



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

PROYECTO FINAL DE CARRERA
INGENIERÍA TÉCNICA INDUSTRIAL MECÁNICA
CURSO 2011 – 2012.

DESARROLLO DE ENCAPSULADOS PARA CHIPS DE MICROFLUÍDICA DEDICADOS AL CULTIVO CELULAR

Mirko Antonio Cabrera Arenas

JUNIO 2012

Directora: Rosa María Monge Prieto

Ponente: Luis J. Fernandez Ledesma

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA MECÁNICA
ESCUELA DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA.

**Con la disculpa de mis hijos
siento la necesidad de dedicar este trabajo
a las dos Yolanda de mi vida: mi madre y mi esposa.**

RESUMEN

El marco general de este proyecto se sitúa sobre uno mayor cuyo objetivo es el desarrollo de nuevas herramientas de cultivo celular basadas en microtecnologías para la consecución de nuevas vías de ensayo y experimentación que permitan reducir la experimentación con animales y optimizar el desarrollo de nuevos fármacos a través de pruebas de test masivo. De este modo se buscan generar nuevas técnicas para la experimentación “in-vitro” en condiciones lo más parecidas a las “in-vivo”.

Estas condiciones “in-vivo” se simulan mediante el desarrollo de chips microfluídicos basados en tecnologías de litografía de SU-8. Estos chips, donde se depositan las células vivas, tienen un tamaño de 1 cm de largo por 1 cm de ancho y con una disposición interna (cámaras, canales, etc.) aún menor (del orden de los 100 micrómetros o inferior).

He aquí donde se ha de enmarcar el objetivo del presente trabajo: el desarrollo de una interfaz mecánica que conecte los elementos externos necesarios para la supervivencia de las células (fluidos, nutrientes, oxígeno, etc.) con los microcanales y cámaras que contienen a los organismos vivos.

Esto es, diseñar y fabricar unos encapsulados que conecten el entorno macro manipulado por el investigador con las condiciones micro en las que viven las células.

ÍNDICE GENERAL.

| | |
|---|----------|
| PARTE I: MEMORIA. | 9 |
| CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN. | 11 |
| 1.1. Objetivos generales. | 11 |
| 1.2. Objetivo del proyecto. | 12 |
| CAPÍTULO 2. ACERCAMIENTO AL MARCO GLOBAL DEL PROYECTO. | 15 |
| 2.1. Funcionamiento general. | 15 |
| 2.2. Chip microfluídico. | 19 |
| CAPÍTULO 3. EVOLUCIÓN DE LOS DISEÑOS. | 23 |
| 3.1. Estado del arte. | 23 |
| 3.2. Elementos básicos que componen el encapsulado. | 25 |
| 3.2.1. La tapa. | 25 |
| 3.2.1.1. Con entradas y salidas paralelas. | 25 |
| 3.2.1.2. Con entrada para pipeta. | 26 |
| 3.2.2. La base. | 27 |
| 3.3. Alineación entre los <i>o’rings</i> y los agujeros del chip. | 28 |
| 3.4. Diseño con bisagras. | 30 |
| 3.5. Tubos capilares. | 31 |
| 3.6. Entradas rápidas. | 33 |
| 3.7. Entradas rápidas alojadas dentro del encapsulado. | 35 |

| | |
|--|-----------|
| CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO. | 37 |
| 4.1. Conclusiones. | 37 |
| 4.2. Trabajo futuro. | 37 |
| 4.3. Conclusiones personales. | 39 |
| BIBLIOGRAFÍA. | 41 |
| PARTE II: ANEXOS. | 43 |
| ANEXO A. PIEZAS COMPLEMENTARIAS. | 45 |
| A.1. Reservorio. | 45 |
| A.2. Pieza de interconexión. | 46 |
| A.3. Pieza en T y en tridente. | 47 |
| ANEXO B. DISEÑOS. | 49 |
| B.1. Tapa con entradas paralelas. | 51 |
| B.1.1. Tapa entradas paralelas: Detalle interior. | 52 |
| B.2. Tapa con entrada de pipeta. | 53 |
| B.2.1. Tapa entrada pipeta: Detalle interior. | 54 |
| B.3. Base de encapsulado. | 55 |
| B.4. Banco de pruebas tubos capilares. | 56 |
| B.5. Encapsulado con tubos capilares. | 57 |
| B.6. Encapsulado con entradas rápidas. | 58 |
| B.7. Encapsulado microfluídico con entradas y salidas paralelas. | 59 |
| B.7.1. Encapsulado entradas paralelas: Detalle. | 60 |
| B.8. Encapsulado microfluídico con entrada para pipeta. | 61 |
| B.8.1. Encapsulado entrada pipeta: Detalle. | 62 |
| B.9. Reservorio. | 63 |
| B.10. Pieza de interconexión. | 64 |

| | |
|--------------------------------------|----|
| B.11. Pieza en tridente. | 65 |
| B.12. Pieza en T. | 66 |
| B.13. Modificación de la pieza en T. | 67 |

ÍNDICE DE FIGURAS.

| | |
|--|----|
| Fig. 1 Chip, encapsulado y electrónica de control. | 12 |
| Fig. 2 <i>Setup</i> microfluídico. | 12 |
| Fig. 3 Forma final de los elementos mecánicos que conforman el sistema. | 15 |
| Fig. 4 Diagrama de bloques del <i>setup</i> fluídico completo. | 16 |
| Fig. 5 <i>Setup</i> fluídico completo. | 17 |
| Fig. 6 Depósito final, microbomba y pieza en T. | 18 |
| Fig. 7 Autoclave. | 18 |
| Fig. 8 Biorreactor de <i>EBERS</i> [5]. | 19 |
| Fig. 9 Imágenes del chip microfluídico utilizado. | 20 |
| Fig. 10 Electroválvula de <i>Biochem Fluidics</i> [6]. | 21 |
| Fig. 11 Fase de limpieza y llenado de canales. | 21 |
| Fig. 12 Fase de sembrado de células. | 22 |
| Fig. 13 Fase de perfusión. | 22 |
| Fig. 14 Encapsulado de <i>IKERLAN</i> [7] próximo a las condiciones deseadas para el diseño del encapsulado requerido. | 23 |
| Fig. 15 Diseño inicial con uso de tornillos y conectores rápidos. | 24 |
| Fig. 16 Imagen del microcopio [8] y de la correcta alineación entre los <i>o’rings</i> y los agujeros de la base. | 25 |
| Fig. 17 Diseño en <i>Solid Edge</i> de la tapa del encapsulado utilizando tres entradas y tres salidas horizontales “paralelas”. | 26 |
| Fig. 18 Diseño en <i>Solid Edge</i> de la tapa del encapsulado utilizando dos entradas horizontales y una vertical para pipeta. | 27 |

| | |
|---|----|
| Fig. 19 Diseño en <i>Solid Edge</i> de la base del encapsulado. | 28 |
| Fig. 20 Detalle del diseño de las guías de alineación. | 29 |
| Fig. 21 Guías de alineación en la base. | 29 |
| Fig. 22 Primer diseño con bisagras. | 30 |
| Fig. 23 Detalle de la bisagra fabricada con el mismo material de prototipado rápido. | 31 |
| Fig. 24 Banco de pruebas para los tubos capilares y su mejor adhesión al material de prototipado. | 32 |
| Fig. 25 Medidas del agujero óptimo encontrado en el banco de pruebas. | 32 |
| Fig. 26 Diseño en <i>Solid Edge</i> del encapsulado con las entradas y salidas para tubo capilar. | 33 |
| Fig. 27 Diseño en <i>Solid Edge</i> del encapsulado con las entradas y salidas tipo entrada rápida. | 34 |
| Fig. 28 Imágenes de las entradas rápidas rotas y dobladas durante su aplicación real. | 34 |
| Fig. 29 Diseño en <i>Solid Edge</i> del encapsulado con las entradas y salidas tipo entrada rápida dentro del cuerpo del encapsulado. | 35 |
| Fig. 30 Imagen del último prototipo fabricado. | 36 |
| Fig. 31 Imagen de las pinzas sobre el prototipo fabricado. | 38 |
| Fig. 32 Diseño inicial del encapsulado de encapsulado. | 38 |
| Fig. 33 Diseño e imagen del primer modelo de reservorio. | 45 |
| Fig. 34 Modelo final de reservorio. | 46 |
| Fig. 35 Piezas de interconexión reemplazando la posición de las electroválvulas. | 47 |
| Fig. 36 Piezas en T y tridente. | 48 |

PARTE I

MEMORIA

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN.

1.1. Objetivos generales.

El presente proyecto de fin de carrera se enmarca en un proyecto de investigación más general, cuyo objetivo es el desarrollo de nuevas herramientas de cultivo celular basadas en microtecnologías para la consecución de nuevas vías de ensayo y experimentación que permitan reducir el estudio que hace uso de animales y optimizar el desarrollo de nuevos fármacos a través de pruebas de test masivo. De este modo se buscan generar nuevas técnicas para la experimentación “in-vitro” en condiciones lo más parecidas a las “in-vivo”.

La preservación de las condiciones mecánicas, bioquímicas y térmicas ha sido ya probada como un factor clave para el estudio de muestras biológicas. El proyecto general se establece pues sobre la hipótesis de que la imitación de las condiciones “in-vivo” de las células es crucial para su correcto estudio y posterior desarrollo. La mayoría de las células tiende a modificar sus funciones biológicas específicas fuera de su ambiente natural (desdiferenciación, apoptosis, producción nula de tejido o de baja calidad, etc.), siendo por tanto imposible entender correctamente sus propiedades básicas o su reacción a la presencia de ciertos fármacos “in-vivo”. Para cumplir dicho objetivo, este proyecto pretende la integración de tres especialidades industriales diferentes (microtecnología, electrónica y encapsulado) junto con una aplicación biológica para el desarrollo de nuevos dispositivos altamente innovadores capaces de ser rápidamente transferidos a la industria. Esta aproximación biomimética se realizará a través de avanzados métodos de ciencia de los materiales, técnicas de simulación y modelado, ingeniería, biología celular y fisiología animal.

Las condiciones “in-vivo” se simulan mediante el desarrollo de chips microfluídicos basados en tecnologías de litografía de SU-8. Este material es un polímero muy viscoso con el que se pueden obtener espesores que oscilan desde 1 micra hasta 300 micras y aun así se puede procesar mediante litografía de contacto. Tienen una capacidad máxima de absorción para valores de longitud de onda de 365nm .

1.2. Objetivo del proyecto.

El desarrollo completo del marco global del proyecto general consta de tres partes bien entendidas: desarrollo y fabricación de los chips, diseño de los encapsulados para los chips de microfluídica y configuración del setup fluídico (figuras 1 y 2).



Fig. 1 Chip, encapsulado y electrónica de control.

En los chips, donde se depositan las células vivas, se mantienen las dimensiones más adecuadas para la supervivencia de las mismas, con un tamaño de 1cm de largo por 1cm de ancho y con una disposición interna (cámaras, canales, etc.) aún menor (del orden de los 100 micrómetros o inferior).

Una de las partes a completar en el proyecto global era el desarrollo de los encapsulados para la conexión macro-micro, es decir, a través de estos encapsulados, poder acceder al chip y proporcionarle a las células las condiciones necesarias para su cultivo.

He aquí donde se ha de enmarcar el objetivo del presente trabajo: el desarrollo de una interfaz mecánica que conecte los elementos externos necesarios para la supervivencia de las células (fluidos, nutrientes, oxígeno, etc.) con los microcanales y cámaras que contienen a los organismos vivos.

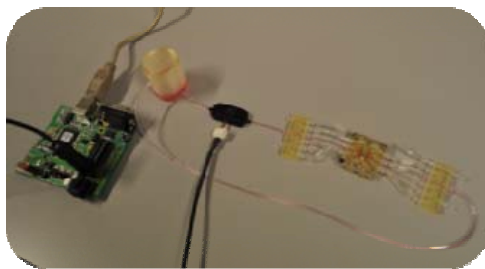


Fig. 2 Setup microfluídico.

El objetivo final de este proyecto de fin de carrera es diseñar y fabricar piezas que conecten el entorno macro manipulado por el investigador con las condiciones micro en las que viven las células.

El *setup* fluidoico (Fig. 2) consta de dos partes: una la mecánica (diseño y fabricación) y otra la electrónica (control de los flujos internos). En este proyecto se desdibujará toda la parte mecánica del *setup*. Su realización se basará principalmente en la experimentación y en el formato “prueba y error”, formato sobre el que se ha diseñado la evolución de los distintos modelos de encapsulado (tal y como se describen en el Capítulo 3 *Evolución de los diseños*); esto es, ir optimizando, por medio de una mejora iterativa del producto en la fase de desarrollo, los aspectos estéticos y de compatibilidad con el resto de piezas existentes en el mismo proyecto antes de la obtención del producto final.

La fabricación de los encapsulados para los diferentes chips se hará mediante técnicas de prototipado rápido [1]. Este tipo de fabricación se realiza mediante sinterizado de resina y esto permite una mayor repetibilidad y reproducibilidad. Para su diseño se eligió el desarrollo en *Solid Edge Student Edition* [2] de distribución gratuita.

El prototipado rápido es un proceso utilizado para fabricar artículos de plástico, metal o cerámica, también conocido como *Additive Technology*, ya que su proceso de fabricación consiste en ir añadiendo material capa a capa. Generalmente el prototipado rápido sólo se usa para la fabricación de prototipos.

El material que se ha utilizado en la fabricación es el *FullCure 720* [3]. Éste es el material original desarrollado para los sistemas de impresión 3D de *Objet* que incorporan la tecnología PolyJet™.

El material *FullCure Transparent* es un material fotopolímero y acrílico de aspecto transparente que permite construir una amplia gama de modelos rígidos que permiten observar el flujo de líquidos y detalles internos.

Cabe señalar que el material de fabricación de estos prototipos (actualmente en análisis en el laboratorio de materiales) no era el más adecuado por sus propiedades pero sí por su bajo coste.

Así, durante el desarrollo del proyecto, los diversos diseños que más adelante se describen (Capítulo 3 *Evolución de los diseños*) se fabricaron en este material, surgiendo serios inconvenientes con la solidez del mismo sobretodo al momento de variar el ambiente de trabajo, pues tanto los cambios de temperatura como los de humedad ocasionaban una tendencia a la deformación y/o rotura de las piezas y partes fabricadas. Sin embargo, al estar sujetos a la constante evolución del diseño y estar expuesta a muchos cambios y a probables errores durante la experimentación, la necesidad de velar por la disminución de costes era prioritaria.

Por tanto, como ya se ha señalado, su elección se basa en un aspecto básicamente económico.

CAPÍTULO 2. ACERCAMIENTO AL MARCO GLOBAL DEL PROYECTO.

2.1. Funcionamiento general.

Los experimentos a realizar con el sistema que se describe en este proyecto se realizan con células, las cuales precisan de condiciones especiales de temperatura, humedad, oxígeno, etc. Asimismo es necesario un correcto control del caudal que pasa a través del chip donde se alojan y una adecuada configuración de las vías que llevan los fluidos hasta él. El objetivo general del sistema es el de mantener las condiciones adecuadas para la supervivencia de las células contenidas en el chip.

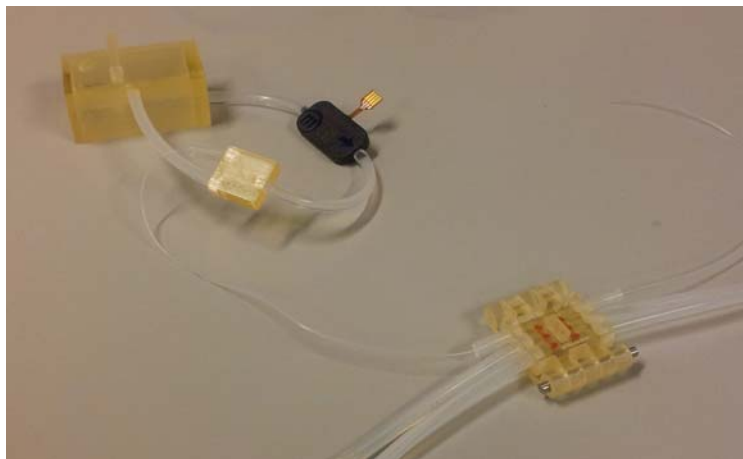


Fig. 3 Forma final de los elementos mecánicos que conforman el sistema.

Así, el *setup* fluidoico completo (Fig. 5) del sistema a desarrollar consta de un reservorio contenedor del medio con los nutrientes necesarios para las células, de la microbomba impulsora del fluido almacenado en el reservorio, del chip microfluídico y el encapsulado que lo contiene. Se puede encontrar un análisis más detallado del reservorio en el Anexo A.1.

Este *setup* fluidoico se completa en un futuro con las electroválvulas capaces de controlar la entrada/salida de los fluidos y los distintos programas de ejecución de funciones (limpieza del circuito, introducción de sustancias necesarias para las células, etc.), todos los elementos interconectados por tubos de un correcto diámetro y controlados por la electrónica adecuada (en cuanto se refiere a la bomba y a las electroválvulas).

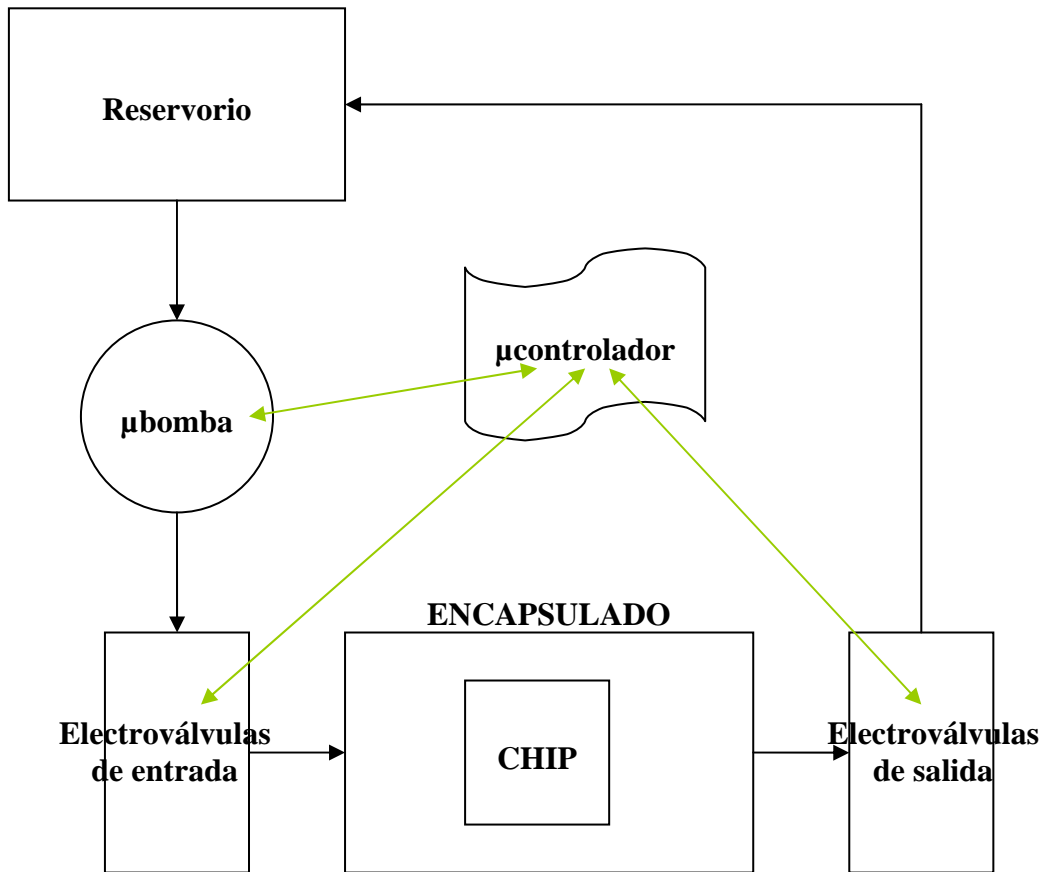


Fig. 4 Diagrama de bloques del *setup* fluidoico completo.

Siguiendo el diagrama de bloques de la Fig. 4 se puede entender el proceso a seguir en un ciclo de funcionamiento normal del *setup* (dentro de un ambiente adecuado de temperatura y humedad): después de depositar las células en el chip alojado en el encapsulado, los nutrientes alojados en el reservorio son impulsados a través de los tubos por la microbomba llegando hasta las electroválvulas que controlan el ingreso por los canales requeridos dependiendo del proceso a realizar. El fluido llega hasta el chip a través del encapsulado y sale para llegar nuevamente a las electroválvulas de salida y retornar al reservorio completando el ciclo.

En la imagen de la Fig. 5 se aprecian unas piezas llamadas *piezas de interconexión* (Anexo A.2.) utilizadas a modo de reemplazo de las electroválvulas durante la fase de desarrollo.

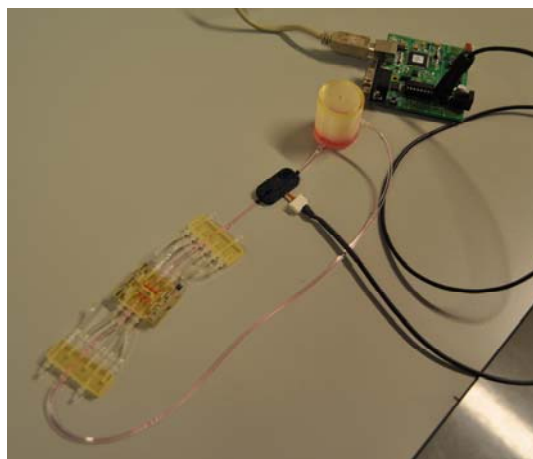


Fig. 5 *Setup* fluidoico completo.

La velocidad del fluido (caudal) es controlada por la microbomba (Fig. 6), un tipo especial de bomba llamada bomba de membrana o diafragma que en el caso de la aplicación del *setup* en particular que aquí se describe es el modelo mp6 de *Bartels Mikrotechnik* [4]

Para esta aplicación es necesario que los caudales sean del orden de entre $1\mu\text{l}/\text{min}$ a $10\mu\text{l}/\text{min}$. Dichos caudales tan bajos, pese al amplio rango de flujos posibles que se obtenían, no se llegaban a producir con la microbomba, por lo que durante la experimentación se implementaron además *piezas en T* (Fig. 6) para distribuir el caudal en forma de *bypass* (véase Anexo A.3. *Pieza en T y en tridente*), de modo que la cantidad de fluido a circular a través del encapsulado fuese menor o mayor según necesitásemos.

Otra de las piezas fabricadas durante el proyecto fue la pieza en forma de tridente diseñada con una entrada y tres salidas y descrita también en el Anexo A.3. Ésta tiene por objetivo distribuir fluido por los tres canales que conducen hacia cada una de las tres electroválvulas (ya sean las de entrada o las de salida).

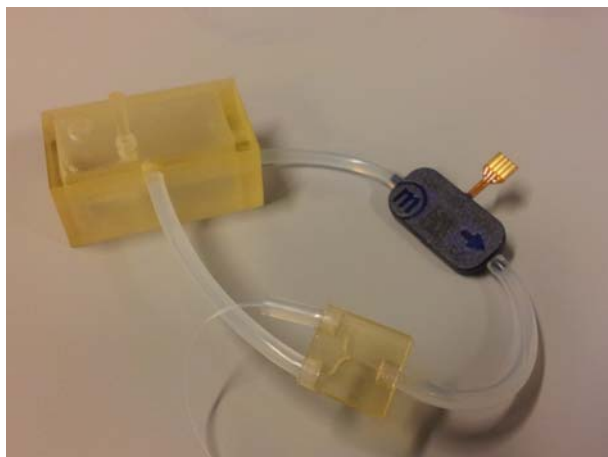


Fig. 6 Depósito final, microbomba y pieza en T.

Todo el sistema debe pasar previamente por un proceso de esterilización, al tener que alojarse células dentro, por lo que cada pieza fabricada así como los elementos y herramientas de trabajo de contacto directo con el encapsulado debían previamente introducirse en el autoclave (Fig. 7), recipiente con un cierre hermético que permite trabajar a alta presión para realizar esterilización con el uso de vapor de agua.



Fig. 7 Autoclave.

El *setup* debe conservar autonomía en su funcionamiento al tener que llevarlo a distintos lugares de trabajo (cámaras, microscopios, laboratorios, etc.); para ello todos los elementos deben ser completamente transportables por lo que las partes electrónicas mencionadas (microbomba, electroválvulas y sus respectivos sistemas de control) deben de estar conectados a una batería que les suministre energía durante un mínimo de tiempo.

Todo el *setup* debe tener además por característica el hermetismo, pues su aplicación es para cultivo celular.

Otra condición de trabajo de este sistema es, como ya se ha mencionado antes, el desarrollo de los experimentos en cámaras especiales de conservación de la temperatura y de la humedad. Esto se consigue en biorreactores (Fig. 8), encargados de generar las condiciones apropiadas para que las células se desarrollen en lo que serían condiciones fisiológicas normales. Cabe señalar que dichas características de temperatura y humedad de los biorreactores dependen en gran medida del tipo de cultivo celular con el que se vaya a trabajar.



Fig. 8 Biorreactor de *EBERS* [5].

2.2. Chip microfluídico.

Es importante tener claro el uso que se le va a dar al chip y los modos de trabajo en los que actuará pues ello definirá finalmente la configuración del *setup* final y por ende del encapsulado que lo alojará.

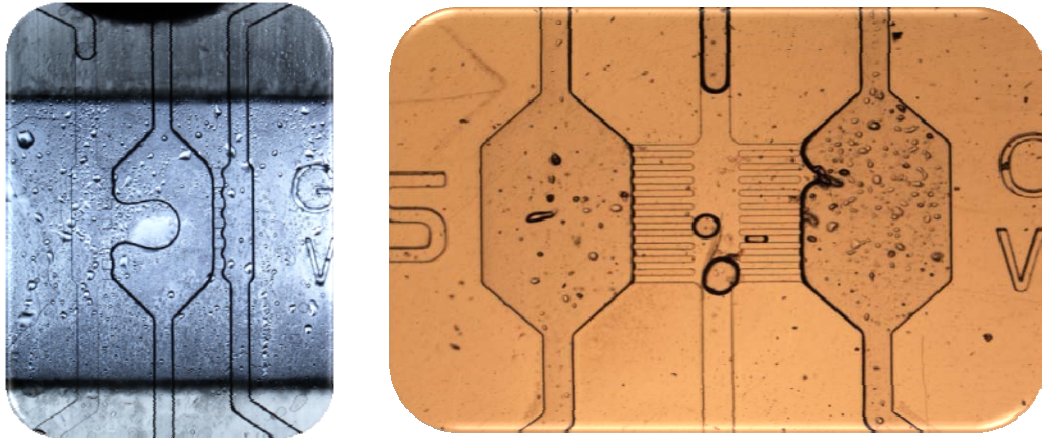


Fig. 9 Imágenes del chip microfluídico utilizado.

