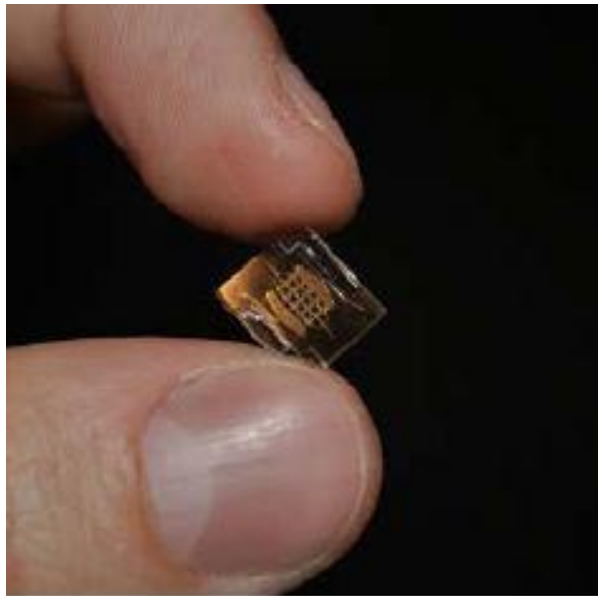


PROYECTO FIN DE CARRERA

Título: Diseño y caracterización de chips de microfluídica para aplicaciones de cultivo celular



Área de Mecánica-Universidad de Zaragoza

Escuela de Ingeniería y Arquitectura. Universidad de Zaragoza

Ingeniero Técnico Industrial (Mecánica)

Autor: Jorge López Racaj

Director: Mauro Malve – Fernando Usón

Ponente: Miguel Angel Martínez Barca

Zaragoza, Febrero 2012



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Contenido

1.	Introducción.....	6
1.1.	Objeto del proyecto.....	6
1.2.	Alcance del proyecto	6
1.3.	Justificación del proyecto.....	7
2.	Microfluídica para ingeniería de tejidos: estado del arte y oportunidades de futuro.	9
2.1.	Medicina regenerativa e Ingeniería de Tejidos:.....	9
2.1.1.	Células:.....	11
2.1.2.	Andamiajes:.....	11
2.1.3.	Biorreactores y cámaras de cultivo:.....	11
2.1.4.	Bombas peristálticas:.....	13
2.2.	Expectativas de la Ingeniería de tejidos y Medicina Regenerativa y necesidad de ellas: 14	
2.3.	Nanotecnología	15
2.4.	Microfluídica:.....	16
2.4.1.	Evolución histórica:.....	17
2.4.2.	Fundamentos de microfluídica (explicación general):.....	18
2.4.3.	La microfluídica dentro del cultivo celular y la ingeniería de tejidos.....	20
2.4.4.	Estado del arte de la microfluídica para cultivo celular.....	20
3.	Fabricación de dispositivos.....	25
3.1.	Lab-on-chip:	25
3.1.1.	Microfabricación:.....	25
3.1.2.	Litografía:	25
3.1.3.	Fotolitografía:	26
3.1.4.	Grabado por iones reactivos (RIE):	29
3.2.	Encapsulados.....	30
3.2.1.	PROTOTIPADO RÁPIDO:	31
3.2.2.	APLICACIONES DEL PROTOTIPADO RÁPIDO.	38
3.2.3.	CONCLUSIONES DEL PROTOTIPADO RÁPIDO.	39
4.	Proceso de modelado y simulación.....	41
4.1.	Cronología:.....	41
4.2.	Rhinoceros 4.0:.....	42
4.3.	ANSYS CFD:.....	42

4.4.	ANSYS CFX:	44
4.4.1.	Pre:	45
4.4.2.	Solver:	46
4.4.3.	Post-Procesamiento:	46
5.	Definición del proyecto	48
6.	Análisis de resultados	51
6.1.	Introducción	51
6.2.	Primeras simulaciones	51
6.2.1.	Caudal de 100ul/min:	53
6.2.2.	Caudal de 500ul/min:	57
6.2.3.	Caudal de 20ul/min:	62
6.3.	Simulaciones con difusión de oxígeno	74
7.	Conclusiones del proyecto	83
7.1.	Caudal de entrada.	83
7.2.	Geometría del microchip.	83
7.3.	Geometría del chip de cara a la difusión de oxígeno	84
8.	Ecuaciones fundamentales de la dinámica de fluidos y del transporte de materia	86
8.1.	A.1. Ecuaciones fundamentales	86
8.1.1.	A.1.1. Ecuación de conservación de masa	86
8.1.2.	A.1.2. Ecuación de conservación de la cantidad de movimiento	88
8.1.3.	A.2. Ecuaciones de Navier-Stokes	92
8.2.	A.3. Transporte de materia	96
8.2.1.	A.3.1. Ecuaciones de difusión	96
8.2.2.	A.3.2. Ecuaciones de advección	97
8.2.3.	A.3.3. Ecuación de convección-difusión	98
9.	Ecuaciones que rigen el proceso de cálculo (MEF)	101
9.1.	B1. Discretización mediante elementos finitos.	101
9.2.	B.3. Discretización mediante volúmenes finitos.	104
10.	Bibliografía	107



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Capítulo 1

1. Introducción

1.1.Objeto del proyecto

El presente proyecto “Diseño y caracterización de chips de microfluídica para aplicaciones de cultivo celular se enmarca en un proyecto de investigación realizado con la empresa EBERS Medical Technology, cuyo objetivo es el desarrollo de nuevas herramientas de cultivo celular basadas en microtecnologías, consiste en el estudio e investigación para desarrollar nuevas herramientas de cultivo celular basadas en las microtecnologías con el fin de reducir los costes de los ensayos disminuyendo la cantidad de agentes necesarios para los mismos.

Para ello se han realizado diferentes tipos de simulaciones, teniendo muy en cuenta las condiciones de contorno como temperatura, presión, caudal, concentración de oxígeno en el agua y en algunas se ha tenido en cuenta un consumo de oxígeno similar al que tienen las células.

El proyecto tiene una alta carga innovadora y multidisciplinar teniendo en cuenta que los aspectos tratados en el presente proyecto están poco extendidos y poco desarrollados a día de hoy.

1.2.Alcance del proyecto

El presente proyecto se enmarca dentro del estudio de la Ingeniería de Tejidos y de la microfluídica con el fin de cultivar células en dispositivos.

En el proyecto se va a realizar un estudio de los diferentes modelos de chips microfluídicos (Lab-on-chip en inglés), los cuales permiten obtener resultados similares a los que se obtendría en un laboratorio, aunque hay que tener en cuenta que los ensayos microfluídicos también se realizan en laboratorios. Para ello se va a modelar cada uno de los diferentes modelos de chip para posteriormente poder realizar las diferentes simulaciones en cada uno de ellos.

Se van a modelar diferentes geometrías, partiendo desde los modelos experimentales utilizados originariamente, usando el programa Rhinoceros que permite el modelado en 3D de dichas geometrías y la exportación de estas a un programa que permite su discretización espacial.

En cuanto a la discretización espacial, se van a realizar diversas mallas usando elementos tetraédricos mediante el programa ANSYS CFD que permite crear y editar mallas para su posterior cálculo.

Por último, el cálculo se realizará mediante el método de elementos y volúmenes finitos gracias al programa comercial ANSYS CFX y se visualizarán en los resultados más relevantes.

1.3. Justificación del proyecto

Uno de los mayores problemas en la medicina de hoy en día es la cura de enfermedades provenientes del deterioro de diferentes tipos de tejidos. Lo que se busca en el campo de la Ingeniería de Tejidos es dar soluciones a estas enfermedades mediante la regeneración de estos tejidos para que en un futuro una enfermedad pueda ser erradicada y no tratada. Para ello en este proyecto se ha realizado un estudio con el cual se permite determinar cuáles serían las mejores condiciones para el desarrollo de células en los microchips que en un futuro podrán ser tejidos completos injertables en personas.

Otro punto muy a tener en cuenta será el factor económico. La esperanza de vida va a crecer con el paso de los años y esto implicará un mayor desembolso del Sistema Sanitario para poder tratar a los pacientes ya que está comprobado que la mayoría de las patologías existentes hoy en día afectan a personas de edad avanzada. Lo que se quiere conseguir con la Ingeniería de Tejidos es dar soluciones a estos pacientes sin tener que recurrir a por ejemplo prótesis y al coste que este requiere y así ahorrar grandes cantidades de dinero a los Sistemas Sanitarios de todo el mundo.

El ahorro de tiempo y de espera en las pruebas realizadas a diferentes pacientes será otro de los puntos que se tendrán en cuenta en el desarrollo de chips microfluídicos ya que con un simple microchip se podrán obtener resultados rápidos y económicamente.



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Capítulo 2

2. Microfluídica para ingeniería de tejidos: estado del arte y oportunidades de futuro.

2.1. Medicina regenerativa e Ingeniería de Tejidos:

Este proyecto se enmarca dentro del campo de la Medicina Regenerativa y, más en concreto, en el de la Ingeniería de Tejidos.

El término ingeniería de tejidos se definió en 1988 por los asistentes del NSF (National Science Foundation). Con este término se conoce al campo de la medicina regenerativa o terapia celular y es una rama de la bioingeniería encargada de la combinación de células, métodos de ingeniería de materiales, bioquímica y fisicoquímica con el fin de mejorar o reemplazar funciones biológicas. Se considera por lo tanto el término ingeniería de tejidos para aplicaciones de reparación (total o parcial) de tejidos ya sean huesos, cartílagos, hígado, etc...

Este tipo de ingeniería es novedosa y hoy en día todavía no está del todo desarrollada y su aplicación no está muy extendida. Se encarga de aplicar los principios de la ingeniería y la medicina con el fin de buscar una solución a la regeneración de tejidos humanos. De un modo más sencillo se podría considerar que la ingeniería de tejidos lo que busca es tener soluciones de cara a que cuando una persona, por ejemplo, se rompe un hueso, extrayendo una muestra de ese hueso e introduciéndolo en un biorreactor, con unas condiciones óptimas para que se pueda regenerar, obtener una solución para el paciente sin necesidad de tener que recurrir a prótesis artificiales, como las que hoy en día se utilizan. Gracias a este tipo de ingeniería las listas de espera en los hospitales para pacientes que necesitan nuevos órganos, prótesis, etcétera, se verían reducidas, además de reducir el coste que conlleva el mantener a un paciente ingresado un cierto tiempo.

A fin de conseguir el objetivo planteado, el esquema básico de actuación se basa en la obtención de células del propio paciente y en su cultivo mediante una metodología apropiada que permita la expansión y desarrollo de las mismas sobre los sustratos adecuados y con el aporte de nutrientes y aditivos suficientes para que, finalmente, sea posible obtener un tejido u órgano con las características apropiadas para ser implantado de nuevo en el paciente [1].

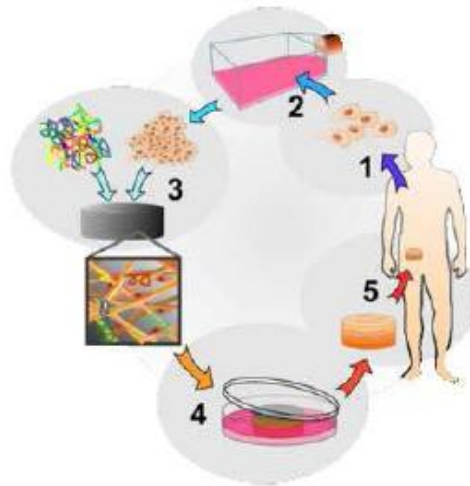


Fig. 1. Representación esquemática de los procesos básicos de la Ingeniería de Tejidos

Los principales pasos que se llevan a cabo en el proceso de cultivo de una porción de tejido según los procesos de la ingeniería de tejidos se muestran en la figura 1, dichos pasos son:

- **Paso 1.** Consiste en la obtención de una muestra celular a partir, por ejemplo, de una biopsia de los tejidos del propio paciente. En ese caso, se obtendría células autólogas, aunque también es posible realizar este tipo de metodologías partiendo de células alogénas, provenientes de otros sujetos.
- **Paso 2.** A continuación, se procede a cultivar las células extraídas a fin de multiplicar su número, de manera que se obtenga una población celular lo suficientemente grande.
- **Paso 3.** Una vez obtenida una población celular suficiente, se procede a realizar uno de los pasos clave en el proceso de la Ingeniería Tisular: el sembrado celular. Este proceso consiste en la deposición celular, junto con otros aditivos, sobre el andamiaje. Este proceso plantea numerosas dificultades técnicas que varían en función de multitud de factores como el tipo celular y el tipo de andamiaje que se utilice.
- **Paso 4.** Una vez realizado el sembrado, el siguiente paso consiste en el cultivo de las células sembradas sobre el andamiaje. Durante este proceso, las células se desarrollan y multiplican sobre todo el volumen del andamiaje, modificando mediante la secreción de matriz extracelular y, en definitiva, generando el tejido que va a ser implantado en el ser humano.
- **Paso 5.** Finalmente, el proceso termina con la implantación en el paciente del tejido u órgano generado en el laboratorio. Como es lógico, para poder llevar

a cabo este procedimiento con éxito, es necesario que el tejido obtenido tenga unas características similares a las del tejido del paciente, lo cual viene determinado por la calidad de todos los procesos realizados anteriormente.

Para poder realizar todos estos pasos, los principales ingredientes que intervienen en el proceso, a parte de los procesos quirúrgicos de extracción de células entre otros, son:

2.1.1. Células:

El tipo de células que se utiliza en Ingeniería de Tejidos es muy variado y depende fundamentalmente del tipo de tejido que se desee obtener. Las células pueden proceder de fuentes diversas, según su tipo y aplicación.

2.1.2. Andamiajes:

Los andamiajes o scaffolds, son los materiales sobre los que se cultivan las células y que sirven como plantilla a las mismas para generar el tejido deseado. Según el tipo de tejido que se desee obtener la forma y composición del scaffold puede variar.

2.1.3. Biorreactores y cámaras de cultivo:

Son los dispositivos encargados de generar las condiciones apropiadas para que las células se desarrollen y generen el tejido deseado con las condiciones apropiadas sobre el andamiaje. Para ello, las condiciones de cultivo han de simular lo mejor posible las condiciones que las células experimentan en condiciones fisiológicas normales. Se debe destacar que las características de los biorreactores dependen en gran medida del tipo de tejido se vaya a cultivar [4].



Fig. 2. Biorreactor de la empresa EBERS.

En otras palabras un biorreactor es un recipiente o sistema que mantiene un ambiente biológicamente activo en el que se lleva a cabo un proceso químico que involucra organismos o sustancias bioquímicamente activas derivadas de dichos organismos. Estos aparatos son comúnmente cilíndricos, variando en tamaño desde algunos mililitros hasta metros cúbicos y son fabricados normalmente con acero inoxidable.

Un biorreactor puede ser también un dispositivo o sistema empleado para hacer crecer células o tejidos en operaciones de cultivo celular. Estos dispositivos se encuentran en desarrollo para su uso en ingeniería de tejidos.

En términos generales un biorreactor busca mantener ciertas condiciones ambientales propicias (pH, temperatura, concentración de oxígeno, etc) al organismo o sustancia que se cultiva. En función de los flujos de entrada y salida, la operación de un biorreactor puede ser de tres modos distintos:

- Lote (batch).
- Lote alimentado (fed-batch).
- Continuo o quimitostato.

Las funciones de los biorreactores son las siguientes:

- Mantener las células uniformemente distribuidas en todo el volumen de cultivo a fin de prevenir la sedimentación o la flotación.
- Mantener constante y homogénea la temperatura.

- Minimizar los gradientes de concentración de nutrientes.
- El diseño debe ser tal que permita mantener el cultivo puro; una vez que todo el sistema ha sido esterilizado y posteriormente sembrado con el microorganismo deseado.

2.1.4. Bombas peristálticas:

La bomba peristáltica es una bomba de desplazamiento positivo, es decir, tiene una parte de succión y otra de expulsión, por lo que es utilizada para bombear una gran variedad de fluidos.

El fluido es transportado por medio de un tubo flexible colocado dentro de una cubierta circular de la bomba; un rotor con un número de rodillos unidos a la circunferencia externa comprimen dicho tubo. Cuando se produce el giro del rotor, el tubo es aplastado continuamente por los rodillos, forzando así al fluido a desplazarse a través del mismo. Entre unos pasos y otros del rodillo se impulsa el tubo que recupera su diámetro original generando un vacío que induce el fluido a la bomba. Este proceso es llamado peristálsis y es usado en muchos sistemas biológicos como el aparato digestivo.

El mecanismo más común cuenta con dos o tres rodillos que giran en un compartimento circular comprimiendo de forma progresiva una manguera especial flexible.

Las bombas peristálticas son ideales para dosificar de manera controlada fluidos o pastas, los cuales son aplicados en un determinado momento de manera continuada en ciertos procesos.

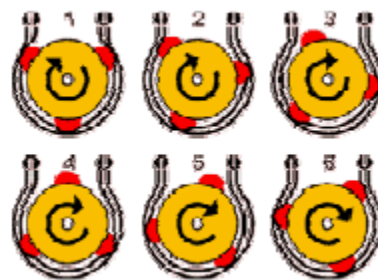


Fig. 3. Esquema de una bomba peristáltica de tres rodillos.

2.2.Expectativas de la Ingeniería de tejidos y Medicina Regenerativa y necesidad de ellas:

La aplicación generalizada de las técnicas de Medicina Regenerativa y la Ingeniería de Tejidos está llamada a provocar una revolución en la medicina de hoy en día, ya que supondrá la utilización de nuevas metodología terapéuticas, muy diferentes de las que hoy en día se utilizan.

En conjuntos estos nuevos tratamientos permitirán obtener al menos dos avances significativos respecto a las terapias actuales. En primer lugar, estas técnicas brindan el potencial para regenerar en el cuerpo humano tejidos con daños graves, actualmente irreparables, de manera que recuperen su funcionalidad original. En cuanto al segundo avance, la Medicina Regenerativa permitirá producir tejidos en el laboratorio que podrán ser utilizados para remplazar aquellos cuya regeneración in-situ sea imposible, lo que se conoce como Ingeniería de Tejidos.

La Ingeniería de Tejidos constituya, por tanto, la vanguardia de la investigación en salud del siglo XXI, ya que brinda el potencial de llevar a cabo tratamientos para enfermedades hasta ahora incurables. Algunos ejemplos de estas enfermedades serían la diabetes, las enfermedades cardíacas, el fallo renal, la osteoporosis y las lesiones medulares aunque como se ha dicho cualquier enfermedad causada por el mal funcionamiento de algún tejido podría ser curada mediante este tipo de Ingeniería aplicada a la medicina. En palabras más generales se podría describir este tipo de medicina como una medicina que cura y que no da un tratamiento [2].

Más allá de sus evidentes ventajas desde el punto de vista terapéutico, la generación del uso de la Medicina Regenerativa es crucial para reducir el coste de los Sistemas Sanitarios. A modo de ejemplo, el Sistema de Salud de los Estados Unidos supone un coste anual superior a los 1,5 billones de dólares, lo que corresponde un 13% del P.I.B. Por otro lado, los datos del censo del año 2000 revelaron que aproximadamente 35 millones de estadounidenses eran mayores de 65 años, lo que permite estimar que este segmento supera los 56 millones de habitantes en la actualidad. Alrededor de 2040, con la mejora de los tratamientos actuales y el incremento de la esperanza de vida, se espera que este número se incremente hasta los 70 millones, cifra que requerirá destinar alrededor del 25% del P.I.B para cubrir los gastos de sanidad. Aunque dependiendo del funcionamiento de cada país, el gasto que se utilizara en el Sistema Sanitario de cada uno de ellos irá decreciendo de manera similar.

Además, se da la circunstancia de que muchas de las patologías que afectan a los pacientes de edad avanzada tienen que ver con el fallo de tejidos en órganos, ya sea corazón, pulmones, etc. En la mayoría de los casos, los tratamientos que se dispensan en esos casos son continuados y paliativos, es decir, que se suministran indefinidamente y su efecto se limita a mitigar los efectos de la enfermedad, pero nunca se llega a erradicar del todo la enfermedad.

El potencial de la Medicina Regenerativa para mejorar la calidad de la asistencia sanitaria y, al mismo tiempo, reducir los costes de los tratamientos es enorme. Actualmente el coste directo de los trasplantes de órganos asciende a unos 350.000 millones de dólares en todo el mundo,

incluyendo el coste de tratamientos para mantener vivos a los pacientes que precisan atención especializada. Se puede apreciar que la Medicina Regenerativa supondrá un ahorro importantísimo respecto a la medicina actual, en el futuro.

2.3. Nanotecnología

Antes de meternos en el campo de los fluidos hay que conocer otro término muy importante dentro de este campo: la nanotecnología. La nanotecnología se define como la tecnología que construye y utiliza materiales y estructuras funcionales con al menos una de sus dimensiones en la escala del nanómetro. El nanómetro es una milésima parte de una micra por lo que una nanoestructura es mil veces más pequeña que una estructura típica de la tecnología moderna (microtecnología) [7].

La nanotecnología supondrá un cambio de paradigma industrial y tecnológico. No solo porque plantea un formidable problema de manufacturación de minúsculos circuitos y componentes, sino porque un dispositivo de tamaño nanométrico exige un cambio radical en el propio concepto de construcción y funcionamiento. De construcción, porque requiere un proceso inverso al de miniaturización, característico de la microtecnología. La nanotecnología es un proceso de abajo a arriba. Se parte de bloques o unidades de construcción para fabricar el material nanoestructurado. Y de funcionamiento. Porque los bloques de construcción están constituidos por unos pocos átomos o moléculas simples.

Muchos productos avanzados e innovadores dependen de la existencia de componentes que es necesario fabricar con tolerancias micrométricas y en algunos casos nanométricas. Esta realidad además va acompañada de una tendencia hacia la miniaturización lo que permite su viabilidad tanto técnica como económica.

Pero en general, ¿qué ganamos con la miniaturización de los dispositivos? Algunas consideraciones sencillas muestran las ventajas que pueden surgir de la miniaturización de los sistemas. Esto se ilustra por medio de leyes de escala (tabla) que dan la dependencia de los parámetros de reacción con respecto al sistema. Debido a las cortas distancias que se dan en los canales de los dispositivos, los tiempos de transporte de masa y calor se acotan. Se produce un suministro de calor bastante rápido, así como de refrigeración, dependiendo está claro del caso que se dé, debido a la alta relación que existe entre la superficie y el volumen. Por lo tanto, importantes condiciones de funcionamiento de algunos procesos químicos, tales como la temperatura pueden ser regulados con mucha precisión.

Parameter	Macroscopic example	Factor change	Microscopic example
Length of edge	1 mm	d	1 μm
Surface	1 mm ²	d ²	1 μm^2
Volume	1 μl	d ³	1 fl
Number of molecules	10 ⁹	d ³	1
Diffusion time over d ($D = 10^{-6} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$)	15 min	d ²	1 ms
<i>Example: in flowing systems</i>			
Linear flow rate	1 $\mu\text{m/s}$	d	1 mm/s
Separation time	10 ⁵ s (> 1 day)*	d ²	100 ms
<i>Example: in planar array</i>			
Number of volumes per microwell plate	96	d ²	10 ⁸

Tabla 1. Tabla de relaciones de reducción.

2.4. Microfluídica:

El término microfluídica se obtiene de utilizar la mecánica de fluidos a tamaño micrométrico. Se define como la ciencia que estudia los sistemas para manipular cantidades muy pequeñas de fluido (10⁻⁶ a 10⁻¹⁹ litros), empleando canales con dimensiones desde unas cuantas micras hasta cientos de micras. Las primeras aplicaciones de la microfluídica se llevaron a cabo en sistemas de análisis, lo anterior fue posible gracias a las ventajas que posee la microfluídica. Bajo consumo de muestras de reactivos químicos, alta resolución y sensibilidad, bajo costo y análisis de tiempos cortos.

El comportamiento y la propiedades de los fluidos cambian en cuanto se reducen los tamaños desde escala macrométrica hasta escala micrométrica. Cuando se trabaja con volúmenes del orden de los microlitros, los fluidos tienen un comportamiento más parecido a los sólidos. Así cuando dos fluidos circular a lo largo de un microcanal no se produce un mezclado normal, sino que únicamente habrá intercambio entre ambos por difusión de partículas. Esto implica que los dispositivos nanométricos no puedan ser diseñados simplemente reduciendo el tamaño de los equipos convencionales.

Los dispositivos microfluídicos presentan características muy favorables para las aplicaciones biológicas, especialmente a nivel celular, porque el tamaño de los canales se corresponde con el de las células y el tamaño de los dispositivos permite controlar localmente las características del entorno formando microambientes para el cultivo celular.

En los sistemas de microfluídica se tienen en cuenta dos atributos principales: el tamaño pequeño y el flujo laminar (generalmente con el número de Reynolds menor a 100), lo que permite un mejor control de los procesos.

2.4.1. Evolución histórica:

El campo de la microfluídica tiene su origen en cuatro áreas:

- Análisis molecular.
- Biodefensa.
- Biología molecular.
- Microelectrónica.

Los importantes avances en genómica (ciencias y técnicas dedicadas al estudio de los genomas) en los años ochenta seguidos con los progresos en microanálisis para biología molecular, como los procesos de secuenciación de ADN, requirieron métodos analíticos con mayor capacidad, sensibilidad y resolución que los métodos tradicionales utilizados en biología. La microfluídica fue la respuesta a estas necesidades de mejores analizadores. Una motivación más para el desarrollo de la microfluídica vino después de la guerra fría, cuando las armas químicas y biológicas eran una gran amenaza. La agencia de proyectos de investigación en defensa avanzada (DARPA) de la secretaria de defensa de los EEUU financió significativamente una serie de proyectos en la década de los noventa. Estos proyectos tuvieron el objetivo de desarrollar dispositivos de microfluídica para ser usados en campo y funcionar como detectores de contaminación química y/o biológica; impulsando el desarrollo de la microfluídica.

Otra contribución al desarrollo de la microfluídica fue la microelectrónica. Un gran número de los primeros dispositivos para microfluídica se realizaron con fotolitografía (más adelante se explicara este termino), en obleas de silicio y vidrio. Actualmente, una gran cantidad del trabajo en microfluídica se realiza con plástico, como los análisis de muestras biológicas en agua; donde el uso de vidrio o silicio supone un coste muy elevado. Además, en forma similar a la microelectrónica, la microfluídica permite la fabricación de microsistemas altamente integrados que sean capaces de realizar varias funciones en un mismo dispositivo.

Los microchips o *Lab-on-chip* son uno de los resultados de tantos años de estudio aunque todavía no se tenga un modelo definitivo. El término *Lab-on-chip* tiene un significado algo complejo ya que supone que todos los ensayos que antes se hacían en un laboratorio ahora se pueden hacer en un chip. Actualmente los dispositivos de microfluídica no están muy extendidos por ejemplo en el campo de la regeneración de tejidos entre otros. Las principales utilidades de dichos dispositivos se engloban en dos campos. El primero será el de hacer crecer tejidos complejos los cuales mediante el chip serán provistos de sangre, oxígeno y nutrientes con su correspondiente retirada de desechos. La segunda y posiblemente más importante será la función de la microfluídica combinando micro y nanotecnología para el estudio de fenómenos biológicos.

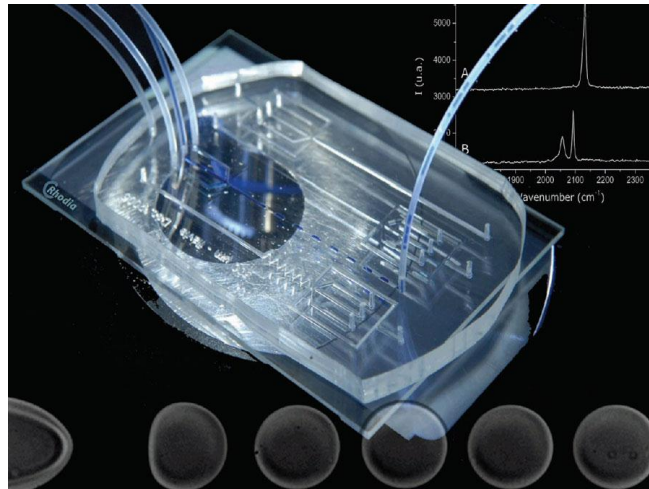


Fig. 4. Fotografía de un dispositivo microfluídico.

2.4.2. Fundamentos de microfluídica (explicación general):

En microfluídica, donde se tienen conductos y canales de dimensiones muy pequeñas, el flujo que se suele tener es de tipo laminar. El número de Reynolds a través de un canal de microfluídica se define como:

$$Re = Lvp/\mu$$

Donde L es la distancia característica, μ es la viscosidad, ρ es la densidad y v es la velocidad promedio de flujo del fluido. Debido a las diminutas dimensiones de los microcanales; L tiene un valor muy pequeño y el número de Reynolds en estos sistemas suele ser menor a 100, y en muchas ocasiones incluso menor a 1. Bajo estas condiciones el flujo es completamente laminar y no ocurre turbulencia. La transición a flujo turbulento ocurre en flujos con valores del número de Reynolds en el rango de 2000. El flujo laminar permite predecir el comportamiento del fluido.

