

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y TEXTIL



**“SIMULACIÓN COMPUTACIONAL PARA LA SEPARACIÓN DE PARTÍCULAS
LÍPIDOS DE LA SANGRE POR MEDIO DE LA FUERZA DE RADIACIÓN ACÚSTICA”**

TESIS

**PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN CIENCIAS CON MENCIÓN
EN INGENIERÍA QUÍMICA**

ELABORADO POR
Ing. MANUEL DIDY ROSAS HIRACHE

ASESOR
M.Sc. JULIA VICTORIA SALINAS GARCIA

LIMA-PERU

2012

Dedicatoria:

Agradezco al Ing. Jaime Santillana, Ing. Julia Salinas y miembros del jurado por el apoyo y asesoramiento brindado para poder culminar con el presente estudio.

*“Dominun vobiscum
adquirae demoaire
incierti canminaurum
do lella bavari,
conspicue nibranti
anorie dominaelli
pasadam vistainium
angellus vidae
includiere copenim
ciustaere vividum...”*

Mariae Verginieri.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Página
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I	
TEORÍA ACÚSTICA EN MICRO FLUIDOS.....	5
1.1 Conceptos Básicos.....	5
1.2 Microtecnología y Nanotecnología	5
1.2.1 La Microtecnología	5
1.2.2 La Nanotecnología	7
1.3 Técnicas de separación utilizadas en microfluidos	10
1.3.1 Fluorescencia activada de células (FACS)	13
1.3.2 Activación magnética de células (MACS)	14
1.3.3 Separación de células basada en la afinidad	17
1.3.4 Dielectroforesis (DEP)	17
1.3.5 Separación hidrodinámica de células	19
1.3.6 Sistema acuoso bifásico (ABS)	21
1.3.7 Acustifóresis	22
1.4 Separación de partículas por acustifóresis	22
1.5 Flujo laminar y turbulento	25
1.6 Velocidad del sonido y número de Match	26
1.6.1 Propagación del sonido	26
1.6.2 Velocidad de onda, velocidad de fase y grupo	26
1.6.3 Mecanismos de absorción de sonido en fluidos	27
1.7 Diseño de dispositivos	28
1.7.1 Microtecnología: proceso de fabricación de un microsistema	30
1.8 Caracterización de dispositivos	33
1.9 Compresión de una onda acústica	35
1.10 Impedancia e intensidad acústica	35
1.11 Aplicación del Ultrasonido	37
1.11.1 Clasificación de los sistemas	38
1.12 Números adimensionales en microfluidos	39

1.12.1 Número de Reynolds	39
1.12.2 El número de Péclet	40
1.12.3. El número capilar	42
1.12.4 Los números de Weissenberg y Deborah	44
1.12.5 El número de la elasticidad	46
1.12.6 Los números de Grashof y de Rayleigh	48
1.12.7. El número de Knudsen	50

CAPITULO II

ECUACIONES EN ACÚSTICA.....	51
2.1 La ecuación de continuidad	51
2.2 La ecuación de momentum	53
2.3 Termodinámica del sonido	56
2.4 Aproximación por el método de perturbación	57
2.4.1 Ecuaciones de Orden cero	58
2.4.2 Ecuaciones de Primer Orden	59
2.4.3 Ecuaciones de Segundo Orden	60
2.5 Ecuación Acústica	60
2.5.1 Ecuación acústica no amortiguada	61
2.5.2 Ecuación acústica amortiguada	62
2.5.3 Densidad de fuerza sobre el cuerpo	63
2.5.4 Acústica de segundo orden no viscoso	64

CAPITULO III

PRESIÓN ACÚSTICA DE RADIACIÓN.....	66
3.1 Teoría de la fuerza acústica	66
3.2 Componentes de la presión de radiación acústica	67
3.3 Fuerza de radiación acústica	68
3.3.1 Fuerzas de radiación acústicas primarias	68
3.3.2 Fuerzas de radiación acústica secundarias	71
3.4 Fuerzas de radiación sobre objetos	74
3.5 Fuerza acústica sobre una esfera	77

3.6 Modelo del potencial acústico sobre una esfera	83
CAPITULO IV	
CORRIENTES ACÚSTICAS.....	90
4.1 Distribución de presión en corriente acústica	90
4.2 Teoría de capa límite para la corriente acústica	93
4.3 Método de perturbación en capa límite	95
4.4 Solución de orden cero	95
CAPITULO V	
SIMULACIÓN NUMÉRICA COMPUTACIONAL.....	99
5.1 Implementación de la simulación	100
5.2 Condiciones límite	101
5.3 Modelamiento	103
5.4 La sangre humana y sus constituyentes	109
5.4.1 El plasma sanguíneo	111
5.4.1.1 Proteínas plasmáticas	111
5.4.1.2 Lípidos en el plasma sanguíneo	111
5.4.2 Los glóbulos rojos	113
5.4.3 Los glóbulos blancos	115
5.4.3.1 Neutrófilos	115
5.4.3.2 Eosinófilos	116
5.4.3.3 Basófilos	117
5.4.3.4 Linfocitos	117
5.4.3.5 Monocitos	118
5.4.4 Las plaquetas	118
5.4.5 Análisis de la sangre humana	120
5.4.5.1 El hemograma	120
5.4.5.2 Análisis químico/bioquímico de la sangre	122
5.4.6 Lípidos en la sangre	125
5.4.7 El colesterol	125
5.4.8 Lipoproteínas de alta densidad (HDL)	126

5.4.9 Lipoproteínas de baja densidad (LDL)	128
5.4.10 Los triglicéridos	132
5.5 Mecanismos de separación	132
5.6 Simulación numérica computacional	136
5.6.1 Efecto acústico wake	139
5.6.2 Fuerza mutua de radiación	141
5.7 Ecuaciones para determinar la trayectoria de las partículas	142
5.8 Esquema de implementación para la solución numérica	149
5.8.1 Diseño hidráulico	149
5.8.2 Geometría de Microcanal	150
5.8.3 Diseño estructural	153
5.8.4 Selección entre los espesores	154
5.9 Influencia de la frecuencia de actuación sobre la fuerza acústica	156
5.10 Concentración de partículas	163
5.11 Eficiencia de separación	166

CAPITULO VI

APLICACIÓN ACÚSTICA EN SISTEMAS MICROFLUIDOS	168
6.1 Emisión de ondas en superficies oscilantes	168
6.2 Frecuencia de resonancia dentro del dispositivo separador	171
6.3 Propagación de onda a través de múltiples interfases	172

CAPITULO VII

COMPARACIÓN TEÓRICA Y EXPERIMENTAL	177
7.1 Modelos de compartimientos integrados experimentales	178
7.2 Simulación de la fuerza de radiación	181
7.3 Componentes de la sangre humana y de bovino	183
7.4 Parte experimental	189
7.5 Método de separación y diseño del microdispositivo PARSUS	191
7.6 Separación de eritrocitos y lípidos de la sangre	195
7.7 Separación de partículas de diverso tamaño	204

CONCLUSIONES.....	206
APÉNDICE	
A. Glosario de términos	209
B. Modelo para el análisis de paredes acopladas eigenvalores	211
C. Análisis variación de frecuencia en 6 paredes acopladas	214
D. Hemocitómetro	217
BIBLIOGRAFÍA.....	218

RESUMEN DEL TEMA DE TESIS

El interés en los microfluidos ha conducido a muchas ventajas potenciales en los progresos tecnológicos actuales de ingeniería. Las ondas acústicas en frecuencias de ultrasonidos se vienen utilizando para procesar y separar pequeñas partículas por diferencia de densidades y compresibilidades por medio microdispositivos de laboratorio integrado.

La separación de partículas en sistemas microfluidos ha sido demostrada por empleo de centrifugación, magnetofóresis, hidrodinámica, dielectrofóresis y acustifóresis. La acustifóresis es una técnica que permite la separación de micropartículas en suspensión empleando la fuerza de radiación acústica. Creando dentro de la microcámara del fluido un modo de resonancia fundamental que proporciona un campo nodal de presión acústica, para que ocurra la separación de partículas debe existir una diferencia entre las propiedades físicas de densidad y compresibilidad, conllevando a un desplazamiento lateral en la trayectoria de partículas en una nueva trayectoria laminar definida.

Este método es notablemente ventajoso pues no requiere ningún tratamiento previo de las partículas y se pueden aplicar virtualmente a toda clase de partículas. La magnitud de la fuerza de radiación acústica sobre las partículas no ejerce daño sobre ellas, debido a su magnitud de acción periódica y de respuesta producida en el medio fluido conductor.

Como la fuerza de radiación acústica ejercida, conduce al movimiento interno de partículas en el fluido y su eventual impulsión a lo largo de una trayectoria predeterminada deseada, se planteara el efecto de resonancia en la microcámara y las ecuaciones de trayectoria que describen el desplazamiento de partículas y la determinación de la concentración final basándose en la simulación computacional.

Asimismo se realiza la comparación de la simulación computacional con los datos experimentales que han obtenido por esta técnica en la Universidad de Southampton, Universidad de Lund. Se plantea la acción de la frecuencia de actuación sobre la fuerza de radiación acústica y finalmente la separación de partículas constituyentes de la sangre eritrocitos-lípidos mediante simulación computacional y se compara con los datos y fotografías que fueron obtenidas en la Universidad de Lund.

SUMMARY THESIS

Interest in microfluidics has led many potential benefits in the current technological engineering. The acoustic waves at ultrasonic frequencies have been used to process and separate small particles of different densities and compressibilities laboratory using integrated microdevices.

The separation of particles in microfluidic systems been has demonstrated by use of centrifugation, magnetophoresis, hydrodynamics dielectrophoresis and acoustophoresis. The acoustophoresis is a technique that allows separation of microparticles in suspension using acoustic radiation force. Creating within the fluid microcamera one fundamental resonant mode nodal provides a sound pressure field, for particle separation to occur there must be a difference between the physical properties of density and compressibility, leading to a lateral displacement in the trajectory of particles in a laminar new trajectory defined.

This method is remarkably advantageous as it requires no pretreatment of the particles and applied can be to virtually all types of particles. The magnitude of the acoustic radiation force exerted on the particles no damage on them, due to their magnitude of periodic action and response produced in the conductive fluid medium.

As the acoustic radiation force exerted, leading to internal motion of particles in the fluid and their eventual discharge along a predetermined path desired to be brought into resonance effect the microchamber and trajectory equations describing the particle displacement and determining the final concentration based on computer simulation.

It also makes the comparison of computer simulation with experimental data have been obtained by this technique at the University of Southampton, University of Lund. This raises the action of the actuation frequency of the acoustic radiation force and finally the separation of constituent particles of the blood erythrocytes and lipid through computational simulation and compared with the data and photographs were obtained at the University of Lund.

INTRODUCCIÓN

El interés en los microfluidos ha conducido a muchas ventajas potenciales en los progresos tecnológicos actuales de ingeniería.

La importancia de los microsistemas se incrementa en el área de análisis químicos, bioquímicos y de ingeniería química, los cuales se integran con una variedad de disciplinas y tecnologías individuales en la escala de micrómetros y cuyos campos de aplicación son la tecnología de comunicación, ingeniería mecánica, ingeniería ambiental, ingeniería química, farmacia-bioquímica, ingeniería energética, ingeniería eléctrica, ingeniería automotriz, tecnología médica.

Los microfluidos han alcanzado un extenso progreso en biotecnología debido a la cantidad de volumen y reactivos utilizado, obteniendo resultados de análisis en tiempos cortos con un alto grado de eficiencia y especificidad.

El empleo de pequeñas cantidades de muestra, un pequeño volumen del dispositivo, menos consumo de energía y producción en masa potencial usando dispositivos microfluidos son importantes en el estudio, síntesis, separación y diagnóstico del comportamiento a nivel microscópico.

La separación de partículas en sistemas microfluidos ha sido demostrada por empleo de CD-centrifugación, magnetofóresis (magnetophoresis) ^[5, 23, 101, 134], hidrodinámica ^[69], dielectrofóresis (dielectrophoresis) ^[27, 76], acustifóresis (acoustophoresis) ^[6, 41, 44, 54, 82, 104].

El uso de la fuerza centrífuga separa las partículas más pesadas de las más ligeras por rotación de la microcámara; el método magnético funciona primero con un etiquetado de las partículas de interés con materiales magnéticos y luego la aplicación de un campo magnético externo separa las partículas etiquetadas de la mezcla. Una separación continúa como el método hidrodinámico requiere un diseño de obstáculos asimétricos, las partículas con tamaño diferente tienen un coeficiente de difusión y velocidad de sedimentación diferentes lo cual aunado a una fuerza de

aspiración y sedimentación permite su separación selectiva. Otro tipo de separación de partículas en continuo es la dielectrofóresis en donde se utiliza un campo eléctrico externo, para separar las partículas por medio de la diferencia en sus propiedades físicas de carga/polarización. La acustifóresis es un método que permite la separación de micropartículas empleando la fuerza de radiación acústica, la cual por medio de una onda acústica estacionaria (standing wave) generada en transductores, creando dentro de la microcámara del fluido un modo fundamental de resonancia el cual proporcionará un campo nodal de presión acústica, luego para que ocurra la separación de partículas debe existir una diferencia entre ellas en sus propiedades físicas de densidad y compresibilidad, lo cual conlleva a un desplazamiento lateral de posición en las partículas en flujo continuo en una nueva trayectoria definida.

El método es sólo aplicable a partículas en suspensión como es el caso de los elementos formes de la sangre humana, que son visibles bajo un microscopio y decantan luego de un tiempo al dejarlas en reposo; para los elementos no formes de la sangre humana, las glicoproteínas pueden considerarse como una emulsión en el plasma sanguíneo, pero el tamaño de este tipo de partículas del orden de nanómetros reduce la magnitud de la fuerza de radiación acústica siendo despreciable su magnitud y no será posible separarlas por acustifóresis; tampoco es aplicable para sustitutos de la sangre humana (sangre artificial) ^[217,218].