Los chips utilizados en este proyecto (Fig. 9) son fabricados mediante tecnología de SU8 y fotolitografía. Permiten el cultivo celular en la cámara central y poseen unos *inlets* y unos *outlets* para llevar a cabo las distintas operaciones que requieren las células presentes en su interior.

Las medidas para el alojamiento del chip que se diseñan en el encapsulado son de 1cm de largo por 1cm de ancho variando en su altura de acuerdo a los diferentes modelos de chip que utilizamos. Las alturas con las que se han trabajado durante el proyecto han sido cuatro en particular: 700 μm , 800 μm , 900 μm y 1mm. Se han utilizado estas medidas, a pesar de que los chips son de aproximadamente 200 μm de espesor, pues se debe considerar también al *pyrex*, que sirve de asiento al chip a la vez que ejerce presión entre éste y el encapsulado.

Con el chip se realizarán diversas operaciones como la de limpieza o la de sembrado, por lo que las tres entradas y las tres salidas deben de estar preparadas para abrirse o cerrarse según requiera el experimento. Como ya se ha indicado esto se consigue con el uso de electroválvulas (Fig. 10).

El tipo de electroválvula utilizada en el proyecto es una de pinzamiento de *Biochem Fluidics* [6], un tipo de válvula que no entra en contacto con el fluido, muy conveniente para la aplicación. Es además el modelo de dimensiones más reducidas (075P2NC12-10S), ya que interesa que el volumen utilizado en los experimentos sea pequeño.



Fig. 10 Electroválvula de *Biochem Fluidics* [6].

La apertura y el cierre de las electroválvulas controlan el modo de operación del chip. Así, se puede describir tres de las principales formas de funcionamiento con las que trabaja el chip: la fase de limpieza del chip y llenado de canales (Fig.11), durante la que todas las entradas y salidas deben estar abiertas; la fase de sembrado de células (Fig.12) en la que sólo hay que mantener abierta la entrada y la salida de la cámara central y la fase de perfusión (Fig. 13), donde sólo se hace pasar el fluido por uno de los canales laterales del chip, de manera que por difusión se suministre oxígeno y nutrientes para el desarrollo de las células presentes en la cámara central.

Fase 1: limpieza y llenado de canales

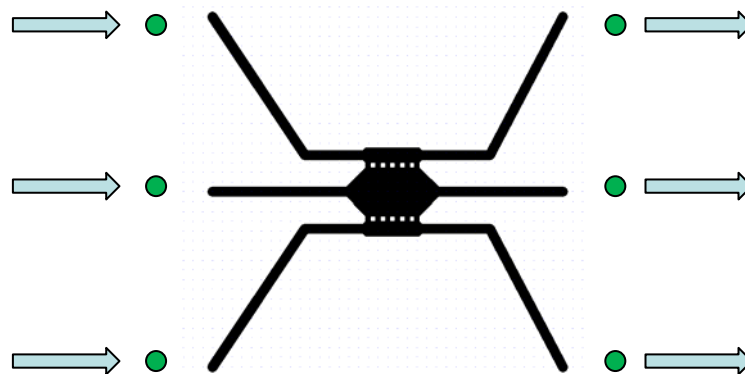


Fig. 11 Fase de limpieza y llenado de canales.

Fase 2: sembrado de células

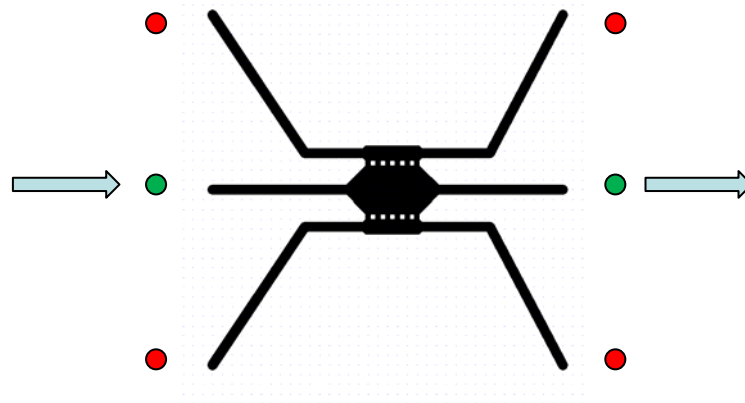


Fig. 12 Fase de sembrado de células.

Fase 3: perfusión

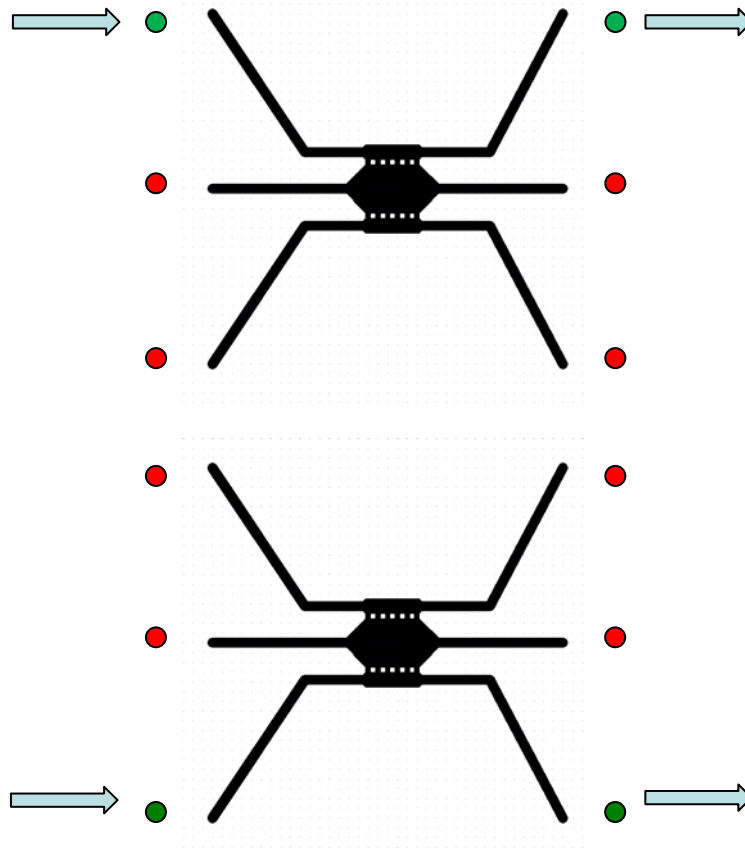


Fig. 13 Fase de perfusión.

CAPÍTULO 3. EVOLUCIÓN DE LOS DISEÑOS.

3.1. Estado del arte.

La idea inicial para el trabajo es la de tener un elemento que nos aloje el chip protegiéndolo y que conecte a su vez con las diversas partes del circuito sin que existan pérdidas de fluido ni interferencias en su recorrido. Es además una exigencia que el circuito cumpla con ser cerrado herméticamente, pudiendo al mismo tiempo ser observado desde fuera (con microscopio, por ejemplo).

En el mercado podían hallarse modelos de encapsulados próximos a los deseables en un primer momento para la aplicación, pero la versatilidad que se presentaba al momento de poder realizar diseños de ‘marca propia’ que se pudiesen modificar según las propias necesidades del proyecto global (actuales o futuras) y sobretodo el valor agregado del conocimiento adquirido durante el desarrollo de los diferentes prototipos inclinó a la decisión de fabricar los encapsulados por cuenta propia.

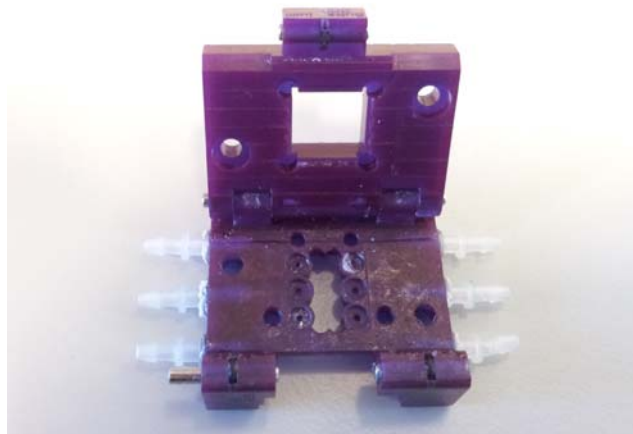


Fig. 14 Encapsulado de *IKERLAN* [7] próximo a las condiciones deseadas para el diseño del encapsulado requerido.

El encapsulado, diseñado con anterioridad y a partir del cual se desarrollaron las posteriores mejoras, consiste en una base y una tapa por separado unidas por medio de tornillos (Fig. 15): la base, que aloja al chip y permite, a través de una abertura inferior, su visualización, imprescindible para el estudio del comportamiento de las células; y la tapa en donde se construyen las vías que conectan con los tubos externos, unidos al encapsulado por medio de *conectores rápidos*.

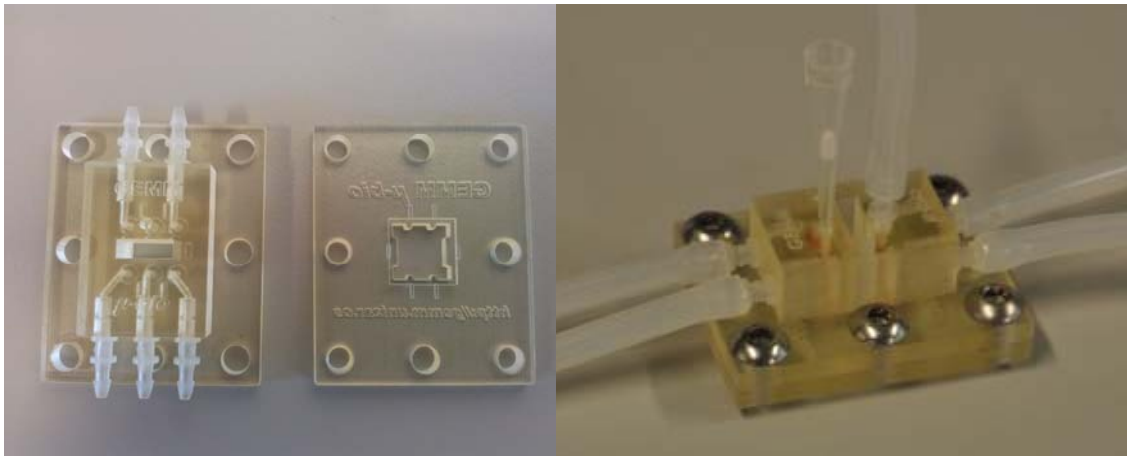


Fig. 15 Diseño inicial con uso de tornillos y conectores rápidos.

En la tapa además se encuentran agujeros diseñados para alojar las juntas tóricas de silicona (*o’rings*) con las cuales conseguimos el hermetismo del circuito; colocadas a presión, estas arandelas evitan además la fuga de fluido. La presión necesaria entre el chip y el encapsulado la da, inicialmente, una base de *pyrex* que sirve de asiento a la vez al propio chip.

A través de la ventana inferior de la base del encapsulado se ve, con ayuda de un microscopio de mano de *Motic* [8], el *pyrex*, el chip y la correcta alineación entre los *o’rings* alojados en la tapa y los agujeros del chip ubicado en la base (Fig.16). La falta de alineación entre *o’rings* y agujeros ocasiona obstrucciones que impiden el correcto flujo de nutrientes y, por tanto, un mal funcionamiento del sistema.

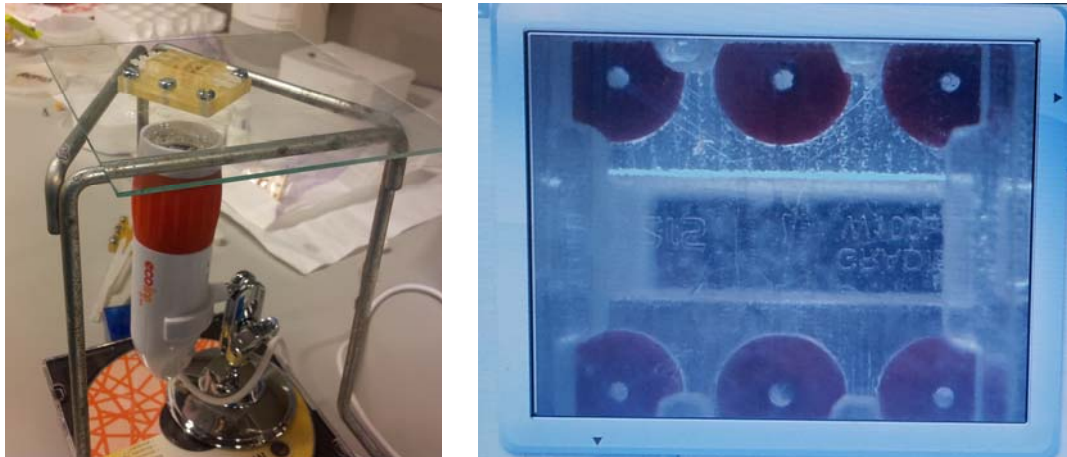


Fig. 16 Imagen del microscopio [8] y de la correcta alineación entre los *o'rings* y los agujeros de la base.

Este primer modelo cumple con los requisitos iniciales de alojar y proteger al chip, al mismo tiempo que se mantiene el hermetismo, pero es poco práctico en el modo de acceder al chip, al tener que retirar y poner seis tornillos para cada manipulación del mismo o para corregir los errores de alineación. Esta alineación era uno de los problemas iniciales que surgían al momento de hacer coincidir las partes superior e inferior del encapsulado y sobre el cual se ahondará más en el Capítulo 3.3.

3.2. Elementos básicos que componen el encapsulado.

3.2.1. La tapa.

Es la parte superior del encapsulado, con las dimensiones adecuadas (Anexos B.1. y B.2.) para coincidir con la base y a su vez alojar las conexiones con los tubos que conducen los fluidos desde el exterior. De geometría simétrica, inicialmente esta tapa estaba diseñada con seis agujeros pasantes para los tornillos de cierre y con otros dos agujeros centrales un poco más grandes diseñados, en un primer momento, para la colocación de guías de alineación entre la tapa y la base.

Para la tapa se diseñaron dos posibles configuraciones a utilizar:

3.2.1.1. Con entradas y salidas paralelas.

Tal como se ha mencionado, una de las condiciones iniciales de diseño es que el encapsulado sea hermético para evitar la contaminación exterior y para la correcta distribución de los fluidos. El acceso a las cámaras del interior del chip debe de ejecutarse de un modo automático, por medio de la electrónica adecuada. Es por este motivo que tanto las

entradas como las salidas deben estar conectadas de modo permanente a sistemas de control (electroválvulas) que gobiernen los flujos que circulan a través del chip, de modo que el personal investigador elija, por medio de ellas, los canales adecuados para cada experimento seleccionando las electroválvulas según correspondan.

Con esta intención se diseñaron entradas y salidas paralelas que conectan directamente con el chip.

Estas entradas y salidas guardan simetría, se trata de tres agujeros ubicados en dos caras laterales opuestas y que guardan la distancia adecuada para alojar conectores rápidos unidos a los tubos conductores de fluido (Fig. 17). Por dentro el conducto disminuye de diámetro pues el caudal que debe llegar al chip es muy pequeño. Asimismo se ha tenido en cuenta, con el fin de evitar posibles turbulencias, que el diseño contenga la menor cantidad posible de codos.

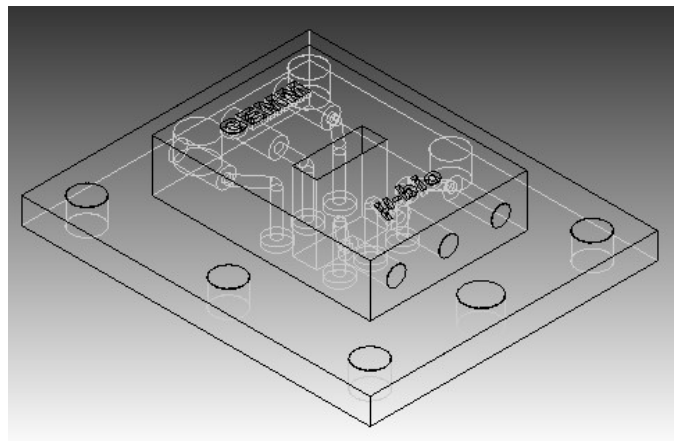


Fig. 17 Diseño en *Solid Edge* de la tapa del encapsulado utilizando tres entradas y tres salidas horizontales “paralelas”.

3.2.1.2. Con entrada para pipeta.

Con la finalidad de realizar el sembrado de las células de una forma más rápida, sencilla y eficiente durante la experimentación en laboratorio, se ha diseñado también la tapa con una entrada especial para pipeta.

Esta entrada tiene la necesidad de ser vertical, por la comodidad de la aplicación de la pipeta en sí y para aprovechar el efecto de la gravedad.

Para este caso las entradas y salidas ya no guardan simetría. Tenemos ahora dos agujeros de entrada enfrentados a tres de salida en dos caras laterales opuestas. La distancia sigue siendo la adecuada para

los conectores rápidos y los conductos disminuyen de diámetro igual que en caso anterior (Fig. 18). El cambio que encontramos es la entrada especial de pipeta ubicada en la parte superior de la tapa con una medida distinta a la de los conectores rápidos (1,7mm en comparación del resto de agujeros de 2,25mm) y con una profundidad (1mm) adecuada para que la pipeta se mantenga siempre vertical. El cambio de diámetro del conducto también es distinto al resto.

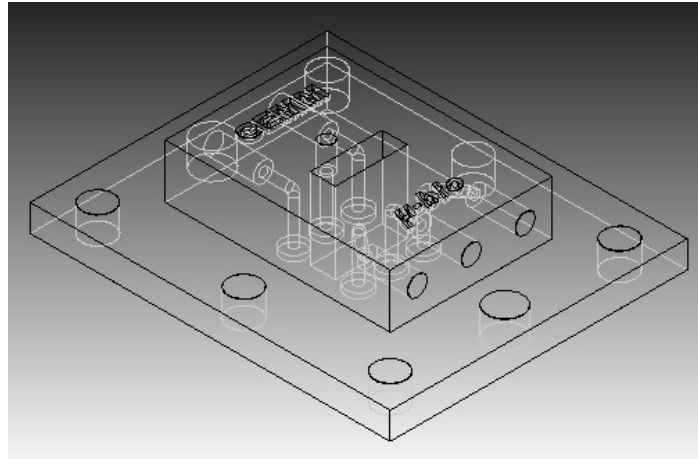


Fig. 18 Diseño en *Solid Edge* de la tapa del encapsulado utilizando dos entradas horizontales y una vertical para pipeta.

3.2.2. La base.

Esta pieza, común a las dos configuraciones diseñadas para la tapa, es la correspondiente a la parte inferior del encapsulado. Posee un alojamiento que sirve para la colocación del *pyrex* y del chip, con una ventana inferior diseñada con la intención de que el investigador pueda ejercer un control visual de los eventos que ocurran dentro (Fig.19).

De medidas de 1cm por 1cm, este alojamiento varía únicamente en su altura siendo utilizadas, durante las distintas etapas de desarrollo, alturas de 700 μ m, 800 μ m, 900 μ m y 1mm, dependiendo de la altura del chip.

La completan los seis agujeros de los tornillos de cierre y los dos correspondientes a las guías mencionadas en la descripción de la tapa (Capítulo 3.2.1.)

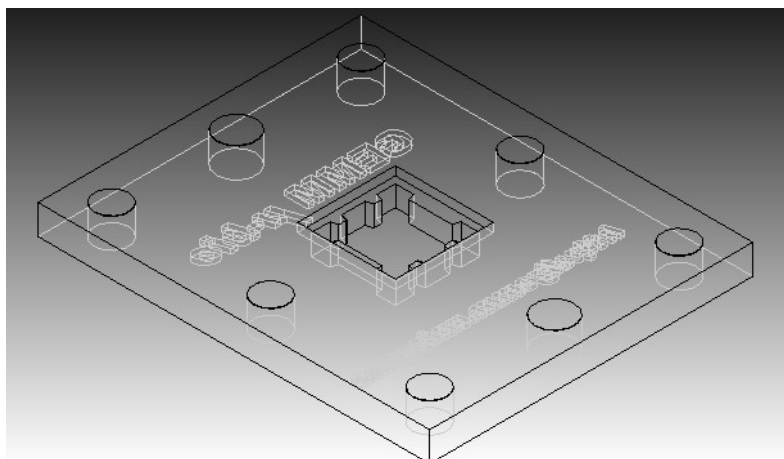


Fig. 19 Diseño en *Solid Edge* de la base del encapsulado.

3.3. Alineación entre los *o’rings* y los agujeros del chip.

El primer problema a resolver ha sido el de la alineación de la base que aloja al chip y la tapa en donde se encuentran los conductos fluidicos. El problema se presentaba al momento de hacer coincidir las juntas tóricas (*o’rings*) con los agujeros del chip, pues muchas veces las juntas obstruían los agujeros (Fig. 16) ocasionando la interrupción del flujo. Esto conllevaba a una pérdida de tiempo, al tener que separar la tapa de la base (unidas por seis tornillos) y reacomodar el chip para volver a probar.

Como ya se ha mencionado, una primera idea sugería la inclusión de guías en los extremos del encapsulado de modo que base y tapa mantuviesen una permanente alineación vertical, pero su aplicación era complicada de manipular (para acceder al chip, por ejemplo).

La solución requeriría de un nuevo elemento de diseño de modo que se pensó en guías de alineación para el chip (Fig. 20) en lugar de la idea de alinear todo el conjunto base-tapa.

El chip, que sobresale unas micras fuera del agujero diseñado en la base para que los *o’rings* puedan ejercer presión sobre él, tenía demasiada libertad de movimiento lo que ocasionaba que no siempre estuviera en la misma posición al momento de colocarle las juntas tóricas sobre él. De modo que se diseñaron unos salientes en la base y los correspondientes agujeros en la tapa.

Esto nos asegura que base y tapa siempre encajan en una posición correcta con una holgura mínima (la tolerancia entre los salientes y sus respectivos agujeros es de 0,4mm, lo que se puede ver reflejado en los diseños del Anexo B). Además, al colocar los salientes en la base y no al revés, sirven de guías para colocar al chip en una posición única.

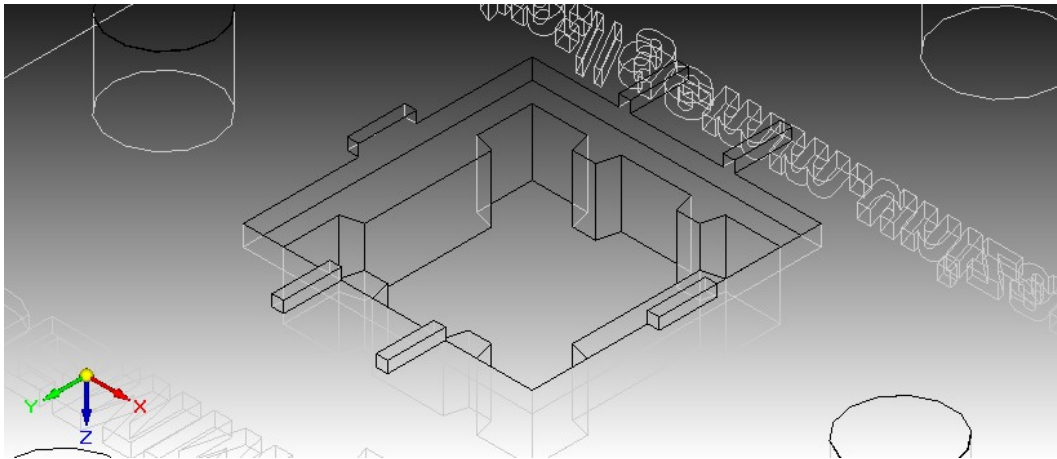


Fig. 20 Detalle del diseño de las guías de alineación.

Este añadido generó una importante mejora cualitativa en cuanto a que la colocación del chip era ahora única y siempre coincidente con las vías conductoras de los fluidos necesarios para la experimentación con células, ganando de este modo en tiempo y manipulación al no tener que verificar esta alineación cada vez que el chip era colocado, pues como ya se ha dicho hay que considerar que hasta este punto, cuando se colocaba o retiraba el chip, era necesario poner o quitar seis tornillos, luego, el hecho de no tener que abrir y cerrar para calibrar esta alineación significaba un gran ahorro de tiempo.



Fig. 21 Guías de alineación en la base.

En este punto se tiene un encapsulado que cumple con los requisitos de hermetismo, protección y alineación, pero que aún es poco práctico en su manipulación. El uso de seis tornillos para el cierre y apertura del conjunto resulta seguro pero implica un gasto de tiempo con el que se prefiere no contar, es por ello que a partir de este punto se buscan mejoras en cuanto al modo en que se abre y cierra el encapsulado.

3.4. Diseño con bisagras.

La siguiente idea de mejora, es la de unir la base y la tapa en una de sus aristas y cerrar el encapsulado por medio de pasadores metálicos. Estos pasadores reemplazarán a los tornillos como sistema de cierre y apertura del encapsulado.

Para la elección del material de los pasadores a utilizar hay que considerar que el encapsulado, una vez cerrado, es sometido a cambios de temperatura y humedad (autoclave y biorreactor) por lo que dicho material debe estar protegido de la corrosión, en este sentido la mejor elección era el acero inoxidable, para cumplir con las condiciones dadas, por costes y por la facilidad de encontrarlo en el mercado.

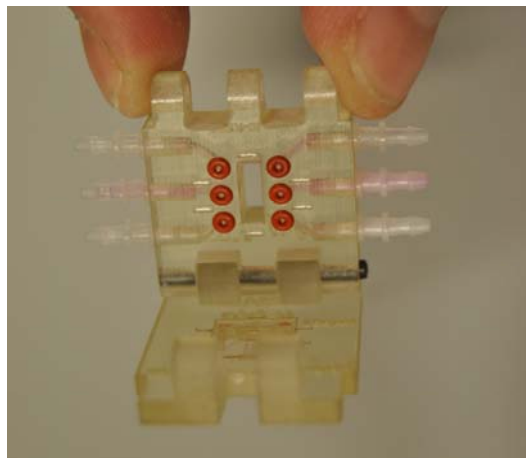


Fig. 22 Primer diseño con bisagras.