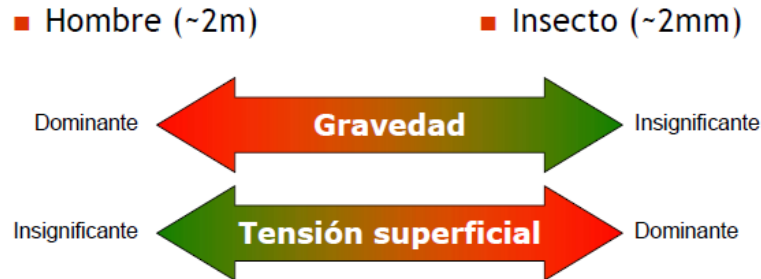
En microfluídica la física clásica sigue siendo válida (en el anexo A se explicaran algunos conceptos de la mecánica de fluidos básica) pero el comportamiento de los objetos microscópicos no es el mismo que el de los macroscópicos. La importancia relativa de las distintas fuerzas cambia al reducir la escala [6]:



En microfluídica se debe de tener en cuenta que la gravedad y la inercia no tienen mucha relevancia, por el contrario la tensión superficial, viscosidad y las fuerzas

electrostáticas tienen más relevancia así que por ejemplo un fluido viscoso tendrá muchas más dificultades para fluir en un microchip que en una tubería corriente.

De un modo más explicativo se puede considerar así:



Existen dos métodos comunes que se emplean para el movimiento de flujo a lo largo de los microcanales. Estos métodos son: flujo por presión y flujo electroosmótico.

- **Flujo por presión:** el fluido es impulsado a través del microdispositivo mediante bombas de desplazamiento positivo, como las bombas de jeringa. El emplear estas bombas produce un perfil de velocidad parabólico en microcanal, lo que tiene un efecto significativo en la distribución de partículas que son transportadas dentro del microcanal. El flujo por presión puede ser relativamente económico y reproducible para el bombeo de fluidos en microdispositivos, además esta opción es cada día más accesible debido a los avances en el desarrollo de micro-bombas.
- **Flujo electroosmótico:** el transporte electrocinético de fluidos, electroosmósis y electroforesis, es utilizado en numerosos microsistemas. Existen numerosos materiales que al entrar en contacto con una solución acuosa, se lleva a cabo una reacción química instantánea donde la superficie del material adquiere carga eléctrica. Si un material de este tipo es utilizado para la fabricación de un microdispositivo las paredes de un microcanal tendrán carga eléctrica y una doble capa eléctrica de iones se formará sobre las paredes. En el caso del vidrio, material muy empleado en microfluídica, la superficie toma carga negativa y atrae a los cationes de la solución acuosa. Las grandes ventajas del flujo electroosmótico es que el perfil de velocidad de flujo de velocidad plano elimina muchas heterogeneidades de difusión que existen con el flujo por presión; y es la simplicidad con la que puede ser acoplado con otros sistemas en microdispositivos. Sin embargo requiere al aplicación de voltajes altos, lo que hace más difícil la miniaturización sin equipos fuera del dispositivo. Otra desventaja es la variabilidad de las características de la superficie y esto no permite una alta reproducibilidad del flujo.

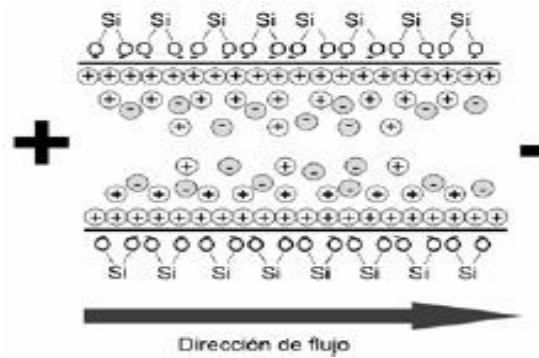


Fig. 5. Representación de un flujo electroosmótico en un microcanal de vidrio.

2.4.3. La microfluídica dentro del cultivo celular y la ingeniería de tejidos

Los sistemas basados en microfluídica tienen importantes implicaciones en los campos de la biología y de los ensayos celulares porque unen los ensayos convencionales con la automatización y las aplicaciones de alto rendimiento. A pesar de que los métodos convencionales de cultivo celular sean in-vitro la microfluídica puede aportar modificaciones a escala reducida que permitan imitar las condiciones in-vivo.

Recientes estudios han demostrado que la microfluídica para sistemas de cultivo celular permite obtener mejores resultados debido a su habilidad para hacer crecer las células tal y como los sistemas biológicos lo hacen, y también porque es capaz de mejorar los sistemas empleados para el cultivo y ensayo celular.

El campo de la ingeniería de tejidos también está desarrollando sistemas más sofisticados basados en micro y nanofabricación. Las células han de ser implantadas en un scaffold que les provea de la estructura de que formes tejidos. El objetivo último de esta tecnología es poder fabricar grandes piezas de tejido y órganos completos para cubrir la demanda de transplantes que existe. Pero para conseguir este objetivo primero se debe de tener un conocimiento mayor de los sistemas biológicos y ser capaces de modificar ciertos factores dentro de cada célula.

2.4.4. Estado del arte de la microfluídica para cultivo celular

El cultivo celular y la microfluídica han desarrollado un crecimiento muy significativo en los últimos años debido al potencial que atesoran al abordar problemas de ámbito biológico. Dentro de las life sciences y más concretamente en cultivo celular, la microfluídica ha hecho evolucionar a los equipos y dispositivos en cuatro líneas principalmente:

- Reacciones reproducibles en pequeños volúmenes. Se han ido consiguiendo progresivamente menores volúmenes para realizar las reacciones sobre todo desde que se ha integrado tecnologías provenientes de la electrónica de chips.
- Integración con lectores robots manipuladores. Para automatizar los procesos, los dispositivos deben ser capaces de integrarse con los equipos de medición que existen actualmente, especialmente microscopios, así como con robots articulados para el manejo de muestras que existen en el mercado.
- Multiplexación de los análisis. Además es interesante que se puedan realizar varios análisis a partir de un mismo medio para garantizar que los resultados obtenidos son confiables, es decir, una misma muestra es ensayada en paralelo en varias partes de los dispositivos.
- Integración de sensores a escala microscópica, para el control del nivel de oxígeno y pH. Al igual que a nivel macroscópico, a nivel microscópico, se deben controlar una serie de factores del entorno que están íntimamente relacionados con el crecimiento y desarrollo celular.

En relación a la clasificación de los dispositivos microfluídicos y los chips se han desarrollado, han aparecido varias gamas de productos:

- Chips de electroforesis capilar. Son dispositivos a escala nanométrica que se sirven de la capilaridad para conseguir dividir las células ensayadas.
- Dispositivos microfluídicos para el análisis de proteínas. También se denominan microarrays de vinculación proteínica y ofrecen una aproximación que permite identificar las interacciones entre la proteínas, entre los factores de activación de estas y entre los objetivos biológicamente activos de las moléculas.
- Dispositivos microfluídicos para chips de análisis PCR. Son dispositivos preparados para analizar alguna característica del ADN a escala nanométrica cuya principal funcionalidad es que el ADN es replicado mediante técnicas PCR.
- Dispositivos microfluídicos para chips celulares. Los ensayos basado en células tienen un gran potencial para remplazar los ensayos de enzimas y anticuerpos tradicionales porque la célula es la unidad fisiológica mínima del cuerpo, tiene mayor precisión cuando se mide la acción de los fármacos y porque su actividad está controlada para un entorno vivo y dinámico.

En el mercado existen algunos productos comercializados por empresas provenientes de universidades dedicados al cultivo, monitorización, manipulación y visualización celular, entre estas empresas cabría destacar las siguientes:

- **Bionas:** compañía de origen alemán ubicada en Rostock (Alemania) proveedora de servicios a empresas y equipos de instrumentación en tiempo real para ensayos celulares. Sus productos (Bionas Discovey 2500, Bionas Discovery adcon reader, Bionas Discovery incubation 2100d IH370 and the

metabolic chip Bionas Discovery SC1000) están diseñados para realizar ensayos de toxicología, oncología, investigación mitocondrial, ensayos GPCR, optimización de cultivo celular y control de calidad celular.

Los chips Discovery SC1000 están provisto de sensores del nivel de oxígeno y de la acidificación extracelular 8 sensores pH ISFET) que está íntimamente ligada con la glicólisis o metabolismo de energía celular, es decir, el sensor de pH da el nivel de velocidad al que se están convirtiendo los nutrientes en energía.



Fig. 6. Productos de la empresa Bionas

- **Celletrion:** compañía sueca cuya sede se encuentra en Gothenburg (Suecia) dedicada al diseño y comercialización de equipamiento avanzado para visualización celular con el objetivo de descubrir fármacos. Sus productos incluyen plataformas que permiten visualización de canales iónicos en alta resolución e ingeniería celular

La compañía trabaja en el descubrimiento de fármacos a través de ensayos microfluídicos mediante técnicas de alto rendimiento basadas en automatización completa de los procesos. Posee una amplia gama de productos en los que cabría destacar CellaxessHT System, Cellaxess CX1 System, DynafloHT System, DynafloPro II System y DynafloTC System.

Desde el punto de vista tecnológico destacan los microcanales para tratamiento y la manipulación celular individualizada.



Fig. 7. Productos de la empresa Celletrion

- **Zyoxel:** empresa con sede en Oxford (UK) cuya misión es llegar a ser líderes en la comercialización de productos y servicios de alta calidad basados en perfusión en cultivo celular 3D para descubrimiento de fármacos y terapia celular.

La línea de productos actual de la compañía, Tissueflex, consiste en microbiorreactores desechables, equipo incubador y equipo bomba de jeringuillas. Los programas de desarrollo futuros marcan un desarrollo de microbiorreactores desechables en especialización para cada tipo de célula (hígado, cancerígena y neurona).

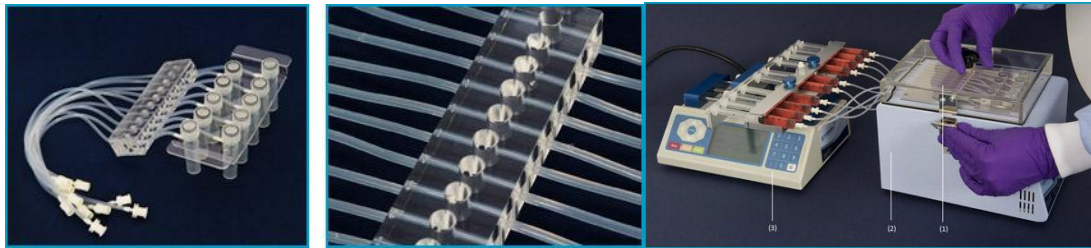


Fig. 8. Productos de la empresa Zyoxel

En esencia la mayoría de los estudios y desarrollos actuales se han centrado en el análisis de microsistemas, integrados en una plataforma microfluídica capaz de mezclar muestras, cambiar reservorios, así como sembrar, transferir y separar células en un microcanal. Así, en general, los sistemas microfluídicos pueden ofrecer un entorno in-vivo like para el cultivo celular y también un entorno de reacción para los ensayos celulares.

Para la creación de estos dispositivos se utilizan tecnologías de microfabricación provenientes de la microelectrónica. Los materiales más utilizados son las obleas de silicio, pero también se realizan en cristal plástico, y otros muchos tipos de sustratos. Los procesos de microfabricación se componen de otros procesos como son fotolitografía, grabado, deposición en capas delgadas, oxidación térmica y limpieza de obleas.

Los métodos de fabricación y todos los materiales que se utilizan se detallan con mayor precisión en el *Capítulo 3*.



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Capítulo 3

3. Fabricación de dispositivos

3.1. Lab-on-chip:

A continuación se describirán algunos términos relacionados con la fabricación de los microchips y de los encapsulados que los contienen.

3.1.1. Microfabricación:

Para fabricar cosas del tamaño de unos nanómetros necesitas hacer uso de tecnología especializada. Este es un término que en principio no explica nada pero que contiene y engloba lo que son todos los procesos de fabricación de microchips. Se incluyen dentro de este término por lo tanto los términos de fotolitografía, escritura directa con láser, litografía, grabado iónico reactivo, ataque con ácido y deposición de película entre otros. Algunos de estos métodos se explicarán a continuación entre los que se tienen en cuenta tres campos que son la eliminación, deposición y moldeo.

La fabricación de microestructuras tan diminutas requiere suma precisión y resolución dado que los canales grabados suelen tener una profundidad relativamente grande pero poca anchura (es decir, relaciones muy altas de aspectos). Los diseñadores están de acuerdo en que sigue siendo un reto lograr alta resolución, repetibilidad, y fiabilidad mientras se desarrollan técnicas de producción en masa de bajo coste.

3.1.2. Litografía:

Es la técnica de fabricación más importante para fabricar estructuras a microescala (microestructuras). El proceso consiste en recubrir una oblea con una resina sensible a radiación (luz o haz de electrones). La resina expuesta se ablandará o se endurecerá (estabilizará) en las zonas expuestas a la radiación utilizada en el proceso litográfico. Posteriormente se eliminará la fotoresina no polimerizada con un disolvente orgánico adecuado. El siguiente paso será el ataque del sustrato por métodos químicos o físicos. Dependiendo del tipo de haz de energía suministrado, las técnicas de litografía se pueden dividir en fotolitografía, litografía con electrones, litografía con Rayos-X y litografía con iones. Se puede considerar que la fotolitografía y la litografía con Rayos-X son las más relevantes para la fabricación de dispositivos de microfluídica. Se englobará en otro punto la fotolitografía debido a su importancia en el campo de la producción de estos dispositivos [8].

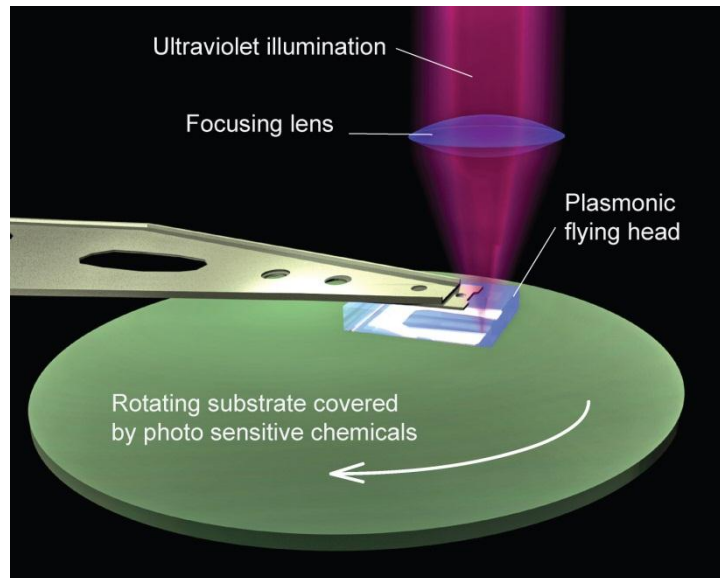


Fig.9. Funcionamiento de la litografía

3.1.3. Fotolitografía:

Método de fabricación de microchips. Este proceso en lugar de tinta utiliza luz para dibujar. Lo primero que necesitas es un sustrato, que es aquello donde se dibujará. El sustrato se cubre con una sustancia química llamada fotoresinas, muchas de ellas son polímeros. Las fotoresinas cambian cuando están expuestas a la luz porque sus moléculas se entrelazan, haciendo que no sean fácilmente removidas en el proceso de revelado o lavado. El método de iluminación mas empleado en la actualidad es la proyección. El patrón de las máscaras es proyectado directamente sobre la superficie de la oblea mediante una máquina denominada escáner o stepper (similar a un proyector). La luz procede de una lámpara de arco de mercurio o de un laser excímero. Ahora estamos listos para dibujar. Para crear el diseño sobre el sustrato necesitamos una máscara que posea el patrón de tal diseño. Si irradiamos luz a través de esta máscara, la luz solo pasará por aquellas áreas transparentes de la máscara e iluminará el sustrato. Para entender esto piensa en lo que pasa cuando proyectas sombras en la pared con tus manos. Finalmente, se necesitará el uso de otros productos químicos para revelar el patrón creado sobre la fotoresina, estos productos químicos removerán la fotoresina que fue iluminada con luz, y de esta forma, obtendremos el diseño sobre el sustrato. Para realizar el chip se necesita crear líneas muy finas. La clave es por lo tanto dibujar con una alta resolución. La resolución es una medida que nos establece lo cerca que podemos ver un objeto a una determinada calidad de imagen [9].

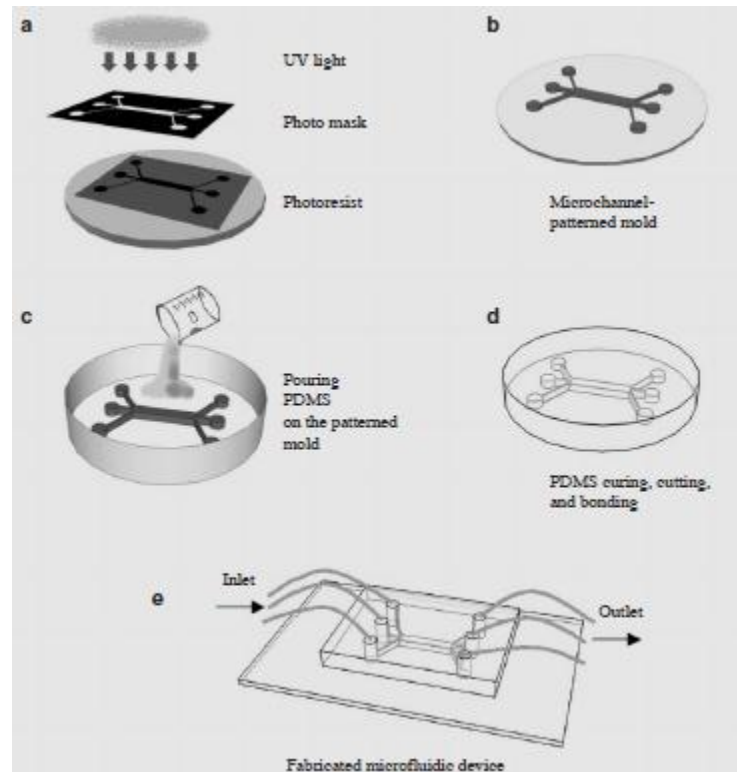


Fig.10. Pasos seguidos en fotolitografía

- **Tecnologías para la preparación del sustrato:**

Una oblea se introduce en un sistema automatizado de seguimiento. Este tramo automatizado se basa de un conjunto de robots que manipulan el proceso de forma autónoma, de horno/enfriamiento, así como los procesos de recubrimiento/desarrollo de las unidades. Los robots se encargan por lo tanto de transportar las obleas de un modulo a otro. Estas obleas eran calentadas previamente en un horno a una elevada temperatura con el fin de eliminar toda la humedad de la superficie de esta. Se añade a la atmosfera hexa-metil-disilazano (HMDS) con el fin de conseguir una mejor adhesión de la fotoresina. La fotoresina es un material polimérico denominado fotorresistor. Cuando se ha añadido dicha fotoresina, se gira la placa para que se distribuya homogéneamente. Velocidad y aceleración son dos parámetros importantes en la manipulación de la oblea ya que serán los responsables del grosor y la uniformidad de la fotoresina. Las obleas recubiertas se introducen en un horno para que sean tratadas con temperaturas no muy altas.

La forma más simple de exposición es una impresión de contacto o de proximidad. Una impresión de contacto se obtendrá colocando una fotomáscara en contacto directo con la oblea. El patrón de la fotomáscara se imprime directamente sobre la oblea fotorresistente en ambos casos. La resolución obtenida viene dada por la raíz cuadrada del producto de la longitud de onda y la distancia de separación. De esta forma, la impresión de contacto, debido a que

tiene un separación (puede decirse que es nula) muy pequeña ofrecerá una mejor resolución.

- **Tecnologías de iluminación:**

El método más utilizado en la fotolitografía hoy en día puede decirse que es la proyección. El patrón de la máscara es proyectado directamente sobre la superficie de la oblea por medio de una máquina llamada escáner o stepper. Un escáner/stepper funcionan prácticamente igual que un proyector de cara a su funcionalidad. La luz de dicho escáner procede de una lámpara de arco de mercurio o de un laser excímero focalizado a través de un complejo sistema de lentes sobre la máscara o retículo, que contiene la imagen deseada. Dicha luz pasa a través de la máscara y se proyecta directamente sobre la superficie de la oblea por medio de un sistema de lentes de reducción.

Una vez que la imagen se proyecta sobre la oblea, el material fotoresistente (fotoresina) solo actuará entre unos determinados rangos de onda y esto provoca que las regiones expuestas cambien sus propiedades físico/químicas. Lo que se hace antes de la exposición es cambiar la acidez del sustrato de la resina para provocar una mayor acidez en la parte expuesta y menor en la no expuesta. De este modo se pueden clasificar zonas positivas y negativas teniendo en cuenta la acidez del sustrato. Se considera que la parte expuesta es más ácida y se dice que la resina es positiva al contrario que en las zonas no expuestas donde la resina es más alcalina. La resistencia se dice que es revelada por una exposición a una solución alcalina que se encarga de eliminar las partes expuestas de la resina (en este caso de una fotoresina positiva) o por el contrario dejarlas intactas en las no expuestas.

La capacidad para imprimir imágenes dependerá de la longitud de onda empleada para su correspondiente proyección. Hoy en día se dispone de fuentes de luz que utilizan rangos de longitudes de onda que varían entre los 248 y 193 nanómetros. Esta zona de rangos de longitud de onda es considerada como zona ultravioleta.

3.1.4. Grabado por iones reactivos (RIE):

Es otra técnica de microfabricación en la que el sustrato se coloca dentro de un reactor en el que se introducen varios gases. El plasma es pulsado en la mezcla de gases utilizando una fuente de energía de RF, rompiendo las moléculas del gas en iones. Los iones son acelerados y reaccionan con la superficie del material siendo grabado por iones reactivos. También hay una parte física que es de naturaleza similar al proceso de deposición por pulverización. Si los iones poseen energía suficientemente alta, pueden impactar a los átomos fuera del material a ser grabado sin una reacción química. Es una tarea muy compleja desarrollar procesos de grabado en seco que equilibren grabado químico y físico, ya que hay muchos parámetros a ajustar. Al cambiar el equilibrio es posible influir en la anisotropía del grabado, ya que la parte química es isotrópica y la parte física altamente anisotrópica, la combinación puede formar paredes laterales, que tienen formas desde redondeadas a verticales.

En este proyecto los chips se han fabricado por fotolitografía. El material utilizado para estos chips es el SU-8. Este material se trata de un polímero muy viscoso cuyo espesor puede oscilar entre 1micra hasta 300 micras y aun así se pueden procesar mediante litografía de contacto. Tienen una capacidad máxima de absorción para valores de longitud de onda de 365 nm el cuál no será práctico utilizar.

El SU-8 se desarrolló como un fotoprotector de la microelectrónica con el fin de proporcionar una máscara de alta resolución para la fabricación de dispositivos semiconductores. Hoy en día su utilidad ha pasado al campo de la microfluidica, principalmente a través de litografía blanda. También es uno de los materiales más biocompatibles y es muy utilizado en bio-MEMS (sistemas microelectrónicos biológicos).

Este material es muy transparente en la región ultravioleta y gracias a ello la fabricación es relativamente gruesa (cientos de micrómetros) mediante estructuras con paredes casi verticales. A continuación se muestran algunas de las características del SU-8:


SU-8	Thickness (in μm)	Spin Speed (in rpm)	Minutes to Pre- Bake @65°	Minutes to Softbake @95°	Minutes to PEB @65°	Minutes to PEB @95°	Development Time
SU-8 50 	40 50 100	3000 2000 1000	5 6 10	15 20 30	1 1 1	4 5 10	6 6 10

Tabla 2. Características del SU-8

3.2. Encapsulados

Definición: Se da el nombre de encapsulado a los dispositivos no conductores encargados de dar un soporte robusto a los chips para que puedan quedar unidos a diferentes circuitos.



Fig.11. Imagen de un encapsulado

Existen diferentes tipos de encapsulados. En este proyecto los más utilizados han sido los encapsulados fabricados por prototipado rápido. Este tipo de fabricación se realiza mediante sinterizado de resina y esto permite una mayor repetibilidad y reproducibilidad. El material utilizado para estos encapsulados es una resina termosinterizable.

EBERS ha elegido el prototipado rápido para fabricar sus modelos ya que sea cuál sea la complejidad de la pieza a producir con este método se puede realizar. Además cabe destacar la rapidez con la que se obtiene el producto final desde que se tiene el modelo CAD hasta que se recibe el producto ya terminado.

La máquina que se encarga de realizar dichos modelos para EBERS es la EDEN 350/350V. El material que utiliza dicha máquina para producir los prototipos es el Full Core 720.



Fig.12. Eden 350/350V.

El otro encapsulado que utiliza la empresa EBERS es de acero inoxidable. Para fabricar este tipo encapsulados se requiere un método de fabricación más costoso que para el prototipado rápido, ya que estos nuevos encapsulados se fabrican por mecanizado. Cada encapsulado es fabricado de uno en uno y esto requiere una mayor inversión de tiempo y maquinaria lo que aumenta el coste del resultado.

3.2.1. PROTOTIPADO RÁPIDO:

- **Perspectiva histórica:**

Los sistemas de Prototipado Rápido surgen inicialmente en 1987 con el proceso de estereolitografía de la empresa norteamericana 3D Systems que solidifica capas (layers) de resina fotosensible por medio de láser. El sistema SLA-1, fue el primer sistema de prototipaje disponible comercialmente, fue un precursor de la máquina SLA-1, bastante popular en la actualidad. Después de que la empresa 3D Systems comenzase la comercialización de máquinas SL en EE.UU., las empresas japonesas NIT y Sony/D-MEC comenzaron a comercializar sus versiones de máquinas de estereolitografía en 1988 y 1989 respectivamente. Enseguida, en 1990, la empresa Eletro Optical Systems, EOS en Alemania, comenzó a comercializar el sistema conocido como Stereos [10].

A continuación vendrían las tecnologías conocidas como Fused Deposition Modeling (FDM) de la empresa americana Stratasys, Solid Ground Curing (SGC) de la israelí Cubital e Laminated Object Manufacturing (LOM), todas en 1991. La tecnología FDM hace una extrusión de filamentos de materiales termoplásticos capa por capa, semejante a la estereolitografía, solo que utilizando un cabezal de fusión del material en vez de un cabezal láser. SGC también trabaja con resina fotosensible a rayos UV, solo que solidifica cada capa en una única operación a partir de la utilización de mascarar creadas con tinta electrostática en una placa de vidrio. LOM solidifica y corta hojas de papel (actualmente hojas de termoplásticos reforzados con fibras) usando un láser controlado por ordenador.

Los sistemas de sinterización (Selective Laser Sintering –SLS) de la empresa americana DTM y el sistema Soliform de estereolitografía de la japonesa Teijin Seiki, se hicieron posibles en 1992. Usando calor generado por el láser, SLS funde polvos metálicos y puede ser utilizado para la obtención directa de matrices de inyección.

En 1993, la americana Soligen, comercializó el producto conocido por Direct Production Casting (DSPC), que utiliza un mecanismo de inyección de tinta para depositar líquido emulsionante en polvos cerámicos para producir cascas que a

su vez pueden ser utilizadas en la producción de moldes y piezas inyectadas en aluminio, proceso desarrollado y patentado por el MIT (Massachusetts Institute of Technology).

En 1994 muchas otras tecnologías y sistemas surgirán:

- Sistema EOSINT, de la empresa alemana EOS, basado en la sinterización.
- Sistema de estereolitografía de la empresa japonesa Ushio
- Sistema de estereolitografía de la empresa Fockele & Schwarze (Alemania).
- Solid Center de la empresa japonesa Kira Corp, utilizando un sistema láser guiado y un plotter XY para la producción de moldes y prototipos por laminación de papel.
- Model Marker de la empresa americana Sanders Prototype usando sistema de inyección de cera.

El sistema Personal Modeler 2100 de la empresa BPM Technology (EUA) empezará a ser vendido comercialmente a partir de 1996 (BPM significa Ballistic Particle Manufacturing). La máquina produce piezas a partir de un cabezal de inyección de cera. En el mismo año la empresa comenzó a comercializar el sistema SOMOS en estereolitografía de la multinacional DuPont, y la empresa Stratasys (EUA) lanzó su producto Genisys, basado en extrusión, similar al proceso de FDM, utilizando el sistema de prototipaje desarrollado en el Centro de Desarrollo IBM (IBM's Watson Research Center). En el mismo año, después de 8 años comercializando por primera vez su sistema Actua 2100, sistema basado en impresión de chorro de tinta 3D. El sistema deposita materiales en cera por capa a través de 96 inyectores. En el mismo año Z Corp (EE.UU.) lanzó en sistema Z402 3D para prototipado basado en la deposición de polvos metálicos en 3D.

