

Fully Embedded Flow Control Device for Microfluidic Applications

C. Aguilar-Avelar, M. Esparza, F. Chacón, D. Aráiz-Hernández, B. Soto-García, J. Yee-de León, L. Velarde-Calvillo, and A. Abarca-Blanco

Abstract—Microfluidics is a multidisciplinary field that is changing the way how biological research is being performed, enabling new applications and accelerating the existing ones. However, one of its most important drawbacks is the lack of technological tools to facilitate its widespread use. In this paper we present a new pressure and flow control device for the high-performance control of microfluidic applications. The main advantage of our device is that all pneumatic and electronic components, including the communications and control circuitry, are fully embedded inside the apparatus. Therefore, this device can be used as a standalone laboratory equipment and it can also be remotely operated from a personal computer. The microfluidic application used to demonstrate the performance of the proposed tool is the generation of alginate (1% sodium alginate solution) droplets in mineral oil. The generation of a stable stream of uniform droplets validates the good performance of our control device.

Index Terms—Microfluidics, Droplets, Lab equipment, Pressure, Liquid flow rate, Control.

I. INTRODUCCIÓN

LA microfluídica es una rama de la ciencia y la tecnología que estudia y desarrolla sistemas capaces de procesar cantidades muy pequeñas de fluidos (en el rango de los pico y nanolitros), por medio de dispositivos cuyos canales son del tamaño de un cabello humano (en el rango de las decenas o centenas de micrómetros de diámetro) [1], [2]. Áreas como las ciencias químicas y biológicas [2] e industrias como la farmacéutica y del cuidado de la salud [3] se ven especialmente beneficiadas de la capacidad de manipular fluidos a escala micrométrica, ya que el uso de dispositivos microfluídicos ofrece importantes ventajas con respecto a los métodos convencionales para la manipulación de líquidos. Por ejemplo, se reduce considerablemente el consumo de reactivos y muestras, permiten realizar un mayor número de reacciones en un menor espacio y los tiempos de reacción y análisis de los procesos son también reducidos de forma importante [1], [2]. Estas características hacen que los sistemas microfluídicos sean muy apropiados para el desarrollo de soluciones altamente portables, autónomas y automatizables, para problemas que requieren un alto rendimiento de salida, con gran sensibilidad y resolución en el control de las variables del proceso. Por lo anterior, se cree que la microfluídica podría revolucionar la química y la biología en la misma medida como los circuitos integrados revolucionaron la computación, la ciencia y la vida en general [4].

Hoy en día, existen muchas aplicaciones que han sido desarrolladas con base en procesos microfluídicos y que aprovechan los fenómenos físicos que solamente se pueden observar durante la manipulación microscópica de fluidos. Por ejemplo, para cultivo, aislamiento y análisis de entidades biológicas [5]–[10], en dispositivos para el desarrollo y administración de fármacos [11]–[14], en la creación de micro-reactores para el estudio de fenómenos físicos [15], [16], químicos [17] y biológicos [2], [18], entre muchas otras. Finalmente, la integración de este desarrollo ha desembocado en la creación de dispositivos conocidos como *laboratorios en un chip* [19] y *órganos en un chip* [20], [21], y se ha potenciado el desarrollo de *pruebas en el punto de atención* para el cuidado de la salud [22].

Sin embargo, uno de los motivos principales por los que esta tecnología no ha tenido el impacto esperado es la falta de equipamiento que sea tan accesible, confiable y fácil de usar como los aparatos de laboratorio convencionales [1]. Esto evita que los técnicos y practicantes de las ciencias químicas y biológicas se familiaricen con los nuevos procesos que aprovechan las ventajas de la microfluídica. En este sentido, los procesos microfluídicos son especialmente sensibles a las variaciones en la cantidad de líquido que se les introduce. Por lo que, para asegurar su buen desempeño, es necesario un control muy preciso de los caudales a los que las muestras y reactivos son manejados. Sin embargo, al tratarse de volúmenes tan pequeños de líquidos y al requerirse una precisión tan alta en su aplicación, es muy difícil lograr cumplir con estos requisitos sin ayuda del equipo adecuado.

En general, el equipo más usado para el control de flujo en los laboratorios son las bombas de jeringa, las cuales son dispositivos electromecánicos que empujan automáticamente y de manera controlada el embolo de una jeringa común. El uso de estos dispositivos en aplicaciones de microfluídica se ha extendido debido a que es común que los laboratorios ya cuenten con ellos. Sin embargo, se ha comprobado que estos equipos no están optimizados para trabajar con caudales tan bajos, presentando errores y pulsaciones en el líquido expulsado [23], [24]. Dispositivos como bombas peristálticas, centrífugas o de diafragma pueden ser utilizados, sin embargo, además de no tener un desempeño óptimo en el bombeo de volúmenes bajos, presentan problemas aun más graves como falta de esterilidad, falta de resistencia a químicos, falta de compatibilidad biológica y, debido a la acción de bombeo, provocan pérdida de viabilidad o deterioro de las muestras biológicas que pasan a través de ellos [25].

Otro esquema de bombeo utilizado en microfluídica es el

Todos los autores laboran para la empresa Delee Corp., Mountain View, California, 94041, USA, en sus instalaciones de Monterrey, N.L., México.
Correspondencia a Alejandro Abarca-Blanco (alejandro@delee.bio).

uso de viales herméticos presurizados, los cuales expulsan líquido en función de la diferencia de presión entre su entrada y salida. Este método soluciona los problemas de esterilidad, resistencia química y compatibilidad biológica de los materiales que están en contacto con los fluidos, también se conserva la viabilidad de muestras biológicas al no realizarse la acción de bombeo directamente sobre las muestras y permite generar un flujo libre de pulsaciones [26]. Además, esta metodología basada en presión provee de un marco teórico para el análisis de los procesos microfluídicos haciendo una analogía con el análisis de circuitos eléctricos [27].

En el mercado actual, existen otros dispositivos que ofrecen funcionalidades de control de presión y flujo para aplicaciones microfluídicas. Sin embargo, estos dispositivos requieren de estar conectados a una computadora [28], [29], necesitan fuentes externas de presión [28]–[30], no trabajan con presiones negativas [30], [31] y tienen capacidades muy limitadas para la automatización de protocolos [32].