Un primer planteamiento se diseñó manteniendo la base y la tapa por separado pero agregando al diseño los agujeros para los pasadores que cumplen el papel de bisagras y eliminando los tornillos del prototipo inicial (Fig. 22). Esto significa un ahorro en material de fabricación, pues el nuevo diseño es de menor volumen en comparación al descrito en el Capítulo 3.1; al tiempo que se añade otra mejora, dado que la apertura y el cierre del encapsulado se realizarían ahora de una manera más práctica.

Este diseño, que se acercaba más al modelo deseado, funcionaba bien, pero ocasionaba una disminución de la presión sobre el encapsulado al tener como cierre dos pasadores y ya no seis tornillos. El material a su vez se deformaba en el centro al elevarse la temperatura (condición necesaria para los procesos biológicos a los que se someterían las células) cosa que se notaba menos con los tornillos pues distribuían la presión por todo el encapsulado y no sólo en las aristas, donde se encuentran los pasadores, como ahora.

La solución para la deformación del material pasaría a ser analizada para darle solución por otra vía (véase el Capítulo 6 *Conclusiones y trabajo futuro*).

Otro problema era el uso de un pasador metálico como bisagra, pues resulta poco útil y añade un elemento de desgaste para el material con el que es preferible no contar.

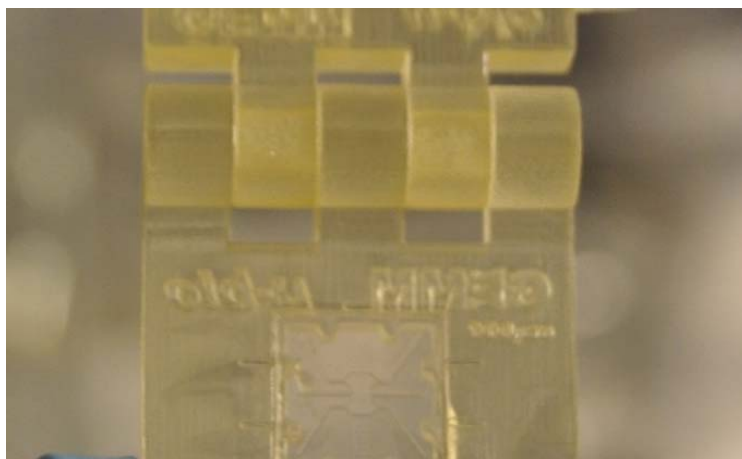


Fig. 23 Detalle de la bisagra fabricada con el mismo material de prototipado rápido.

Esto se solucionó fabricando la bisagra con el mismo material de prototipado rápido (Fig. 23), por lo que se decidió unir ambas piezas (tapa y base) en una sola. El pasador de acero inoxidable se ha de utilizar únicamente para el cierre del encapsulado.

Solucionado el problema de la bisagra, aunque con el inconveniente de la deformación del material, se debía ahora enfocar el diseño en solucionar otro inconveniente: disminuir el volumen muerto en los tubos de todo el circuito.

3.5. Tubos capilares.

Tal y como se mencionó en el *estado del arte* (3.1), los fluidos que ingresan al chip a través del encapsulado, lo hacen por medio de conectores rápidos los cuales se unen con tubos al resto del circuito. Estos conectores y tubos, aunque prácticos, ocasionan que el volumen muerto en todo el circuito sea bastante significativo.

Se busca pues disminuir el diámetro de todos los tubos del circuito, de modo que en las interconexiones entre reservorio, microbomba y encapsulado disminuyese el problema del volumen muerto. El enfoque se orientó hacia el uso de tubos capilares de 0,3mm de diámetro interno y 0,6mm de diámetro externo.

Estos tubos distribuidos por Bola [9] fueron previamente ensayados en bancos de prueba a fin de buscar la forma idónea de pegarlo al encapsulado (el detalle del diseño de este *banco de pruebas* puede apreciarse en el Anexo B.4). Con el fin de mantener la mayor esterilidad posible, el pegamento a utilizar para unir el tubo capilar al encapsulado fue LOCTITE de uso médico.

Este banco de pruebas consiste en una pieza sobre la que se han diseñado diversos tipos de agujeros pasantes (Fig. 24) que van disminuyendo su diámetro, de modo que colocando el tubo por arriba se pueda comprobar en cuál encaja mejor y dónde el pegamento lo fija con más éxito.

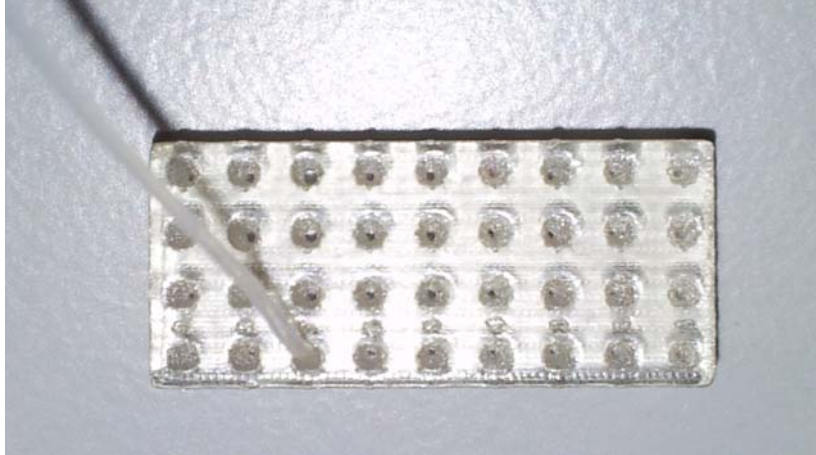


Fig. 24 Banco de pruebas para los tubos capilares y su mejor adhesión al material de prototipado.

Las pruebas se realizaron siguiendo un sencillo proceso de prueba y error en el que se probaron cuatro veces cada una de las nueve configuraciones diseñadas. Para probarlas primero se debía hacer pasar líquido a través del banco (es decir, comprobar que no estén obstruidas con el LOCTITE) y luego medir el caudal a través de cada agujero. Se determinó que la mejor configuración es la formada por un cilindro sobre un tronco de cono sobre otro cilindro menor (Fig. 25)

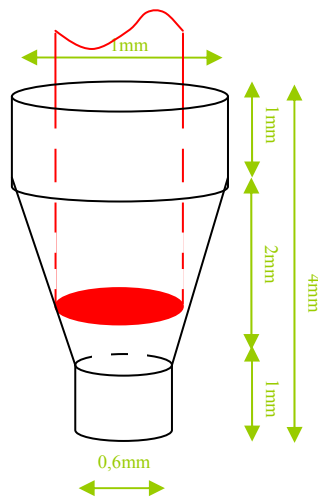


Fig. 25 Medidas del agujero óptimo encontrado en el banco de pruebas.

El diseño mejora al alargar el cilindro de la parte superior (cilindro de 1mm de diámetro), de este modo se aumenta la zona de contacto entre el tubo y el material lo que asegura una mayor adhesión. Este último fue el diseño que se incorporó al encapsulado (Fig. 26).

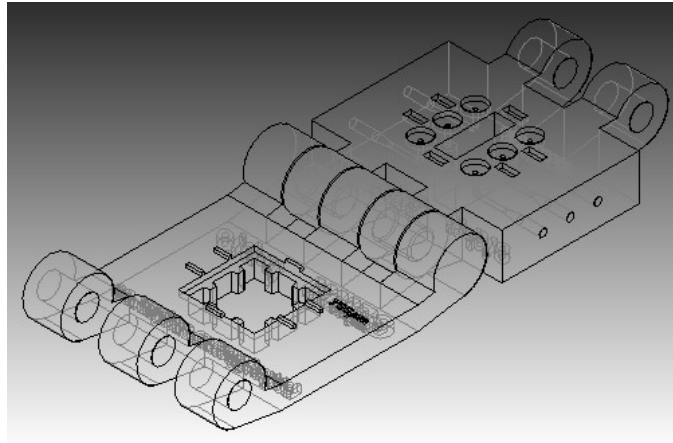


Fig. 26 Diseño en *Solid Edge* del encapsulado con las entradas y salidas para tubo capilar.

Durante la experimentación con los tubos capilares se observó que, como era lógico, ofrecían una mayor resistencia fluidica que los tubos utilizados hasta ahora, lo cual repercutía directamente sobre la microbomba al tener ésta que aumentar sus valores de frecuencia y voltaje para movilizar el caudal dentro del circuito. Esto es muy conveniente pues la microbomba trabajaba mejor con valores altos.

Lamentablemente para los objetivos del proyecto la unión entre el encapsulado y los tubos no era del todo eficiente. En condiciones ambiente normales mantenía una unión sólida y robusta, pero, al someterla a condiciones de cambio de temperatura y/o humedad, la unión no se mantiene pues el pegamento es demasiado rígido, en comparación con el material de prototipado, lo que ocasiona pérdidas de flujo o la total desunión del canal. Esto, sumado a la alta deformación sufrida por el material al ser sometido a dichos cambios, motivó a que este diseño se descartase para su probable aplicación en el caso de cambiar el material del prototipo.

3.6. Entradas rápidas.

Descartada la aplicación de los tubos capilares persistía el problema de la elevada cantidad de fluido que circula por los tubos (volumen muerto) que llega hasta el encapsulado y, por ende, al chip. Añadido a ello debemos hacer que el encapsulado sea más fácilmente manipulable por el usuario final, esto es, que puedan poner y quitar los tubos de una manera ágil y segura en un sistema que esté integrado al propio encapsulado.

La alternativa elegida fue la de cambiar los *conectores rápidos* por *entradas rápidas* similares a las de la bomba (véase la Figura 5 en el Capítulo 2.1 *Funcionamiento general*) incorporándolas al propio encapsulado.

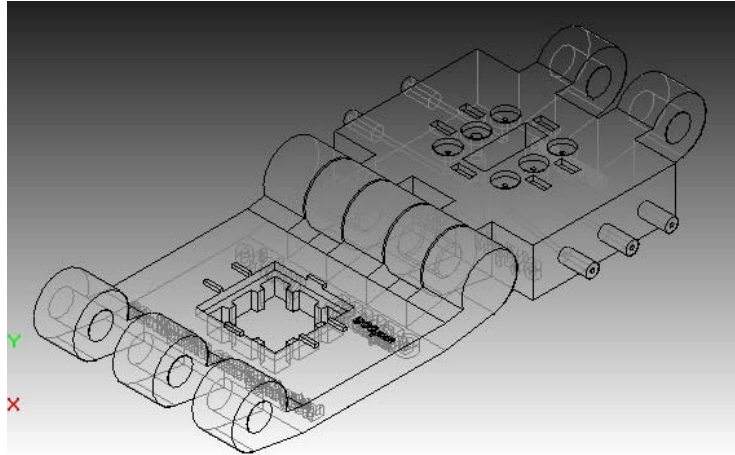


Fig. 27 Diseño en *Solid Edge* del encapsulado con las entradas y salidas tipo entrada rápida.

A estas nuevas entradas, que se aprecian claramente en la Fig. 27, se le acoplarían tubos de un diámetro interno de 0,5mm lo cual disminuía considerablemente el volumen muerto en todo el circuito, objetivo que se persigue.

Si bien la idea cumple con los requisitos reducción de caudal y de facilidad de manejo, nuevamente se presentó un inconveniente al momento de llevarlo a su aplicación en la práctica: los salientes diseñados en este material eran demasiado frágiles y se rompían o doblaban (Fig.28) durante su manipulación especialmente ante los cambios de temperatura.

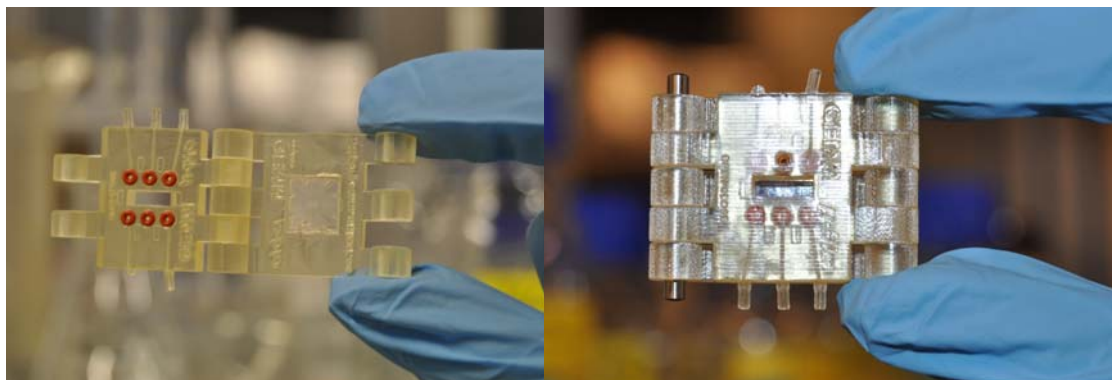


Fig. 28 Imágenes de las entradas rápidas rotas y dobladas durante su aplicación real.

3.7. Entradas rápidas alojadas dentro del encapsulado.

Como se ha indicado, el sistema ideado cumplía las condiciones hasta ahora requeridas de disminución de volúmenes muertos, pero debía superarse el obstáculo de la falta de solidez del material al someterse a las condiciones de trabajo.

La temperatura y la humedad dentro del biorreactor volvían a ocasionar problemas en el diseño, de modo que, con la intención de darle una mayor robustez, se introdujeron las entradas rápidas dentro de la carcasa del encapsulado, así, junto al tubo que lo envuelve, formarán una pieza que no se dobla ni se rompe con tanta facilidad (Fig. 29).

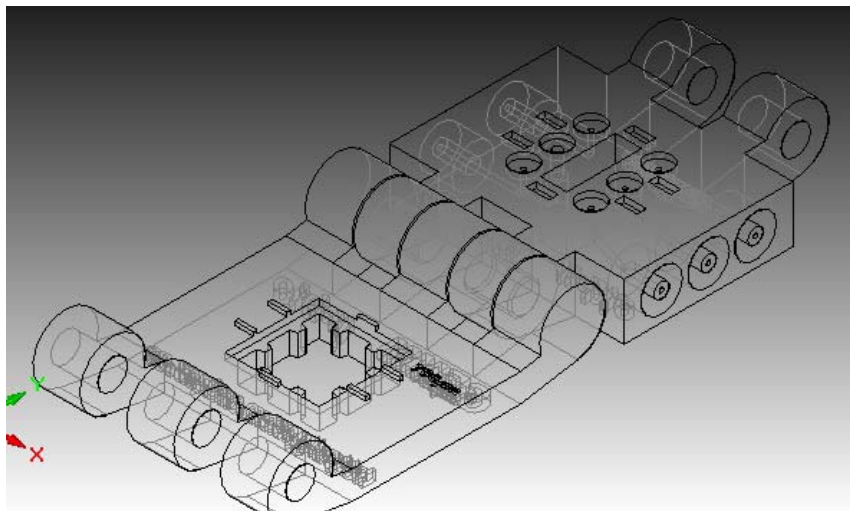


Fig. 29 Diseño en *Solid Edge* del encapsulado con las entradas y salidas tipo entrada rápida dentro del cuerpo del encapsulado.

Esta nueva configuración mantendría el uso de los tubos de diámetro interior de 0,5mm cumpliendo, por tanto, con las condiciones planteadas inicialmente de la disminución de volúmenes muertos y la de facilidad de manipulación para el usuario final. El mismo diseño de entradas se trasladó al reservorio (Anexo A.1.), a las piezas de interconexión (Anexo A.2.) y a las piezas en T (Anexo A.3.); esto es, todo el sistema utilizaría los tubos de 0,5mm.

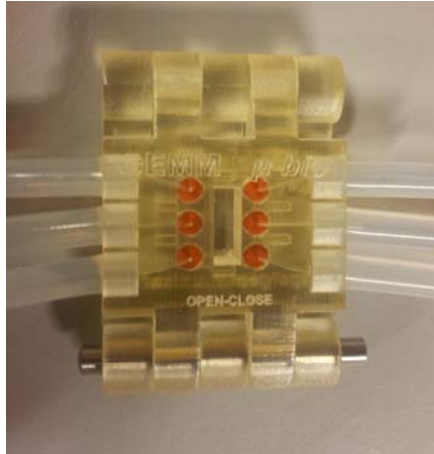


Fig. 30 Imagen del último prototipo fabricado.

Todo este desarrollo especificado en medidas, desde el estado inicial hasta llegar a este último encapsulado, está descrito en los planos incluidos en el Anexo B.

CAPÍTULO 4. CONCLUSIONES Y TRABAJO FUTURO.

4.1. Conclusiones.

Los objetivos marcados al inicio del proyecto de mejorar el modelo existente al respecto de la alineación del chip, de la disminución de caudal que circula a través del encapsulado y de la comodidad de trabajo para el investigador que vaya a hacer uso del encapsulado se han alcanzado, manteniendo en todo momento los principios de hermetismo necesarios para los trabajos con células.

Los diferentes diseños reseñados en el Capítulo 3 han sido utilizados en pruebas y ensayos reales, cosa que demuestra que los prototipos fabricados cumplían con sus puntuales objetivos a medida que se iba mejorando el diseño.

Aunque durante todo el proceso hubo que trabajar con el condicionante de que el material de prototipado iba a ser el mismo que se usaría para la experimentación de las pruebas de laboratorio, cosa para la que el material no está pensado, el avance en cuanto a los modelos ha sido significativo, alcanzándose un diseño final acorde a los objetivos inicialmente marcados.

4.2. Trabajo futuro.

Un punto que no se llegó a solventar fue el de la presión que debían ejercer las paredes del encapsulado sobre el chip para evitar fugas entre la tapa y la base. El diseño era sólido pero el material jugaba nuevamente un papel determinante, deformándose en arco tras los cambios de ambiente (temperatura y humedad) y permitiendo fugas.

El problema ha sido resuelto momentáneamente a través de pinzas colocadas a presión sobre el encapsulado con el fin de evitar la deformación del material y la pérdida de fluido (Fig. 31).

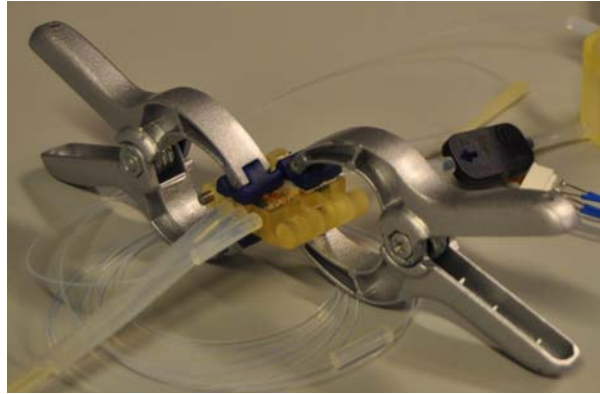


Fig. 31 Imagen de las pinzas sobre el prototipo fabricado.

En ese sentido las soluciones posibles son bastante claras: diseñar un *encapsulado de encapsulado* en un material no deformable (acero inoxidable, por ejemplo) de modo que se elimine el uso de estas pinzas y se evite la deformación del encapsulado primero o bien desarrollar un diseño más robusto a partir del encapsulado actual.

Un prototipo del *encapsulado de encapsulado* (Fig. 32) se empezó a realizar durante el transcurso del presente proyecto de fin de carrera, pero no llegó a concluirse pues su fabricación debía ser exacta, lo cual conllevaba a una mayor cantidad de pruebas. Al mismo tiempo faltaban de analizarse más opciones que pudiesen solucionar este mismo problema.

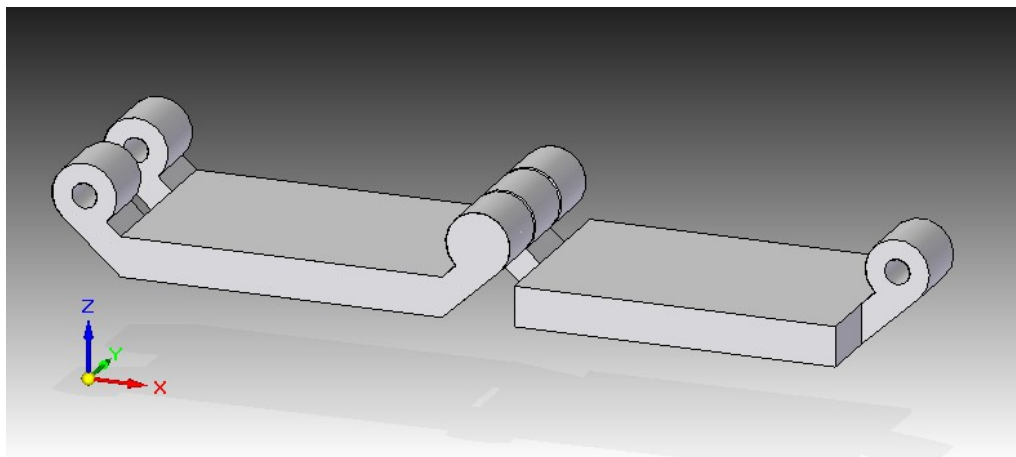


Fig. 32 Diseño inicial del encapsulado de encapsulado.

Otro punto sobre el que se sigue investigando es acerca de las propiedades del material de prototipado. Éste material ofrece las ventajas mencionadas en cuanto a disminución de gastos pero genera problemas en torno a su aplicabilidad en entornos de

cambios de temperatura y humedad por ser excesivamente propenso a las deformaciones.

Caben señalar otras mejoras posibles que, aunque no forman parte del proyecto en particular que aquí se detalla, forman parte del proyecto global. Estas mejoras serían por ejemplo la inclusión de válvulas en reemplazo del sistema existente con piezas de interconexión manual (Anexo A.2.) con sus respectivos lazos de control, así como la integración de todas las partes dentro de una única plataforma que las contenga.

4.3. Conclusiones personales.

Mi participación en el proyecto general me ha permitido conocer de cerca todo un campo de la ciencia para mi desconocido como es el de las aplicaciones microfluídicas en bioingeniería.

El desarrollo del diseño y la fabricación de los encapsulados ha ampliado en gran medida mis conocimientos en cuanto a diseño se refiere, a la vez que ha puesto a prueba mi capacidad de inventiva a la hora de resolver los problemas puntuales que se fueron presentando durante el camino.

Por último, pero no menos importante, he de agregar que el carácter multidisciplinar de este proyecto (en donde he coincidido durante su ejecución con electrónicos y biólogos) incrementa el valor de los avances logrados al tratarse de un trabajo de coordinación y entendimiento en grupo.

BIBLIOGRAFÍA.

- [1]. http://es.wikipedia.org/wiki/Prototipado_r%C3%A1pido

- [2]. http://www.plm.automation.siemens.com/en_us/products/velocity/forms/solid-edge-student.cfm

- [3]. <http://www.skeg.com/FullCure720.pdf>

- [4]. <http://www.bartels-mikrotechnik.de/index.php/Micropumps.html>

- [5]. <http://www.ebersmedical.com/products/teb1000-bioreactor>

- [6]. <http://www.biochemfluidics.com/Products/pinch-Valves.asp>

- [7]. http://www.ikerlan.es/site_preview/index.php

- [8]. <http://www.motic.com/Home.aspx?r=eur&lang=sp>

- [9]. <http://www.bola.de/en/home.html>

PARTE II

ANEXOS

ANEXO A. PIEZAS COMPLEMENTARIAS.

A.1. Reservorio.

Dentro del circuito uno de los elementos a trabajar fue el reservorio el cual servía para el almacenamiento del medio con los nutrientes necesarios para los experimentos con las células. El requisito fundamental de su diseño era el volumen adecuado para mantener el circuito siempre con fluido, esto es, alcanzar un volumen correcto para el funcionamiento del *setup* completo, sin que este volumen fuese innecesariamente alto pues aumentarlo en demasía entraría en contra de la necesidad de reducir recursos.

De una geometría simple, el primer modelo de reservorio era cilíndrico, con una entrada y una salida preparadas para alojar *conectores rápidos* y separadas por un barrido de 90°, con dos aberturas en la cara superior para la colocación de filtros de partículas en el aire y de oxígeno (Fig. 33).

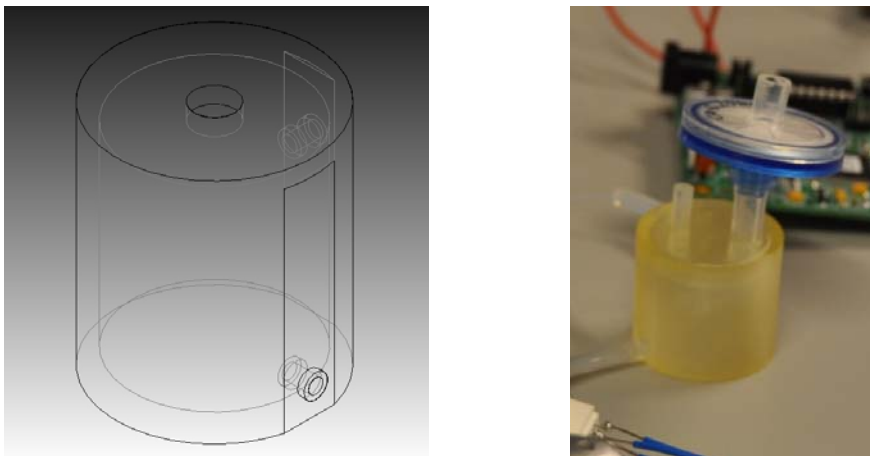


Fig. 33 Diseño e imagen del primer modelo de reservorio.

Sin embargo durante el transcurso del trabajo de laboratorio se comprobó que la altura del volumen depositado influía en las mediciones del caudal: a mayor altura el fluido en el sistema se adquiría una mayor velocidad del caudal por efecto de la

gravedad. Esto hizo pensar que lo más conveniente era rediseñar el reservorio para que este fuera lo más alargado posible de modo que las variaciones de altura dentro de él fuesen despreciables (esto claro al trabajar en circuito abierto para pruebas de laboratorio, pues el modelo final se deseaba para un circuito cerrado).