Este método es notablemente ventajoso pues no requiere ningún tratamiento previo en las partículas y se pueden aplicar virtualmente a toda clase de partículas, sin importar características ópticas o de carga. Sin embargo, la formación del plano nodal requiere un material del microcanal con características acústicas excelentes de reflexión como son el silicón, cristal de silicio, materiales de polímero suave, polidimetilsiloxano (PDMS) que son de uso general en microfluidos, el transductor requiere una integración de acople con el dispositivo miniaturizado.

Este método ofrece un re-direccionamiento en la trayectoria de partículas, una separación rápida, consume substancialmente menos energía, mantiene alta eficacia de separación y puede ser aplicado para separar virtualmente toda clase de partículas. Los trabajos de investigación sobre acustifóresis han sido realizados en el Departamento de Ciencias de Ingeniería y Mecánica de la Universidad de Pennsylvania USA; Departamento de Sistemas Electromecánicos de la Universidad Southampton; Departamento de Física de la Universidad Técnica de Dinamarca; Universidad de Lund Departamento de Mediciones Eléctricas, Instituto Tecnológico de Lund Suecia.

El mezclado en microescala es uno de los problemas en los microdispositivos lo cual hace difícil crear turbulencia; en tanto que el mezclado acústico tiene la ventaja de lograr un mezclado rápido, sin piezas móviles y ninguna necesidad de inyección externa de líquidos o de boquillas para crear turbulencia.

Se utilizan transductores piezoeléctricos como fuente externa para la generación de ondas acústicas estacionarias incidiendo sobre las microcapas de la microcámara resonante, generando en la sección del fluido planos nodales/antinodales de presión acústica hacia donde son transportadas las partículas en suspensión.

La interacción de las ondas ultrasónicas estacionarias y las partículas producen fuerzas que se utilizan para la separación de las partículas del fluido; además la distancia media entre las partículas disminuye tanto en los planos de afluencia, que la coagulación e incluso la fusión puedan ser accionadas.

La fuerza de radiación acústica resultante de las ondas de sonido estacionarias son capaces de generar el movimiento de partículas contenidas en una suspensión; en el caso de las glicoproteínas que están emulsionadas en el plasma sanguíneo la variación de su desplazamiento en flujo continuo se mantendrá inalterada, luego la separación de dos tipos de partículas sólo es obtenida si existe una diferencia entre ellas del factor de contraste, de esta manera las partículas de lípidos se emplazarán en los planos antinodales en tanto que las partículas de eritrocitos se emplazaran en el plano nodal.

Sin embargo, hay dos fenómenos fundamentales asociados al uso de ultrasonido en la separación de partículas: la acustifóresis que es la separación de partículas en suspensión y las corrientes acústicas (streaming acoustics) que corresponde a modos de resonancia elevados los cuales causan turbulencia en el fluido.

Esta tesis pretende realizar una simulación computacional de la fuerza de radiación acústica, comparándola con datos experimentales existentes para la separación de eritrocitos-lípidos en la sangre de bovinos ^[109, 110] comparando los resultados experimentales referenciales de Filip Petersson ^[109] con los obtenidos por simulación, los resultados de eficiencia son mayores en este

tipo de microdispositivo ^[187, 192, 193, 194, 107,190, 188, 185, 191, 189] de allí que se halla expandido el uso de este modelo para el tratamiento de la sangre humana ^[36, 86, 87, 88, 110, 112, 146, 186]; se presenta el tratamiento de simulación a dos tipos de microcámara resonante mostrando donde se obtiene un mayor porcentaje de separación; así también se presenta la discusión de como los componentes de la fuerza de radiación acústica actúan en forma favorable o desfavorable en base a la dependencia de la frecuencia de actuación sobre el transductor, lo que conlleva a la condición de separación por acustifóresis o a la generación de corrientes acústica.

Los campos de presión estacionarios creados en el fluido se utilizan para recolectar partículas en líneas paralelas (1D) o en grupos distintos (2D). Para simular completamente el proceso de separación de partículas se deben confinar estas a una localización repetible y exacta de donde puedan ser separadas.

CAPITULO I

TEORÍA ACÚSTICA EN MICROFLUIDOS

1.1 Conceptos Básicos

La acústica estudia la propagación de perturbaciones que originan movimientos relativos de los puntos de un medio en medios materiales, se divide en tres grupos en función del intervalo de frecuencia:

- Infrasonidos que comprende frecuencias por debajo del rango audible (0-20 Hz).
- Sonidos que cubren el margen audible ($20 \leq f \leq 20000$ Hz).
- Ultrasonidos que integran un amplio espectro de frecuencias ($20000 \leq f \leq \approx 10^{12}$ Hz), hasta aquellas frecuencias asociadas a distancias intermoleculares.

1.2 Microtecnología y Nanotecnología

1.2.1 La Microtecnología

La Microtecnología implica la fabricación de sistemas micro-electro-mecánicos (MEMS) configurados en dimensiones de micrómetros, en donde la relación del área superficial al volumen de un microcanal es muy alto, lo cual permite tener una mayor eficiencia en la transferencia de calor y masa; como consecuencia de esto las reacciones químicas presentan mayores índices de selectividad y conversión ^[1,37,41].

Los beneficios de la miniaturización en los microsistemas son:

- Reducción de uso de reactivos así como tiempo de análisis cortos.
- Relación de área superficial a volumen: con un valor típico de $200 \text{ cm}^2/\text{cm}^3$
- Eficiencia de mezclado: la transferencia de calor y masa es considerablemente mejorado.
- Volúmenes pequeños de reacción.
- El proceso continuo permite la investigación rápida de parámetros dando por resultado la optimización de proceso.
- La difusión en microcanales pequeños conduce al perfeccionado de mezclado.
- La presencia de cantidades pequeñas de materiales peligrosos reduce la disposición de seguridad.

Las limitaciones de los microsistemas son:

- Desarrollo microestructural del microcomponente inadecuado.
- La fabricación de microcomponentes es relativamente costoso.
- Falta de la existencia de estándares e interfaces en los transductores para el desarrollo de productos y microcomponentes.
- Financiamiento limitado para la investigación e innovación de los microsistemas.

Los fenómenos de transporte en los microdispositivos son una función extendida de gradientes del potencial aplicado, de las características físicas de los microcanales, fenómenos capilares, propiedades físicas del fluido, condiciones de flujo, interacción de sistemas multicomponentes, textura superficial y configuración geométrica del microcanal y la estructura de los microsistemas [476,68].

Los materiales empleados en la fabricación de los dispositivos miniaturizados son por lo general el vidrio, cuarzo, silicio, polímeros orgánicos y substratos plásticos; siendo utilizadas las técnicas de los semiconductores en su elaboración.

Tabla N^o 1.1: Usos de microdispositivos	
Campos	Usos
Micromecánica	Sensores de frenos hidráulicos Dosificación de combustible Sensor capacitivo de aceleración
Medio ambiente	Control de emisión de contaminantes
Microfluidos	Laboratorio integrado en un circuito integrado.
Tecnología médica	Instrumental médico Material genético Separación de virus patógenos
Ingeniería química	Celda de combustible Síntesis de productos químicos

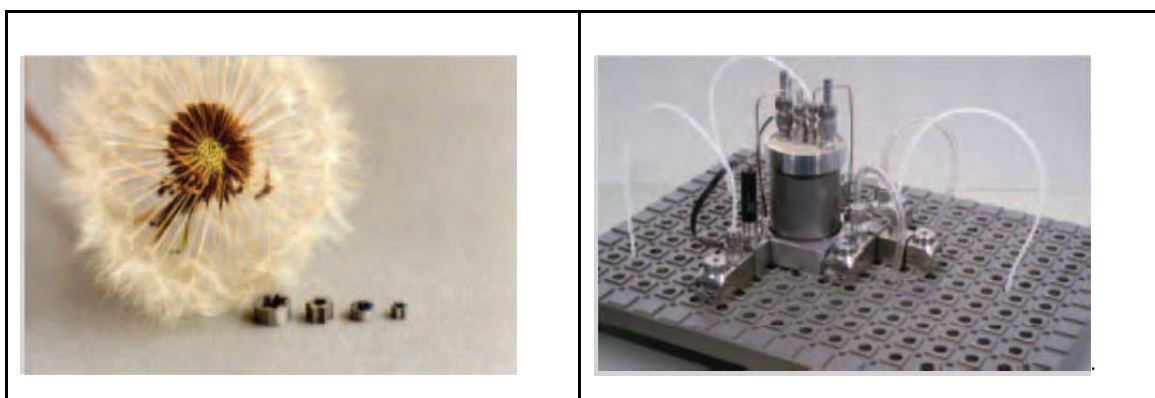


Figura 1.1: Ruedas de una bomba de engranaje anular.
Fuente: HNP Microsystems Technology GmbH.

Figura 1.2: Nuevas maneras para química: dispositivo modular de micro reacción para la síntesis alta y a baja temperatura. Fuente: Ehrfeld Mikrotechnik AG.

1.2.2 La Nanotecnología

La Nanotecnología tiene como objetivo el diseño, manipulación, creación de estructuras materiales, dispositivos y sistemas funcionales para el control directo de la materia en la escala de longitud del orden de nanómetros ^[1,153].

La nanotecnología se puede definir como “ingeniería en escala muy reducida” desarrolla estructuras y dispositivos en la escala del nanómetro (entre 1 - 100 nm), en este límite las nuevas características de la materia se deben a las leyes de la física del quantum.

Los alcances de los progresos de la nanotecnología se extienden hacia:

- Nuevos materiales: más durables y resistentes y menos costosos.
- Electrónica: componentes electrónicos pequeños, permitiendo el diseño de gran alcance.
- Energía: aumento extenso en la generación potencial de energía solar.
- Salud y nano biotecnología: en las áreas de prevención, diagnóstico y tratamiento.
- Ambiente: producción energética limpia, económica.

Las ventajas de la nanotecnología se vinculan principalmente con:

- Reproductibilidad de los datos obtenidos.
- Corto tiempo empleado en el análisis.
- Mínima cantidad de muestra utilizada.
- Automatización e integración con microfluidos.
- Disipan poca energía siendo sensibles a mecanismos externos de amortiguamiento.
- Incorporación de instrumentación para el análisis de muestras biológicas.

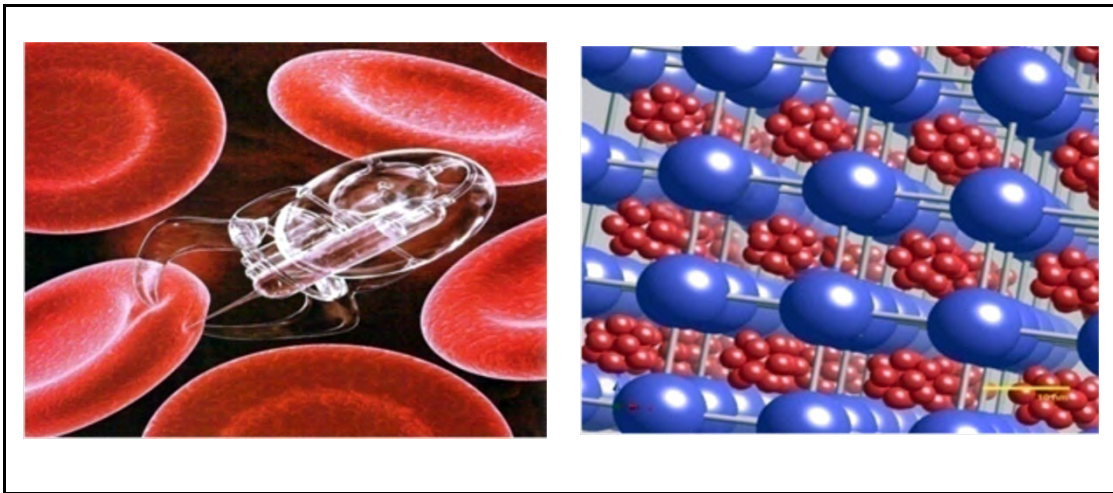


Figura 1.3: Manipulación microtecnológica de nanopartículas.

Tabla N° 1.2: Usos de nanotecnología.		
Usos	Áreas	Aplicación
Medicina	Investigación de enfermedades	Introducción en el cuerpo de nanopartículas fluorescentes que permiten la localización exacta de una enfermedad.
	Diagnóstico de enfermedades	Empleo de dispositivo LOC para procesar y analizar rápidamente.
	Administración de drogas	La droga es activada en sitios específicos y se supervisa por técnicas de proyección de imagen.
Ambiente	Fuentes de energía y de almacenaje	Se previene la contaminación con colectores de energía solar los que trabajan en luz difusa. Diseño de baterías y súper capacitores.
	Solventes	Desarrollo de superficies estructuradas que pueden rechazar la suciedad y otros contaminantes.
Nano materiales	Polímeros reforzados nano revestimientos	La adición de 2% de minerales de arcilla nano particulada a una capa del polímero tiene por resultado capas resistentes.
	Adherencia nano revestimiento	Permiten que las superficies sean fácilmente limpiadas con agua una vez que se haya aplicado la capa.
Nanopartículas	Nanopartículas fluorescentes	Las nanopartículas exhiben un rango de colores ante una luz, dependiendo de su composición y tamaño ("código de barras invisibles").
	Agentes fotocatalíticos	Las nanopartículas tienen un área superficial grande referente a su tamaño y son altamente reactivos.
Nanotubos de carbón	Electrónica	Tienen una conductividad alta para implementar nuevos circuitos dispositivos.
	Mecánica	Tienen resistencia 100 veces más fuerte que el acero y solamente un sexto de peso.
Textiles	Telas	Las nanopartículas de oro imparten tonos de colores suaves y estables e incluso proporcionan características anti-bacterianas.