Otras tecnologías aparecerán y desaparecerán durante los años. Compañías como Light Sculping (EE.UU.), Sparx AB (Suecia) y Láser 3D (Francia) desarrollaran e implementarán sistemas de prototipado, pero sin llegar a tener un fuerte impacto industrial.

- **Tecnologías más difundidas:**

El prototipado rápido podemos concebirlo como el conjunto de tecnologías, que permiten la obtención de prototipos, machos, moldes de inyección para plásticos, electrodos de erosión, etcétera, en menos de 24 horas a partir de un fichero CAD. Consecuencia de esta rapidez de respuestas, es que el tiempo de desarrollo de un producto puede reducirse a la mitad, la quinta e incluso la décima parte.

El prototipado rápido (RP por sus siglas inglesas de *Rapid Prototipe*) da posibilidad de efectuar, en un tiempo relativamente corto, diversas pruebas de geometrías distintas para una pieza, validar la geometría definitiva y acometer la producción en serie rápidamente, con unos costes de desarrollo lo más ajustados posibles. La complejidad de las piezas o la confidencialidad de los prototipos son también argumentos frecuentes a la hora de optar por el RP.

Dentro de la denominación de “prototipado rápido” no se suele incluir al Mecanizado de Alta Velocidad (MAV) aunque es una tecnología sustractiva para mecanizar piezas o moldes a altas velocidades de arranque de viruta. El MAV se empieza a aplicar a piezas de acero tratado, lo que evita el paso por la electroerosión. Mecanizando directamente del bloque hasta la pieza terminada, la reducción de los tiempos de acabado y pulido puede llegar a un 90%.

Bajo el nombre de prototipado rápido se agrupan a una serie de tecnologías de construcción de sólidos. Todas ellas parten del corte en secciones horizontales paralelas de piezas representadas en CAD. Estas secciones caracterizan a todas las tecnología de prototipado rápido, que construyen las formas sólidas a partir de la superposición de capas horizontales. Las tecnologías más difundidas son en la actualidad:



- **SLA (Estereolitografía):** Esta técnica se basa en la posibilidad de solidificar una resina en estado líquido mediante la proyección de un haz de láser de una frecuencia y potencia muy concretas. El proceso empieza con el elevador situado a una distancia de la superficie del líquido igual al grosor de la primera sección a imprimir. El láser sigue la superficie de la sección y su contorno. El líquido es un fotopolímero que cuando está expuesto a radiación ultra-violeta solidifica. Una vez solidificada esta sección, el elevador baja su posición para situarse a la altura de la siguiente lámina. Se repite dicha operación hasta conseguir la pieza final.

Ventajas complementarias:

- Los prototipos son translúcidos, lo cuál puede ser especialmente ventajoso para determinados proyectos, o para detectar interferencias interiores en conjuntos complejos.
- Los prototipos son translúcidos, lo cuál puede ser especialmente ventajoso para determinados proyectos, o para detectar interferencias interiores en conjuntos complejos.

- Tiene una precisión dimensional y un acabado superficial especialmente destacable.
- Esta técnica suele ser recomendable para piezas de dimensiones reducidas o que contengan pequeños detalles que han de definirse de manera muy clara.

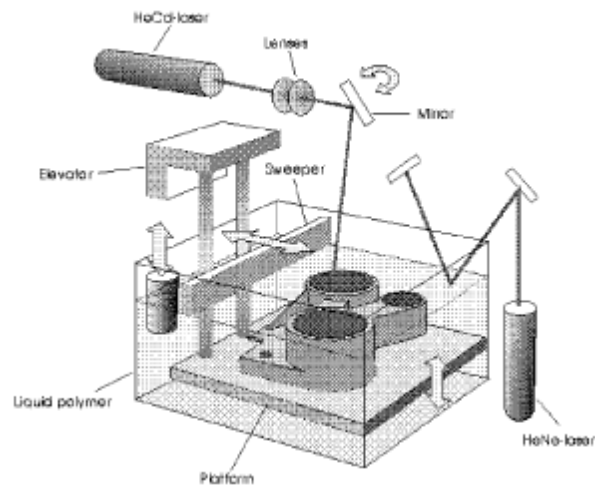


Fig.13. Máquina SLA.

- **SGC. Fotopolimerización por luz UV:** Al igual que en la estereolitografía, esta tecnología se basa en la solidificación de un fotopolímero o resina fotosensible. En la fotopolimerización sin embargo, se irradia con una lámpara de UV de gran potencia todos los puntos de la sección simultáneamente.
- **SLS. Sinterización selectiva láser (utilizada para la creación de los microchips en el proyecto:** En vez de un fotopolímero, en el caso del sinterizado se utilizan polvos de diferentes materiales. Un láser sinteriza las áreas seleccionadas causando que las partículas se fusionen y solidifiquen. El modo de generación de las piezas es similar al que se explica en la sección dedicada a la Estereolitografía, en el que los elementos son generados de capa en capa, iniciando el proceso por las cotas más bajas y terminados por las superiores.

Puede decirse que constituye el primer proceso de aglomeración, con importancia industrial, desarrollado para la industria siderúrgica. Un proceso continuo de gran flexibilidad que permite la conversión de una gran variedad de materiales, tales como finos

de mineral de hierro provenientes de la extracción en la mina y los generados en las operaciones de cribado en planta, polvos recolectados en filtros y otros materiales que contienen hierro, en una masa compacta llamada Sinter, de excelente uso en los Altos Hornos u Hornos Eléctricos para producir arrabio.

El proceso sencillo en su diseño y operación, requiere no obstante de la atención sobre ciertos factores, (tales) como la preparación de una mezcla homogénea que garantice la permeabilidad en la cama de proceso, lo que a su vez contribuye a un quemado más rápido y uniforme. Al mismo tiempo los mecanismos de alimentación a la zona de quemado, deben evitar el compactamiento y asegurar una cama uniforme. El proceso se lleva a cabo en una cadena movable que recibe la mezcla de materiales que contienen hierro junto con un combustible, generalmente coque fino.

Cerca del extremo de alimentación, unos quemadores a gas inician la combustión en la superficie y a medida que se va avanzando el aire de la atmósfera es succionado a través de la mezcla a ser quemada. A lo largo de la cadena móvil, en su parte inferior, existen unas cajas de viento que actúan como succionadoras de manera que la mezcla se vaya quemando transversalmente, hasta llegar a la zona de descarga donde la mezcla ya sinterizada y luego cribada y enfriada, continua su camino hacia el siguiente proceso. Las temperaturas generadas en este proceso varían entre 1300 °C y 1400°C.

Las características químicas y físicas de este material constituyen un factor primordial en su elaboración, pues mediante el apropiado control de la granulometría, así como la incorporación de los fundentes en esta etapa, contribuye al ahorro de coque en la producción de arrabio.

Las sinterizadoras constituyen una parte fundamental de las plantas integradas y siempre están ubicadas cerca de las unidades que producen arrabio.

Ventajas complementarias:

- Al tratarse de un poliamida, sus características mecánicas, en muchas ocasiones, son próximas a las que corresponderían al material definitivo.

- Al tratarse de un poliamida, sus características mecánicas, en muchas ocasiones, son próximas a las que corresponderían al material definitivo.
 - Es posibles realizar piezas, en las que el material tenga una carga del 30% F.V.
 - Son elementos especialmente indicados para conjuntos en los que se prevé un montaje y desmontaje en la fase de prueba.
 - Soportan temperaturas más elevadas que en el caso de la Estereolitografía.
- **LOM. Fabricación por corte y laminado:** Esta tecnología pega y recorta láminas de papel. La parte inferior del papel tiene una capa adhesiva que cuando es presionada y se le aplica calor hace que se pegue con el folio anterior. El folio es recortado siguiendo el contorno de la sección de la pieza.

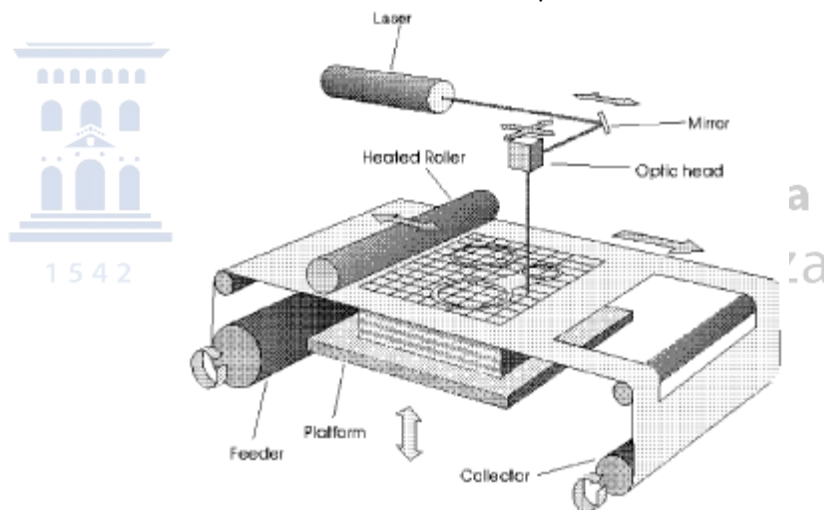


Fig.14.Esquema máquina LOM.

- **DSPC. Proyección aglutinante:** Esta tecnología trabaja mediante la deposición de material en polvo en capas y la ligazón selectiva del mismo mediante la impresión de chorro de tinta de un material aglutinante.
- **Fused deposition modeling (FDM):** El proceso fundamental FDM implica calentar un filamento de polímero termoplástico y extrusionarlo siguiendo la forma de las secciones para formar las piezas por capas.

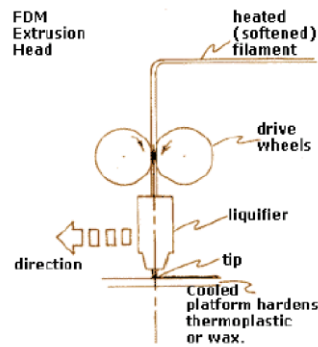


Fig.15. Esquema máquina FDM.



Fig.16. Piezas fabricadas por FDM.

- **Moldes de Silicona/ Coladas de Resina:** Como complemento a las tecnologías de sinterizado y estereolitografía se pueden producir moldes de silicona utilizando los prototipos como masters, obteniendo hasta 20 juegos en material semi-bueno, imitando polipropileno, ABS, policarbonato, poliamida...

Soft Tooling, son moldes de base Silicón o Uretanos fabricados al alto vacío, cuyo objetivo es el de crear decenas o centenas de partes idénticas geométricamente al de un Prototipo Rápido a una fracción del costo de Prototipo y con propiedades similares a las del producto final. Esto permite valorar más objetivamente el producto antes de proceder a la fabricación de los modelos finales.

- **Fabricación por CNC:** La fabricación por CNC consiste en fabricar por medio de una herramienta cuya trayectoria y velocidad es controlada por un software de CAM en una computadora. Este método es considerado uno de los más comunes métodos de RP con las ventajas de que el material del que se produce el RP no cambian debido al proceso, las máquinas son relativamente

económicas comparadas con los otros métodos, sin embargo, para algunas aplicaciones aún con 5 ejes simultáneos no es posible reproducir geometrías complejas por las que la herramienta no puede entrar.

- **Prototipado Virtual:** No está de más el recordar a estas alturas que una de las metodologías del prototipado que más se utiliza en los trabajos cotidianos consiste en el denominado prototipado virtual que no es ni más ni menos que el máximo exponente de las aplicaciones de CAD y de Modelado de Sólidos. Por prototipado virtual se entiende el disponer del modelado sólido en el ordenador que nos permita hacer simulaciones y cálculos y diversas pruebas según materiales, condiciones de trabajo, modificación de cotas y formas, Elementos Finitos, renderizados virtuales con distintas texturas y materiales, animaciones, etcétera, pruebas que nos permitirán depurar los modelos antes de su ejecución material.

3.2.2. APLICACIONES DEL PROTOTIPADO RÁPIDO.

Básicamente las técnicas de Prototipado Rápido, tienen como objetivo obtener de manera rápida y exacta una réplica tridimensional de los diseños que han sido generados mediante aplicaciones CAD en 3D.

Estos modelos pueden ser únicamente estéticos y útiles en consecuencia para estudio de formas y estudio de la aceptación por el mercado potencial al que van dirigidos, o pueden cumplir con algunas o buena parte de los requerimientos mecánicos que tendría la pieza definitiva, ofreciendo en este caso la posibilidad de realizar pruebas funcionales e incluso de homologación antes de que existan ni siquiera los moldes preliminares.

La mayor o menor similitud que pudiera existir entre el modelo definitivo y el obtenido mediante las técnicas de prototipado rápido dependerán básicamente del sistema utilizado para su generación y de limitaciones dimensionales, de complejidad y de postprocesos aplicados.

Las ventajas que ofrece la utilización sistemática de esta tecnología dentro del proceso global del lanzamiento de un nuevo producto, y/o en el de modificación y/o mejora de productos ya existentes, abarca a casi todos los departamentos, que directa o indirectamente están involucrados en el.

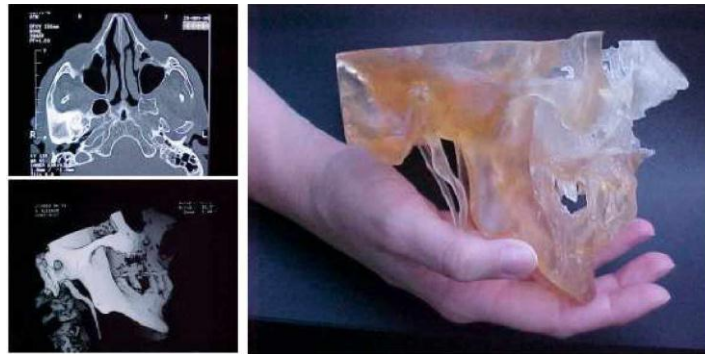


Fig.17. Diferentes piezas de Prototipado Rápido.

3.2.3. CONCLUSIONES DEL PROTOTIPADO RÁPIDO.

La posibilidad de obtener prototipos sin que para ello sea necesario diseñar y fabricar los útiles supondría, además de un evidente ahorro de tiempo, un ahorro de costes importante. Optimizar por medio de una mejora iterativa del producto en la fase de desarrollo los aspectos estéticos, ergonómicos, de fabricabilidad y compatibilidad con otras piezas del mismo módulo antes del lanzamiento de la preserie. Compatibilizar la obtención de prototipos con otras técnicas para no emplear arranque de viruta y así conseguir una mayor rentabilidad en piezas de gran precisión y fiabilidad.

Se está valorando más la precisión que la rapidez de polimerización por lo que las resinas epoxi están marcando la evolución de la oferta de resinas para el Prototipado Rápido. Una línea interesante en la actualidad es el desarrollo de sistemas híbridos, que tratan de combinar facilidad de polimerización con precisión, así como las aplicaciones cada vez más específicas, como pueden ser las resinas biocompatibles para prótesis.

Estas técnicas representan un gran paso hacia adelante, alejándonos de la imposibilidad de reflejar las ideas tan sólo en formato 2D, y brindándonos la posibilidad de reflejar las ideas tan sólo en formato 2D, y brindándonos la posibilidad de imprimir modelos tridimensionales en un corto espacio de tiempo. Estamos ante unas técnicas que están presentando un gran crecimiento en su utilización y en la mejora de sus prestaciones, llegándose a hablar en las últimas ferias especializadas de este sector de que la primera pieza obtenida no se considera como prototipo sino como una pieza finalizada y lista para su uso. Estas piezas dejan de ser consideradas en I+D para entrar en otro sector como el de sistemas productivos.



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Capítulo 4

4. Proceso de modelado y simulación

Para la realización del presente proyecto han sido necesarios tres programas diferentes: Rhinoceros 4.0, ANSYS CFD y ANSYS CFX. Cada uno de ellos desempeña un papel fundamental de cara a la realización de las simulaciones necesarias. A continuación se explican los diferentes programas y los pasos seguidos en cada uno de ellos.

4.1. Cronología:



4.2.Rhinoceros 4.0:

Rhinoceros es un programa de modelado que permite desarrollar diseños con rapidez. Permite crear, editar, analizar, documentar, renderizar, animar y traducir curvas NURBs, superficies y sólidos sin límite de complejidad, grado o tamaño. Rhino también es compatible con mallas poligonales y nubes de puntos.

Contiene ilimitadas herramientas de modelado de forma libre 3D. Estas herramientas solo se encuentran en productos que son de 20 a 50 veces más caros. Con Rhino se puede modelar cualquier forma imaginable por muy complicada que sea, ya sean coches, cámaras de fotos o como en este caso Chips Microfluídicos.

Posee una precisión máxima para el diseño, los prototipos, la ingeniería, el análisis, la documentación y la fabricación de cualquier producto de cualquier tamaño, incluso llegando a poder modelar objetos milimétricos como los microchips.

Se puede considerar que Rhino es un software bastante asequible debido a su facilidad ya que no requiere un gran conocimiento previo de modelado. Podemos decir que con unos buenos tutoriales se puede llegar a modelar prácticamente cualquier cosa. Además es un programa muy rápido e incluso en un ordenador portátil común Rhino es bastante rápido y no necesita ningún hardware especial que lo complemente.

Además de todo lo dicho también permite exportar geometrías a otros programas con una amplia gama de formatos (STEP,IGES,etc...) lo que es una gran ventaja ya que podemos crear una geometría todo lo complicada que se desee y en otros programas como ANSYS ,donde nos centramos más en la creación de mallas, importarle dicha malla y trabajar con más comodidad.

4.3.ANSYS CFD:

Existen diferentes métodos que aproximan las ecuaciones diferenciales por ecuaciones algebraicas aunque los mas importantes son el de diferencias finitas, el de volúmenes finitos y el de elementos finitos. Cada uno de estos métodos conduce a la misma solución si la discretización usada es suficientemente fina. El más usado y con el que trabaja ANSYS CFD es el método de volúmenes finitos.

El primer paso para resolver este tipo de problemas consiste en realizar la discretización de la región de estudio. La localización discreta, donde las variables van a ser calculadas, va a ser definida mediante una malla numérica que consiste en la representación de la geometría del dominio donde el problema va a ser resuelto. Esta malla a va dividir el dominio en un numero finito de subdominio. Existen programas

concretos que permiten la generación de mallas. En este proyecto se ha utilizado ANSYS CFX.

Existen diferentes tipos de malla, como son mallas estructuradas, mallas estructuradas en bloques y mallas no estructuradas. Estas últimas son las más utilizadas ya que pueden ser generadas automáticamente. Se usan sobre todo para geometrías complejas y para su cálculo mediante elementos o volúmenes finitos. Los elementos o volúmenes de control, en este tipo de mallas, pueden no tener ninguna forma aunque generalmente se usan triángulos o cuadriláteros en 2D y tetraedros y hexaedros en 3D.

En los estudios realizados se han utilizado elementos de control son de tipo tetraedro, ya que aunque sean menos exactos que los hexaedros su realización es mucho más sencilla.

En el proyecto se ha seguido un patrón relacionado con el fin de llegar a la simulación final. En ANSYS CFD se recibía la geometría de RHINOCEROS y por lo tanto nos encargaríamos de generarle la malla. Lo primero que se hacía era importar la geometría y a continuación se le creaban todas las partes que iban a ser fundamentales para su posterior estudio. Las partes se pueden considerar que eran: curvas, superficies y cuerpo del chip. Dentro del campo superficies y curvas se especificaban las partes que se querían estudiar posteriormente como las entradas/salidas o la base en caso de ser necesario.

La principal ventaja de este tipo de malla (no estructurada) es su flexibilidad para adaptarse a la geometría, pero su principal inconveniente es que esta flexibilidad da lugar a una estructura de datos irregular. Debido a esto la matriz de ecuaciones algebraicas no suele tener una estructura regular por lo que es necesario reordenar los puntos antes de proceder al cálculo, por ello los cálculos con este tipo de discretización son más lentos.

La CFD es una técnica que puede ser usada en una gran variedad de campos, como puede ser, para el cálculo de ventilación, en procesos de combustión, procesos de transferencia de calor, para estudios biomédicos, etc.

Una vez realizada la discretización se debe elegir el tipo de aproximación y por último el criterio de convergencia.

Para finalizar CFD se exportaba la malla con un archivo de tipo NASTRAN para después poder ejecutarlo en CFX.

4.4.ANSYS CFX:

El cálculo de las simulaciones se ha realizado mediante CFX, el cual es una herramienta que permite simular, entre otros, el comportamiento de sistemas fluidos. Esta herramienta trabaja resolviendo las ecuaciones de flujo fluido en la región de estudio bajo unas condiciones de contorno específicas definidas sobre el dominio de trabajo.

Como se ha dicho anteriormente las ecuaciones que describen el comportamiento fluido son las ecuaciones de Navier-Stokes (cuyos detalles se encuentran en los apéndices A y B). Estas son ecuaciones diferenciales que no tienen una solución general analítica exceptuando en casos especiales. Para poder obtener una solución numérica es necesario usar métodos de discretización que aproximan las ecuaciones diferenciales por un sistema de ecuaciones algebraicas que pueden ser resueltas por un ordenador.

A pesar de las ventajas que estos métodos numéricos ofrecen, hay que tener en cuenta que la solución numérica obtenida es una aproximación de la solución exacta, ya que se han realizado numerosas aproximaciones tanto en las ecuaciones de partida como en la discretización y generalmente se resuelven usando métodos iterativos.

Las principales limitaciones de este método son las siguientes:

- Las ecuaciones que gobiernan el problema generalmente no tienen solución exacta, por eso se aplican aproximaciones o modelos. Incluso si la ecuación exacta es resoluble, es necesario la utilización de modelos para reducir el coste computacional.
- La exactitud de la solución numérica obtenida dependerá de la calidad de la discretización usada. Los errores de discretización serán menores, cuanto mayor sea la precisión en la discretización pero esto da lugar a un aumento tanto en el tiempo como en el coste de cálculo de la solución. Por eso es necesario llegar a un compromiso.
- Por ultimo hay que tener en cuenta que los métodos de resolución directos son muy caros por lo que se suelen usar métodos iterativos. El problema de estos métodos son los errores que ocasionan si la iteración es parada antes de tiempo. Sólo si el proceso de cálculo se mantiene durante un gran periodo de tiempo se podría obtener la solución exacta.

Dentro de CFX tenemos tres partes distintas que son Pre, Solver manager y Post procesor. Cada una de estas partes tiene una función de cara a la simulación final.

A continuación se explican algunas de las características de las partes de CFX teniendo en cuenta su cronología:

4.4.1. Pre:

- El primero de los tres subprogramas de CFX por el que debemos pasar para llegar a un resultado.
- Establecimiento del modelo, se construye la geometría del problema, creando lineal, áreas o volúmenes. Sobre este modelo se establecerá la malla de elementos. Esta parte del pre-proceso es opcional, dado que la ubicación de los elementos de la malla pueden provenir de otras aplicaciones de diseño. En nuestro caso no se ha realizado ni la geometría, ni la malla del problema ya que vienen importadas de otros programas.
- Se definen los materiales a ser usados en base a sus constantes. Todo elemento debe tener asignado un material particular.



- Generación de la malla, realizando una aproximación discreta del problema en base a puntos o nodos. Estos nodos se conectan para formar elementos finitos que juntos forman el volumen del material. La malla puede generarse a mano o usando las herramientas de generación automática o controlada de mallas.
- Aquí será donde se han dado las diferentes condiciones de contorno de cara a la simulación final. Se pueden aplicar valores de fuerza, tracción, desplazamiento, caudales, presión, etc. Dichas condiciones se han colocado ya sea en las entradas del chip, las salidas o en los casos más complejos en la base para su estudio y comportamiento de las células.
- Se puede seleccionar el tipo de caudal que se desee ya sea laminar o turbulento con unas características determinadas.
- En las simulaciones de difusión se ha creado una variable (oxígeno) que influirá directamente sobre el fluido. Para ver los resultados de difusión sobre el fluido hay que darle a dicha variable un coeficiente de difusión acorde con los resultados que se quieren obtener. En nuestro caso se le ha dado un valor representativo de oxígeno.

4.4.2. Solver:

- Después de crear las condiciones de contorno se pasa al Solver. Aquí simplemente se crea una convergencia para ver como se va estabilizando en nuestro caso el fluido.
- El tiempo en el que se desarrollara la convergencia viene definido previamente por CFX ya que es ahí donde se especifica el número de steps que se quiere tener y el tiempo que debe transcurrir entre cada uno de ellos.

4.4.3. Post-Procesamiento:

- El post-procesamiento se puede utilizar para generar gráficos, animaciones significativas e informes que hacen que sea fácil de transmitir los resultados de dinámica de fluidos. Superficies sombreadas y transparentes, trayectorias, diagramas, etc.



- En el proyecto se han realizado planos (según el tipo de estudio) de cara a reflejar sobre dicho plano los resultados obtenidos ya sean de caudal, presión o en los casos más complejos ver la difusión de oxígeno sobre el agua en unas determinadas condiciones.
- Se pueden generar el número de Steps que se desee y luego seleccionar cualquier Step para ver por ejemplo como va fluyendo el caudal por un objeto en un determinado momento. Previamente se define en el pre-procesador el tiempo que transcurre entre un Step y otro.



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Capítulo 5

5. Definición del proyecto

En primer lugar diremos que el objetivo fundamental del proyecto es el cultivo celular en dispositivos microfluídicos. Para ello se han realizado diferentes simulaciones con el programa ANSYS CFX con el fin de llegar a obtener unos resultados que nos permitan tener soluciones de cara a nuestro objetivo principal.

Las simulaciones se pueden englobar en dos partes:

- Simulaciones en las que únicamente se estudia el paso de flujo por el dispositivo. Con la realización de estas simulaciones queremos estudiar el comportamiento del flujo a través de su paso por el microchip para obtener unos valores de caudal mínimos en los diferentes canales. De cara al cultivo de células en los microchips será un dato a tener muy en cuenta ya que las células no serán arrastradas por el paso del flujo.
- Simulaciones en las que se estudia la difusión-convección de partículas de oxígeno en el fluido. En estas simulaciones se quiere observar como se extiende el oxígeno por el dispositivo. Lo que se va a buscar va a ser un reparto de oxígeno por medio de difusión ya que por convección se pueden arrastrar a las células.

En las primeras simulaciones hemos tenido en cuenta las condiciones de contorno con el fin de llegar a obtener una geometría que nos dé unos resultados muy pequeños de recirculación de flujo en los canales del dispositivo. Con ello lo que se consigue es que las células que se encuentran desde un principio en la base de las cámaras no sean arrastradas por el caudal que atraviesa el canal central, es decir, conseguir que la mayor parte del caudal que se le bombea al microchip solo pase por el canal central.

Para lograr este objetivo como ya hemos dicho hay que tener en cuenta en primer lugar las condiciones de contorno. En este proyecto las condiciones que se han tenido en cuenta han sido el caudal a la entrada, la presión y la temperatura del fluido entre otras.

Una vez se han introducido estas condiciones en CFX y realizado la simulación completa se obtienen unos resultados referentes al caudal que atraviesa cada uno de los canales laterales que unen el canal central con las cámaras laterales. Dicho caudal para nosotros no es beneficioso así que se han realizado varias simulaciones con geometrías distintas llegando a obtener unos resultados bastante buenos, los cuales se explicaran en el siguiente capítulo. También debemos tener en cuenta que los resultados que se obtienen en este tipo de simulaciones pertenecen a un estado estacionario del caudal.

Una vez que hemos desarrollado una geometría capaz de evitar que se produzca un paso de flujo en sus cámaras, en la medida de lo posible, nos centramos en la parte de difusión-convección. Es aquí donde el estudio es más realista ya que se han realizado simulaciones en

las que se ve como difunde el oxígeno en el dispositivo y también se ha realizado alguna simulación colocando en las bases un consumidor de oxígeno que hace la función que harían las células en un tejido real. En este otro tipo de simulaciones se estudiarían diferentes instantes de tiempo para ver como el oxígeno va difundiéndose a través del dispositivo.

En cuanto a las medidas de la geometría del chip, se trata de un dispositivo de 10x10 mm y 0.1 mm de profundidad.



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Capítulo 6

6. Análisis de resultados

6.1.Introducción

En el proyecto con la finalidad de obtener unas geometrías adecuadas de cara al cultivo celular se han realizado diferentes estudios de chips microfluídicos y de las reacciones que estos tienen respecto a las diferentes condiciones de contorno.