El modelo final de reservorio era un paralelepípedo de similares características, en cuanto a volumen, que su predecesor cilíndrico, con agujeros para los filtros de aire y oxígeno y cambiando además el tipo de entradas, utilizándose las *entradas rápidas* descritas en el Capítulo 3.7 (Fig. 34).

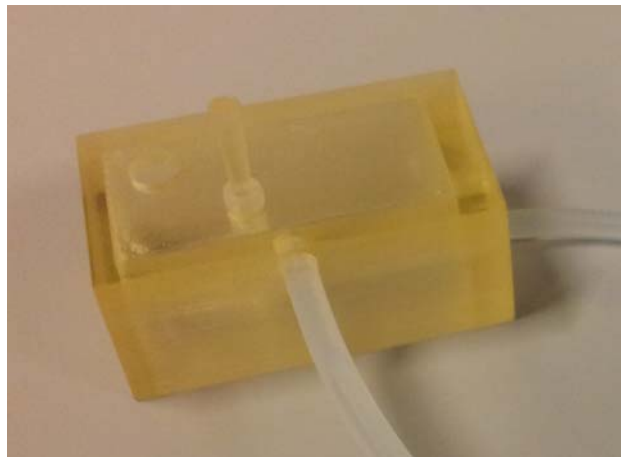


Fig. 34 Modelo final de reservorio.

A.2. Pieza de interconexión.

Durante el desarrollo de las diversas pruebas hizo falta una pieza que reemplazara a las válvulas mientras éstas estaban en su fase de calibración y prueba. Se decidió diseñar una pieza a la que se le pudiesen acoplar los conectores rápidos con seis por un lado y tres por el otro, de modo que existiesen tres agujeros pasantes y tres agujeros ciegos (Fig. 35).

La microbomba se conecta por el lado de los tres conectores al que interesase, dependiendo del experimento a realizar, y el encapsulado se configuraría igualmente en entradas abiertas o cerradas según se necesitase uniéndose a los puntos adecuados por el lado de los seis conectores.

Con esta pieza, que no pertenece al circuito final pues éste está pensado para funcionar con electroválvulas, se controla la entrada de fluido para los diferentes canales de entrada/salida de un modo manual.

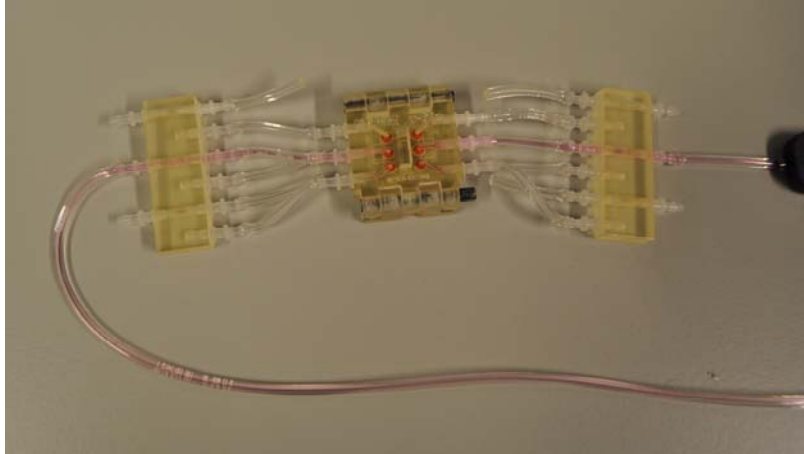


Fig. 35 Piezas de interconexión reemplazando la posición de las electroválvulas.

Este primer diseño también ha cambiado para su uso ya no con *conectores rápidos* (Fig. 15 en el Capítulo 3.1) sino con *entradas rápidas* (Capítulo 3.7.)

A.3. Pieza en T y en tridente.

Otro de los accesorios que hubo de utilizarse para las pruebas fueron las piezas de bifurcación de fluido: una pieza en T (una entrada, dos salidas) y otro en forma de tridente (una entrada, tres salidas) que se pueden ver en la Fig. 36.

La primera se pensó con la finalidad de disminuir el caudal que circula a través del chip a fin de lograr alcanzar los valores deseados (entre $1\mu\text{l}$ y $10\mu\text{l}$), esto es, que cumpla el papel de un *bypass* que redujese el flujo circulante por el chip.

La segunda tiene la intención de dividir el flujo para que todos los canales del chip (los tres de entrada y los tres de salida) estén cebados de tal manera que haciendo uso de la *pieza de interconexión* (Anexo A.2.) y, en un futuro, de las electroválvulas, se defina cuáles entradas o salidas van a usarse.

Estas piezas, al igual que el *reservorio* y la *pieza de interconexión*, se han modificado para su uso con *entradas rápidas* (Capítulo 3.7).

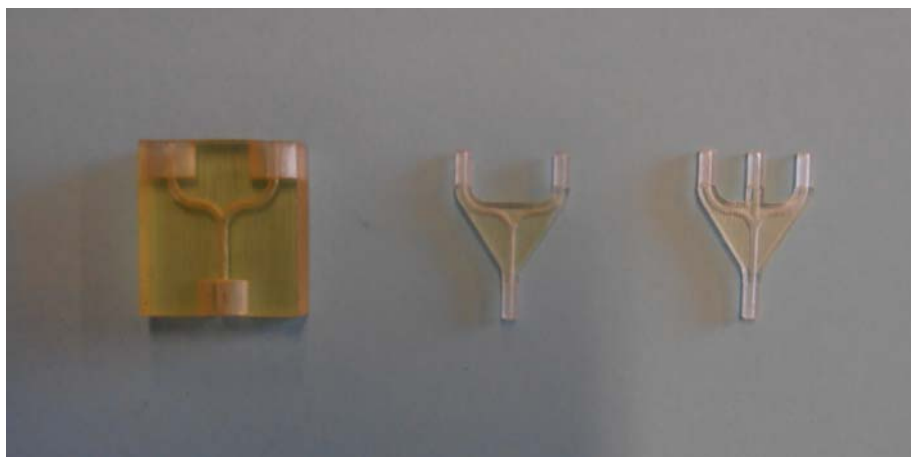
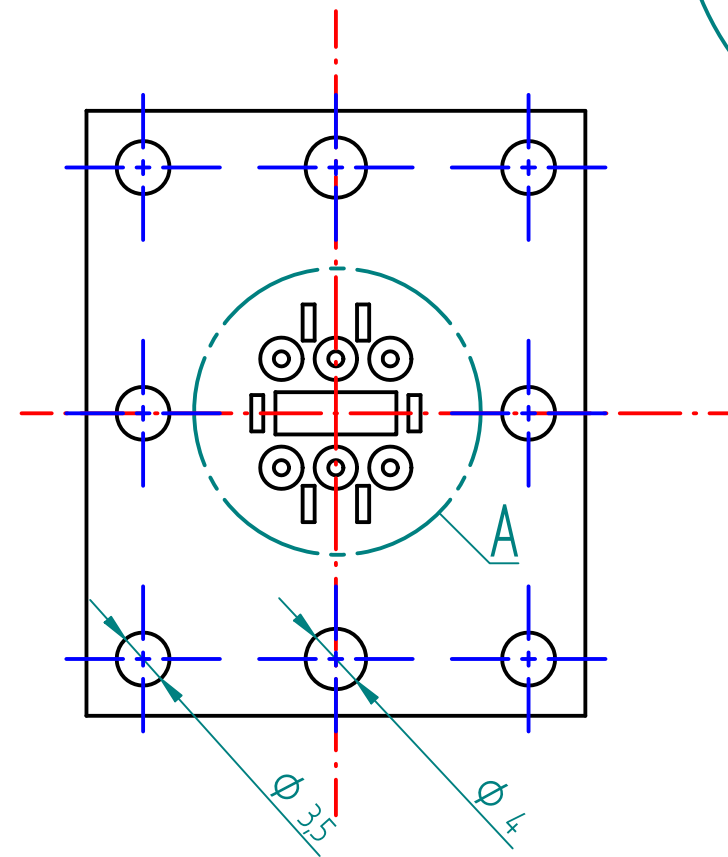
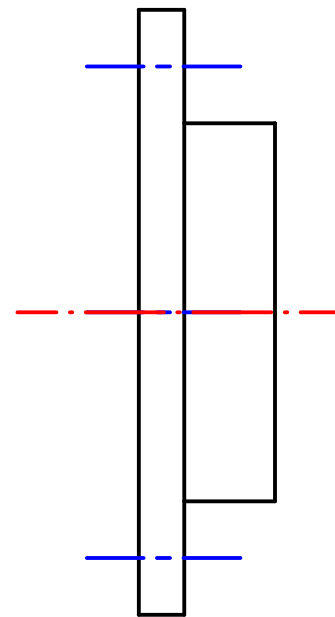
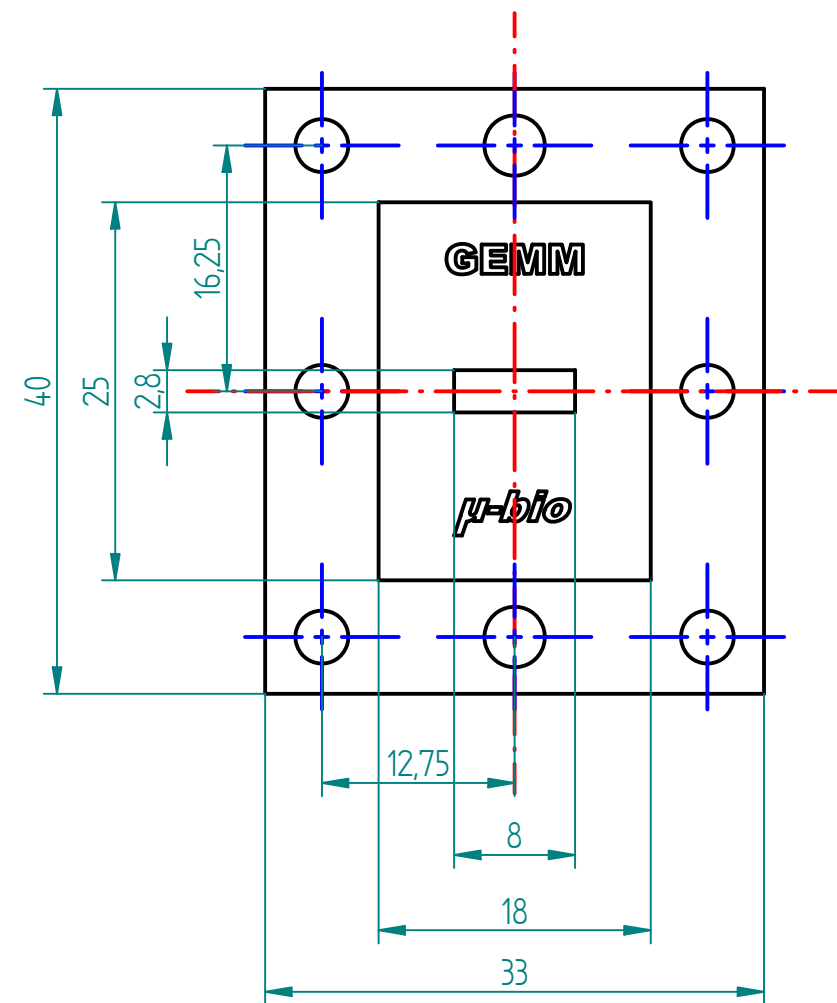
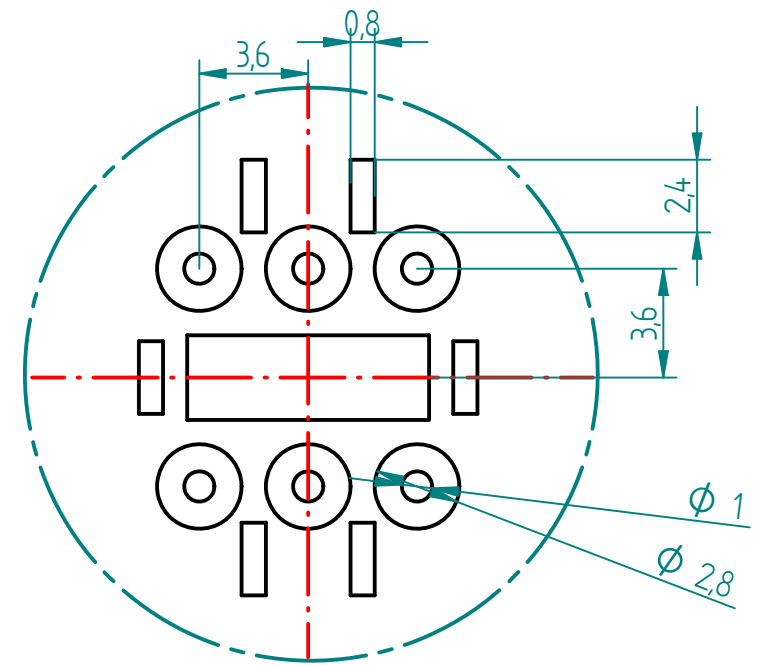
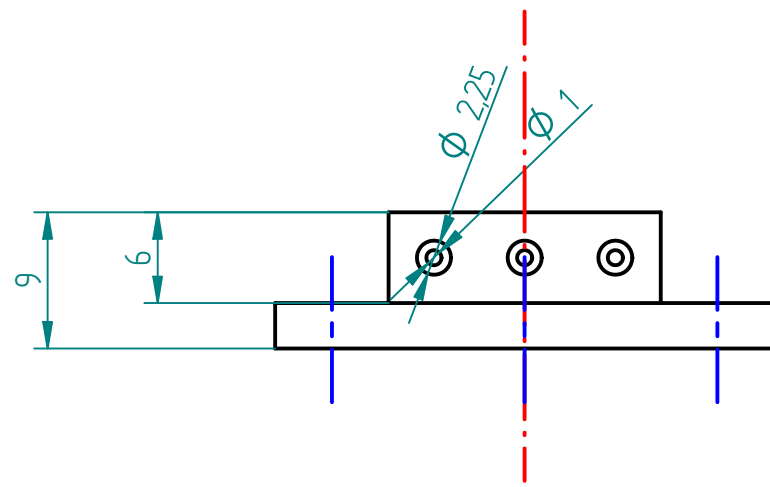


Fig. 36 Piezas en T y tridente.

ANEXO B. DISEÑOS.

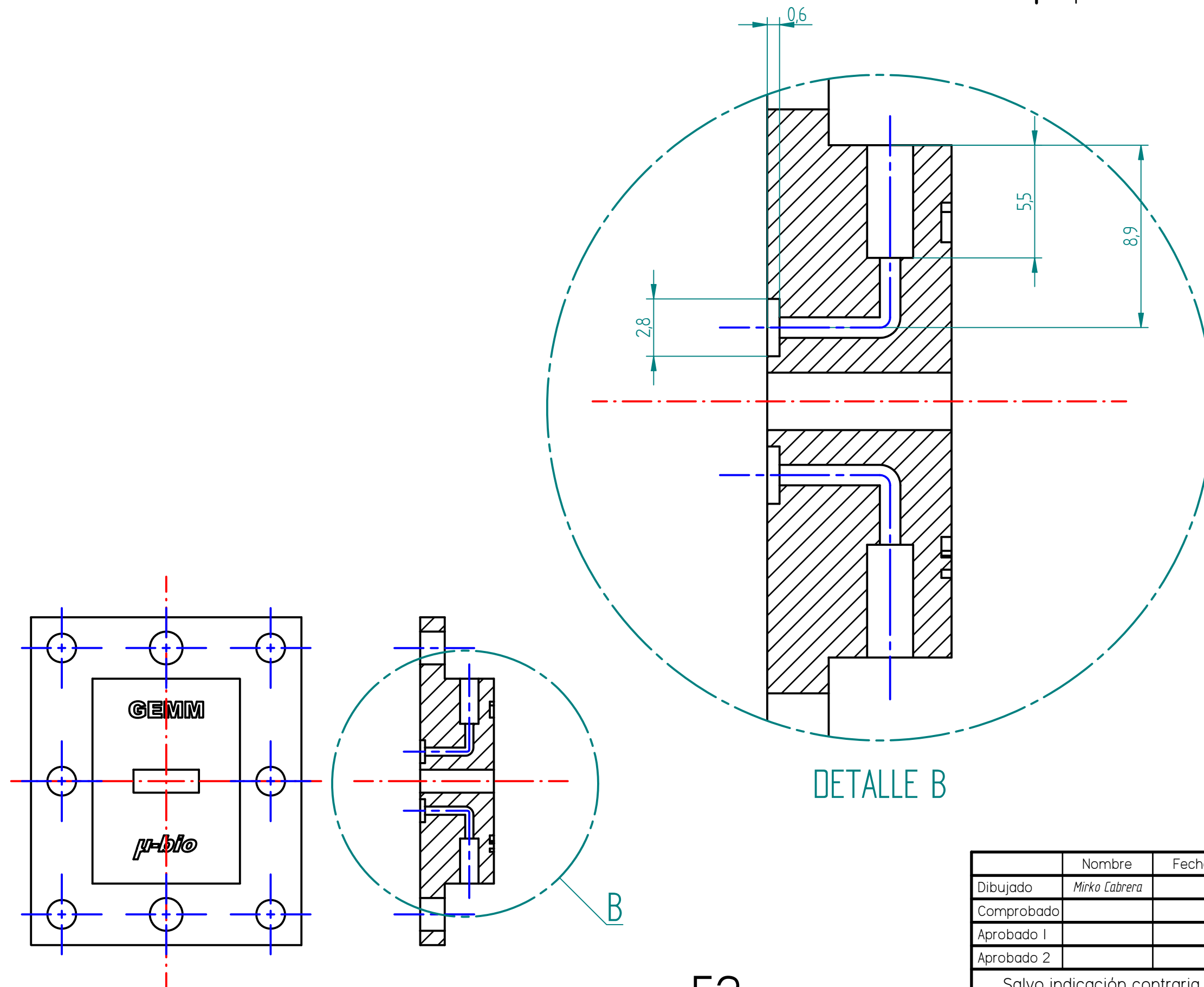
| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



DETALLE A

| | | | |
|---|-------|--|-----------------|
| Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado <i>Mirko Cabrera</i> | | Título <i>Tapa con entradas paralelas</i> | |
| Comprobado | | A3 | Plano ANEXO B.1 |
| Aprobado 1 | | Rev | |
| Aprobado 2 | | Archivo: <i>Tapa_entradas_paralelas.dft</i> | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias $\pm 0,5$ y $\pm 1^\circ$ | | Escala | Peso |
| | | Hoja 1 de 1 | |

| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |

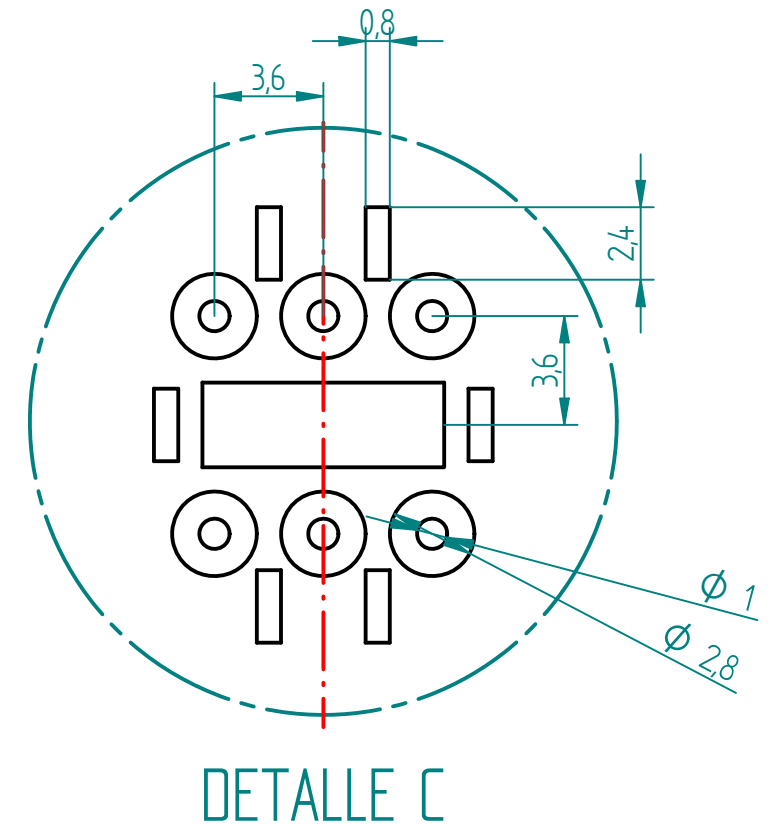
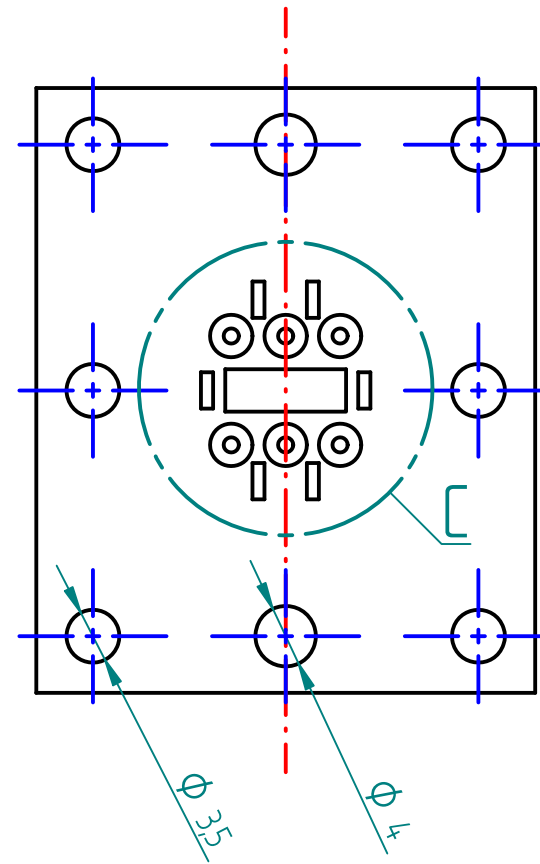
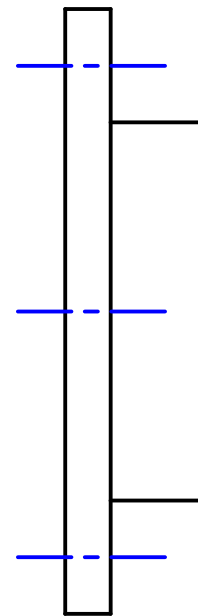
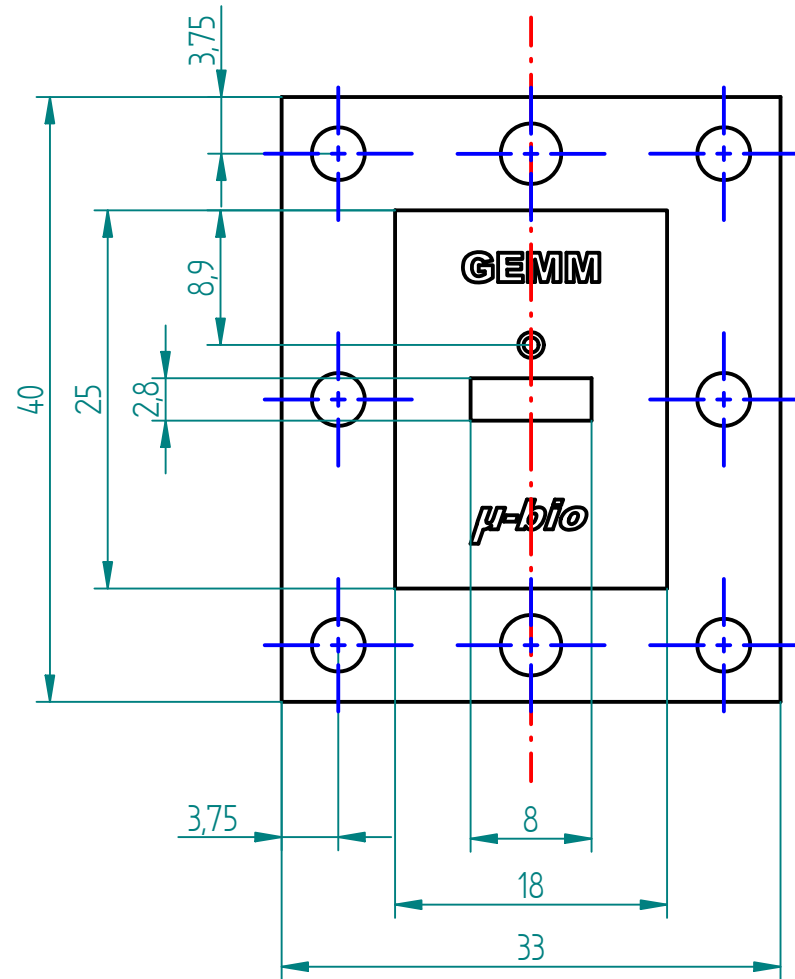
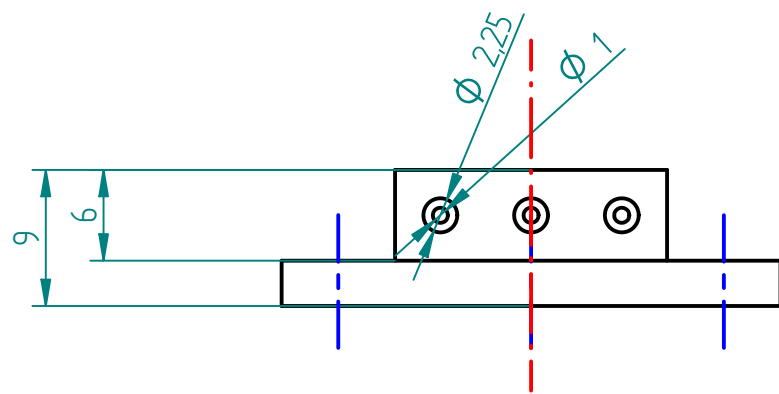