LOC: Laboratorio de circuito integrado sobre un semiconductor (9a bon chip).

1.3 Técnicas de separación utilizadas en microfluidos

La separación de partículas implica la manipulación de dimensiones pequeñas para análisis:

Células	10–100 μm
Eritrocitos	7000 nm
Leucocitos	10000 nm
Virus	20–450 nm
Proteínas	5–50 nm
Bacterias	1000-10000 nm

La hidrodinámica de microfluidos permite manipular y procesar pequeños volúmenes de muestra, lo cual conlleva a la dilución de muestra para no obstruir los canales del microdispositivo, no obstante la interpretación de una serie de procesos que a nivel macroscópico son despreciables son muy diferentes a lo esperado en el nivel microscópico. La población celular es heterogénea y diversa lo cual limita los procesos de separación celular de una forma específica y eficiente ^[17, 33,163].

Los sistemas totales de micro análisis (μTAS) y el laboratorio de circuito integrado (LOC) son tecnologías automatizadas de la actual investigación en biología, química y bioingeniería; aunque los métodos se restringen principalmente hacia algunas especies de célula.

La separación convencional se realiza por inmuno-reacciones en la membrana celular con anticuerpos proteínicos que capturan las células de interés, por ser el tipo de proteínas integradas de función específica.

La tecnología de separación celular en dispositivos microfluidos se divide en dos principios de separación:

- Técnicas inmunológicas.
- Técnicas no-inmunológicas.

Tabla N° 1.4: Tipos de separación celular.

Tipos	Método	Ventajas	Desventajas
Separación convencional	Inmunológico	Alta especificidad y selectividad. Serie de inmuno-reacciones proteínicas.	Las células aisladas sufren daños. Alto costo de separación. Serie de inmuno-reacciones
Separación microfluida	No-inmunológico	Resultados rápidos. Empleo de propiedades físicas del medio circundante.	Baja especificidad de separación entre células. No discrimina entre las características inmunológicas

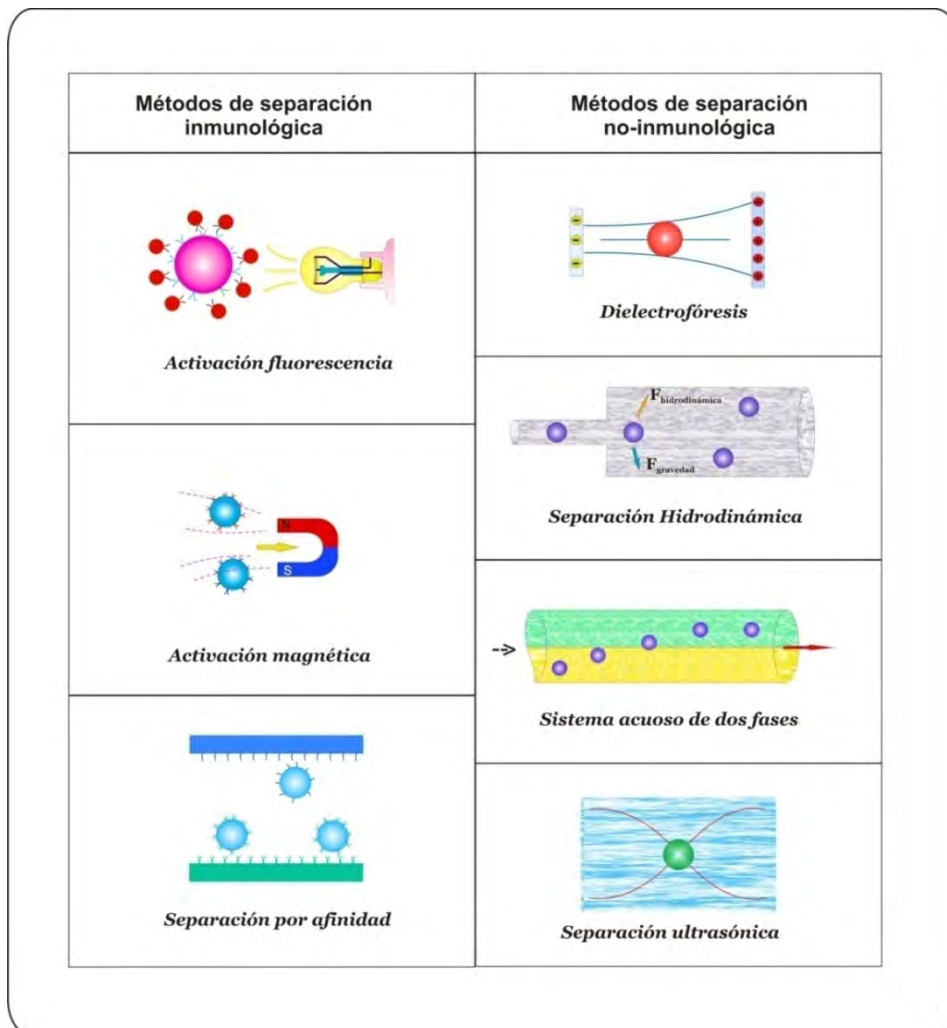


Figura 1.4: Técnicas de separación en microfluidos.

Tabla N° 1.5: Técnicas y métodos de separación en dispositivos microfluidos.

Técnicas	Métodos	Descripción
inmunológica	Fluorescencia celular activada (FACS)	Evalúa la población celular, tiene un alto costo. Ciertas células etiquetadas emiten señal fluorescente en un sistema óptico de detección, el μ FACS se define en ciertos casos tales como células con características auto-fluorescentes.
	Células activadas magnéticamente (MACS)	Separa las células de interés fuera de las poblaciones. Utilizan micro/ nano partículas magnéticas conjugadas con las proteínas del anticuerpo que son específicos a la proteína de la membrana de la célula de interés, cuando la partícula magnética se enlaza a las células un alto gradiente de energía de un campo magnético cambia la trayectoria de las células pero no altera la trayectoria de células no enlazadas.
	Separación celular por afinidad	Utilizan soportes sólidos donde un anticuerpo específico es conjugado. Si la suspensión de células se filtra a través de fase sólida enlazada con anticuerpos, estas capturan las células de interés y dejan que las otras pasen. Las células pueden ser retiradas cambiando la solución buffer.
No-inmunológica	Dielectrofóresis (DEP)	Es un método para la manipulación de partículas dieléctricas. Requiere la característica de baja conductividad de las células del medio. Las partículas dieléctricas tienen dos tipos de comportamiento; DEP positivo y negativo, dependiendo de la dirección del movimiento de la partícula bajo un campo eléctrico no uniforme. En el DEP positivo las células son adsorbidas en los electrodos. El DEP negativo proporciona una fuerza repulsiva que actúa en las células, eliminando la adsorción de células en los electrodos; es más adaptable a la separación de flujo continuo.
	Separación hidrodinámica celular	La separación de células depende de las propiedades celulares, tales como tamaño, forma, densidad y viscosidad, que son determinadas por el comportamiento celular causado por la interacción entre las células y la fuerza circundante del medio o fuerza gravitacional.
	Sistema acuoso bifásico	Desarrollado para la separación de las células de una mezcla heterogénea. Cuando algunas clases de polímeros solubles en agua en concentraciones críticas se mezclan juntas, se genera un sistema bifásico acuoso, donde las células se agregan y se distribuyen entre cada fase. La separación de la célula en este sistema depende de la carga superficial.
	Separación por ultrasonido	En una onda acústica estacionaria, las partículas migran hacia planos nodales/antinodales de presión acústica, la velocidad de migración es determinada por el diámetro de las células y el factor acústico de contraste que es función de la densidad y la compresibilidad de las células y el medio.

1.3.1 Fluorescencia activada de células (FACS)

La fluorescencia activada de células (Fluorescence activated cell sorter), es un método que cuantifica la cantidad de células con diferentes características estructurales en una mezcla a través de un flujo citométrico salino presurizado por medios ópticos láser, detectores electrónicos, convertidores análogos a digitales; la separación de células en suspensión se realiza en base al tamaño y el color fluorescente emitido. El análisis de células en suspensión (5000-15000) se hace a una velocidad de cientos de células por segundo y los datos son monitoreados [22,26, 54]

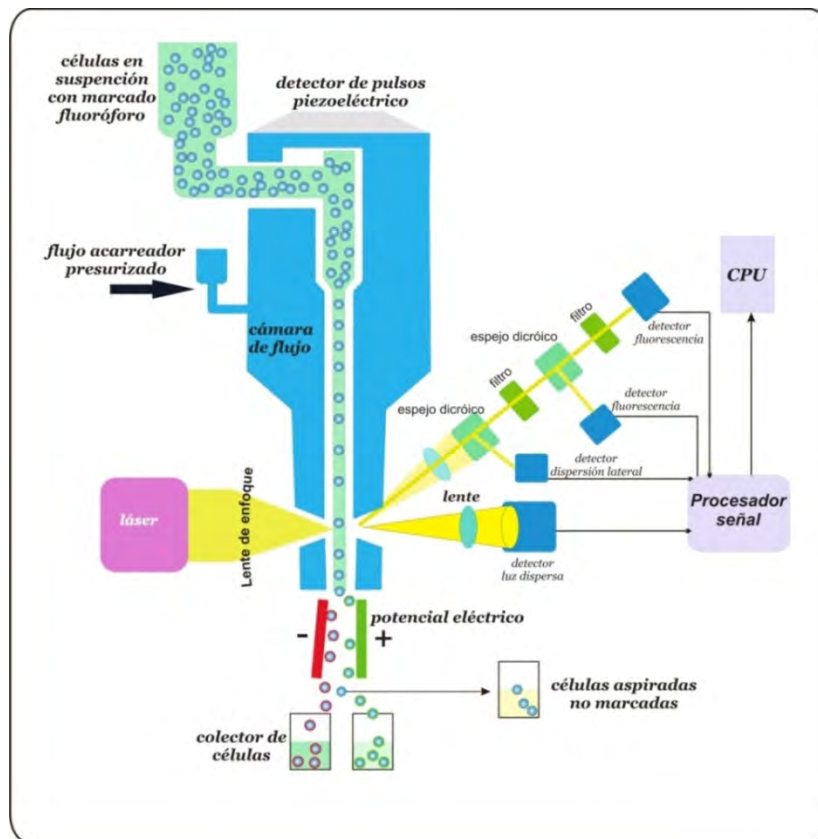


Figura 1.5: Esquema de separación FACS.

Cada célula dispersa la luz del láser incidente y emite luz fluorescente. El ángulo de dispersión de intensidad es proporcional al diámetro de la célula y su intensidad ortogonal de dispersión es proporcional a la cantidad de estructuras granulares dentro de la célula. Se excluyen del análisis células muertas, agregados de células y células deformadas de los datos de fluorescencia.

Tabla N^o 1.6: Fluorescencia activada de células (FACS)	
Ventajas	Desventajas
Marcas simultáneas y medidas ópticas múltiples sobre células individuales.	La fuente de luz puede incidir en dos células al mismo tiempo.
Alta especificidad y sensibilidad fluorescente molecular.	La colección de células marcadas tiene un límite 70 μm.
Se pueden procesar hasta 30000 células/s	Las células en suspensión deben estar monodispersas.
Las células pueden ser fijadas al mismo tiempo de medida.	Se deben cambiar los tubos.

1.3.2 Activación Magnética de Células (MACS)

La activación magnética de células (Magnetic-activated cell sorter), tiene su principio de aplicación en la naturaleza magnética de ciertas nanopartículas lo cual permite que sean manipuladas por un gradiente magnético externo lo que implica el transporte/inmovilización de partículas magnéticas en flujos $Re \sim O(1)$. Si un material magnético se pone en un campo magnético de fuerza H , los momentos atómicos individuales en el material contribuyen a la inducción magnética ^[18, 33, 107]:

$$B = \mu_0 \left(H + \frac{m}{V} \right) \quad (1.1)$$

$$B = \mu_0 (1 + \chi) H \quad (1.2)$$

Donde:

B Inducción magnética.	m Momento magnético.
μ_0 Permeabilidad del espacio libre.	V Volumen del material.
H Campo magnético.	χ Susceptibilidad magnética volumétrica.

La mayoría de los materiales exhiben poco magnetismo y lo igualan solamente en presencia de un campo aplicado, es por esto que son clasificadas:

Paramagnetismo $\chi: 10^{-6} - 10^{-1}$

Diamagnetismo $\chi: -10^{-6} - 10^{-3}$

Otros materiales exhiben estados magnéticos con o sin un campo aplicado, éstos se clasifican como ferromagnéticos y anti-ferromagnéticos.

$$F_{mag} = (m \cdot \nabla) B \quad (1.3)$$

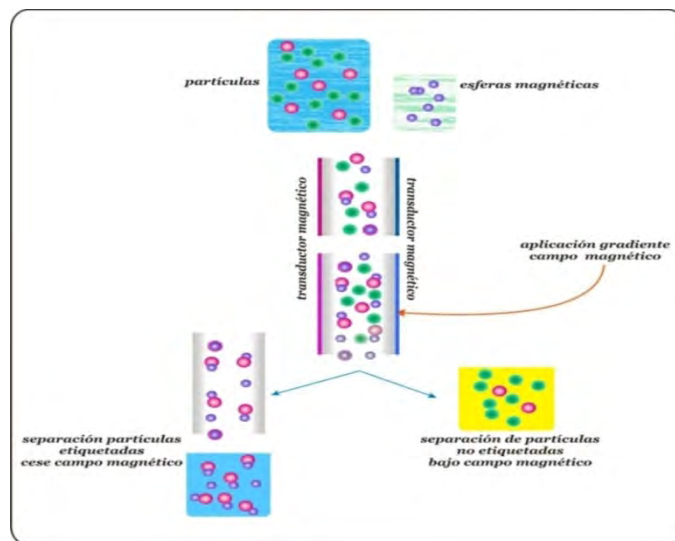


Figura 1.6: Esquema separación MACS.