Por lo tanto, es posible decir que debido a la etapa tan temprana de desarrollo tecnológico de este campo y la consecuente falta de optimización, estandarización y accesibilidad de los equipos disponibles, se ha retrasado la adopción de la microfluídica como herramienta principal para la investigación y desarrollo en industrias como la farmacéutica, médica y del cuidado de la salud. Para contribuir a la solución de este problema, en el presente artículo se describe el diseño e implementación de un nuevo dispositivo para el control de presión y flujo de líquidos, el cual está especialmente diseñado para su uso en aplicaciones microfluídicas. El dispositivo electro-neumático desarrollado es un sistema embebido y completamente autónomo, fácil de transportar por su tamaño reducido y muy fácil de usar gracias a su interfaz humano-máquina que consta de una pantalla táctil de alta resolución, dos perillas rotatorias/pulsables y un software que permite operar el dispositivo desde una computadora personal. El buen desempeño de este instrumento es validado en la generación de microgotas de alginato dentro de una emulsión de aceite mineral, las cuales son formadas dentro un chip microfluídico de manera estable, continua y con un alto rendimiento de salida, lo que comprueba el buen funcionamiento de nuestro equipo.

En las secciones posteriores se describe la estructura general del instrumento de control propuesto (sección II) y del software desarrollado para éste (sección III), se describe el experimento de generación de microgotas (sección IV), se presentan y discuten los resultados obtenidos (sección V) y, finalmente, se dan las conclusiones y trabajo futuro de la presente investigación (sección VI).

II. DESCRIPCIÓN GENERAL DEL DISPOSITIVO DE CONTROL DE FLUJO

El dispositivo de control de presión y flujo propuesto es un sistema embebido, completamente autónomo y especialmente diseñado para ser utilizado en aplicaciones de microfluídica que requieran de gran sensibilidad y precisión en la manipulación de fluidos. Su diseño involucra componentes eléctricos, electrónicos y neumáticos, los cuales forman parte de los

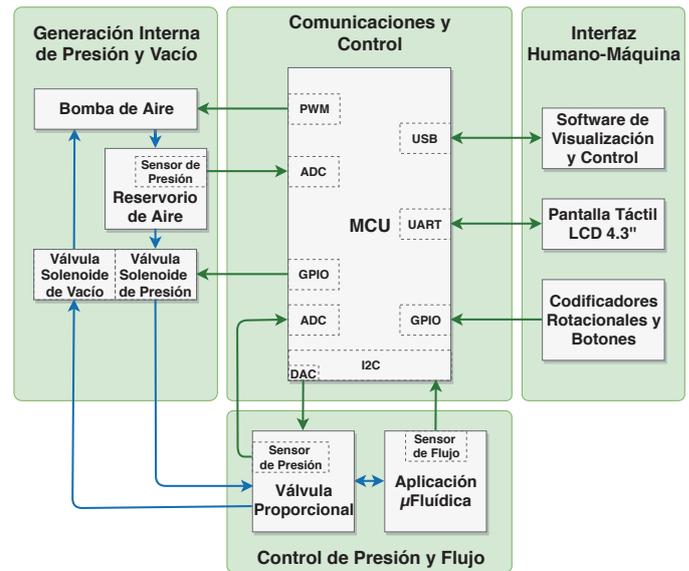


Fig. 1. Estructura general de los principales bloques funcionales del dispositivo de control de flujo. Las flechas verdes representan señales eléctricas y las azules señales neumáticas.

cuatro bloques funcionales que componen el dispositivo. Estos bloques funcionales y la relación entre cada uno de ellos son mostrados en la figura 1, mismos que serán descritos a continuación, y el aspecto físico del dispositivo puede observarse en la figura 2.

A. Sistema de Comunicaciones y Control

El sistema de comunicaciones y control es el cerebro principal del dispositivo, ya que en éste se encuentra toda la circuitería de comunicaciones, control, electrónica de potencia, acondicionamiento de señales análogas y digitales, entre otras. Su componente principal es el microcontrolador (MCU), el cual se encarga de procesar toda la información que entra y sale del dispositivo, al mismo tiempo que controla todos los procesos que se llevan a cabo. Sus funciones principales son enviar los comandos de control a los diferentes periféricos, recibir todas las señales de retroalimentación que provienen de los sensores, administrar las comunicaciones (USB, UART e I2C), e interpretar las instrucciones de los usuarios provenientes de los periféricos de entrada y la computadora.

Se utilizó el microcontrolador PIC18F45K50 de Microchip, la versión más reciente de esta familia de microcontroladores de bajo costo, el cual es un dispositivo de 8 bits que integra un transceptor USB de alta velocidad, módulos DAC, ADC, PWM y de comunicaciones seriales síncronas y asíncronas (UART, SPI e I2C). Además, tiene la capacidad de funcionar con su oscilador interno a 48 MHz y ejecutar 12 MIPS.

B. Interfaz Humano-Máquina

Las configuraciones y comandos de los usuarios son ingresados al dispositivo por medio de la interfaz humano-máquina. Los componentes principales de este bloque son: (i) la pantalla TFT-LCD táctil de 4.3", (ii) los dos codificadores rotacionales con acción de botón pulsador y (iii) el software

de visualización y control, que es una interfaz gráfica de usuario que puede ser instalada en cualquier computadora personal con sistema operativo Windows. La pantalla táctil y los codificadores rotacionales son el método de entrada manual que permite que el dispositivo pueda ser operado sin la necesidad de una computadora. A través de un menú gráfico desplegado en la pantalla, es posible acceder a todas las funciones del dispositivo, así como visualizar en tiempo real los valores numéricos y las gráficas de la presión y flujo actuales.

Por otro lado, el software de visualización y control es una interfaz gráfica de usuario especialmente diseñada para ser fácil de usar, al mismo tiempo que aumenta las capacidades del dispositivo. Por ejemplo, posibilita la adquisición de los datos experimentales en tiempo real, funciona como terminal remota para la operación del dispositivo desde una computadora personal y provee de un ambiente integrado de desarrollo para la programación de rutinas de alto nivel, por medio de un lenguaje de programación a bloques, los cuales son ejecutados secuencialmente y de manera automática. Lo anterior posibilita el desarrollo de protocolos microfluídicos automatizados para la implementación de procesos químicos o biológicos más complejos.

C. Sistema de Generación Interna de Presión y Vacío

Nuestra propuesta incluye un sistema de generación interna de presión y vacío, cuyo componente principal es una bomba de diafragma de alto desempeño (3KD, Boxer) la cual genera la presión y vacío requeridos, al mismo tiempo que se mantienen al mínimo los niveles de ruido y vibración gracias al sistema de filtros silenciadores y materiales amortiguadores utilizados en el montaje. Adicionalmente, en caso de ser requerido por el usuario, es posible configurar el dispositivo para utilizar fuentes externas de presión, las cuales son conectadas en los puertos ubicados en la parte trasera del dispositivo.