DETALLE B

52

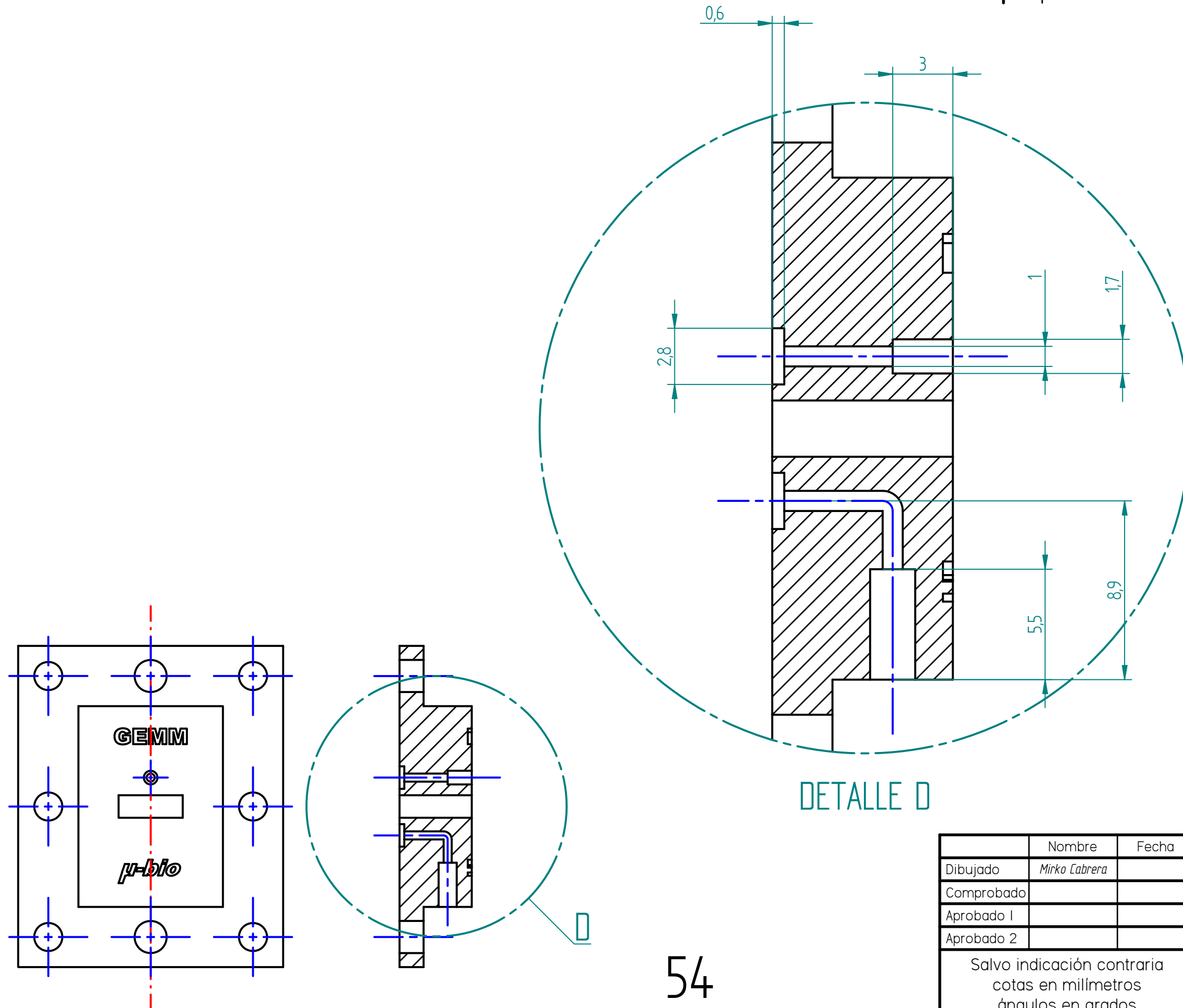
| | | | | |
|---|---------------|-------|--|------------------------|
| | Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | | Título | |
| Comprobado | | | Tapa entradas paralelas: Detalle interior | |
| Aprobado 1 | | | A3 | Plano ANEXO B.1.1. Rev |
| Aprobado 2 | | | Archivo: Tapa_paralelas_detalle_interior.dft | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias $\pm 0,5$ y $\pm 1^\circ$ | | | Escala | Peso |
| | | | Hoja 1 de 1 | |

| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



| | | | |
|---|-------|---|----------------------|
| Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado <i>Mirko Cabrera</i> | | Título <i>Tapa con entrada de pipeta</i> | |
| Comprobado | | A3 | Plano ANEXO B.2. Rev |
| Aprobado 1 | | Archivo: Tapa_entrada_pipeta.dft | |
| Aprobado 2 | | Escala | Peso Hoja 1 de 1 |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias $\pm 0,5$ y $\pm 1^\circ$ | | | |

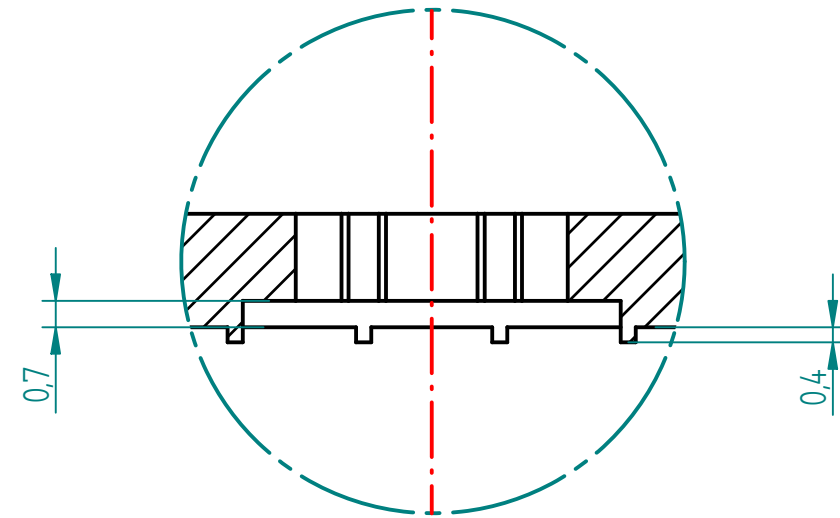
| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



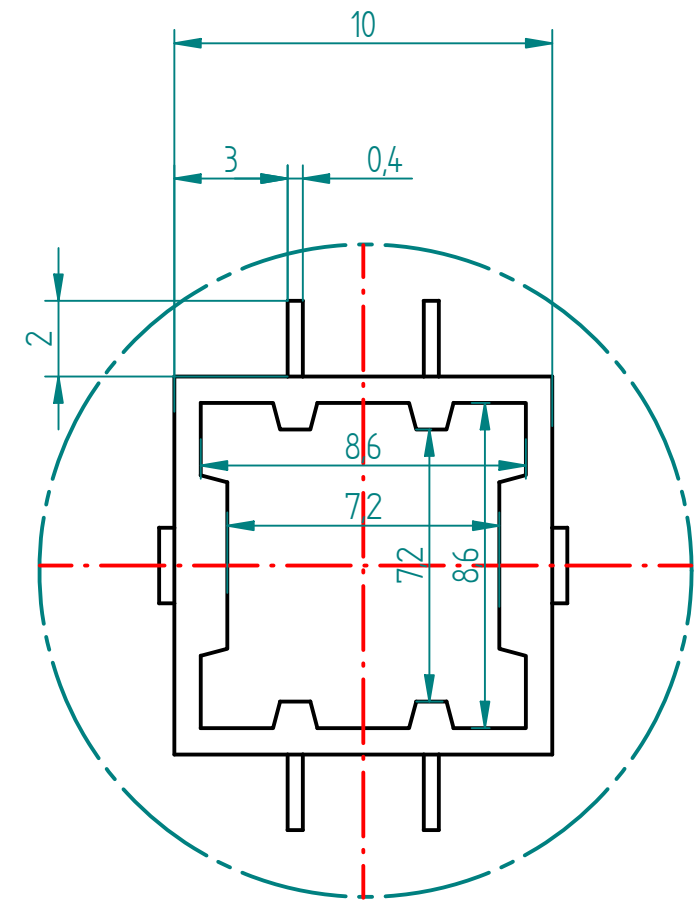
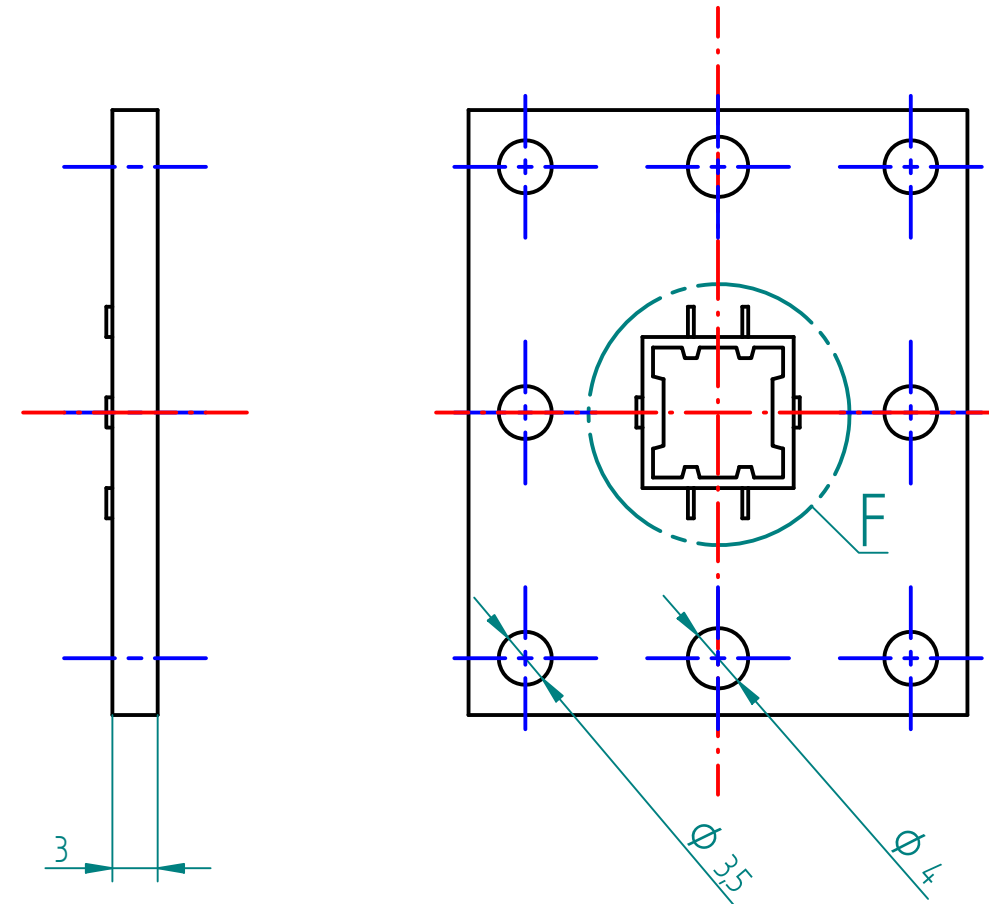
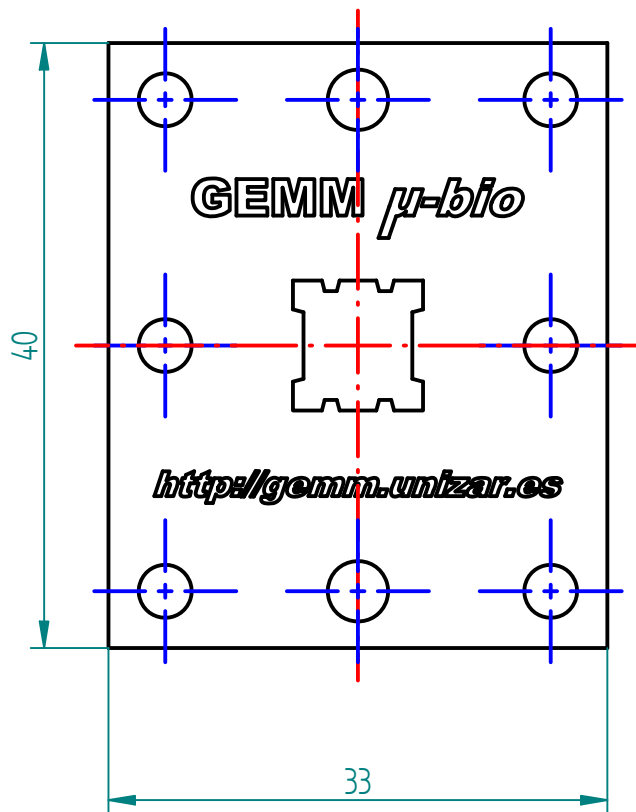
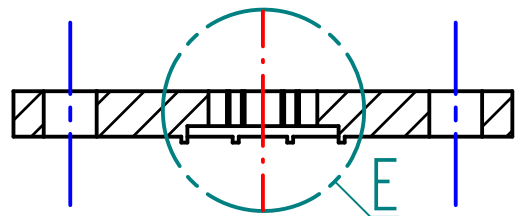
54

| | | | | |
|---|---------------|-------|---|-------------------|
| | Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | | Título | |
| Comprobado | | | Tapa entrada pipeta: Detalle interior | |
| Aprobado 1 | | | A3 | Plano ANEXO B.2.1 |
| Aprobado 2 | | | Rev | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias $\pm 0,5$ y $\pm 1^\circ$ | | | Archivo: Tapa_pipeta_detalle_interior.dft | |
| Escala | | Peso | | Hoja 1 de 1 |

| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



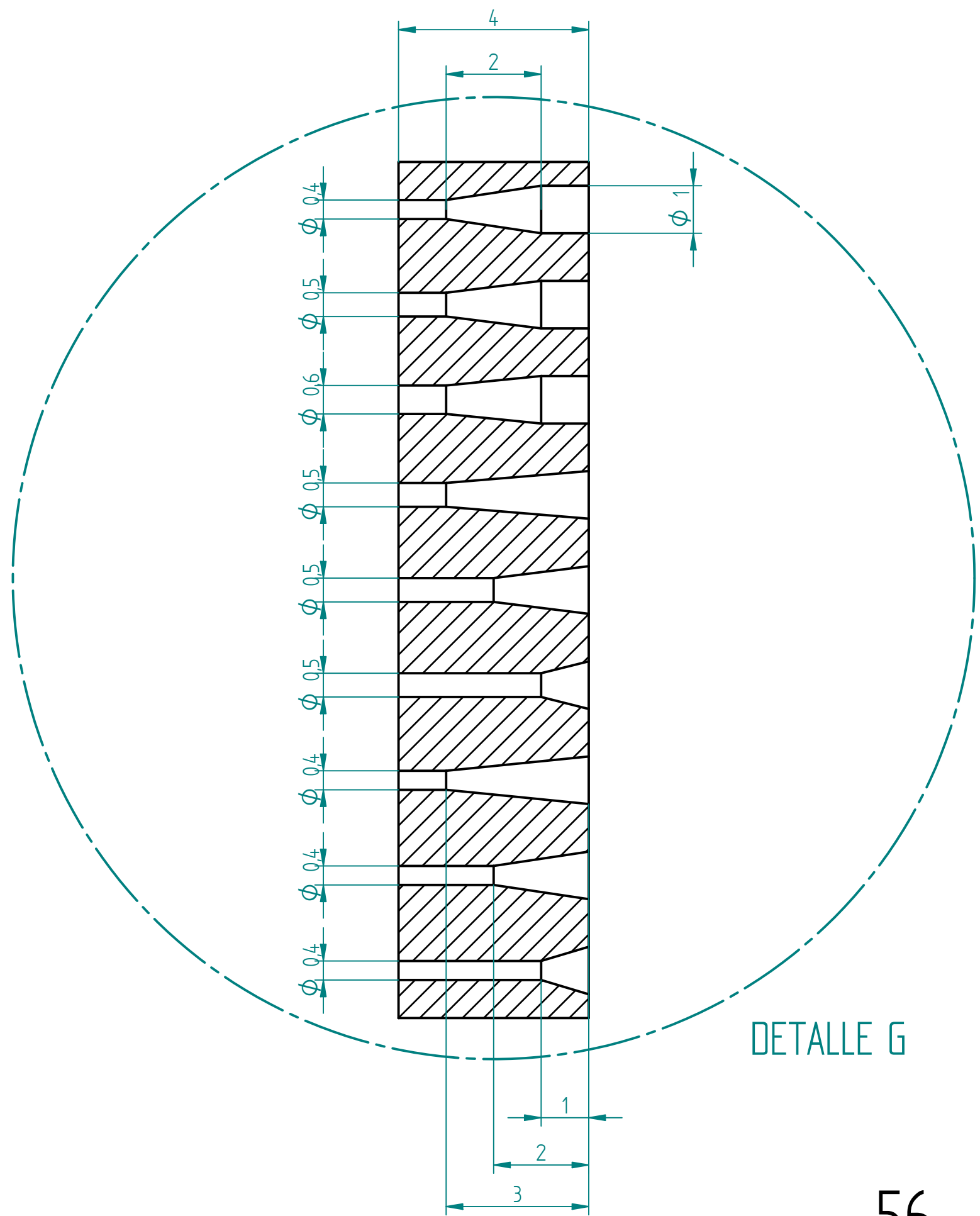
DETALLE E



DETALLE F

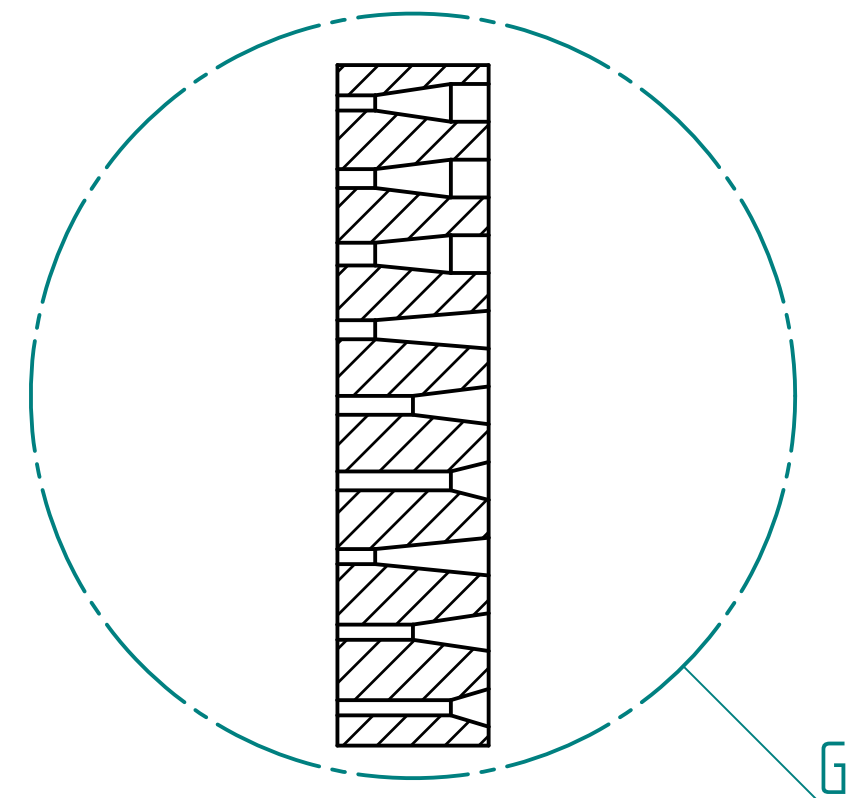
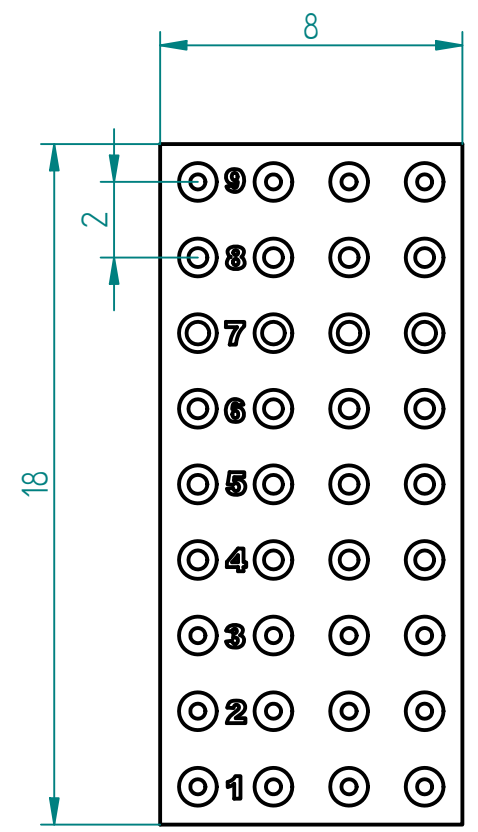
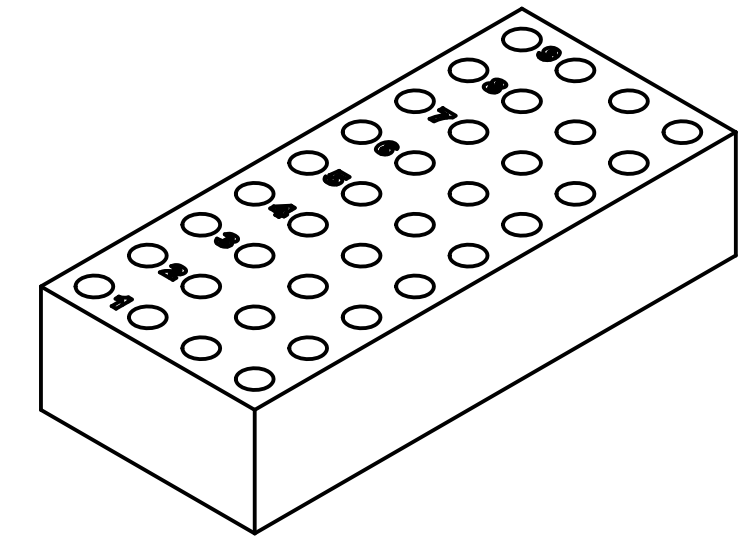
| | | | |
|--|---------------|---------------------------------------|----------------------|
| Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | Título <i>Base de encapsulado</i> | |
| Comprobado | | A3 | Plano ANEXO B.3. Rev |
| Aprobado 1 | | Archivo: Base.dft | |
| Aprobado 2 | | Escala | Peso |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias ±0,5 y ±1° | | Hoja 1 de 1 | |

| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



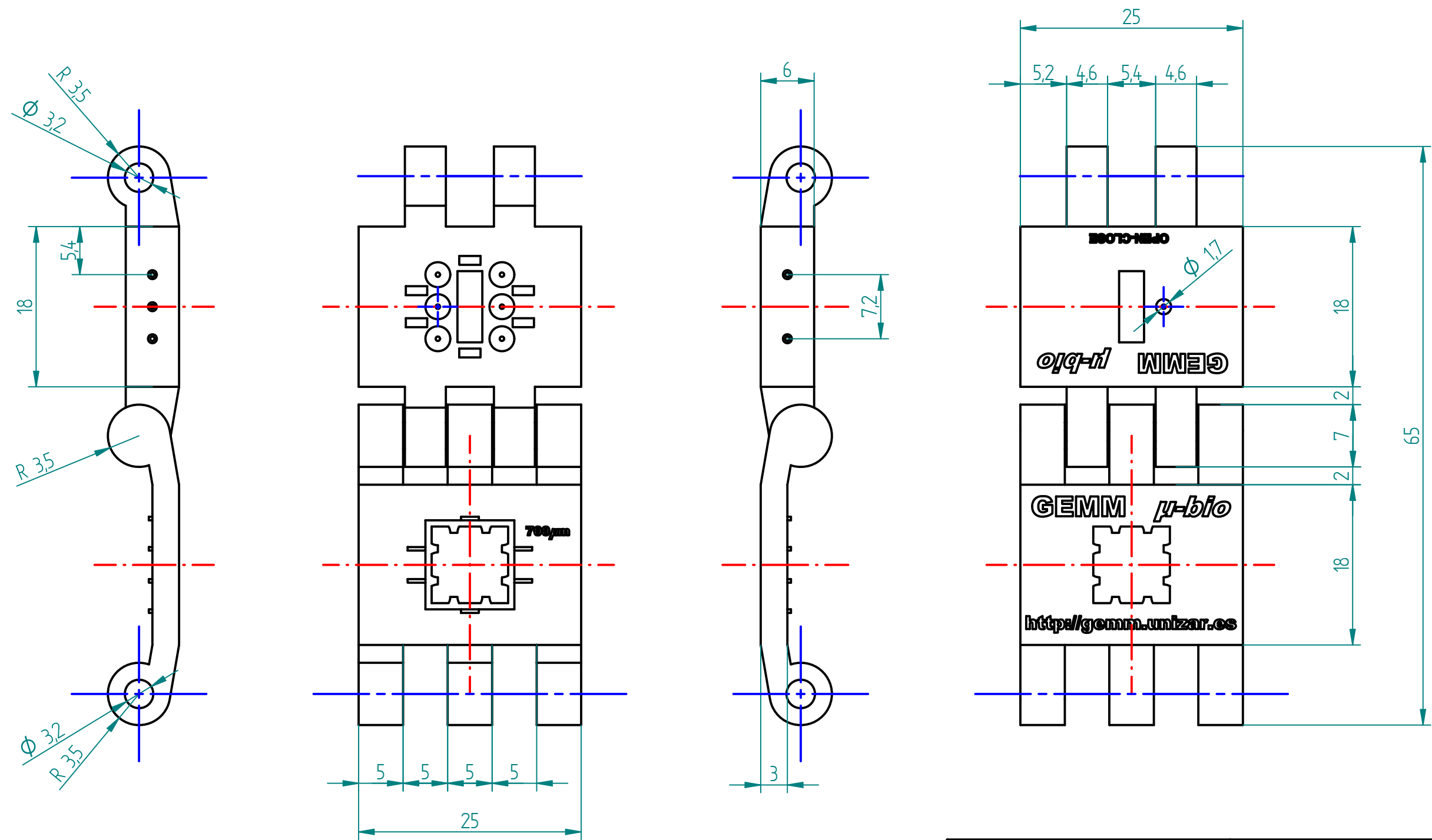
DETALLE G

56



| | | | | |
|--|---------------|-------|---------------------------------------|----------------------|
| Dibujado | Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Comprobado | Mirko Cabrera | | Título | |
| Aprobado 1 | | | Banco de pruebas tubos capilares | |
| Aprobado 2 | | | A3 | Plano ANEXO B.4. Rev |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias ±0,5 y ±1° | | | Archivo: Prueba_capilares.dft | |
| Escala | | Peso | Hoja 1 de 1 | |