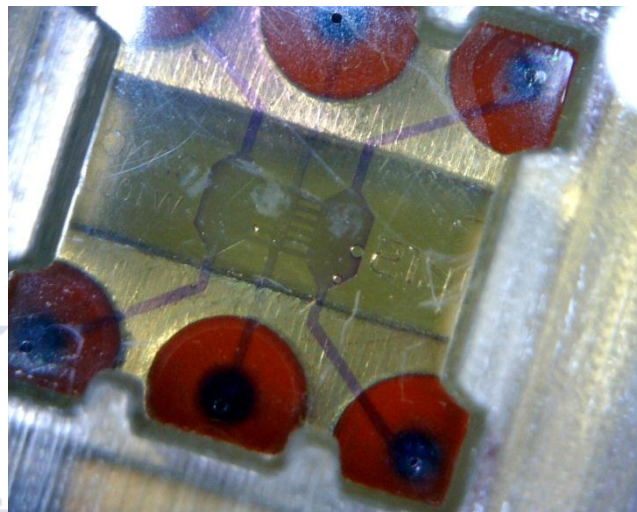


Figura 18. Lab-on-chip de la empresa EBERS

En primer lugar se han realizado simulaciones solo con agua, sin ningún tipo de aditivo, partícula u otra sustancia que pudiera interferir en los resultados a obtener. En estas primeras simulaciones se han calculado los caudales en los diferentes canales del microchip teniendo en cuenta primero, el recorrido del flujo de agua, y segundo, el caudal al que este flujo era introducido en el microchip.

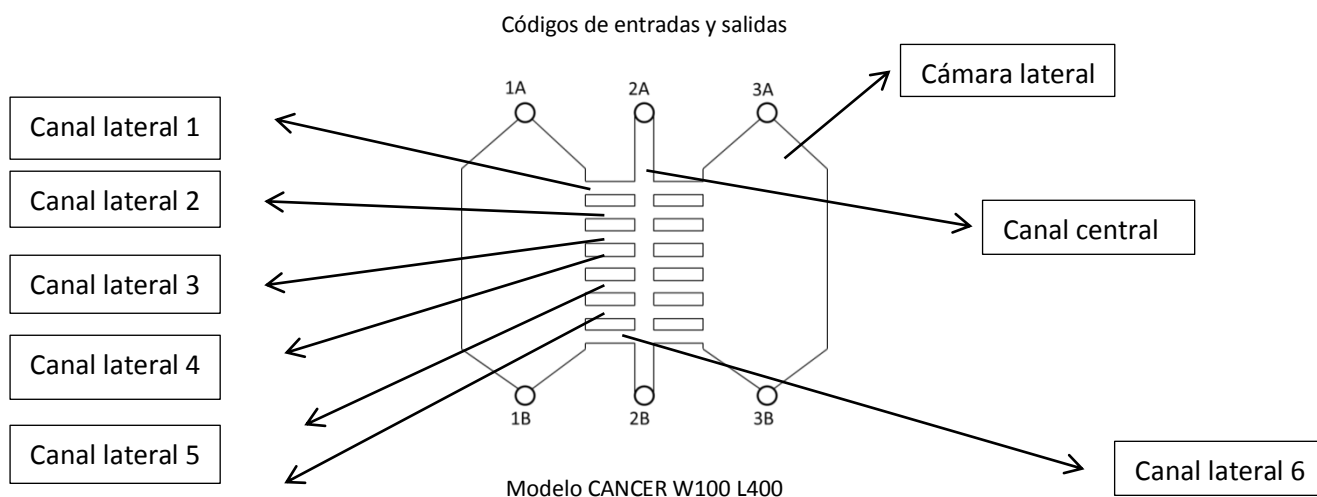
Por otro lado se han realizado simulaciones similares a las anteriores pero con partículas de oxígeno disueltas en el agua con el fin de estudiar como estas partículas iban difundiendo por todo el fluido. En estas otras simulaciones también se debía de tener en cuenta el caudal de entrada en el dispositivo y el recorrido que este llevaba.

6.2.Primeras simulaciones

Como ya se ha explicado las primeras simulaciones realizadas únicamente se utilizó agua. Lo que se quiere conseguir con estas simulaciones es un resultado lo más preciso posible de los caudales a lo largo del recorrido en los diferentes canales del microchip. A continuación se muestra una tabla con los resultados obtenidos a diferentes condiciones. En esta tabla se toma únicamente un tipo de geometría con diferentes

condiciones de contorno. Más adelante realizaremos algún ensayo con diferentes geometrías.

ENSAYOS GENERALES PARA LA DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE FLUJO



Las siglas W y L que se encuentran en el nombre del chip se refieren a la anchura de los canales y a la longitud que estos poseen respectivamente. Los canales laterales de los que se va a hablar a lo largo de las explicaciones son los situados entre el canal central (de 2A a 2B) y las cámaras laterales.

Nº Ensayo	Canales de entrada	Canales de salida	CC: Caudal de entrada	CC: Presión de salida	Tipo de fluido	R: Presión de entrada	R: Caudal de salida	Número de Reynolds
1	1A	1B	100ul/min	Patm	Agua	101600	100ul/min	18,550
2	1A	2B	100ul/min	Patm	Agua	101630	100ul/min	18,155
3	1A	3B	100ul/min	Patm	Agua	101635	100ul/min	18,539
4	1A	2A	100ul/min	Patm	Agua	101627	100ul/min	18,156
5	1A	3A	100ul/min	Patm	Agua	101636	100ul/min	18,727
6	2A	1A	100ul/min	Patm	Agua	101624	100ul/min	18,345
7	2A	1B	100ul/min	Patm	Agua	101627	100ul/min	18,539
8	2A	2B	100ul/min	Patm	Agua	101635	100ul/min	18,957
9	1A 3A	1B 2B 3B	100ul/min	Patm	Agua	101436	100ul/min	9,663
10	2A	1B 2B 3B	100ul/min	Patm	Agua	101528	100ul/min	17,582
11	1A	1B	500ul/min	Patm	Agua	102690	500ul/min	79,81
12	1A	2B	500ul/min	Patm	Agua	102944	500ul/min	79,30
13	1A	3B	500ul/min	Patm	Agua	102977	500ul/min	80,94
14	1A	2A	500ul/min	Patm	Agua	102929	500ul/min	79,32
15	1A	3A	500ul/min	Patm	Agua	102982	500ul/min	82,04
16	2A	1A	500ul/min	Patm	Agua	102911	500ul/min	79,32
17	2A	1B	500ul/min	Patm	Agua	102916	500ul/min	80,97
18	2A	2B	500ul/min	Patm	Agua	102935	500ul/min	78,39

19	1A 3A	1B 2B 3B	500ul/min	Patm	Agua	101888	500ul/min	43,23
20	2A	1B 2B 3B	500ul/min	Patm	Agua	102316	500ul/min	76,91
21	1A	1B	20ul/min	Patm	Agua	101376	20ul/min	3,9877
22	1A	2B	20ul/min	Patm	Agua	101385	20ul/min	3,9991
23	1A	3B	20ul/min	Patm	Agua	101386	20ul/min	4.0520
24	1A	2A	20ul/min	Patm	Agua	101385	20ul/min	3,9929
25	1A	3A	20ul/min	Patm	Agua	101387	20ul/min	4,0259
26	2A	1A	20ul/min	Patm	Agua	101385	20ul/min	4,0050
27	2A	1B	20l/min	Patm	Agua	101385	20ul/min	3,9591
28	2A	2B	20ul/min	Patm	Agua	101387	20ul/min	4,0065
29	1A 3A	1B 2B 3B	20ul/min	Patm	Agua	101347	20ul/min	2,0479
30	2A	1B 2B 3B	20ul/min	Patm	Agua	101366	20ul/min	3,8234

Tabla 3. Resultados obtenidos en las primeras simulaciones realizadas.

En la tabla 1 se pueden observar los resultados obtenidos procedentes de realizar diferentes simulaciones con CFX teniendo en cuenta el recorrido del flujo, el caudal que se le suministra y la presión que poseen en la salida. Con ello seremos capaces de calcular la presión que provoca el flujo en las entradas del microchip y obviamente también comprobaremos que el caudal de salida sea igual al de entrada (principio de conservación de la masa).

Al tratarse de microfluídica el flujo que se produce siempre va a ser laminar. Como se puede observar en los resultados obtenidos ninguna simulación ha dado un número de Reynolds superior a 100. Lo que si se podía observar era el incremento del número de Reynolds en relación al aumento de la velocidad.

A continuación se van a describir algunos de las simulaciones más relevantes atendiendo a su caudal:

- Caudal de 100ul/min
- Caudal de 500ul/min
- Caudal de 20ul/min

6.2.1. Caudal de 100ul/min:

Con cada caudal se realizaron diez simulaciones para ver como variaban los caudales, la velocidad, etcétera.

En algunos de los ensayos no se ha calculado directamente la recirculación de caudal en los canales, lo que se ha hecho a sido comprobar que la suma de los caudales que pasan a través de todos los canales que se ven directa o indirectamente involucrados en el paso del flujo sea aproximadamente del 100% (en la siguiente simulación se observa como un pequeño porcentaje de caudal pasa a través de los canales laterales de la izquierda), y como se ha visto por ejemplo en la simulación número 2 esto se cumple.

En estas simulaciones en las que el flujo no entra directamente por el canal central la finalidad no es otra que introducir células disueltas en medio con el fin de que estas queden depositadas en las cámaras del dispositivo

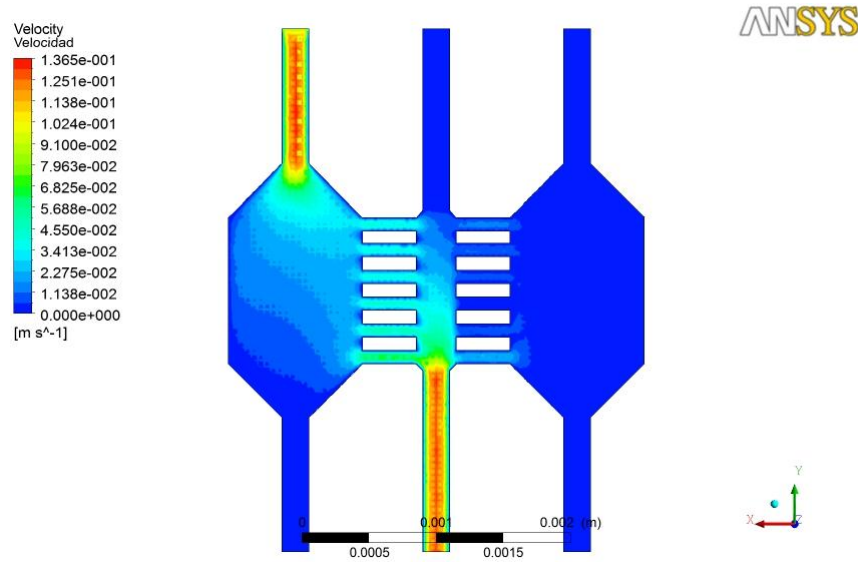


Fig. 19. Velocidades a través del dispositivo. Simulación 2.

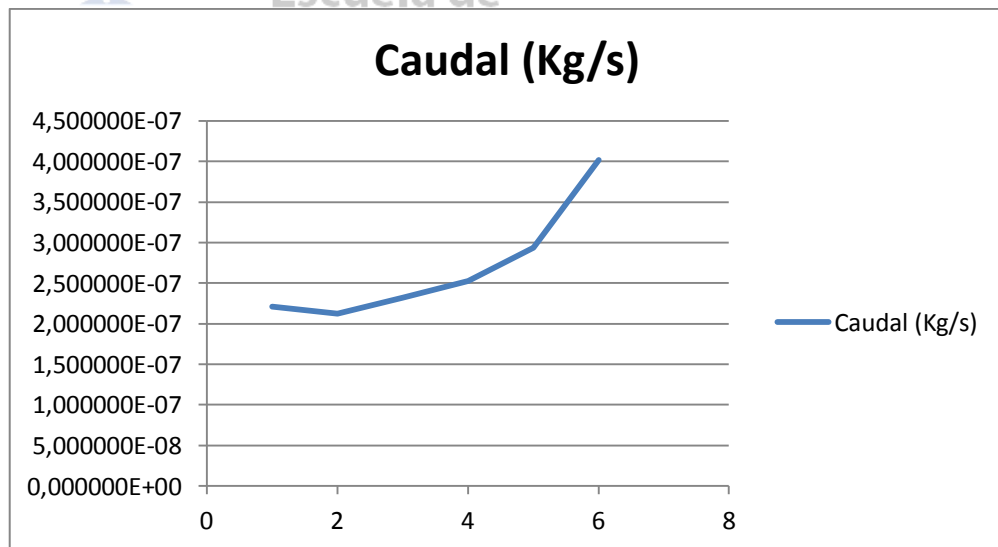


Fig. 20. Representación del caudal que pasa por los diferentes canales. Simulación 2.

Cancer W100 L400		
Canal	Caudal (Kg/s)	%
1	2,212210E-07	13,32656627
2	2,1250400E-07	12,80144578
3	2,319070E-07	13,9703012
4	2,524020E-07	15,20493976
5	2,935770E-07	17,68536145
6	4,019640E-07	24,2146988
Suma	1,613575E-06	97,20331325

Tabla 4. Tabla con los resultados de caudales. Simulación 2.

Como se puede observar en esta tabla 4 los resultados demuestran que la suma del caudal que pasa a través de los seis canales cumple con el principio de conservación de la masa.

El caso más general y que ha sido el de referencia para prácticamente todas las simulaciones ha sido el basado en introducir caudal por el centro y dejar abierta la salida también por el centro (similar a las simulaciones 8, 18 y 28). Es el caso más común ya que en el laboratorio es el más utilizado.

En este ensayo si que se ha estudiado con más precisión la recirculación caudal en los canales, ya que conforme el fluido va pasando a través del dispositivo parte de su caudal fluye por los diferentes canales del microchip. En la siguiente imagen se puede apreciar con más claridad:

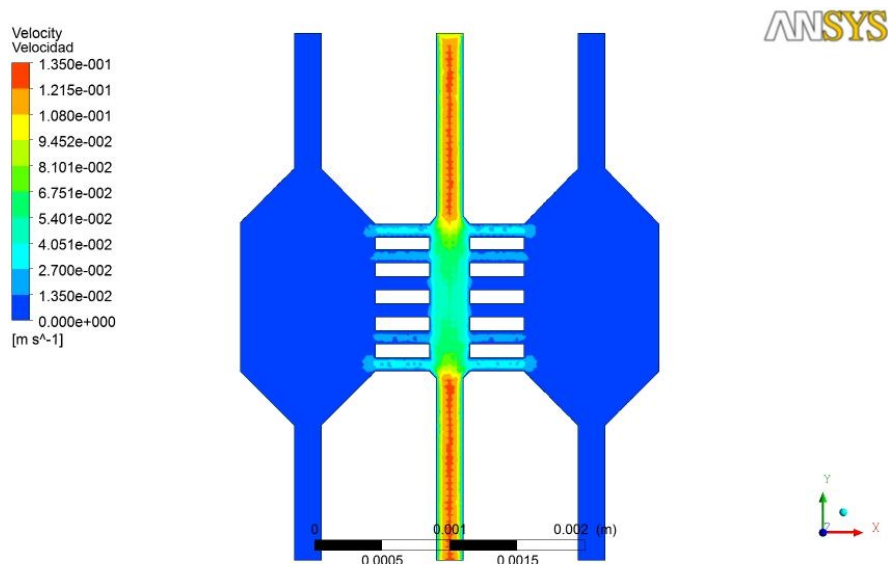


Fig. 21 Velocidades a través del dispositivo. Simulación 8.

Como se podemos observar en la figura 21 el color rojo indica las zonas donde la velocidad del caudal tiene un valor más elevado. La zona de color azul oscuro

representa en este caso a las cámaras del microchip que serán las utilizadas para realizar el cultivo celular y por lo tanto lo que se necesita es que el paso de flujo por estas cámaras sea lo más pequeño posible para no arrastrar a las células.

A continuación se muestran los resultados obtenidos en el ensayo 8 relacionados con las pérdidas de caudal en los canales:

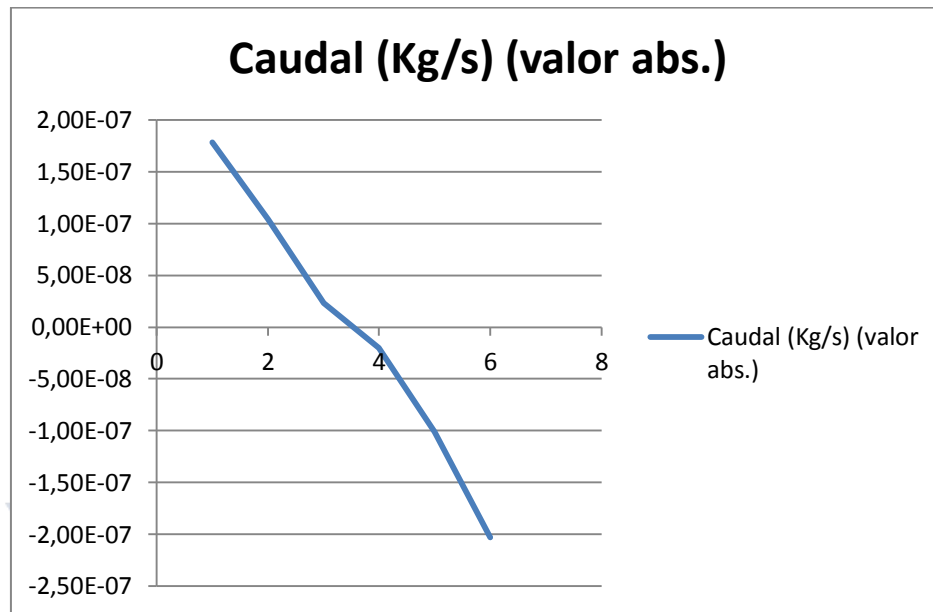


Fig. 22. Representación de los caudales en los diferentes canales. Simulación 8

Lo que se ha tenido también en cuenta en estas simulaciones ha sido el criterio de signos. En este caso por los canales 1,2 y 3 el caudal se separa del recorrido central para luego a través de los canales 4,5 y 6 volver de nuevo a reincorporarse al canal central.

Cancer W100 L400		
Canal	Caudal (Kg/s) (valor abs.)	%
1	1,79E-07	10,75%
2	1,04E-07	6,28%
3	2,33E-08	1,40%
4	-1,98E-08	-1,19%
5	-1,01E-07	-6,06%
6	-2,03E-07	-12,21%

Tabla 5. Tabla con los resultados de los caudales. Simulación 8.

Lo que buscaremos más adelante con otras geometrías y diferentes caudales, será el tener en los diferentes canales un paso de flujo lo más pequeño posible, y una de las soluciones más evidentes será la reducción del caudal a la entrada.

Antes de estudiar los comportamientos de otros caudales nos fijaremos en lo ocurrido en la simulación numero 9. En este ensayo se aprecia una disminución del número de Reynolds con respecto a las otras simulaciones. La velocidad máxima con la que se calculaba dicho número de Reynolds se ve reducida en esta simulación por la diferencia en el recorrido del flujo. Al tener más salidas y más entradas que las otras simulaciones el caudal está más repartido y no se centra en salir y entrar todo por una misma zona lo que provocaba un aumento de la velocidad. Se aprecia que la velocidad tiene un valor máximo de 0.007266 m/s que por ejemplo en comparación con los 0.015 m/s de la simulación 8 provoca una variación en el número de Reynolds.

Este método puede que sea el más idóneo para realizar el **sembrado de células en las cámaras** ya que como hemos podido comprobar en la tabla gracias al número de Reynolds las velocidades son menores que con cualquier otro procedimiento (si la velocidad aumenta el número de Reynolds aumentara con ella).

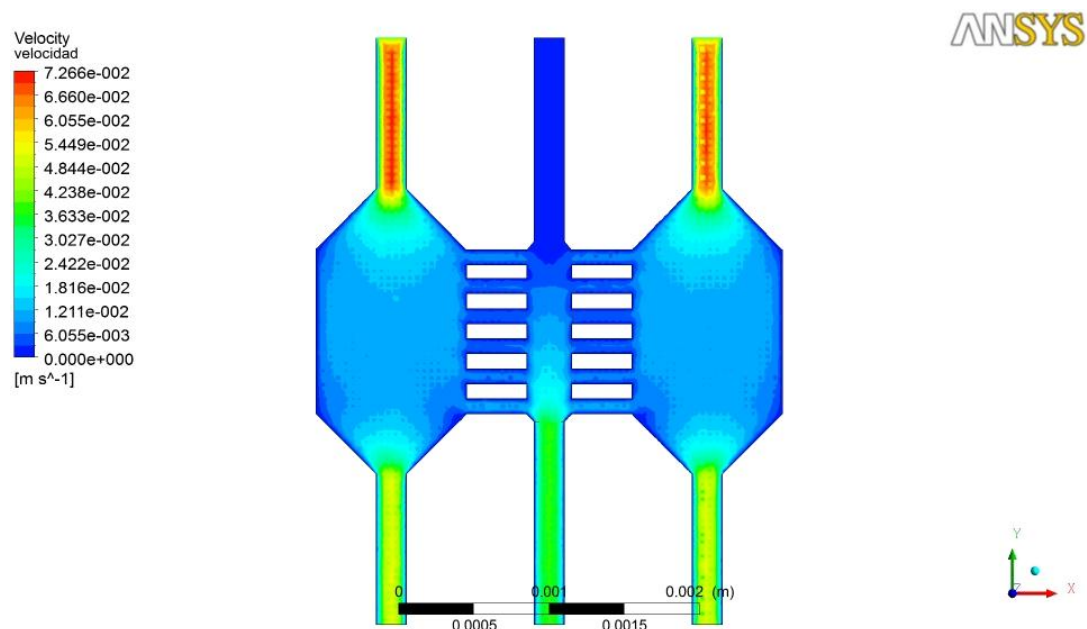


Fig. 23. Velocidades a través del dispositivo. Simulación 9.

6.2.2. Caudal de 500ul/min:

Este va a ser el caudal más elevado que se utilice en todas las simulaciones. Con respecto al objetivo del cultivo celular no tiene una gran aplicación ya que con este tipo de caudal tan elevado la mayoría de las células depositadas en el fondo de las cámaras acabarían siendo arrastradas aunque ese es un tema que se tratara con más exactitud adelante.

Al igual que con 100ul/min se han realizado una serie de simulaciones para estudiar el comportamiento del flujo a través de su paso por el dispositivo CANCER W100L400.

Se va a hacer una comparación, para ver el aumento de número de Reynolds, presión, etcétera, en las simulaciones que al igual que con 100ul/min parecen tener un resultado más destacado por encima de los otros.

Comenzaremos por la simulación numero 12. En este caso ocurre lo mismo que con 100ul/min lo único que a unas velocidades más elevadas.

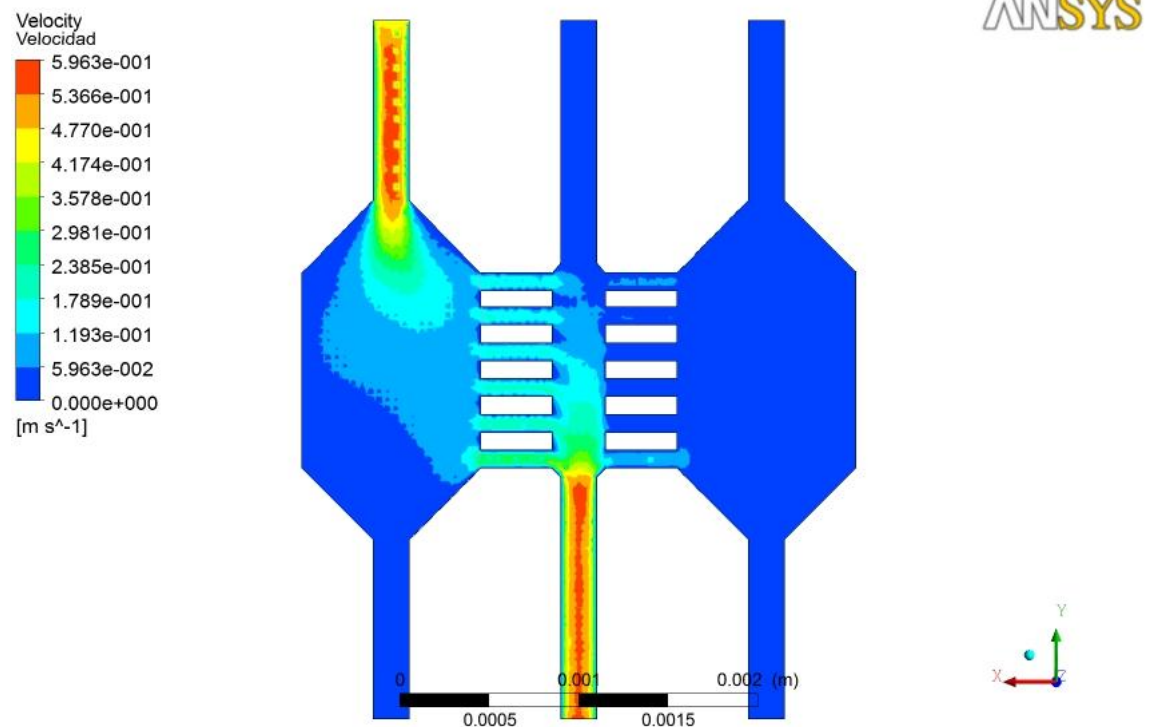


Fig. 24. Velocidades a través del dispositivo. Simulación 12.

En este caso se observa que la velocidad máxima alcanza un valor de 0.5963 m/s, un valor más elevado que con 100ul/min. Este aumento de velocidad a su vez provocara un aumento en el número de Reynolds.

El caudal a través de los canales se puede observar en el siguiente grafico:

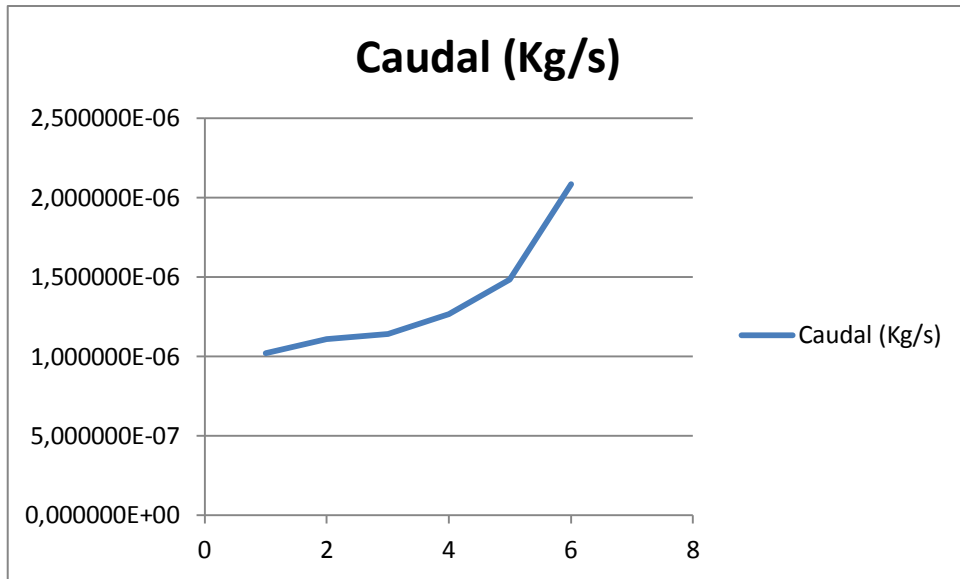


Fig. 25. Representación de los caudales en los diferentes canales. Simulación 12.

Cancer W100 L400		
Canal	Caudal (Kg/s)	%
1	1,020320E-06	12,2487395
2	1,109110E-06	13,31464586
3	1,141210E-06	13,7
4	1,265190E-06	15,18835534
5	1,485500E-06	17,83313325
6	2,083680E-06	25,01416567
Suma	8,105010E-06	97,29903962

Tabla 6. Tabla con los datos de caudales. Simulación 12.

Al igual que ocurría antes, la suma de todos los caudales que atraviesan los diferentes canales para su posterior salida del dispositivo debe ser aproximadamente similar al valor del caudal que entra cosa que en este caso sucede ya que el caudal de entrada es 8.33 e-6 kg/s .

La siguiente simulación que se va a comparar será de número 18 debido a su mayor importancia de cara al estudio en laboratorios.