Este sistema cuenta con un reservorio de aire presurizado colocado en la línea de presión, cuya función principal es servir como trampa para la humedad que se puede acumular dentro de la tubería, al mismo tiempo que se aumenta el tiempo de vida del compresor gracias a que permite un funcionamiento intermitente del mismo. Se colocó un sensor de presión (MPXA4250AC6U, NXP) conectado a la entrada del reservorio de aire, como se puede ver en la figura 1, el cual sirve como señal de retroalimentación para controlar el encendido y apagado del compresor, en función de los límites superior e inferior establecidos.

Finalmente, para darle al dispositivo la capacidad de intercambiar de manera instantánea la presión de salida de un valor positivo a uno negativo y viceversa, se implementó un esquema de conexión y desconexión automática de las líneas de presión y vacío, que posteriormente alimentan el sistema de control de presión, por medio de dos válvulas solenoide de 1-a-2 vías, las cuales aseguran que cuando una línea esté conectada, la otra esté abierta.

D. Sistema de Control de Presión y Flujo de Salida

La presión y el vacío generados internamente son utilizados para alimentar una válvula proporcional (MPV1, Proportion-

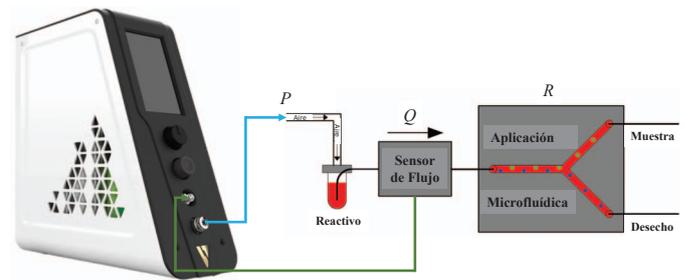


Fig. 2. Diagrama mostrando el dispositivo de control de flujo y las conexiones necesarias para la generación de un flujo controlado en una aplicación microfluídica.

Air), que es el componente principal del sistema de control de presión y flujo de salida. Dicha válvula es un regulador de presión electrónicamente controlado, de alta resolución ($\pm 0.005\%$), alta precisión ($\pm 0.2\%$) y excelente repetitibilidad ($\pm 0.02\%$), que permite la variación proporcional de la presión de salida en un rango de -1000 a 1000 mbar, en función de una señal eléctrica ($0-10$ volts). Este regulador incorpora un lazo interno de control de presión implementado a nivel de hardware, el cual presenta un excelente desempeño ante la presencia de perturbaciones en las presiones de entrada y salida. Este componente es el actuador que se encarga de regular de manera muy precisa la presión que es entregada a la aplicación microfluídica, generando un flujo libre de pulsos. En particular, nuestro sistema utiliza un Convertidor Digital-Análogo de 12 bits para generar la señal de voltaje que comanda a la válvula proporcional, lo que produce un paso mínimo en la presión de salida de 0.5 mbar aproximadamente. Esta resolución es la que el algoritmo de control de flujo utiliza para llevar a cabo su función. Sin embargo, para mejorar la experiencia de usuario, se decidió dejar disponible un paso mínimo de 1 mbar en la presión de salida cuando ésta se modifica manualmente.

El valor de la presión de salida puede ser establecido manualmente por el usuario (modo de control de presión), o bien, puede ser comandado por un algoritmo de control Proporcional-Integral-Derivativo (PID) que utiliza las mediciones de un sensor de flujo para calcular la presión requerida para producir el caudal deseado por el usuario (modo de control de flujo). El uso del controlador PID se justifica con el hecho de que éste es un algoritmo computacionalmente simple, eficiente, fácil de implementar en sistemas discretos y a que prácticamente todos los dispositivos microfluídicos emplean líquidos y geometrías para las cuales el flujo generado presenta un comportamiento laminar, es decir, de dinámica lineal [4]. Esto se debe a que las fuerzas viscosas dominan sobre las fuerzas inerciales dentro de los canales de la mayoría de dispositivos microfluídicos. El algoritmo PID fue sintonizado para tener un tiempo de estabilización menor a 1 segundo y un sobre-impulso menor al 20% . Sin embargo, estos parámetros de desempeño pueden verse afectados si la dinámica de flujo de la aplicación microfluídica no es laminar.

El sensor de flujo se coloca en contacto directo con el líquido que se desea medir, de modo que se establezca un esquema de lazo cerrado para el control del flujo, tal y como

se muestra en la figura 2, donde P es la presión de salida aplicada por el dispositivo, Q es el flujo de líquido que esa presión produce y R es la resistencia hidráulica que se opone al flujo, la cual está dada en función de la viscosidad del fluido y la geometría del canal. Tal que, la magnitud del flujo que se produce está dada por

$$Q = \frac{\Delta P}{R}, \quad (1)$$

donde ΔP es la caída de presión a lo largo del canal microfluídico. Es posible hacer una analogía entre los circuitos eléctricos y los circuitos microfluídicos, donde la ley de Ohm $V = R \times I$ describe de manera similar la relación que existe entre voltaje (presión), corriente (caudal) y resistencia eléctrica (resistencia hidráulica) de un circuito. Sin embargo, gracias al control de lazo cerrado en el caudal, no es necesario calcular la resistencia hidráulica de cada aplicación microfluídica para generar un valor de flujo deseado, ya que el controlador se encarga de compensar automáticamente la presión de salida para producir ese valor. Los sensores de flujo (FS80D, Zen Fluidics) utilizados tienen un rango de medición de 0 a 120 $\mu\text{L}/\text{min}$, con precisión del 5% del valor medido, repetibilidad de 0.5%, resolución máxima de 16 bits y frecuencia de muestreo de hasta 1 kHz (con resolución de 9 bits), los cuales se conectan al puerto M8 hembra ubicado en el panel frontal del dispositivo de control y utilizan comunicación serial I2C para transferir los valores de flujo medidos. En nuestro sistema, el valor por defecto para la resolución del sensor de flujo es de 16 bits, para el cual se tiene un periodo de muestreo de 74 ms. Se selecciona esta configuración ya que se desea que las mediciones sean más precisas, dado que los procesos microfluídicos no suelen requerir cambios bruscos en la presión de salida, por el contrario, usualmente se desea que las transiciones sean suaves y controladas.

