



**Universidad**  
Zaragoza

# Trabajo Fin de Grado

Desarrollo de un sistema de microválvulas para el  
cultivo celular

Autora

Raquel Fernández Farnos

Directora

Rosa María Monge Prieto

Codirector

Luis J. Fernández Ledesma

Escuela de Ingeniería y Arquitectura  
2015



DECLARACIÓN DE  
AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

(Este documento debe acompañar al Trabajo Fin de Grado (TFG)/Trabajo Fin de Máster (TFM) cuando sea depositado para su evaluación).

D./D<sup>a</sup>. Raquel Fernández Farnos

con nº de DNI 72996250-T en aplicación de lo dispuesto en el art.

14 (Derechos de autor) del Acuerdo de 11 de septiembre de 2014, del Consejo de Gobierno, por el que se aprueba el Reglamento de los TFG y TFM de la Universidad de Zaragoza,

Declaro que el presente Trabajo de Fin de (Grado/Máster) Grado en Ingeniería en Diseño Industrial y DDP, (Título del Trabajo) Desarrollo de un sistema de microválvulas para el cultivo celular

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

es de mi autoría y es original, no habiéndose utilizado fuente sin ser citada debidamente.

Zaragoza, 21/09/2015

Fdo: Raquel Fernández Farnos

# DESARROLLO DE UN SISTEMA DE MICROVÁLVULAS PARA EL CULTIVO CELULAR

## RESUMEN

El trabajo de fin de grado que se desarrolla en el presente documento, cuyo título es "Desarrollo de un sistema de microválvulas para el cultivo celular", tiene como antecedente un trabajo fin de máster [1], ambos forman parte de un proyecto donde se implementan nuevas herramientas que permiten el cultivo celular. El objetivo es recrear un entorno biomimético para llevar a cabo ensayos mediante técnicas llamadas "*in vitro*", en los que las células provenientes de un órgano o un tejido, normal o tumoral se tratan bajo unas condiciones controladas. Estas condiciones son lo más similares posible a las del ser humano o animal del que provienen.

Para dicho fin hay todo un conjunto funcional llamado *setup* fluídico que hace posible el cultivo celular. Dentro del cuál se encuentra un componente, cuyo rediseño va a ocupar el objetivo de este trabajo de fin de grado. Se trata de un sistema de microválvulas que canaliza el medio de cultivo, en unas condiciones determinadas, para dar lugar a dicho cultivo.

Su desarrollo consiste en abordar una serie de metodologías de análisis, para evaluar los problemas del prototipo de partida y finalmente llegar al diseño de un prototipo consistente y viable, tanto a la hora de fabricar como en su coste económico.

# ÍNDICE

Capítulo 1. Introducción	8
1.1 Introducción	9
1.2 Contexto inicial	10
1 . 2 . 1 Microfluídica	10
1 . 2 . 2 Cultivo celular	10
Capítulo 2. Situación inicial	11
2.1 <i>Setup</i> fluidoico	12
2 . 1 . 1 Funcionamiento del <i>setup</i>	13
2 . 1 . 2 Sistema de presión	14
2 . 1 . 3 Sistema de microválvulas	16
2 . 1 . 4 Encapsulado de cultivo	19
2 . 1 . 5 Contenedor de residuos	20
2 . 1 . 6 Electrónica de control	20
Capítulo 3. Diseño de partida	21
3.1 Descripción	22
3.2 Análisis usuario y entorno de aplicación	23
3.3 Materiales y procesos	24
3.4 Análisis formal	25
3.5 Análisis funcional	26
3.6 Problemas del sistema inicial	27
3.7 Conclusiones	28
Capítulo 4. Diseño y desarrollo del sistema	29
4.1 Especificaciones De Producto	30
4.2 Líneas de desarrollo	31
4.3 Propuestas nuevo diseño	33
4 . 3 . 1 Propuesta fase 1	33
4 . 3 . 2 Propuesta fase 2	36
4 . 3 . 3 Propuesta fase 3	38
4.4 Diseño final	39
4.5 Conclusiones	40
Capítulo 5. Reflexión del proyecto	41
5.1 Conclusiones	42
5.2 Planteamiento de trabajo futuro	43

# ANEXO A - DOSSIER

FASE 1 INTRODUCCIÓN AL PROYECTO	7
1.1 Introducción	8
1.2 Objetivos	8
1.3 Metodología utilizada	9
1.4 Planificación	9
FASE 2 CONTEXTO INICIAL	10
2.1 Introducción	11
2.2 Contexto inicial	12
2.2.1 Microfluídica	12
2.2.2 Cultivo celular	12
FASE 3 DISEÑO INICIAL DEL SISTEMA	13
3.1 Descripción del prototipo inicial	14
3.1.1 Análisis usuario y entorno	15
3.1.2 Materiales y Procesos de fabricación	16
3.1.3 Análisis formal	17
3.1.4 Análisis funcional	22
3.1.4.1 Equipo utilizado	23
3.1.4.2 Montaje bloque fluídico	28
3.1.4.3 Montaje bloque de conexiones eléctricas	29
3.1.4.4 Interactar bloques	29
3.2 Chip de microválvulas	30
3.2.1 Caracterizaciones resistencia pegado chips	31
3.2.1.1 Equipo utilizado	32
3.2.1.2 Proceso de caracterización	33
3.3 Caracterizaciones del sistema inicial	34
3.3.1 Proceso de caracterización	34
3.3.2 Resultados	34
3.4 Problemas de diseño	35
3.5 Conclusiones prototipo inicial	39

FASE 4 PROPUESTAS REDISEÑO	40
4.1 EDP's	41
4.2 Mejoras generales	42
4.3 Líneas de desarrollo	43
4.4 Propuestas nuevo diseño	44
4 . 4 . 1 Propuesta Fase 1	44
4 . 4 . 2 Propuesta fase 2	47
4 . 4 . 3 Propuesta fase 3	52
FASE 5 DISEÑO FINAL	53
5.1 Evolución	54
5.2 Diseño final	55
5.3 Análisis usuario y entorno	56
5.4 Análisis formal	56
5.5 Análisis funcional	56
5.6 Fabricación prototipo	57
5.7 Caracterizaciones del sistema	59
5.8 Conclusiones	62

# ANEXO B - ESTUDIO MECÁNICO

1 Introducción	3
2 Descripción del modelo	3
2.1 Descripción de mecanismos	3
2.2 Materiales a emplear con propiedades mecánicas	4
2.3 Planteamiento del problema	5
3 Cálculos y Resultados	7
4 Conclusiones	11

# ANEXO C - PLANOS TÉCNICOS

1.00.00 Sistema microválvulas	3
1.00.00 Lista elementos	4
1.01.00 Base Conectores Fluídicos	5
1.04.00 Base Contactador	7
1.12.00 Base Contactador Nivel 2	8
1.11.00 Base Contactador Nivel 3	9
1.10.00 Tapa Contactador Piezos	10
1.15.00 Base Contactador Nivel 1	11
1.16.00 Pata Base Contactador	12
2.00.00 Grupo Tolerancia Negativa	13
2.01.00 Contactador Nivel 1 -0.2	14
2.02.00 Contactador Nivel 2 -0.2	15
2.03.00 Contactador Nivel 3 -0.2	16
3.00.00 Grupo Tolerancia Positiva	17
3.01.00 Contactador Nivel 1 +0.2	18
3.02.00 Contactador Nivel 2 +0.2	19
3.03.00 Contactador Nivel 3 +0.2	20

# ÍNDICE DE ILUSTRACIONES:

Figura 1 – Flujo laminar	10
Figura 2 – Montaje <i>setup</i> fluídico	12
Figura 3 – Esquema de funcionamiento del <i>setup</i>	13
Figura 4 – Toma de aire comprimido.	14
Figura 5 – Manómetro previo	14
Figura 6 – Manómetro	15
Figura 7 – Botella de contención	15
Figura 8 – Sistema de microválvulas	16
Figura 9 – Modelos chip microválvulas	16
Figura 10 – Chip de microválvulas	17
Figura 11 – Control manual	18
Figura 12 – Encapsulado de cultivo	19
Figura 13 – Chip de cultivo	19
Figura 15 – Electrónica de control	20
Figura 14 – Placa de petri	20
Figura 16 – Diseño de partida	22
Figura 17 – Laboratorios de tejidos grupo <i>GEMM</i>	23
Figura 18 – Aspecto material RGD 525	24
Figura 19 – Partes sistema inicial microválvulas (a) Bloque conexiones eléctricas (b) Bloque conexiones fluídicas (c) Detalle conexiones fluídicas (d) Detalle conexiones fluídicas	25
Figura 20 – Función principal sistema (a) Plano corte canales (b) Recorrido del fluido	26
Figura 21 – Incertidumbre piezos	31
Figura 22 – Chip posicionado (a) Vista frontal (b) Vista perfil	31
Figura 23 – Cierre por bisagra	31
Figura 24 – Propuesta Fase 1 (a) Diseño anterior (b) Propuesta Fase 1	33
Figura 25 - Distribución de canales (a) Diseño anterior (b) Propuesta Fase 1	33
Figura 26 – Conexiones iniciales (a) Conectores iniciales (b) Agujeros iniciales	34
Figura 27 – Conexiones prototipo fase 1 (a) Conectores prototipo fase 1 (b) Agujeros prototipo fase 1	34
Figura 28 – Soporte juntas tóricas (a) Diseño inicial (b) Prototipo fase 1	34
Figura 29 – Cierre sistema (a) Diseño inicial (b) Prototipo fase 1	35
Figura 30 – Cambio posicionadores (a) Prototipo fase 1 (b) Diseño inicial	35
Figura 31 – Cambio alojamientos posicionadores (a) Prototipo fase 1 (b) Diseño inicial	35
Figura 32 – Propuesta fase 2	36
Figura 33 – Ocho alojamientos posicionadores	36
Figura 34 – Huecos para 3 pinzas	36
Figura 35 – Topes Base Conectores fluídicos	36
Figura 36 – Alojamientos tornillos	37
Figura 37 – Propuesta fase 3	38
Figura 38 – Conductos Tapa Base (a) Vista isométrica (b) Vista alámbrica planta inferior	38
Figura 39 – División pieza unilat contactor	38
Figura 40 – Huecos para pinzas	38
Figura 41 – Diseño final	39
Figura 42 – Grupos tolerancias (a) Ensamblaje tolerancia positiva (b) Ensamblaje tolerancia negativa	39
Figura 43 – Prototipo fabricado (a) Vista lateral (b) Vista planta superior	40

# Capítulo 1.

# Introducción

# 1 1 Introducción

---

El trabajo de fin de grado en cuestión tiene por título “Desarrollo de un sistema de microválvulas para el cultivo celular”, está basado en un trabajo anterior [1] centrado en el desarrollo electrónico. Ambos se enmarcan dentro de un proyecto más amplio de Plan Nacional de I+D “CELLMICROCART”, cuyo objetivo es desarrollar nuevas herramientas de cultivo celular basadas en sistemas microfluídicos.