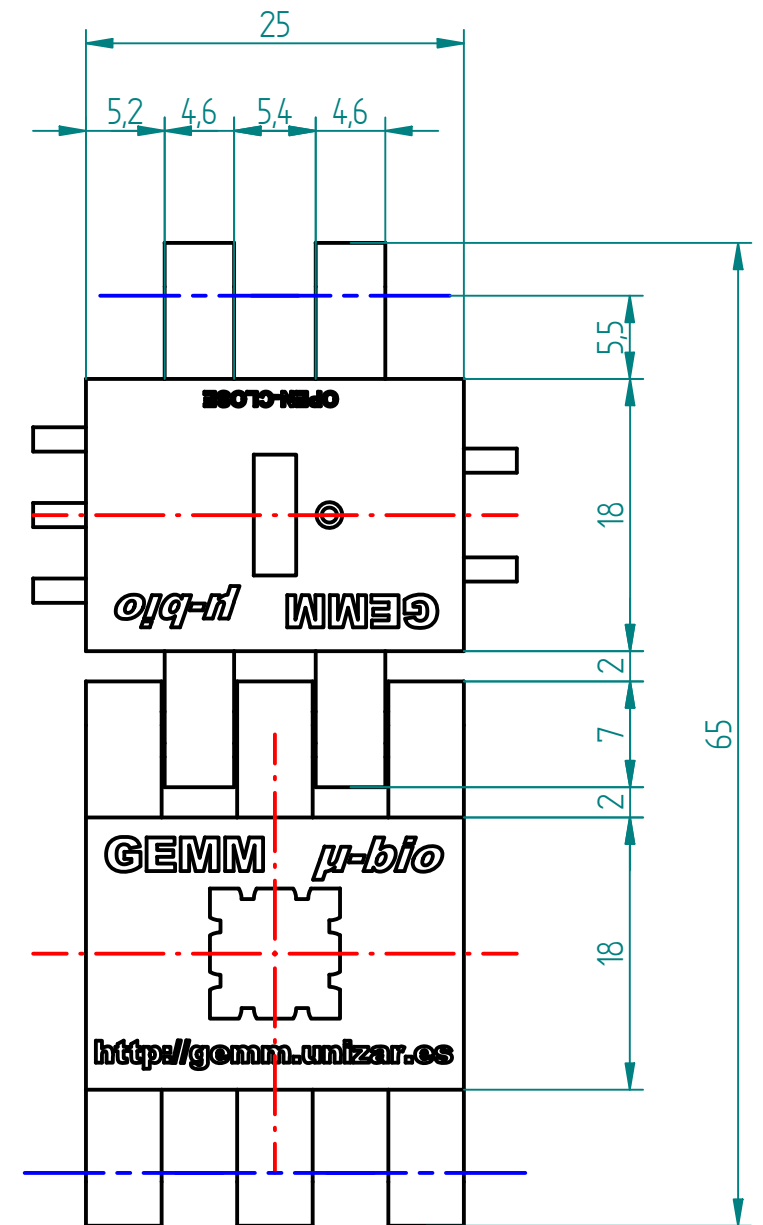
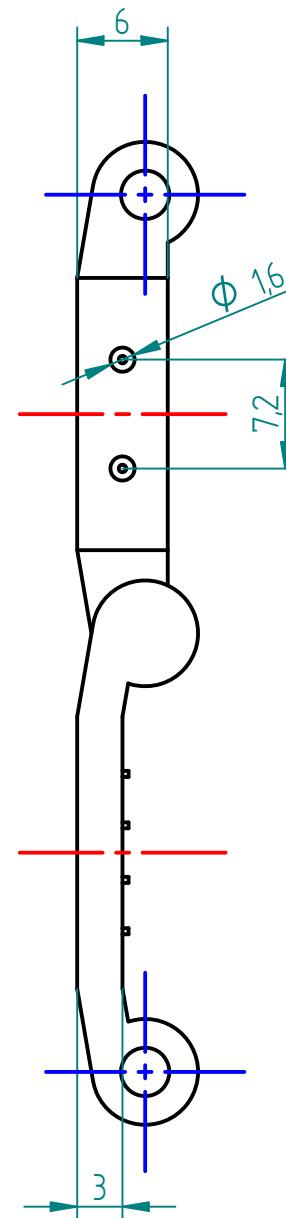
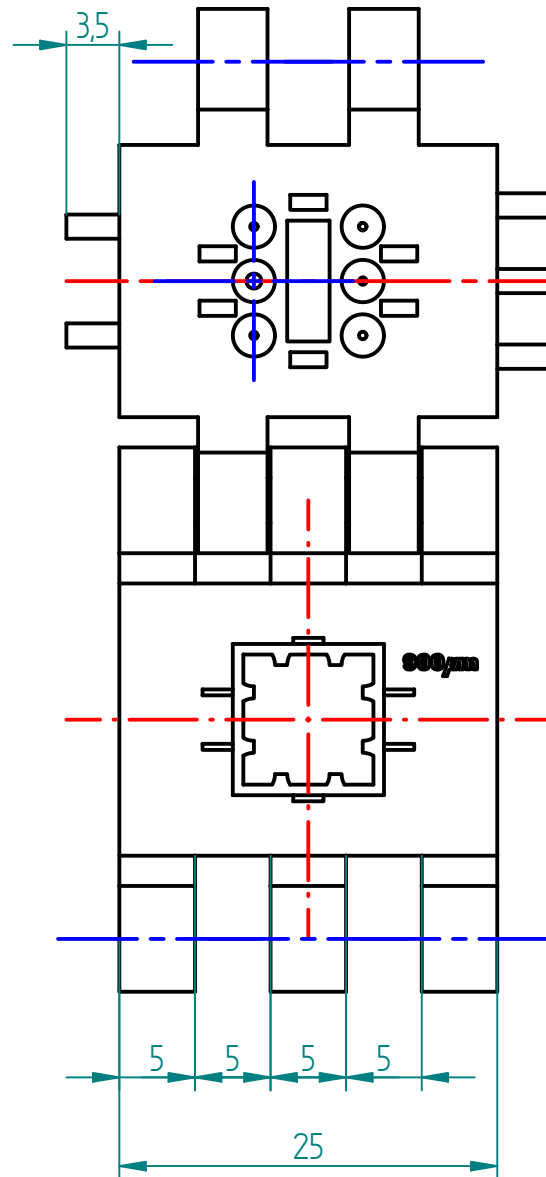
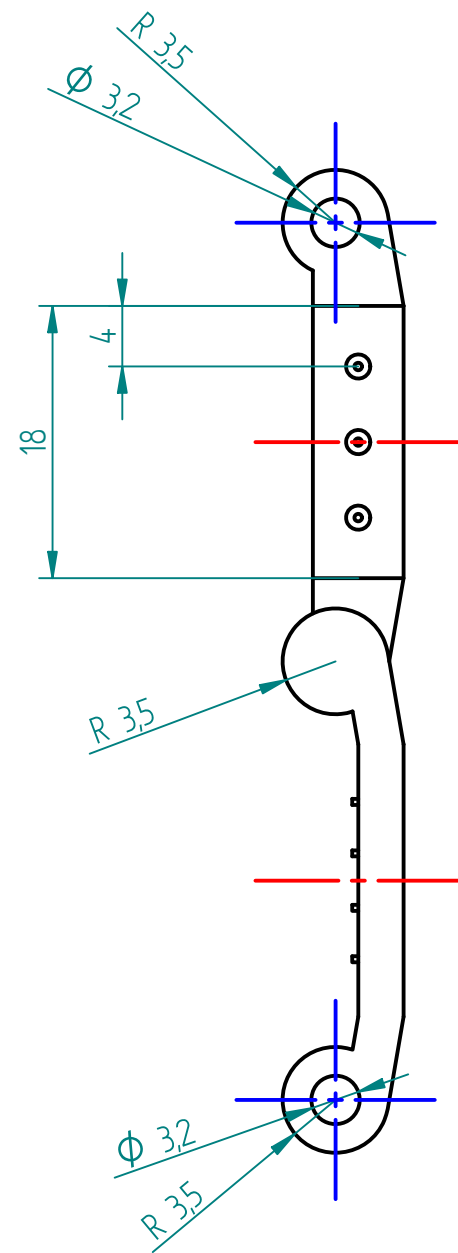
| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



57

| | | | |
|---|---------------|---|----------------------|
| Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | Título Encapsulado con tubos capilares | |
| Comprobado | | A3 | Plano ANEXO B.5. Rev |
| Aprobado 1 | | Archivo: Encapsulado_tubos_capilares.dft | |
| Aprobado 2 | | Escala | Peso |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias $\pm 0,5$ y $\pm 1^\circ$ | | Hoja 1 de 1 | |

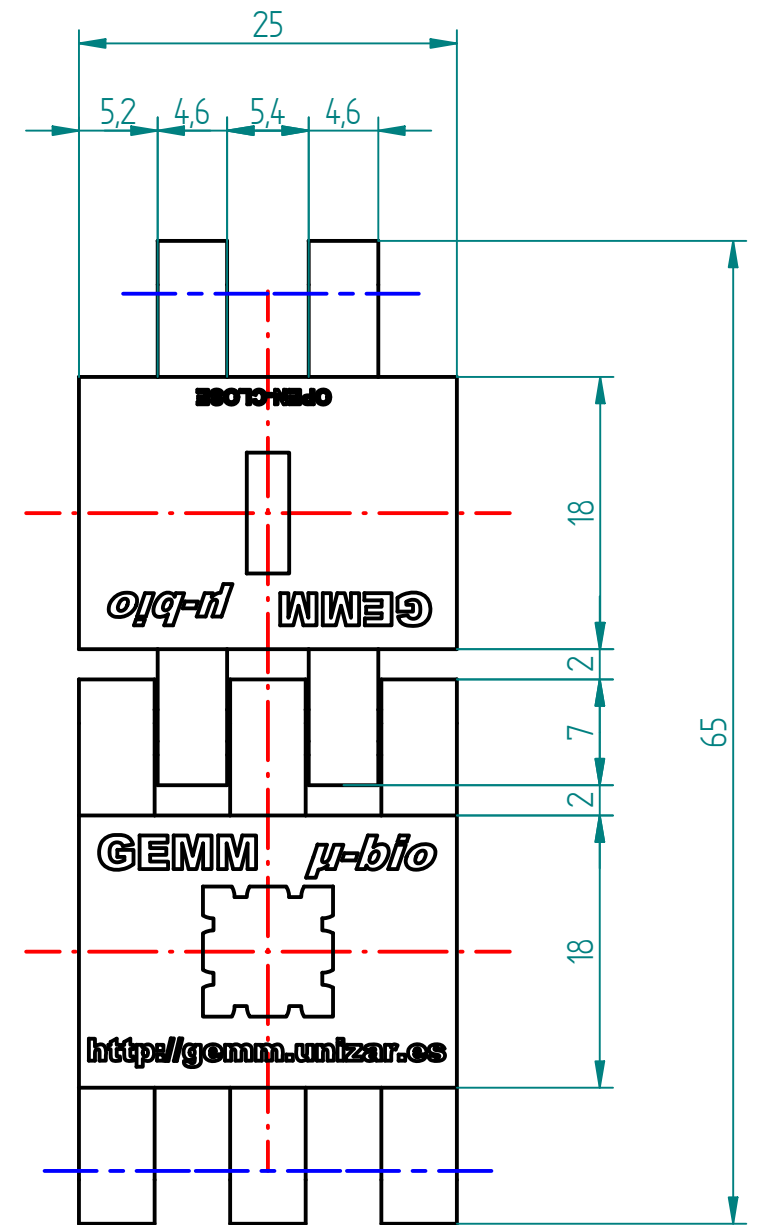
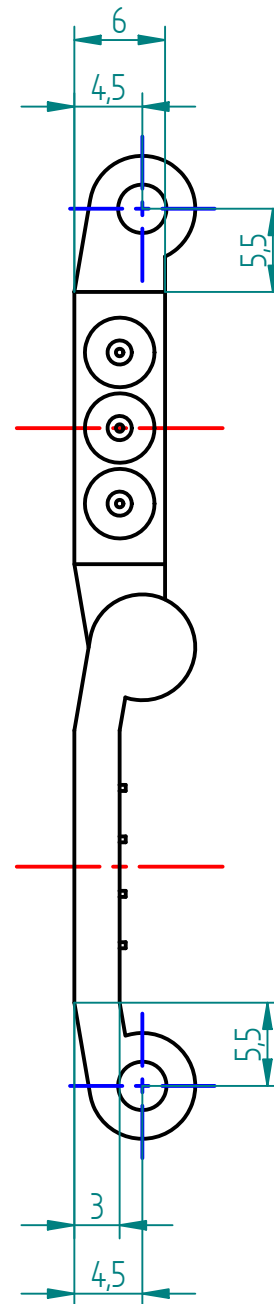
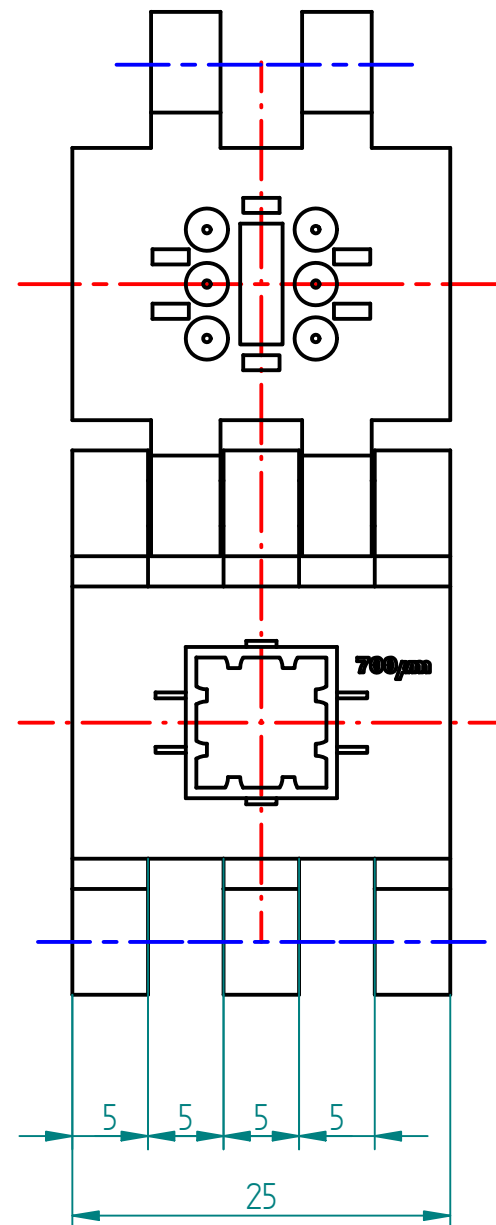
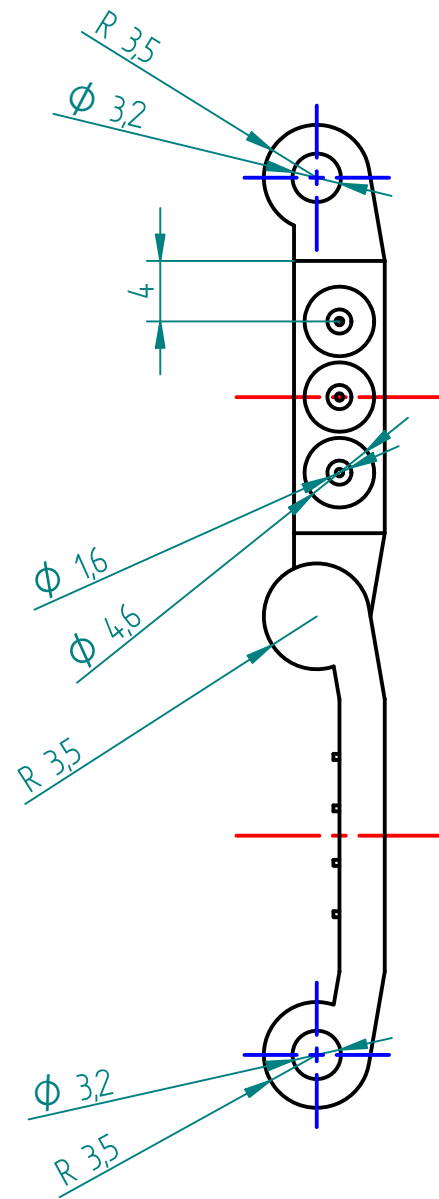
| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



58

| | | | | |
|--|---------------|-------|---|----------------------|
| | Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | | Título | |
| Comprobado | | | Encapsulado con entradas rápidas | |
| Aprobado 1 | | | A3 | Plano ANEXO B.6. Rev |
| Aprobado 2 | | | Archivo: Encapsulado_entradas_rapidas.dft | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias ±0,5 y ±1° | | | Escala | Peso |
| | | | Hoja 1 de 1 | |

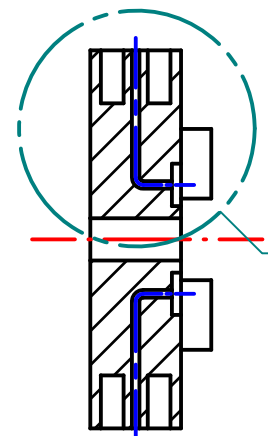
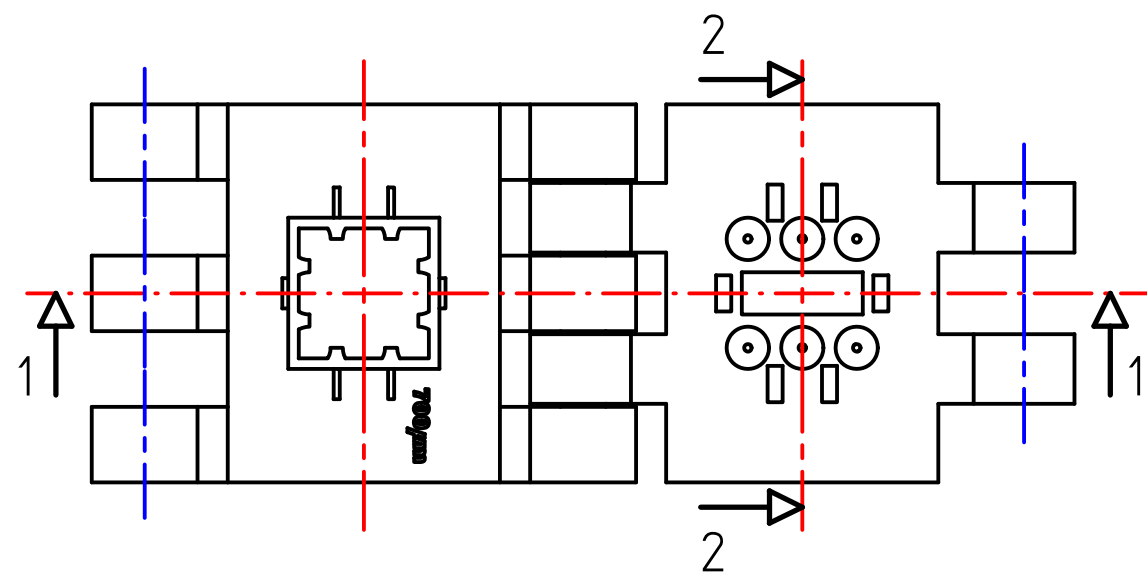
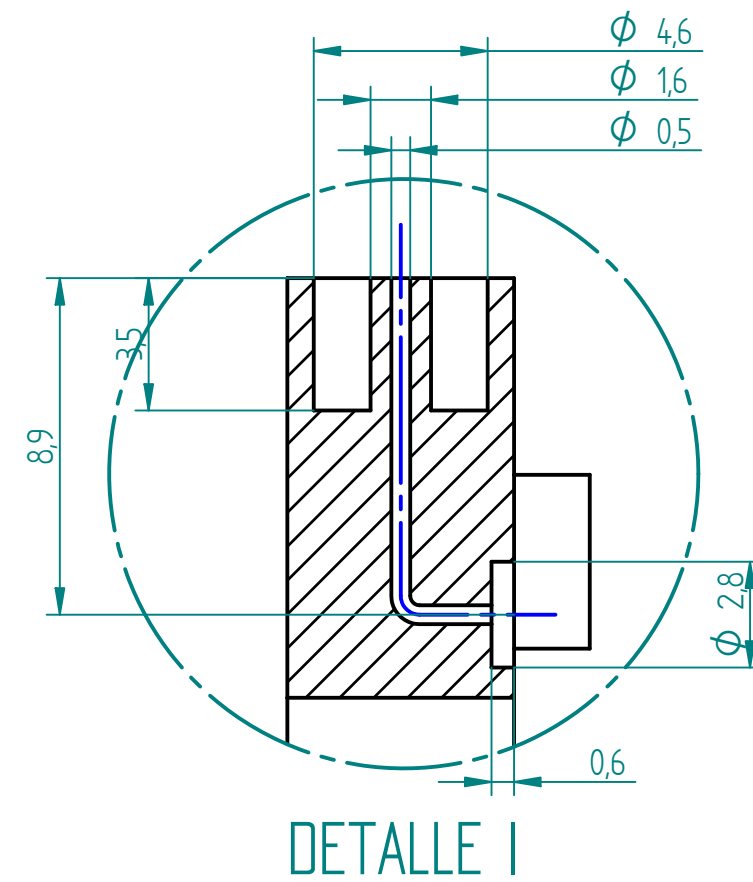
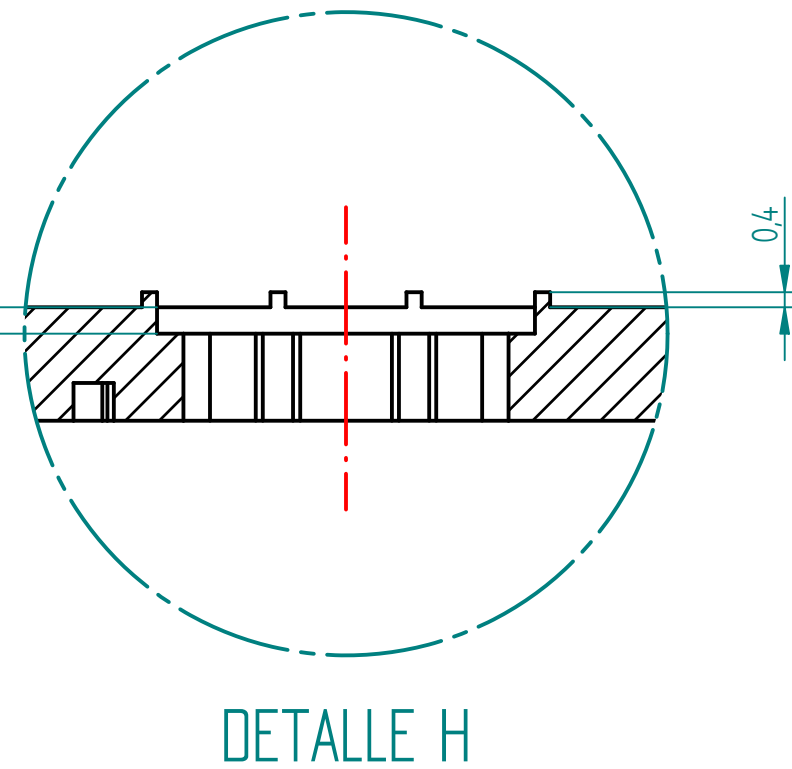
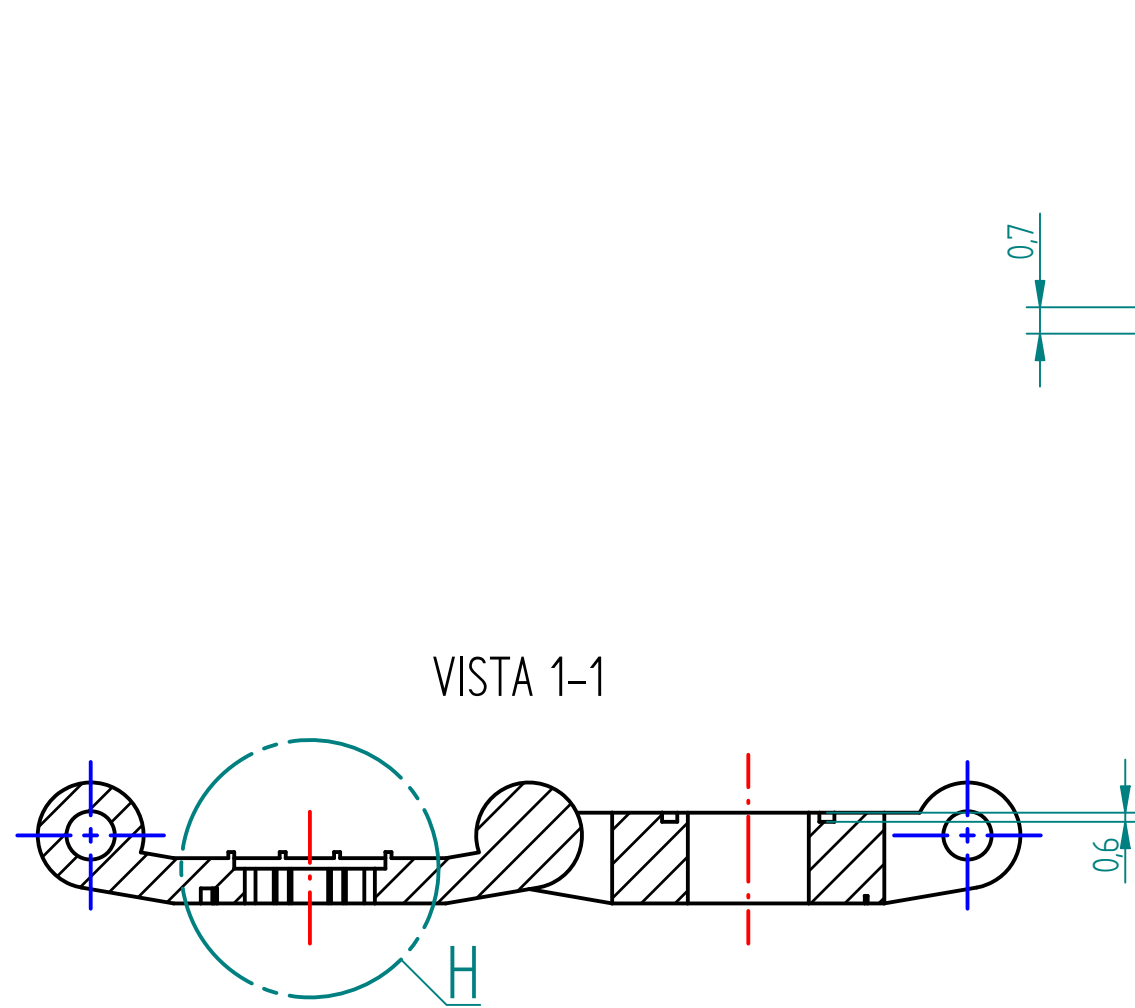
| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



59

| | | | | |
|--|---------------|-------|--|----------------------|
| | Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | | Título Encapsulado microfluidico con entradas y salidas paralelas | |
| Comprobado | | | A3 | Plano ANEXO B.7. Rev |
| Aprobado 1 | | | Archivo: Encapsulado_microfluidico.dft | |
| Aprobado 2 | | | Escala | Peso Hoja 1 de 1 |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias ±0,5 y ±1° | | | | |

| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |

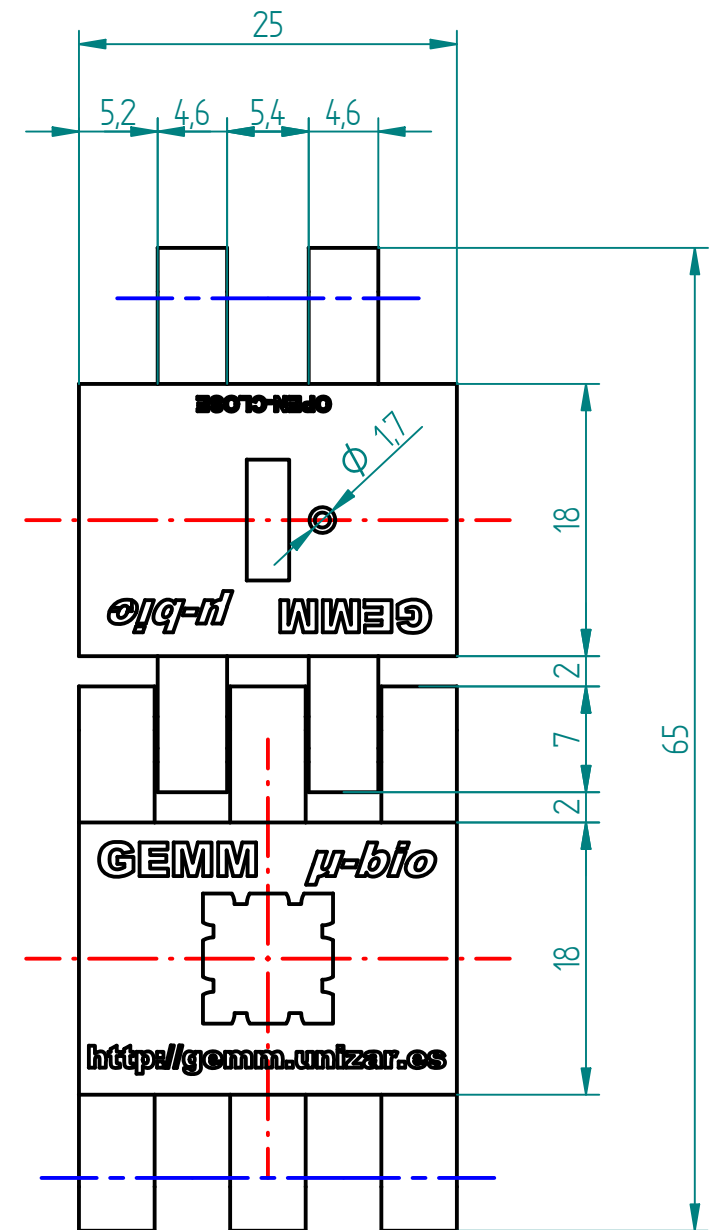
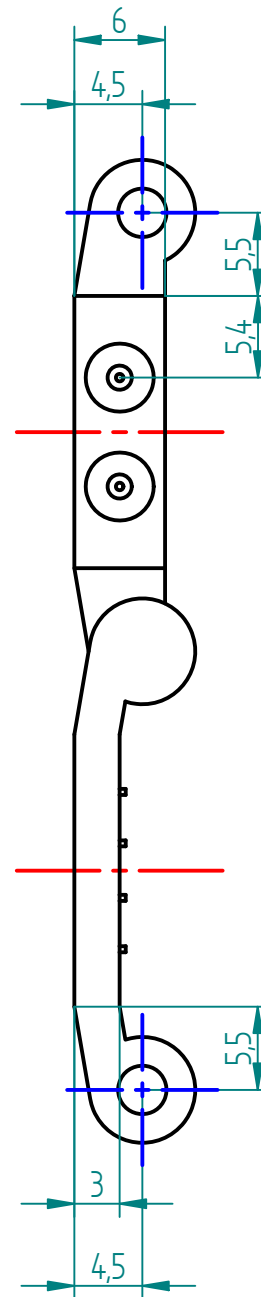
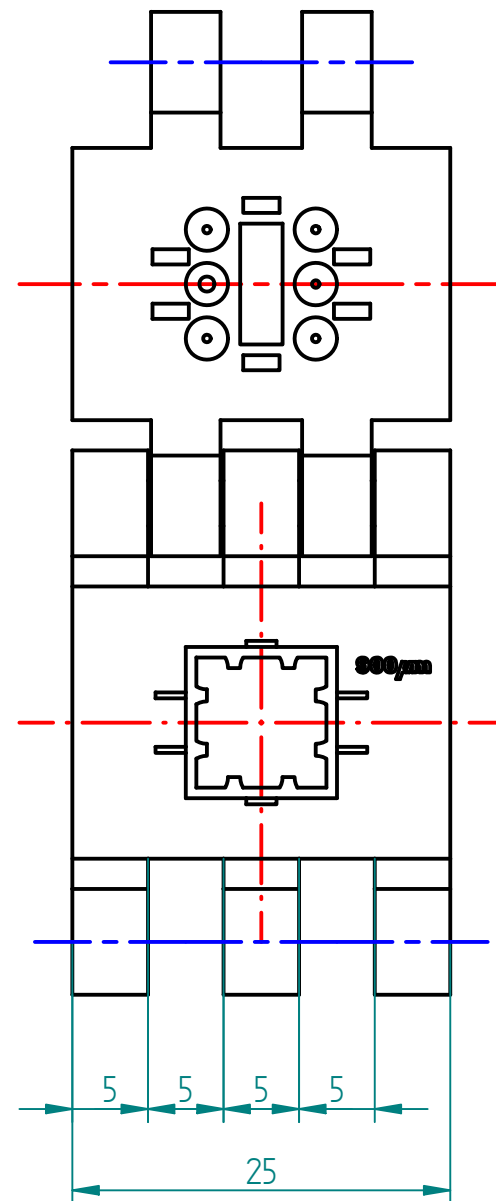
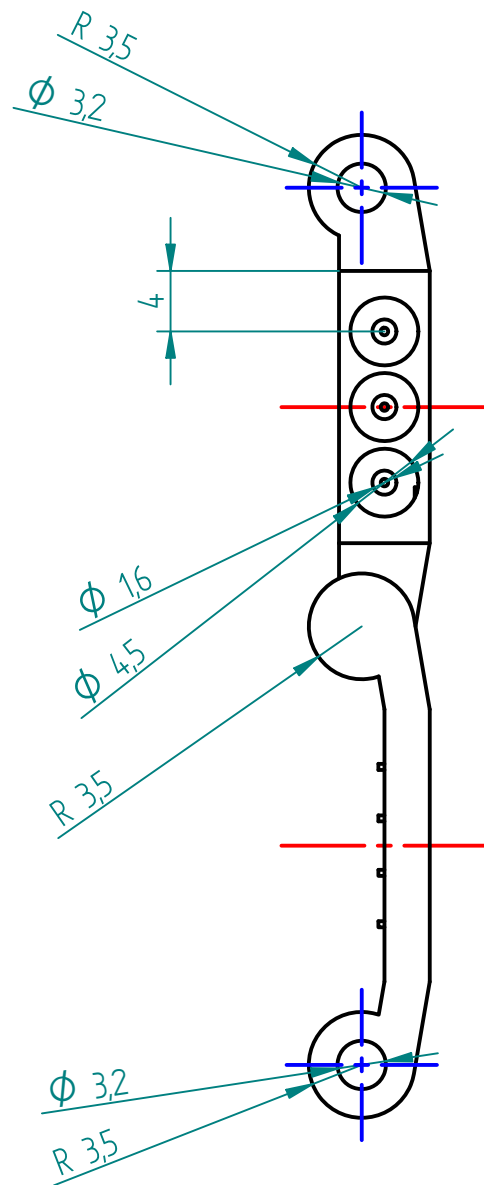


VISTA 2-2

60

| | | | |
|--|---------------|---|-------------------|
| Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | Título Encapsulado entradas paralelas: Detalle | |
| Comprobado | | A3 | Plano ANEXO B.7.1 |
| Aprobado 1 | | Rev | |
| Aprobado 2 | | Archivo: Encapsulado_microfluidico_detalle.dft | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias ±0,5 y ±1° | | Escala | Peso |
| | | Hoja 1 de 1 | |

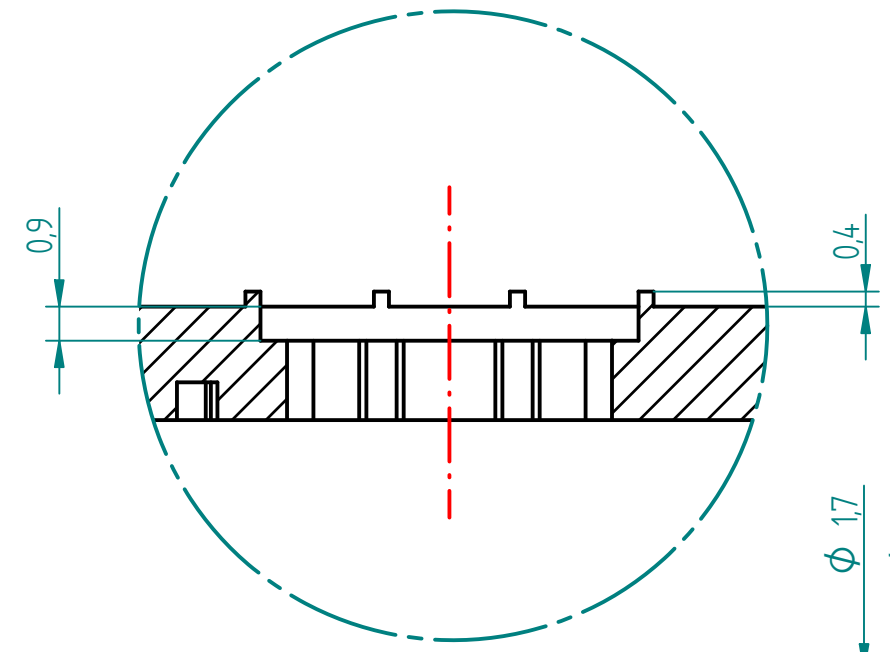
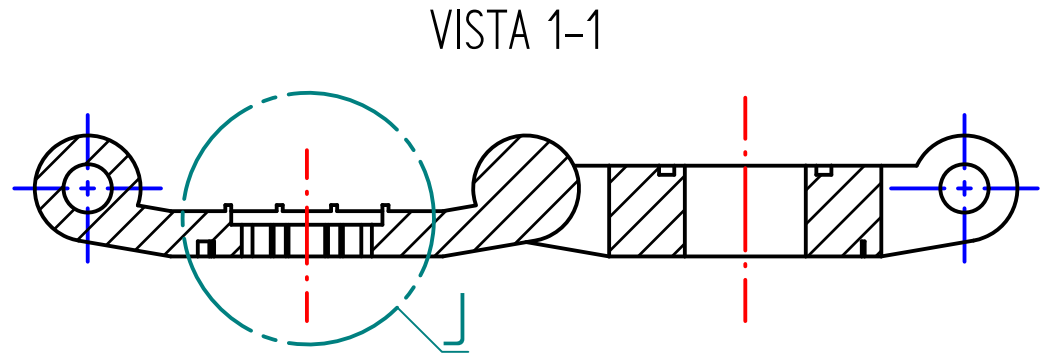
| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



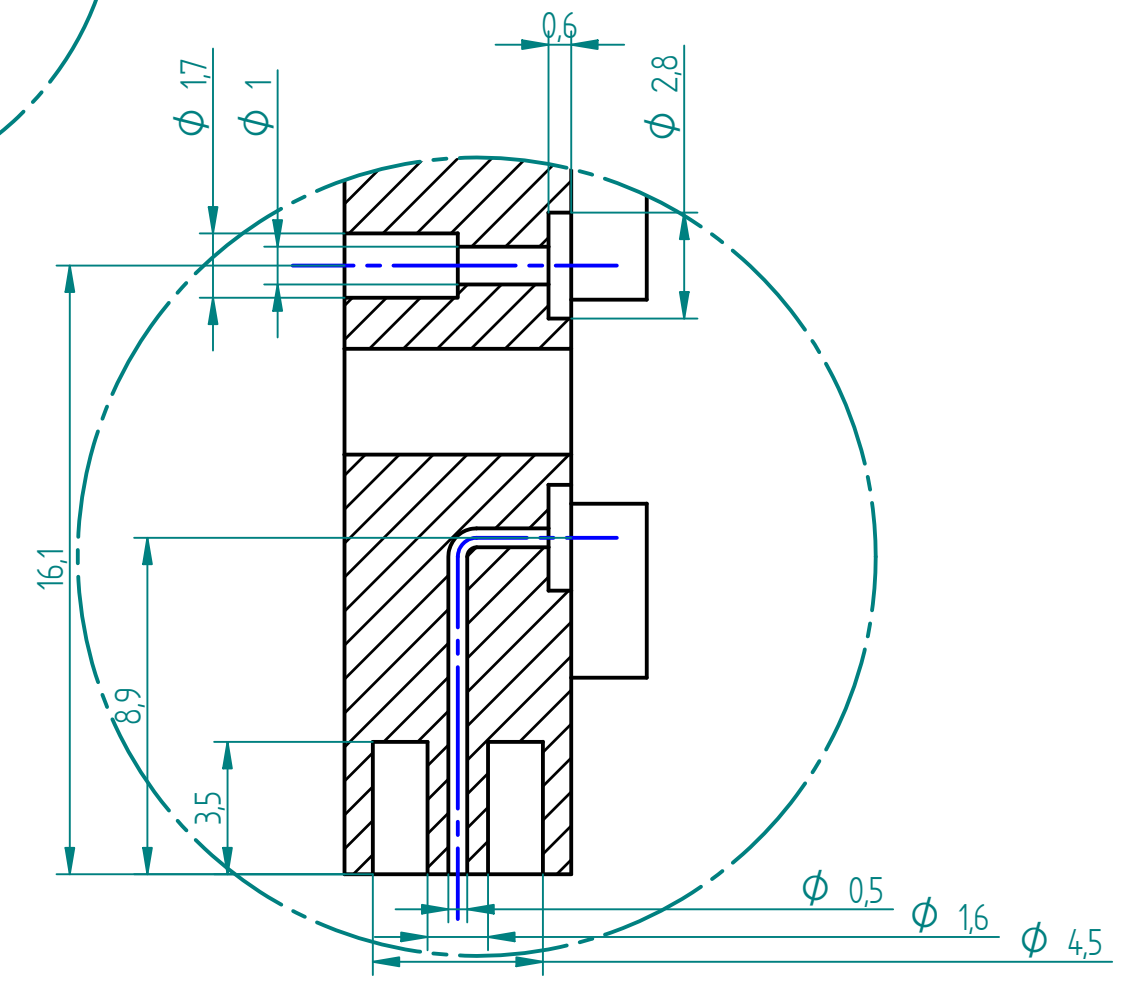
61

| | | | | | |
|---|---------------|-------|--|------------------|-----|
| | Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | | | | |
| Comprobado | | | | | |
| Aprobado 1 | | | | | |
| Aprobado 2 | | | Título Encapsulado microfluidico con entrada para pipeta | | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias ±0,5 y ±1° | | | A3 | Plano ANEXO B.8. | Rev |
| | | | Archivo: Encapsulado_microfluidico_2.dft | | |
| Escala | | Peso | Hoja 1 de 1 | | |

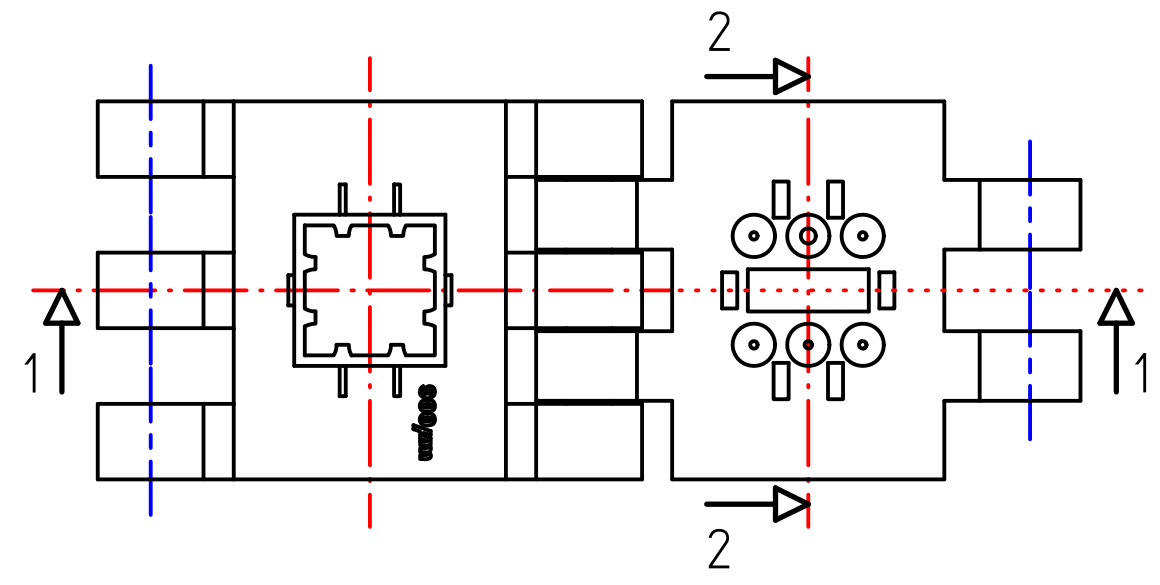
| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



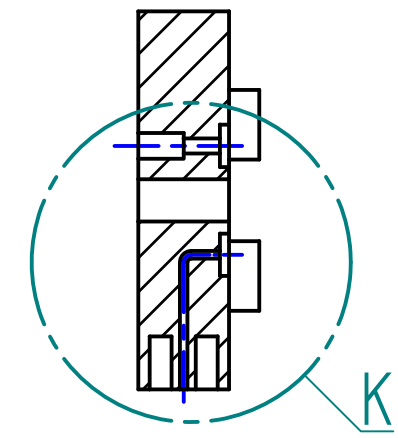
DETALLE J



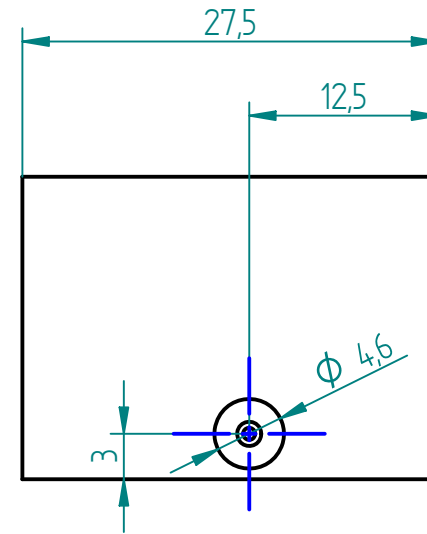
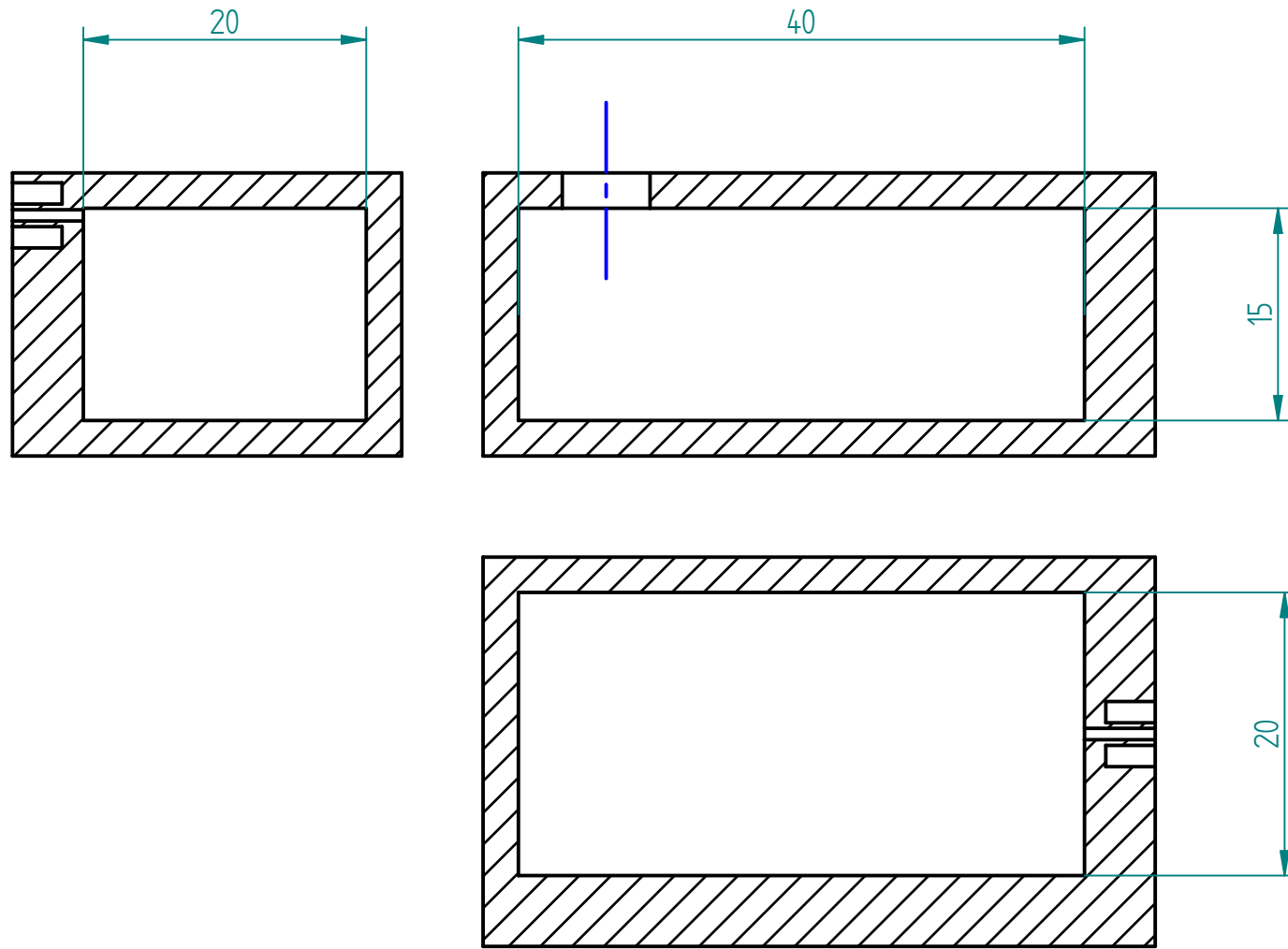
DETALLE K



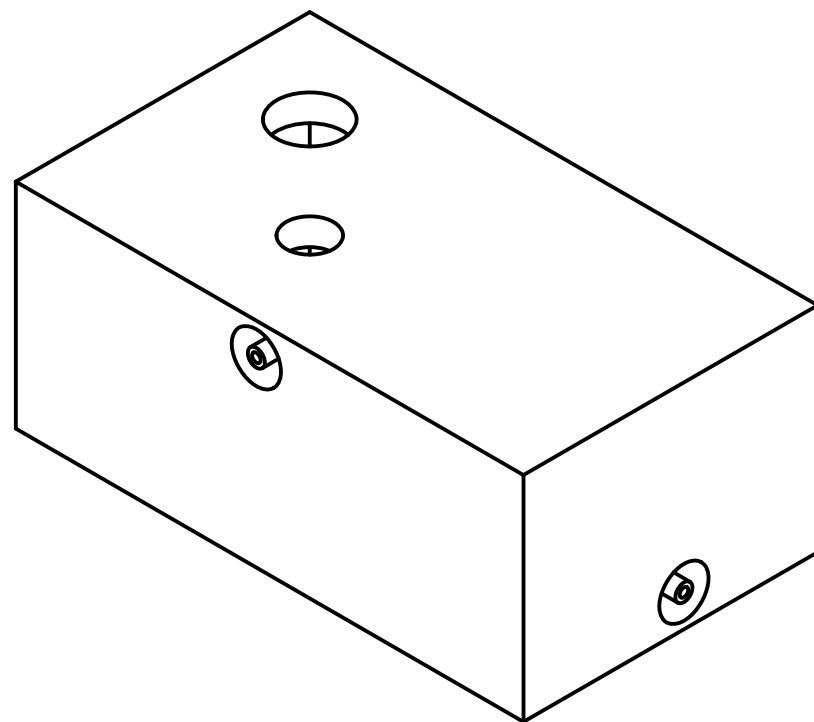
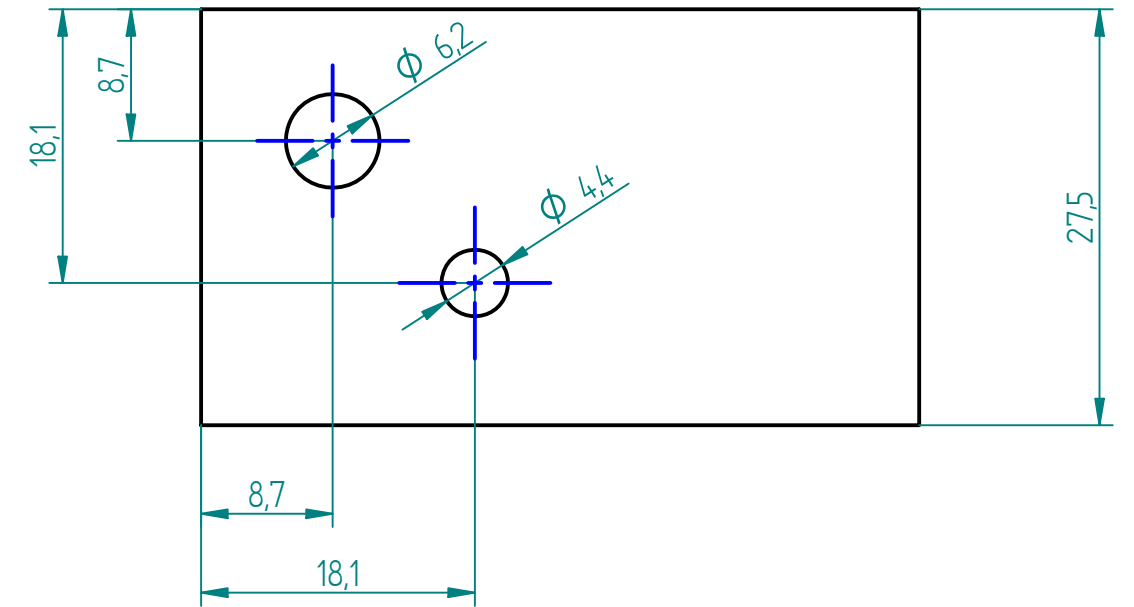
VISTA 2-2



| | | | |
|--|---------------|--|-------------------|
| Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | Título Encapsulado entrada pipeta: Detalle | |
| Comprobado | | A3 | Plano ANEXO B.8.1 |
| Aprobado 1 | | Rev | |
| Aprobado 2 | | Archivo: Encapsulado_microfluidico_2_detalle.dft | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias ±0,5 y ±1° | | Escala | Peso |
| | | Hoja 1 de 1 | |