La separación magnética de partículas biocompatibles es un proceso de dos etapas:

a).-Etiquetado de la entidad biológica deseada con el material magnético: El etiquetado se hace por modificación química directa de la superficie de las nanopartículas magnéticas, para la estabilidad coloidal del fluido, cubriendo con moléculas biocompatibles tales como dextran, alcohol polivinílico (PVA) y fosfolípidos. Sitios específicos en la superficie de células es dada por macromoléculas biológicas tales como hormonas o ácido fólico. Como los anticuerpos se enlazan específicamente a su antígeno esto proporciona un etiquetado exacto de las células.

Para entidades más grandes, tanto las nanopartículas magnéticas y partículas más grandes pueden ser utilizadas micro esferas en aglomeraciones clasificadas del micrón o sub-micrón magnético.

b).-Separación de las entidades etiquetadas: El material magnético etiquetado se separa del fluido pasando la mezcla por una región dentro de la cual hay un gradiente de campo magnético que puede inmovilizar el material etiquetado por la fuerza magnética:

$$F_{magnética} = V_m \Delta\chi \nabla \left(\frac{B^2}{2\mu_0} \right) \gg 6\pi\eta R_{partícula} (v_{partícula} - v_{fluido}) \quad (1.4)$$

$$v_{partícula} - v_{fluido} = \frac{R_{partícula}^2 \Delta\chi}{9\eta\mu_0} \nabla B^2 = \frac{\xi}{\mu_0} \nabla B^2 \quad (1.5)$$

Donde:

- η Viscosidad del medio.
- ξ Movilidad magnetoforética.

Este método se puede limitar a velocidades lentas de acumulación, donde se producen regiones de alto gradiente magnético para capturar las partículas magnéticas específicas del flujo portador.

Tabla N° 1.7: Activación magnética de células (MACS)	
Ventajas	Desventajas
Un arreglo cuadripolar crea un gradiente magnético radial hacia el centro del flujo.	Empleo de conductores magnéticos en el interior del microdispositivo implica obstrucciones.
El número de células recolectadas es 1×10^6 /ml.	Requerimiento de micro mezcladores pasivos para lograr advección.
La movilidad magnetoforética ξ de la partícula permite manipularla según su tamaño.	Se requieren flujos con muy bajo número de Reynolds $Re \sim O(1)$.
Variación del gradiente de campo magnético para fraccionar diferentes tipos de partículas etiquetadas, por su movilidad magnetoforética.	Dificultad de adsorción del material magnético para el etiquetado de las partículas.

1.3.3 Separación de Células Basadas en la Afinidad

La separación de células basadas en la afinidad (Affinity based cell separation), se realiza por medio de la identificación de la proteína o péptido capaz de enlazarse a una molécula en particular; es de importancia considerable en las áreas de biología y medicina ^[125, 154] en la producción de anticuerpos monoclonales.

Tabla N° 1.8: Separación de células basadas en la afinidad.	
Ventajas	Desventajas
Alta selectividad y mayor capacidad de enlace para la purificación de anticuerpos integrales.	La afinidad débil de ciertas regiones limita al antígeno inmuno genético.
La ingeniería de proteína suprime regiones no específicas y aumentan la estabilidad.	Poca estabilidad con respecto a la limpieza y sanitización para los proceso de escala.
Fácil lavado, separación y concentración sin necesidad de centrifugación.	La eficiencia de captura depende de la concentración de la proteína en el medio.
Formas inmovilizadas de ligando se utilizan para conservar vivas las bacterias en procesos de enriquecimiento.	Incremento de afinidad puede inducir a la agregación de la muestra.

1.3.4 Dielectrofóresis (DEP)

La dielectrofóresis (dielectrophoresis), es el movimiento de partículas inducido por efectos de la polarización en un campo eléctrico no uniforme generado por geometrías divergentes del electrodo, se utiliza para manipular, transportar, separar y clasificar diversos tipos de partículas ^[18, 34, 44].

El tiempo promedio de la fuerza dielectroforética que actúa en una partícula esférica, inmersa en un campo eléctrico no uniforme se puede describir por:

$$F_{DEP} = 2\pi\epsilon_{medio}R_p^3Re[K(\omega)]\nabla E^2 \quad (1.6)$$

$$(1.7)$$

$$K_{(\omega)} = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2\epsilon_m^*}$$

Donde:

- ∇E^2 Gradiente del campo eléctrico.
- ϵ_m Permisividad del medio en suspensión.
- ϵ_p^* Permisividad compleja de la partícula.
- ϵ_m^* Permisividad compleja del medio.
- R_p Radio de la partícula.
- $K_{(\omega)}$ Factor de Claussius-Mosotti.

La DEP positiva ocurre cuando la parte real del factor de Claussius-Mosotti $\text{Re}[K_{(\omega)}] > 0$ la fuerza dielectroforética está dirigida hacia un alto campo eléctrico. La DEP negativa, ocurre cuando $\text{Re}[K_{(\omega)}] < 0$ la fuerza está en la dirección de disminución de la intensidad del campo eléctrico.

Una partícula será atraída si $K^{(1)} > 0$ ($\epsilon_2 > \epsilon_1$) o rechazada $K^{(1)} < 0$ ($\epsilon_2 < \epsilon_1$) de una región de fuerte intensidad de campo eléctrico.

Se aplica a partículas del tamaño de 0.1 a 1 μm suspendidas en solución salina acuosa con una conductividad en el rango de 10^{-4} - 1 Siemens/m.

Las señales aplicadas en los electrodos pueden ser > 20 voltios que da lugar a campos eléctricos de 2×10^7 V/m. Las señales aplicadas tienen frecuencias en el rango de 10^2 a 10^9 Hz.

Tabla N° 1.9: Dielectrofóresis (DEP)	
Ventajas	Desventajas
Clara percepción de la velocidad de las partículas.	Manipulación engorrosa y subjetiva.
El momento de dipolo y el campo eléctrico son siempre paralelos, se puede obtener un esfuerzo de torsión cero.	Las pérdidas eléctricas tienen fuerte dependencia con la frecuencia y estas con la fuerza y el torque.
Una frecuencia particular puede manipular partículas con gran selectividad.	La fuerza depende del medio, características eléctricas, forma, tamaño de las partículas.
La fuerza de dielectrofóresis no depende de la polaridad del campo eléctrico.	Una alta fuerza de campo eléctrico produce una fuerza en el electrolito, fijándola en el movimiento.

1.3.5 Separación Hidrodinámica de Células

La separación hidrodinámica de células (Hydrodynamic cell separation), es dada sin fase estacionaria donde un líquido transporta las especies que se pretenden separar, se presenta un fenómeno similar de dispersión hidrodinámica, pero a éste se le suma un efecto de colisiones entre las partículas y un efecto de interacción hidrodinámica ^[23, 71].

El efecto convectivo del campo de fuerzas dirige las especies hacia una zona de acumulación, creando una no homogeneidad transversal de concentración suplementaria. Especies de tamaño diferente tienen coeficiente de difusión y velocidad de sedimentación diferente, por lo tanto, la distancia media a la pared de acumulación y la velocidad axial media van a ser diferentes.

Se tienen dos métodos de separación:

Distribución de flujo fraccionado FFF (Field Flow Fractionation), este método de separación permite la identificación de especies en un campo multi-gravitacional, térmico e hidráulico, inyectando una pequeña cantidad de soluto y observando a través de detectores ultravioleta los picos de retención.

La fuerza de sustentación hidrodinámica (lift force) es de origen inercial, que actúan sobre las partículas que se desplazan paralelas a la pared del microcanal que permite una trayectoria que las conduce a una posición de equilibrio en un punto intermedio entre el centro y la pared del microcanal. La fuerza de sustentación $F_{lift\ force}$ es función del tamaño de la célula, la distancia a la pared y de la velocidad media de flujo:

$$F_{lift\ force} = d^4 \langle v_{flujo} \rangle^2 \frac{F_{(distancia\ a\ la\ pared)}}{L_{separación\ del\ canal}^2} \quad (1.8)$$

Fraccionamiento de células en transporte lateral SPLITT (Split-flow Lateral Transport Thin Cell Fractionation), la manipulación es función de los flujos de inyección-aspiración, la suspensión de partículas es inyectada por una entrada y el líquido conductor por la otra entrada, una diferencia de los dos flujos lleva a una migración axial en la vecindad de la pared del lado de inyección. Las partículas cuya velocidad de sedimentación es mayor en el espesor de la celda, alcanzarán más

fácilmente la salida opuesta al punto de inyección. Por la salida superior, saldrá una fracción compuesta de partículas más pequeñas que el diámetro crítico. El diámetro crítico a partir del cual las células serán recolectadas a la salida es dado por:

$$d_{\text{crítico}}^2 = \frac{[Q_{\text{salida}} - Q_{\text{entrada}}]}{\Delta\rho g L_{\text{longitud del canal}} L_{\text{separación del canal}} 18\eta} \quad (1.9)$$

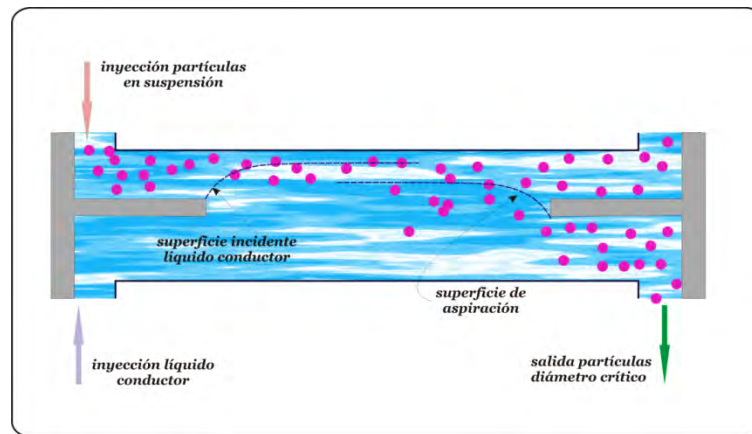


Figura 1.7: Separación hidrodinámica de células.

Tabla N° 1.10: Separación hidrodinámica de células.	
Ventajas	Desventajas
La separación puede lograrse cuando un campo de fuerza transversal al flujo es aplicado.	Si las partículas tienen un coeficiente de difusión muy grande, la separación no es posible.
No se tiene en cuenta el movimiento browniano de las partículas de separación.	La separación se realiza en flujos a bajo número de Reynolds.
La $F_{\text{lift force}}$ es para una partícula rígida y esférica en un líquido viscoso.	No se puede predecir la trayectoria en una partícula no esférica y deformable.
No utiliza membranas de filtración para efectuar la separación.	La zona de transporte por los flujos determina una membrana virtual.

1.3.6 Sistema Acuoso Bifásico (ABS)

El sistema acuoso bifásico ABS (Aqueous biphasic systems), es un sistema de extracción de partículas que son mutuamente incompatibles en una mezcla a concentraciones apropiadas o a una temperatura particular; las dos fases se componen sobre todo de agua y de componentes no volátiles, estas dos fases se decantan un tiempo previo antes de muestrear y la fase superior es retirada, saliendo una cantidad pequeña en la interface, la fase más baja entonces es muestreada a través de la interface. La separación ocurre cuando la cantidad presente del polímero excede cierta concentración limitadora, siendo el coeficiente de partición sensible a las características de superficie ^[22, 33].

$$K = \frac{\text{actividad}_{\text{fase tope}}}{\text{actividad}_{\text{adsorbida interface}}} = Cte \exp \left[kT \left(\Delta G_{el} - (\gamma_{\text{fondo}} - \gamma_{\text{tope}} - \gamma_{f-t})^2 \frac{A}{4v_{tb}} \right) \right]^{-1} \quad (1.10)$$

Donde:

- ΔG_{el} Diferencia de energía libre electrostática entre la interface y el tope.
- γ_{fondo} Energía libre de interfase de la célula en la fase fondo.
- γ_{tope} Energía libre de interfase de la célula en la fase tope.
- γ_{f-t} Energía libre de interfase de la célula entre la fase fondo y tope.
- A Área superficial de la célula.
- k Constante de Boltzmann.
- T Temperatura absoluta.

Tabla N° 1.11: Sistema acuoso bifásico.	
Ventajas	Desventajas
Estabiliza las moléculas extraídas, favoreciendo una concentración más alta en una de las capas.	El cociente entre los diversos iones influencia en el fenómeno de partición.
La separación de las fases ocurre rápidamente, evitando su degradación.	La separación de las partículas depende de la carga superficial.
La presencia de sales mejora la purificación de enzimas en ambos sistemas integrados.	Tiene un costo alto por la gran pureza del polímero a emplear.
La mejor purificación de enzimas fue alcanzada cuando los volúmenes de las fases son iguales.	Aumento del cociente del volumen de la fase a causa una disminución del coeficiente K .

1.3.7 Acustifóresis

La acustifóresis (acoustophoresis) se viene utilizando para separar partículas en suspensión de su medio o de otras partículas, así como la interceptación de partículas de un sistema biológico cuyo tamaño este comprendido entre 1 a 20 μm como es el caso de los elementos formes de la sangre, para el caso de partículas menores el método no es aplicable ^[185, 188,1903, 191]; para este método se requiere elementos piezocerámicos/piezoeléctricos que crean una onda acústica estacionaria dentro de un microcanal de polidimetilsiloxano (PDMS) ^[20].

1.4 Separación de partículas por acustifóresis.

La acustifóresis es un método de separación continua de partículas en suspensión en fracciones múltiples y no para partículas en emulsión (apartado 5.6). El método resulta ser conveniente para partículas biológicas suspendidas ^[187, 192, 193, 194, 107,190, 188, 185, 191, 189] y no-biológicas ^[12, 16, 17].

La presión acústica ejercida por la onda superficial conduce al movimiento interno del líquido y la eventual impulsión de las partículas a lo largo de una trayectoria predeterminada, actuando eléctricamente como nanobombas direccionales y programables.

Si se exponen las partículas en suspensión de un microfluído en flujo laminar, a una fluctuación de onda ultrasónica estacionaria (USW) generada entre las paredes laterales del canal usando un actuador piezocerámico (micro resonador de capas acopladas), se ejerce una fuerza axial de radiación acústica perpendicular a la dirección del flujo, que conduce a las partículas hacia planos nodales o antinodales generados por la onda acústica estacionaria, según su tamaño, densidad, compresibilidad y amplitud de presión acústica.

Si en un microcanal actúa una frecuencia de resonancia fundamental, la presión de los antinodos estará presente a lo largo de las paredes del canal y un nodo de presión a lo largo del centro en el caso de media longitud de onda. Luego las partículas de los elementos formes de la sangre suspendidas en el plasma sanguíneo humano ^[165, 167] que se incorporan al canal en flujo continuo serán afectadas por las fuerzas de radiación acústicas y se dará el movimiento hacia el nodo de presión o a los antinodos dependiendo de las densidades y compresibilidades de las partículas y

del medio respectivamente ^[72, 151], para las partículas en emulsión las glicoproteínas contenidas en el plasma sanguíneo humano no es aplicable la acustifóresis (apartado 5.6).

Sin embargo, hay dos problemas fundamentales asociados con las ondas acústicas estacionarias para separar partículas:

- La cavidad de resonancia tiene que ser microfabricada exactamente para satisfacer el criterio de resonancia (dimensiones algunos centenares de micras).
- La cavidad tiene que ser acoplada a un actuador ultrasónico de tal manera que se reduzca al mínimo la potencia en el material.

Las corrientes acústicas y las fuerzas de radiación son efectos de alta intensidad del ultrasonido aplicado, los sistemas de micro manipulación básicamente consisten en la formación de campos estacionarios de alta frecuencia (varios MHz) en el fluido y la utilización de fuerzas acústicas que actúan para producir la agregación o separación de las partículas suspendidas. Dado que el diámetro de las partículas de los elementos formes ^[164, 165, 166, 171] de la sangre humana (eritrocitos 3-7.5 μm , leucocitos 5-20 μm , neutrófilos 12-15 μm , eosinófilos 12-17 μm , basófilos 6-8 μm , linfocitos 4-10 μm , monocitos 10-30 μm), son mucho menores que la longitud de onda ^[63, 109] 480-760 μm , las fuerzas de radiación acústica actúan principalmente en una dirección y las partículas se mueven hacia los nodos o a los antinodos de la onda acústica estacionaria ^[21].

Mediante este tipo de proceso es posible:

- El mezclado de partículas.
- La manipulación de partículas.
- La concentración de un tipo de partículas.
- El filtrado de sistemas celulares de forma no-invasiva.
- Niveles energéticos muy bajos que eviten posible daño celular.

Entre las aplicaciones más importantes en partículas o células en suspensión se tiene:

- Separación de partícula
- Manipulación sin contacto de macropartículas en análisis de inmuno aglutinación.

- Transferencia molecular a las superficies para mejora de las reacciones superficiales en sensores biológicos y químicos.
- Mezcla y lavado de muestras para biosensores.
- Análisis general.
- Pre-filtración de partículas de suspensiones analíticas.
- Concentración de partículas para incrementar la sensibilidad de los biosensores.
- Captura de células en flujos de nutrientes para mejorar y controlar el crecimiento de cultivos celulares y tejidos superficiales.
- Captura y manipulación de cultivos celulares.
- Agregación de células para estudiar su interacción.

La fuerza acústica de radiación axial permite conducir esferas cuyo diámetro debe ser menor que λ/n la longitud de onda acústica estacionaria, de la que se puede derivar la expresión de la fuerza de radiación acústica de la partícula según Yosioka y Kawasima (1955) como ^[93, 110, 121, 161]:

$$F_{ac} = \frac{\pi P_0^2 V \beta_0}{2\lambda} \phi_{(\beta, \rho)} \text{sen} \left(\frac{4\pi z}{\lambda} \right) \quad (1.11)$$

$$\phi_{(\beta, \rho)} = \frac{5\rho_p - 2\rho_0}{2\rho_p + \rho_0} - \frac{\beta_p}{\beta_0} \quad (1.12)$$

Donde:

- | | |
|------------------------|----------------------------------|
| P_0 | Amplitud de presión del sonido. |
| V | Volumen de la partícula. |
| z | Distancia de un nodo de presión. |
| λ | Longitud de onda ultrasónica. |
| $\phi_{(\beta, \rho)}$ | Factor adimensional. |
| ρ_p | Densidad de la partícula. |
| ρ_0 | Densidad del medio. |
| β_p | Compresibilidad de la partícula. |
| β_0 | Compresibilidad del medio. |

La dirección de la fuerza es determinada por el signo del factor $\phi_{(\beta,\rho)}$, un valor positivo resulta en un movimiento hacia el nodo de presión; y un valor negativo hacia el correspondiente antinodo de presión.

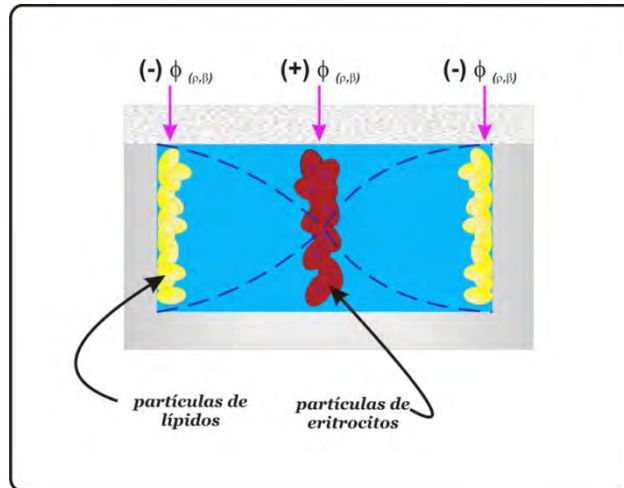


Figura 1.8: Separación de partículas por acustifóresis para $\lambda/2$.

Las fuerzas que actúan sobre las partículas en un flujo microfluídico son: fuerzas de fricción, fuerzas de gravedad, flotabilidad, fuerzas de campo externo, fuerzas de arrastre, fuerza de Basset, fuerza de Saffman, fuerza de Magnus, otras.

La fuerza total que actúa entonces en la partícula se puede expresar como ^[149, 163]:

$$\sum_i^n F_{part} = F_{fric} + F_{grav} + F_{flot} + F_{ext} + F_{arr} + F_{Basset} + F_{Saffman} + F_{Magnus} + F_{otras} \quad (1.13)$$

1.5 Flujo laminar y turbulento

Un fluido puede moverse en régimen laminar o turbulento, en el caso de los microcanales de 10 a 400 μm los valores del número de Reynolds son del orden de la unidad o menores, por lo que el flujo es siempre laminar; es por ello que en la mezcla de dos fluidos estos no se mezclan fácilmente, las características de rugosidad en las superficies de las paredes del microcanal pueden afectar considerablemente las condiciones de flujo ^[122].

1.6 Velocidad del sonido y número de Mach

La velocidad del sonido es la velocidad de propagación sonora que depende de las características del medio, en un material el cual sirve de medio de transporte. Cualquier modificación de las propiedades del material hará variar la velocidad de propagación ^[11,30].

El número de Mach está relacionado con la suposición de incompresibilidad tiene que ver con la relación de velocidad típica y la velocidad del sonido, cuya expresión aparece en la adimensionalización por la magnitud reducida:

$$M = \frac{v_0}{c_0} \quad (1.14)$$

1.6.1 Propagación del sonido

La propagación del sonido en los diferentes medios de propagación se puede resumir en la tabla siguiente:

Tabla N^o 1.12: Propagación del sonido		
Medios	Propagación	Formas
Gases y líquidos	No puede ser objeto de tensiones transversales	Ondas planas.
		Ondas esféricas.
Sólidos	Ondas longitudinales y transversales	Longitudinales
		Transversales

1.6.2 Velocidad de onda, velocidad de fase y grupo.

La propagación de una onda plana, puede expresarse por la ecuación:

$$u = u_0 e^{i(\omega t - kx)} \quad (1.15)$$

Donde:

$$\omega = 2\pi f \quad \text{Frecuencia angular.}$$

$k=2\pi/\lambda$	Número de onda.
λ	Longitud de onda.

Esta solución refleja la propagación de una onda continua de frecuencia única (propagación armónica), permite definir la velocidad de fase ^[14, 75]:

$$v_{fase} = \frac{\omega}{k} = \lambda f \quad (1.16)$$

La velocidad de fase es la propagación de un punto de la onda asumida continua y de longitud infinita. Cuando la señal de onda sale de un emisor y llega a un receptor se define el concepto de velocidad de grupo dado por:

$$v_{grupo} = \frac{\partial \omega}{\partial k} \quad (1.17)$$

La velocidad de grupo se asocia al fenómeno de modulación a partir de una portadora infinita, esta se relaciona con la velocidad con que viaja la señal emitida.

La relación entre la velocidad de fase y velocidad de grupo en ultrasonido define el concepto de dispersión:

$$v_{grupo} = v_{fase} - \lambda \frac{\partial v_{fase}}{\partial \lambda} \quad (1.18)$$

1.6.3 Mecanismos de absorción de sonido en fluidos

Cuando las ondas acústicas se propagan en un medio, su intensidad en la dirección de propagación se reduce. Los mecanismos para la amortiguación del sonido en líquidos se pueden clasificar en dos grupos ^[11, 31]:

- Amortiguación de viscosidad
- Amortiguación de relajación.

Amortiguación de viscosidad durante la propagación de las ondas de sonido en el medio, las moléculas se mueven originando fricción entre ellas.

Amortiguación de relajación incluyen los efectos térmicos de radiación, conducción, relajación térmica, relajación estructural (características físicas); las que se presentan durante el transporte de calor entre las regiones comprimidas más calientes y las regiones rarificadas más frías.

Sin importar el material a través del cual el sonido pasa, la intensidad, medida como flujo de energía en la onda por unidad de tiempo y unidad de área perpendicular a la dirección de flujo de propagación, decrece con la distancia a la fuente lo cual se denomina atenuación.

En el caso de una fuente puntual de sonido que se irradia en un medio ideal, la intensidad disminuye inversamente con el cuadrado de la distancia de la fuente, el área esférica con la cual la energía se propaga aumenta con el cuadrado de la distancia de propagación (atenuación geométrica).

El sonido puede ser reflejado/refractado sobre el medio incidente y puede ser difractado /dispersado mientras pasa alrededor de obstáculos.

1.7 Diseño de dispositivos

Todos los dispositivos electromecánicos constan de los siguientes componentes:

- Un elemento mecánico. El elemento mecánico reacciona como respuesta a una fuerza aplicada, estacionaria o que varía con el tiempo (que es la que se quiere detectar), la reacción suele ser un movimiento de dicho elemento ^[105, 108].
- Elemento sensor o captador elemental. Convierte las variaciones de una magnitud física en variaciones de una magnitud eléctrica (señal).
- Acondicionamiento de señal, realiza la función de modificar la señal entregada por el sensor para obtener una señal adecuada (amplificación, linealización, etc.).



Figura 1.9: Cantilever de un microscopio.

Las fuerzas aplicadas, son las señales que se desean medir y pueden abarcar desde cambios de presión, hasta la presencia de absorbatos químicos, pasando por variaciones de temperatura que hacen variar la elasticidad o la tensión interna causando una variación en la frecuencia de vibración.

El elemento transductor convierte la energía mecánica en energía eléctrica o en señales ópticas y viceversa, pueden ser de muy distintos tipos pero todos están basados en los mecanismos físicos relacionados con los materiales piezoeléctricos o magneto cinéticos, con el nano magnetismo y el efecto túnel, así como con la electrostática y la óptica ^[132,158].

1.7.1 Microtecnología: proceso de fabricación de un microsistema

Los procesos de fabricación de dispositivos son diversos pudiendo agruparse en los siguientes tipos de proceso ^[105, 123, 145]:

Tabla N ^o 1.13: Procesos de fabricación de dispositivos			
Procesos	Descripción		
Depósito de capas finas	Formación sucesiva de capas superficiales por etapas de deposición y grabado de capas finas superficiales.	Método bastidor centrifugo (spin casting)	Depósito de una solución en el centro de la oblea y distribuirla por inercia en forma de una capa delgada homogénea.
		Depósito de capas de material en fase gaseosa.	PVD Deposición física de vapor (Physical Vapour Deposition). Material vaporizado depositado sobre la superficie.
			CVD Deposición química de vapor (Chemical Vapour Deposition). Procesos convectivos–difusivos de transferencia de masa, en los depósitos sobre la superficie
		Crecimiento epitaxial. Crea una capa mono cristalina sobre un sustrato base.	Método vaporización física epitaxial VPE (vapour physical epitaxy), MBE haz molecular epitaxial (molecular beam epitaxy), tecnología SOI (Si sobre aislante), oxidación térmica que permite obtener capas finas o gruesas de SiO ₂ mediante la difusión de oxidante (O seco o vapor de H ₂ O) y posterior reacción a temperaturas elevadas.
		Metalización (plating).	Depósito de capas de metal, por electrolisis o por reducción química.
		Serigrafía (silk screen printing).	Impresión de capas 10 a 50 mm de espesor, tienen bajo costo.
		Pulverización de plasma (plasma spraying).	Ionización de un gas, que se mezcla con el material que se desea recubrir.
Procesado local de	Modificación de las propiedades de la superficie, por creación de semiconductores		

superficies	tipo 'p' o 'n' y se utiliza también para controlar el ataque químico sobre el Si en procesos de micro mecanizado de volumen.		
Micro mecanizado superficial (surface micromachining)	Fabricación aditiva sucesiva sobre la superficie de un sustrato, litografía patrón sobre dichas capas (ataque seco en las capas depositadas) y ataque selectivo (ataque húmedo isotrópico para liberar las capas).		
Micro mecanizado en volumen (bulk micromachining)	Fabricación subtractiva de micro estructuras por eliminación de material del sustrato base, mediante fototransmisión del patrón seguido de un ataque químico del sustrato de canales.		
Técnicas micrométricas producción tridimensional	Producción tridimensional de mayor complejidad por proceso de ablación láser o EDM Maquinado por descarga eléctrica (Electrical Discharge Machining).	Técnica enlazada de oblea "wafer bonding".	Es la unión oblea a oblea mediante enlaces hidrogenados y calentamiento a 1000 °C.
		Micro mecanizado por ablación láser.	Eliminación de material por vaporización al incidir un haz de luz láser.
		Micro mecanizado por diamante.	Obtención del sistema por corte de 1-3 mm profundidad.
		Micro perforado (microdrilling).	Rotación de precisión del micro taladro en un ciclo de perforado.
		Estereolitografía o micro fotomoldeado.	Construcción de una estructura de resina fotosensible de forma incremental.
Técnica LIGA Litografía, galvanoplastia, moldeo (Lithographie Galvanoformung Abformung)	Obtención de micro estructuras a partir de moldes creados por litografía de rayos X seguida de metalizado.		



Figura 1.10: Fotografías de diferentes zonas de trabajo de una sala blanca

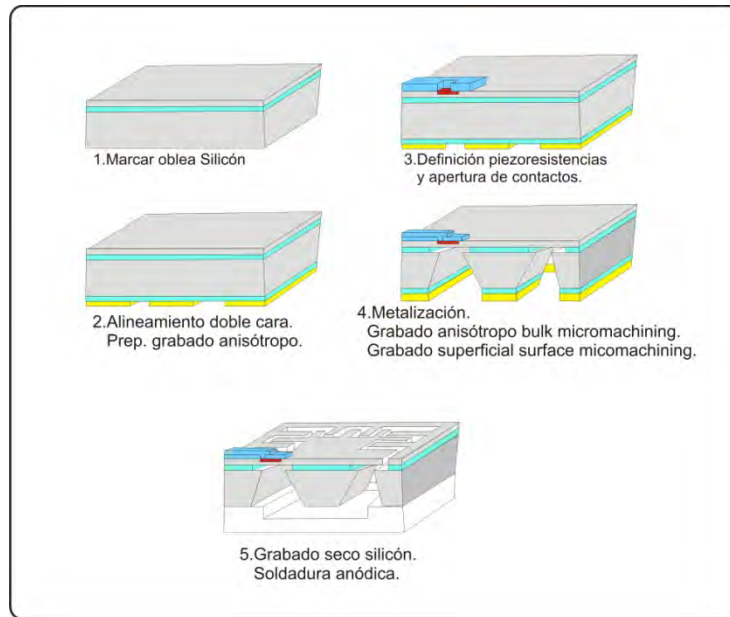


Figura 1.11. Esquema proceso de fabricación de un acelerómetro piezo resistivo.

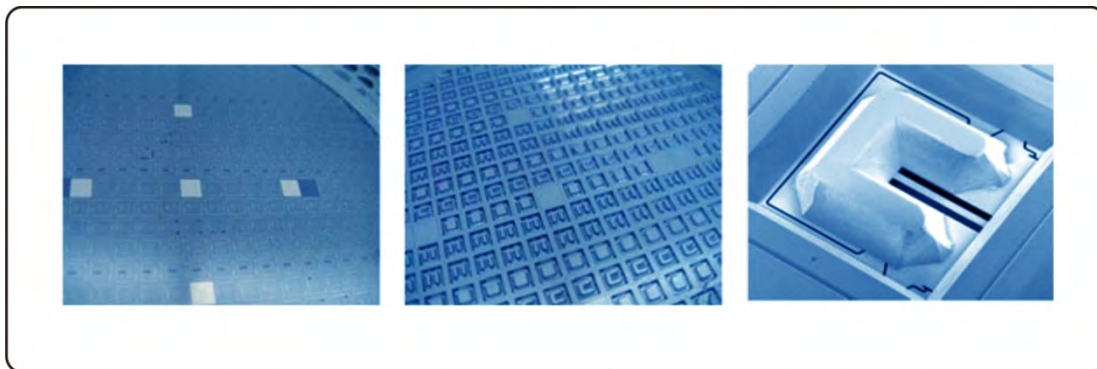


Figura 1.12: Anverso y reverso de un acelerómetro terminado. Detalle del dorso.

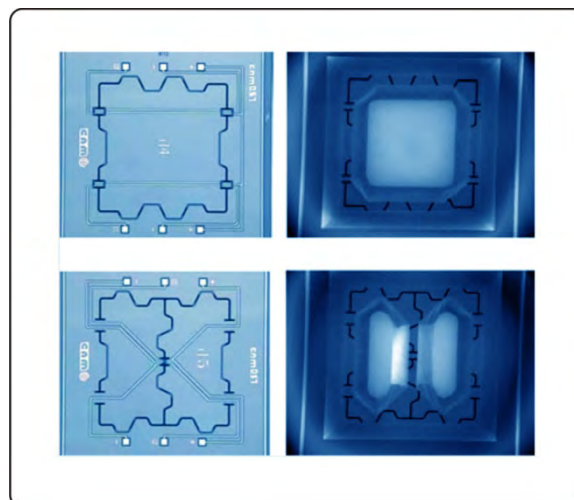
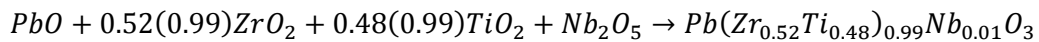


Figura 1.13: Anverso y reverso de dos acelerómetros diferentes.

1.8 Caracterización de dispositivos

El principal dispositivo en la separación acústica es el transductor piezoeléctrico que es un sistema que convierte energía eléctrica en energía mecánica a través del efecto piezoeléctrico directo, esta energía mecánica se propaga en un medio material como ondas acústicas ^[2, 116].

El cerámico piezoeléctrico de composición PZTN, es obtenido en reacción de estado sólido a una temperatura de calcinación de 850 °C durante 3.5 horas, y sinterizado a 1250 °C durante 3 horas:



Substratos piezoeléctricos: Los cerámicos piezoeléctricos presentan mayores factores de conversión electromecánica son materiales constituidos por un conglomerado de cristalitos ferroeléctricos orientados al azar, siendo acopladas las propiedades elásticas y eléctricas. Los materiales cerámicos más conocidos son los PZT constituidos por titanatos zirconatos de plomo, de bario, metaniobatos de plomo, niobatos de sodio, etc. los PZT tienen un elevado efecto piezoeléctrico y punto de Curie.

Tabla 1.14: Características principales y aplicaciones de los cerámicos piezoeléctricos		
Material	Características	Aplicaciones
PZT-4	Alto permisividad, excitación eléctrica.	Sonar y ultrasonidos de potencia.
PZT-5A	Alto acoplamiento, muy alta permisividad.	Ensayos no-destrutivo/diagnóstico.
PZT-6B	Muy alto Q mecánico, buena estabilidad.	Filtros para ondas eléctricas.
PZT-7A	Baja permisividad.	Líneas ultrasónicas de retardo.
PZT-8	Muy buenas propiedades alta excitación eléctrica.	Transductores de alta potencia.
Pb(Nb O ₃) ₂	Baja permisividad, muy bajo Q mecánico.	Ensayo no destructivo/diagnóstico.
NaK(Nb O ₃) ₂	Alta velocidad de la onda.	Líneas de retardo.

Respuesta acoustoeléctrica del modo emisión (RAE): muestra la proximidad de la frecuencia de resonancia del modo espesor con la frecuencia de resonancia eléctrica obtenida de las medidas

de admitancia. Si el sistema es lineal y recíproco la RAE se puede calcular en el dominio de frecuencias mediante la siguiente ecuación:

$$RAE_{(\omega)} = \sqrt{\frac{E_{(\omega)}}{P_{(\omega)}}} \quad (1.19)$$

Donde:

- RAE_(ω) Transformada de Fourier de la respuesta acustieléctrica.
- E_(ω) Transformada de Fourier de la señal de salida del sistema.
- P_(ω) Transformada de Fourier de la excitación.

Interacción acusti-óptica es la interacción entre ondas de luz monocromática (láser) y de ultrasonido, un colimador genera una fuente luminosa puntual a través de una lente convergente se pasa a un medio de propagación donde el transductor, permite relevar el campo acústico a distintas distancias axiales.

Transductor interdigital: La excitación y detección de ondas acústicas de superficies, placas flexurales, son hechos con el sistema de litografía patrón sobre una película depositada sobre la superficie del substrato piezoeléctrico. La excitación acústica está dada por voltajes de radiofrecuencia, la variación en el tiempo del voltaje resulta en una sincronización que varía con la deformación del substrato piezoeléctrico y la generación de ondas acústicas. La longitud de onda más efectiva excitada es igual a la periodicidad del transductor patrón ^[11].



Figura 1.14: Características del transductor interdigital.

1.9 Compresión de una onda acústica

El sonido es una onda mecánica que se propaga a través de la materia, en estado gaseoso, líquido o sólido, la propagación de la perturbación sonora se produce por la compresión y expansión del medio por el que se propagan. La elasticidad del medio permite que cada partícula transmita la perturbación a la partícula adyacente, dando origen a un movimiento en cadena, siendo fundamental el medio transmisor ^[95].

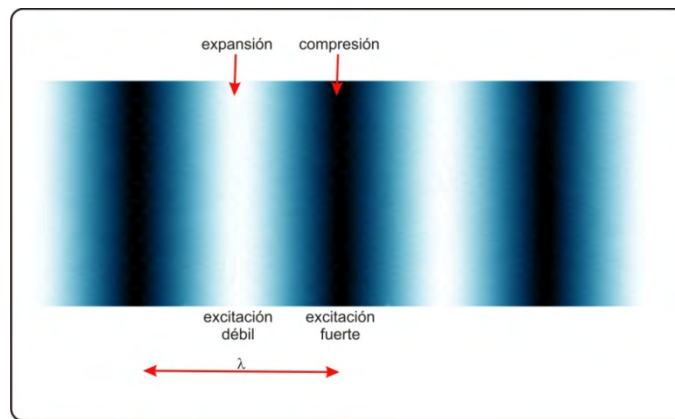


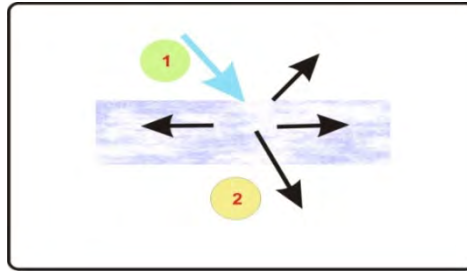
Figura 1.15: Compresión – expansión de una onda sonora.

1.10 Impedancia e intensidad acústica

La propagación unidimensional de una onda acústica que viaja a velocidad del sonido constante c , mide el tiempo promedio de movimiento hecho por las partículas. Las partículas que oscilan hacia adelante y hacia atrás en la dirección de propagación de la onda con velocidad v permite definir que para cualquier onda plana viajando en la dirección positiva/negativa x en cualquier instante la impedancia característica del fluido es ^[31]:

$$Z_i = \frac{p_i}{v_i} = \pm \rho_i c_i \quad (1.20)$$

En la figura 1.16 aparecen dos medios 1 y 2 cuyas impedancias son, respectivamente, Z_1 y Z_2 . Consideramos una onda incidente «i» que va del medio 1 al 2, al llegar al límite parte de la energía sonora se refleja mediante una onda reflejada «r», y otra parte se transmite al medio 2 mediante una onda transmitida «t».



1.16: Reflexión del sonido

Coefficiente de transmisión:

$$t = \frac{P_t}{P_i} = \frac{2Z_2}{Z_1 + Z_2} \quad (1.21)$$

Coefficiente de reflexión:

$$r = \frac{P_r}{P_i} = \frac{Z_2 - Z_1}{Z_1 + Z_2} \quad (1.22)$$

Esta última ecuación nos indica que cuanto mayor sea la diferencia entre Z_2 y Z_1 , la reflexión será mayor y por tanto existirá una elevada amortiguación del sonido. Si Z_1 es pequeño, como en el caso del aire, se elegirá para una buena amortiguación un Z_2 grande; por el contrario, si Z_1 es grande, como en el caso del agua y de los sólidos, se elegirá una materia de impedancia Z_2 pequeña.

La intensidad del sonido es la velocidad con la cual ejerce un trabajo sobre una superficie imaginaria de área unitaria en la dirección perpendicular a la superficie. La intensidad de sonido instantánea en la dirección x es obtenida por multiplicación de la presión instantánea de sonido por la velocidad instantánea de la partícula en la dirección x :

$$I_i = p_i v_i \quad (1.23)$$

Para una onda plana desplazándose en la dirección x se tiene:

$$I_i = \frac{p_i^2}{\rho_i c_i} \quad (1.24)$$

1.11 Aplicación del Ultrasonido

La aplicación del ultrasonido en medicina se resume en la tabla siguiente:

Tabla N^o 1.15: Biomedicina ultrasónica	
Métodos	Características
Ecografía general	Las frecuencias ultrasónicas consiguen alta resolución por las cortas longitudes de onda, se utilizan frecuencias en el rango de 1 a 10 MHz. Una alta resolución está por encima de los 20 MHz. La atenuación en los tejidos blandos es del orden de 1 dB/cm para una frecuencia de 1 MHz y es aproximadamente proporcional a la frecuencia.
Ultrasonografía vascular	Estudia la morfología intravascular por técnicas Doppler, se basan en el cambio en frecuencia que se produce cuando una onda es reflejada por un obstáculo en movimiento.
Elastografía	Estudio del comportamiento elástico de los tejidos para detectar anomalías en base a parámetros de propagación ultrasónica (velocidad y atenuación).
Vibro-Acustigrafía	Técnica de prospección basada en fuerzas de radiación de haces ultrasónicos intensos que inducen en el cuerpo ondas transitorias de cizalladura a audiofrecuencias.
Terapia Ultrasónica	La intensidad $> 0.1-1 \text{ W/cm}^2$ produce efectos como calor, agitación, difusión, inestabilidades en las interfases, fricción, ruptura mecánica, etc. Se utilizan niveles de intensidad que varían desde algunos W/cm^2 hasta kW/cm^2 ; como en técnicas de litotricia (presiones acústicas 15-150MPa), HIFU Ultrasonido enfocado de alta intensidad (High Intensity Focused Ultrasound), hemóstasis, hipertermia, sonoporación, etc.

1.11.1 Clasificación de los sistemas.

Los equipos de ultrasonido se clasifican de acuerdo a los siguientes parámetros ^[11]:

- Potencia
- Frecuencia
- Longitud de señal (Continuo/Pulso)

Tabla N° 1.16 : Clasificación de equipos de ultrasonido		
Parámetros	Características	
Potencia	Alta potencia cuando se cambia alguna propiedad del material orden de watts. Baja potencia utilizado para la medición o diagnóstico en orden de miliwatts.	
Frecuencia	Zona de baja frecuencia en el intervalo de 25 KHz hasta cerca del MHz. Zona media de 1 MHz a 10 MHz, donde se ubican los equipos médicos de diagnóstico. Zona alta por encima de 10 MHz.	
Longitud de señal	Continua	El transductor es excitado mediante una transición de voltaje, sigue por inercia una serie de ciclos de oscilación de acuerdo a las características físicas del sensor.
	Pulsada	Los pulsos pueden tener diferentes longitudes y pueden ser del tipo Escalón o del tipo Radio Frecuencia RF. La frecuencia de oscilación obliga al sensor a trabajar en régimen forzado.

1.12 Números adimensionales en microfluidos

Una variedad amplia de fenómenos físicos ocurre en dispositivos microfluidos. Los números adimensionales expresan la relación de fenómenos de un sistema con parámetros hidráulicos.

Tabla N° 1.17: Números adimensionales en microfluidos			
	Número	Ecuación	Descripción
Re	Reynolds	$\frac{\rho U_0 L_0}{\mu}$	Fuerzas de inercia / fuerzas viscosas.
Pe	Péclet	$\frac{U_0 L_0}{D}$	Convección / difusión.
Ca	capilar	$\frac{\mu U_0}{\gamma}$	Fuerzas viscosas / tensión superficial.
Wi	Weissenberg	$\tau_p \dot{\gamma}$	Tiempo de relajación/tiempo de velocidad cortante.
De	Deborah	$\frac{\tau_p}{\tau_{flow}}$	Tiempo de relajación/tiempo de flujo.
El	Elasticidad	$\frac{\mu \tau_p}{\rho h^2}$	Efectos elásticos/efectos inercia.
Gr	Grashof	$\frac{\rho U_b L_0}{\mu}$	Fuerza inercia/fuerza viscosa.
Ra	Rayleigh	$\frac{U_b L_0}{D}$	Flux convectivo/flux difusivo.
Kn	Knudsen	$\frac{\beta}{L_0}$	Longitud microscópica/longitud macroscópica.

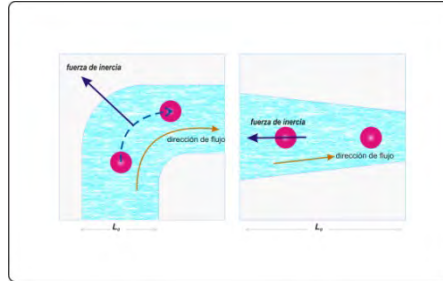
1.12.1 Número de Reynolds

El número de Reynolds es intrascendente en microdispositivos, los flujos tienen números pequeños de Reynolds lo cual hace que los efectos de inercia sean despreciables ^[99, 122, 124].

Si la velocidad de un fluido a través de un microcanal curvado es U_0 y anchura L_0 , durante el tiempo $\tau_0 \sim w/U_0$ un elemento de fluido alrededor de la esquina pierde densidad de momentum y

ejerce una densidad de fuerza de inercia centrífuga $f_{inercia} \sim \frac{\rho U_0}{t_0} = \frac{\rho U_0^2}{L_0}$.

Para el caso de un canal con contracción sobre una longitud L_0 el elemento fluido gana momentum $f_{inercia} \sim \frac{du}{dt} = \rho U_0 \frac{du}{dt} \sim \frac{\rho U_0^2}{l}$.



La densidad de fuerza viscosas resulta de los gradientes de esfuerzos viscosos y con una longitud característica de escala L_0 :

$$f_{viscosa} = \frac{\eta U_0}{L_0^2} \quad (1.25)$$

La relación de estas dos densidades de fuerza resulta:

$$\frac{f_i}{f_v} = \frac{\rho U_0 L_0}{\eta} = Re \quad (1.26)$$

El número de Reynolds para los dispositivos comunes de microfluído puede ser estimado en el rango de $O(10^{-6})$ y $O(10)$ para el agua con velocidad de $1 \mu\text{m/s}$ y radio del canal de $1-100 \mu\text{m}$.

1.12.2 El número de Péclet

En la inyección de dos fluidos se requiere que las partículas o moléculas se difundan a través del microcanal ^[122].

Tiempo de difusión:

$$\tau_{difusión} \sim \frac{L_{anchura}^2}{D}$$

Desplazamiento a lo largo del microcanal:

$$z \sim U_0 \frac{L_{anchura}^2}{D}$$

El número de Péclet expresa la relación de la convección a la difusión:

$$Pe \equiv \frac{U_0 L_{anchura}}{D} \sim \frac{z}{L_{anchura}} \quad (1.27)$$

La relación entre convección y difusión forma la base de un número de técnicas para detectar y separar elementos de flujo operando con Pe intermedio.

a. El microdispositivo “T” emplea corrientes laminares adyacentes que se juntan y el soluto de cada corriente se difunden en la otra, formando una zona de interdifusión, cuya separación cerca del tope y paredes inferiores varia con $z^{1/3}$ y con $z^{1/2}$ cerca del medio.

b. Un microdispositivo “H” puede filtrar dos corrientes de partículas con diferentes números de Pe por tamaño sin una membrana. Partículas pequeñas de soluto con bajo Pe se difunden en el canal antes de salir, mientras que las partículas grandes de alto Pe se confinan en la mitad del canal.

En ausencia de difusión ($Pe \gg 1$) las partículas suspendidas siguen líneas de flujo. En Pe moderado una partícula se difunde a través de una trayectoria en una dirección predispuesta por la simetría del conjunto.

Difusión dominante de mezclado $Pe \ll 1$

Cuando la velocidad de bombeo es extremadamente pequeña, la difusión molecular es la dominante en la dispersión $D \gg D_z$, el mezclado se alcanza en un tiempo:

$$\tau_R \sim \frac{(2\pi R)^2}{D} = \left(\frac{2\pi R}{h}\right)^2 \tau_D \quad (1.28)$$

Dispersión de Taylor $Pe \gg 1$

Si el flujo volumétrico aumenta la dispersión de Taylor es el dominante en una dispersión axial. En este caso, el tiempo de mezclado:

$$\tau_{TD} \sim \frac{(2\pi R)^2}{D_z} \sim \frac{D(2\pi R)^2}{U_0^2 h_0^2} \sim \frac{\tau_R}{Pe^2} \quad (1.29)$$

La dispersión de Taylor mediante mezclado requiere $1 \ll Pe \ll \frac{2\pi R}{h}$

Mezclado Convectivo revuelto $Pe \gg \frac{2\pi R}{h}$

Cuando el flujo es suficientemente rápido las líneas de mezclado son múltiples antes que las moléculas se difundan a través del canal. Después de un tiempo de agitación τ_s , el fluido en el centro hace $N = \frac{U_0 \tau_s}{2\pi R}$ revoluciones completas. Una raya vertical es estirada por el flujo en una

parábola, plegado N tiempos y la distancia adyacente entre las rayas disminuyen como $h_{efec} \sim \frac{h}{2N}$.

Para que un completo mezclado ocurra, las moléculas se difunden solamente a través de $\tau_h \sim \frac{h_{efec}^2}{D}$.

Cuando las escala de tiempo coinciden:

$$N_{conv} \sim \left(\frac{h}{\pi R}\right)^{1/3} Pe^{1/3} \quad (1.30)$$

$$\tau_s \sim \tau_h = \tau_{conv} \sim Pe^{-2/3} \left(\frac{\pi R}{3}\right)^{2/3} \sim \tau_D Pe^{-2/3} \left(\frac{h}{\pi R}\right)^{4/3} \tau_R \quad (1.31)$$

1.12.3. El número capilar

En los fluidos inmiscibles, la tensión superficial y afecta la dinámica de las superficies libres inmiscibles de los flujos.

1. Formación de gotas en flujos bifásicos: Dos corrientes de fluidos inmiscibles pueden fluir uno a través del otro, la tensión superficial actúa para reducir el área de interfase y los esfuerzos viscosos actúan para extender y arrastrar la interfaz, la desestabilización de la interfaz causa la formación de gotas de radio R [25, 73].

esfuerzos capilares = esfuerzos viscosos $|_{interfaz}$

$$\frac{\gamma}{R} \approx \frac{\eta U_0}{h} \quad (1.32)$$

$$\frac{h}{R} \approx \frac{\eta U_0}{\gamma} \equiv Ca \quad (1.33)$$

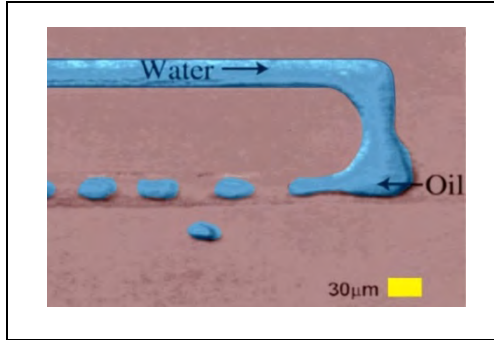


Figura 1.17: Generación de micro gotas monodispersas en un dispositivo microfluído.

2. Control del fluido usando superficies patrones: Las tensiones superficiales pueden ejercer deformaciones superficiales libres y/o movimiento de líquido dentro de microcanales, en donde la energía de interfase sólido-líquido γ_{sl} es más baja que la interfase sólido-gas γ_{sg} . La dinámica de tensión superficial conduce a la intrusión de fluido en un tubo de radio w si sigue un balance de equilibrio de las fuerzas capilar y viscosa^[147].

La curva del menisco en el interfaz fluido-gas da lugar a la presión de Laplace $\Delta p \sim \Delta\gamma/w$, donde $\Delta\gamma = \gamma_{sl} - \gamma_{sg}$ representa la energía neta por área ganada o perdida por el avance de la interfase del fluido. Esta presión conduce la columna del fluido de longitud z en el canal un flujo de Poiseuille con escala de velocidad:

$$u \sim \frac{\Delta p w^2}{\eta z} \sim \frac{\Delta\gamma w}{\eta z} \quad (1.34)$$

Según lo esperado, el número capilar determina la dinámica $Ca \sim w/z$. Porque la longitud z de la columna cambia cuando se mueve ($u = \dot{z}$), el fluido invade retardando el flujo, según la ecuación de Washburn:

$$z \sim \left(\frac{\Delta\gamma w t}{\eta} \right)^2 \quad (1.35)$$

3. Manipulación del fluido con las fuerzas capilares, la figura 1.18 representa una gotita larga de longitud L en un canal de radio w con una superficie no homogénea: hidrofóbica γ_{sl}^L para $z < 0$ e hidrofílica $\gamma_{sl}^R > \gamma_{sl}^L$ para $z > 0$. Energéticamente la gotita desea moverse sobre la superficie hidrofílica con velocidad U que decrece con la energía almacenada a una velocidad $\sim \Delta\gamma w U = (\gamma_{sl}^L - \gamma_{sl}^R) w U$. La pérdida de energía por disipación viscosa, consume $\eta \int (\partial u / \partial z)^2 dV \sim \eta U^2 L$ cuando la disipación por esfuerzo viscoso es dominante, si se asume un balance entre la energía capilar y la disipación viscosa:

$$\eta U^2 L = w U \Delta\gamma \quad (1.36)$$

$$Ca \equiv \frac{\eta U}{\Delta\gamma} = \frac{w}{L} \quad (1.37)$$

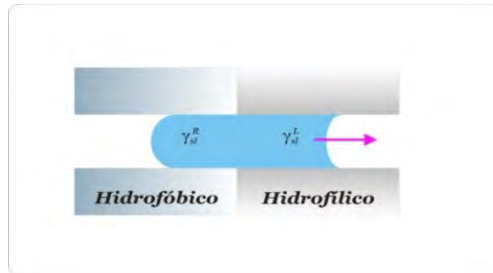


Figura 1.18: Manipulación de la energía superficial Sólido-líquido

1.12.4 Los números de Weissenberg y Deborah

Los polímeros disueltos agregan un componente elástico al fluido y determinan el comportamiento y los efectos del flujo de polímeros. En dispositivos microfluidos se pueden obtener velocidades de esfuerzo de estiramiento controlable para torcer las moléculas del polímero y sondear sus propiedades elásticas.