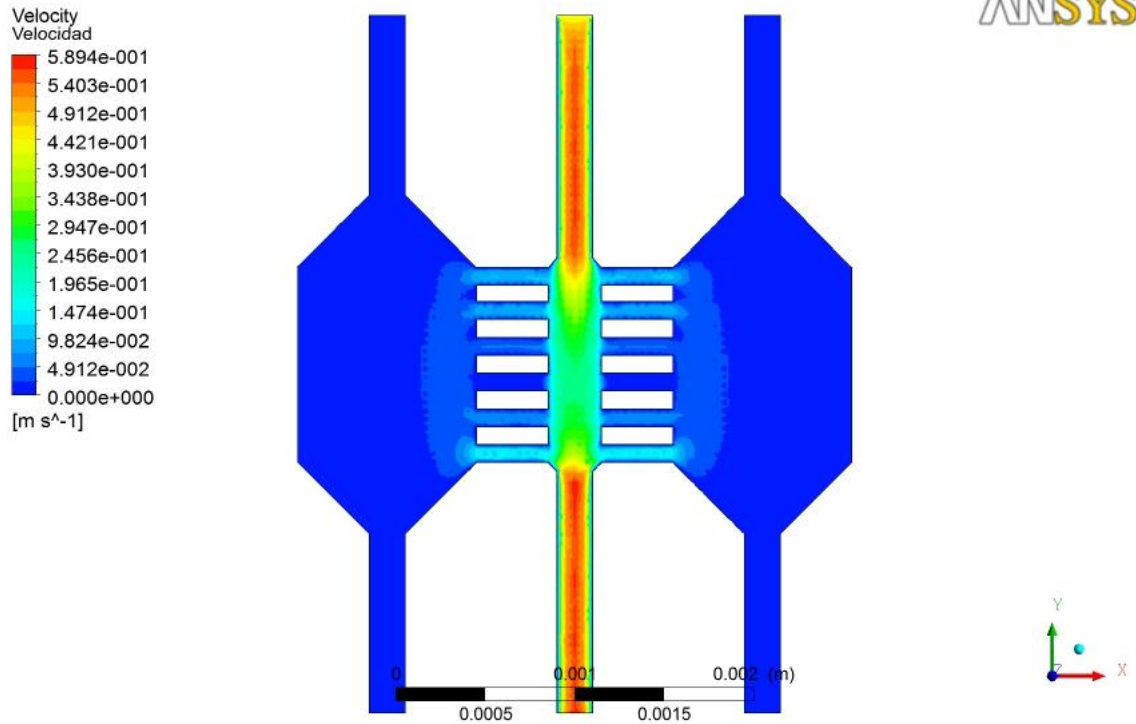


Fig. 26. Velocidades a través del dispositivo. Simulación 18.

La única novedad que puede verse en esta simulación es que a parte del aumento de la velocidad, el recorrido del flujo a través de los canales laterales se observa con mayor claridad lo que simplemente evidencia lo anteriormente dicho.

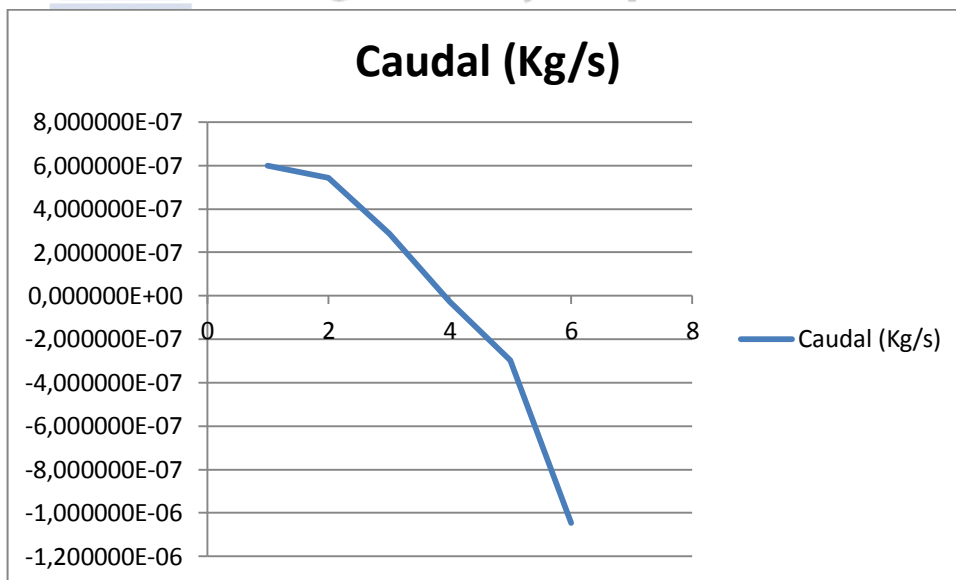
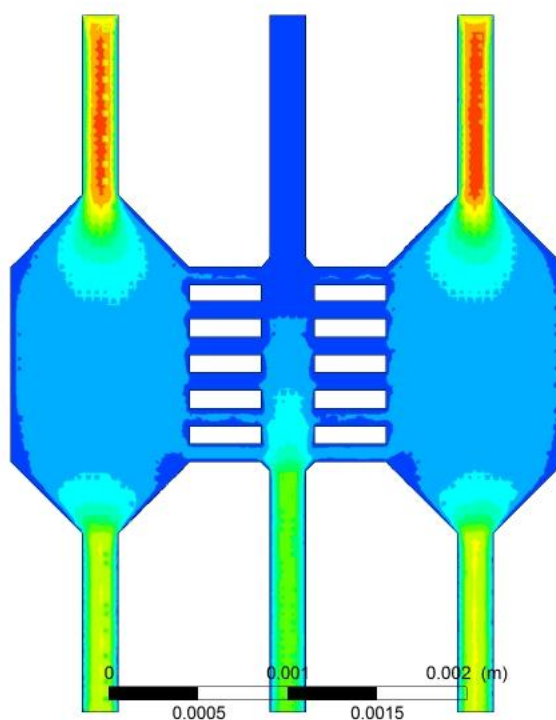
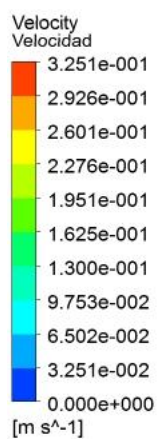


Fig. 27. Representación de los caudales en los diferentes canales. Simulación 18.

Cancer W100 L400		
Canal	Caudal (Kg/s)	%
1	5,996820E-07	7,199063625
2	5,4238200E-07	6,511188475
3	2,857910E-07	3,430864346
4	-2,572540E-08	-0,308828331
5	-2,967780E-07	-3,562761104
6	-1,045470E-06	-12,55066026

Tabla 7. Tabla con los datos de los caudales. Simulación 18.

Al igual que ocurría con 100ul/min la simulación 19 muestra un número de Reynolds menor que el resto de las simulaciones con un caudal de 500ul/min.



ANSYS



Fig. 28. Velocidades en el dispositivo. Simulación 19.

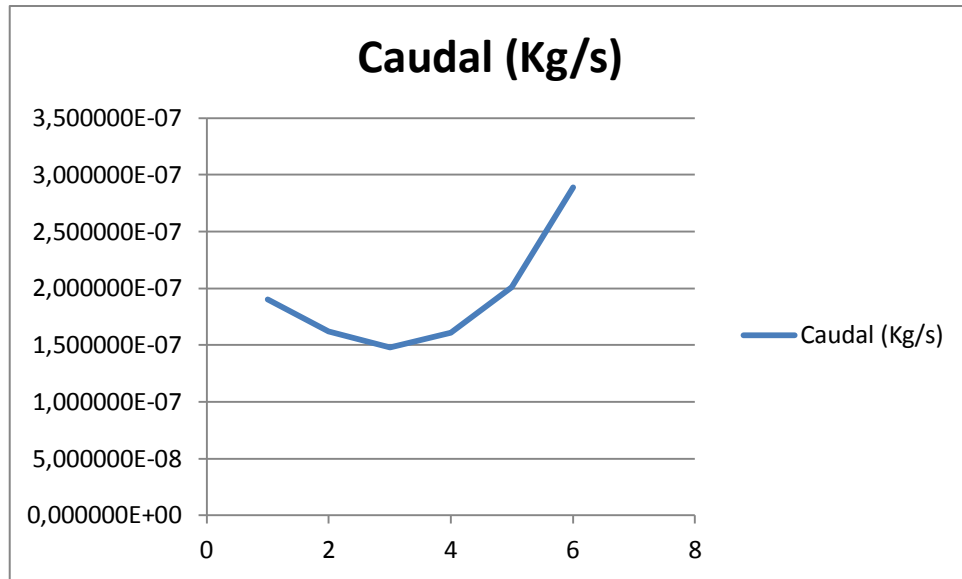


Fig. 29. Representación de los caudales. Simulación 19.

6.2.3. Caudal de 20ul/min:

Será el caudal más representativo utilizado en las simulaciones del proyecto (aunque claro está se pueden utilizar caudales todavía más pequeños) de cara al cultivo celular en dispositivos microfluídicos, ya que las velocidades se verán reducidas notablemente con respecto a los anteriores caudales explicados.

Al igual que pasaba con los caudales de 100 y 500ul/min se tendrán algunas simulaciones más destacadas. Este es el caso de la simulación número 28 para nuestro estudio es la más representativa ya que es la más utilizada en el laboratorio.

Estas son algunas de las características de esta simulación:

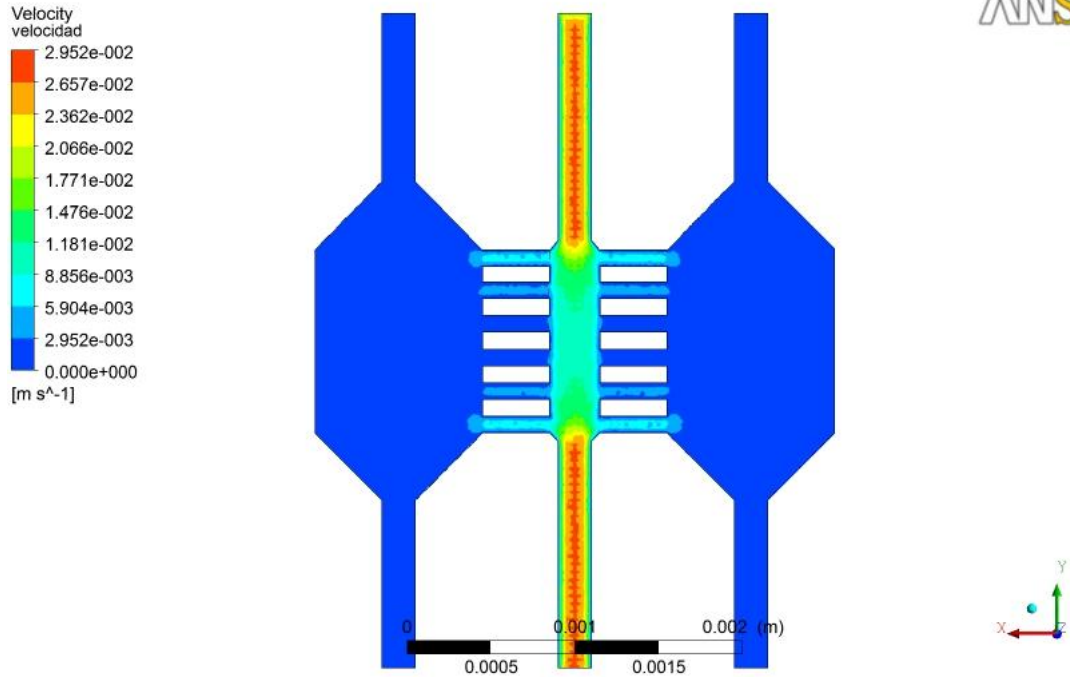


Fig. 30. Representación de velocidades en el dispositivo. Simulación 28.

En este caso se observa una reducción, evidentemente, respecto de las simulaciones de 100 y 500 ul/min. En este caso el paso de flujo en los canales no se aprecia tan claramente como ocurriría con los 500ul/min. Esto evidencia que con 20ul/min tendremos unas mejores condiciones de cara al cultivo celular ya que el flujo a través del dispositivo no arrastrará las células existentes.

Las pérdidas de caudal a través de los canales se representan en los siguiente gráfica y tabla:

Cancer W100 L400		
Canal	Caudal (Kg/s)	%
1	3,804050E-08	11,41329133
2	2,0467800E-08	6,140954095
3	7,311490E-09	2,193666367
4	-5,170690E-09	-1,551362136
5	-1,948660E-08	-5,846564656
6	-4,083670E-08	-12,25223522

Tabla 8. Tabla con las pérdidas de caudal a través de los canales. Simulación 28.

En este caso, como se observa en la tabla 8, las pérdidas de caudal por cada canal tienen, obviamente, unos valores más pequeños en cuanto a cantidad pero el porcentaje no se ve reducido todo lo que se desearía ya que por ejemplo en el canal 1 se nos va un 11,41% del caudal total hacia la izquierda y lo mismo hacia la derecha.

Estas pérdidas de caudal provocaran que se produzca un movimiento de células en las cámaras.

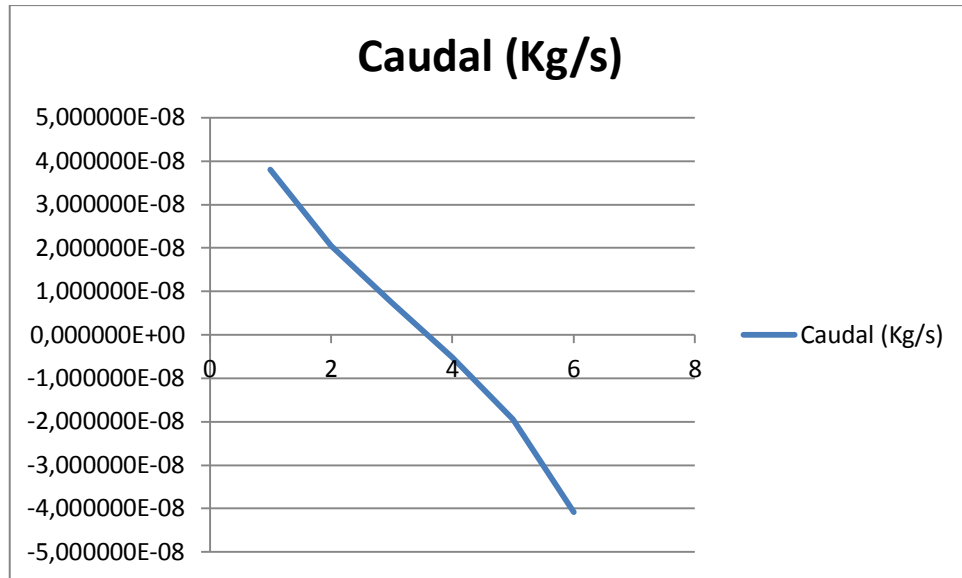


Fig. 31. Gráfico de caudales. Simulación 28.

A continuación se muestran algunas de las simulaciones realizadas con diferentes geometrías de los dispositivos con el fin de reducir en todo lo posible el paso de flujo a través de los canales. Lo que vamos a hacer para ello es dar una inclinación de 45° a los canales por un lado y por otro dar cierta profundidad a las cámaras para evitar que el flujo llegue con la misma intensidad que si estuvieran al mismo nivel que los canales:

- Modelo CANCER W100 L400 (con inclinación en los canales)

Las condiciones de contorno que se tomaran para esta simulación serán las siguientes:

- 20ul/min de caudal en la entrada central
- Una presión de 101325 Pa a la salida central
- El fluido será agua a una temperatura de 25°C .

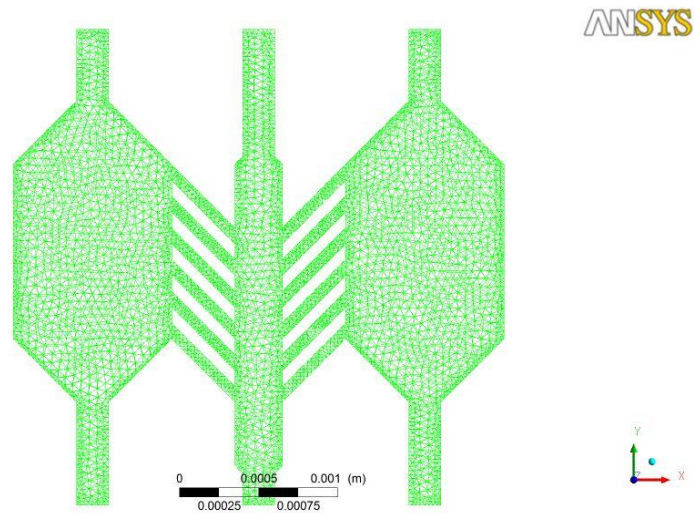


Fig. 32. Geometría del chip CANCER W100 L400

Como se aprecia, en la figura 32, se le ha dado una inclinación de 45° a los canales teniendo en cuenta la dirección de flujo y así reducir el paso de caudal por dichos canales. Parece evidente decir que el caudal tendrá dificultades para fluir a través de los canales pero sin datos que lo justifiquen esta aclaración carecería de valor alguno.

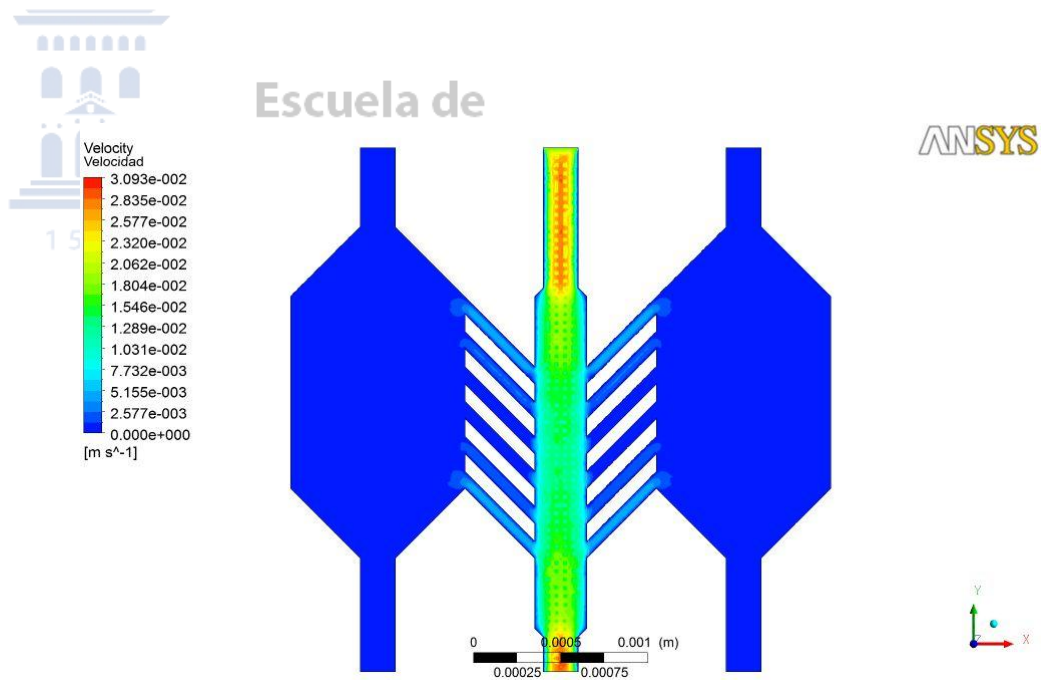


Fig. 33. Representación de las velocidades.

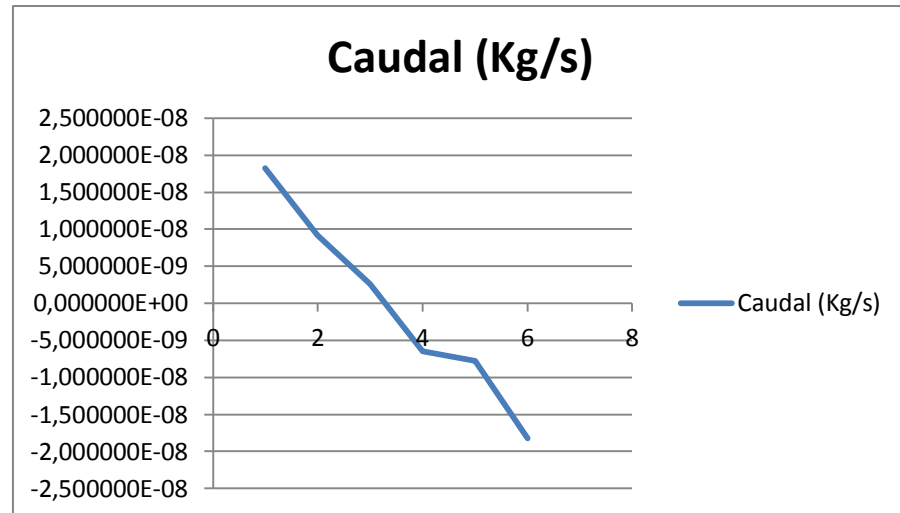


Fig. 34. Representación de los caudales en los diferentes canales.

Cancer W100 L400		
Canal	Caudal (Kg/s)	%
1	1,825000E-08	5,48048048
2	9,2037800E-09	2,763897898
3	2,556940E-09	0,76784985
4	-6,501280E-09	-1,952336336
5	-7,806390E-09	-2,344261261
6	-1,821100E-08	-5,468768769

Tabla 9. Tabla con los porcentajes de pérdida de caudal.

Como podemos observar en la tabla 9, los resultados obtenidos en esta simulación parecen ser mucho más favorables que los obtenidos con las mismas condiciones de contorno pero sin la respectiva inclinación en los canales. Esta es una de las soluciones que se han obtenido en el proyecto de cara al cultivo celular, **una respectiva inclinación en los canales** provoca una disminución del paso de caudal a través de los canales.

▪ Modelo CANCER W50 L400

En esta simulación se han utilizado las mismas condiciones de contorno que las utilizadas para la simulación de la figura 32.

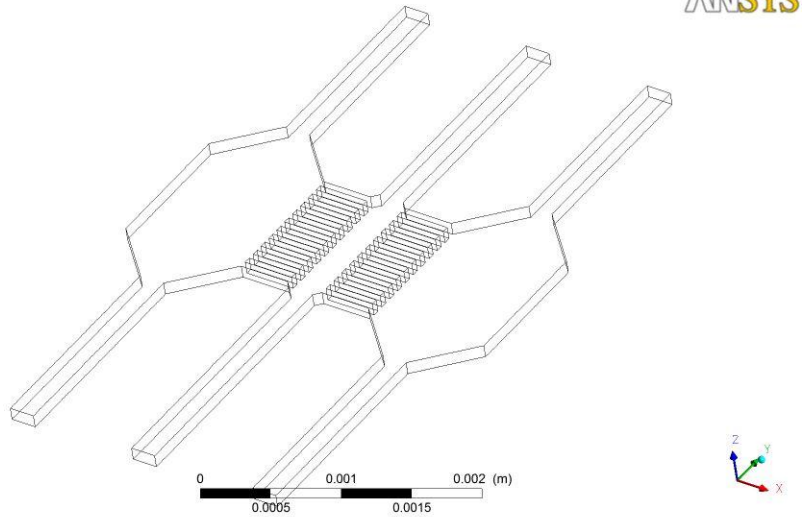


Fig. 35. Geometría CANCER W50 L400.

A continuación vamos a observar algunos de los resultados obtenidos de esta simulación, figura 35.

Canal	Caudal (Kg/s)	%
1	1,230120E-08	3,694054054
2	8,5511600E-09	2,567915916
3	5,078610E-09	1,525108108
4	4,335170E-09	1,301852853
5	8,808090E-11	0,026450721
6	2,009000E-09	0,603303303
7	1,686140E-09	0,506348348
8	-3,864420E-09	-1,160486486
9	-6,209080E-09	-1,864588589
10	-9,423240E-09	-2,829801802
11	-1,300510E-08	-3,905435435

Tabla 10. Resultados de la recirculación en los canales.

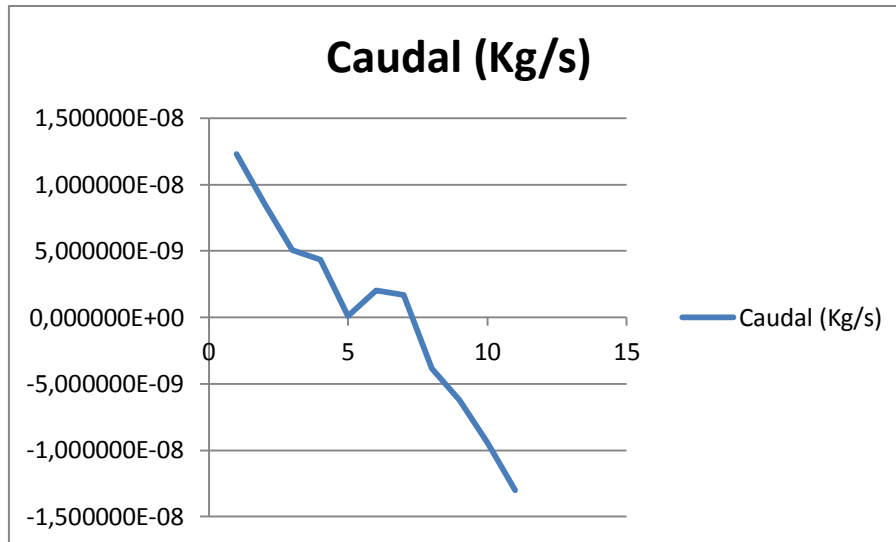


Fig. 36. Representación de los caudales en cada canal.

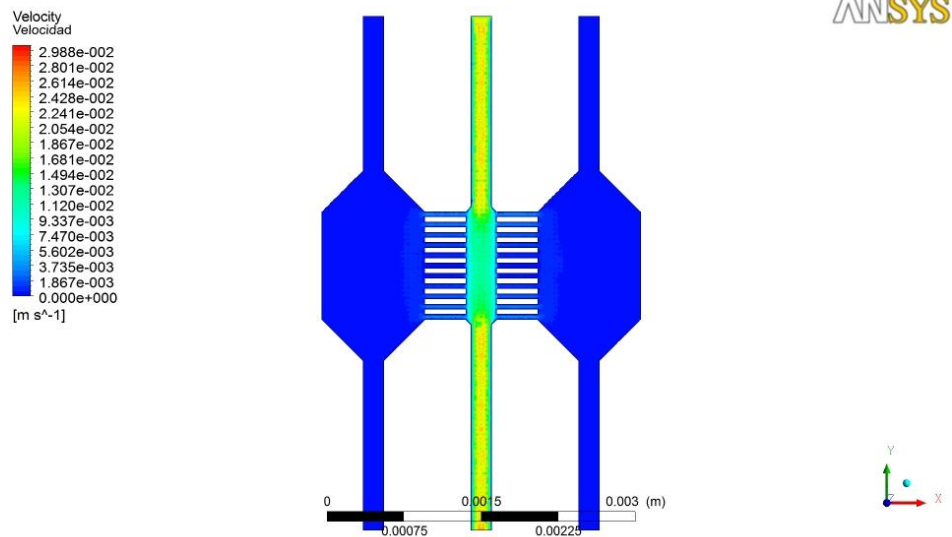


Fig. 37. Representación de las velocidades.

Como podemos observar en esta simulación se reduce el paso de flujo en el primer canal de un 11,41% del total a un 3,69% por lo tanto, este sería un dato importante a la hora del diseño de los dispositivos: **la reducción de los canales laterales.**

- Modelo CANCER W50 L400 (con inclinación en los canales)

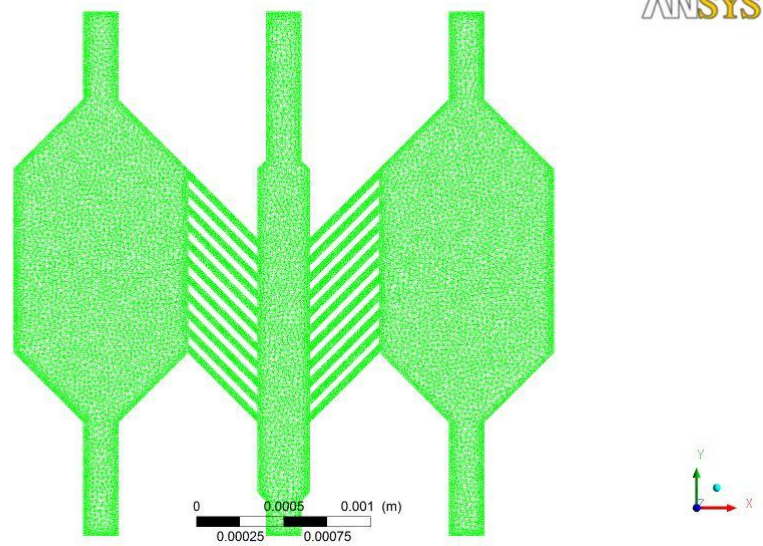


Fig. 38. Geometría chip CANCER W50 L400

Las condiciones de contorno que se tomarán para esta simulación serán las siguientes:

- 20ul/min de caudal en la entrada central
- Una presión de 101325 Pa a la salida central
- El fluido será agua a una temperatura de 25 °C.

En este caso el número de canales no será 6 sino 11, un número no par. Esto provocará no tener un número igual de canales que lleven una dirección con los que van en dirección contraria.