El desarrollo de dicho trabajo se realiza dentro del grupo *GEMM (Group of Structural Mechanics and Modeling Materials)*, de investigación de la Universidad de Zaragoza en colaboración con el ITA (Instituto Tecnológico de Aragón). La instalación utilizada es el laboratorio de tejidos, ubicado en el edificio I3A.

El objetivo principal es el rediseño del prototipo de un componente, llamado sistema de microválvulas, que forma parte de un *setup* fluídico en el que se desarrolla el cultivo celular. Dicho elemento se ocupa de suministrar y canalizar el medio de cultivo necesario para la ejecución del cultivo.

Para abordar el nuevo diseño, se analizan los problemas del trabajo fin de máster anterior [1], y posteriormente se plantearán una serie de modificaciones durante la evolución de la propuesta, basadas en líneas de actuación concretas con el objeto de incidir en las mejoras funcionales. Por último se realizará una fase de análisis del rediseño a fin de verificar las mejoras realizadas.

La planificación llevada a cabo se apoya en una primera instancia en la ejecución y observación de unas caracterizaciones experimentales del prototipo. Tanto la recogida de los datos obtenidos, como el análisis del comportamiento del modelo inicial son cruciales para el progreso del proyecto, para ello se utiliza como metodología un desglose funcional y formal. En el siguiente paso se actúa sobre el planteamiento de mejoras, que están directamente relacionadas con los problemas del diseño inicial. Se utiliza una metodología de basada en tres líneas de actuación principales desde las cuáles se abordarán los cambios necesarios, que darán lugar a una propuesta y su evolución hasta llegar al nuevo diseño. Será modelado en 3D y analizado con el software paramétrico, Autodesk Inventor. Por último se procederá a la fabricación del prototipo y la evaluación de las mejoras implementadas, con las que se propondrán los puntos de trabajo futuro en el próximo prototipo.

# 1.2 Contexto inicial

## 1.2.1 Microfluídica

Para situar el contexto en el que se engloba el proyecto se va a dar una explicación de la ciencia llamada microfluídica. Se trata del estudio basado en el comportamiento de todo tipo de fluidos a muy pequeña escala y comprende disciplinas de Física, Química, Ingeniería y Biotecnología [2].

Posee gran importancia a nivel de biología molecular, debido a los estudios basados en ensayos microfluídicos en chips. La idea básica es recrear situaciones donde poder observar la reacción de tratamientos sobre células.

A nivel comercial ya existen en el mercado plataformas donde se utilizan microfluidos dedicados al cultivo celular, un caso específico son los llamados *Lab-On-a-Chip*[3]. Las ventajas que ofrecen son mayor rapidez y menor consumo de reactivos, es de decir, menor volumen muerto del medio de cultivo. Dispositivos como el del presente proyecto se enmarcan dentro de este funcionamiento. Se trata al final de simular unas condiciones reales en un dispositivo ajeno al entorno de origen.

Conviene señalar la importancia de los fluidos a escalas tan pequeñas. A continuación se ve en la Figura 1, la actuación del flujo laminar, cuyo comportamiento es previsible y fácil de modelar.

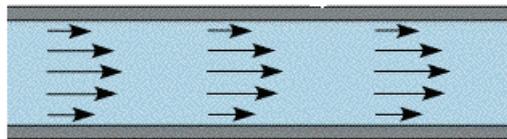


Figura 1 – Flujo laminar

## 1.2.2 Cultivo celular

El cultivo celular se da a unas condiciones específicas que se deben tener en cuenta con el fin de obtener resultados fiables. Aspectos cruciales como mantener una humedad al 100%, una temperatura de 37°C y una cantidad de CO<sub>2</sub> del 5%

# Capítulo 2.

# Situación inicial

## 2.1 *Setup* fluídico

La explicación del *setup* fluídico es un aspecto importante a la hora de comprender todo el proyecto, ya que es su razón de ser y contextualiza el entorno de origen, del propósito que en todo el documento se desarrolla.

La plataforma con la que se realiza el cultivo celular recibe el nombre de *setup* fluídico y contiene una serie de elementos necesarios para dicho fin. A continuación cada uno de ellos serán descritos individualmente, siguiendo el orden de paso del fluído por todos los componentes para entender la lógica de funcionamiento. Previamente se explica la actividad que desarrollan conjuntamente. A continuación en la Figura 2 donde se observa el montaje del *setup*.

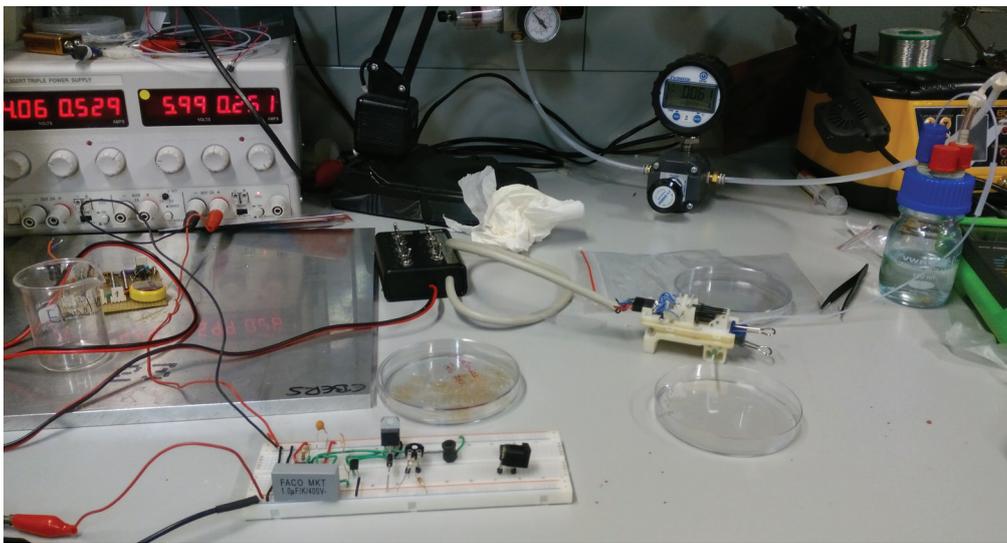


Figura 2 – Montaje *setup* fluídico

## 2.1.1 Funcionamiento del *setup*

En este apartado se va a conocer el ciclo de funcionamiento del *setup* y cómo se relacionan todos los elementos que lo constituyen.

Con la finalidad de generar un cultivo celular, es imprescindible la aportación de nutrientes y oxígeno que son suministrados gracias a la existencia del *setup*. La distribución de cada componente dentro del *setup* está basada en el sentido de circulación del flujo dentro de un circuito abierto, que es unidireccional. A continuación se muestra una imagen en la que se puede visualizar la organización de todo el sistema. En esta nueva versión adaptada al último módulo de nueve válvulas, no se reutiliza el nutriente creando un circuito cerrado, sino que en cada uso se renueva el nutriente a aportar. En la Figura 3 se puede observar el esquema del funcionamiento del *setup*.

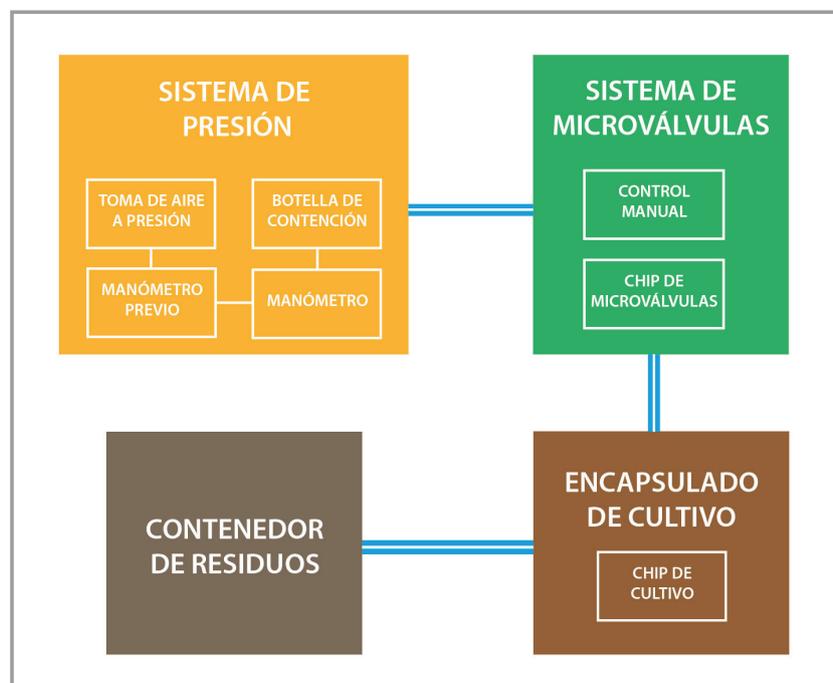


Figura 3 – Esquema de funcionamiento del *setup*

## 2.1.2 Sistema de presión

El sistema de presión se constituye por cuatro elementos principales: toma de aire a presión, manómetro previo, manómetro y botella de contención.

### TOMA DE AIRE A PRESIÓN

La toma de aire, previamente instalada en el laboratorio, proporciona la salida de aire a presión para impulsar el medio de cultivo al resto del *setup*. En la figura 4 se observa la toma de aire comprimido.



Figura 4 – Toma de aire comprimido.

### MANÓMETRO PREVIO

Se trata de un manómetro, pero debido a la falta de precisión y a que las presiones de trabajo son muy bajas, hay que hacer una reducción previa entre el manómetro y la toma de aire comprimido de la red. En la Figura 5 se observa la imagen del manómetro previo.



Figura 5 – Manómetro previo

## MANÓMETRO

El manómetro cumple la función de regular la presión aplicada durante todo el experimento. Contiene una válvula de entrada y una de salida de aire comprimido, además es necesario colocar los tubos respectivos en la posición correcta. En la Figura 6 se puede observar el manómetro.



Figura 6 – Manómetro

## BOTELLA DE CONTENCIÓN

La botella de contención sirve como depósito del nutriente necesario para el tratamiento de las células. Previamente se almacena en dicho lugar para que posteriormente se distribuya por todo el *setup*.