III. FIRMWARE Y SOFTWARE

El dispositivo de control de flujo es capaz de desempeñar una gran cantidad de funciones que hacen uso del hardware descrito anteriormente. Estas funciones fueron implementadas a nivel de firmware, de modo que son ejecutadas localmente en el dispositivo y pueden ser llamadas por el usuario mediante los métodos de entrada locales (pantalla y perillas) y remotos (software de control). Las funciones principales del dispositivo son las siguientes:

- Monitoreo y control de la presión de salida
- Graficado de la presión de salida
- Medición del flujo de salida mediante un sensor externo
- Estimación del flujo de salida mediante calibración
- Graficado del flujo de salida
- Control de flujo usando las mediciones del sensor
- Cálculo de volumen dispensado usando la medición o estimación del flujo
- Selección de fuente de presión interna o externa
- Control de velocidad del compresor interno
- Monitoreo y control de la presión del reservorio de aire
- Selección de presión o vacío del compresor
- Atención a los eventos de la pantalla táctil
- Atención a los eventos de giro de las perillas

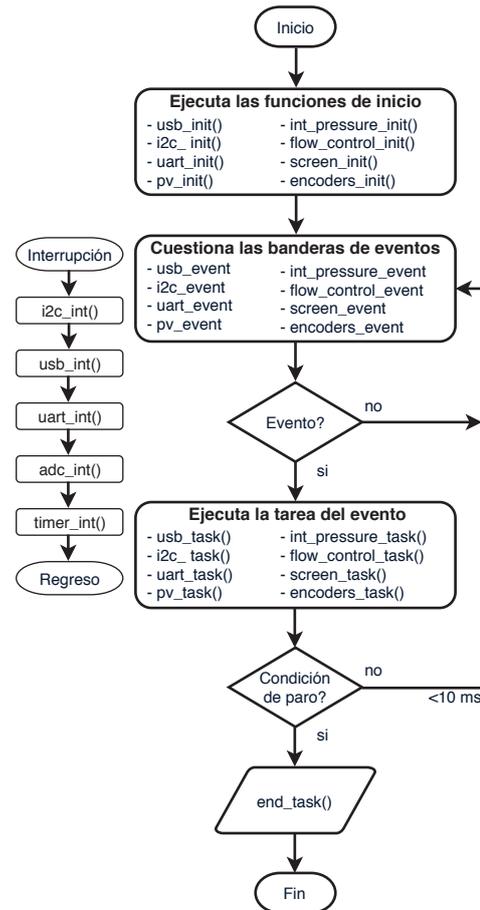


Fig. 3. Diagrama de flujo que muestra la estructura del firmware programado en el microcontrolador.

- Atención a los eventos de presionado de las perillas
- Atención a los comandos remotos recibidos por USB

El firmware del microcontrolador fue programado en el ambiente integrado de desarrollo MPLAB X de Microchip y compilado utilizando la versión gratuita del compilador MPLAB XC Compiler. La estructura y funcionamiento del código programado en el microcontrolador es descrita por el diagrama de flujo mostrado en la figura 3. La ejecución de las funciones que inician y atienden los diferentes periféricos del sistema se realiza de manera secuencial. Al iniciar el dispositivo se ejecutan todas las funciones de inicialización de los periféricos. Una vez que están listos, el programa cuestiona de manera secuencial e iterativa las banderas de los eventos que requieren atención y, de ser requeridas, se ejecutan las funciones que contienen las tareas de atención a los eventos. Las banderas de eventos pueden ser puestas en alto por el hardware de los periféricos, por una interrupción o por las funciones de atención a otros eventos. En la figura 3 también se observan las funciones contenidas dentro del vector de interrupciones y la prioridad con las que estas se atienden. Finalmente, cuando alguna de las funciones indica que hay una condición de paro, se ejecuta una tarea final que prepara el hardware y guarda las configuraciones y variables estáticas en la EEPROM del microcontrolador, dejando el dispositivo listo para ser desenergizado.

Para minimizar el tiempo de ejecución de las funciones dentro del bucle principal, se utilizó un enfoque de llamada a las funciones de atención a eventos mediante banderas, lo que permite mantener el tiempo de ejecución del bucle principal menor a 10 ms bajo cualquier condición de operación, con valores típicos de 5 ms. El tiempo reducido de atención a eventos permite que el dispositivo presente un excelente desempeño y se corroboró que el tiempo de atención variable no impacta negativamente a las tareas que requieren tiempos de ejecución fijos. En particular, la tarea que se ejecuta con mayor frecuencia y que es más sensible al tiempo es la del control de flujo, que incorpora un controlador PID discreto calculado con una constante de tiempo de 100 ms. Esta tarea se ejecuta cada que un temporizador dedicado se desborda y, dentro de la rutina de atención a su interrupción, pone en alto la bandera de atención a la tarea de control. Por lo tanto, las variaciones de 5 ms en el tiempo de muestreo de la implementación discreta del controlador pueden considerarse despreciables, ya que no tienen gran impacto en su desempeño. Por otro lado, tomando en cuenta que la válvula proporcional requiere hasta 300 ms para recorrer el rango completo de la presión de salida y que el sensor de flujo tiene un tiempo de muestreo de 74 ms a su máxima resolución, se considera 100 ms un tiempo apropiado para el periodo de cómputo del controlador, lo cual fue corroborado experimentalmente.

El software de visualización y control, con el cual es posible operar de manera remota el dispositivo de control de flujo, fue programado en Visual Studio Community 2017, la cual es una versión gratuita y de código abierto de este ambiente integrado de desarrollo de Microsoft. Este software no está limitado a su uso con el dispositivo de control de flujo, sino que fue diseñado como una *suit* donde pueden convivir diferentes instrumentos que son utilizados para el desarrollo de aplicaciones microfluídicas, como válvulas rotacionales para el intercambio automático de fluidos, controladores de válvulas solenoide para el control de flujo de aire y líquidos, una báscula para la medición de volumen de fluidos, una fuente de alto voltaje y alta frecuencia para dielectroforesis y un sistema de microscopía que consta de una plataforma XYZ motorizada, un controlador de luz para la iluminación de la muestra y, finalmente, una cámara de alta velocidad para captura de imágenes y video.