En la figura 39 y 40 y en la tabla 11, se pueden observar resultados con mayor exactitud con el fin de llegar a una conclusión momentánea:

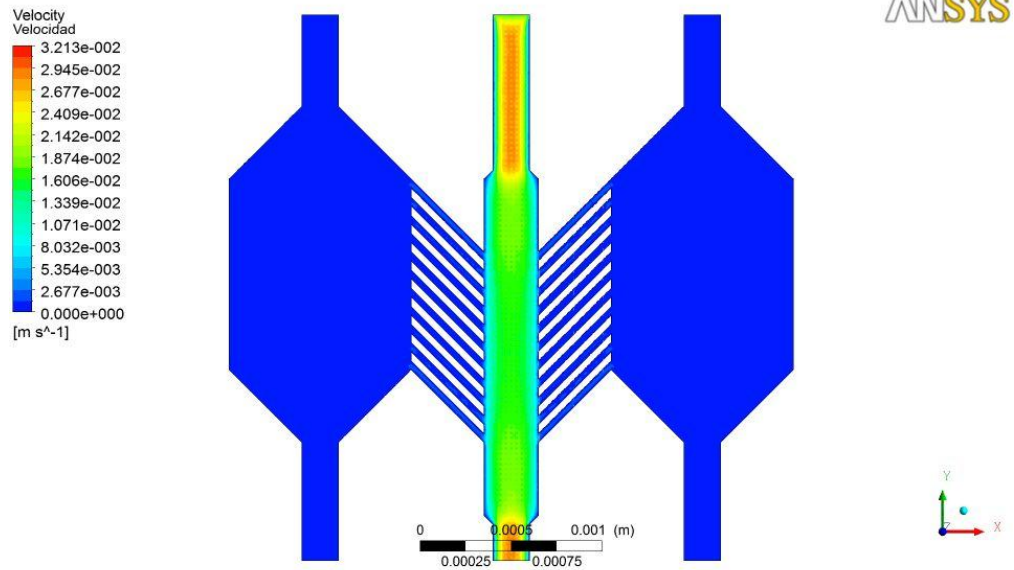


Fig. 39. Velocidades en el dispositivo. Modelo CANCER W50 L400

En este caso la velocidad máxima es similar a la que se ha obtenido en el ensayo anterior. Ahora procederemos a comprobar si el paso de flujo por los canales es similar a lo ocurrido anteriormente.

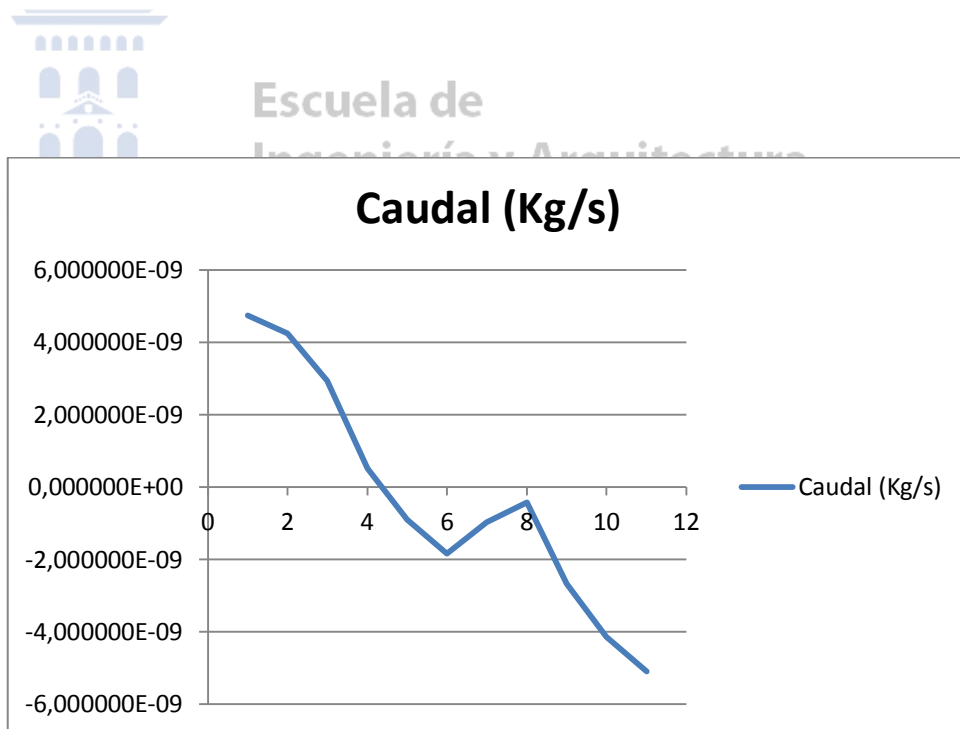


Fig. 40. Representación de los caudales en el modelo CANCER W50 L400

Cancer W50 L400		
Canal	Caudal (Kg/s)	%
1	4,736160E-09	1,42227027
2	4,2392000E-09	1,273033033
3	2,945120E-09	0,88442042
4	5,156270E-10	0,154842943
5	-8,937190E-10	-0,268384084
6	-1,844350E-09	-0,553858859
7	-9,708550E-10	-0,291548048
8	-4,280880E-10	-0,128554955
9	-2,674260E-09	-0,803081081
10	-4,137040E-09	-1,242354354
11	-5,097960E-09	-1,530918919

Tabla 11. Tabla con los resultados numéricos de los caudales en el modelo CANCER W50 L400

En la tabla 11 se han obtenido unos datos representativos referentes al caudal que pasa por cada uno de los canales de la parte izquierda. El signo positivo indica que el caudal fluye hacia la parte izquierda del dispositivo y el signo negativo indica que el caudal fluye de la parte izquierda del dispositivo al canal central.

Sobra decir que las pérdidas de caudal son menores que en cualquiera de las anteriores simulaciones y eso es un dato a tener en cuenta, **con unos canales más estrechos se conseguirá evitar que el paso de flujo a través de los canales laterales sea menor** y por lo tanto a nosotros es un dato que de cara al cultivo celular tendrá un beneficio muy notable.

- Modelo CANCER W100 L400 (diferencia de alturas en las cámaras)

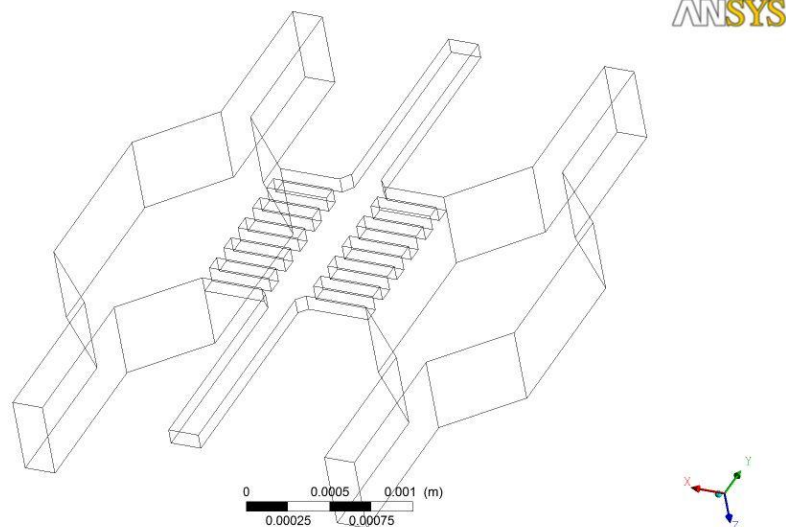


Fig. 41. Geometría del modelo CANCER W100 L400 con las cámaras profundas

Este ha sido otro de los métodos seguidos para intentar reducir en todo lo posible el paso de flujo a través de los canales. En este caso ocurre algo particular y es que al no estar las cámaras al mismo nivel que los canales el flujo que le llega a la base de la cámara (donde se encuentran las células) no va a llegar con la misma intensidad que si estuviese a su mismo nivel por lo tanto es otro dato a tener en cuenta.

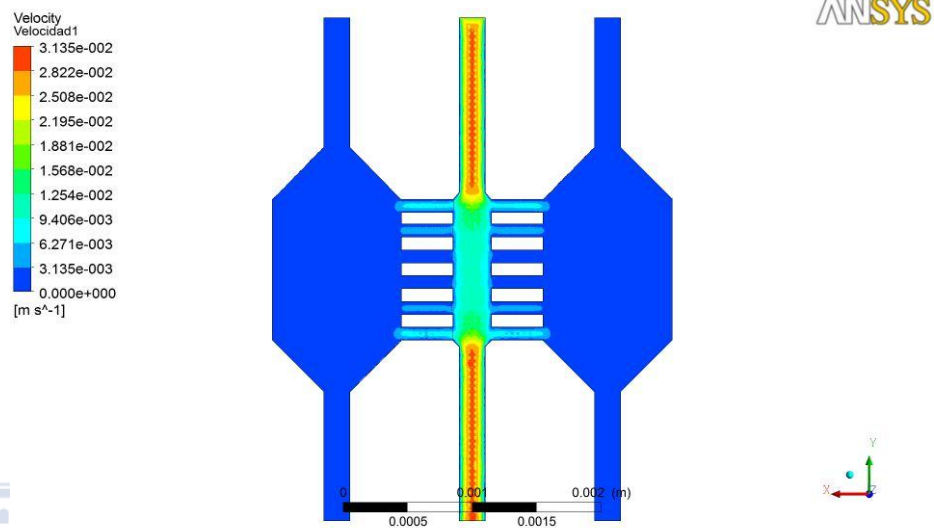


Fig. 42. Velocidades a través del dispositivo.

En un principio esto no nos dice mucho ya que las velocidades son similares a las que teníamos en el modelo con las cámaras al mismo nivel. Lo que se tiene que tener en cuenta es que la velocidad en la base no será la misma que antes ya que no le llega el mismo caudal. A continuación se muestra una imagen de las velocidades en la base del microchip:

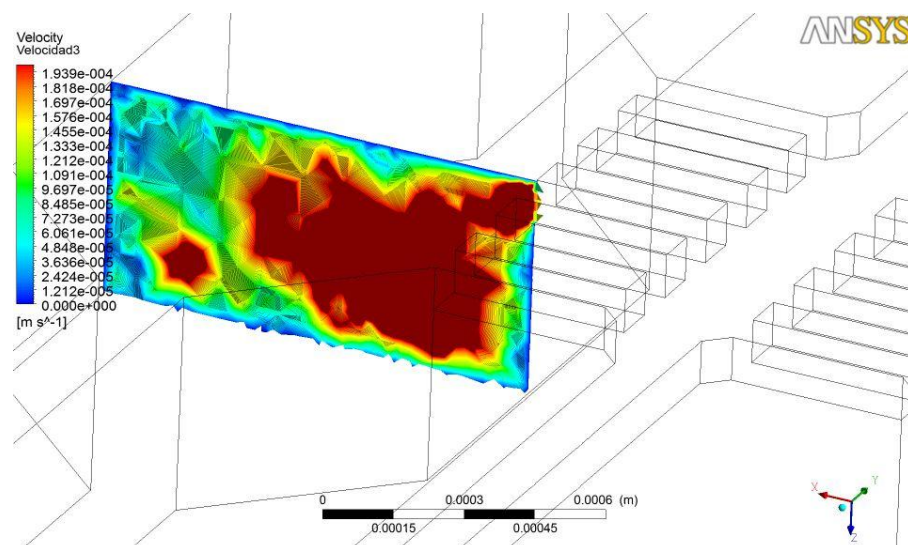


Fig. 43. Velocidades en la cámara izquierda en el plano XZ.

En la figura 43 se observa que aunque tenga el plano colores que a priori parecen dar resultados más elevados que antes no es así. En la leyenda observamos valores de velocidad el orden de 1.93 E-4 , unos valores mucho más pequeños que los obtenidos anteriormente. Se puede observar también ya el valor de velocidad que se da en la base será 0 ya que en la base del plano tenemos un color azulado lo que indica que la velocidad es nula. **Este será otro dato a tener en cuenta.**



6.3.Simulaciones con difusión de oxígeno

En las posteriores simulaciones se estudio la velocidad con la que unas determinadas partículas de oxígeno difundían a través del fluido del dispositivo.

En primer lugar lo que se debe de tener en cuenta es que el dispositivo debe estar lleno de medio, en nuestro caso agua, con sus respectivas células. A continuación se le introducirá el mismo tipo de medio pero con un determinado porcentaje de oxígeno y se observara como va difundiendo dicho oxígeno en el medio que ya teníamos antes.

La finalidad de estas simulaciones como ya se ha dicho anteriormente es obtener unas condiciones optimas para el cultivo celular en estos dispositivos, pero en este caso se va un paso más delante de cara a esta finalidad ya que se recrean unas situaciones más reales que antes debido al aporte de oxígeno.

Como sucedía antes necesitamos que la recirculación a través de los canales sea mínima y para ello se han realizado diferentes simulaciones.

Partiendo de que ya conocemos algunas soluciones para reducir la recirculación nos centraremos más en la difusión de oxígeno en algunos de los dispositivos.

Antes de comenzar la explicación de las diferentes simulaciones hay que destacar que se han realizado de dos maneras distintas. Por un lado están las simulaciones en las que con una entrada y 2 cámaras laterales se le introducía un determinado caudal y se observaba como difundía el oxígeno a través del medio, en otras se ha realizado esto mismo pero teniendo en cuenta que en las bases del dispositivo se coloca una condición que simula al consumo de oxígeno de las células. De este mismo modo se han realizado otras simulaciones pero con otros modelos distintos "GRADIENT". A diferencia de los modelos "CANCER" que han sido utilizados anteriormente, estos modelos solo poseen una cámara central y dos canales laterales sobre los que se introduce un caudal.

- Simulaciones modelos CANCER para difusión:
 - CANCER W100 L400 (Canales inclinados+ diferencia de alturas en las cámaras)

Teniendo en cuenta la inclinación de los canales laterales para reducir su recirculación la siguiente simulación se ha realizado atendiendo a las siguientes condiciones de contorno:

- Caudal 20ul/min
- Presión a la salida de 101325 Pa
- Coeficiente de difusión en la entrada 0.193 mol/m^3
- Concentración de oxígeno en el caudal introducido: 20%

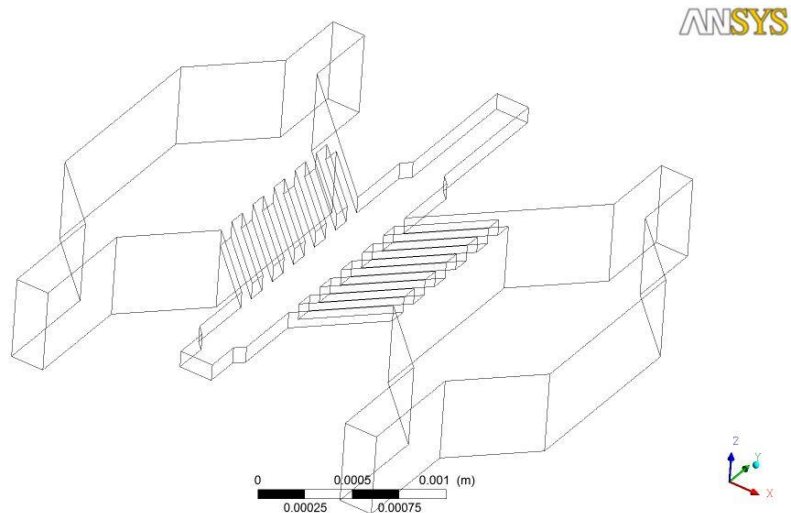


Fig. 44. Geometría del modelo.

Por medio de esta simulación se han obtenido imágenes en las que se muestra como partiendo de una concentración de 0% en el dispositivo (color azul) conforme se le introduce un flujo con su correspondiente concentración de oxígeno esta se va extendiendo, principalmente por el canal central por convección ya que es por ahí por donde pasa prácticamente todo el flujo y por difusión en las zonas más alejadas.

Lo que nos interesa de cara al cultivo celular es que la distribución de esta concentración de oxígeno se produzca por difusión y no por convección ya que esto puede provocar un arrastre de las células inicialmente sembradas en las cámaras laterales.

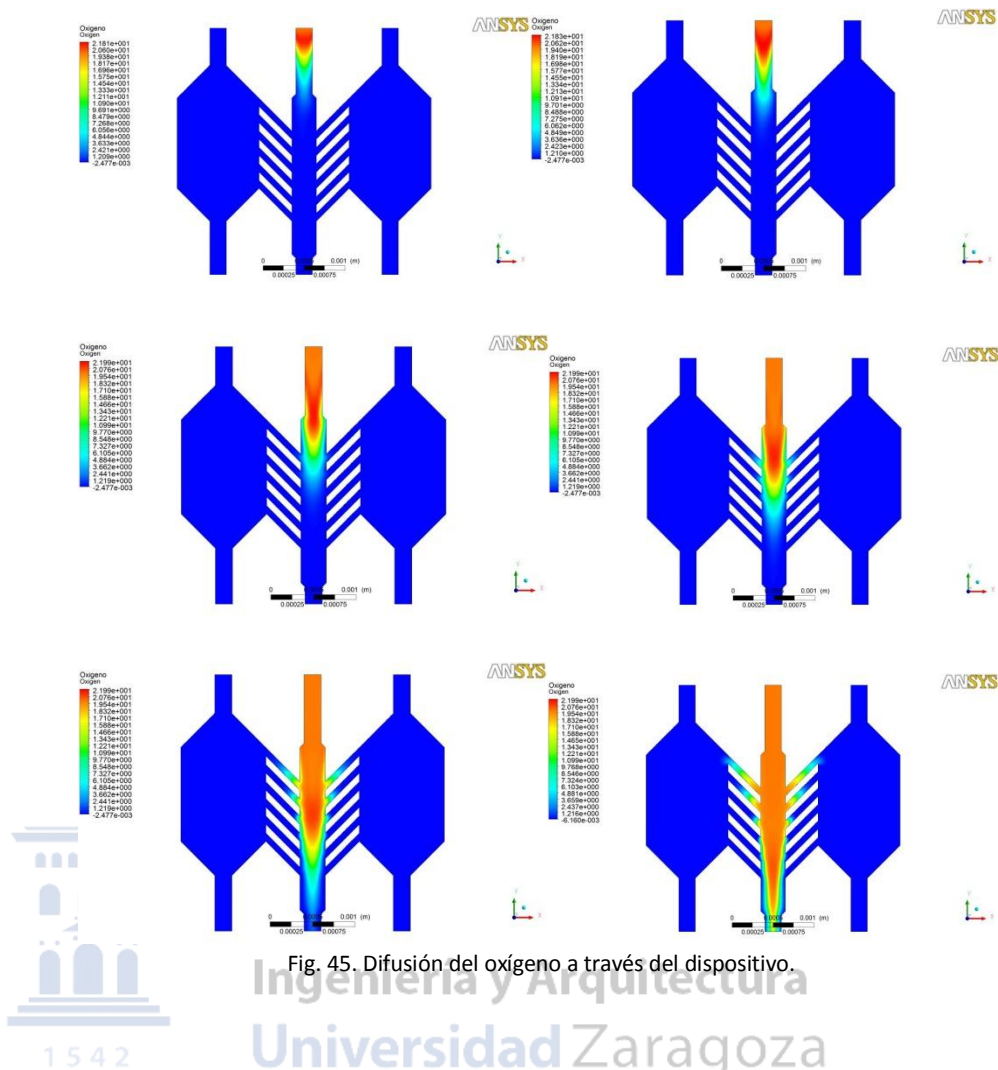


Fig. 45. Difusión del oxígeno a través del dispositivo.

- CANCER W100 L400 (Canales inclinados + diferencia de alturas en las cámaras + consumo de oxígeno en las bases)

La geometría es la misma que la de la figura 51. En este caso se ha tenido en cuenta que las bases van a consumir oxígeno de forma similar a como lo harían las células. Las condiciones de contorno que se han utilizado han sido:

- Caudal de 20ul/min
- Presión a la salida de 101325 Pa
- Coeficiente de difusión en la entrada 0.192 mol/m³

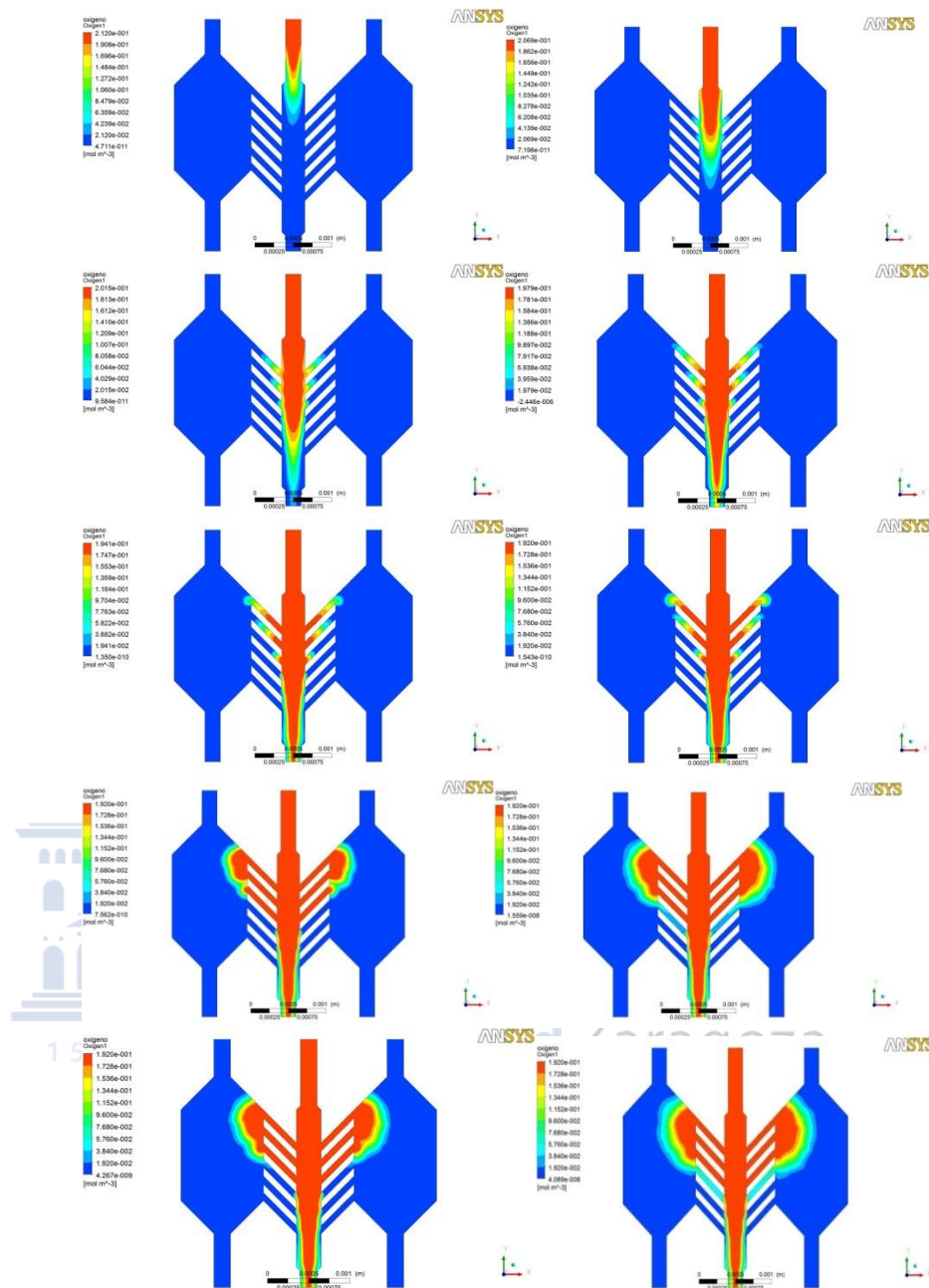


Fig. 46. Difusión de oxígeno en diferentes intervalos de tiempo.

Como podemos observar en las diferentes imágenes de la figura 56, en las que pasa un determinado flujo a un caudal de 20ul/min con un 20% de oxígeno disuelto en el, el oxígeno va primero extendiéndose por el dispositivo mediante convección, es decir, en aquellas zonas en las que tengamos paso de flujo con concentración de oxígeno el porcentaje de oxígeno en dichas zonas acabara siendo prácticamente del 20%. En la figura se puede observar lo que se ha dicho ya que por aquellas zonas por las que pasa el flujo con oxígeno están de un color rojo. De esto podemos deducir lo que se ha explicado en la anterior simulación, en las zonas en las que tenemos un color rojo son zonas de paso de flujo y por el oxígeno se va extendiendo por convección. En las zonas con un color verde-azulado se

deduce que la concentración de oxígeno que ha adquirido dicha zona se ha producido por difusión y no por convección.

Por otro lado una vez que se llega a un estacionario la distribución de oxígeno comenzara a ser por difusión y se producirá en aquellas zonas en las que no llegue flujo como ocurre en las zonas con un color verde.

- Simulaciones modelos GRADIENT para difusión

- GW100L400

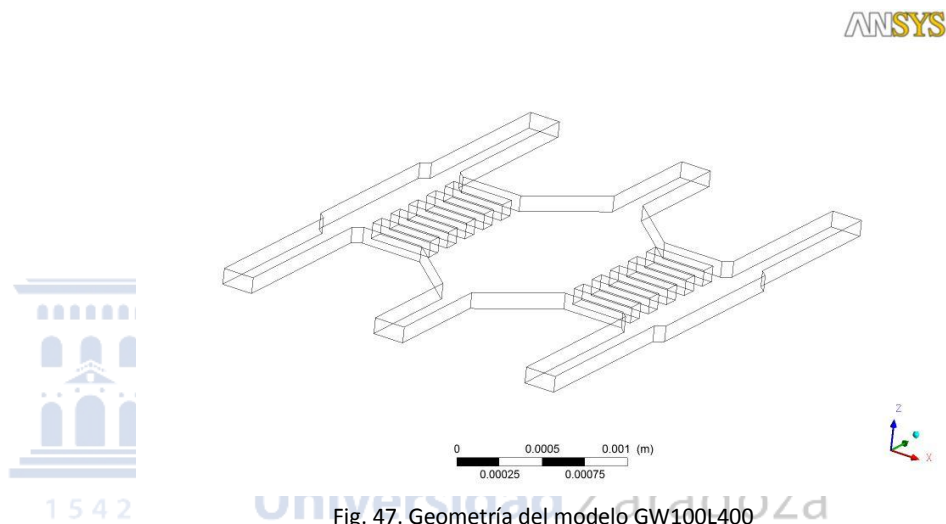


Fig. 47. Geometría del modelo GW100L400

Con estos modelos lo que se quiere estudiar es el comportamiento que tienen las células, sembradas inicialmente en la cámara central, como por ejemplo su movilidad y su comportamiento puntual con respecto a los diferentes gradientes de oxígeno que se producen.

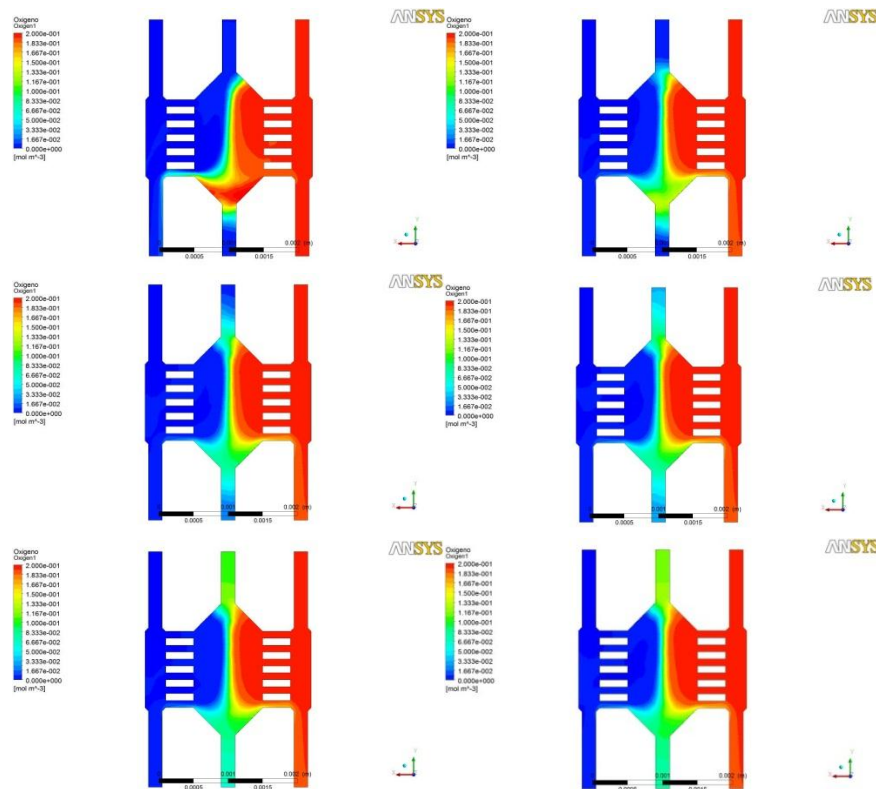


Fig 48. Difusión de oxígeno en el modelo GW100L400 en diferentes instantes de tiempo

En este tipo de modelos como ya se ha dicho se introduce caudal por dos zonas distintas. Además, hay que destacar que solo tenemos una cámara para el cultivo de células en vez de dos como ocurría en las anteriores simulaciones.

Las condiciones de contorno aplicadas en este modelo son las siguientes:

- Caudal de entrada 1A es de 20ul/min sin concentración de oxígeno
- Caudal de entrada 3A es de 20ul/min con una concentración de oxígeno del 20%.
- Las presiones de salida en ambas salidas es de 101325Pa

Como se ha explicado en la simulación anterior en aquellas zonas en las que tengamos un paso de flujo la concentración de oxígeno será aquella que posea el flujo que pasa por esa zona. Lo que ocurre en esta simulación es que al tener un gran paso de flujo a través de los canales laterales esto provoca que en la cámara central se produzca un gradiente de difusión muy pequeño y esto no es una buena señal debido a que muchas de las células serán arrastradas por el paso del flujo y además el gradiente que se produce es demasiado estrecho por lo que no se puede apreciar bien el comportamiento en cada concentración de oxígeno.