En un lado se puede observar una entrada para el aire a presión, una salida para el nutriente que posteriormente impulsará y una salida para el escape rápido del aire a presión, en ocasiones en las que sea necesario desalojar todo el aire contenido en la botella. En la figura 7 se puede observar una imagen de la botella de contención.

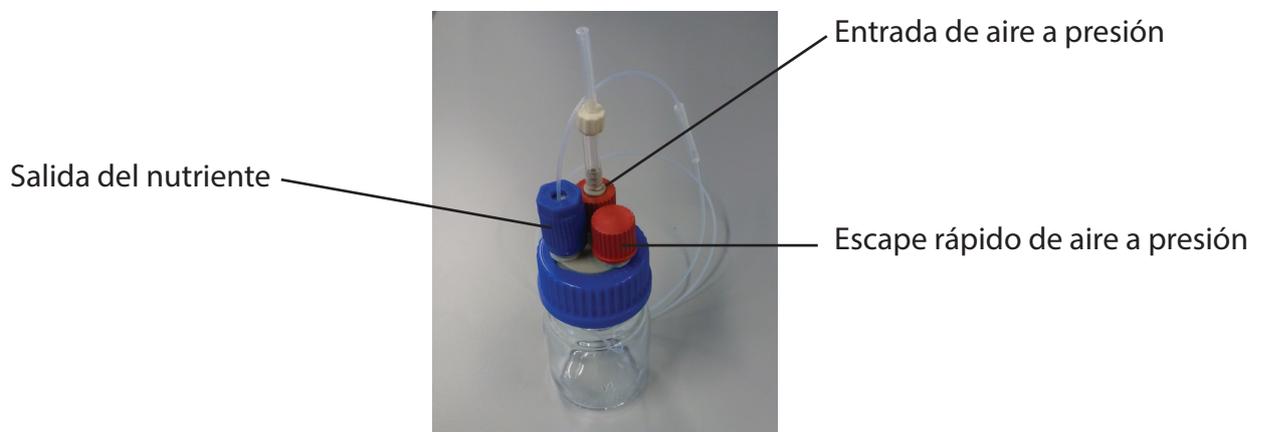


Figura 7 – Botella de contención

## 2.1.3 Sistema de microválvulas

El sistema de microválvulas tiene como función principal dirigir el suministro o la pausa de suministro del nutriente por los conductos necesarios. En su interior aloja un chip de nueve microválvulas, cada una de ellas vinculada a los nueve canales del sistema. En la Figura 8 se puede observar el sistema de microválvulas inicial.

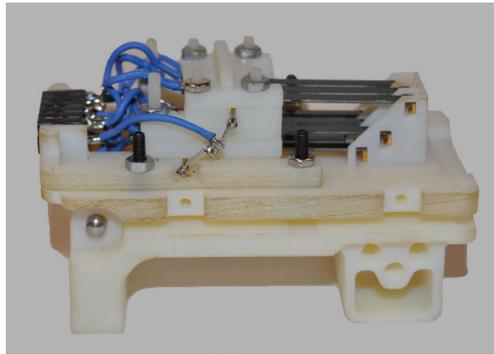


Figura 8 – Sistema de microválvulas

### CHIP DE MICROVÁLVULAS

El chip de microválvulas es el lugar donde se canaliza el nutriente o nutrientes recibidos por uno de sus canales. Tiene unas medidas de 1x1 cm y 400  $\mu\text{m}$  de espesor y está compuesto por una lámina rígida de SU8 y otra flexible de PDMS .

Hay diferentes modelos de chip, como se ve en la Figura 9, dependiendo de los canales tienen más o menos entradas y salidas destinadas para canalizar el nutriente.

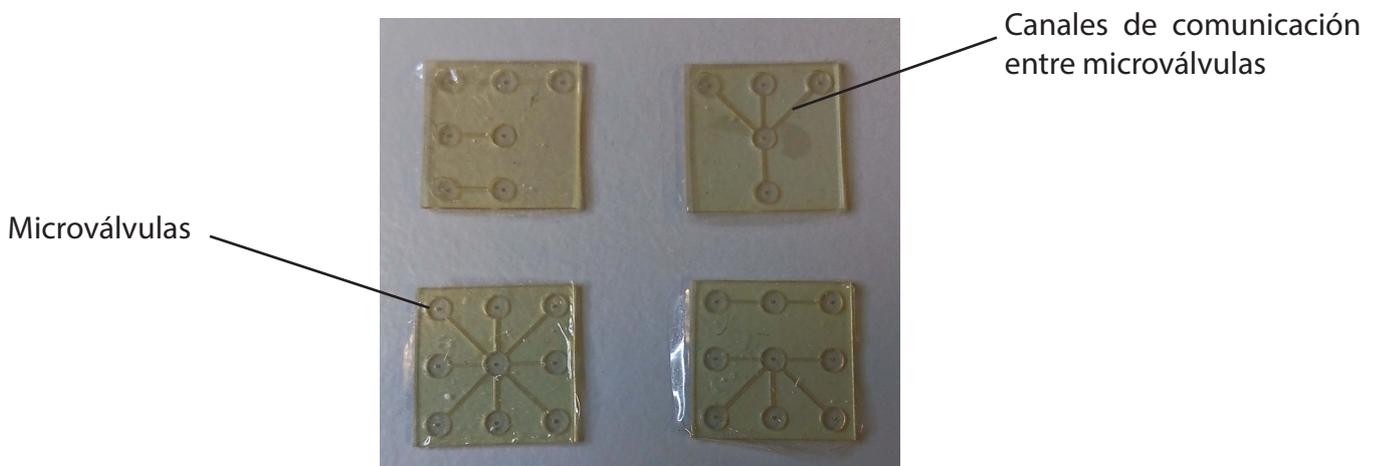


Figura 9 – Modelos chip microválvulas

Los chips microfluídicos utilizados han sido fabricados mediante procesos de fotolitografía óptica en sala blanca en tecnología de SU-8, como se puede observar en la Figura 10. Estos procesos consisten en la deposición de diferentes capas de la fotorresina polimérica SU-8-50 del espesor deseado y la posterior aplicación de luz ultravioleta. De esta manera, se obtienen los patrones deseados. En este caso, para conseguir una estructura de canales tridimensionales el proceso ha sido llevado a cabo en dos sustratos diferentes. Una vez terminados los procesos de definición de patrones en ambos sustratos y su posterior revelado para eliminar la resina no expuesta, se procederá a su alineación y a un proceso de pegado mediante presión y temperatura. Finalmente, se procederá a la liberación de los dispositivos.

Estos chips además poseen la característica que de tener una fina capa de PDMS (silicona usada habitualmente en procesos de microfabricación). La unión del chip de SU-8 con la membrana de PDMS (50µm) se hace mediante la silanización de ambas superficies. Esto se consigue mediante la modificación química de las mismas con un plasma de oxígeno y un posterior tratamiento químico con APTES( (3-Aminopropyl) triethoxysilane).

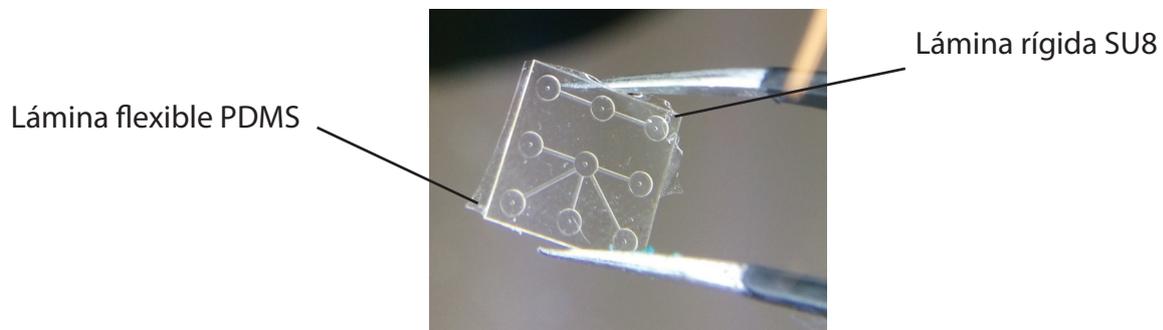


Figura 10 – Chip de microválvulas

## CONTROL MANUAL

Es conveniente señalar los dos tipos de control que en un proyecto anterior fueron diseñados para manejar el sistema de microválvulas.

El control manual es el utilizado para los ensayos del presente proyecto, el motivo es que permite el uso directo sin previa programación, de manera que se ahorra tiempo en las pruebas. Se puede ver una imagen del control manual en la Figura 11.

Está basado en controlar la apertura o cierre de cada microválvula con un pulsador/interruptor. Durante su uso el hecho de que uno de los nueve anteriores esté desactivado, significa que permite la circulación de flujo dentro del sistema de microválvulas. El cierre o la apertura de uno o varios de ellos quiere decir que impide la circulación de flujo y por lo tanto cesa la salida del medio del cultivo.

Existe también el diseño de un control automático, que permite el funcionamiento del sistema independiente del usuario. Su configuración y lógica a nivel de *software* es mucho más compleja que la del control manual.

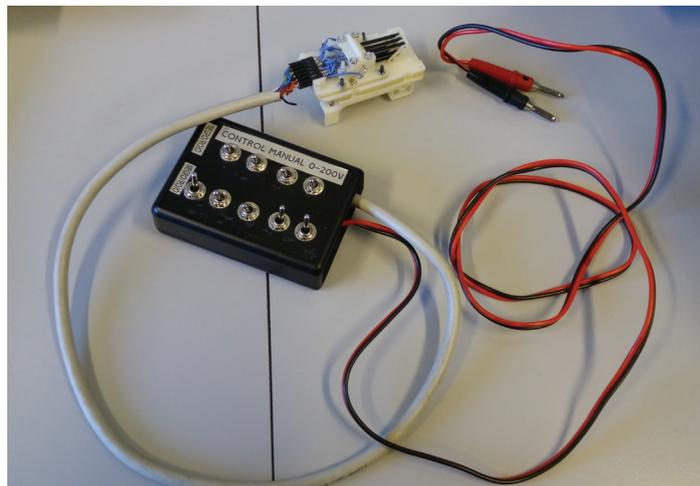


Figura 11 – Control manual

## 2.1.4 Encapsulado de cultivo

El encapsulado de cultivo es el elemento que contiene al chip durante el proceso de cultivo y permite la interacción entre el ambiente macro del usuario y el ambiente micro del chip. Le proporciona protección del exterior siendo un encapsulado libre de contaminación.

El encapsulado está fabricado en metacrilato, cuyo aspecto transparente se puede observar en la Figura 12, lo cuál es útil para tener constancia de todo lo que ocurre en su interior. Está formado por dos piezas con sus respectivos agujeros para cerrarlas.