Todos los dispositivos mencionados anteriormente forman parte de un ecosistema de instrumentos, cuyo objetivo principal es facilitar la adopción de la microfluídica para la investigación y desarrollo en las ciencias químicas, biológicas y del cuidado de la salud. Por lo tanto, cuando el dispositivo de control de flujo se conecta por medio de USB a una computadora personal con sistema operativo Windows 10 de 64 bits, es posible utilizar todas sus funciones y, además, puede aprovechar la información y las funciones provenientes de otros dispositivos conectados. Para este fin, el software cuenta con un ambiente de programación a bloques, donde cada bloque representa un conjunto de comandos que son ejecutados de manera secuencial y automática. Cada dispositivo conectado incorpora bloques a la lista de funciones disponibles, los cuales pueden ser configurados y usados para crear protocolos cada vez más complejos y que pueden

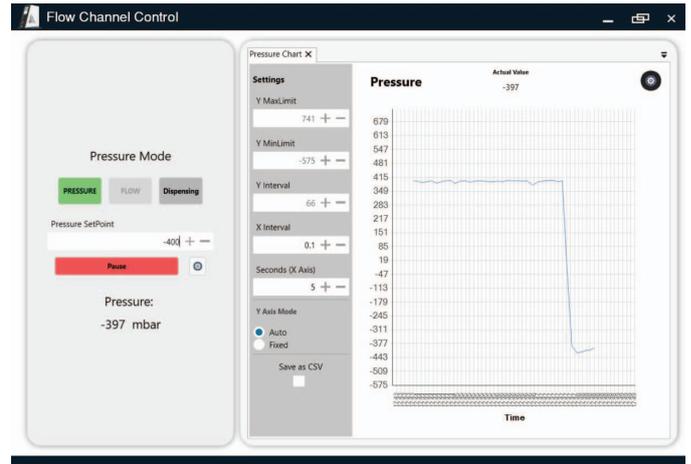


Fig. 4. Pantalla de operación del dispositivo de control de flujo en el software de visualización y control, la cual muestra en su gráfica un cambio en la presión de salida deseada de 400 mbar a -400 mbar, alcanzando el nuevo valor en un tiempo menor a 500 ms.

involucrar todas las funciones de los dispositivos conectados. Estos protocolos pueden ser creados, editados, ejecutados y guardados en el ambiente gráfico de programación a bloques integrado.

En la figura 4 se muestra una captura de pantalla de la pestaña de operación del dispositivo de control de flujo, la cual forma parte del software de visualización y control que se utiliza para operar de manera remota el dispositivo de control de flujo. En la gráfica mostrada en la figura 4 se observa un cambio en la presión deseada de 400 mbar a -400 mbar, donde se puede observar que la presión de salida alcanza el nuevo valor deseado en un tiempo menor a 500 ms.

IV. APLICACIÓN: GENERACIÓN DE MICROGOTAS

La microfluídica de gotas ha demostrado su capacidad para desempeñar pruebas analíticas de alto rendimiento, las cuales son altamente demandadas en áreas de investigación tales como las ciencias de la vida, síntesis de materiales y desarrollo de fármacos [33]. Por ejemplo, las microgotas pueden ser utilizadas como micro-reactores con volúmenes en el rango de los femto–nano litros para llevar a cabo reacciones químicas y biológicas con mejor precisión y tiempos reducidos. También, sistemas basados en gotas pueden ser usados para sintetizar partículas y encapsular entes biológicos para la investigación en biomedicina y biotecnología [34], [35]. Sin embargo, se requiere de una alta uniformidad en el tamaño de las gotas generadas, así como que éstas estén completamente encapsuladas en el fluido circundante. Por lo tanto, la generación de gotas dentro de canales microfluídicos debe realizarse de manera controlada y haciendo uso de equipo de alta precisión para el control de los fluidos utilizados.

En esta sección, se muestra la generación de microgotas mediante un esquema de dos fases líquidas de fluidos inmiscibles e incompresibles, dentro de un chip microfluídico elaborado en PMMA (acrílico) mediante técnicas de micromaquinado, el cual tiene canales rectangulares con dimensiones de 500 μm de ancho por 200 μm de profundidad. Se utilizó alginato de

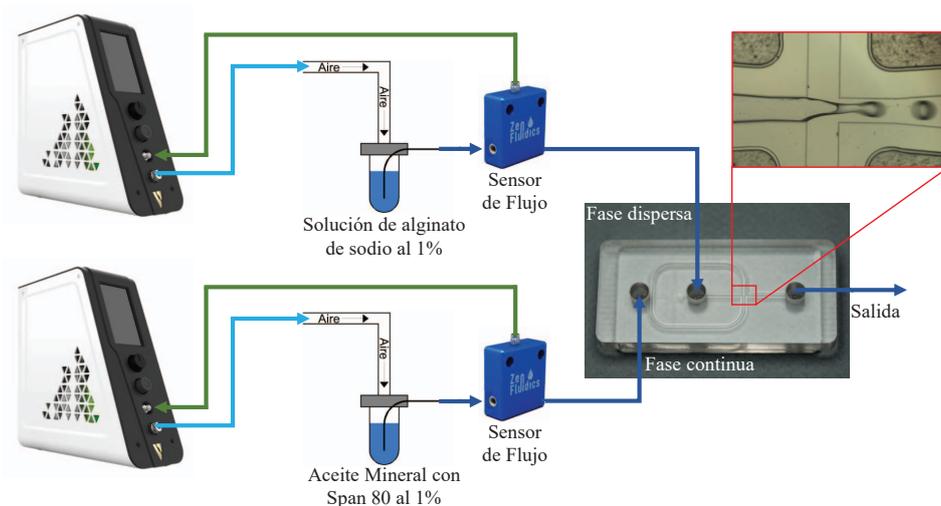


Fig. 5. Diagrama del sistema experimental utilizado para la generación de microgotas de alginato (fase dispersa) dentro de aceite mineral (fase continua), usando un chip microfluídico de PMMA (acrílico) transparente que fue elaborado usando técnicas de micro-maquinado.

sodio al 1% como fase dispersa (líquido que forma las gotas), mientras que en la fase continua (líquido que lleva las gotas) se usó aceite mineral con Span 80 al 1% como surfactante. El alginato es un biopolímero ampliamente utilizado en la industria farmacéutica, biomédica y alimentaria ya que es biocompatible, posee una baja toxicidad, tiene la capacidad de formar hidrogeles y es de bajo costo. Es comúnmente empleado en sistemas microfluídicos para generar esferoides con una distribución de tamaño homogénea con la finalidad de encapsular células, fármacos y otras biomoléculas. Una vez generadas las gotas, a su salida del chip éstas caen en una solución de cloruro de calcio al 1.5% para su gelificación. En la figura 5 se muestra el diagrama del sistema experimental utilizado para la generación de microgotas. Este sistema se implementó utilizando dos unidades del dispositivo de control de flujo, el cual fue descrito en este documento.