- GW50L400 (canales inclinados)

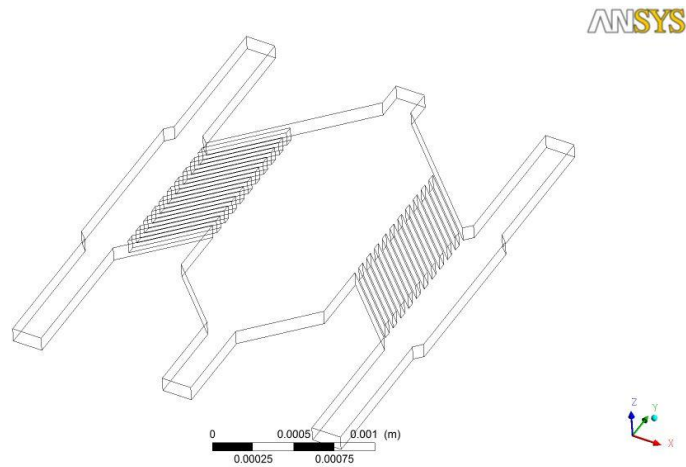


Fig. 49. Geometría modelo GW50L400 con canales inclinados 45 grados

En esta simulación se han tomado unas condiciones de contorno similares a las utilizadas en las dos anteriores. Se ha tenido también en cuenta las primeras simulaciones de paso de flujo para evitar en la medida de lo posible la recirculación de flujo en los canales laterales.

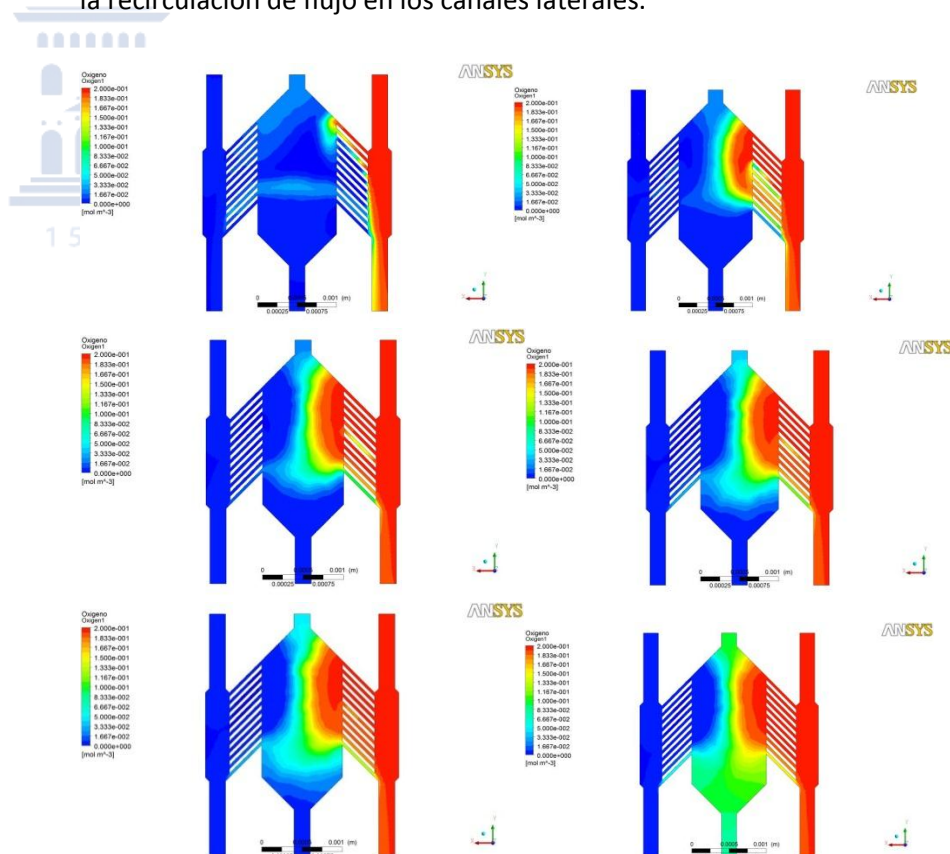


Fig. 50. Difusión en diferentes instantes de tiempo.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la parte de “Primeras simulaciones” se han realizado nuevas simulaciones como la de la figura 49.

En la simulación anterior (figura 47) decíamos que no nos servía el chip debido a que el gradiente de difusión era muy pequeño a causa del paso de flujo a través de los canales laterales. Modificando la geometría atendiendo los resultados de paso de flujo hemos visto como el gradiente de difusión se vuelve más ancho en el centro de la cámara. Esto quiere decir que ya no tenemos tantas zonas, con un porcentaje de oxígeno debido a la recirculación y por lo tanto como se observa en la última imagen, en estado estacionario, las zonas verdes indican que ha habido una mayor distribución de oxígeno por difusión y no por convección.

- GW50L400 (canales inclinados + consumo de oxigeno en la cámara)

La geometría es la misma que en la figura 56, lo único que cambia es el consumo de oxígeno en la base de la cámara, por lo que esto provocará una variación en el gradiente de oxígeno.

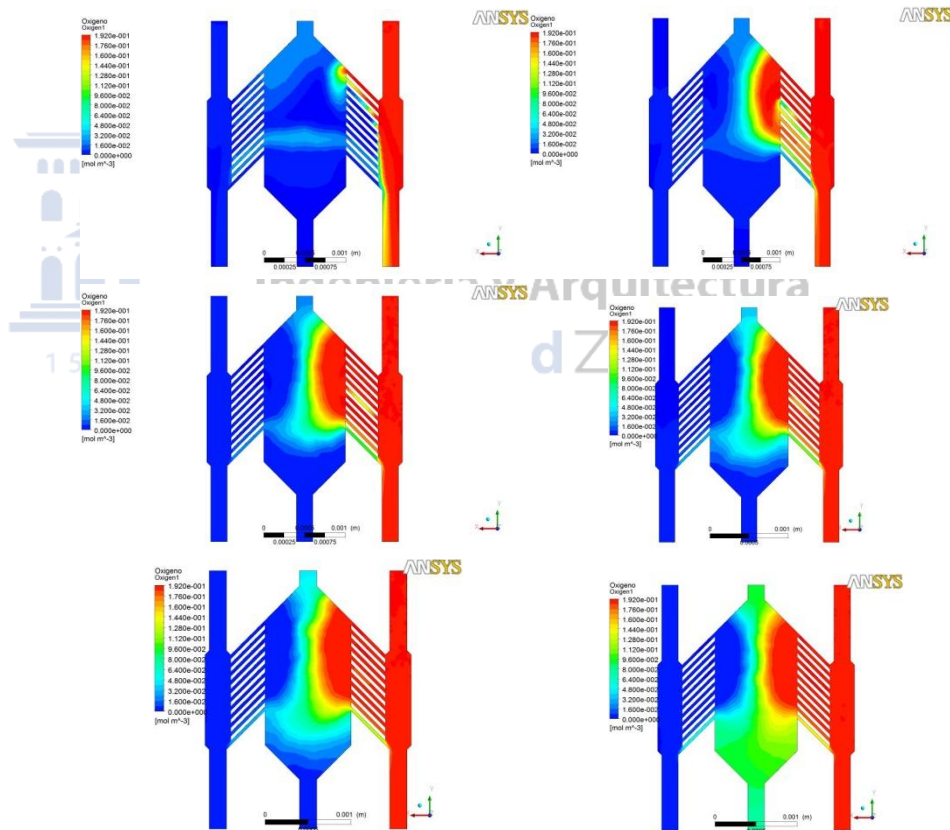


Fig. 51. Difusión de oxígeno en diferentes instantes de tiempo

Al igual que en la simulación anterior se observa como el paso de flujo con su correspondiente concentración de flujo provoca un reparto de oxígeno debido a convección y con el paso del tiempo esta distribución de la concentración de oxígeno se origina por difusión.



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Capítulo 7

7. Conclusiones del proyecto

Como ya se ha dicho anteriormente el objetivo del proyecto se basa en el cultivo celular en dispositivos microfluídicos y para ello son necesarias unas condiciones de contorno y una geometría del dispositivo, capaces de lograr este objetivo.

A continuación se explican por puntos las conclusiones que se han obtenido en el presente proyecto:

7.1.Caudal de entrada.

Al introducir un determinado caudal en el dispositivo vamos a provocar una serie de corrientes dentro de este. Antes de introducirle dicho caudal en la base de las cámaras del dispositivo se han introducido células con el fin de ver como estas se desarrollan. Si el caudal es muy elevado provocará que el paso de caudal a través de los canales laterales sea elevado y esto no es conveniente ya que arrastrará a su paso a las células que se habían sembrado en la base de las cámaras, así que por lo tanto esta es una de las conclusiones que se han obtenido (para más información consultar capítulo 6).

7.2.Geometría del microchip.

Realizando las diferentes simulaciones con unos determinados caudales de entrada se han estudiado los distintos caudales que pasan por los canales laterales. Dichos caudales variaban teniendo en cuenta la geometría del microchip, es decir, no en todas las geometrías con un mismo caudal se producía el mismo caudal en cada uno de los canales.

A continuación se muestran algunas de las conclusiones obtenidas de las diferentes geometrías del microchip:

- Reducción de la anchura de los canales que unen el canal central con las cámaras laterales. Con esto se conseguía reducir el paso de flujo a través de los canales laterales de un 20% a un 9.69% del total.
- Situar las bases de las cámaras a diferente altura que el canal central. Con esto aunque el paso de flujo en los canales laterales sea el mismo, que sin dicha diferencia de alturas, no afecta tanto a las células situadas en las bases de las cámaras ya que el caudal que pasa a través de los canales no llega con tanta intensidad como si estuvieran a la misma altura.

- Crear una determinada inclinación en los canales que unen el canal central con las cámaras laterales de manera que esto provoque una reducción del paso de flujo en los canales. Este método ha sido, de cara a evitar dicho paso de flujo el mejor ya que de tener una un paso de flujo total en los canales de un 20% aproximadamente en la simulación de la figura 30 se ha reducido a un 8.24% en la simulación de la figura 33.
- De cara al diseño del dispositivo la geometría óptima podría considerarse aquella que tuviera las cámaras laterales a diferente altura que el canal central, unos canales laterales muy estrechos y una inclinación de dichos canales.

7.3.Geometría del chip de cara a la difusión de oxígeno

- Una vez que conocíamos los resultados obtenidos de recirculación de caudal en las diferentes geometrías se procedió a realizar unas simulaciones para estudiar como difundía oxígeno a través del dispositivo. Partiendo de que nosotros queremos que la distribución de oxígeno se produzca por difusión y no por convección se debía de tener en cuenta una geometría que cumpliera las condiciones para tener la menor recirculación en los canales laterales posible. Estas condiciones fueron el dar una menor anchura a los canales laterales y además inclinarlos para complicar el paso de flujo a través de ellos. Con estas soluciones el gradiente de difusión se vio incrementado.



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Apéndice A

8. Ecuaciones fundamentales de la dinámica de fluidos y del transporte de materia

8.1.A.1. Ecuaciones fundamentales

El análisis del flujo se puede llevar a cabo mediante ecuaciones fundamentales, basadas principalmente en la conservación de masa, los momentos y la energía. A partir de estas ecuaciones surgen las ecuaciones de Navier-Stokes, también llamadas ecuaciones generales de la Mecánica de Fluidos, las cuales serán explicadas más adelante.

8.1.1. A.1.1. Ecuación de conservación de masa

El principio de conservación de la masa consiste en que la masa total de un sistema cerrado, el cual no intercambia masa con su entorno ni contiene fuentes ni sumideros, permanece constante con el tiempo, es decir:

$$\frac{dM}{dt} = 0$$

La ecuación de conservación se puede formular como:

$$\text{Variación de masa en un volumen fluido} = \sum \text{flujos másicos entrantes al volumen fluido} - \sum \text{flujos másicos salientes del volumen fluido}.$$

La figura A.1 muestra un elemento diferencial de volumen dV , cuyos lados son dx , dy , dz . El flujo másico entrante por el lado izquierdo (ρu) cambia de posición desde x hasta $x+dx$ produciendo una variación en el flujo másico de valor $\theta(\rho u) / \theta x dx$.

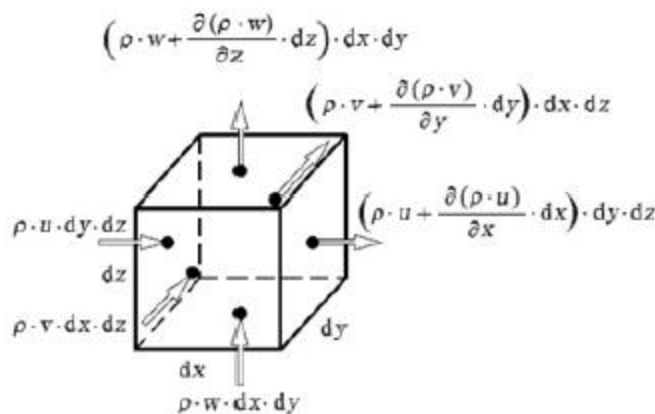


Figura A.1. flujo másico en un elemento diferencial de volumen dV .

Por lo que el flujo másico saliente del elemento diferencial de volumen en el eje x a través de la superficie $dy dz$ es:

$$\left(\rho u + \frac{\partial(\rho u)}{\partial x} dx \right) dy dz$$

(A.1)

En las restantes direcciones se obtienen expresiones análogas tomando como superficie $dx dz$ para el eje z.

Según la ecuación de conservación, la variación de masa en un volumen fluido corresponde a la diferencia entre el flujo másico entrante y el flujo másico saliente, por lo que formulando este principio y según la ecuación anterior, la cual representa el flujo másico saliente, se obtiene la siguiente ecuación:

$$\begin{aligned} \frac{\partial \rho}{\partial t} dx dy dz = & (\rho u - (\rho u + \frac{\partial(\rho u)}{\partial x} dx)) dy dz + \\ & (\rho v - (\rho v + \frac{\partial(\rho v)}{\partial y} dy)) dx dz + \\ & (\rho w - (\rho w + \frac{\partial(\rho w)}{\partial z} dz)) dx dy \end{aligned}$$

Lo que conduce a la ecuación de conservación de la masa o ecuación de continuidad:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial(\rho u)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho v)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho w)}{\partial z} = 0$$

(A.2)

Que en forma diferencial queda:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \cdot \mathbf{v}) = 0$$

(A.3)

Para que un fluido incompresible, cuya densidad es constante, la ecuación de conservación se simplifica a:

$$\frac{\partial(\rho u)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho v)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho w)}{\partial z} = 0 \implies \nabla \cdot \mathbf{v} = 0$$

(A.4)

Siendo:

$$\nabla = \left(\frac{\partial}{\partial x}, \frac{\partial}{\partial y}, \frac{\partial}{\partial z} \right)^T$$

8.1.2. A.1.2. Ecuación de conservación de la cantidad de movimiento

Se va a analizar esta situación como en el caso anterior, partiendo de un elemento diferencial de volumen y estudiando la variación de momento que se produce en su interior. El momento es el producto de la masa por la velocidad. El momento del fluido que se encuentra en el interior del elemento diferencial del volumen es $\rho \, dx \, dy \, dz \, v$ y su variación se puede describir como:

$$\frac{\partial(\rho \, dx \, dy \, dz \, v)}{\partial t} = \frac{\partial(\rho \, v)}{\partial t} \, dx \, dy \, dz$$

Inicialmente se va a restringir el estudio al eje x, en el cual, el flujo de momento que entra a través de la superficie $dy \, dz$ es:

$$(\rho \, u) \, u \, dy \, dz = \rho \, u \, u \, dy \, dz$$

El valor $\rho \, u \, u$ cambia su valor a lo largo de la dirección x, por lo que el flujo de momento que se sale del elemento de volumen a través de la superficie derecha $dy \, dz$ es:

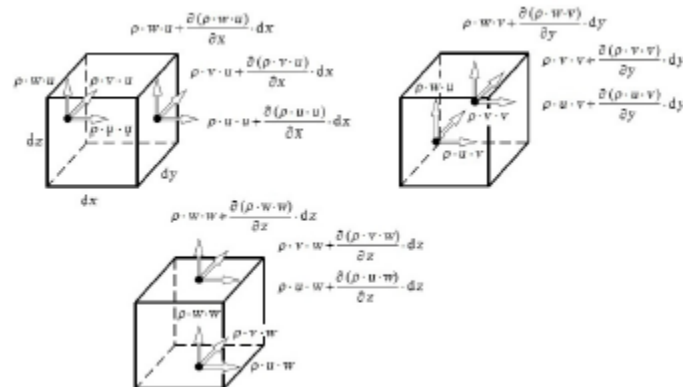


Figura A.2: Flujos de momentos en un elemento diferencial de volumen dV

$$\left(\rho \, u \, u + \frac{\partial(\rho \, u \, u)}{\partial x} \, dx \right) \, dy \, dz$$

En las restantes direcciones se obtienen expresiones análogas tomando como superficies $dx \, dz$ para el eje y, $dx \, dy$ para el eje z y tomando las componentes de velocidad adecuadas, v y z

respectivamente. En la figura A.2 se puede observar los tres flujos de momentos que se obtienen en cada una de las superficies del elemento diferencial de volumen.

En este caso, los flujos de momento que entran o salen del elemento diferencial de volumen no son las únicas causas que ocasionan la variación de momento en el interior del elemento diferencial. Considerando que la resultante de las fuerzas aplicadas en cada porción de fluido no es nula y según la segunda Ley de Newton podemos obtener lo siguiente:

$$\sum_i \mathbf{F}_i = \frac{d}{dt} \int_{x=V} \rho \mathbf{v} dV$$

Siendo \mathbf{F} las fuerzas que pueden actuar sobre un sistema fluido. Estas fuerzas pueden ser fuerzas de volumen o fuerzas de superficie, es decir:

$$\sum_i \mathbf{F}_i = \mathbf{F}_s + \mathbf{F}_v$$

En primer lugar se estudian las fuerzas de superficie. Dichas fuerzas son ejercidas por la materia que esta en contacto directo con la superficie considerada. La fuerza de superficie total que actúa sobre un volumen de fluido V limitado por una superficie cerrada S se obtiene como la suma de todas las fuerzas diferenciales que actúan sobre todos los elementos de área que envuelven el fluido.

$$\mathbf{F}_s = \int_S d\mathbf{F}_s$$

La fuerza elemental se calcula como el producto de la fuerza por unidad de superficie f_s por el área ds sobre la que actúa. En el caso más general, la fuerza por unidad de superficie depende del punto del fluido, del tiempo y de la dirección normal \mathbf{n} de la superficie, es decir, de la orientación que tenga el elemento diferencial de área.

$$d\mathbf{F}_s = \mathbf{f}_s \cdot d\mathbf{s}$$

Mediante la figura A.3 se van a calcular las fuerzas por unidad de superficie que actúan sobre un volumen fluido. Estas fuerzas se pueden desglosar

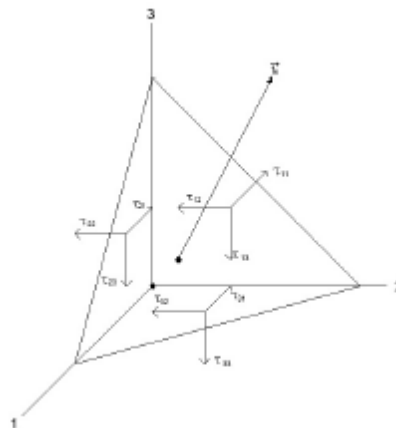


Figura A.3: Fuerzas sobre un tetraedro diferencial de fluido aislado de su entorno

en tres ecuaciones teniendo en cuenta que la fuerza sobre cada cara proyectada puede expresarse como la suma de los esfuerzos elementales según las direcciones de referencia, es decir:

$$\mathbf{f}_S(\mathbf{n}_i) = \tau_{i1} \mathbf{n}_1 + \tau_{i2} \mathbf{n}_2 + \tau_{i3} \mathbf{n}_3$$

Siendo el primer subíndice la dirección normal a la superficie de apoyo y el segundo subíndice la dirección del esfuerzo considerado.

El sistema de ecuaciones escalares se puede escribir en notación vectorial de la siguiente forma:

$$\mathbf{f}_S = \boldsymbol{\tau} \cdot \mathbf{n}$$

(A.5)

Donde $\boldsymbol{\tau}$ es un tensor de segundo orden denominado tensor de esfuerzos y dado por:

$$\begin{pmatrix} \tau_{xx} & \tau_{xy} & \tau_{xz} \\ \tau_{yx} & \tau_{yy} & \tau_{yz} \\ \tau_{zx} & \tau_{zy} & \tau_{zz} \end{pmatrix}$$

(A.6)

Los componentes de la diagonal principal representan fuerzas de tracción o compresión en función de su signo. El resto de componentes representan esfuerzos cortantes. A demás, el tensor de esfuerzos es simétrico por lo que $\tau_{ij} = \tau_{ji}$.

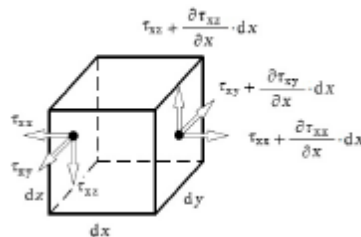


Figura A.4: Tensiones normales y tangenciales en un elemento diferencial de volumen dV

Al igual que ocurre con el flujo de momento, las tensiones cambian su valor a lo largo de cada una de las direcciones como se puede observar en la figura A.4.

En cuanto a las fuerzas de volumen, la fuerza de gravedad es la más importante, aunque también se encuentran entre ellas las fuerzas eléctricas y las fuerzas magnéticas, entre otras. La fuerza de volumen total que actúa sobre un volumen de fluido V limitado por una superficie cerrada S se obtiene como suma de todas las fuerzas elementales que actúan sobre todas las partículas fluidas según la expresión:

$$\mathbf{F}_V = \int_V d\mathbf{F}_V$$

En general se puede decir que:

Variación de momento en un volumen fluido = \sum flujos momento entrantes al volumen fluido - \sum flujos momento salientes del volumen fluido + \sum tensiones normales y tangenciales sobre el elemento de volumen + \sum fuerzas de volumen sobre la masa del elemento de volumen

Por lo que formulando queda:


Eje x:

$$\begin{aligned} \frac{\partial(\rho \cdot u)}{\partial t} \cdot dx \cdot dy \cdot dz = & \left(\rho \cdot u \cdot u - \left(\rho \cdot u \cdot u + \frac{\partial(\rho \cdot u \cdot u)}{\partial x} \cdot dx \right) \right) \cdot dy \cdot dz \\ & + \left(\rho \cdot u \cdot v - \left(\rho \cdot u \cdot v + \frac{\partial(\rho \cdot u \cdot v)}{\partial y} \cdot dy \right) \right) \cdot dx \cdot dz \\ & + \left(\rho \cdot u \cdot w - \left(\rho \cdot u \cdot w + \frac{\partial(\rho \cdot u \cdot w)}{\partial z} \cdot dz \right) \right) \cdot dx \cdot dy \\ & + F_x \cdot dx \cdot dy \cdot dz \\ & + \left(-\tau_{xx} + \left(\tau_{xx} + \frac{\partial(\tau_{xx})}{\partial x} \cdot dx \right) \right) \cdot dy \cdot dz \\ & + \left(-\tau_{yx} + \left(\tau_{yx} + \frac{\partial(\tau_{yx})}{\partial y} \cdot dy \right) \right) \cdot dx \cdot dz \\ & + \left(-\tau_{zx} + \left(\tau_{zx} + \frac{\partial(\tau_{zx})}{\partial z} \cdot dz \right) \right) \cdot dx \cdot dy \end{aligned} \quad (I)$$

(A.7)

Simplificando la ecuación A.7 queda:

Eje x:



$$\begin{aligned} \frac{\partial(\rho \cdot u)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho \cdot u \cdot u)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho \cdot u \cdot v)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho \cdot u \cdot w)}{\partial z} \\ = F_x + \frac{\partial \tau_{xx}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yx}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zx}}{\partial z} \end{aligned}$$

(A.8)

En el resto de los ejes se obtienen expresiones similares:

Eje y:

$$\begin{aligned} \frac{\partial(\rho \cdot v)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho \cdot v \cdot u)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho \cdot v \cdot v)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho \cdot v \cdot w)}{\partial z} \\ = F_y + \frac{\partial \tau_{xy}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yy}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zy}}{\partial z} \end{aligned}$$

(A.9)

Eje z:

$$\begin{aligned} \frac{\partial(\rho \cdot w)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho \cdot w \cdot u)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho \cdot w \cdot v)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho \cdot w \cdot w)}{\partial z} \\ = F_z + \frac{\partial \tau_{xz}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yz}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zz}}{\partial z} \end{aligned}$$

(A.10)

Las ecuaciones A.8, A.9, A.10 son las ecuaciones de conservación de la cantidad de movimiento.

En forma diferencial se pueden expresar del siguiente modo:

$$\nabla \cdot \tau + \mathbf{F}_V = \frac{\partial(\rho \cdot \mathbf{v})}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \cdot \mathbf{v}\mathbf{v})$$

(A.11)

8.1.3. A.2. Ecuaciones de Navier-Stokes

Como se ha dicho anteriormente, las ecuaciones de Navier-Stokes están constituidas por el conjunto de leyes de conservación de las magnitudes fluidas y todas las relaciones constitutivas necesarias para cerrar el problema.

Dichas ecuaciones forman un sistema cerrado que permite determinar los valores de todas las magnitudes fluidas.

Se van a obtener estas ecuaciones partiendo de la ley de conservación de la cantidad de movimiento a la cual se le va a añadir el efecto de la viscosidad del fluido. El efecto de la viscosidad queda presente en el tensor de esfuerzos por lo que inicialmente se va a analizar la variación del tensor de esfuerzos debido a los efectos de la viscosidad.

Un fluido no admite esfuerzos cortantes sin deformarse continuamente por lo que la deformación continua implica movimiento. De esto se deduce que si un fluido está en reposo no puede haber esfuerzos cortantes, por lo que los términos del tensor de esfuerzos que se encuentran fuera de la diagonal principal serán nulos $\tau_{ij} = 0$ si i distinto de j . Además, por convención, en la mayor parte de los casos un fluido estático soporta esfuerzos de compresión, por lo que se suele escribir:

$$\tau_{ij} = -p \cdot \delta_{ij}$$

(A.12)

Siendo δ_{ij} el tensor delta de Kronecker cuyo valor es uno cuando los subíndices son iguales y cero cuando son distintos. En notación matricial el tensor delta de Kronecker coincide con la matriz unitaria.

Escribiendo el tensor completo queda:

$$\begin{pmatrix} -p & 0 & 0 \\ 0 & -p & 0 \\ 0 & 0 & -p \end{pmatrix}$$

(A.13)

Además, la presión se puede escribir como la media de los tres esfuerzos normales con signo negativo, el cual indica que la presión actúa en el sentido opuesto a la tensión normal:

$$p = -\frac{\tau_{xx} + \tau_{yy} + \tau_{zz}}{3}$$

(A.14)

En cambio, en un fluido en movimiento sí que aparecen esfuerzos cortantes de manera que el tensor de esfuerzos puede tener sus 6 componentes distintas de cero. Por simplicidad, el tensor de esfuerzos dinámicos se construye a partir del término estático, debido a la presión, sumándole un término dinámico τ' denominado tensor de esfuerzos viscosos, el cual representa la contribución debida al movimiento del fluido, es decir:

$$\tau = -p \cdot \mathbf{I} + \tau'$$

(A.15)

Las tensiones normales τ_{xx} , τ_{yy} y τ_{zz} pueden dividirse en dos partes, parte debida a la presión y la contribución debida a la fricción del fluido σ_{xx} , σ_{yy} y σ_{zz} :

$$\tau_{xx} = \sigma_{xx} - p \quad \tau_{yy} = \sigma_{yy} - p \quad \tau_{zz} = \sigma_{zz} - p$$

(A.16)

Insertando la ecuación A.16 en las ecuaciones de conservación de la cantidad de movimiento, A.8, A.9, A.10 se obtiene:

$$\begin{aligned} \frac{\partial(\rho \cdot u)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho \cdot u^2)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho \cdot u \cdot v)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho \cdot u \cdot w)}{\partial z} &= F_x - \frac{\partial p}{\partial x} + \frac{\partial \sigma_{xx}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yx}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zx}}{\partial z} \end{aligned}$$

(A.17)

$$\begin{aligned} \frac{\partial(\rho \cdot v)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho \cdot v \cdot u)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho \cdot v^2)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho \cdot v \cdot w)}{\partial z} &= F_y - \frac{\partial p}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{xy}}{\partial x} + \frac{\partial \sigma_{yy}}{\partial y} + \frac{\partial \tau_{zy}}{\partial z} \end{aligned}$$

(A.18)

$$\begin{aligned} \frac{\partial(\rho \cdot w)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho \cdot w \cdot u)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho \cdot w \cdot v)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho \cdot w^2)}{\partial z} &= F_z - \frac{\partial p}{\partial z} + \frac{\partial \tau_{xz}}{\partial x} + \frac{\partial \tau_{yz}}{\partial y} + \frac{\partial \sigma_{zz}}{\partial z} \end{aligned}$$

(A.19)

Además, los fluidos, como consecuencia de las débiles interacciones entre sus partículas presentan un comportamiento especial ante esfuerzos tangenciales. En los fluidos las fuerzas internas se reducen a la fricción, cuya acción es disipadora de energía. Ante una fuerza de cizalla impuesta externamente las partículas fluidas se ponen en movimiento unas respecto a otras generándose una fricción constante externa. La relación entre la tensión cortante y la velocidad de deformación para un fluido Newtoniano viene dada por la *Ley de Viscosidad de Newton*.

$$\tau_{ik} = \mu \cdot \left(\frac{\partial u_i}{\partial x_k} + \frac{\partial u_k}{\partial x_i} \right)$$

(A.20)

Siendo μ la constante de proporcionalidad. Dicha constante es una propiedad física exclusiva de los fluidos que recibe el nombre de viscosidad dinámica.