Contiene una serie de alojamientos para colocar un total de seis juntas tóricas o también llamadas o'rings que aseguran la estanqueidad y evitan así, posibles contaminaciones que serían catastróficas para el cultivo.



Figura 12 – Encapsulado de cultivo

### CHIP DE CULTIVO

Es el lugar donde se lleva a cabo el cultivo celular gracias al nutriente o nutrientes recibidos por sus 6 canales. Tiene unas medidas de 1x1 cm y 600  $\mu\text{m}$  de espesor y está compuesto por una lámina rígida de SU8

Los canales están organizados con tres entradas y tres salidas destinadas para el nutriente y es en el interior del chip donde confluyen todos a realizar el cultivo. Se puede observar una imagen en la Figura 13.

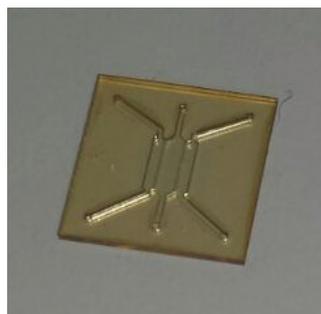


Figura 13 – Chip de cultivo

## 2.1.5 Contenedor de residuos

Finalmente todo el nutriente residual desemboca en un contenedor a través de un tubo desde el encapsulado microfluido, donde como se ha comentado en el apartado 2.2.4, se realiza el cultivo celular.

En un setup en el que se fuera a realizar cultivo celular, este recipiente sería una botella similar a la de contención, ya que debe quedar también aislada del exterior para evitar contaminaciones en el cultivo. En este caso, dado que no se iba a realizar ningún ensayo de cultivo celular, si no que el proyecto está centrado más en la parte de diseño mecánico y de componentes, se sustituyó por una placa petri por comodidad de manejo, como se puede observar en la Figura 14.

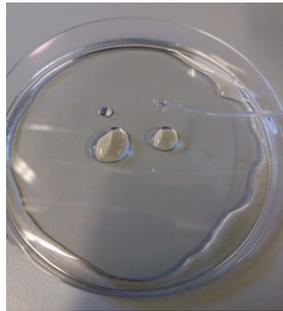


Figura 14 – Placa de petri

## 2.1.6 Electrónica de control

Para la coordinación automática de todos los elementos definidos con anterioridad es necesario un control electrónico, como se puede ver en la Figura 15. Dos componentes son fundamentales para su ejecución:

- Control automático del sistema de microválvulas, en lugar de manual, que se tendrá que adaptar al rediseño del sistema.
- Microcontrolador necesario en caso de la presencia del control automático.

Es necesario una placa electrónica con la finalidad de crear un *setup* portátil y poder utilizarlo en cualquier entorno de uso, de cara a la comercialización del producto final.

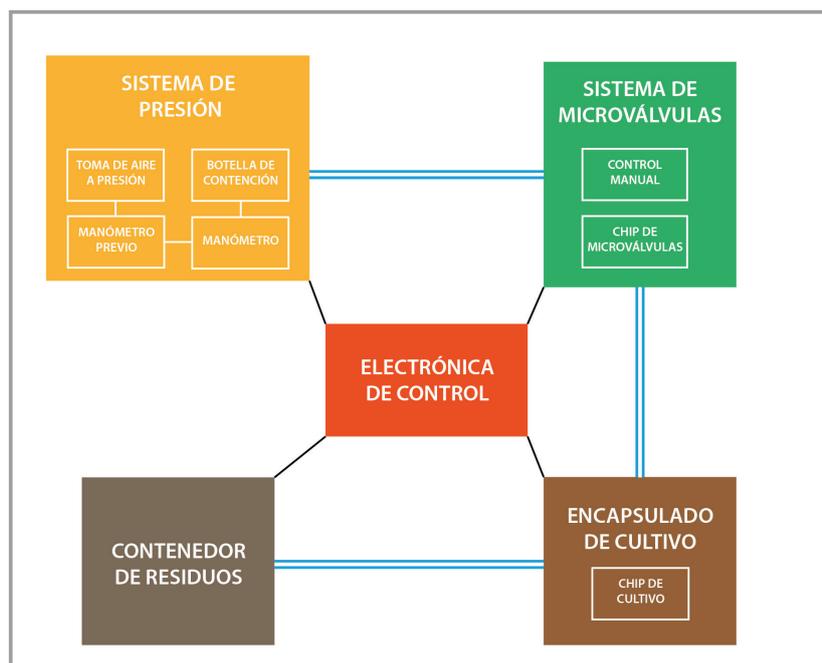


Figura 15 – Electrónica de control

# Capítulo 3.

# Diseño de partida

## 3.1 Descripción

El diseño inicial, necesario para el posterior desarrollo del nuevo diseño, consiste en un módulo de nueve microválvulas que canaliza el nutriente por sus diversos conductos para dirigirlo a otro módulo donde por fin realizar un cultivo celular. Su origen parte de un trabajo fin de máster anterior para la Universidad de Zaragoza. Se puede observar una imagen en la Figura 16.

Dos partes bien diferenciadas destacan entre sus características: el bloque fluídico destinado a la mera circulación del nutriente y el bloque de conexiones eléctricas, que se ocupa del bloqueo de las microválvulas cuando es necesario interrumpir el flujo.

Se denominan microválvulas a un chip de SU8 [4] cubierto con una lámina flexible de PDMS [5], de tamaño 1x1 cm y espesor 400  $\mu\text{m}$ , exclusivamente diseñado por el grupo GEMM de investigación, de la Universidad de Zaragoza. Contiene un total de nueve cámaras, comunicadas por una distribución de microcanales según el fin buscado.

El entorno de aplicación habitual son laboratorios, destinados al trabajo dedicado al cultivo celular. Este tipo de entorno cuentan con dos particularidades, el personal a cargo tiene formación específica en este entorno y las instalaciones que utilizan poseen unas condiciones controladas de trabajo.

El presente proyecto forma parte de otra fase más avanzada del prototipo, con el fin de establecer mejoras a problemas anteriores y en un futuro llegar a un producto comercial consolidado.

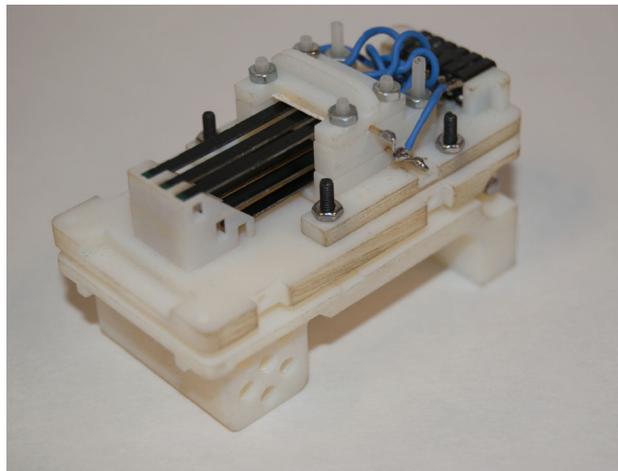


Figura 16 – Diseño de partida

## 3.2 Análisis usuario y entorno de aplicación

El análisis comienza por el tipo de usuario, cuyo perfil es una formación técnica en ciencias, habituados a manejar dispositivos similares con cierto grado de fragilidad por sus pequeñas dimensiones.

Es personal habituado a entornos tecnológicos en constante innovación, de ahí su predisposición a nuevas tipologías de productos, nuevos usos y siempre investigando alternativas de desarrollo en cualquiera que sea la materia que les ocupa. El rango de edad es muy amplio, está entre los 25 y 45 años.

Los entornos de aplicación suelen ser laboratorios donde se trabaja con unas condiciones ambientales controladas, en la Figura 17 se puede observar como ejemplo de entorno. el Laboratorio de tejidos del grupo *GEMM*. Las tareas que se desarrollan en él son muy minuciosas, por lo que se requiere un confort tanto térmico como lumínico, de forma que una temperatura o iluminación inadecuadas pueden afectar tanto al estado del usuario, como a la invalidez de la tarea ejecutada. Vigilar aspectos como la humedad entre valores del 50% y 75% , presión atmosférica inferior a la externa por su riesgo biológico; alimentación eléctrica con un sistema de seguridad pertinente, en caso de fallo, para seguir manteniendo las máquinas que conservan o realizan cualquier tipo de tratamiento; control de la vibración o el ruido para obtener datos fiables en los ensayos tomados; una iluminación en torno a los 400-1000 lux [6] y por último, un ambiente muy higiénico que evite la distorsión de la luz causada por el polvo.



Figura 17 – Laboratorios de tejidos grupo *GEMM*

## 3.3 Materiales y procesos

En cuanto a los materiales utilizados, sin tener en cuenta los elementos normalizados, todas las piezas han sido fabricadas en material RGD 525 como se puede observar en la Figura 18. Es un material propio de la empresa Stratasys que practica tecnología PolyJet.

Tecnología a partir de un archivo CAD 3D con toda la información geométrica, modelado previamente con un *software* de este tipo, la máquina empleada calcula la cantidad de material útil y de soporte necesarios para la pieza a fabricar. Posteriormente comienza la impresión del fotopolímero en estado líquido, que se cura con luz ultravioleta al instante por el mismo cabezal. Finalmente se procede a la eliminación del material de soporte, en una cámara adaptada para aplicar la cantidad necesaria de agua a presión.

Como particularidad, la casa Stratasys ofrece también la posibilidad de imprimir a la vez varios tipos de material con infinidad de utilidades y en diferentes colores. En el caso concreto del material seleccionado, se aplica generalmente para simulaciones del ámbito de la ingeniería.



Figura 18 – Aspecto material RGD 525

### 3.4 Análisis formal

Como proceso de conocimiento y análisis y el objetivo de comprender toda la morfología de la estructura inicial, se descompone y analiza pieza por pieza todo el prototipo. La estrategia utilizada para llevar un orden es establecer una jerarquía de descomposición, distinguiendo el bloque fluido del bloque eléctrico, vinculando las geometrías de cada pieza con las de su entorno más cercano y cómo constituyen sus relaciones.

Destacar también que intervienen implicando un gran apoyo en la estructura, todos los elementos normalizados, sirviendo como nexos de unión y aportando a la vez consistencia. En la Figura 19 se observa la distribución de todo el bloque eléctrico y en los esquemas inferiores se observa la distribución del bloque fluido.

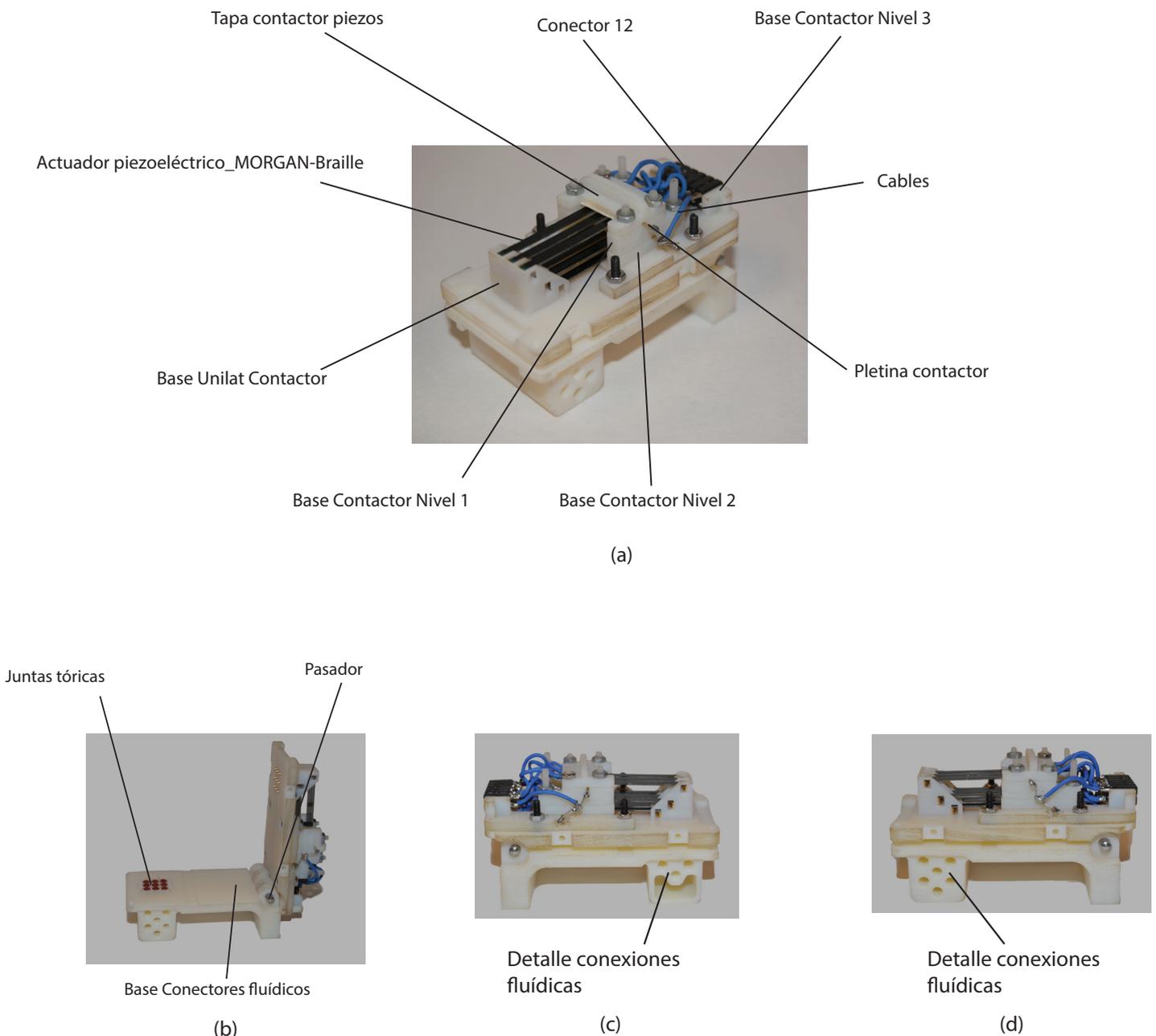


Figura 19 – Partes sistema inicial microválvulas (a) Bloque conexiones eléctricas (b) Bloque conexiones fluidicas (c) Detalle conexiones fluidicas (d) Detalle conexiones fluidicas

## 3.5 Análisis funcional

El análisis funcional se aborda con un sencillo y útil método, recreando una situación típica de uso, como mejor técnica de afrontar el análisis del funcionamiento que realiza el prototipo. El paso previo al análisis, es la explicación de todo el equipo necesario utilizado para llevar a cabo su accionamiento y conocer los elementos auxiliares a la estructura, se realiza en el ANEXO A - DOSSIER. Hay que tener en cuenta que en esta hipotética situación de uso, no se llega a realizar la fase de cultivo celular, ya que para el rediseño no es necesario. Se considera un montaje típico para analizar y observar el funcionamiento del sistema de microválvulas.

En cuanto al análisis, se toma como jerarquía la establecida para el análisis formal, por un lado la explicación del bloque fluido, por otro la del bloque eléctrico y como particularidad adicional, la interacción entre ambos. Es necesario prestar atención a todos sus componentes y en especial a los que contribuyen en las conexiones eléctricas ya que implican cierto riesgo al usuario.

En la Figura 20 se puede observar el funcionamiento del sistema cuando hay flujo.

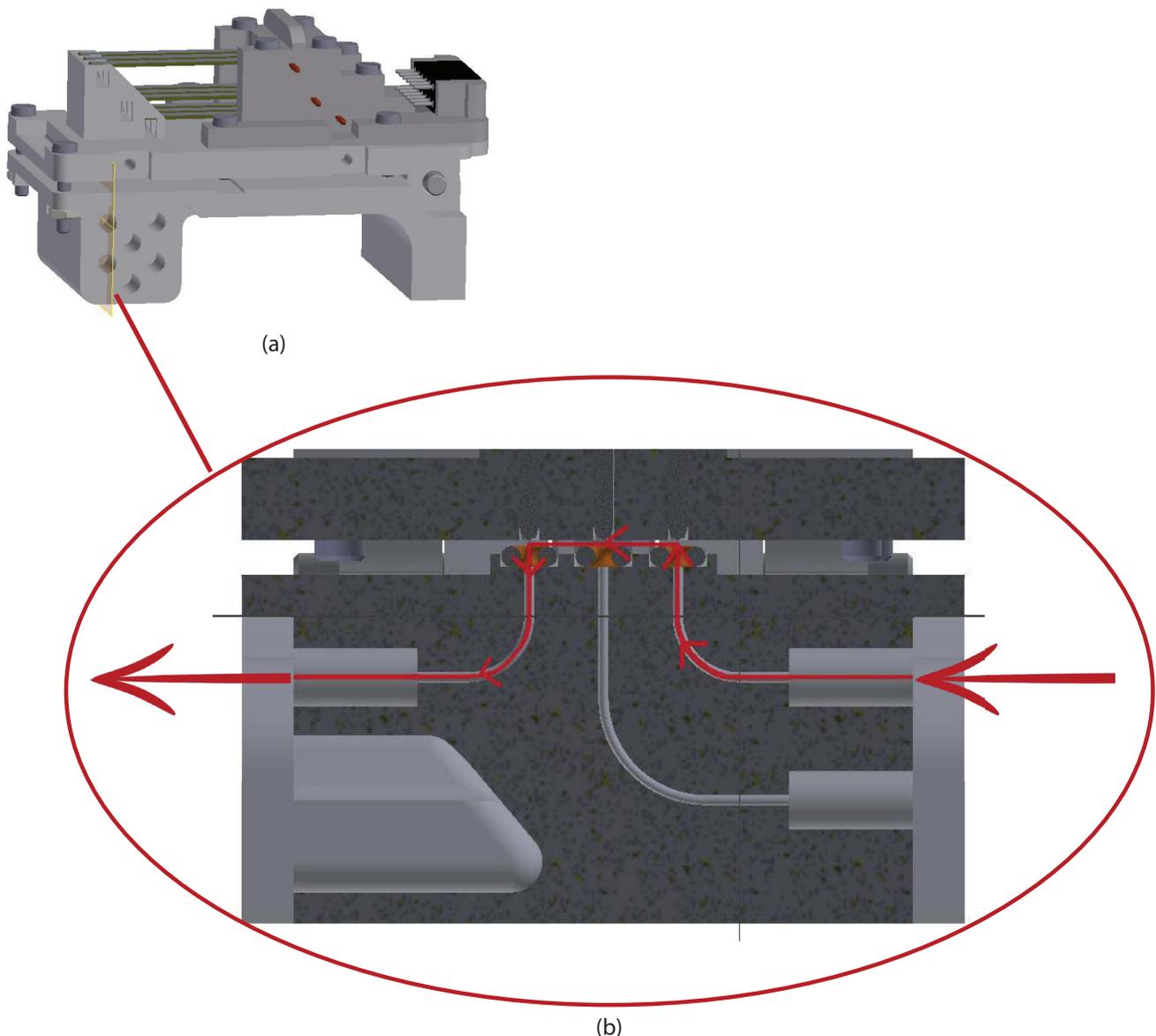


Figura 20 – Función principal sistema (a) Plano corte canales (b) Recorrido del fluido

## 3.6 Problemas del sistema inicial

Los problemas del diseño inicial se toman como punto de referencia para abordar el rediseño del sistema de microválvulas. A continuación se va a describir en qué consiste cada uno.

- El mecanismo de cierre del sistema no es suficiente para efectuar un acoplamiento hermético entre las partes, ya que en ocasiones el nutriente proveniente del bloque fluídico se dispersa por la zona intermedia de los bloques.
- Problema derivado del anterior, se detecta una escasa alineación del chip respecto a los pines. La caja para alojarlo, no es suficientemente precisa ni resistente, pudiendo llegar a ocasionarse la ruptura de la misma durante los usos.
- La interferencia pin-piezoeléctrico no es suficiente porque no bloquean las válvulas del todo. Hay que intentar que el piezoeléctrico encuentre antes el obstáculo y tenga menos carrera.
- La rigidez de los cables actuales imposibilitan el movimiento libre de los piezos, razón por la cuál pueden influir negativamente en su comportamiento.
- La forma de cierre que cuenta con un perno en un extremo con un cierre de bisagra, y en el otro extremo con una pinza de papelería, favorecen a una pequeña flexión en el sistema donde hay una mayor compresión en la zona de esta última y el efecto de tracción en el extremo del perno.
- Los conectores fluídicos tienen un alto coste en proporción al resto del sistema, además de sus pequeñas dimensiones y difícil manejo.
- La utilización de tornillos de plástico en unas piezas y de acero en otras, implica unas diferencias de ajuste. Lo ideal sería utilizar todos del mismo material para controlar esas diferencias.
- La organización de los conductos, presente en el bloque fluídico desconcierta al usuario en el uso. Causa una pérdida de tiempo al tener que interiorizar a qué salida corresponde cada microválvula, careciendo de una distribución intuitiva.
- Al tener que conectar todos los elementos periféricos al sistema y dadas sus pequeñas dimensiones, es una estructura en ocasiones poco estable.

La información correspondiente a los problemas del sistema inicial se encuentra en ANEXO A DOSSIER

## 3.7 Conclusiones

---

Una vez estudiado el prototipo inicial en su contexto y todos sus aspectos, se puede concluir que el nuevo diseño debe ser más compacto en todas y cada una de sus partes, intentando conservar un pequeño tamaño, además de mejorar la incertidumbre de los piezos con sus respectivos pines. Aquí es donde interviene la alternativa de poder regular la altura de los piezos con respecto a los pines

Sobre todo es crucial incidir en los cambios de posicionamiento del chip, interacción de piezos y cierre del sistema. Son las tres partes fundamentales para mejorar su funcionamiento hasta llegar a la versión óptima y sólida del producto.

Cada matiz en cada una de las observaciones es importante y cualquier mínimo cambio implica una consecuencia en el resto de elementos, con lo cual en el próximo apartado de desarrollo de propuestas se evaluará la viabilidad y repercusión de cada una de ellas.

Corregir la alineación del chip es crucial para la interacción entre el bloque fluido y el bloque de conexiones eléctricas.

Conseguir el máximo estancamiento posible y evitar que el fluido se salga de los límites del dispositivo.

# Capítulo 4.

# Diseño y

# desarrollo del

# sistema

# 4.1 Especificaciones De Producto

---

Teniendo en cuenta los problemas iniciales, es necesario establecer unas especificaciones de diseño de producto, que marcarán la dirección de desarrollo y establecerán las características del producto en potencia.

## Facilidad de montaje y desmontaje

Para que el usuario final intervenga lo mínimo posible en el entramado interno y se limite a hacer un uso externo de sus componentes

## Estabilidad

Necesaria para el equilibrio del dispositivo por sí mismo y sin ayuda de otro elementos ajenos.

## Estanqueidad

De forma que el fluído se dirija hacia los conductos correspondientes sin desviar su trayectoria fuera de los límites ya que puede provocar un cortocircuito.

## Estructura compacta

Procurar una mínima presencia de desniveles en cada una de las partes.

## Mínimas dimensiones

Ya que es un dispositivo que se integra dentro de un *setup* microflúidico y por el propio sector en el que se utiliza.

## Facilidad de limpieza

Tanto a la hora de fabricación como durante su uso.

## Posicionamiento del chip y juntas tóricas

Una estructura que permita su correcta colocación sin desviaciones, que posteriormente podrían provocar un mal funcionamiento.

## Restricción de la incertidumbre de los piezos

De forma que se pueda afinar su colocación óptima para su funcionamiento.

## Cierre de la plataforma con una presión controlada

Se utilizan pinzas de papelería ya que siempre ejercen la misma fuerza sobre el sistema, pero debe ser compensada con otro tipo de cierre distinto al de tipo bisagra del otro extremo ya que ejerce otra presión diferente y es perjudicial a la hora obtener resultados. Debe ser un cierre en dirección vertical.

## Normalizados económicos

Tratar de utilizar los componentes normalizados con una relación calidad-precio asumible para dispositivo en pruebas y constante proceso de cambio. Todos los tornillos utilizados del mismo material para conseguir la misma presión en todos los puntos de cierre.

## Organización estructural

Cada uno de los componentes debe estar organizado de forma lógica de cara al usuario. De tal forma que su uso sea lo más intuitivo posible y sin necesidad de ser un técnico especializado en el desarrollo de dispositivos similares.

### Condiciones del entorno

Deben darse unas condiciones controladas sin ser excesivas, pero tratando siempre de que varíen lo mínimo posible entre las distintas intervenciones para que el producto conserve sus propiedades iniciales al máximo. Debe ser un espacio limpio evitando polvo ya que sus partículas pueden atascarse en su interior y a una temperatura óptima de 21°C.

### Chip de microválvulas

Aprovechar al máximo sus dimensiones y versatilidad ya que es el diseño más compacto y que hasta ahora reúne menor volumen muerto. En este punto es también cuando se incide en la economía de recursos, tratando de reducir al máximo el consumo de reactivos de precio elevado.

## 4.2 Líneas de desarrollo

Se determinan una serie de aspectos importantes para estudiar en el rediseño, que agrupan los problemas en tres grandes grupos:

- Incertidumbre piezos - pines

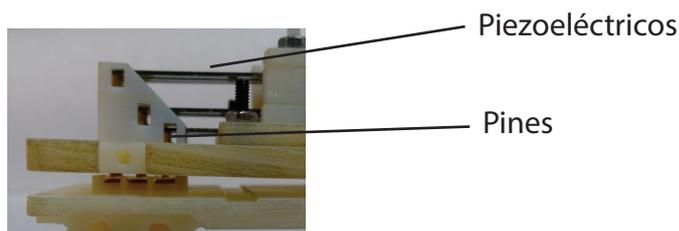
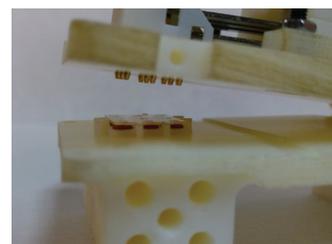


Figura 21 – Incertidumbre piezos

- Alineación chip - pines



(a)



(b)

Figura 22 – Chip posicionado (a) Vista frontal (b) Vista perfil

- Cierre del sistema

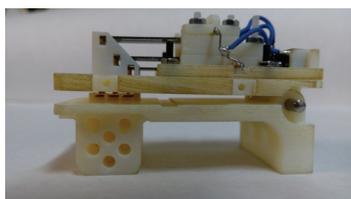


Figura 23 – Cierre por bisagra

Las diversas metodologías utilizadas siguen estas tres direcciones. Para abordar los problemas se buscan ideas y soluciones a partir de técnicas de creatividad. Básicamente todas las técnicas se organizan alrededor del problema, redefiniéndolo y descomponiéndolo en problemas más pequeños, el siguiente paso es la búsqueda de soluciones para que finalmente sean evaluadas y aplicar las que verdaderamente tengan potencial de desarrollo.

Tal y como se ha visto anteriormente se ha tratado de ser consciente de la información de partida, el por qué de esa situación, como forma de convertir los problemas en oportunidades y establecer las pautas deseables en las próximas propuestas, es decir, la redacción de las Especificaciones de Producto.

Entre las técnicas utilizadas se encuentra el llamado examen de los límites, como forma de volver a redefinir el problema, puede verse el análisis formal.

La técnica llamada árbol causa/efecto tratando de analizar las consecuencias para llegar a los motivos que los causan, el medio utilizado ha sido el análisis funcional con sus caracterizaciones.

Los análisis como metodología establecida para ahondar en el conocimiento de la situación dada han servido como medio para estudiar las consecuencias y averiguar las causas de los problemas.

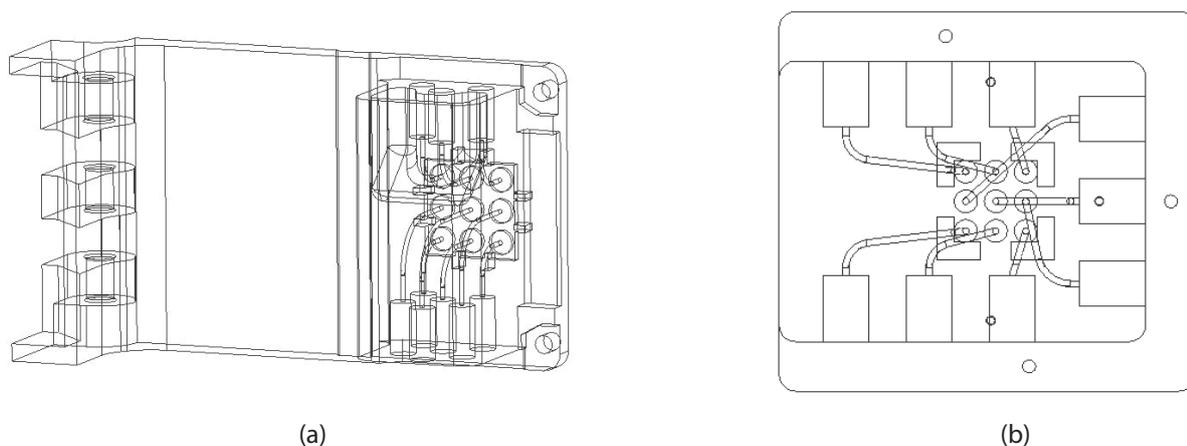
## 4.3 Propuestas nuevo diseño

### 4.3.1 Propuesta fase 1

En la fase 1 de la propuesta solo se realizan cambios en las dos piezas principales del prototipo inicial, como se puede observar en la Figura 24. Con las nuevas piezas, se pueden seguir ensamblando el resto de piezas anteriores. El motivo es reducir el tiempo de diseño para seguir haciendo pruebas y asegurar los dos valores de presión dados.



Los cambios se centran en la redistribución de los conductos en las tres superficies más accesibles de la pieza Base Conectores Fluídicos, se organizan destinando las entradas a sus salidas más próximas e intuitivas para el usuario, tal y como se ve en la Figura 25.



Sustitución de los conectores fluidicos anteriores, que se pueden ver en la Figura 26, por otros más grandes, económicos y manejables de la Figura 27. Como consecuencia aumentan sus agujeros de diámetro menor del diseño inicial por otros ajustados a los nuevos conectores.



Figura 26 – Conexiones iniciales (a) Conectores iniciales (b) Agujeros iniciales



Figura 27 – Conexiones prototipo fase 1 (a) Conectores prototipo fase 1 (b) Agujeros prototipo fase 1

Las cajas de las juntas tóricas integradas en la propia pieza, como se ve en la Figura 28.

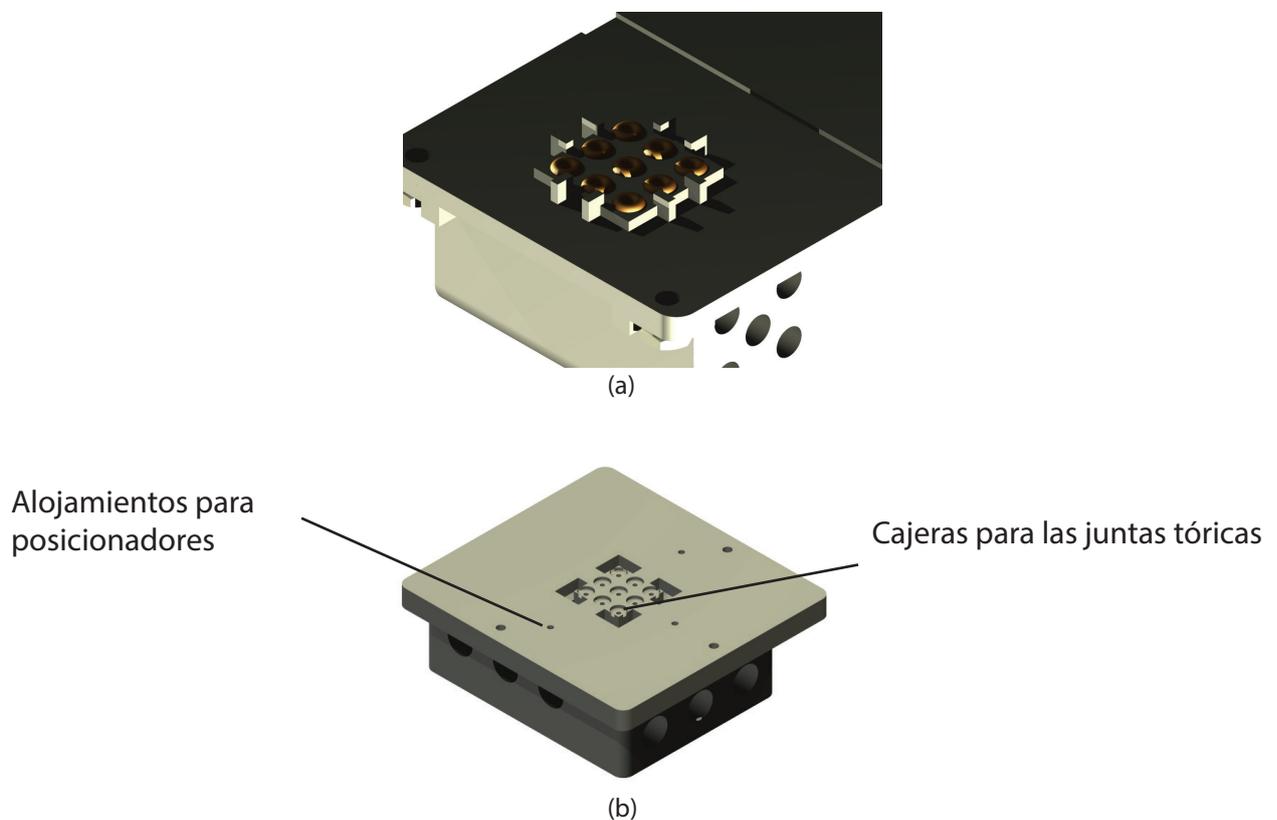


Figura 28 – Soporte juntas tóricas (a) Diseño inicial (b) Prototipo fase 1

Sustitución del cierre por bisagra, Figura 29(a) y acoplamiento de un pie a la pieza Base unilat contactor, como se puede ver en la Figura 29(b).



Figura 29 – Cierre sistema (a) Diseño inicial (b) Prototipo fase 1

En esta fase se invierte la colocación de los posicionadores del chip, de tal manera que nacen en la pieza Base unilat contactor y se alojan en la pieza Base Conectores Fluídicos. Este cambio está motivado para llegar a la mejor tolerancia de ajuste del chip respecto a los pines y que éstos incidan justo en el centro de cada miroválvula para bloquear el paso del medio de cultivo.

También requiere un aumento del tamaño de los posicionadores del chip, Figura 30(a) y (b), para una mejor alineación y mejor resistencia durante las pruebas, ya que en el diseño inicial, Figura 31(a) y (b) los posicionadores se rompían durante el uso.



Figura 30 – Cambio posicionadores (a) Prototipo fase 1 (b) Diseño inicial



Figura 31 – Cambio alojamientos posicionadores (a) Prototipo fase 1 (b) Diseño inicial

Finalmente se valora la situación y se prefiere invertir más tiempo modelar el resto de piezas en las siguientes propuestas. De esta manera se obtendrá un rediseño completo y coherente en todas sus partes.

La información correspondiente a la propuesta fase 1, se encuentra en el ANEXO A - DOSSIER

## 4.3.2 Propuesta fase 2

En esta fase se ejecutan numerosos cambios, como se puede ver en la Figura 32.

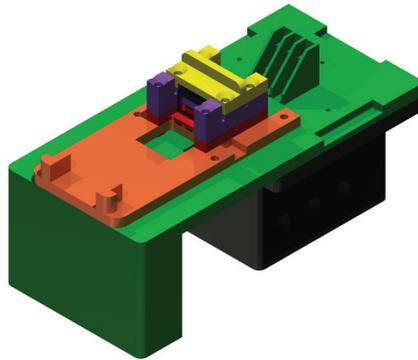


Figura 32 – Propuesta fase 2

Se cambian los posicionadores del chip, que anteriormente estaban integrados en la propia pieza, por unos de acero que aseguran más precisión y resistencia. Se colocan un total de ocho posicionadores, alternando cuatro de ellos tangentes al chip, con los otros cuatro un poco más holgados. Como se puede ver en la Figura 33.

Huecos para poner 3 pinzas, en toda la periferia del chip y equilibrar la fuerza de cierre. Se puede ver en la Figura 34.

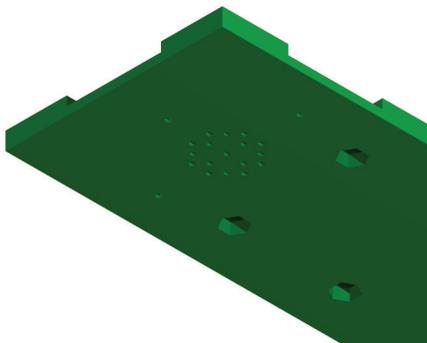


Figura 33 – Ocho alojamientos posicionadores

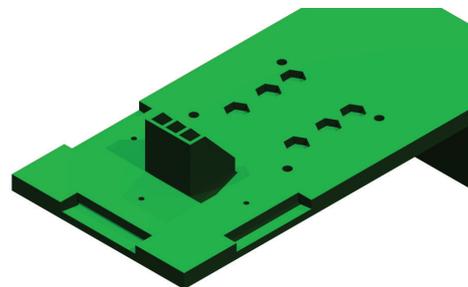


Figura 34 – Huecos para 3 pinzas

Topes para equilibrar la posible deformación en la zona central originada por las 3 pinzas. Se pueden observar en la Figura 35.

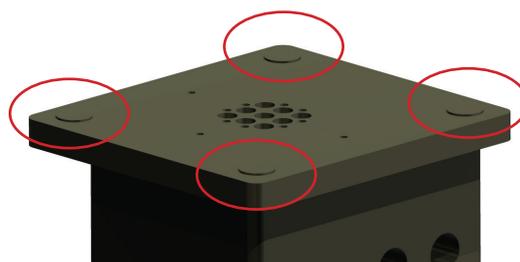


Figura 35 – Topes Base Conectores fluídicos

Uno de los problemas del diseño anterior eran la rigidez excesiva de los cables, como se puede observar, en esta fase se aumenta la longitud de la Base Contactador Nivel 3 para instalar unos cables más largos y flexibles.

En las piezas donde lleven tornillos de cabeza avellanada, Figura 36, modelar sus alojamientos para que quede un diseño compacto.

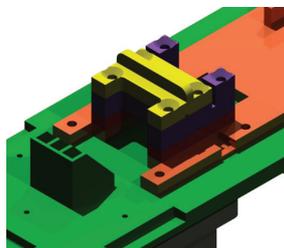


Figura 36 – Alojamiento tornillos

La información correspondiente a la propuesta fase 2, se encuentra en el ANEXO A - DOSSIER

## 4.3.3 Propuesta fase 3

Es la última propuesta antes de la definitiva, por tanto, los cambios se van reduciendo y ajustando al diseño final. Las formas son más compactas y las dimensiones más ajustadas como se ve en la Figura 37, debido a que se ha reducido notablemente la anchura, gracias a otra nueva redistribución de los conductos internos de la pieza como se observa en la Figura 38.

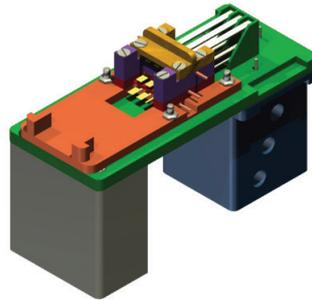


Figura 37 – Propuesta fase 3

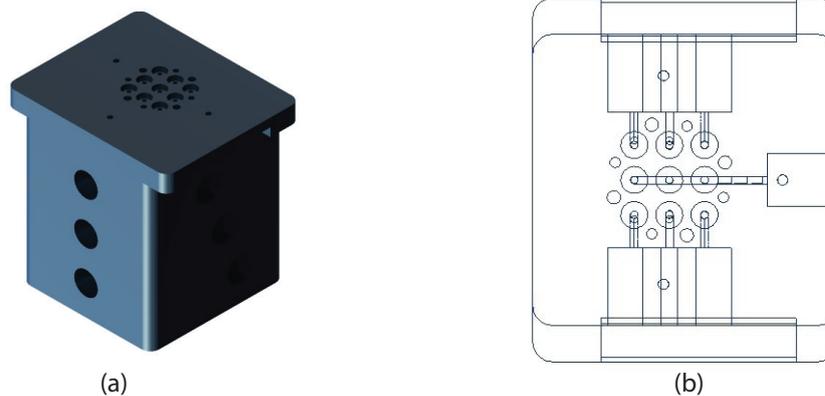


Figura 38 – Conductos Tapa Base (a) Vista isométrica (b) Vista alámbrica planta inferior

Para una fabricación más eficiente la pieza Base Unilat Contactor se divide en dos partes, tal y como se observa en la Figura 39, para ensamblarlas mediante dos uniones atornilladas.

Se reduce la presencia de 3 pinzas, a sólo dos, como se ve en la Figura 40, ya que la tercera puede ser la causante de traccionar demasiado el extremo contrario del sistema de microválvulas.

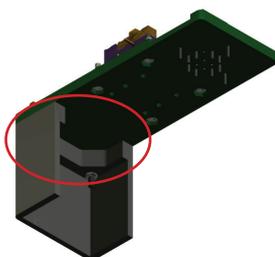


Figura 39 – División pieza unilat contactor

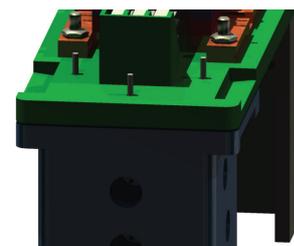


Figura 40 – Huecos para pinzas

La información correspondiente a la propuesta fase 3, se encuentra en el ANEXO A - DOSSIER

## 4.4 Diseño final

La última fase de la evolución y definitiva, como se ve en la Figura 41, consiste en el diseño de unos salientes por cada una de las piezas que aumentan la base del sistema de microválvulas y aportan mayor equilibrio en la superficie de uso.

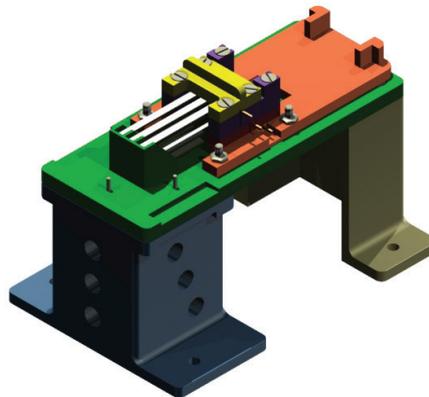


Figura 41 – Diseño final

Comentar también el avance para averiguar la incertidumbre de los piezoeléctricos sobre los pines, independientemente de la medida nominal previamente fijada. Así pues, se modelan dos opciones con tolerancias  $+0.2$  mm, como se ve en la Figura 42, y  $-0.2$  mm, como se ve en la Figura 61, sobre la medida nominal. Una alternativa valorada, para combinar y afinar estas distancias que en teoría están ajustadas, pero que hasta ahora en la práctica generan márgenes de error que hacen imposible la obtención de resultados.

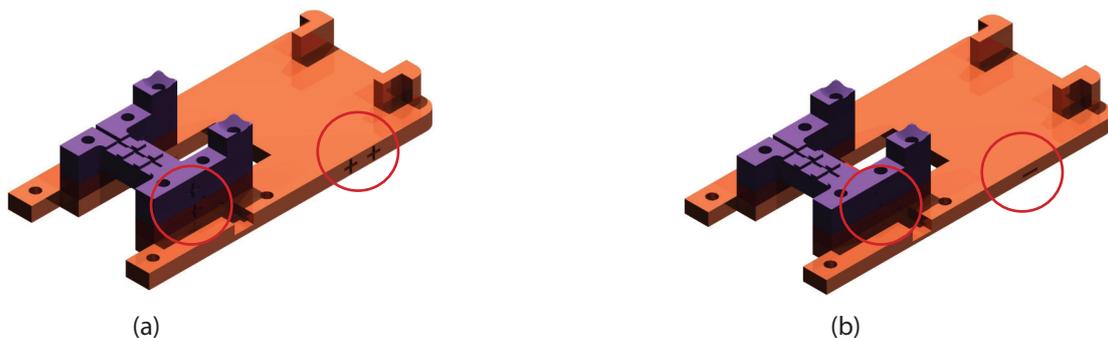
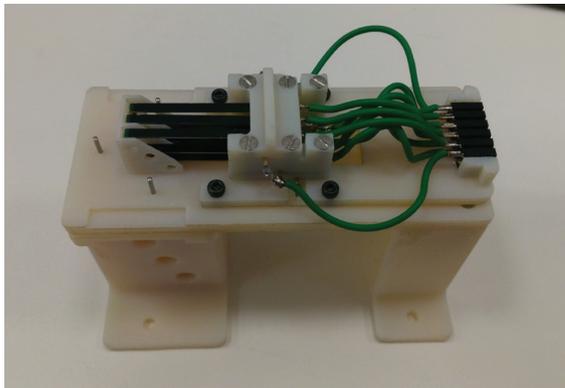


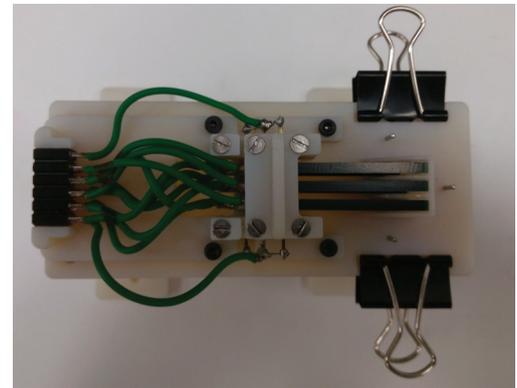
Figura 42 – Grupos tolerancias (a) Ensamblaje tolerancia positiva (b) Ensamblaje tolerancia negativa

La distribución intuitiva de las entradas/salidas fluidicas se mantiene como en la Propuesta fase 3, ya que su disposición en escalera de las laterales, optimiza las dimensiones y el material de fabricación a consumir.

A continuación, se pueden observar en la Figura 43 fotos del prototipo fabricado y ensamblado con todos los elementos: cables, conector, piezoeléctricos, pines, tornillos, tuercas, pinzas, posicionadores del chip y del sistema, chip y juntas tóricas :



(a)



(b)

Figura 43 – Prototipo fabricado (a) Vista lateral (b) Vista planta superior

La información correspondiente al apartado de Diseño final se encuentra en el ANEXO A - DOSSIER

## 4 ■ 5 Conclusiones

Como valoración del diseño final, se ha adaptado a todos los aspectos exigidos. Desde unas dimensiones lo más compactas posibles, intentando mantener aspectos prefijados desde el principio como es el diseño del chip, el cuál, condiciona toda la arquitectura de la estructura.

Prever la reacción ante potenciales problemas, con el modelado de dos grupos de tolerancias positiva y negativa sobre la nominal y su posterior combinación durante las pruebas.

La fijación de su estabilidad con el objeto de mejorar la seguridad del prototipo de cara al usuario y también, el cambio en la situación de uso que le permite prestar atención completa al experimento y observar todo lo que ocurre.

El progreso abordado durante todo el proyecto, permite un acercamiento a la versión del producto industrial. Con ayuda de los ajustes sugeridos y la nueva configuración, se estudian todos los cambios posibles y sus consecuencias en un entorno de uso real.

La ejecución de los experimentos en un entorno de las mismas condiciones al real, es un punto a favor en todos los aspectos que repercuten al contexto del diseño.

# Capítulo 5. Reflexión del proyecto

# 5.1 Conclusiones

---

El objetivo del proyecto es el diseño y desarrollo de un nuevo prototipo, cuya función principal sea la selección del nutriente o nutrientes por mediación de un chip de microválvulas, que finalmente son necesarios para el cultivo celular. Dicho prototipo sustituiría al modelo anterior y se integraría dentro de un sistema más complejo llamado *setup* fluidoico.

Se sigue una determinada metodología para el análisis de la situación de partida y tener en cuenta todos y cada uno de los aspectos sobre los que actuar. Durante el proceso de diseño se desarrollan varias fases en las que evolucionan y mejoran las características del nuevo dispositivo con el fin de perfeccionar su funcionamiento.

El diseño final se adapta lo máximo posible a las condiciones exigidas inicialmente y el paso siguiente después de este proyecto sería su industrialización, para en un futuro su comercialización y uso en laboratorios.

En el nuevo diseño se solventan los problemas de alineación del chip con una distribución de posicionadores metálicos más precisa, el cierre del sistema de microválvulas asegura la estanqueidad. Cambia la forma de montaje del bloque de conexiones eléctricas sobre el bloque de conexiones fluídicas. Durante su uso la estructura tiene unos nuevos salientes que le confieren estabilidad. El proceso de montaje del chip se invierte con respecto al diseño anterior, lo cuál es beneficioso para su colocación. Las pinzas utilizadas estabilizan la fuerza de cierre a ambos lados del sistema y la nueva distribución de los conductos internos facilita al usuario su manejo.

Se obtienen resultados en las caracterizaciones del sistema con presiones de cierre: 0.1744 bar, 0.2675 bar, 0.4155 bar y 0.5441 bar. Por motivos de falta tiempo, sólo se llegaron a tomar medidas de las presiones mencionadas, pero realmente el sistema llega a soportar el cierre de las microválvulas con una presión de 0,9 bar.

A nivel personal es un trabajo con el que he adquirido mi primera experiencia académico-profesional, en el sector de la ingeniería con una repercusión real. Ha sido un reto para mí tanto por su naturaleza, al explorar el método de trabajo del personal investigador de la Universidad de Zaragoza, trabajar en un laboratorio y adentrarme en la ciencia de la microfluídica, como por su desarrollo al abordar el proyecto desde un punto diferente, diseñar a tan pequeña escala y partiendo de una situación con unas condiciones dadas.

El hecho de poder ver el diseño que he modelado, después de su fabricación con máquinas de tecnología de prototipado, es otra fase en mi experiencia como ingeniera que hasta ahora no había podido experimentar, ya que en las ocasiones anteriores ha sido a nivel académico en las que después del diseño se realizaba una maqueta artesanal a escala.

## 5.2 Planteamiento de trabajo futuro

---

Teniendo en cuenta el diseño actual y los problemas que han ido surgiendo, es el momento de establecer las bases para una líneas de trabajo futuro.

El método de fabricación cambiaría a la hora de acometer el proceso de industrialización.

Las juntas tóricas se aunarían en una única lámina de silicona, un medio más compacto.

En otra fase de desarrollo plantear un kit desechable del chip y bloque de conectores. Barato e intercambiable y la parte de conexiones fija.

Con la disposición de canales actual del prototipo no se podría realizar una fabricación por inyección. La idea es que el producto una vez caracterizado se realice todo por inyección.

Sería ideal una plataforma física compacta y completa que aunase los elementos necesarios para accionar el sistema de válvulas completamente.

El hecho de estar en un laboratorio donde se utilizan multitud de aparatos y en general es un entorno caótico por la necesidad de varios elementos a la vez condiciona que el diseño de éste producto sea lo más compacto posible en todos sus módulos.

Adaptar el control electrónico automático al nuevo diseño del sistema de microválvulas.

# Bibliografía

[1] Trabajo Fin de Máster: Nuevo diseño de válvula microfluídica basada en la actuación de elementos piezoeléctricos sobre un chip con membrana de silicona, Carlos Peribáñez.

[2] <http://www.scielo.org.mx/pdf/rmiq/v7n3/v7n3a4.pdf>

[3] El Laboratorio en un chip, Antonio González Fernández. Review

[4] [https://en.wikipedia.org/wiki/SU-8\\_photoresist](https://en.wikipedia.org/wiki/SU-8_photoresist)

[5] <https://es.wikipedia.org/wiki/Polidimetilsiloxano>

[6] [http://portal.uc3m.es/portal/page/portal/laboratorios/prevencion\\_riesgos\\_laborales/manual/riesgos\\_fisicos](http://portal.uc3m.es/portal/page/portal/laboratorios/prevencion_riesgos_laborales/manual/riesgos_fisicos)