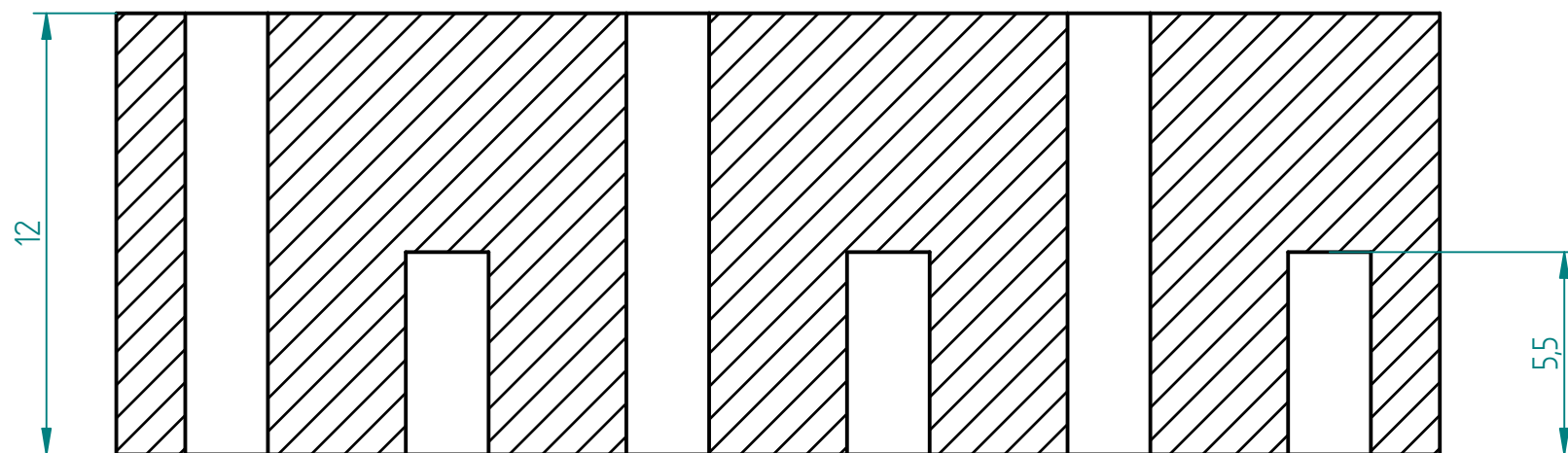
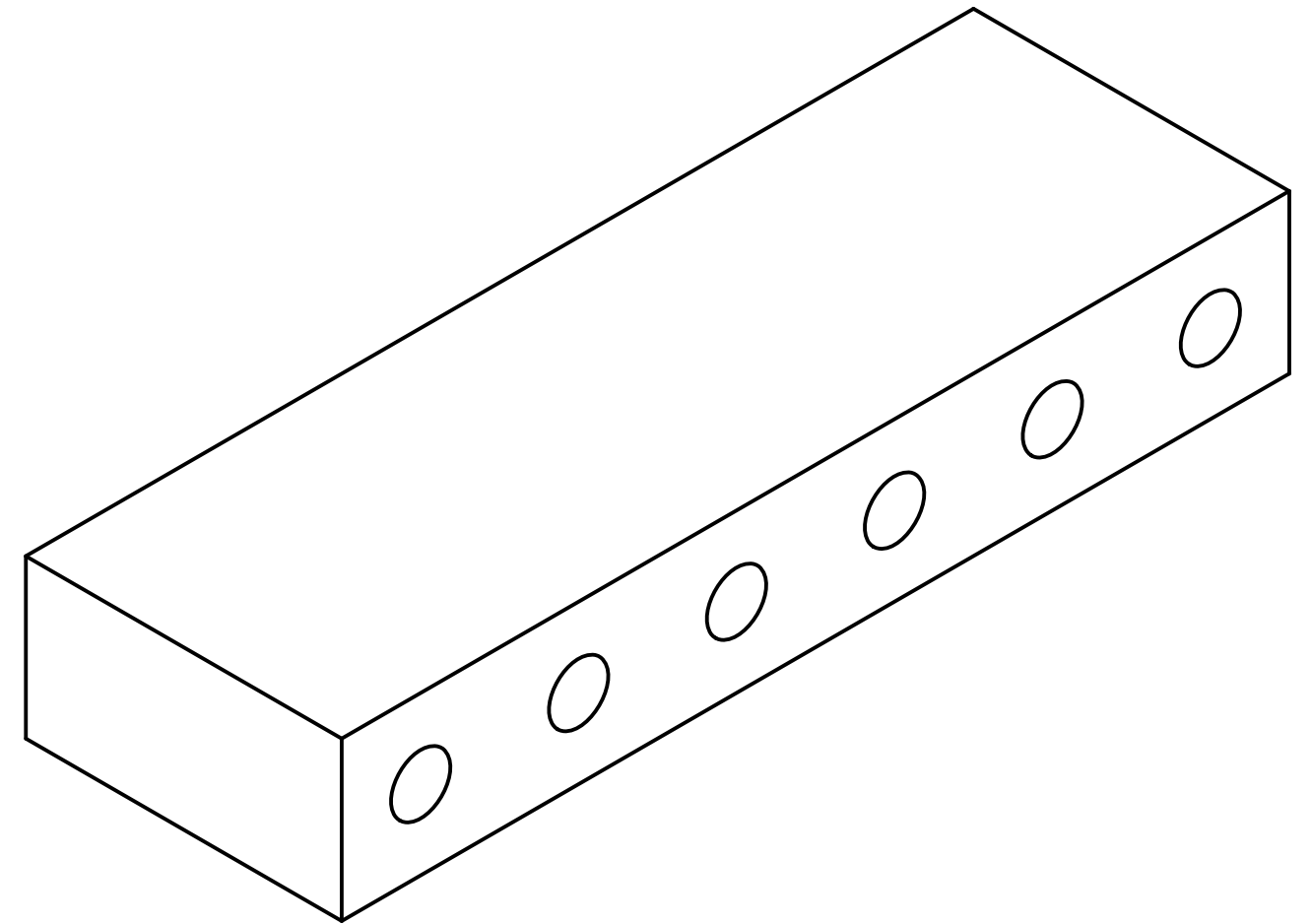
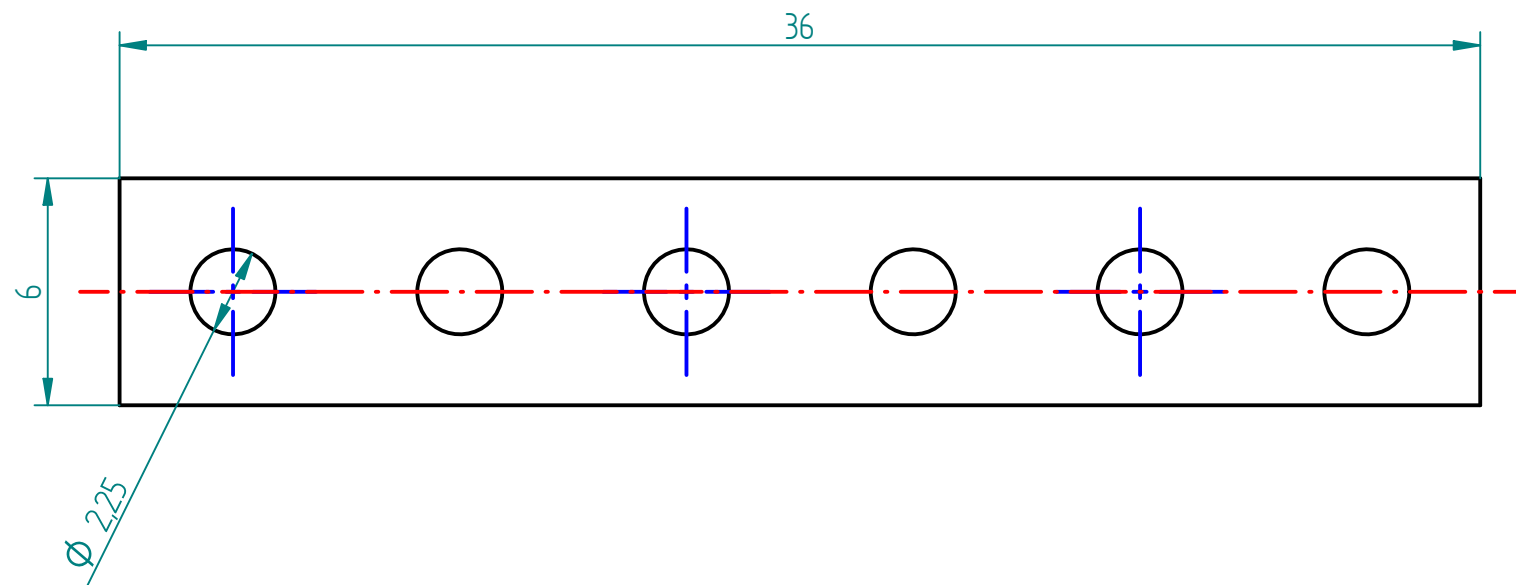
| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



63

| | | | | |
|---|---------------|-------|---------------------------------------|----------------------|
| | Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | | Título <i>Reservorio</i> | |
| Comprobado | | | A3 | Plano ANEXO B.9. Rev |
| Aprobado 1 | | | Archivo: Reservorio.dft | |
| Aprobado 2 | | | Escala | Peso |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias $\pm 0,5$ y $\pm 1^\circ$ | | | Hoja 1 de 1 | |

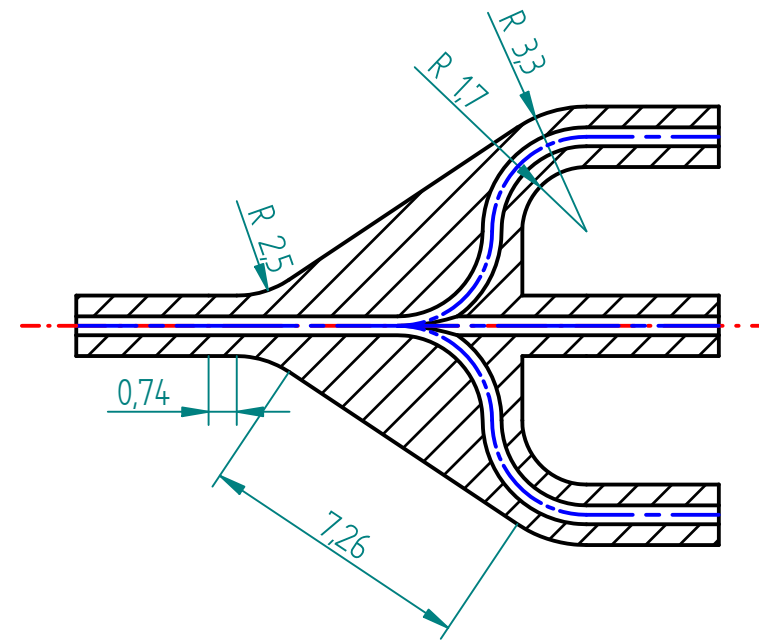
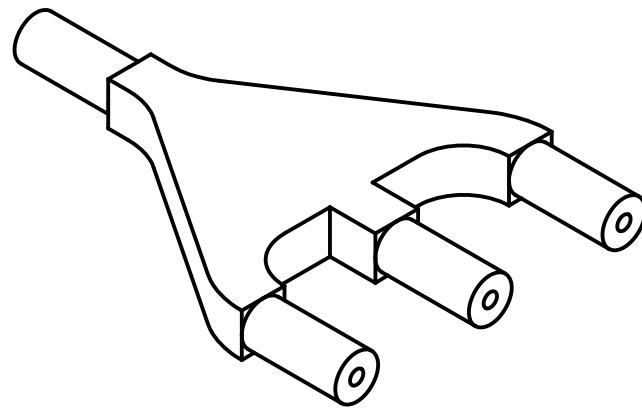
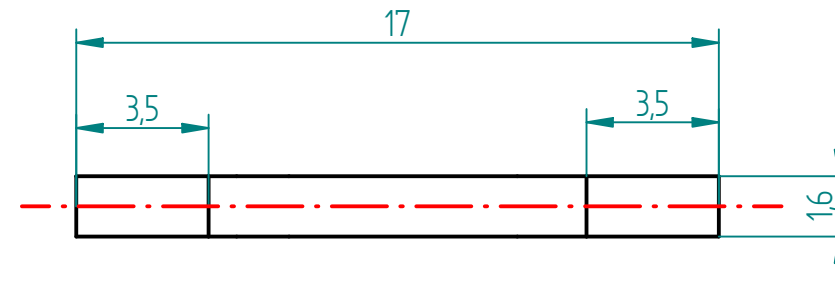
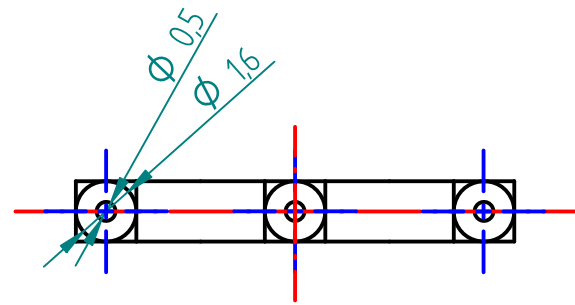
| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



64

| | | | | |
|---|---------------|-------|--|-------------------|
| | Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | | Título <i>Pieza de interconexion</i> | |
| Comprobado | | | A3 | Plano ANEXO B.10. |
| Aprobado 1 | | | | Rev |
| Aprobado 2 | | | Archivo: Pieza_interconexion.dft | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias $\pm 0,5$ y $\pm 1^\circ$ | | | Escala | Peso |
| | | | Hoja 1 de 1 | |

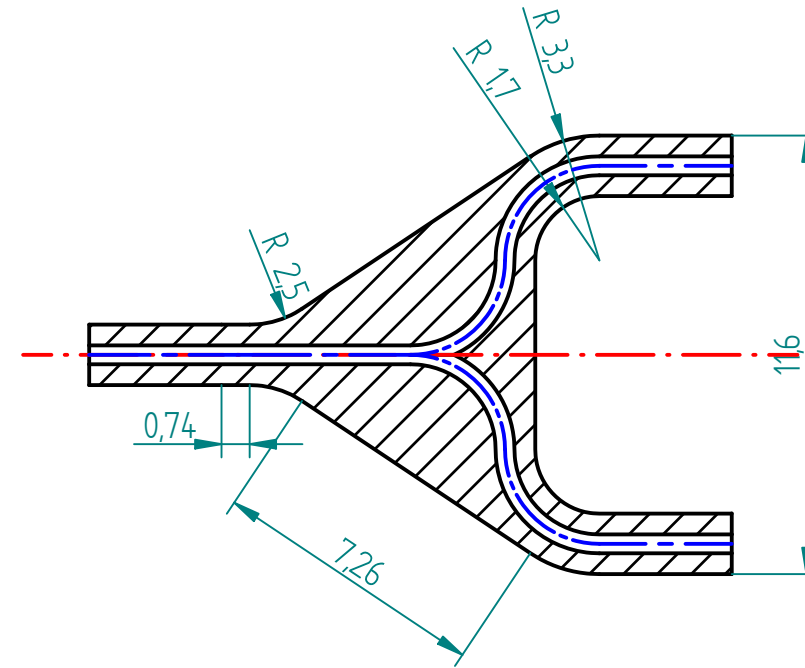
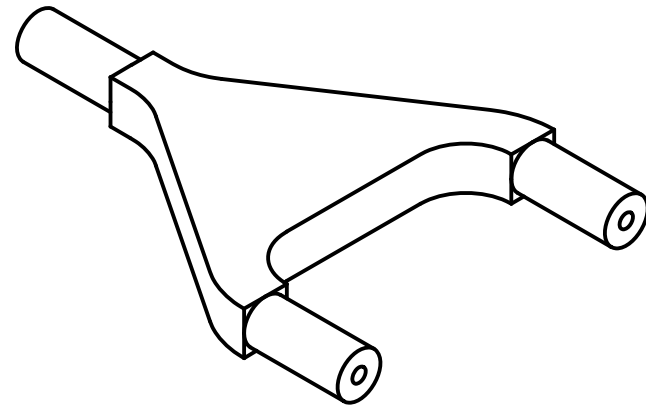
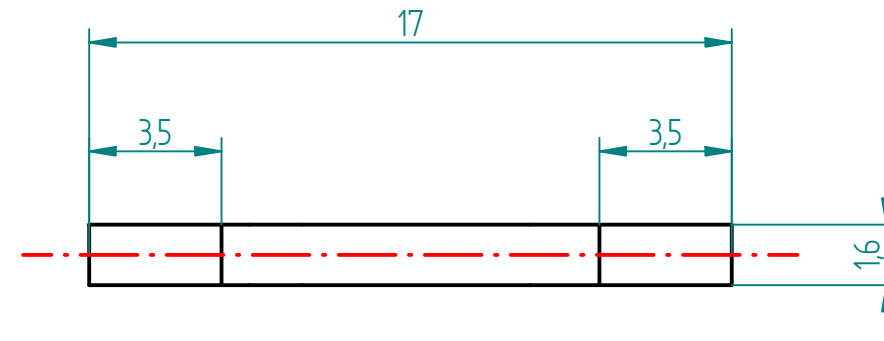
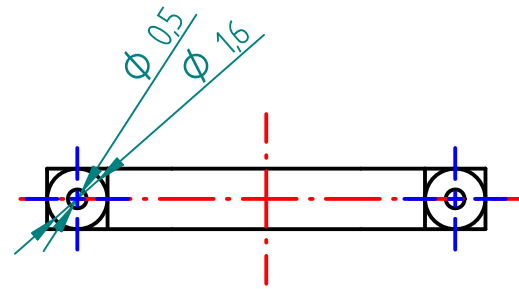
| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



65

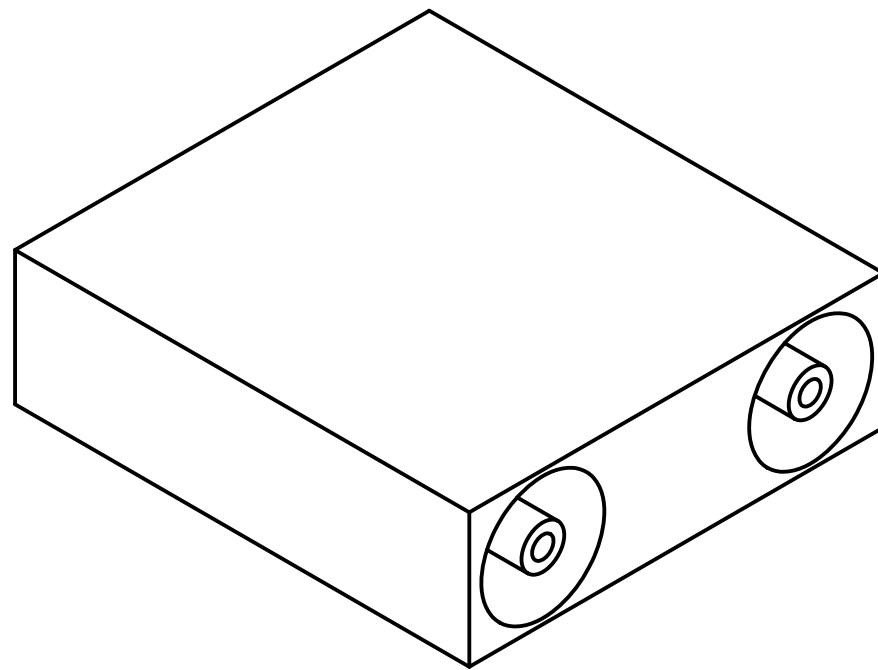
| | | | | |
|--|---------------|-------|---------------------------------------|-----------------------|
| | Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado | Mirko Cabrera | | Título <i>Pieza en tridente</i> | |
| Comprobado | | | A3 | Plano ANEXO B.11. Rev |
| Aprobado 1 | | | Archivo: Pieza_tridente.dft | |
| Aprobado 2 | | | | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias ±0,5 y ±1° | | | Escala | Peso |
| | | | Hoja 1 de 1 | |

| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |

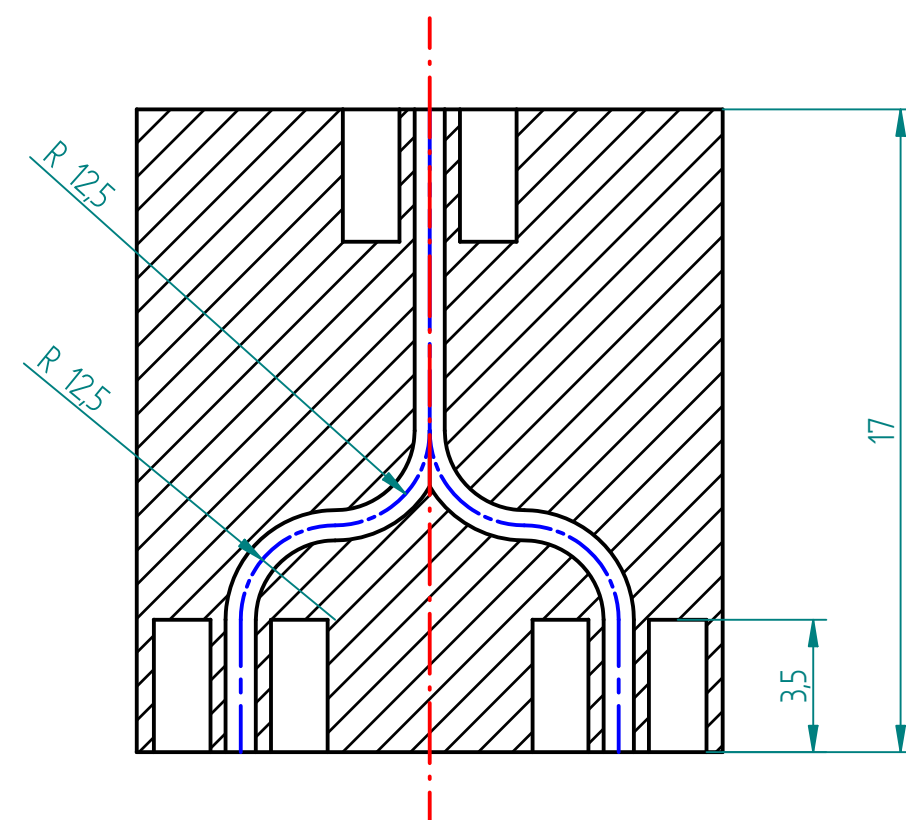
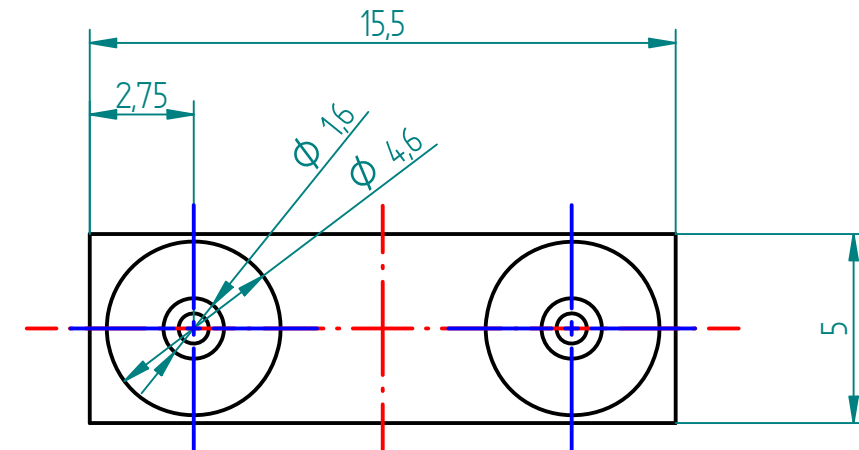


66

| | | | |
|---|-------|---------------------------------------|-------------------|
| Nombre | Fecha | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado <i>Mirko Cabrera</i> | | Título <i>Pieza en T</i> | |
| Comprobado | | A3 | Plano ANEXO B.12. |
| Aprobado 1 | | Rev | |
| Aprobado 2 | | Archivo: <i>Pieza_T.dft</i> | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias $\pm 0,5$ y $\pm 1^\circ$ | | Escala | Peso |
| | | Hoja 1 de 1 | |



| Revisiones | | | |
|------------|-------------|-------|----------|
| Rev | Descripción | Fecha | Aprobado |
| | | | |



67

| | | | | | |
|---|--|-------|--|--|------|
| Nombre | | Fecha | | Solid Edge ST Siemens PLM Software | |
| Dibujado <i>Mirko Cabrera</i> | | | | | |
| Comprobado | | | | Título | |
| Aprobado 1 | | | | <i>Modificación de la pieza en T</i> | |
| Aprobado 2 | | | | A3 Plano ANEXO B.13. Rev | |
| Salvo indicación contraria cotas en milímetros ángulos en grados tolerancias $\pm 0,5$ y $\pm 1^\circ$ | | | | Archivo: <i>Modificacion_Pieza_T.dft</i> | |
| | | | | Escala | Peso |