Además, para un fluido Newtoniano también se cumple:

$$\sigma_{xx} = 2 \cdot \mu \cdot \frac{\partial u}{\partial x} - \frac{2}{3} \cdot \mu \cdot \left(\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial w}{\partial z} \right)$$

(A.21)

$$\sigma_{yy} = 2 \cdot \mu \cdot \frac{\partial v}{\partial y} - \frac{2}{3} \cdot \mu \cdot \left(\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial w}{\partial z} \right)$$

(A.22)

$$\sigma_{zz} = 2 \cdot \mu \cdot \frac{\partial w}{\partial z} - \frac{2}{3} \cdot \mu \cdot \left(\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} + \frac{\partial w}{\partial z} \right)$$

(A.23)

Introduciendo las ecuaciones A.20, A.21, A.22, A.23, junto con la condición de simetría, en las ecuaciones obtenidas a partir de la ecuación de conservación de la cantidad de movimiento A.17, A.18, A.19 se obtienen las ecuaciones de Navier-Stokes:

$$\begin{aligned}
 & \frac{\partial(\rho \cdot u)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho \cdot u^2)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho \cdot u \cdot v)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho \cdot u \cdot w)}{\partial z} \\
 &= F_x - \frac{\partial p}{\partial x} + \frac{\partial}{\partial x} \left[\mu \cdot \left(2 \cdot \frac{\partial u}{\partial x} - \frac{2}{3} \cdot (\nabla \cdot \mathbf{v}) \right) \right] \\
 &+ \frac{\partial}{\partial y} \left[\mu \cdot \left(\frac{\partial u}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial x} \right) \right] + \frac{\partial}{\partial z} \left[\mu \cdot \left(\frac{\partial u}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial x} \right) \right] \\
 \\
 & \frac{\partial(\rho \cdot v)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho \cdot v \cdot u)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho \cdot v^2)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho \cdot v \cdot w)}{\partial z} \\
 &= F_y - \frac{\partial p}{\partial y} + \frac{\partial}{\partial x} \left[\mu \cdot \left(\frac{\partial u}{\partial y} + \frac{\partial v}{\partial x} \right) \right] \\
 &+ \frac{\partial}{\partial y} \left[\mu \cdot \left(2 \cdot \frac{\partial v}{\partial y} - \frac{2}{3} \cdot (\nabla \cdot \mathbf{v}) \right) \right] + \frac{\partial}{\partial z} \left[\mu \cdot \left(\frac{\partial v}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial y} \right) \right] \\
 \\
 & \frac{\partial(\rho \cdot w)}{\partial t} + \frac{\partial(\rho \cdot w \cdot u)}{\partial x} + \frac{\partial(\rho \cdot w \cdot v)}{\partial y} + \frac{\partial(\rho \cdot w^2)}{\partial z} \\
 &= F_z - \frac{\partial p}{\partial z} + \frac{\partial}{\partial x} \left[\mu \cdot \left(\frac{\partial u}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial x} \right) \right] \\
 &+ \frac{\partial}{\partial y} \left[\mu \cdot \left(\frac{\partial v}{\partial z} + \frac{\partial w}{\partial y} \right) \right] + \frac{\partial}{\partial z} \left[\mu \cdot \left(2 \cdot \frac{\partial w}{\partial z} - \frac{2}{3} \cdot (\nabla \cdot \mathbf{v}) \right) \right]
 \end{aligned}$$

(A.24)

Para un fluido incompresible y asumiendo que la viscosidad es constante las ecuaciones se pueden expresar de la siguiente manera:



$$\begin{aligned}
 & \rho \left(\frac{\partial u}{\partial t} + u \cdot \frac{\partial u}{\partial x} + v \cdot \frac{\partial u}{\partial y} + w \cdot \frac{\partial u}{\partial z} \right) \\
 &= F_x - \frac{\partial p}{\partial x} + \mu \cdot \left(\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} \right)
 \end{aligned}$$

(A.26)

$$\begin{aligned}
 & \rho \left(\frac{\partial v}{\partial t} + u \cdot \frac{\partial v}{\partial x} + v \cdot \frac{\partial v}{\partial y} + w \cdot \frac{\partial v}{\partial z} \right) \\
 &= F_y - \frac{\partial p}{\partial y} + \mu \cdot \left(\frac{\partial^2 v}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial z^2} \right)
 \end{aligned}$$

(A.27)

$$\begin{aligned}
 & \rho \left(\frac{\partial w}{\partial t} + u \cdot \frac{\partial w}{\partial x} + v \cdot \frac{\partial w}{\partial y} + w \cdot \frac{\partial w}{\partial z} \right) \\
 &= F_z - \frac{\partial p}{\partial z} + \mu \cdot \left(\frac{\partial^2 w}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 w}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 w}{\partial z^2} \right)
 \end{aligned}$$

(A.28)

Las ecuaciones de Navier-Stokes en forma diferencial quedan:

$$\rho \cdot \left(\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} \right) = \mathbf{F} - \nabla p + \mu \cdot \Delta \mathbf{v}$$

(A.29)

Siendo ∇p el gradiente de p , el producto escalar del vector velocidad y el operador matemático nabla y $\Delta \mathbf{v}$ el operador matemático de Laplace aplicado sobre el vector velocidad.

$$\nabla p = \left(\frac{\partial p}{\partial x}, \frac{\partial p}{\partial y}, \frac{\partial p}{\partial z} \right)^T$$

$$\mathbf{v} \cdot \nabla = u \cdot \frac{\partial}{\partial x} + v \cdot \frac{\partial}{\partial y} + w \cdot \frac{\partial}{\partial z}$$

$$\Delta \mathbf{v} = \frac{\partial^2 \mathbf{v}}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \mathbf{v}}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 \mathbf{v}}{\partial z^2}$$

La ecuación de continuidad, A.2, junto con las ecuaciones de Navier-Stokes, A.26, A.27, A.28, forman un sistema diferencial, no lineal de segundo orden con 4 ecuaciones y 4 incógnitas, u , v , w , p . El sistema puede ser resuelto aplicando las condiciones de contorno adecuadas para cada tipo de problema. Si se utiliza un fluido compresible, la densidad pasa a ser una nueva incógnita por lo que es necesario añadir una ecuación adicional que es la ecuación de conservación de la energía.

8.2.A.3. Transporte de materia

8.2.1. A.3.1. Ecuaciones de difusión

La ecuación de difusión es una ecuación diferencial parcial que describe las fluctuaciones de densidad en un material sometido a difusión. También se utiliza para describir los procesos que exhiben un comportamiento similar al difusivo.

La ecuación de difusión de partículas se derivó originalmente por Adolf Fick en 1855. Esta ecuación se suele escribir como:

$$\frac{\partial \phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = \nabla \cdot [D(\phi, \mathbf{r}) \nabla \phi(\mathbf{r}, t)],$$

Donde $\phi(\mathbf{r}, t)$ es la densidad del material de difusión en la ubicación \mathbf{r} y el tiempo t , y $D(\phi, \mathbf{r})$ es el colectivo coeficiente de difusión para la densidad ϕ en la ubicación \mathbf{r} ; y ∇ representa el vector diferencial del operador. Si el coeficiente de difusión depende de la densidad entonces la ecuación es no lineal, de lo contrario, si no ocurriese esto sería lineal.

Generalizando, cuando D es una matriz simétrica positiva, la ecuación describe el anisotrópico de difusión, que está descrita como:

$$\frac{\partial \phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1}^3 \frac{\partial}{\partial x_i} \left[D_{ij}(\phi, \mathbf{r}) \frac{\partial \phi(\mathbf{r}, t)}{\partial x_j} \right]$$

Si D es constante, entonces la ecuación se reduce a la siguiente ecuación diferencial lineal:

$$\frac{\partial \phi(\mathbf{r}, t)}{\partial t} = D \nabla^2 \phi(\mathbf{r}, t),$$

también conocida como ecuación de calor.

La ecuación de difusión se puede derivar de una manera directa de la ecuación de continuidad, que establece que un cambio de densidad en cualquier parte del sistema se debe a la entrada y salida de material en un determinado sistema. En efecto, ningún material se crea ni se destruye:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{j} = 0$$

Donde \mathbf{j} es el flujo del material de difusión. La ecuación de difusión se puede obtener fácilmente a partir de esta cuando se combina con la primera Ley de Fick, que supone que el flujo del material de difusión en cualquier parte del sistema es proporcional al gradiente de densidad local:

$$\mathbf{j} = -D(\phi) \nabla \phi(\mathbf{r}, t)$$

8.2.2. A.3.2. Ecuaciones de advección

Advección, en química, ingeniería y ciencias de la tierra, es un mecanismo de transporte de una sustancia por un líquido, que se debe a que la mayor parte del fluido se encuentra en movimiento en una dirección concreta. Cualquier sustancia o propiedad conservada (como la entalpía) puede ser transportada en cualquier fluido.

El movimiento del fluido en advección se describe matemáticamente como un campo de vectores, y el material transportado se describe típicamente como un escalar de concentración de la sustancia, la cual está contenida en el fluido. Advección requiere corrientes de fluido, por lo que no puede suceder en los sólidos rígidos. No incluye el transporte de sustancias mediante una simple difusión.

La ecuación de advección es la ecuación diferencial parcial que gobierna el movimiento de un escalar, ya que se transporta por un conocido campo de velocidades. Se obtiene utilizando el escalar Ley de Conservación junto con el Teorema de Gauss.

En coordenadas cartesianas la advección del operador es:

$$\mathbf{u} \cdot \nabla = u_x \frac{\partial}{\partial x} + u_y \frac{\partial}{\partial y} + u_z \frac{\partial}{\partial z}.$$

donde $\mathbf{U} = (u_x, u_y, u_z)$ es el vector velocidad, y ∇ el operador. Es una operación lineal que actúa sobre los campos de vectores.

La ecuación de advección para un escalar ψ se expresa matemáticamente como:

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} + \nabla \cdot (\psi \mathbf{u}) = 0$$

Donde ∇ es el operador de divergencia y de nuevo \mathbf{u} es el vector de campo de velocidades. Con frecuencia se asume que el flujo es incompresible, es decir el campo de velocidades es:

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

Y se dice que \mathbf{U} es solenoidal. Si esto es así la ecuación anterior se reduce a:

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \psi = 0.$$



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

8.2.3. A.3.3. Ecuación de convección-difusión

La ecuación de convección-difusión es una combinación de las de difusión y convección (advección) y describe los fenómenos físico donde las partículas, la energía u otras cantidades físicas son transferidas dentro de un sistema físico debido a dos procesos: convección y difusión. De la definición anterior se deduce que la ecuación de convección-difusión combina unas ecuaciones diferenciales parciales parabólicas e hiperbólicas. En el caso de:

- Coeficiente de difusión constante
- Velocidad de convección constante
- Ausencia de fuertes sumideros

la ecuación se puede escribir de la siguiente forma:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot D \nabla c - \vec{v} \cdot \nabla c.$$

Los dos términos del lado derecho representan los diferentes procesos físicos. El primero corresponde con la normalidad de difusión, es decir, es una difusión en un sistema en reposo, y el segundo término es la que describe la convección o advección, por lo que la ecuación también es conocida como ecuación de convección-difusión. c es la variable de interés, la constante D es la difusividad para la masa o la transferencia de calor y \mathbf{v} es la velocidad.

En el programa CFX esta es la ecuación con la que se trabaja.

La ecuación de convección-difusión se puede derivar de una manera directa de la ecuación de continuidad, que establece que la tasa de cambio para una cantidad escalar en un volumen de control diferencial está dado por el flujo y la difusión dentro y fuera de la parte del sistema junto con cualquier generación o consumo en el interior del volumen de control:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot \vec{j} = s,$$

Donde \vec{j} es el total de flujo y s es una fuente volumétrica neta. Este flujo puede ser escrito utilizando la Primera Ley de Fick, que supone que el flujo del material de difusión relativa al movimiento a granel en cualquier parte del sistema es proporcional a la concentración local de gradiente. Cuando hay convección o flujo, el flujo total en un sistema de coordenadas estacionario está dada por la suma del flujo difusivo en el marco material y lo que se conoce como el flujo convectivo $\vec{v}c$.

La combinación de estos dos términos del flujo total se convierte en:

$$\vec{j} = -D \nabla c + \vec{v}c.$$

La sustitución de esta ecuación en la ecuación de continuidad da la forma de la ecuación de convección-difusión:

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot (-D \nabla c + \vec{v}c) = s.$$

En general, D , \vec{v} y s pueden variar con el espacio y el tiempo. En los casos en los que se depende de la concentración, la ecuación se convierte en no lineal.



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

Apéndice B

9. Ecuaciones que rigen el proceso de cálculo (MEF)

9.1.B1. Discretización mediante elementos finitos.

Este tipo de discretización surge partiendo de la idea de dividir un problema en sus componentes individuales o elementos cuyo comportamiento pueda conocerse sin dificultad y a continuación reconstruir el sistema original para estudiarlo a partir de esos componentes individuales.

Cuando se obtiene un modelo mediante un número finito de elementos bien definidos se le llama problema discreto. Por el contrario, cuando la división se da de manera indefinida y se obtienen infinitos elementos, el problema queda expresado mediante ecuaciones diferenciales y se le llama problema continuo. La resolución de los problemas continuos sólo puede llevarse a cabo mediante manipulaciones matemáticas.

El método de elementos finitos es un método general para la obtención de soluciones aproximadas para problemas de contorno definidos mediante ecuaciones diferenciales. Consiste en transformar las ecuaciones diferenciales que definen el problema en un conjunto de ecuaciones algebráicas. Se basa en aproximar la función incógnita y en la formulación débil del problema.

Para ello se basa en la división del dominio en un número finito de subdominios denominados elementos los cuales se va a aproximar la solución del problema. Dichos elementos se definen mediante un número discreto de puntos denominados nodos que conectan entre sí los elementos. Sobre estos nodos se van a calcular las incógnitas del problema, que por ejemplo, en el caso de problemas estructurales son los desplazamientos.

La formulación débil en la que se basa el método de elementos finitos consiste en rebajar la derivada de la función incógnita. El planteamiento débil de un caso genérico se resuelve a continuación.

Se tiene la siguiente ecuación diferencial:

$$-u''(x) + u(x) = x \quad 0 < x < 1$$

Con las siguientes condiciones de contorno:

$$u(0) = u(1) = 0$$

Primero se multiplica por una función vectorial arbitraria de ponderación v y se integra en el dominio del problema:

$$\int_0^1 -u''v dx + \int_0^1 u v dx = \int_0^1 x v dx$$

Integrando por partes el primer término e imponiendo las condiciones de contorno se obtiene:

$$\int_0^1 u' v' dx + \int_0^1 u v dx = \int_0^1 x v dx$$

(B.1)

Este es el problema débil, cuya solución es igual que la del problema inicial.

El problema inicial se integra tantas veces como se quiera reducir el orden de la derivada de la función incógnita. Para que el problema débil sea resoluble la función incógnita. Para que el problema débil sea resoluble la función incógnita tiene que ser derivable hasta el orden k y la función arbitraria tiene que tener derivadas continuas hasta el orden k . Además, las condiciones se deben imponer a priori ya que sino sería posible encontrar una solución.

Una vez que se ha realizado el planteamiento débil del problema se pasa a aplicar el método de elementos finitos, es decir, se aproxima la incógnita mediante la aproximación de Galerkin, es decir, mediante pequeños trozos de rectas.

La aproximación de Galerkin es la siguiente:

$$u \approx \mathbf{u} = u_1 \varphi_1 + u_2 \varphi_2 + \dots + u_n \varphi_n = \sum_{i=1}^n u_i \varphi_i \quad \exists$$

(C.2)

Siendo φ_i funciones de aproximación que forman una base. El principal problema del método es la definición de esta base de funciones y la búsqueda de las coordenadas u_i de la solución aproximada en ella.

Sustituyendo la aproximación de Galerkin (B.2) en el problema débil (B.1) y considerando funciones v_j linealmente independientes, se obtiene el siguiente problema discreto:

$$\sum_{i=1}^n u_i \int_0^1 [\varphi_i' v_j' + \varphi_i v_j] dx = \int_0^1 x v_j dx$$

Por lo que resulta un sistema de n ecuaciones con n incógnitas que también se puede expresar de manera matricial:

$$\mathbf{A} \mathbf{u} = \mathbf{f}$$

Las funciones de aproximación, ϕ_i , y las funciones de ponderación, v_i , son idénticas y polinómicas. Además, cada función ϕ_i se considera adscrita a un punto P del dominio y a un grado de libertad.

Cada ϕ_i toma valor 1 en el nudo y en el grado de libertad al que se adscribe y cero en el resto. Esto hace que los coeficientes u_i pasen a tener sentido físico, ya que van a ser el valor de la función incógnita en dicho nudo y según el grado de libertad correspondiente. Además se puede pasar el proceso de aproximación de la función incógnita a nivel elemental ya que dentro de un elemento las únicas ϕ_i no nulas son las correspondientes a los nudos de dicho elemento.

Se puede decir que las etapas para realizar un cálculo mediante elementos finitos son las siguientes:

- Discretización adecuada del dominio (número, tamaño, tipo y situación de los elementos).
- Cálculo de propiedades elementales
- Ensamblaje de vectores y matrices elementales.
- Imposición de las condiciones de contorno.
- Solución del sistema de ecuaciones y obtención de los valores de los grados de libertad en los nudos.
- Cálculo de variables auxiliares.

La principal dificultad del método es decidir que elemento elegir para cada caso en concreto. En la práctica, los elementos más utilizados son los triángulos CST y LST y los cuadriláteros bilineal y Serendip. En la figura B.1 se puede ver un elemento triangular con una de sus funciones de interpolación y en la figura B.2 se puede ver un elemento cuadrilátero Serendip.

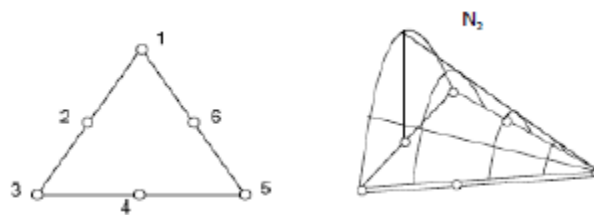


Figura B.1: Triángulo LST y función de interpolación en el nodo 2

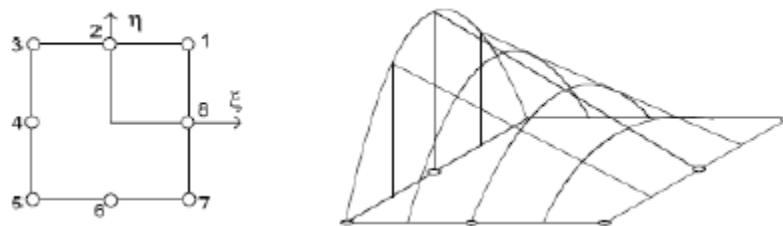


Figura C.2: Cuadrilátero de Serendip y función de interpolación en un nodo central

La elección del tipo de elemento depende de cada caso en particular, los elementos cuadriláteros son preferibles a los triángulos, en el caso de análisis de sólidos, ya que mejoran la convergencia para el mismo número de grados de libertad, sin embargo, son menos flexibles para reproducir contornos complicados.

9.2.B.3. Discretización mediante volúmenes finitos.

Como se ha dicho anteriormente, las ecuaciones de Navier-Stokes, que rigen el comportamiento fluido, sólo tienen solución analítica para fluidos simples bajo condiciones ideales. Si se quiere obtener una solución de estas ecuaciones para un fluido real se deben adoptar aproximaciones numéricas que transformen las ecuaciones diferenciales en un conjunto de ecuaciones algebraicas para posteriormente ser resueltas mediante métodos numéricos.

En este proyecto se ha usado el programa ANSYS CX para resolver el problema fluido. Este programa utiliza como método una discretización mediante volúmenes finitos. El método de volúmenes finitos se basa en usar la forma integral de las ecuaciones de conservación, en dividir el dominio en un número finito de volúmenes de control y en aplicar las ecuaciones de conservación en cada uno de los volúmenes de control.

En el centro de cada volumen de control se encuentra un nodo sobre el que se van a calcular los valores de las variables. Además las integrales de superficie y de volumen van a ser aproximadas dando lugar a una ecuación algebraica por cada volumen de control.

Este método puede ser usado para cualquier tipo de malla, por lo que es apropiado para geometrías complejas.

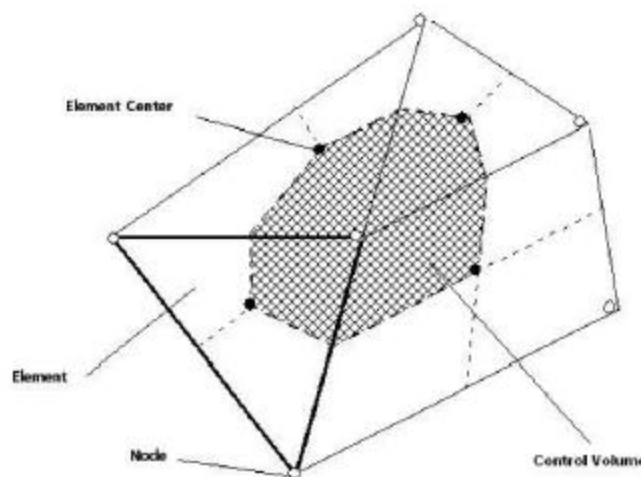


Figura B.3: Definición del volumen de control

La discretización numérica, basada en el método de volúmenes finitos, llevada a cabo por el programa ANSYS CFX se va a explicar a continuación-

En primer lugar, una vez que el dominio se ha discretizado mediante una malla tridimensional, esta va a ser usada por el programa para crear volúmenes finitos. En la figura B.3 se puede ver la definición de un volumen de control en un caso sencillo en 2D. Todas las variables y las propiedades del fluido se encuentran almacenadas en los nodos, es decir, en los vértices de la malla, alrededor de los cuales se va a crear un volumen de control.

Las ecuaciones de Navier-Stokes expresadas en manera diferencial pueden ser transformadas en ecuaciones en forma intergral con las que se va a trabajar discretizando previamente las integrales de volumen y superficie.

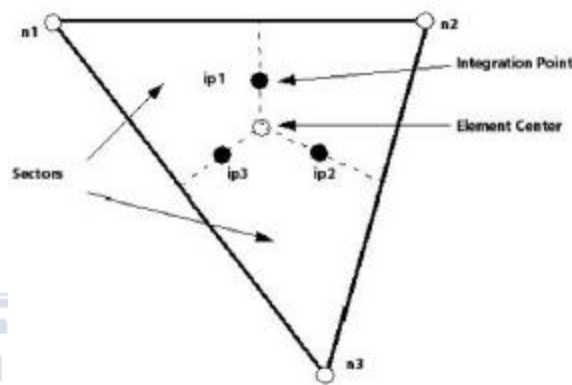


Figura B.4: Elemento de la malla

En la figura B.4 se puede ver uno de los elementos de la malla. Las ecuaciones de volumen van a ser discretizadas en el interior de cada sector del elemento de volumen mientras que en las ecuaciones de superficie van a ser discretizadas en los puntos de integración, localizados en el centro de cada segmento de superficie.

La función incógnita se encuentra almacenada en cada uno de los nodos. Para poder evaluar todos los términos de ésta se realiza una aproximación de la función incógnita en los puntos de integración. ANSYS CFX utiliza para ello funciones de forma de elementos finitos. Las funciones de forma se expresan de la siguiente manera:

$$\phi = \sum_{i=1}^{N \text{ nodes}} N_i \phi_i$$

(B.3)

Donde N_i es la función de forma para el nodo i y ϕ_i es el valor de la variable en el nodo i .

La principal propiedad de las funciones de forma es:

$$\sum_{i=1}^{N \text{ nodes}} N_i = 1$$

(B.4)

Siendo en el nodo j :

$$\begin{aligned} N_i &= 1 & \text{si } i &= j \\ N_i &= 0 & \text{si } i &\neq j \end{aligned}$$

(B.5)

Para discretizar el dominio se pueden usar diferentes elementos, como pueden ser tetraedros o hexaedros. En este caso se van a usar tetraedros. En la figura B.5 se puede ver un elemento tetraédrico.

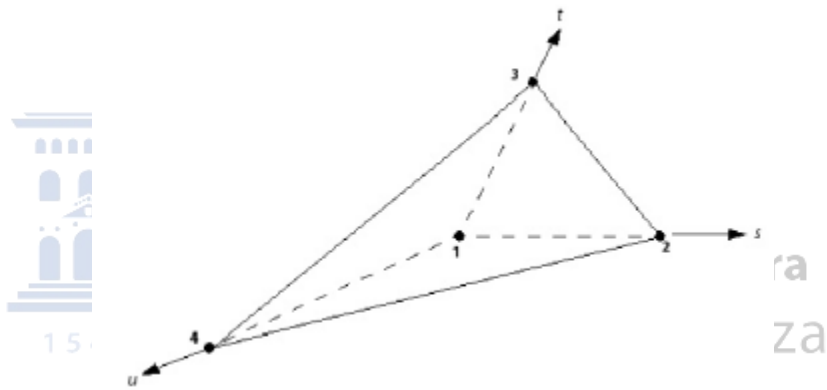


Figura B.5: Elemento tetraédrico

Las funciones de forma para cada uno de los nodos son las siguientes:

$$\begin{aligned} N_1(s, t, u) &= 1 - s - t - u \\ N_2(s, t, u) &= s \\ N_3(s, t, u) &= t \\ N_4(s, t, u) &= u \end{aligned}$$

(B.6)

Capítulo 10

10. Bibliografía

➤ Artículos y libros científicos.

1. *Tissue Engineering of cartilage in space*. Freed, L.E. et al. 1997, PNAS, Vol.94, pp. 13855-13890.
2. *U.S Department of Health and Human Sciences. 2010: A New Vision – A future for Regenerative Medicine*. 2009.
3. *Engineering three- dimensional bone tissue in vitro using biodegradable scaffolds: investigation initial cell-seeding density and culture period*. Holy, C.E. et al. 200, J. Biomed. Mater Research, Vol 51, pp. 376-382.
4. *Tissue engineering biorreactors: a new combines cell-seeding and perfusion system for vascular tissue engineering*. Sodian, R. et al. 2002, Vol. 8, pp 863-870.
5. *Advanced Tissue Engineering and Science. A Multi-Agency Strategic Plan*. National Science and Technology Council, 2007.
6. *Microfluidics-based devices: New tools for studying cancer and cancer stem cell migration*. 1Department of Biomedical Engineering, University of Wisconsin-Madison, Madison, Wisconsin 53705, USA. 2011.
7. *Nanoliter Scale Microbioreactor Array for Quantitative Cell Biology*. Philip J. Lee, Paul J. Hung, Vivek M. Rao, Luke P. Lee. Department of Bioengineering, Biomolecular Nanotechnology Center, Berkeley. 2005
8. *Soft Lithography for Microfluidics: a Review*. 2008
9. *Microfabrication and microfluidics for tissue engineering: state of the art and future opportunities*. Helene Anderssonabc and Albert van den Berga. MESA+ Institute, University of Twente BIOS, The Lab-on-a-Chip Group, P.O. Box 217 7500.2004
10. *Sistemas de Prototipado Rápido*. Jose Antonio Alonso Rodriguez.
11. *AE Enschede, The Netherlands*
12. *Departmente of Biomedical Engineering Columbia University, 622 West 168 th Street, VC12-234, New York, NY 10032, USA.Design principles for human embryonic stem cell applications*.

➤ Tutoriales de ayuda para el manejo de los programas Rhinoceros 4.0, ANSYS CFD y ANSYS CFX.

➤ Informes de proyectos internos de EBERS.



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza