. Determinación de la fracción de flujo a	22
2.1.4. Cálculo de las resistencias hidráulicas	24
2.1.5. Longitudes de los canales laterales	26
2.2. Diseño del dispositivo	29
2.2.1. Fabricación del molde de los microcanales	29
2.2.2. Fabricación de los dispositivos de PDMS	32
2.3. Medición de las alturas de los microcanales	34
2.4. Caracterización de los dispositivos	34
2.5. Preparación de microburbujas	34
2.6. Lavado de microburbujas	37
3. Resultados y discusión	39
3.1. Comportamiento esperado por las moléculas de la interfase	39
3.1.1. Número de Peclet	42
3.2. Dispositivos fabricados	42
3.3. Caracterización de los dispositivos	45
3.3.1. Relaciones de flujo	48
3.4. Fabricación y lavado de microburbujas	49
4. Conclusiones	53
5. Perspectivas	55

Capítulo 1

Introducción

1.1. Microburbujas para aplicaciones biomédicas

En 1968, Gramiak y Shah, publicaron por primera vez un estudio en el que empleaban a las burbujas como agente de contraste para ecocardiogramas: se dieron cuenta de que al inyectar una solución salina, en la punta del catéter se formaban pequeñas burbujas de aire, lo cual resultaba en un aumento en la señal de ultrasonido [1]. Este descubrimiento llevó al estudio de las microburbujas como medio de contraste para imágenes de diagnóstico por ultrasonido, buscando mejorar su respuesta al ultrasonido, su duración en el torrente sanguíneo y minimizar las respuestas del sistema inmunológico.

El uso de las burbujas como agentes de contraste se debe a su capacidad para dispersar al ultrasonido no linealmente y de manera más efectiva que los glóbulos rojos [2]. Entonces, los actuales agentes de contraste incrementan la señal proveniente de la sangre, favoreciendo la visualización del flujo de sangre y la vascularización de tejidos [3], por esto, el uso más común de estos agentes, es en estudios de cardiología.

Desde hace varios años se han comercializado burbujas como agentes de contraste para ultrasonido. Los más recientes pueden durar, en la circulación sanguínea, grandes intervalos de tiempo, así que se han desarrollado nuevas áreas de estudio de las microburbujas para uso terapéutico y quirúrgico. Por lo tanto, para las aplicaciones más recientes, es de gran importancia mejorar el control de las características de las microburbujas [2].

Una de las aplicaciones más importantes de las microburbujas, es para la liberación controlada de fármacos cuyo objetivo es el siguiente: las burbujas se introducen al torrente

sanguíneo (Figura 1.1(a)), una vez que llegan al lugar de interés se aplican ondas de ultrasonido (Figura 1.1(b)), primero el radio de las burbujas oscila uniformemente y luego el radio varía de manera irregular (Figura 1.1(c)), hasta que las burbujas se rompen y liberan el fármaco (Figura 1.1(d)). Este método será de gran utilidad para fármacos que no requieren altas dosis [3].

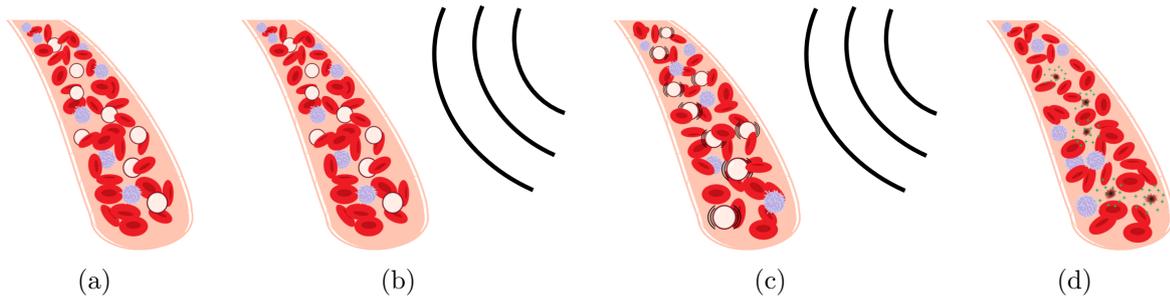


Figura 1.1: Liberación controlada de fármacos con microburbujas. En rojo y azul se representan los eritrocitos y los leucocitos. (a) Burbujas avanzando en un vaso sanguíneo. (b) Aplicación de ondas de ultrasonido. (c) Oscilación de las burbujas. (d) Destrucción de las burbujas y liberación de las moléculas de fármaco.

Las microburbujas para uso médico no deben superar los $10\mu\text{m}$ de diámetro, esto para evitar que tapen los pequeños vasos sanguíneos [5]. Y para alargar su tiempo de vida, deben tener una membrana protectora la cual comúnmente es de fosfolípidos o polímeros. Las capas de fosfolípidos son flexibles y generan poca respuesta del sistema inmunológico [2]; las capas poliméricas son más rígidas y gruesas, y se puede controlar más fácilmente su rompimiento por ultrasonido [2]. De aquí en adelante nos limitaremos a estudiar a las burbujas con membranas de fosfolípidos, por ser muy estables. El núcleo gaseoso debe ser formado por gases de baja difusividad, los más usados son los de perfluorocarbono de alto peso molecular [6].

Para uso terapéutico, la estructura de la microburbujas puede ser modificada. Consideremos el caso de una burbuja con una membrana de fosfolípidos (Figura 1.2). Las moléculas del fármaco pueden ir embebidas en la membrana o unidas a la parte externa de las cabezas de los fosfolípidos. De la misma manera se pueden colocar nanopartículas magnéticas, las cuales permiten dirigir a las microburbujas por medio de campos magnéticos, con la misma finalidad se pueden colocar ligandos en la superficie para que se unan

a receptores celulares. En el caso de las terapias génicas, las burbujas pueden contener fragmentos de ADN en el núcleo gaseoso [3].

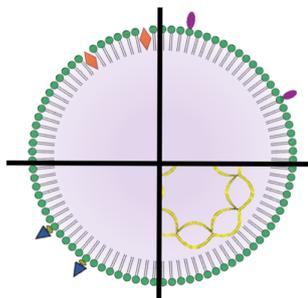


Figura 1.2: Modificaciones en la estructura de las burbujas. En verde se muestran los fosfolípidos, en rombos naranjas y óvalos morados las unidades de fármacos o nanopartículas, en triángulos azules se muestran los ligandos celulares y en la cadena amarilla, un fragmento de ADN.

Existen diversas formas para fabricar este tipo de burbujas, entre ellas están la agitación mecánica y empleando dispositivos microfluídicos. La agitación mecánica es la forma más sencilla y usada para preparar burbujas [2], sin embargo, los tamaños de éstas pueden variar mucho lo cual resulta en una respuesta diferente al ultrasonido, mientras que las burbujas obtenidas por medio de dispositivos microfluídicos tienen tamaños uniformes, mejorando su respuesta. En tasa de producción, la agitación tiene una gran ventaja: se obtienen 10^{10} burbujas por ml agitando un vial durante 45s, mientras que con un dispositivo microfluídico la tasa de producción es del orden de 10^7 burbujas por minuto [5].

Sin importar el método de fabricación al final tenemos una suspensión que contiene no sólo a las burbujas, también contiene liposomas y cualquier tipo de agregado, los cuales contienen las moléculas de fármaco, los ligandos celulares, nanopartículas o cualquier elemento agregado a la preparación (Figura 1.3). Si introducimos esto a un organismo, las moléculas de fármaco viajarían aparte, quitando el efecto protector de las burbujas y actuando en otros lugares lo cual resultaría en efectos no deseados, en especial porque se emplean fármacos que funcionan a bajas dosis. Si deseamos quitar cualquier tipo de residuos es necesario realizar un lavado de burbujas, el cual generalmente consiste en varias etapas de centrifugación: las suspensión de burbujas se centrifuga para separar a las burbujas del medio en el que se encuentran, este medio residual se retira y se agrega medio limpio para resuspender las burbujas. Este proceso se puede repetir varias veces como en [7–10], por mencionar algunos ejemplos. Es deseable hallar un método que

involucra menos pasos y no someta a las burbujas a un proceso violento, como lo es la centrifugación.

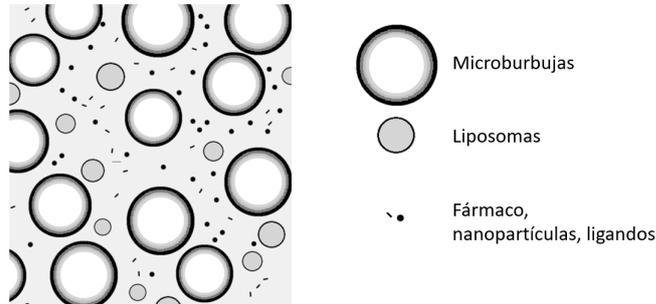


Figura 1.3: Suspensión de burbujas. Esquema representativo que no está a escala.

1.2. Filtración hidrodinámica (HDF)

Es preferible hallar una alternativa que permita hacer un buen lavado, es decir, asegurar que la solución de las microburbujas esté limpia con un procedimiento más sencillo. En la literatura encontramos un método que se puede aplicar para el lavado de microburbujas: la filtración hidrodinámica (HDF, por sus siglas en inglés). En el 2005, Yamada y colaboradores [11] mostraron que empleando la HDF se pueden separar partículas de diferentes tamaños. El principio de la HDF es sencillo: se tiene un canal principal del cual se ramifican perpendicularmente canales laterales más estrechos, entonces por cada uno de estos canales laterales se va una fracción del flujo original correspondiente a una parte del ancho del canal principal. Supongamos que en este flujo viajan partículas, si el centro de masa de éstas queda fuera del flujo que se desvía, las partículas permanecen en el canal principal sin importar si el ancho del canal principal es más grande que la partícula; pero, si el centro de masa queda en este ancho virtual, las partículas pasarán al canal lateral [11]. Su diseño, mostrado en la Figura 1.4, consiste en un canal principal de ancho w por el cual avanza un fluido con un flujo volumétrico Q_0 . A partir de este canal se separan dos canales laterales iguales, uno superior y uno inferior, por lo que el flujo se divide en 3 partes: el flujo que se desvía a cada canal lateral Q_1 y el flujo restante que se queda en el canal principal Q_2 . Sea a la fracción de flujo que se separa en cada canal lateral, entonces tenemos que $Q_1 = aQ_0$ y $Q_2 = (1 - 2a)Q_0$. Los autores suponen

un perfil parabólico de velocidades para Q_0 , que se mantiene en toda la profundidad del canal, por lo que es posible suponer que existe un ancho w_1 que corresponde al ancho del flujo que se separará en el canal lateral y w_2 es el ancho del flujo que permanecerá en el canal principal. De igual manera se pueden asociar las superficies S_1 y S_2 .

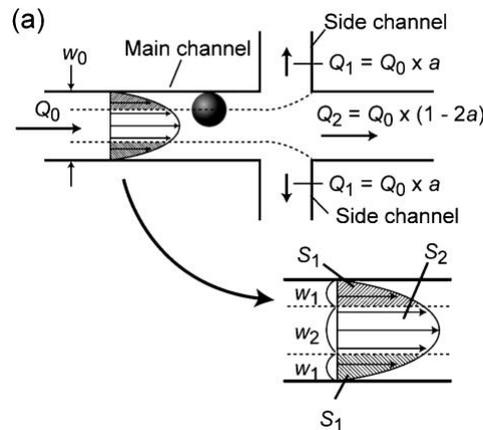


Figura 1.4: Geometría de los canales de filtración y distribuciones de los flujos. Imagen tomada de [11].

Se han realizado trabajos en los cuales se emplea a la filtración hidrodinámica para realizar el tratamiento químico a células [12, 13]. En estos casos el dispositivo consiste en dos etapas (Figura 1.5). En la primera introducen dos flujos, uno con las células suspendidas y otro con la solución de tratamiento, de tal manera que la solución de suspensión de las células se vaya por los canales laterales y, dejando a las células inmersas en el tratamiento, se deja fluir a las células por una zona de tratamiento para que los reactivos actúen. Después en la segunda etapa, entra un flujo con una solución de lavado para interrumpir las reacciones químicas, haciendo que la solución de tratamiento se vaya por nuevos canales laterales y dejando a las células listas en la salida del canal principal. La HDF también se ha empleado en microburbujas con la finalidad de atrapar y concentrar una molécula [14]. Este dispositivo constaba de dos partes, una de generación de burbujas y otra de drenado (Figura 1.6). La molécula de interés es naranja de metilo (MO, por sus siglas en inglés) y tiene afinidad por la cabeza hidrofílica de una molécula de surfactante, (CTAB, siglas en inglés de bromuro de hexadeciltrimetilamonio). Una solución de estas moléculas se introduce al dispositivo y después de generar burbujas de aproximadamente $40\mu\text{m}$ (con este tamaño no son útiles para aplicaciones biomédicas), las moléculas quedan atrapadas en la superficie de las burbujas. Luego las burbujas avanzan por el canal prin-

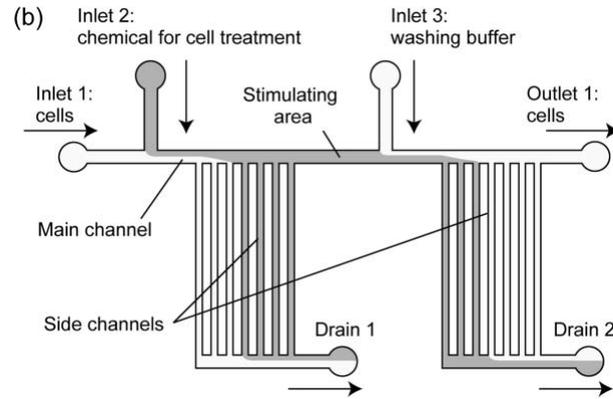


Figura 1.5: Esquema del dispositivo de tratamiento químico celular en dos etapas. Imagen de [12].

principal a una zona de drenado que consiste en canales laterales de filtrado del líquido -sin un flujo de lavado- dejando a las burbujas concentradas avanzando hacia la salida.

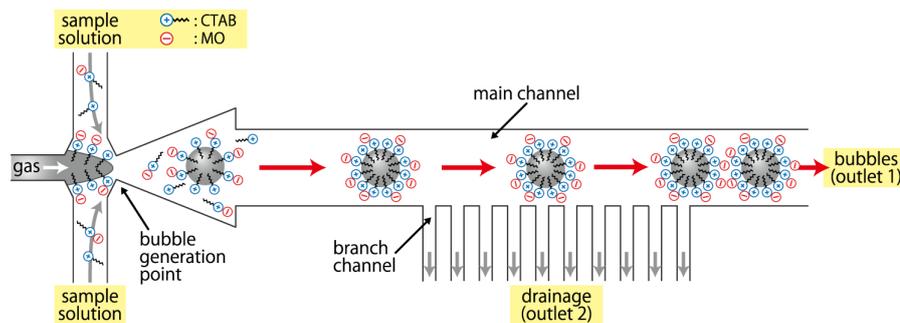


Figura 1.6: Esquema del dispositivo para la captura y drenado de moléculas. Se muestran las dos partes del dispositivo, la de generación de burbujas y la de drenado. Imagen tomada de [14].

Es importante señalar que la HDF ha sido empleada sólo con burbujas fabricadas dentro del dispositivo y no con burbujas fabricadas fuera de éste (ya sea por agitación o por medio de dispositivos microfluídicos). Y además, estas burbujas no sirven para aplicaciones terapéuticas pues son de gran tamaño ($> 10\mu\text{m}$).

1.3. Bases de la HDF

Haremos una revisión de algunos conceptos necesarios para entender mejor la HDF, algunos de los cuales son mencionados en los trabajos citados, y aquí serán ampliados para poder realizar la aplicación de este método a nuestro sistema.

En los trabajos [12–14] se tienen sistemas de filtrado como el mostrado en la Figura 1.7. Notemos que el ancho que determina la cantidad de flujo que se filtrará del canal principal (de ancho w) al canal lateral es w_1 , y por lo tanto, también determina el tamaño de las partículas que se pueden filtrar por el canal lateral; podemos relacionar este ancho de flujo con una fracción a que corresponde a la fracción de flujo filtrada. Por lo tanto, se tienen las siguientes relaciones

$$Q_1 = aQ_0, \quad (1.1)$$

$$Q_2 = (1 - a)Q_0. \quad (1.2)$$

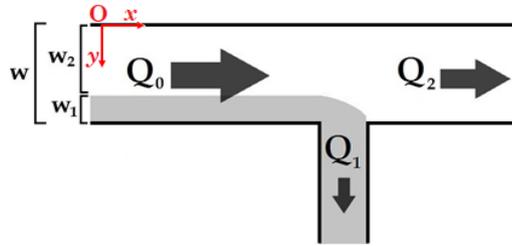


Figura 1.7: Geometría de los canales con un canal de filtrado y la distribución de flujos. Q_0 es el flujo inicial, Q_1 es el flujo que se filtra por el canal lateral, Q_2 es el flujo que continúa por el canal principal después de pasar por el canal lateral, y, w_1 y w_2 son los anchos ocupados por los flujos Q_1 y Q_2 , respectivamente.

Para que los flujos tengan este comportamiento es necesario que sean laminares, es decir, que el número de Reynolds Re , sea menor a 1. Re se define de la siguiente manera

$$Re = \frac{\rho v D_h}{\mu} \quad (1.3)$$

donde ρ es la densidad del fluido, v es la velocidad a la cual se desplaza el fluido, μ es la viscosidad dinámica del fluido y D_h es el diámetro hidráulico [15], el cual está dado por

$$D_h = \frac{4A}{P}, \quad (1.4)$$

con A como el área transversal del canal y P el perímetro del canal mojado por el fluido.

Ahora, consideremos un microcanal rectangular con altura h , ancho w y longitud L , como se muestra en la Figura 1.8. Sabemos que el flujo volumétrico Q de un fluido

avanzando por este canal, de área transversal $A = wh$, está dado por

$$Q = \int_A v dA, \quad (1.5)$$

donde v es el perfil de velocidades que puede depender de la posición dentro del canal.

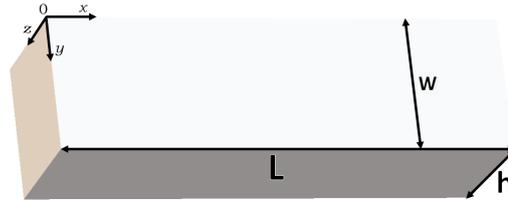


Figura 1.8: Canal rectangular

En la HDF se tienen canales con una sección transversal rectangular alargada (esto es $w > h$) resultando en un flujo laminar con un perfil de velocidades parabólico que se mantiene en toda la profundidad del canal, *i.e.*, dada nuestra geometría, a lo largo de z . Este perfil depende de la posición en y , y lo representamos con la ecuación

$$v(y) = \frac{-y^2 + wy}{\Delta\tau L}, \quad (1.6)$$

donde $\Delta\tau$ es un intervalo de tiempo característico relacionado con la velocidad media del fluido en el canal. Esta ecuación corresponde simplemente a la ecuación de una parábola con un origen correspondiente al de la Figura (1.8). Entonces podemos calcular Q_1 y Q_2 en las ecuaciones (1.1) y (1.2), empleando la ecuación (1.6) en (1.5), y por lo tanto, podríamos determinar a .

1.3.1. Resistencias hidráulicas

Si en un circuito de canales tenemos un flujo volumétrico constante Q , resultado de una caída de presión constante Δp , la relación

$$\Delta p = R_h Q \quad (1.7)$$

es válida [16]; R_h se conoce como la resistencia hidráulica, la cual es, para un canal rectangular, como el de la Figura 1.8:

$$R_h = \frac{12\mu L}{h^3 w - 0.63h^4} \quad h < w, \quad (1.8)$$

recordemos que μ es la viscosidad dinámica del fluido.

Los casos donde se cumple esta condición es para flujos unidireccionales, estacionarios y de fluidos incompresibles [17], los cuales, además, fluyen con un Re pequeño. La ecuación (1.7) es análoga a la empleada en circuitos eléctricos, la ley de Ohm, la cual nos indica que $\Delta V = RI$, donde ΔV es la diferencia de voltaje, R es la resistencia e I es la corriente eléctrica. Entonces podemos analizar de la misma manera las resistencias de un sistema de canales y un circuito eléctrico, e incluso determinar las resistencias equivalentes. Con base en esto, podemos hacer una analogía de los canales mostrados en la Figura 1.7 con el circuito eléctrico mostrado en la Figura 1.9.

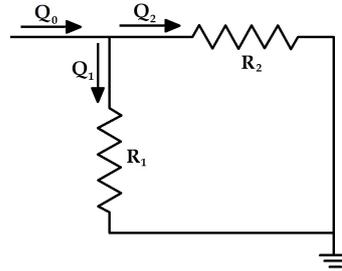


Figura 1.9: Circuito eléctrico análogo al sistema mostrado en la Figura 1.7.

Aplicando la ecuación (1.7) se obtienen los flujos correspondientes

$$Q_1 = \frac{\Delta p}{R_1} \quad (1.9)$$

$$Q_2 = \frac{\Delta p}{R_2}. \quad (1.10)$$

Sustituyendo los resultados de las ecuaciones (1.1) y (1.2), se tienen

$$aQ_0 = \frac{\Delta p}{R_1} \quad y \quad (1.11)$$

$$(1 - a)Q_0 = \frac{\Delta p}{R_2}, \quad (1.12)$$

despejando Q_0 en ambas ecuaciones e igualándolas obtenemos

$$\frac{\Delta p}{aR_1} = \frac{\Delta p}{(1-a)R_2}. \quad (1.13)$$

Como la diferencia de presión es la misma:

$$aR_1 = (1-a)R_2. \quad (1.14)$$

Esto es equivalente a

$$\frac{1-a}{a} = \frac{R_1}{R_2}.$$

Despejando a :

$$a = \frac{R_2}{R_1 + R_2} \quad (1.15)$$

Esta ecuación nos indica que el valor de a está determinado por la relación entre las resistencias de los canales participantes, las cuales a su vez dependen de su geometría.

1.4. Difusión como mecanismo de transporte de moléculas

Yamada y colaboradores [12] probaron su dispositivo (esquema mostrado en la Figura 1.5) introduciendo como modelo de la solución de tratamiento una solución de fluoresceína. Por el funcionamiento del dispositivo, la fluoresceína debió ser lavada por completo en la segunda etapa de filtración, sin embargo ellos reportan que en la salida obtuvieron menos de un 0.01 % de la concentración introducida al dispositivo. Ellos mencionan que esto es debido a la difusión de las moléculas de fluoresceína. Si trabajamos con canales más pequeños que los empleados por ellos, considerar a la difusión para el diseño de dispositivos que empleen a la HDF, es de gran importancia para lograr un mejor filtrado.

Dado que sólo nos interesa la difusión de las moléculas de la sustancia a lavar en lo ancho del microcanal, el análisis se reduce al eje y . Para moléculas difundiéndose en una dimensión, el ancho de su distribución espacial l obedece la relación

$$l^2 = 2Dt, \quad (1.16)$$

donde t es el tiempo que le toma difundir esa distancia y D es el coeficiente de difusión [16]. Para el caso de una esfera de radio a inmersa en un fluido de viscosidad μ , este coeficiente tiene la expresión

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\mu a}, \quad (1.17)$$

donde k_B es la constante de Boltzmann y T es la temperatura [18].

Podemos evaluar si en un sistema las fuerzas convectivas o difusivas son las que predominan por medio del número de Péclet Pe , el cual se define como

$$Pe \equiv \frac{\text{tiempo de difusión}}{\text{tiempo de convección}}. \quad (1.18)$$

Estos tiempos característicos corresponden al tiempo que le tomaría a las moléculas recorrer una distancia característica [16]. A partir de esta definición, sabemos que, en un sistema la convección domina si $Pe > 1$.

1.5. Hipótesis

Hemos planteado que el lavado de microburbujas para liberación controlada de fármacos es un proceso necesario y que comúnmente se realiza por centrifugación, proceso que puede ser complicado y afectar la población de las burbujas. Nosotros proponemos que estas microburbujas pueden ser lavadas, en un sólo paso, utilizando el método de filtración hidrodinámica.

1.6. Objetivos

Objetivo general

Determinar, teórica y experimentalmente, la factibilidad de realizar el lavado de microburbujas por medio de la filtración hidrodinámica.

Objetivos particulares

- Analizar teóricamente la factibilidad de realizar el lavado de microburbujas por medio de la filtración hidrodinámica.

- Diseñar, fabricar y caracterizar el dispositivo microfluídico.
- Realizar el lavado de microburbujas.

Capítulo 2

Métodos y materiales

2.1. Análisis Teórico

Primero debemos describir lo que esperamos del dispositivo. Consideraremos a las burbujas como partículas sólidas, cuya filtración dependerá del ancho de filtración w_1 . Entonces el dispositivo funcionaría como se muestra en la Figura 2.1: se tienen burbujas de diferentes tamaños, aquellas cuyo radio es menor a w_1 pasan a los canales laterales, yéndose con el lavado, y aquellas que superan ese tamaño, avanzan por el canal principal hacia la salida, quedando limpias. Por lo tanto, los dispositivos a diseñar deben tener una w_1 que permita la recuperación de la mayor cantidad de burbujas, para esto es necesario saber cómo son las burbujas a lavar.

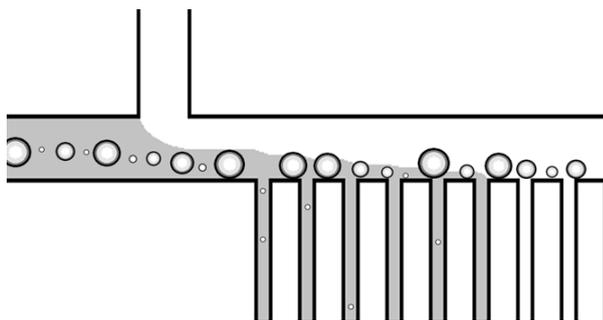


Figura 2.1: Esquema representativo del dispositivo lavando burbujas. Se aprecian dos flujos, el de la suspensión de burbujas a lavar (tono oscuro) y la solución de lavado (tono claro).

En el laboratorio se fabrican burbujas por agitación y por medio de dispositivos microfluídicos, obteniéndose distribuciones de tamaños como las que se muestran en la Figura 2.2. Las burbujas fabricadas por agitación tienen una media de $0.8\mu\text{m}$ aproximadamente,

y las fabricadas empleando dispositivos microfluídicos pueden tener tamaños medios entre 7 y $11\mu\text{m}$. Entonces las burbujas más pequeñas son las fabricadas por agitación, por lo tanto, éstas nos indican el w_1 más pequeño que necesitamos para evitar que perdamos una gran cantidad de burbujas. Recordemos del trabajo de Yamada [11], que aquellas partículas cuyo centro de masa supera w_1 continúan avanzando por el canal principal, y aquellas menores a w_1 se van por el canal lateral. Observemos la gráfica de la Figura 2.3, notemos que aquellas burbujas que tengan un tamaño mayor a $2w_1$ son las que terminan lavadas y las burbujas con un tamaño menor a $2w_1$ se pierden con el lavado.

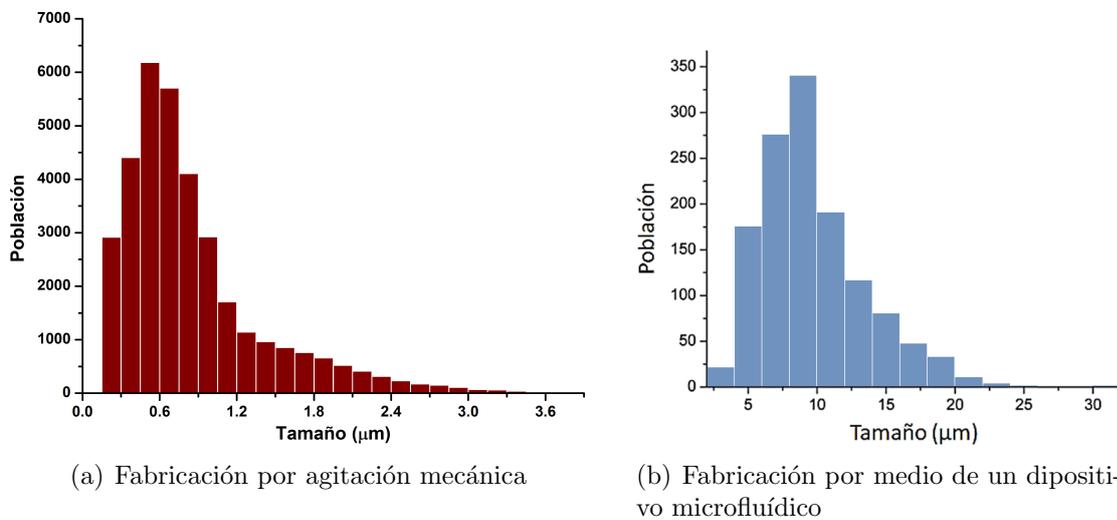


Figura 2.2: Distribuciones de tamaño de microburbujas. (a) Burbujas fabricadas por agitación mecánica con un tamaño medio de $0.87\mu\text{m}$, (b) Burbujas fabricadas por medio de un dispositivo microfluídico con un tamaño medio de $9.65\mu\text{m}$.

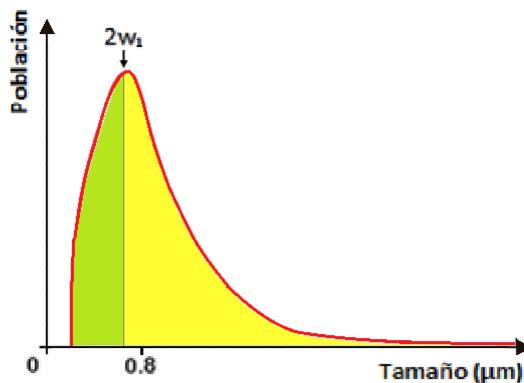


Figura 2.3: Distribuciones de tamaño esperadas después del lavado. En rojo se muestra una curva que representa a la distribución de las burbujas fabricadas por agitación. El sombreado verde corresponde a la parte de la distribución que se va con el lavado, y el amarillo, corresponde a la parte de las burbujas lavadas. Notemos que $2w_1$ es el valor que separa estas distribuciones.

Por la distribución de tamaños de burbujas que se tiene para las burbujas fabricadas por agitación, podemos decir que el w_1 que más nos conviene es de $0.4\mu\text{m}$, pero la viabilidad de un dispositivo que tenga esa característica se determinará por medio de los cálculos necesarios para diseñar el dispositivo.

2.1.1. Determinación de número de canales necesarios para el lavado

Caso ideal

Para determinar el número de canales necesarios para lavar un ancho de flujo al que llamaremos w_0 , es necesario describir cómo se realiza la filtración en nuestros dispositivos. Se decidió hacer un modelo para describir las variaciones de flujo y posiciones en nuestros canales.

Primero haremos una descripción cualitativa de lo que sucede en el sistema. Supongamos que tenemos en el canal principal, un flujo inicial Q_0 , el cual después de pasar por el primer canal lateral disminuye a Q_1 , como se observa en la Figura 2.4, y así para los siguientes canales, pues una fracción de flujo se va perdiendo al pasar por cada canal lateral. Debido a esto, las líneas de flujo se deforman para permitir que el flujo siga avanzando y abarcando todo el canal principal, esto provoca que las líneas de flujo, ubicadas en diferentes posiciones a lo ancho del canal, se separen después de pasar los canales laterales. Como se observa en la Figura 2.4: la línea azul al estar cerca del ancho de filtración w_1 , tuvo un mayor cambio de posición en el eje y al pasar el primer canal lateral comparada con la línea de flujo verde que casi no varió de posición.

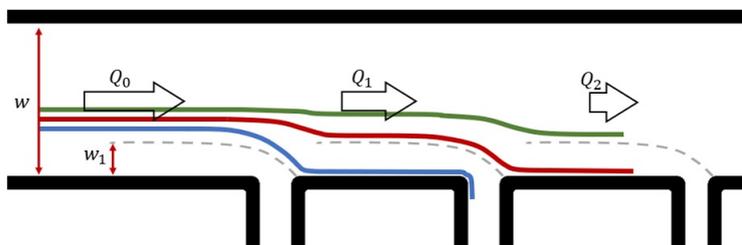


Figura 2.4: Esquema de las líneas de flujo esperadas. w corresponde al ancho del canal, w_1 corresponde al ancho de filtración y las Q_j con $j = 0, 1, 2$, corresponden a los flujos en esa parte del canal principal. Las líneas de flujo se representan en colores.

Para el caso de los flujos es fácil predecir que su valor disminuye, de tal manera que

después de pasar el j -ésimo canal el flujo Q_j es

$$Q_j = (1 - a)^j Q_0. \quad (2.1)$$

La visualización de las líneas de flujo nos permite suponer lo siguiente: tenemos una columna de fluido muy delgada que avanza uniformemente en el canal principal como se muestra en la Figura 2.5, esta columna mide en el eje y , $w - w_1$, y después de pasar el primer canal lateral la columna mide w , esto significa que la densidad de líneas de flujo por unidad de longitud ha disminuido.

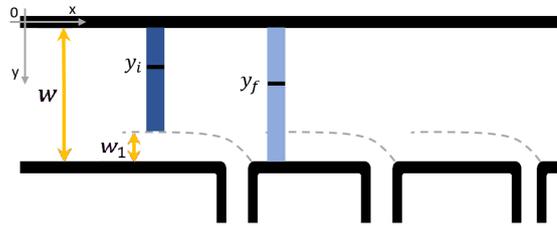


Figura 2.5: Variaciones de posición. Se muestra una columna de fluido avanzando en el canal principal; en azul oscuro se muestra la columna inicial en la cual tomamos como punto de referencia la posición inicial y_i ; en azul claro está la columna después de pasar el canal lateral con la nueva posición y_f del mismo punto de referencia.

Consideremos una sección muy pequeña del fluido que se encuentra en la posición inicial y_i , y después de pasar por un canal lateral, tiene la posición y_f (Figura 2.5), una aproximación de la relación entre estas posiciones es

$$y_f = \frac{w}{w - w_1} y_i. \quad (2.2)$$

La ecuación (2.2) sólo nos indica la nueva posición de un punto después de pasar por un canal lateral, si el canal avanza por más canales, podemos hacer una generalización. Sea y_0 la posición inicial de nuestro punto de interés; sabemos que después de pasar el primer canal lateral su nueva posición es $y_1 = \frac{w}{w - w_1} y_0$; y, después de pasar por un segundo canal lateral, se tiene

$$y_2 = \frac{w}{w - w_1} y_1 = \left(\frac{w}{w - w_1} \right)^2 y_0.$$

Así sucesivamente para los demás canales. Por lo tanto, la posición inicial y_0 después de

pasar n canales laterales tiene una posición final

$$y_n = \left(\frac{w}{w - w_1} \right)^n y_0. \quad (2.3)$$

Observemos las características de nuestro sistema ideal, como se muestra en la Figura 2.6. La posición de la interfase entre el flujo de lavado y el flujo a lavar (w_0), es nuestra referencia para determinar la cantidad de flujo que se ha lavado. Por cada canal lateral que pasa el flujo, el ancho del flujo a lavar disminuye, por lo que la posición de la interfase va acercándose al borde de los canales laterales (posición $y = w$).

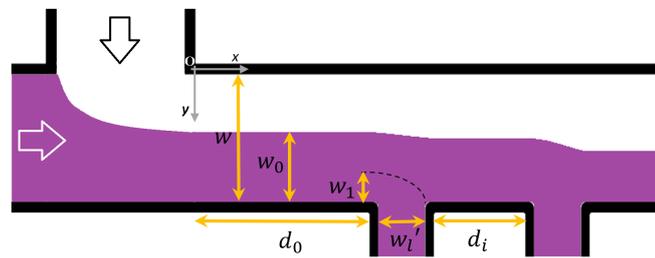


Figura 2.6: Esquema del sistema empleado para determinar las variaciones de ancho del flujo a lavar. En morado se muestra el flujo que se desea lavar. w es el ancho de flujo, w_0 es el ancho inicial del flujo a lavar, w_1 es el ancho de filtración, d_0 longitud del canal de inicio, w'_l ancho menor del canal lateral y d_i es la longitud de los canales intermedios (en las Secciones 2.1.4 y 2.1.5 veremos cómo se relacionan los parámetros w'_l y d_i con el filtrado de cada canal lateral, *i.e.*, con a y w_1).

Sea Δy_j la diferencia de posición de la interfase después de pasar el j -ésimo canal lateral. Entonces esta diferencia de altura, según la ecuación (2.2), es

$$\Delta y_j = y_j - y_{j-1} = \left(\frac{w}{w - w_1} - 1 \right) y_{j-1} = \frac{w_1}{w - w_1} y_{j-1} \quad (2.4)$$

Caso con difusión

Arriba mencionamos cómo va cambiando la posición de la interfase conforme el flujo avanza por el canal principal, sin embargo este es un caso ideal. Si no tuviéramos canales de filtrado y dejáramos que dos flujos avanzaran en un canal cierta distancia, observaríamos que al principio la interfase está bien delimitada, sin embargo, al avanzar por el canal, la interfase se vuelve difusa. Esto debe a la difusión de moléculas de una fase a otra. Si ahora tenemos los canales laterales, resultará en una competencia entre el ancho de flujo que se filtra y la difusión de la fase a lavar a la otra fase (Figura 2.7): si no hubiera

difusión la interfase sólo tendería a acercarse al borde inferior conforme pasan los canales laterales, pero, como hay difusión, cada región del canal principal en el cual no hay filtrado las interfase tiende a alejarse, esto dificulta el lavado haciendo necesarios más canales de filtración.

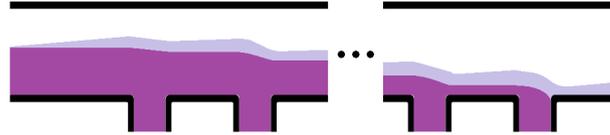


Figura 2.7: Perfiles de flujo esperados en los primeros y últimos canales laterales. En un tono oscuro se muestra el perfil del flujo a lavar en un caso ideal, en un tono más claro se muestra cómo es el perfil si se considera a la difusión.

En los párrafos anteriores hallamos las diferencias de ancho de flujo debidos a la filtración de los canales laterales. Ahora debemos determinar cuáles son las variaciones de ancho debidas a la difusión.

Nosotros deseamos determinar la distancia de difusión de una molécula que está en la interfase de los flujos de entrada. Según la ecuación (1.16), necesitamos conocer el tiempo en el cual se está difundiendo la partícula; este tiempo corresponde al tiempo que se tarda el flujo en avanzar de un canal lateral a otro. Podemos obtener una aproximación de este tiempo a partir del flujo volumétrico que imponemos a nuestro sistema.

El flujo volumétrico Q está relacionado con la velocidad promedio (v_{prom}) del perfil de velocidades del fluido de la siguiente manera:

$$Q = v_{prom}A, \quad (2.5)$$

donde A es el área transversal del canal, y es igual a

$$A = wh, \quad (2.6)$$

con w como el ancho del canal y h como su altura. Despejado la velocidad en la ecuación (2.5) se tiene

$$v_{prom} = \frac{Q}{A}. \quad (2.7)$$

Una vez que tenemos la velocidad promedio podemos hacer la suposición de que

$$v_{prom} = \frac{\Delta x}{\Delta t}, \quad (2.8)$$

en donde Δx corresponde a la distancia recorrida por el flujo.

Consideremos como punto inicial la posición en x del punto después de la unión de los dos flujos, el de lavado y el que se va a lavar, y el eje y creciente del borde superior del canal hacia abajo. Y como se muestra en la Figura 2.6, se tienen: w es el ancho del canal principal, $y_0 = w - w_0$ es la posición inicial de la interfase, w_1 es el ancho de filtración, w'_1 es el ancho menor de los canales laterales, d_0 es la longitud del canal principal desde la unión de flujos hasta el primer canal lateral, y d_i es la longitud de los canales intermedios entre los canales laterales.

Con los datos anteriores podemos determinar la distancia L_0 correspondiente al ancho de difusión en la distancia d_0 (Figura 2.8). Supongamos un flujo inicial Q_0 . Igualando las ecuaciones (2.7) y (2.8) tenemos que

$$t_0 = \frac{Ad_0}{Q_0}. \quad (2.9)$$

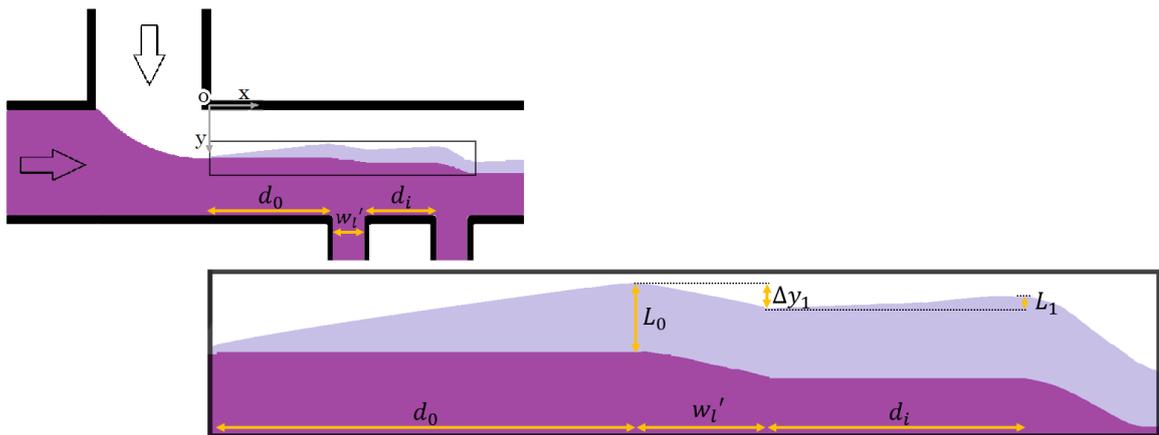


Figura 2.8: Distancias de difusión. La imagen superior muestra la unión de los dos flujos y su avance en el canal principal. En la imagen inferior se muestra una ampliación de la interfase de los flujos. Colocamos el origen O donde termina esta unión. L_0 es la distancia de difusión de las moléculas del fluido a lavar hacia la otra fase, después de avanzar la distancia d_0 . De manera similar L_1 corresponde a la distancia de difusión resultado de avanzar en el canal principal la distancia $w'_1 + d_i$. Δy_1 es la variación de altura debida a la filtración del primer canal lateral.

Sustituyendo este tiempo t_0 en la ecuación (1.16) se tiene

$$L_0 = 2\sqrt{\frac{DA d_0}{Q_0}}. \quad (2.10)$$

Ahora bien, después el flujo se divide al pasar por el primer canal lateral, entonces el flujo que avanza por el canal principal después de esta división es $Q_1 = (1 - a)Q_0$, (recordemos que a es la fracción de flujo que se filtra por el canal lateral). En este caso queremos el ancho de difusión L_1 que se obtiene después de pasar por el primer canal lateral y el primer canal intermedio (Figura 2.8), es decir, la distancia

$$d_1 = w'_l + d_i, \quad (2.11)$$

esta distancia será igual para los demás canales laterales. Empleando nuevamente la ecuación (1.16) se obtiene L_1

$$L_1 = 2\sqrt{\frac{ADd_1}{(1-a)Q_0}}.$$

Dado que para el segundo canal la única diferencia sería el flujo $Q_2 = (1 - a)^2 Q_0$, podemos generalizar para el j -ésimo canal:

$$L_j = 2\sqrt{\frac{ADd_1}{(1-a)^j Q_0}}. \quad (2.12)$$

Si deseamos hacer un seguimiento de la interfase cuando hay difusión, podemos obtener la posición y en función de x . Primero debemos separar a x en intervalos donde el flujo Q_j se mantiene constante, y empleando la ecuaciones (2.2) y (2.10), se tiene:

- Intervalo antes del primer canal lateral: $0 \leq x < d_0$

$$y(x) = y_0 - L_0(x) \quad \text{con} \quad L_0(x) = 2\sqrt{\frac{DAx}{Q_0}} \quad (2.13)$$

y_0 corresponde a la posición inicial de la interfase y puede cambiar de valor cambiando la relación que hay entre el flujo de lavado y el flujo a lavar.

- Intervalo desde el inicio en x del j -ésimo canal lateral hasta el punto anterior al

inicio del siguiente canal lateral: $d_0 + (j - 1)(w'_l + d_i) \leq x < d_0 + j(w'_l + d_i)$

$$y(x) = \left(\frac{w}{w - w_1} \right) y_{f,j-1} - L_j(x) \quad \text{con} \quad L_j(x) = 2\sqrt{\frac{DA(x - j(w'_l + d_i))}{(1 - a)^j Q_0}} \quad (2.14)$$

donde $y_{f,j-1}$ es el último valor de y en el intervalo anterior.

2.1.2. Número de Péclet

Nosotros deseamos saber si la filtración de un canal, la cual corresponde a un movimiento convectivo del fluido, domina sobre la difusión que ocurre entre canales laterales.

De la definición de Péclet, ecuación (1.18), haremos la suposición de que los tiempos de difusión y de convección, corresponden a velocidades de difusión y convección. Por lo tanto, si lo que tenemos es un tiempo característico, Pe puede quedar de la siguiente manera

$$Pe = \frac{d_C}{d_D}, \quad (2.15)$$

donde d_C y d_D , corresponden a distancias de convección y difusión en un tiempo característico $\Delta t'$. Sabemos que la distancia de convección es

$$d_C = vt_c, \quad (2.16)$$

donde v corresponde a la velocidad del fluido desde un canal lateral a otro. Para el caso de la difusión tenemos a partir de la ecuación (1.16) que la distancia de difusión es

$$d_D = 2\sqrt{Dt_D}. \quad (2.17)$$

Ahora, suponemos $t_C = t_D = \Delta t'$, y sustituimos los resultados de las ecuaciones (2.16) y (2.17) en la ecuación (2.15)

$$Pe = \frac{v\Delta t'}{2\sqrt{D\Delta t'}} = \frac{d_C}{2\sqrt{D\Delta t'}}. \quad (2.18)$$

Para determinar $\Delta t'$ emplearemos la ecuación (2.5), para la cual tomaremos como distancia en x la distancia entre los canales laterales, a la que llamaremos d_l , incluyendo la

distancia que corresponde al ancho del canal lateral, teniendo $d_l = d_i + w'_l$ (ver Figura 2.6). Por lo tanto,

$$v_{prom} = \frac{d_l}{\Delta t}. \quad (2.19)$$

Despejando Δt , tenemos

$$\Delta t = \frac{Ad_l}{Q}. \quad (2.20)$$

Sustituyendo en la ecuación (2.18) tenemos

$$Pe = \sqrt{\frac{d_c^2 Q}{4DAd_l}}. \quad (2.21)$$

En realidad d_C corresponde a las diferencias de altura en y , originadas por la filtración, las cuales llamamos Δy_j , la cual corresponde al cambio en la posición en y debido a la filtración del j -ésimo canal lateral, entonces tendremos diferentes valores del número de Peclet para cada canal lateral, Pe_j :

$$Pe_j = \sqrt{\frac{\Delta y_j^2 Q_j}{4DAd_l}}, \quad (2.22)$$

donde Q_j es el flujo que queda en el canal principal después de pasar por el j -ésimo canal.

2.1.3. Determinación de la fracción de flujo α

Consideremos un sistema de flujo laminar donde se tiene un canal principal de ancho w y altura h , al cual se une un canal lateral de menor ancho (Figura 1.7). El flujo volumétrico original Q_0 se dividirá en dos partes, una se desvía al canal lateral, Q_1 y la otra permanece en el canal principal, Q_2 . w_1 es el ancho de flujo que se filtra por el canal lateral, α es la fracción del flujo del canal principal que se filtra al mismo canal lateral, entonces debemos hallar la relación entre estos dos valores.

Si tenemos un flujo laminar, podemos asumir que el perfil de velocidades es parabólico y, además, que este perfil no varía con la profundidad del canal. Considerando un origen de coordenadas en el borde superior del canal (si bien es cierto que el perfil parabólico es simétrico en todo el ancho del canal, proponiendo un origen de coordenadas en el centro, a nosotros nos interesa determinar la distribución de velocidades en regiones que no son

simétricas, esto se debe a que nuestro sistema sólo tiene canales laterales en un borde del canal principal), la velocidad del flujo es

$$v(y) = \frac{\left(\frac{w}{2}\right)^2 - \left(\left(\frac{w}{2}\right) - y\right)^2}{\Delta t L}, \quad (2.23)$$

donde L corresponde a la longitud del canal. La ecuación (2.23) puede reducirse a la siguiente

$$v(y) = \frac{-y^2 + wy}{\Delta t L}. \quad (2.24)$$

De la Figura 1.7 vemos que el flujo principal está formado por dos partes, esto es: $Q_0 = Q_1 + Q_2$. Cada uno de estos dos flujos puede ser calculado sustituyendo (2.24) en la ecuación (1.5); para esta última ecuación necesitamos el área transversal del canal principal, la cual es un rectángulo de lados w y h .

Para Q_2 se tiene:

$$Q_2 = \int_0^h \int_0^{w-w_1} \frac{-y^2 + wy}{\Delta t L} dydz = \frac{h}{\Delta t L} \int_0^{w-w_1} (-y^2 + wy) dy = \frac{h}{\Delta t L} \left(\frac{w^3}{6} + \frac{w_1^3}{3} - \frac{ww_1^2}{2} \right). \quad (2.25)$$

De manera similar, para Q_1 :

$$Q_1 = \int_0^h \int_{w-w_1}^w \frac{-y^2 + wy}{\Delta t L} dydz = \frac{h}{\Delta t L} \int_{w-w_1}^w (-y^2 + wy) dy = \frac{h}{\Delta t L} \left(\frac{ww_1^2}{2} - \frac{w_1^3}{3} \right). \quad (2.26)$$

A partir de las ecuaciones (1.1) y (1.2) se tiene que

$$\frac{Q_1}{Q_2} = \frac{a}{1-a}, \quad (2.27)$$

y, sustituyendo Q_1 y Q_2 de las ecuaciones (2.26) y (2.25) obtenemos

$$\frac{\frac{w^3}{6} + \frac{w_1^3}{3} - \frac{ww_1^2}{2}}{\frac{ww_1^2}{2} - \frac{w_1^3}{3}} = \frac{a}{1-a}. \quad (2.28)$$

La parte izquierda de la ecuación (2.28) puede cambiarse de la siguiente manera

$$\frac{\frac{w^3}{6} + \frac{w_1^3}{3} - \frac{ww_1^2}{2}}{\frac{ww_1^2}{2} - \frac{w_1^3}{3}} = \frac{\frac{ww_1^2}{6} \left(\frac{w^2}{w_1^2} + \frac{2w_1}{w} - 3 \right)}{\frac{ww_1^2}{6} \left(3 - \frac{2w_1}{w} \right)}. \quad (2.29)$$

Sea $W = \frac{w}{w_1}$. Sustituyendo W en el resultado de la ecuación (2.29) obtenemos

$$\frac{W^2 + \frac{2}{W} - 3}{3 - \frac{2}{W}} = \frac{W^3 + 2 - 3W}{3W - 2}. \quad (2.30)$$

Empleando este resultado en la ecuación (2.28) se tiene

$$\frac{W^3 + 2 - 3W}{3W - 2} = \frac{a}{1 - a}. \quad (2.31)$$

Ahora definimos

$$f(W) = \frac{W^3 + 2 - 3W}{3W - 2},$$

la ecuación (2.31) se reduce a

$$a = \frac{f(W)}{1 + f(W)} \quad (2.32)$$

La ecuación (2.32), es una ecuación que se puede resolver fácilmente para a , de manera numérica; para resolverla sólo necesitamos asignar los valores de w_1 y se empleó *Wolfram Mathematica* (*Wolfram Research Inc.*).

2.1.4. Cálculo de las resistencias hidráulicas

A grandes rasgos, el dispositivo de lavado consta de un canal principal del cual se ramifican varios canales laterales (Figura 2.1), cada uno de estos canales debe filtrar el mismo ancho de flujo w_1 , y por lo tanto, la misma fracción de flujo a . Debemos determinar las dimensiones de nuestros canales que nos permitan obtener esta fracción de flujo.

En el capítulo anterior mostramos que es válido hacer una comparación entre un sistema de microcanales y un circuito eléctrico; el circuito eléctrico correspondiente a nuestro sistema se muestra en la Figura 2.9. Aunque si analizamos nuestro sistema de derecha a izquierda, y comenzamos con el último canal lateral, el circuito de la Figura 1.9 sería una parte del circuito completo, y podemos aplicar la ecuación 1.15.

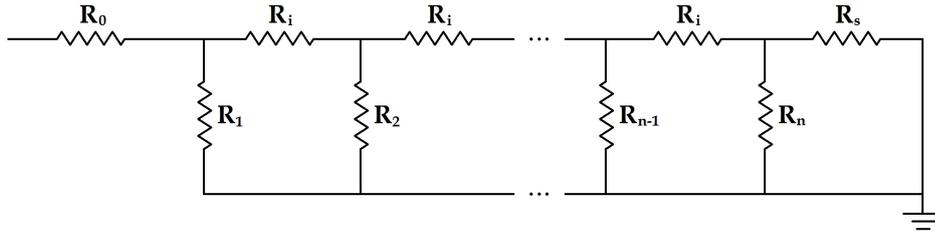


Figura 2.9: Analogía de los microcanales con resistencias eléctricas. R_0 corresponde a la resistencia de entrada, R_i a cada una de las resistencias intermedias entre cada canal lateral (todas son iguales ya que tienen la misma longitud), y R_j con $j = 1, 2, \dots, n$ corresponden a las resistencias de los canales laterales y R_s la resistencia de salida.

Supongamos que R_2 , en la Figura 1.9, corresponde a la resistencia del canal de salida al que llamaremos R_s , y que R_1 corresponde al último canal lateral que llamaremos R_n ; de esta manera la ecuación 1.15 nos queda de la siguiente manera:

$$a = \frac{R_s}{R_n + R_s}.$$

Al asignarle dimensiones al canal de salida (ancho, altura y longitud) podemos hallar R_s empleando la ecuación (1.8) y, gracias a la ecuación (2.32), podemos calcular a , por lo tanto, despejando a R_n

$$R_n = \left(\frac{1}{a} - 1 \right) R_s. \quad (2.33)$$

Con el valor de R_n podemos calcular R_{n-1} ; determinando la resistencia equivalente de las resistencias que están después de la resistencia R_{n-1} , a la cual llamaremos R_{n-1}^{eq} , esta resistencia resulta de una resistencia R_i conectada en serie a la equivalente de dos resistencias en paralelo (Figura 2.10), esto es

$$R_{n-1}^{eq} = R_i + (R_n^{-1} + R_s^{-1})^{-1}. \quad (2.34)$$

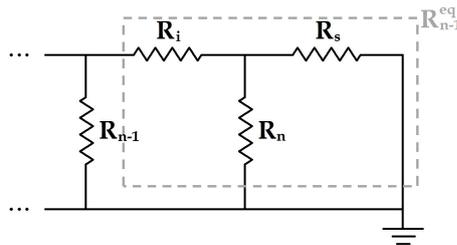


Figura 2.10: Resistencia equivalente $n-1$

Con R_{n-1}^{eq} , de la misma manera como se calculó R_n , se tiene

$$R_{n-1} = \left(\frac{1}{a} - 1 \right) R_{n-1}^{eq} \quad (2.35)$$

Conociendo R_{n-1} , podemos determinar la resistencia adyacente, calculando la nueva resistencia equivalente, por lo tanto, es posible calcular las siguientes resistencias de manera recursiva, esto es

$$R_j = \left(\frac{1}{a} - 1 \right) R_j^{eq} \quad \text{donde} \quad R_j^{eq} = R_i + \left(R_{j+1}^{-1} + R_{j+1}^{eq} \right)^{-1} \quad j = n-1, n-2, \dots, 1. \quad (2.36)$$

Determinando así todas las resistencias necesarias para tener la misma fracción de flujo a en cada una de ellas. En principio para calcular a todas, necesitamos la resistencia de salida (R_s) y las resistencias intermedias (R_i 's). Para calcular tales resistencias, dada la ecuación (1.8) necesitamos asignar los valores: h como la altura de todos los canales, d_i y L_s , la longitud de los canales intermedios y la del canal de salida, respectivamente, y w , el ancho del canal principal.

Debido al gran número de canales laterales considerados en nuestro dispositivo, el cálculo de las resistencias laterales se hizo por medio de un programa hecho en *MATLAB* (*MathWorks*). Éste arrojó diferentes valores para las resistencias laterales R_j , lo cual tiene sentido porque cada canal lateral debe competir por la misma fracción de flujo a , y conforme el flujo avanza hacia la salida, el canal lateral debe competir con una resistencia más pequeña.

2.1.5. Longitudes de los canales laterales

Ahora que se conocen todas las resistencias necesarias para tener el w_1 (o la a) deseado, podemos diseñar los canales laterales que nos serán útiles. Recordemos que la resistencia hidráulica de un canal, R_h está dada por la ecuación (1.8), de aquí, tenemos que la resistencia depende de la geometría de los canales; por facilidad en el diseño y fabricación, todos los canales deben tener una altura h y los canales laterales un ancho w'_l .

Como mencionamos anteriormente, las resistencias calculadas de los canales laterales tienen diferentes valores, la más grande es la resistencia R_1 , sucesivamente van disminuyen-

do, siendo R_n la más pequeña; esto implicaría que deberían tener longitudes decrecientes (ver ecuación (1.8)). Pero como todos estos canales van hacia la salida, es más eficiente que todas estén conectadas a la misma salida, por lo tanto se puede cambiar el ancho del canal en cierta longitud, de tal manera que todas tengan la misma longitud (L_1) de la primera resistencia (R_1). Entonces a partir del segundo canal R_2 , el j -ésimo canal lateral debe tener dos anchos: en una longitud L'_j con un ancho w'_l , y luego, una longitud L''_j con un ancho w''_l . De tal manera que se cumplan

$$L'_j + L''_j = L_1 \quad (2.37)$$

$$R'_j + R''_j = R_j, \quad (2.38)$$

donde R'_j y R''_j corresponden a las resistencias de las longitudes L'_j y L''_j , respectivamente. Entonces, usando la ecuación (1.8) se tiene

$$R_j = \frac{12\eta L'_j}{h^3 w'_l - 0.63h^4} + \frac{12\eta L''_j}{h^3 w''_l - 0.63h^4}. \quad (2.39)$$

Pero recordemos que $L''_j = L_1 - L'_j$, entonces sustituyendo esto en la ecuación (2.39)

$$R_j = \frac{12\eta L'_j}{h^3 w'_l - 0.63h^4} + \frac{12\eta L_1}{h^3 w''_l - 0.63h^4} - \frac{12\eta L'_j}{h^3 w''_l - 0.63h^4}.$$

Separando de lado izquierdo los términos de L'_j

$$\left(\frac{1}{h^3 w'_l - 0.63h^4} - \frac{1}{h^3 w''_l - 0.63h^4} \right) L'_j = \frac{R_j}{12\eta} - \frac{L_1}{h^3 w''_l - 0.63h^4}, \quad (2.40)$$

y despejando L'_j

$$L'_j = \left(\frac{R_j}{12\eta} - \frac{L_1}{h^3 w''_l - 0.63h^4} \right) \left(\frac{1}{h^3 w'_l - 0.63h^4} - \frac{1}{h^3 w''_l - 0.63h^4} \right)^{-1}. \quad (2.41)$$

Esta relación es muy simple, ya que es lineal y depende de R_j . Las constantes pueden ser reducidas para que se puedan manipular más fácilmente empleando *MATLAB*. Las

constantes fueron nombradas de la siguiente manera

$$c_1 = h^3 w_l' - 0.63h^4, \quad c_2 = h^3 w_l'' - 0.63h^4, \quad b = \frac{1}{c_2}, \quad \text{y} \quad d = \frac{1}{c_1} - \frac{1}{c_2}.$$

Así, la ecuación (2.41) se reduce a

$$L_j' = \left(\frac{R_j}{12\eta} - b \right) d^{-1}. \quad (2.42)$$

Con las longitudes L_j' 's resueltas, podemos calcular las longitudes L_j'' por medio de la ecuación (2.37).

Hasta este punto es cuando podemos determinar cuáles son las magnitudes que nos convienen de ancho de filtración (w_1), altura (h), ancho de canal principal (w), ancho menor de los canales laterales (w_l') y ancho mayor de los canales laterales (w_l''), debido a que debemos obtener longitudes positivas y cuya fabricación sea viable. Por este motivo es que se descartó un $w_1=0.4\mu\text{m}$. Las magnitudes con las que se obtuvieron valores viables fueron (todas las cantidades están en μm):

- w_1 : 0.6, 0.8, 2.0, 2.5 y 3.0.
- h : 7 y 8.
- w : 20 y 30.
- w_l' : 5.
- w_l'' : 7 y 9.

Las combinaciones de estas características estuvieron limitadas al mismo principio: los cálculos deben arrojar longitudes positivas y de fabricación viable. Los parámetros más importantes para obtener longitudes útiles son w_1 y n (el número total de canales laterales).

Aunque actualmente se tiene la manera adecuada para determinar el número de canales necesario para el filtrado, los diseños de los dispositivos se hicieron con un cálculo erróneo de este número de canales.

Los cálculos de las dos longitudes (L_j' y L_j'') por canal lateral se hicieron en un programa construido en *MATLAB*. Los valores obtenidos (en μm) fueron redondeados, pues éstos

contaban con decimales y el equipo usado no tiene la precisión para fabricar canales con tales características.

2.2. Diseño del dispositivo

El diseño del dispositivo se hizo en *Autodesk AutoCAD 2016* (*Autodesk, Inc.*). Como referencia se usaron algunas características del dispositivo de Yamada [11]. En la Figura 2.11 se muestra uno de los dispositivos diseñados.

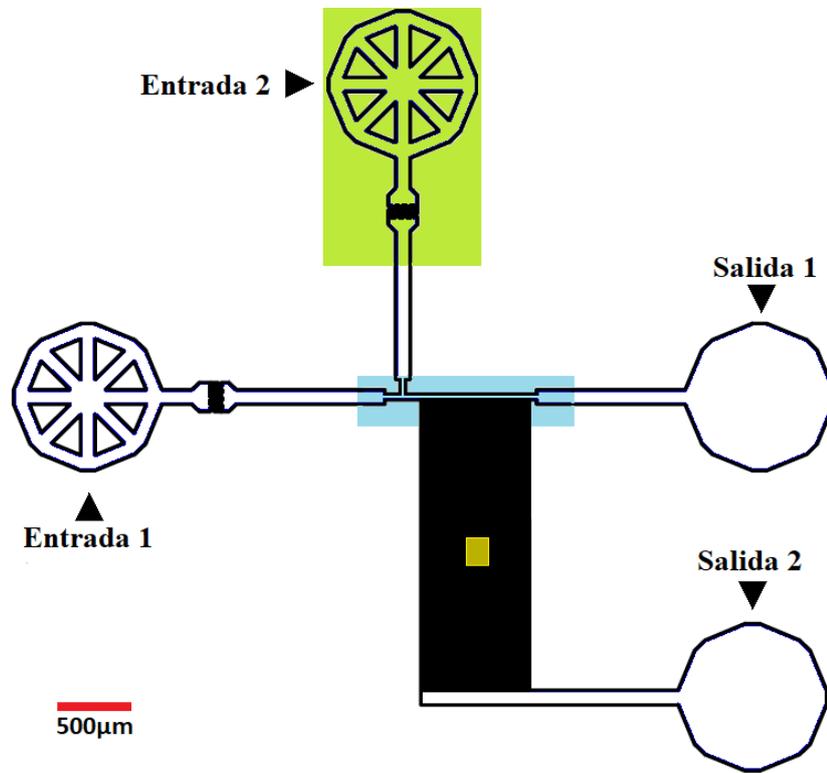
En los dos canales de entrada (Figura 2.11(b)), se les agregaron unos filtros para evitar que basuras grandes entren y obstruyan los pequeños canales; los pilares cuadrados miden $25\mu\text{m}$ de lado, del mismo tamaño que la distancia entre ellos. Tanto las entradas y las salidas se unen a canales de $100\mu\text{m}$ de ancho. Las entradas después cambian al ancho w (20 o $30\mu\text{m}$) del diseño, para unirse en el canal principal, el cual avanza, y de éste van saliendo los canales laterales (Figura 2.11(c)). También, observemos que los canales laterales tienen dos anchos (w'_l , es el menor, y w''_l), la longitud a la cual ocurre el cambio de anchura varía entre los canales laterales (Figura 2.11(d)).

Una vez que se completó el diseño, en *AutoCAD*, se guarda como un archivo de intercambio de dibujos de *AutoCAD* (extensión *.dxf*). Después éste último archivo se guarda como un GDS (extensión *.GDS*), empleando el programa *KLayout* (Matthias Köfferlein).

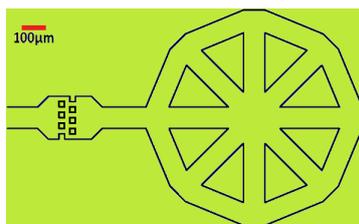
2.2.1. Fabricación del molde de los microcanales

Debido a lo estrecho de los canales laterales, se eligió como método de fabricación a la litografía suave. Primero se crea un molde que corresponde al negativo de nuestros canales, para obtenerlo se siguió el siguiente proceso:

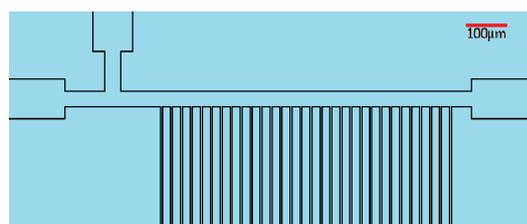
1. Una oblea de silicio de 10cm de diámetro (*Desert Silicon Inc.*) se expuso a plasma de oxígeno en un *plasma cleaner* (*Zepto, Diener electronic GmbH+Co KG*), esto con la finalidad de remover agua de su superficie y favorecer el siguiente paso.
2. La oblea se coloca sobre la base de un *spin coater* (*6808 Spincoater, Specialty Coating Systems, Inc.*). Sobre la superficie de la oblea, se agrega una pequeña cantidad de la resina fotosensible SU-8 (*GM1050, Gersteltec Sarl*), el volumen usado no se mide,



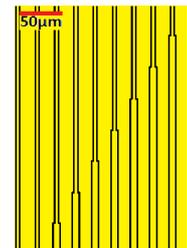
(a) Dispositivo completo



(b) Entrada con filtro



(c) Canal principal



(d) Canales laterales

Figura 2.11: Diseño de uno de los dispositivos de lavado. La Entrada 1 corresponde al flujo que será lavado; la Entrada 2, a la del flujo de lavado; la Salida 1, a la salida del canal principal; y la Salida 2, a la salida donde se unen los canales laterales. En las imágenes de colores se muestran las ampliaciones de las zonas sombreadas, con sus respectivos colores.

pero se vierte una cantidad que abarque el tamaño de una moneda de \$10. El *spin coater* se programa para que haga rotar a la oblea de la siguiente manera

- Pasar de la velocidad 0 a 950rpm en 9.5s.
- Al alcanzar la máxima velocidad, mantenerse así durante 40s.
- Transcurridos los 40s, disminuir la velocidad hasta 0, en 9.5s.

Esta resina es negativa, es decir, va a formar la estructura interna de los canales. Este paso es el que define la altura que tendrán nuestros canales, pues ésta depende de la velocidad a la que se gire la oblea, aunque, también, la viscosidad de la resina puede afectar, siendo sensible a cambios de temperatura y de humedad.

3. Ahora la oblea tiene una fina capa de resina en la superficie, y se deja reposar 30min en una superficie plana para homogeneizar el grosor de la capa.
4. A la oblea se le da un pre-cocido a 120°C durante 2min.
5. La oblea se coloca en el *stage* de un *micro pattern generator* (μ PG 101 Heidelberg *Instruments Inc.*) el cual tiene su propio programa de control μ PG *Exposure Wizard*. Por medio de este programa cargamos nuestro diseño con el archivo GDS y le asignamos los parámetros de energía para la exposición, los cuales son, porcentaje de 90 % con una potencia de 50mW. La máquina incide el haz focalizado de un láser de UV sobre las estructuras que formarán el interior de los canales; esta exposición tarda varias horas. Sólo la resina que fue expuesta a UV, se polimeriza adquiriendo mayor firmeza.
6. Al terminar la exposición, a la oblea se le da un post-cocido el cual consiste en colocar la oblea en la parrilla que está a 60°C, luego a razón de 5°C por minuto se llega a 95°C, al llegar a esta temperatura, se deja durante 10min. En este proceso se evapora una parte de los solventes de la resina, permitiendo que las partes que fueron radiadas adquieran mayor resistencia.
7. Se realiza el revelado de estructuras empleando revelador de SU-8 (*SU-8 Developer, MicroChem Corp.*) (el nombre del compuesto es propilenglicol metil éter, PGMEA, por sus siglas en inglés): la superficie de la oblea se cubre con el revelador, éste

comienza a actuar desprendiendo la resina no polimerizada por la exposición, lo cual se nota por una sustancia lechosa, la cual se enjuaga con isopropanol (Fermont). El uso del revelador sobre las estructuras, sólo es mientras se observan manchas lechosas, si se deja más tiempo, nuestras estructuras también pueden desprenderse. Cuando se ha enjuagado el revelador, se observa en el microscopio (StemiDV4, *Carl Zeiss Microscopy*) que no hayan quedado manchas de resina. Si todavía quedan manchas, se repite el proceso de agregar revelador y enjuagarlo. Cuando se observa que las estructuras están limpias, nuevamente se enjuaga con isopropanol y se deja secar.

8. Para endurecer por completo las estructuras, la oblea se somete a un *hard baking*, la cual consiste en hornear la oblea a 150°C durante 2 horas. Esto evapora por completo los solventes de la resina.
9. La oblea se coloca en un recipiente cerrado junto con 200µl de clorotrimetilsilano (*Sigma Aldrich*) (TMCS, por sus siglas en inglés). El TMCS se evapora, y se adhiere a las superficies en contacto, dejando la superficie de la oblea lipofílica y evita que materiales como el polidimetilsiloxano (PDMS) se adhieran al molde.

2.2.2. Fabricación de los dispositivos de PDMS

Ahora se deben fabricar los microdispositivos a partir del molde. El proceso es el siguiente:

1. La oblea se coloca en una caja Petri en la que quede justa a los bordes (esto para evitar desperdicios de polímero).
2. A parte se prepara un elastómero de silicona (*Sylgard 184 Silicone Elastomer, The Dow Chemical Company*): se pesan en un mismo vaso de plástico de 100ml, 50g de un pre-polímero base y 5g de un agente curador. Para mezclar, el vaso se introduce a una mezcladora centrifugadora (*Thinky Mixer AR-100, Thinky Corporation*), la cual tiene un programa de trabajo que dura 2.5min. Notemos que la relación entre los dos componentes del polímero es de 10 a 1.

3. Toda la mezcla del pre-polímero se vierte sobre la oblea, sin embargo, está llena de pequeñas burbujas, las cuales se extraen aplicando vacío 10 min en una campana de vacío. Al terminar se revisa que no queden burbujas en la superficie del pre-polímero, si hay alguna, sólo se rompen cuidadosamente con una punta de plástico.
4. El pre-polímero se polimeriza durante una hora a 80°C. Esto favorece que el agente curador forme enlaces en el pre-polímero, endureciéndolo.
5. Con ayuda de un bisturí se cortan los bordes de los dispositivos sobre la oblea y se desprenden, de esta manera obtenemos los chips individuales.
6. Empleando una microperforadora (MP10-UNV, *SCHMIDT Technology Corporation*), se perforan las salidas y entradas de los dispositivos, y después se cubren las superficies con cinta adhesiva.
7. Los dispositivos cortados se separan en grupos de 3; cada grupo se introduce a un tubo para centrifuga de 15ml, sin la cinta adhesiva. Se llenan los tubos con metanol (*J. T. Baker*), hasta que se cubran todos los dispositivos. Los tubos se colocan en un soporte para introducirlos a un baño de ultrasonido (M1800, *Fisherbrand*) durante 35 min. Este paso es para lavar los dispositivos y quitar fragmentos de PDMS de las paredes de las perforaciones de las entradas y salidas, los cuales si no se retiran ahora, pueden tapan los canales de nuestro dispositivo funcionando. Al terminar el baño, los dispositivos se colocan en una caja Petri y se calientan por lo menos 2 horas a 80°C para asegurarse que el alcohol se evapore por completo.
8. La cara con los canales del dispositivo junto con portaobjetos limpios, se exponen a plasma de oxígeno durante 1.5min. Esto hace que temporalmente las superficies se vuelvan hidrofílicas, por lo que al poner en contacto la cara de los canales con la superficie del portaobjetos, los dos se adhieren de manera irreversible. Obteniendo nuestros dispositivos de trabajo.

2.3. Medición de las alturas de los microcanales

Uno de los chips fabricados en PDMS, que no ha sido pegado a un portaobjetos, se corta transversalmente para poder medir la altura de los canales. La observación se hace en el microscopio invertido (*Axio Observer A1, Carl Zeiss Microscopy*) y la medición se realiza con su programa *ZenPro* (*Zen Pro 2012, Carl Zeiss Microscopy*).

2.4. Caracterización de los dispositivos

Para evaluar el funcionamiento de los dispositivos se hicieron dos tipos de experimentos: para lavar una solución de fluoresceína (*Sigma Aldrich*) con agua, y, para una suspensión de micropartículas de $1\mu\text{m}$ (*Fluoresbrite Polychromatic Red 1.0 Micron Microspheres, Polysciences, Inc.*) con búfer de fosfato salino compuesto (*Sigma Aldrich*) (PBS, por sus siglas en inglés), con una concentración 2:50.

En cada experimento, cada uno de los fluidos, el de lavado y el que se va a lavar, se introducen en jeringas de vidrio de $500\mu\text{l}$ (*Gastight* núm. 1750, *Hamilton Company*), las jeringas se colocan en una o dos bombas de jeringa (SP200I, *World Precision Instruments Inc.*) para suministrar dos flujos (sólo se emplea una bomba cuando se desea que los dos flujos sean iguales). Las conexiones de entrada y salida de los dispositivos se hacen conectando mangueras (*Flexible plastic tubing, Tygon*) de 0.02" de diámetro interno (este tipo de manguera se usa para todos los experimentos). Para el caso de las micropartículas, antes de hacer fluir la suspensión de micropartículas es necesario hacer fluir una solución de plurónico (*Sigma Aldrich*) durante 30 minutos. La observación de lo que ocurre en los canales se hace por medio de un microscopio invertido (*Eclipse Ti-U, Nikon Instruments Inc.*) y la captura de imágenes se realiza con una cámara rápida (FAST CAM SA3, modelo 60K, *Photron*). Este montaje experimental se representa en la Figura 2.12, en este caso los fluidos a lavar fueron la fluoresceína y la suspensión de burbujas.

2.5. Preparación de microburbujas

Las microburbujas que buscamos lavar en nuestro dispositivo, se pueden obtener por medio un dispositivo microfluídico.

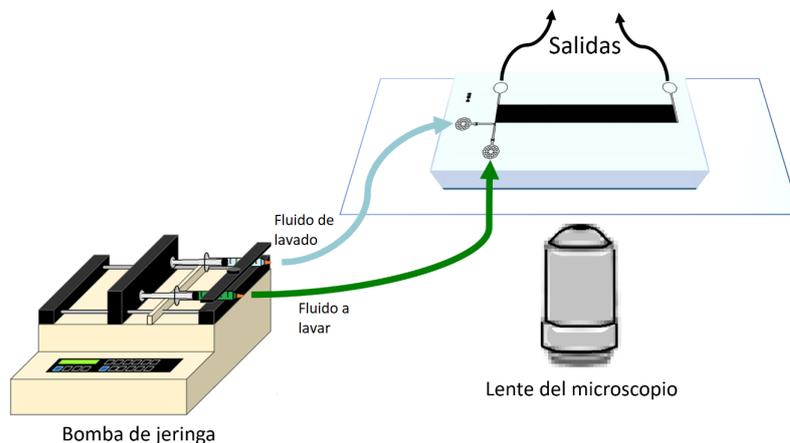


Figura 2.12: Esquema representativo del arreglo experimental para el lavado.

Se tienen dispositivos para fabricación de microburbujas a los cuales se les suministra una suspensión de liposomas y gas, los cuales se les obliga a pasar por una pequeña constricción para formar las burbujas, en la Figura 2.13 se muestra un esquema del dispositivo. Nuestro procedimiento de fabricación de microburbujas es el siguiente:



Figura 2.13: Esquema del diseño del dispositivo empleado para la fabricación de microburbujas.

1. Se fabrican los microdispositivos de producción de burbujas, en PDMS, como se mostró anteriormente de un molde fabricado que contiene 15 dispositivos iguales.
2. Se preparan los liposomas: se pesa el dipalmitoilfosfatidilcolina (*Sigma Aldrich*) (DPPC, por sus siglas en inglés), y se hidrata con un búfer salino compuesto en 80 % de solución salina (*Sigma Aldrich*), 10 % glicerol (*Sigma Aldrich*), 10 % de propilenglicol (*Sigma Aldrich*) —estos dos componentes modifican la viscosidad del búfer, favoreciendo la formación de las burbujas [19]— y 0.05 % de *Tween 80* (*Sigma Aldrich*) —sin este componente las burbujas no pueden ser recolectadas en la salida—. La relación es 3mg de DPPC por 1ml de búfer. Para formar los liposomas,

- el DPPC hidratado se agita en la plancha a 750rpm, durante 30min a 60°C.
3. Los dispositivos de fabricación y de lavado de microburbujas, junto con una manguera de longitud de 45 cm, se exponen a plasma de oxígeno durante 10min. Esto hace que las superficies de los canales y la manguera se vuelvan hidrofílicas temporalmente, favoreciendo a que durante el experimento no se peguen burbujas en las paredes.
 4. Se vierte 1ml de liposomas en un tubo para centrifuga. Los liposomas se centrifugan en una centrifuga (1K15, *Sigma Laborzentrifugen GmbH*) 17min a 400g. Esto con la finalidad de separar basuras formadas en la suspensión. Al final se recuperan 600 μ l de la suspensión de liposomas limpia.
 5. Se hace el montaje experimental para fabricar las burbujas (Figura 2.14). Al dispositivo se le tienen que suministrar una suspensión de liposomas y gas; para la suspensión, se llena una jeringa de vidrio, con capacidad de 500 μ l y es suministrada al sistema por medio de una bomba de jeringa; el gas es nitrógeno de alta pureza (Grupo INFRA) y es suministrado por un tanque y regulado por un regulador electro-neumático (ITV2010-042BL4, *SMC Corporation*). En la salida se conecta la manguera que había sido expuesta a plasma y ésta entra a un tubo de recolección para evitar derrames. Para facilitar la salida de las burbujas, a la perforación común se le hace una perforación perpendicular, por lo que la manguera se conecta a un lado.
 6. El regulador de presión se ajusta a 3psi para iniciar el experimento, después se inicia el suministro de la suspensión de liposomas con un flujo volumétrico de 30 μ l/min. Una vez que la suspensión entra al dispositivo, la presión se aumenta hasta 4.5 o 5psi, presiones con las cuales se pueden generar burbujas de manera estable.
 7. Todo es observado en el microscopio invertido y captado por la cámara rápida.
 8. Se deja que la manguera de recolección se llene de burbujas (lo cual se observa como una espuma blanca), para detener la producción.

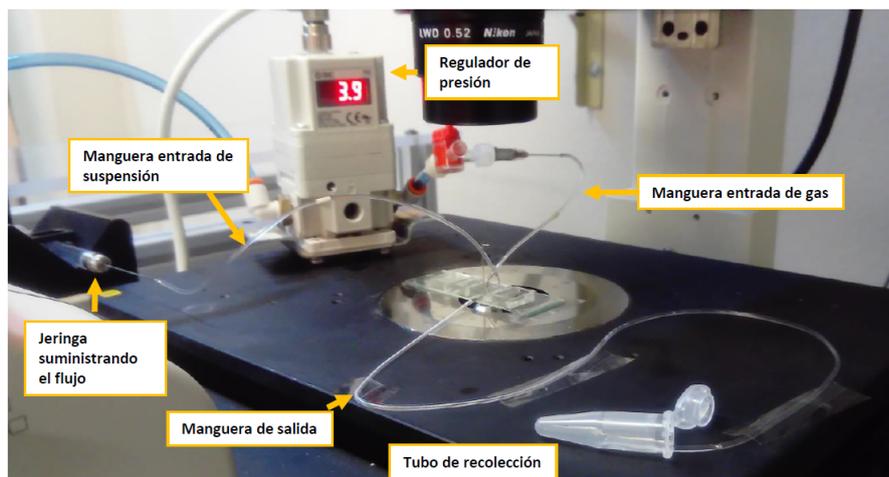


Figura 2.14: Arreglo experimental para la fabricación de burbujas.

2.6. Lavado de microburbujas

Manipular las microburbujas fabricadas con el dispositivo es muy difícil porque su tiempo de vida sólo es de un par de horas, además de que no resisten muchos esfuerzos, esto implica que el experimento debe realizarse cuidadosamente.

El método, con el cual hemos tenido más éxito, para introducir las burbujas al dispositivo de lavado es el siguiente:

1. Junto con el dispositivo de fabricación de microburbujas, los dispositivos de lavado, son expuestos a plasma de oxígeno durante 10min.
2. Cuando la manguera de recolección tiene burbujas en toda su longitud, se detiene la producción, y se desconecta todo lo del chip anterior para hacer el montaje del nuevo experimento. Se desconecta la manguera de recolección pero no se cambia de posición para mantener la distribución homogénea de burbujas en la manguera.
3. El fluido de lavado corresponde a un búfer de PBS compuesto por 80% de solución de PBS, 10% de glicerol y 10% de propilenglicol. Se llena una jeringa de vidrio de 500 μ l con este búfer y se conecta al dispositivo. Para suministrar el flujo, se emplea una bomba de jeringa. Mientras se prepara la conexión para la entrada de las burbujas, se suministra el búfer a 1 μ l/min, para mojar los canales.
4. Se llena una jeringa con la suspensión que se recolectó en el tubo durante la fabricación de burbujas, luego se conecta a la manguera de recolección de burbujas. La

jeringa se coloca en una bomba de jeringa que se encuentra por lo menos 30cm más abajo de la platina donde se coloca el dispositivo, esto para que el empuje favorezca la entrada de las burbujas al dispositivo. Similar al caso del dispositivo de fabricación que tiene una perforación perpendicular en la salida, en este caso, es en la entrada, también para favorecer el flujo de burbujas.

5. Se detiene el flujo del búfer, se conecta la manguera con burbujas y se inicia el suministro de éstas con un flujo de $2\mu\text{l}/\text{min}$, después se ajusta el flujo de búfer para favorecer el lavado. En las salidas no hay conexiones, para disminuir la presión y facilitar la salida de las burbujas.
6. La observación se hace en el microscopio invertido, y la captura de imágenes se hace con la cámara rápida.

Capítulo 3

Resultados y discusión

3.1. Comportamiento esperado por las moléculas de la interfase

Al diseñar nuestros dispositivos podemos predecir si es posible determinar si un dispositivo podrá realizar el lavado.

Consideremos dos dispositivos con diferentes diseños:

- Dispositivo 1: $w = 20\mu\text{m}$, $w_1 = 0.6\mu\text{m}$, $n = 40$ y $h = 6.6\mu\text{m}$.
- Dispositivo 2: $w = 30\mu\text{m}$, $w_1 = 2\mu\text{m}$, $n = 25$ y $h = 7.84\mu\text{m}$.

A partir de las ecuaciones (2.13) y (2.14), podemos hacer una aproximación del perfil de la interfase en el canal principal; es importante recalcar que la información que nos proporcionan estas ecuaciones, corresponden únicamente a las posiciones aproximadas de las moléculas que están en la posición inicial y_0 . Para los cálculos se consideró como molécula de prueba a la fluoresceína cuya constante de difusión fue $D = 4.378 \times 10^{-10} \text{m}^2/\text{s}$, se obtuvo a partir de la ecuación (1.17) considerando $k_B = 1.381 \times 10^{-23} \text{J/K}$, $a = 4.918 \times 10^{-10} \text{m}$, $\mu = 0.001 \text{Pa/s}$, $T = 294 \text{K}$, y un flujo volumétrico inicial $Q_0 = 1 \mu\text{l}/\text{min}$. De hecho podemos considerar diferentes orígenes para la interfase modificando la posición y_0 . Al realizar los cálculos para los dispositivos mencionados, obtenemos las gráficas mostradas en la Figura 3.1. Para establecer la posición inicial y_0 , consideramos casos donde el flujo a lavar y el flujo de lavado tienen una relación 1:1, 1:2, 1:3, 1:4, y 1:5, lo cual se traduce

en $y_0 = \frac{k}{k+1}w$ con $k = 1, 2, 3, 4, 5$.

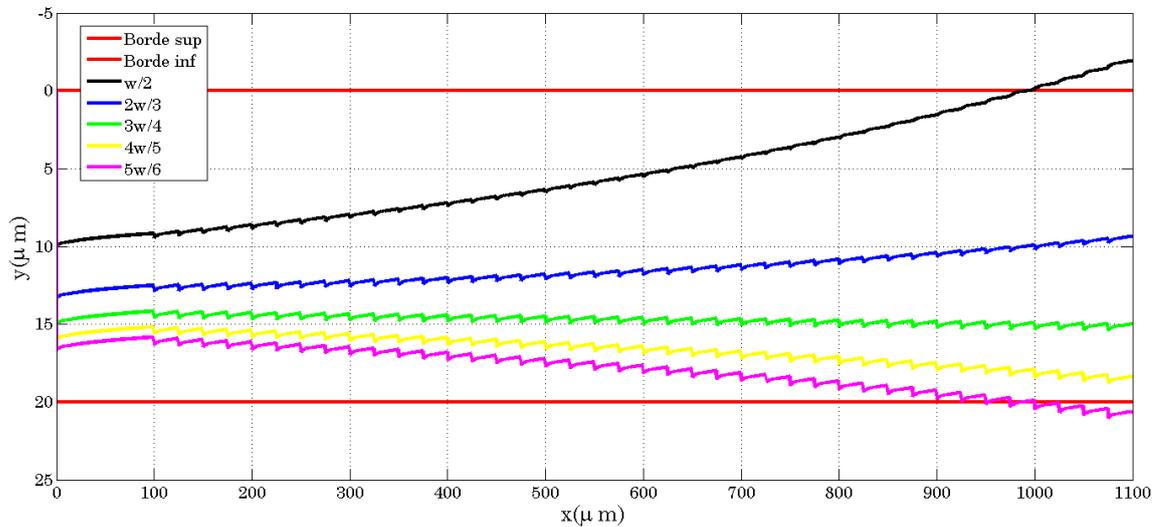
De la Figura 3.1 podemos observar tres cosas importantes. Primero, como era de esperarse, mientras más grande sea el ancho de filtración el lavado es más fácil de lograr; notemos que el Dispositivo 2, ni siquiera necesita todos los canales laterales para completar el lavado, mientras que el Dispositivo 1 en algunos casos no lo logra. Segundo, los escalones que se aprecian en las curvas graficadas, corresponden a las filtraciones realizadas por los canales laterales, por lo tanto, mientras más cerca esté un punto del canal de filtración, su cambio de posición en y es más grande y por lo tanto, está más cerca de ser filtrado. Tercero, conforme se avanza por el canal principal la difusión hace que el perfil ascienda más rápido (esto es más evidente en las curvas negra ($w/2$) y azul ($2w/3$) de la Figura 3.1(a), pues un escalón pequeño haría parecer a la función constante, sin embargo, éstas crecen porque la difusión adquiere mayor relevancia alejándose cada vez más, de su valor inicial); esto concuerda con el hecho de que conforme el fluido avanza por el canal principal, el flujo volumétrico, y por lo tanto la velocidad, disminuyen, debido a que parte del flujo inicial, se ha filtrado.

Una manera más para modificar el comportamiento de la interfase, para la curvas mostradas en la Figura 3.1, donde sólo se variaron las posiciones iniciales de la interfase, es modificando el flujo volumétrico usado.

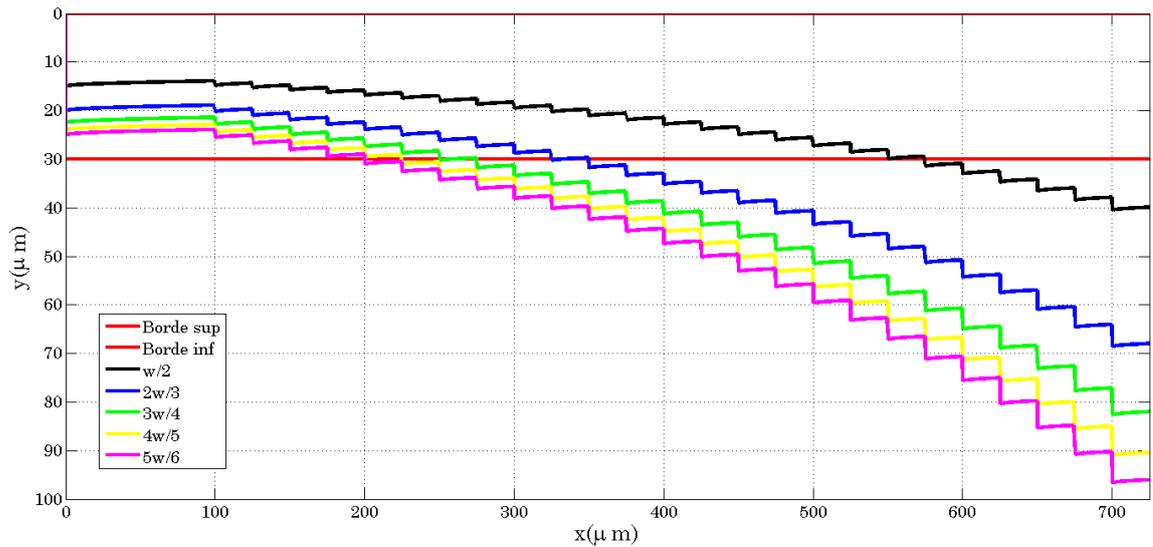
En el caso de la Figura 3.1(a), también se observa que al cambiar la relación de flujos, de lavado y a lavar, el funcionamiento del dispositivo pasa de un modo en el cual las moléculas del fluido a lavar se escapan a la filtración (curvas negra y azul), a uno en el cual el filtrado puede ganarle a la difusión (curvas verde, amarillo y magenta), sin embargo, sólo la curva magenta completó el lavado, aunque el margen de error es pequeño, pues sólo tiene 4 canales laterales extra; para mejorar esto, se pueden agregar canales de filtración. Incluso con la curva amarilla se puede lograr el lavado con 52 canales laterales y también se puede mejorar el margen de error colocando canales laterales extra.

Los Dispositivos 1 y 2, corresponden a dispositivos que se fabricaron, por lo tanto fue posible evaluar su funcionamiento de manera experimental (Sección 3.2).

3.1. COMPORTAMIENTO ESPERADO POR LAS MOLÉCULAS DE LA INTERFASE41



(a) Dispositivo 1: $h=6.67\mu\text{m}$, $n=40$, $w_1=0.6\mu\text{m}$



(b) Dispositivo 2: $h=7.84\mu\text{m}$, $n=25$, $w_1=2.0\mu\text{m}$

Figura 3.1: Gráficas del perfil de la interfase, x corre a lo largo del canal principal, e inicia en la posición justo después de la unión de los flujos hasta $20\mu\text{m}$ después del último canal lateral, por esto tiene diferente extensión entre ambos dispositivos; y y , tiene origen en el borde del canal principal donde no hay canales laterales (Borde sup) y crece hacia abajo, se marca el borde donde se encuentran los canales laterales (Borde inf). Cada curva de color representa diferentes posiciones para y_0 . Sólo las curvas que intersectan la línea $y = w$, son las que completan el lavado. Para cada dispositivo h es la altura del canal, n es el número de canales laterales y w_1 es el ancho de filtración.

3.1.1. Número de Peclet

Para cada uno de los casos donde tenemos diferentes posiciones de la interfase podemos hacer el cálculo del número de Peclet (Pe) para el primer canal lateral. Sólo necesitamos hacer el cálculo para el primero debido a que si en el primer canal lateral la molécula no pudo ser filtrada, al alejarse más por la difusión, el segundo canal tampoco la filtrará. Recordemos que mientras más alejado se esté del borde inferior del canal, la variación en y es más pequeña.

Consideremos el Dispositivo 1. A partir de la ecuación(2.14), conocemos las posiciones de la interfase, entonces podemos determinar la Δy cuando el flujo pasa por el primer canal lateral, además conocemos el flujo volumétrico $Q_1 = (1 - a)Q_0$. Usando la ecuación (2.22) tenemos para cada una de las posiciones iniciales $y_0 = \frac{k}{k+1}w$ con $k = 1, 2, 3, 4, 5$, un valor de $Pe(y_0)$, como se muestra en la Figura 3.2, los dos primeros puntos correspondientes a las posiciones iniciales $w/2$ y $2w/3$ tienen valores menores a 1. Estos dos puntos corresponden a las curvas negra y azul (Figura 3.1(a)), donde la interfase difunde y no hay filtrado sin importar el número de canales laterales.

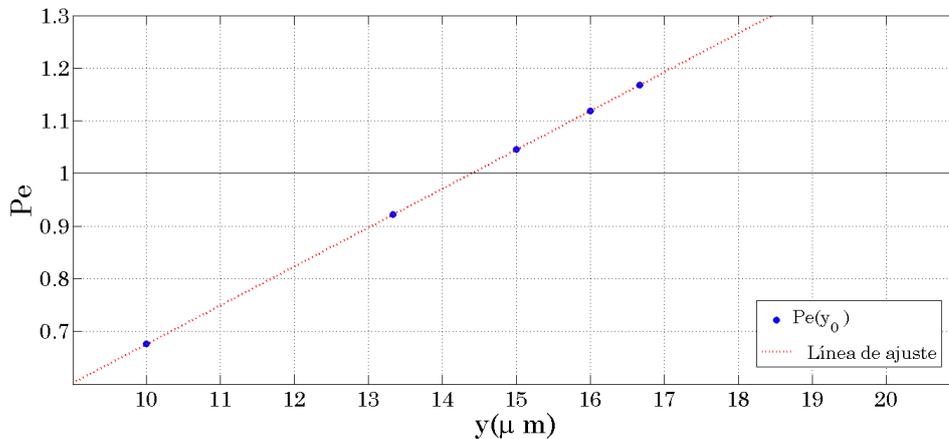


Figura 3.2: Valores de Peclet para el Dispositivo 1. Los puntos azules corresponden a los valores calculados los cuales caen en la línea punteada roja.

3.2. Dispositivos fabricados

De los cálculos realizados, en el análisis teórico, resultó que la altura con la que se lograban mejores diseños, fue $h=7\mu\text{m}$. Así que los diseños realizados funcionarían para

esta altura.

Para obtener la altura deseada es necesario hacer rotar la oblea de silicio con una resina cuya viscosidad permite obtener valores cercanos a la altura deseada, y para ajustar esa altura al valor deseado es necesario elegir la velocidad de rotación. Según la hoja de datos (de la resina GM1050) del fabricante para obtener una altura de $7\mu\text{m}$ la velocidad de rotación debe ser 1180rpm a una temperatura ambiente de 20.5°C . En nuestro caso, una velocidad de 1000rpm resultó en una altura $\sim 5\mu\text{m}$. Se optó por dejar una velocidad de 950rpm, con la cual obtuvimos alturas entre 6 y $8\mu\text{m}$. El factor más importante para determinar si se tendrá la altura deseada, es la temperatura.

La oblea fabricada con la altura más cercana a la deseada se muestra en la imagen (Figura 3.3), las condiciones de fabricación fueron 21°C y una humedad relativa del 47%. La altura medida en estos dispositivos es de $6.67\mu\text{m} \pm 0.18\mu\text{m}$.

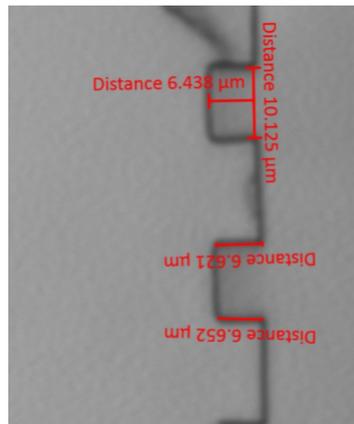
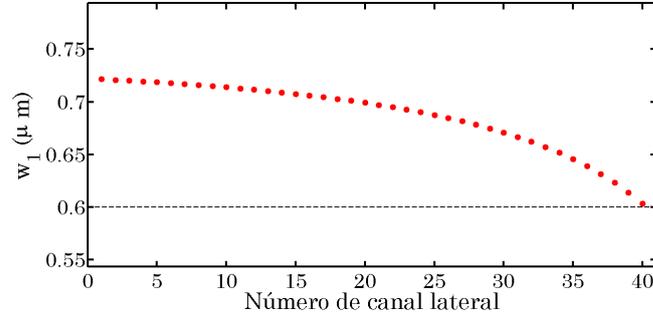


Figura 3.3: Fotografía tomada con microscopio del corte transversal de un dispositivo. Los canales mostrados corresponden a dos canales laterales en su ancho mayor.

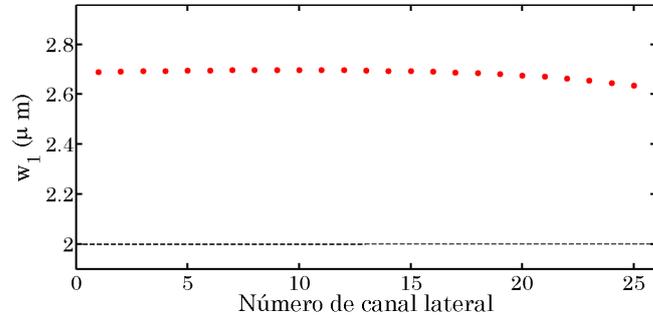
De los dos dispositivos mencionados en la sección anterior, el Dispositivo 1 corresponde a uno de los dispositivos fabricados con canales de una altura media de $6.67\mu\text{m}$, y el Dispositivo 2, corresponde a otra oblea y tiene canales con una altura media de $7.84\mu\text{m}$.

Se evaluó si la diferencia de altura, debida a la fabricación, alteraría el funcionamiento de los dispositivos, así que se hicieron los cálculos para determinar el valor de ancho de filtrado, w_1 . Los resultados de estos cálculos, graficados en la Figura 3.4, mostraron que cada canal lateral tiene un ancho de filtración diferente. En las Figuras 3.4(a) y 3.4(b) observamos que el valor de w_1 desciende conforme avanzamos hacia el último canal donde se tiene el mínimo valor de w_1 . De los resultados obtenidos tenemos que ambos dispositivos

pueden filtrar partículas más grandes a las deseadas (en el caso del Dispositivo 2 por más de $1\mu m$) por lo que, perderemos una mayor cantidad de burbujas en el lavado si las burbujas que deseamos filtrar tienen una distribución de tamaños amplia.



(a) Dispositivo 1. w_1 de diseño $0.6\mu m$



(b) Dispositivo 2. w_1 de diseño $2.0\mu m$

Figura 3.4: Gráficas de los valores de w_{1j} de dispositivos fabricados para cada canal lateral. los puntos rojos corresponden a los valores de w_1 para cada canal lateral y las líneas punteadas a el valor deseado en el diseño del dispositivo.

El valor medio de los valores de w_1 's calculados para el Dispositivo 1 es $0.55\mu m$ y para el Dispositivo 2 es $2.7\mu m$. A partir de estos valores podemos estimar que la diferencia de altura resultó, para el Dispositivo 1, en una variación de aproximadamente 16% del w_1 esperado, y para el Dispositivo 2, de aproximadamente 34%. Estas diferencias de w_1 corresponden a las diferencias entre la altura deseada ($7\mu m$) y la fabricada de 4.3% y 12% para los Dispositivos 1 y 2, respectivamente. Comparando los resultados de cada dispositivo, observamos que mientras más pequeño sea nuestro w_1 de diseño es más sensible a los errores de fabricación.

Consideremos el último canal lateral, recordemos que el ancho de filtración depende de una relación entre la resistencia del canal principal y el canal lateral (ecuación (1.15)), a su vez la resistencia de un canal depende de su geometría. Por lo tanto, la fracción de flujo que se filtra en el canal lateral cambia y entonces, también cambia w_1 ; para los

demás canales laterales recordemos que sus resistencias fueron obtenidas por la relación de recurrencia de la ecuación (2.36), así que el error va acumulándose conforme avanzamos hacia la primera resistencia lateral. Entonces en realidad, los dispositivos tienen diferentes anchos de filtración w_{1j} 's y fracciones de flujo a_j 's para cada j -ésimo canal lateral.

Como el funcionamiento de los dispositivos fabricados es diferente al esperado, podemos con los nuevos parámetros de filtración determinar cómo es el perfil de la interfase de manera similar a como lo hicimos en la sección pasada en el que w_1 era constante. En la Figura 3.5 se muestran los resultados obtenidos con los mismos parámetros de la Figura 3.1 para los Dispositivos 1 y 2, pero sólo con la posición inicial $y_0 = w/2$. Comparando con los resultados mostrados en la Figura 3.1, como era de esperarse el lavado aumenta para los dispositivos.

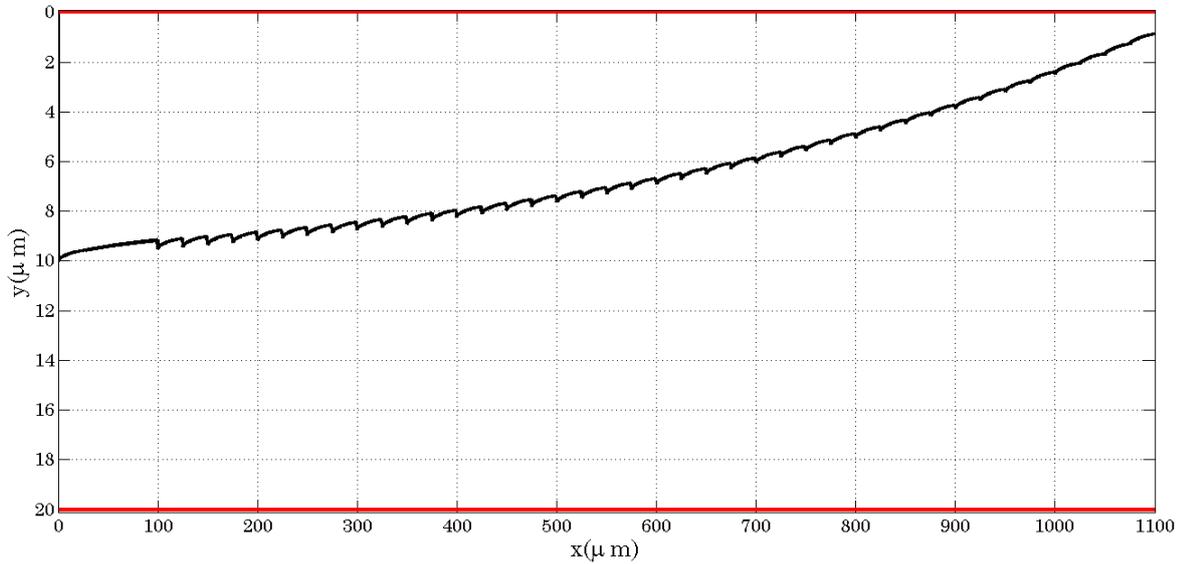
3.3. Caracterización de los dispositivos

La caracterización más importante es por medio del lavado de fluoresceína, pues es una molécula pequeña con un coeficiente de difusión muy pequeño, por lo tanto, todo lo que logramos hacer con la fluoresceína sabemos que sería más fácil con moléculas más grandes o que tienden a agruparse en estructura, casos en los cuales la difusión es menor que la fluoresceína.

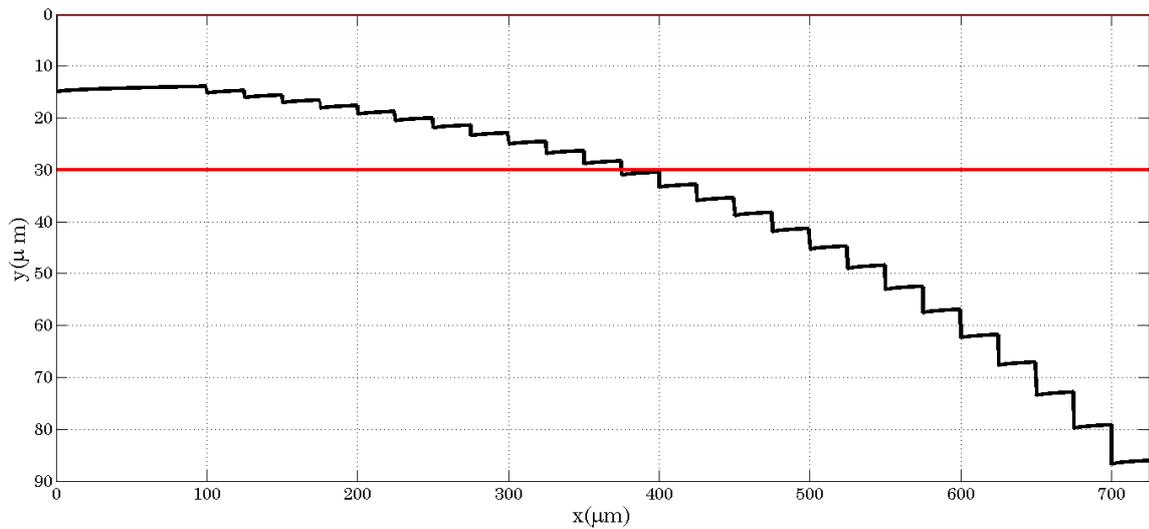
Para los siguientes dos experimentos, consideraremos los Dispositivos 1 y 2, de los cuales hicimos la simulación del perfil de la interfase durante el lavado. Los dos experimentos del Dispositivo 1, fueron realizados con una relación 1:1 de flujos de lavado y a lavar, con un flujo volumétrico de $0.5\mu\text{l}/\text{min}$ cada uno. El experimento con el Dispositivo 2, fue realizado con una relación de flujos 1:1, con un flujo de $0.2\mu\text{l}/\text{min}$.

Dispositivo 1

Para el caso del Dispositivo 1, en la Figura 3.6 se muestra lo observado en el canal principal del dispositivo al intentar lavar una solución de fluoresceína. Notemos que no fue posible lavar todo el ancho de flujo de la fluoresceína, como también se esperaba de los perfiles obtenidos teóricamente. Se observó una ligera disminución en el ancho del flujo de fluoresceína, aunque la interfase se apreció difusa.

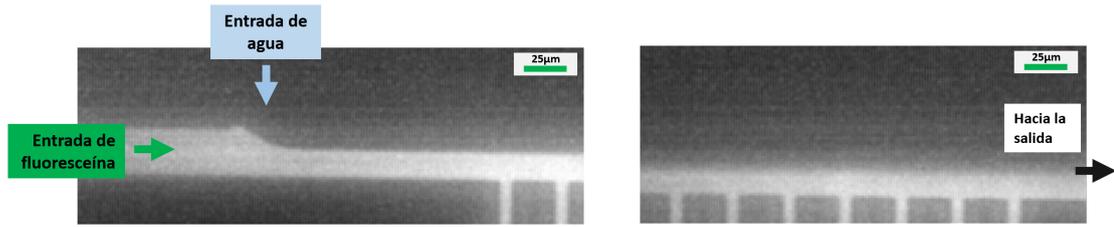


(a) Dispositivo 1



(b) Dispositivo 2

Figura 3.5: Gráficas del perfil de la interfase de dos dispositivos fabricados. x corre a lo largo del canal principal e inicia en la posición justo después de la unión de los flujos hasta $20\mu\text{m}$ después del último canal lateral, por esto, el eje tiene diferente extensión entre ambos dispositivos. y , tiene origen en el borde del canal principal donde no hay canales laterales (borde superior en rojo) y crece hacia abajo; se marca el borde donde se encuentran los canales laterales (borde inferior en rojo). Notemos que sólo en el caso mostrado en (b) se completa el lavado.



(a) Primera parte del canal principal del Dispositivo 1. Se aprecia la unión de los dos flujos (el agua desplaza a la fluoresceína que abarcaba todo el ancho del canal principal). Del lado derecho se aprecian los dos primeros canales laterales.

(b) Última parte del canal principal del Dispositivo 1. Se muestran los últimos 7 canales laterales.

Figura 3.6: Imágenes del Dispositivo 1 en funcionamiento. La captura de estas imágenes fue con la cámara rápida.

Las micropartículas también pueden ayudarnos a realizar la caracterización de los dispositivos, pues a diferencia de la fluoresceína, éstas tienen distancias de difusión despreciables en las escalas de nuestro sistema, por lo tanto, apreciar un cambio en su ancho de flujo se debe exclusivamente a la capacidad de filtración del dispositivo y no a la difusión. En la Figura 3.7 se muestra una de las capturas obtenida en el experimento.



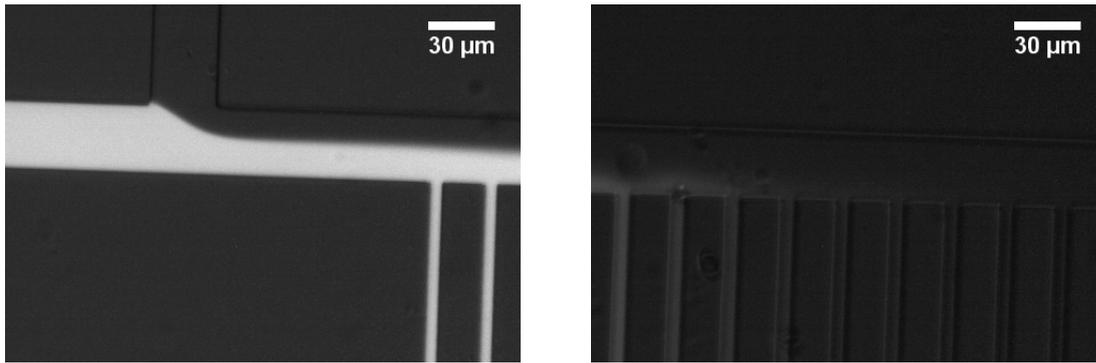
Figura 3.7: Imagen de las micropartículas dentro del dispositivo. En círculos amarillos se encierran a las micropartículas.

Para hacer la caracterización se midieron dos anchos de flujo; después de la unión de los dos flujos, y después del último canal lateral, esto para determinar el ancho de flujo que fue filtrado por el dispositivo. Las mediciones se hicieron tanto para el experimento con fluoresceína, como el de micropartículas. Obteniendo una diferencia de ancho $\Delta w_0 = -2.38 \mp 0.54 \mu\text{m}$. También se hizo un seguimiento de la micropartículas antes de pasar por los canales laterales para determinar su velocidad y de esta manera calcular el número de Reynolds, empleando la ecuación (1.3), obteniendo $Re \cong 0.01$.

Dispositivo 2

En este dispositivo sólo se tienen resultados del lavado de fluoresceína (Figura 3.8).

En la Figura 3.8 se observa que el lavado de fluoresceína se lograba en los primeros 18



(a) Primera parte del canal principal del Dispositivo 2. Se aprecia la unión de los dos flujos. Del lado derecho se aprecian los dos primeros canales laterales.

(b) Parte intermedia del canal principal. Se muestran los canales laterales del 15 a 23.

Figura 3.8: Imágenes del Dispositivo 1 en funcionamiento. El dispositivo contaba con 25 canales laterales. La captura de estas imágenes fue una cámara industrial (uEYE 5220 SE, *Imaging Development Systems GmbH*).

canales laterales. Si comparamos este resultado, con la simulación mostrada en la Figura 3.5(b), el comportamiento difiere. Esto se debe a que al hacer este experimento el flujo volumétrico Q_0 fue de $0.4\mu\text{l}/\text{min}$, y en los cálculos anteriores, se había considerado como $1\mu\text{l}/\text{min}$. Empleando el flujo adecuado se obtuvo la gráfica mostrada en la Figura 3.9. La curva mostrada se parece más a lo observado en el experimento.

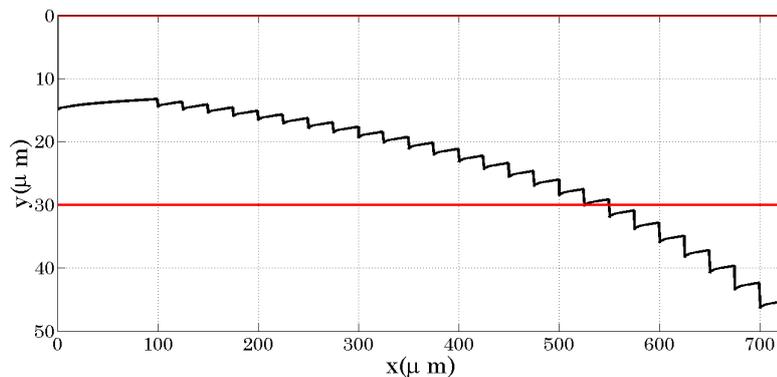


Figura 3.9: Perfil de interfase con un flujo $Q_0 = 0.4\mu\text{l}/\text{min}$.

3.3.1. Relaciones de flujo

Las simulaciones del perfil de flujo se hicieron considerando diferentes posiciones y_0 para la posición inicial de la interfase. Estas posiciones corresponden a diferentes relaciones de flujo, por ejemplo la relación 1:1, obtenida con dos flujos volumétricos iguales, nos da

una $y_0 = w/2$, y la relación 1:5, de flujo a lavar y flujo de lavado, nos da una posición $y_0 = 5w/6$.

Se hizo un experimento para evaluar si cambiar las relaciones de flujo facilitaban un lavado completo. En la Figura 3.10 se muestra una imagen al microscopio comparando los casos de relación 1:1 y 1:5. Y se obtuvo que un flujo de lavado puede por mucho, ser 5 veces más grande que el flujo a lavar, pues si se supera ese valor, el flujo a lavar se vuelve inestable, al ser empujado por el flujo de lavado hacia la entrada. La mayoría de los experimentos se realizó con relaciones de flujo 1:1, debido a que permiten una mayor entrada de flujo a lavar, lo cual aumenta la cantidad de volumen lavado por unidad de tiempo mejorando el desempeño del dispositivo. Sin embargo, la relación 1:5 favorece al lavado como se pudo apreciar en este último experimento.

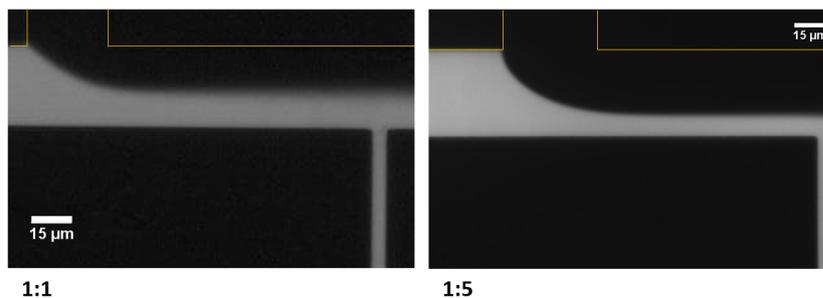


Figura 3.10: Lavado de fluoresceína con dos relaciones de flujo.

3.4. Fabricación y lavado de microburbujas

En la Figura 3.11, se muestra una imagen capturada a una velocidad de 30,000fps, de una burbuja generada en la constricción. Para este experimento la producción de burbujas, con una presión de nitrógeno de 5psi, fue de aproximadamente 3824 burbujas por segundo.



Figura 3.11: Imagen capturada con la cámara rápida. Se muestra la constricción donde se juntan la fase gaseosa (lado izquierdo) y la acuosa; también se aprecia una burbuja avanzando hacia la salida.

Para el lavado de burbujas se emplearon dispositivos como el Dispositivo 2, mencionado anteriormente. La única diferencia es que la entrada de las burbujas tenía una perforación perpendicular a la usual para conectar la manguera; esto parece haber modificado la resistencia de este canal, provocando que la fluoresceína no se lavara, aunque en casos anteriores ya se había logrado. Motivo por el cual los experimentos se tuvieron que realizar con dos bombas para ajustar el flujo de lavado a un valor que permitiera el lavado.

Las burbujas atrapadas en la manguera de recolección se aprecian como una espuma blanca (Figura 3.12). La espuma está muy concentrada de burbujas, por lo que, al meterla al dispositivo de lavado, las burbujas se pegan entre sí, coalescen formando burbujas grandes que tapan los canales laterales, y se estorban al fluir, lo cual provoca que abarquen todo el ancho del canal principal conforme avanzan (Figura 3.13).



Figura 3.12: Manguera con microburbujas atrapadas. La manguera está colocada de manera vertical por lo que las burbujas se concentran en la parte superior.



Figura 3.13: Burbujas dentro del canal principal. De lado izquierdo está la unión de los dos flujos. A pesar de que se tiene el flujo de lavado, al final del canal principal, las burbujas abarcan todo el ancho del canal.

Para poder introducir las burbujas debemos manejar flujos volumétricos desde 2 hasta $10\mu\text{l}/\text{min}$ sólo para la suspensión de burbujas. Sin embargo, usar flujos arriba de $2\mu\text{l}/\text{min}$ no es deseable debido a que esto impone mucha presión para que las burbujas entren a los canales, favoreciendo su coalescencia y formando burbujas de mayor tamaño, las cuales al tener una membrana y núcleo deformables, pueden entrar a los canales laterales obstruyéndolos y modificando el funcionamiento del dispositivo (Figura 3.14). Sin embargo,

los flujos menores a $10\mu\text{l}/\text{min}$ dificultan la entrada de las burbujas al dispositivo.

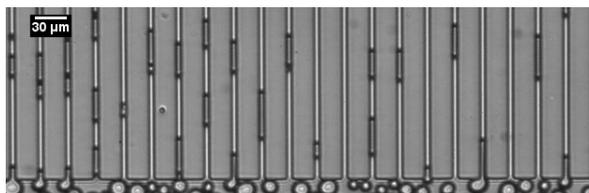


Figura 3.14: Burbujas filtrándose por los canales laterales.

Lo ideal es que las burbujas fluyan en concentraciones pequeñas, de tal manera que sólo avance una burbuja en todo el ancho del canal, como se ha obtenido en algunos casos, donde después de la entrada de una gran cantidad de burbujas, algunas quedan rezagadas, teniendo burbujas que avanzan uniformemente por el canal principal (Figura 3.15).



Figura 3.15: Imagen del canal principal por el cual avanzan 3 burbujas.

En todos los experimentos en los que se tuvo éxito para hacer fluir a las burbujas de tamaño homogéneo en el dispositivo de lavado, las burbujas observadas no tienen tamaños homogéneos (Figuras 3.13, 3.14 y 3.15). A diferencia de lo observado durante su fabricación, esto significa que recuperar las burbujas del dispositivo de fabricación e introducirlas a otro dispositivo, implica grandes esfuerzos que modifican su tamaño por coalescencias, lo cual elimina el beneficio de fabricar burbujas de tamaños homogéneos por medio de dispositivos microfluídicos.

No es posible realizar la observación de lavado de burbujas dentro de los canales del dispositivo, ya que sólo podemos apreciar el lavado con moléculas fluorescentes las cuales no generan suficiente brillo como para ser captado por la cámara rápida, necesaria para poder observar a las burbujas avanzando por los canales con una velocidad de aproximadamente $20\text{cm}/\text{s}$. La eficiencia del lavado sólo podría observarse con las burbujas recuperadas en la salida del canal principal, ya sea con un medio que no fluoresca o con una molécula lipofílica que quede únicamente en la membrana de las burbujas.

Para apreciar el lavado de burbujas, se intentó completar dos experimentos. El primero, añadiendo una solución de fluoresceína al búfer de la preparación de burbujas, proporcionando un medio fluorescente, del cual se podría observar el lavado; la fabricación de estas

burbujas fue normal y se lograron introducir al dispositivo. El segundo experimento fue agregando DiI (*Vybrant DiI, life technologies*), una molécula lipofílica que se introduce a la membrana de la burbuja; estas burbujas también tuvieron una producción normal y se lograron introducir al dispositivo. En ambos casos, no fue posible apreciar un flujo homogéneo de burbujas, sólo flujos como los mostrados en la Figura 3.13, provocando que la fluorescencia abarcara todo el canal principal, y cuando no se observaba este comportamiento, se recolectaron las suspensiones de las dos salidas, y no se observaron burbujas.

De nuestro método experimental para el lavado de microburbujas se tienen dos desventajas, aún no se logra que las burbujas entren únicamente de manera uniforme, siempre hay momentos en los que entran grandes cantidades de burbujas, dificultando el funcionamiento del dispositivo; y aún no es repetible, pues aunque se tienen buenas imágenes, menos de la mitad de los experimentos realizados con la finalidad de lavar burbujas, tienen éxito. La razón de esto es que la altura de nuestros canales no supera los $8\mu\text{m}$, estos canales además de tener una alta resistencia, su tamaño no se compara con el ancho interno de la manguera de entrada que tiene un diámetro aproximadamente 60 veces más grande, lo que hace que las burbujas floten y se acumulen en cualquier borde superior de las conexiones usadas en el dispositivo. Una de las alternativas que proponemos para solucionar estos problemas es modificar el método de observación de los dispositivos, en lugar de emplear un microscopio invertido y colocar el dispositivo con el portaobjetos hacia abajo, invertir su posición y emplear un microscopio con el objetivo ubicado en la parte superior, entonces las conexiones quedarían de abajo hacia arriba, así cuando las burbujas floten, su entrada a los canales se verá favorecida.

Capítulo 4

Conclusiones

- Se desarrollaron las ecuaciones y los programas necesarios para diseñar un dispositivo de lavado, empleando como principio a la filtración hidrodinámica.
- Los cálculos del perfil de filtración nos permiten hacer una aproximación de lo que se puede lavar en nuestro dispositivo, por tanto, nos permite elegir parámetros de diseño que favorezcan nuestro experimento, según el fármaco que deseemos lavar, el tamaño de las burbujas y los flujos que se deseen usar.
- Si el dispositivo diseñado difiere del fabricado, el funcionamiento del dispositivo se ve alterado de tal manera que una variación del 1 % en la altura de los canales representa un cambio en los valores de w_1 de alrededor al 3 %. El parámetro al cual es más difícil controlar durante la fabricación, es la altura, la cual depende de factores externos como la temperatura o la humedad. Aunque, con nuestras ecuaciones podemos determinar cómo un cambio de altura puede modificar el funcionamiento de nuestro dispositivo, eligiendo si una altura mayor o menor a la deseada nos beneficia.
- La fluoresceína al tener un tamaño pequeño, es un buen modelo de fármaco, pues si podemos lavar fluoresceína en nuestro dispositivo, podremos lavar moléculas más grandes o que tienden a formar estructuras, pues comúnmente las moléculas de fármaco están unidas a moléculas lipofílicas.
- Las burbujas fabricadas por agitación mecánica, con diámetros medios menores a $1\mu\text{m}$, no se pueden lavar con los dispositivos que podemos fabricar con el material

y equipo disponible.

- Es posible lavar burbujas fabricadas con microdispositivos por lapsos pequeños, no podemos lavar todas las burbujas que son recolectadas durante su fabricación, lo cual representa una pérdida de población de burbujas.

Capítulo 5

Perspectivas

Al final de este trabajo nos limitamos a trabajar con burbujas obtenidas por medio de dispositivos microfluídicos, sin embargo, nuestro trabajo también incluía a las burbujas producidas por agitación mecánica, pues son las más usadas. Para lavar estas burbujas, debemos hallar una manera de fabricar burbujas con distribuciones de tamaño mayores a las obtenidas en el laboratorio ($\sim 0.8\mu\text{m}$). Para lograr esto se debe cambiar la composición de la membrana, por ejemplo, las burbujas empleadas como agentes de contraste para estudios de ultrasonido pueden tener distribuciones de tamaño entre 2 y 6 μm y se fabrican por agitación. En esos casos el lavado de burbujas se facilita, pues el ancho de filtración necesario para el lavado, es mayor a los necesarios para nuestras burbujas fabricadas por agitación disminuyendo los efectos de la difusión.

Para el caso de las burbujas fabricadas por dispositivos microfluídicos, lo ideal es la integración del dispositivo de fabricación y de lavado, este trabajo implica el diseño y caracterización de un nuevo dispositivo.

Bibliografía

- [1] E. Stride and M. Edirisinghe, “Novel microbubble preparation technologies,” *Soft Matter*, vol. 4, no. 12, pp. 2350–2359, 2008.
- [2] M. Azmin, C. Harfield, Z. Ahmad, M. Edirisinghe, and E. Stride, “How do microbubbles and ultrasound interact? Basic physical, dynamic and engineering principles,” *Curr. Pharm. Des.*, vol. 18, no. 15, pp. 2118–34, 2012.
- [3] E. C. Unger, T. O. Matsunaga, T. McCreery, P. Schumann, R. Sweitzer, and R. Quigley, “Therapeutic applications of microbubbles,” *Eur. J. Radiol.*, vol. 42, no. 2, pp. 160–168, 2002.
- [4] K. Ferrara, R. Pollard, and M. Borden, “Ultrasound Microbubble Contrast Agents: Fundamentals and Application to Gene and Drug Delivery,” *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 9, no. 1, pp. 415–447, 2007.
- [5] K. Hettiarachchi, E. Talu, M. L. Longo, P. A. Dayton, and A. P. Lee, “On-chip generation of microbubbles as a practical technology for manufacturing contrast agents for ultrasonic imaging,” *Lab Chip*, vol. 7, no. 4, pp. 463–468, Apr. 2007.
- [6] A. Kabalnov, D. Klein, T. Pelura, E. Schutt, and J. Weers, “Dissolution of multi-component microbubbles in the bloodstream: 1. theory,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 24, no. 5, pp. 739–749, Jun. 1998.
- [7] F. Yan et al., “Therapeutic Ultrasonic Microbubbles Carrying Paclitaxel and LyP-1 Peptide: Preparation, Characterization and Application to Ultrasound-Assisted Chemotherapy in Breast Cancer Cells,” *Ultrasound Med. Biol.*, vol. 37, no. 5, pp. 768–779, 2011.
- [8] C. Pu et al., “Ultrasound-Mediated Destruction of LHRHa-Targeted and Paclitaxel-Loaded Lipid Microbubbles for the Treatment of Intraperitoneal Ovarian Cancer Xenografts,” *Mol. Pharm.*, vol. 11, no. 1, pp. 49–58, Jan. 2014.
- [9] A. Kheiriloom et al., “Acoustically-active microbubbles conjugated to liposomes: Characterization of a proposed drug delivery vehicle,” *J. Control. Release*, vol. 118, no. 3, pp. 275–284, 2007.
- [10] F. Yan et al., “Paclitaxel-liposome-microbubble complexes as ultrasound-triggered therapeutic drug delivery carriers,” *J. Control. Release*, vol. 166, no. 3, pp. 246–255, 2013.

- [11] M. Yamada and M. Seki, “Hydrodynamic filtration for on-chip particle concentration and classification utilizing microfluidics,” *Lab Chip*, vol. 5, no. 11, p. 1233, 2005.
- [12] M. Yamada, J. Kobayashi, M. Yamato, M. Seki, and T. Okano, “Millisecond treatment of cells using microfluidic devices via two-step carrier-medium exchange,” *Lab Chip*, vol. 8, no. 5, pp. 772–778, 2008.
- [13] K. Toyama, M. Yamada, and M. Seki, “Isolation of cell nuclei in microchannels by short-term chemical treatment via two-step carrier medium exchange,” *Biomed. Microdevices*, 2012.
- [14] A. Kobayashi, M. Yamada, and M. Seki, “Bubble-Based Continuous Separation System in Microfluidic Device,” 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, no. October, pp. 1364–1366, 2010.
- [15] S. A. S. Salah, E. G. Filali, and S. Djellouli, “Numerical investigation of Reynolds number and scaling effects in micro-channels flows,” *J. Hydrodyn. Ser. B*, vol. 29, no. 4, pp. 647–658, 2017.
- [16] H. Bruus, *Theoretical Microfluidics*. OUP Oxford, 2008.
- [17] P. Tabeling, *Introduction to Microfluidics*. OUP Oxford, 2010.
- [18] J. K. G. Dhont, *An Introduction to Dynamics of Colloids*. Elsevier Science, 1996.
- [19] V. Daeichin et al., “Microbubble Composition and Preparation for High-Frequency Contrast-Enhanced Ultrasound Imaging: In Vitro and In Vivo Evaluation,” *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control*, vol. 64, no. 3, pp. 555–567, 2017.