La generación de microgotas es el resultado de una compleja interacción entre las fuerzas que se manifiestan dentro del canal. Los cuatro parámetros que se identifican como los principales modificadores de la dinámica de flujo y que pueden ser usados para manipular la generación de gotas son la tensión superficial, viscosidad de los fluidos, geometría del canal y la velocidad del flujo [24]. Por ejemplo, la viscosidad de la fase continua debe ser mayor que la de la fase dispersa para facilitar la generación de gotas (lo que se satisface con cualquier combinación de una solución acuosa y aceite) y la tensión superficial debe ser tal que la fase continua impregne las paredes del canal, mientras que la fase dispersa sea repelida por éstas (lo que se satisface gracias a la hidrofobicidad natural del PMMA). Sin embargo, estos parámetros están relacionados con las características físicas del canal y los fluidos, por lo que el único parámetro que puede ser usado para controlar en tiempo real el tamaño y frecuencia de generación de las gotas es el caudal de los líquidos utilizados, como se muestra a continuación.

Para la validación del desempeño de nuestro sistema de control de flujo, se utilizó un chip microfluídico en configuración

tipo 'cruz', el cual es mostrado en la figura 5, donde la fase continua se aplica en los canales superior e inferior, la fase dispersa se aplica en el canal izquierdo y las gotas formadas fluyen por el canal derecho hacia la salida. En este experimento se probaron 4 juegos distintos de valores de caudal para las dos fases, los cuales fueron 90/5 $\mu\text{L}/\text{min}$, 80/15 $\mu\text{L}/\text{min}$, 85/10 $\mu\text{L}/\text{min}$ y 95/1 $\mu\text{L}/\text{min}$ de la fase continua contra la fase dispersa, respectivamente. El diámetro y frecuencia de las gotas generadas fueron medidos a partir de los videos tomados utilizando un microscopio invertido Motic AE31 Elite, con un objetivo de 4X y una cámara de alta velocidad PointGrey Grasshopper3 de 2.3MP que graba a 163.32 FPS.

V. RESULTADOS

En la figura 6 se muestran los resultados obtenidos del experimento de generación de gotas, donde la figura 6-a muestra el cruce de los canales de las fases continua y dispersa, la figura 6-b muestra los resultados obtenidos para los caudales 90/5 $\mu\text{L}/\text{min}$ y se observa la formación de gotas de aproximadamente 225 μm de diámetro a una frecuencia aproximada de 15 gotas por segundo, la figura 6-c ilustra los resultados para los caudales 80/15 $\mu\text{L}/\text{min}$ y se observan gotas de 205 μm de diámetro a una frecuencia de 48 gotas por segundo, en la figura 6-d se observan los resultados para 85/10 $\mu\text{L}/\text{min}$ con gotas de 190 μm de diámetro a una frecuencia de 52 gotas por segundo, en la figura 6-e se muestran los resultados de los caudales 95/1 $\mu\text{L}/\text{min}$ generando gotas de 115 μm de diámetro a una frecuencia de 9 gotas por segundo y, finalmente, en la figura 6-f se observan gotas de 205 μm de diámetro que fueron depositadas en una solución de cloruro de calcio para su gelificación.

Como se puede observar en la figura 6, en todos los casos fue posible generar un torrente continuo y altamente estable de gotas de tamaño uniforme. Mediante la variación de los caudales de las dos fases, se generaron gotas en un amplio rango de diámetros (115-225 μm) y frecuencias (9-52 gotas por segundo). También fue posible recuperar las gotas

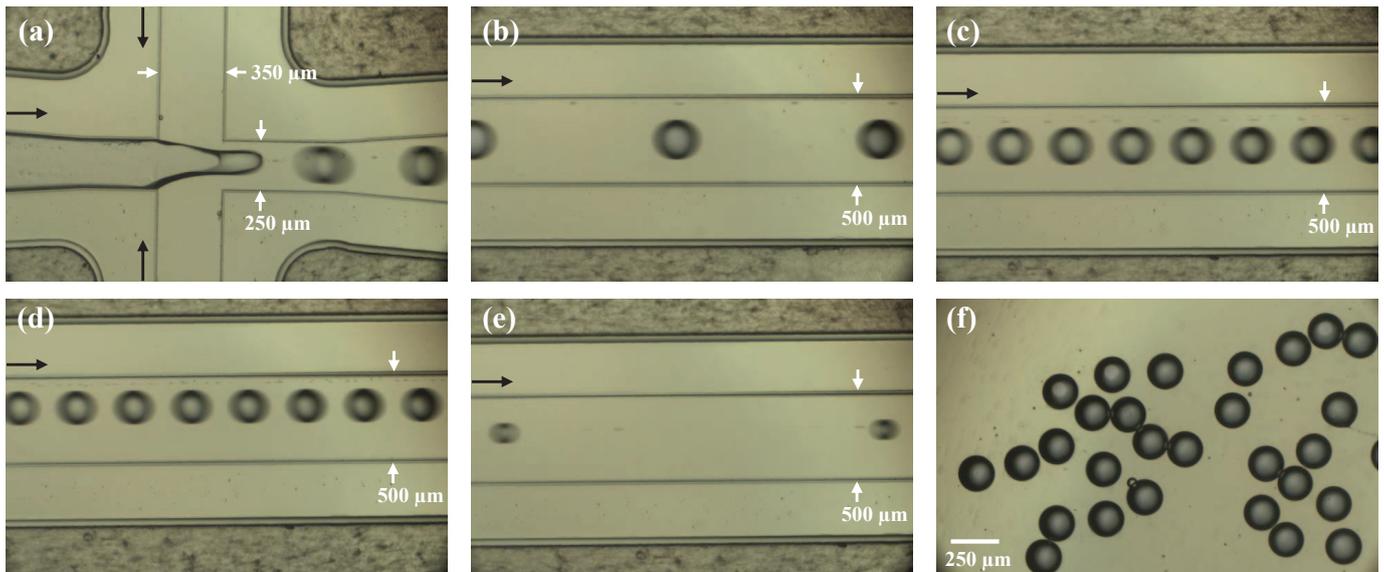


Fig. 6. Resultados de las generación de microgotas de alginato en aceite mineral dentro de un chip microfluídico tipo cruz. La sub-figura (a) muestra el cruce de los canales de las fases continua y dispersa, donde se forman las gotas, (b) muestra gotas de $225\ \mu\text{m}$ de diámetro fluyendo dentro del canal a una frecuencia de 15 gotas por segundo, en (c) se observan gotas de $205\ \mu\text{m}$ de diámetro a una frecuencia de 48 gotas por segundo, (d) muestra gotas de $190\ \mu\text{m}$ de diámetro a una frecuencia de 52 gotas por segundo y en (e) se observan gotas de $115\ \mu\text{m}$ de diámetro a una frecuencia de 9 gotas por segundo. Finalmente, en (f) se observan gotas de $205\ \mu\text{m}$ de diámetro que fueron depositadas en una solución de cloruro de calcio para su gelificación.

generadas, las cuales fueron gelificadas en un paso posterior a su formación y salida del chip microfluídico. Una vez recuperadas, se corroboró el tamaño uniforme de las gotas por microscopía de campo claro y se verificó que se mantuvieran en estado sólido tiempo después de haberse polimerizado.

Estos resultados demuestran la sensibilidad, el buen desempeño y la utilidad del dispositivo para su uso en aplicaciones microfluídicas, haciendo posible implementar esquemas de control de alto nivel con requerimientos específicos para cada aplicación. Por ejemplo, referente a la generación de microgotas, es posible utilizar este equipo como actuador de un lazo adicional de control donde, haciendo uso de retroalimentación visual o mediciones basadas en impedancia, se controle directamente la frecuencia de generación y el diámetro de las gotas, quedando transparente para el usuario el control de las variables de presión y flujo.

VI. CONCLUSIÓN

En el presente documento se describió el diseño y funcionamiento de un novedoso sistema de control de presión y flujo, el cual fue especialmente diseñado para su uso en aplicaciones en el área de la microfluídica. Entre sus principales ventajas se tiene que el dispositivo de control propuesto es un sistema completamente embebido y altamente portátil, el cual no requiere de ningún elemento externo como fuentes de presión, vacío, pantallas, ni tampoco es obligatoria su operación con una computadora personal, lo que posibilita su uso en aplicaciones dentro y fuera del laboratorio. Sin embargo, las funcionalidades del dispositivo se ven potenciadas cuando éste es usado a través de una computadora personal, permitiendo la operación remota del equipo y la programación automática de sus funciones gracias a un pseudo lenguaje de programación de alto nivel, que hace uso de bloques de

funciones para la ejecución secuencial de los comandos. Se demostró el excelente desempeño del dispositivo propuesto mediante la generación de gotas microscópicas de tamaño uniforme a través de un flujo continuo y estable de fluidos, lo cual depende directamente de la estabilidad del sistema de lazo cerrado que se establece en el control del flujo. Como trabajo futuro se pretende implementar un sistema de control servovisual para la generación de gotas de un diámetro controlado, que haga uso del dispositivo propuesto como actuador.

REFERENCIAS

- [1] G. M. Whitesides, "The origins and the future of microfluidics," *Nature*, vol. 442, no. 7101, pp. 368–373, 2006.
- [2] D. B. Weibel and G. M. Whitesides, "Applications of microfluidics in chemical biology," *Current Opinion in Chemical Biology*, vol. 10, no. 6, pp. 584–591, 2006.
- [3] A. Bohr, S. Colombo, and H. Jensen, "Chapter 15 - future of microfluidics in research and in the market," in *Microfluidics for Pharmaceutical Applications*, ser. Micro and Nano Technologies, H. A. Santos, D. Liu, and H. Zhang, Eds. William Andrew Publishing, 2019, pp. 425–465.
- [4] T. M. Squires and S. R. Quake, "Microfluidics: Fluid physics at the nanoliter scale," *Rev. Mod. Phys.*, vol. 77, pp. 977–1026, 2005.
- [5] S. M. Bjork and H. N. Joensson, "Microfluidics for cell factory and bioprocess development," *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 55, pp. 95–102, 2019.
- [6] S. Halldorsson, E. Lucumi, R. Gómez-Sjöberg, and R. M. Fleming, "Advantages and challenges of microfluidic cell culture in polydimethylsiloxane devices," *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 63, pp. 218–231, 2015.
- [7] M. Mehling and S. Tay, "Microfluidic cell culture," *Current opinion in Biotechnology*, vol. 25, pp. 95–102, 2014.
- [8] C. Wyatt Shields IV, C. D. Reyes, and G. P. López, "Microfluidic cell sorting: a review of the advances in the separation of cells from debulking to rare cell isolation," *Lab Chip*, vol. 15, 2015.
- [9] K. Chung, M. M. Crane, and H. Lu, "Automated on-chip rapid microscopy, phenotyping and sorting of *c. elegans*," *Nat. Methods*, vol. 5, pp. 637–643, 2008.
- [10] S. Hulme, S. Shevkoplyas, J. Apfeld, W. Fontana, and G. Whitesides, "A microfabricated array of clamps for immobilizing and imaging *c. elegans*," *Lab Chip*, vol. 7, pp. 1515–23, 2007.

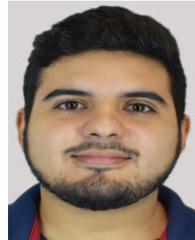
- [11] H. Kimura, Y. Sakai, and T. Fujii, "Organ/body-on-a-chip based on microfluidic technology for drug discovery," *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, vol. 33, no. 1, pp. 43–48, 2018.
- [12] N.-T. Nguyen, S. A. M. Shaegh, N. Kashaninejad, and P. D.-T., "Design, fabrication and characterization of drug delivery systems based on lab-on-a-chip technology," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 65, no. 11, pp. 1403–19, 2013.
- [13] M. T. (Ed.), "Microfluidic devices for drug delivery systems (special issue)," *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 128, pp. 1–158, 2018.
- [14] S. Damiati, U. B. Kompella, S. A. Damiati, and R. Kodzius, "Microfluidic devices for drug delivery systems and drug screening," *Genes*, vol. 9, no. 2, 2018.
- [15] K. Borchardt dos Santos, O. J. Romero, A. P. Meneguelo, and D. da Cunha Ribeiro, "A numerical investigation of immiscible water-oil displacement in simplified porous media," *IEEE Latin America Transactions*, vol. 14, no. 5, pp. 2175–83, 2016.
- [16] J. Kalil Coelho, M. Dias Pena, and O. J. Romero, "Pore-scale modeling of oil mobilization trapped in a square cavity," *IEEE Latin America Transactions*, vol. 14, no. 4, pp. 1800–07, 2016.
- [17] K. S. Elvira, X. C. i Solvas, R. C. Wootton, and A. J. Demello, "The past, present and potential for microfluidic reactor technology in chemical synthesis," *Nature chemistry*, vol. 5, no. 11, pp. 905–915, 2013.
- [18] O. Scheler, W. Postek, and P. Garstecki, "Recent developments of microfluidics as a tool for biotechnology and microbiology," *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 55, pp. 60–67, 2019.
- [19] C. D. Chin, V. Linder, and S. K. Sia, "Lab-on-a-chip devices for global health: Past studies and future opportunities," *Lab Chip*, vol. 7, pp. 41–57, 2007.
- [20] A. Perestrelo, A. Águas, A. Rainer, and G. Forte, "Microfluidic organ/body-on-a-chip devices at the convergence of biology and microengineering," *Sensors*, vol. 15, no. 12, pp. 31 142–70, 2015.
- [21] B. Zhang and M. Radisic, "Organ-on-a-chip devices advance to market," *Lab Chip*, vol. 17, pp. 2395–2420, 2017.
- [22] A. K. Yetisen, M. S. Akram, and C. R. Lowe, "Paper-based microfluidic point-of-care diagnostic devices," *Lab Chip*, vol. 13, pp. 2210–51, 2013.
- [23] Z. Li, S. Y. Mak, A. Sauret, and H. C. Shum, "Syringe-pump-induced fluctuation in all-aqueous microfluidic system implications for flow rate accuracy," *Lab Chip*, vol. 14, no. 4, pp. 744–749, 2014.
- [24] T. Glawdel, C. Elbuku, and C. L. Ren, "Droplet generation in microfluidics," in *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*, D. Li, Ed. Boston, MA: Springer, 2013, pp. 1–12.
- [25] C. Yamahata, C. Vandevyver, F. Lacharme, P. Izewska, H. Vogel, R. Freitag, and M. A. M. Gijs, "Pumping of mammalian cells with a nozzle-diffuser micropump," *Lab Chip*, vol. 5, pp. 1083–88, 2005.
- [26] T. Ward, M. Faivre, M. Abkarian, and H. A. Stone, "Microfluidic flow focusing: Drop size and scaling in pressure versus flow-rate-driven pumping," *Electrophoresis*, vol. 26, no. 19, pp. 3716–24, 2005.
- [27] K. W. Oh, K. Lee, B. Ahn, and E. P. Furlani, "Design of pressure-driven microfluidic networks using electric circuit analogy," *Lab Chip*, vol. 12, pp. 515–545, 2012.
- [28] "CorSolutions Pneuwave DUO Pump." [Online]. Available: <https://www.mycorsolutions.com/pneuwave-duo.html>
- [29] "ElveFlow OB1-MK3." [Online]. Available: <https://www.elveflow.com/microfluidic-flow-control-products/flow-control-system/pressure-controller/>
- [30] "Fluigent FlowEZ/MFCS." [Online]. Available: <https://www.fluigent.com/product/microfluidic-components/#pressure>
- [31] "Dolomite Mitos Pressure Pump." [Online]. Available: <https://www.dolomite-microfluidics.com/product/mitos-p-pump/>
- [32] "Precigenome PG-MFC Controller." [Online]. Available: <https://www.precigenome.com/ufuidic-controller>
- [33] H. Song, D. L. Chen, and R. F. Ismagilov, "Reactions in droplets in microfluidic channels," *Angewandte Chemie Int. Edition*, vol. 45, no. 44, pp. 7336–56, 2006.
- [34] S.-Y. Teh, R. Lin, L.-H. Hung, and A. P. Lee, "Droplet microfluidics," *Lab Chip*, vol. 8, pp. 198–220, 2008.
- [35] T. Trantidou, M. S. Friddin, A. Salehi-Reyhani, O. Ces, and Y. Elani, "Droplet microfluidics for the construction of compartmentalised model membranes," *Lab Chip*, vol. 18, pp. 2488–2509, 2018.



Carlos Aguilar-Avelar Ing. en Electrónica ('11), con Maestría ('13) y Doctorado ('17, Mención Honorífica) en Ciencias en Sistemas Digitales por el Instituto Politécnico Nacional. Ha realizado investigación en las áreas de sistemas dinámicos y control, sistemas digitales, biomédicos y embebidos, publicado 13 artículos en revistas científicas, 10 artículos en memorias de congreso y es co-autor del libro "Motion Control of Underactuated Mechanical Systems".



Miguel Esparza Ing. en Electrónica ('06), con Maestría ('13) y Doctorado ('17) en Ingeniería Eléctrica por Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Ha realizado investigación en las áreas de modelado de sistemas eléctricos, control y biomédica, publicando 6 artículos científicos y 5 artículos en congresos. Lideró el proyecto "Modeling of hysteresis current control for interconnected VSC-based SYS" en la Universidad de Aalborg, Dinamarca.



Franco Chacón Ing. en Mecatrónica ('19) por la Universidad Autónoma de Nuevo León en la Facultad de Ingeniería Mecánica y Eléctrica. Experto en desarrollo software y programación de alto nivel para el desarrollo de interfaces de usuario, interfaces de control y comunicaciones digitales para la automatización de sistemas y procesos biomédicos, mecánicos, ópticos y biológicos.



Diana Aráiz-Hernández Lic. en Biotecnología Genómica ('16) por la Universidad Autónoma de Nuevo León en la Facultad de Ciencias Biológicas. Tiene amplia experiencia en el área de cultivo celular y biología molecular desarrollada en el ITESM campus Monterrey. Ha publicado 10 artículos en revistas científicas. Actualmente realiza investigación en el área de en microfluidica y biopsias líquidas para la detección de células tumorales circulantes.



Brenda Soto-García Lic. en Biología ('08) por la Universidad Autónoma de Nuevo León en la Facultad de Ciencias Biológicas. En 2010 ingresó al grupo de Ingeniería Celular y Biorreacción del ITESM donde se especializó en biología molecular y cultivo celular para la producción, selección y mantenimiento de líneas celulares sobreproductoras de biofármacos. Ha publicado 3 artículos científicos.



Juan F. Yee-de León Ing. en Biomédica ('12) con Maestría en Sistemas Electrónicos ('15) por el ITESM campus Monterrey, es Director de Operaciones y co-fundador de Delee Corp., donde también funge como coordinador del departamento de biología. Ha realizado trabajo de investigación en el área biomédica, publicando en revistas y congresos internacionales, con una solicitud internacional de patente.



Liza P. Velarde-Calvillo Lic. en Negocios Internacionales ('14) con mención honorífica por el ITESM campus Monterrey, es Directora Ejecutiva y co-fundadora de Delee Corp. Cuenta con estudios en el extranjero en UC Berkeley, Draper University y Y Combinator. Ha recibido diversos reconocimientos, siendo el más reciente el Cartier Women's Initiative Award 2019.



Alejandro Abarca-Blanco Ing. Físico Industrial ('12) por el ITESM campus Monterrey, es Director de Tecnología y co-fundador de Delee Corp. Cuenta con una especialización en implementación de tecnologías por la Singularity University campus NASA Ames ('13) y es graduado de Y Combinator ('17). Recibió el premio Gifted Citizen ('14) y el Premio Santander ('15).