El más simple modelo del sistema trata un polímero como una barra con dos discos cada uno de resistencia hidrodinámica ξ conectado por un resorte entrópico Hookean de contracción k_H . La

constante del resorte k_H se puede obtener para una cadena articulada con N pasos de progresión de longitud b como $k_H = 3k_B T / Nb^2$. Si se confina un polímero a lo largo del centro de contracción del microcanal, debido a la contracción su flujo extensional aumenta conforme se mueve en el canal, como $u_z = u_0 + \dot{\epsilon}z$. La separación de discos R_p origina tres efectos físicos:

El movimiento browniano conduce los discos con velocidad promedio $R_p \dot{R}_p \sim D \sim \frac{k_B T}{\xi}$

El resorte tira de los discos junto con velocidad $\dot{R}_p \sim \frac{-k_H R_p}{\xi}$

El flujo extensional de advección de los discos es mayor con velocidad $\dot{R}_p \sim \dot{\epsilon} R_p$

Cada efecto tiene su propia escala de tiempo característico:

$\tau_D = \frac{R_0^2}{D}$ Para que los discos difusores rastreen una longitud de escala R_0 .

$\tau_p = \frac{\xi}{k_H}$ Para que el resorte del polímero se relaje.

$\tau_e = \dot{\epsilon}^{-1}$ Escala de tiempo asociado al flujo extensional.

Los esfuerzos de la solución se asumen ser dominados por el solvente viscoso, constituyendo un supuesto fluido de Boger. Deformaciones del polímero se asumen ser pequeño puesto que tenemos un caso de elasticidad no lineal para deformaciones grandes.

El número de Weissenberg.

En el equilibrio $\dot{\epsilon} = 0$ la fuerza del resorte se balancean con las fuerzas brownianas para dar un tamaño característico del polímero $R_0 \sim \left(\frac{k_B T}{k_H}\right)^{0.5} \sim (Nb^2)^{0.5}$. Por el contrario, el flujo extensional actúa para conducir los beads y altera el tamaño constante del polímero vía:

$$R_p(\dot{\epsilon}) \sim \left(\frac{k_B T}{k_H - \dot{\epsilon}\xi}\right)^{0.5} \sim \frac{R_0}{(1 - Wi)^{0.5}} \quad (1.38)$$

Aquí el número de Weissenberg es:

$$Wi = \tau_p \dot{\epsilon} = \tau_p \dot{\gamma} \quad (1.39)$$

El cuál relaciona el tiempo de relajación del polímero con el tiempo de deformación del flujo, cuando Wi es pequeño, el polímero se alivia antes de que el flujo se deforme perceptiblemente y las perturbaciones al equilibrio son pequeñas. Cuando Wi se acerca a 1, el polímero no tiene tiempo para relajarse y está deformado perceptiblemente.

El número de Deborah

Otra escala de tiempo relevante τ_{flujo} característico de la geometría del flujo puede existir, por ejemplo, un canal se contrae sobre una longitud L_0 introduce una escala de tiempo geométrico $\tau_{flujo} = \frac{L_0}{U_0}$ requerido por un polímero para atravesarlo. Asimismo, un flujo oscilatorio introduce un tiempo de oscilación $\tau_{flujo} \sim \omega^{-1}$. La escala de tiempo de flujo puede ser grande o pequeño comparado con el tiempo de relajación del polímero τ_p , dando por resultado una relación adimensional conocido como el número de Deborah:

$$De = \frac{\tau_p}{\tau_{flujo}} \quad (1.40)$$

El uso de Wi es exclusivamente para describir el esfuerzo de un flujo constante, escala de tiempo de flujo local debido a una velocidad de esfuerzo local y el uso de De para el caso general, para escala de tiempo global del flujo debido al tiempo de residencia en el flujo.

1.12.5 El número de la elasticidad

Cuando la velocidad de flujo U_0 aumenta, los efectos elásticos son más fuertes y los números De y Wi se incrementan. Sin embargo, el número de Reynolds Re aumenta de la misma forma, de modo que los efectos de inercia se convierten más importantes. El número de elasticidad:

$$El = \frac{De}{Re} = \frac{\tau_p \eta}{\rho h^2} \quad (1.41)$$

Donde h es la dimensión más corta fijada velocidad de esfuerzo, expresa la importancia relativa de elasticidad a los efectos de inercia ^[98].

El número de elasticidad depende de la geometría y las características materiales del fluido, y son independientes de la velocidad del flujo. Las dimensiones pequeñas de h en dispositivos microfluidos permiten altos El de flujo sean establecidos más fácilmente; flujos elásticos en experimentos macroscópicos requerirían considerablemente de más solventes viscosos.

Transición de estiramiento. Como los esfuerzos aumentan y Wi se convierte en $\mathcal{O}(1)$, fuerzas del fluido superan su restauración de resorte entrópico, haciendo el polímero pase a un estado estirado. Varias simulaciones del flujo emplean el modelo finito extensible, no linear elástico.

Diferencias normales de los esfuerzos. Los polímeros introducen un componente anisotrópico a los esfuerzos normales: un polímero extendido ejerce una tensión a lo largo de su eje de extensión, también estos esfuerzos sobre la superficie perpendicular a la extensión es más bajo que en las superficies paralelas. Existen tres diversos esfuerzos normales: en la dirección del flujo, en la dirección del gradiente y en la dirección de vorticidad, dando dos diferencias normales de los esfuerzos.

Modificaciones del flujo. Despreciando el movimiento browniano, cada disco es convectivo con el flujo y conducido por restauración de la fuerza del resorte. La advección implica moverse con el medio local del fluido, y no ejerce así ninguna fuerza sobre el fluido. Por el contrario, el resorte debe ejercer una fuerza sobre los discos a través de su medio.

Memoria del flujo. Polímeros suspendidos sujetos a tensión, ejercen un esfuerzo elástico sobre el fluido. El tiempo de relajación finito del polímero da 'memoria de flujo' al fluido.

Inestabilidad elástica. Los fluidos no Newtonianos exhiben un orden de inestabilidades de flujo, que son de naturaleza puramente elásticos en un De o We crítico, así como $Re \rightarrow 0$.

Los flujos newtonianos de bajo Re varían linealmente con la presión; por el contrario, soluciones diluidas de polímero se comportan linealmente solamente para aplicación de pequeñas presiones, para las cuales $Wi \ll 1$ y los polímeros se deforman solamente levemente.

Deformación controlada del polímero para las separaciones. Polímeros con tamaño R_0 pequeño concierne al tamaño de la abertura del gel b_g no deforma perceptiblemente y el flujo fluye

libremente sin separación, mientras que colisiones y un enredo entre el polímero y el gel dependen fuertemente de la longitud del polímero cuando $R_0 \sim b_g$, causando fuerte separación. Sin embargo, cuando $R_0 \gg b_g$, el polímero debe reptar en un estado altamente extendido al moverse y su movilidad es insensible a la longitud.

1.12.6 Los números de Grashof y de Rayleigh.

Las diferencias de densidad tienen efectos en el comportamiento del fluido y la gravedad puede desempeñar un papel importante. El fluido en una mitad del canal contiene moléculas densas del soluto en una concentración c , mientras que la otra mitad está clara, si la densidad varía linealmente con la concentración del soluto:

$$\Delta\rho = \rho_0 k_{\text{t\u00e9rmico}} \Delta C \quad (1.42)$$

Donde ρ_0 densidad del l\u00edquido claro, el sistema es claramente inestable, como las fuerzas boyantes conducen al fluido denso al menos denso y viceversa.

Para obtener una estimaci\u00f3n del escalamiento, el balance de fuerzas viscosas y boyantes en estado cuasi estacionario resulta:

$$\eta \frac{U_{\text{boyante}}}{h^2} = \alpha_c \rho_0 \Delta c g \quad (1.43)$$

$$U_{\text{boyante}} = \frac{\alpha_c \rho_0 \Delta c g h^2}{\eta} \quad (1.44)$$

Relacionando el flux convectivo con respecto al flux de difusi\u00f3n permite determinar la fuerza dominante sobre el transporte del soluto:

$$\frac{\alpha_c \rho_0 \Delta c g h^2 / \eta}{\mathfrak{D}} \equiv Ra \quad (1.45)$$

Para que esto ocurra, las fuerzas de inercia deben ser significativas relativas a las fuerzas viscosas, que requiere que el n\u00famero de Grashof:

$$\frac{\text{fuerza de inercia}}{\text{fuerza viscosa}} \sim \frac{\rho_0 U_b h}{\eta} \sim \frac{\Delta c \alpha_c \rho_0^2 g h^3}{\eta^2} \equiv Gr \quad (1.46)$$

Gradientes en la conductividad de la solución de pares de campos eléctricos conducen a un flujo fluido alternante debido a estos gradientes. Físicamente la conductividad de una solución depende de la concentración local de iones cargados que se desarrollan vía difusión, advección o debido a las fuerzas eléctricas.

La velocidad electro-hidrodinámica del fluido (EHD) depende de la distribución de cargas, conductividades y campos. Se puede asumir que la difusión retarde los flujos de modo que el sistema se desarrolle suavemente. También la convección puede ser más fuerte que la difusión.

La derivación de los números de Grashof y de Rayleigh se da por la velocidad EHD obtenida bajo asunción que las cargas se separan hasta los campos que se fijan en el campo aplicado E_0 , dando una escala de densidad de carga $\rho_e \sim \frac{\epsilon_w E_0}{L_0}$.

La fuerza eléctrica sobre el fluido $f_E = \rho_e E_0 \sim \frac{\epsilon_w E_0^2}{L_0}$ es balanceada por la fuerza viscosa $f_v \sim \frac{\eta U}{L_0^2}$ dando una escala de velocidad EHD:

$$U_{EHD} \sim \frac{\epsilon_w E_0^2 L_0}{\eta} \quad (1.47)$$

Una relación de escala de velocidad, permite obtener el número eléctrico de Rayleigh:

$$Ra_{elect} = \frac{U_{EHD} L_0}{\mathcal{D}} = \frac{\epsilon_w E_0^2 L_0^2}{\eta \mathcal{D}} \quad (1.48)$$

Y el número eléctrico de Grashof es:

$$Gr_{elect} = \frac{U_{EHD} L_0}{\nu} = \frac{\epsilon_w E_0^2 L_0^2}{\eta \nu} \quad (1.49)$$

1.12.7. El número de Knudsen

Usando la teoría cinética de gases, se puede calcular la trayectoria libre entre las colisiones:

$$\lambda_f = \frac{1}{nR^2} \quad (1.50)$$

Donde n es la densidad del número de moléculas con radio R .

El número de Knudsen expresa la relación de la longitud de la trayectoria libre a la longitud de escala macroscópica:

$$Kn = \frac{\lambda_f}{L_0} \quad (1.51)$$

Las moléculas más cercanas que λ_f de una pared sólida, pueden chocar con la pared que con otras moléculas. Esto implica que el fluido se comporte como una serie continua hasta una distancia λ_f desde la pared, e influencia en las condiciones límite del fluido.

Según el número de Knudsen los regímenes del flujo se pueden dividir en: continua (ecuación de Navier-Stokes y Euler), deslizamiento, transición y régimen del flujo libre molecular (ecuación de Boltzmann).

Tres distintos regímenes de Kn se han medido en flujo presión:

$Kn \ll 1$ donde el gas se comporta sin desplazamiento en el fluido;

$Kn \sim 1$ el gas se comporta como serie continua pero se desliza en los límites;

$Kn \gg 1$ donde la aproximación de la serie continua se realiza totalmente.

Varios experimentos indican que el agua y otros líquidos se comportan como fluidos de serie continua hasta capas moleculares del orden 10.

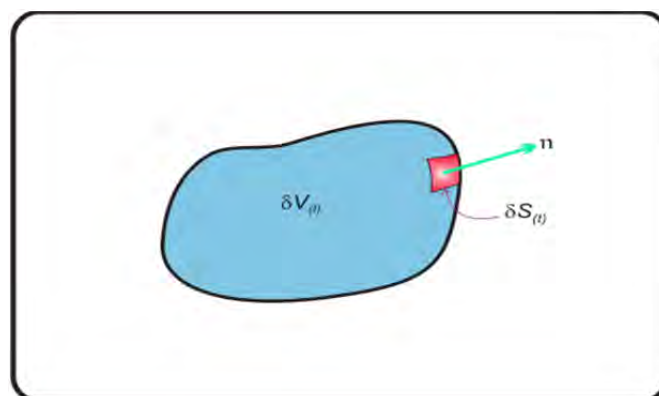
CAPITULO II

ECUACIONES EN ACÚSTICA

La descripción del movimiento de un fluido está relacionada con la respuesta de un elemento diferencial del fluido con respecto a las influencias externas. Se desarrollan las ecuaciones que describen la distribución del sonido a partir del método de aproximación por variable de perturbación de primer y segundo orden, siendo los resultados correspondientes al primer orden que nos determina la ecuación de Helmholtz y las de segundo orden que conducen a la descripción de corriente acústica (streaming wave).

2.1 La ecuación de continuidad

La materia a través de una onda acústica es caracterizada por la densidad ρ la cual representa la masa local espacial promedio por unidad de volumen.



Considerando un elemento de fluido cuya área superficial δS encierra un volumen δV del fluido se tiene que la velocidad neta de cambio de masa que fluye a través de la superficie en cualquier instante como ^[19, 120]:

$$\frac{d}{dt} \int \rho dV = - \int \rho u \cdot n dS \quad (2.1)$$

Ecuación que representa la conservación de masa cuya integral debe ser igual a la velocidad con la cual el volumen integral de la ρ decrece con el tiempo.

La transformación de la integral de superficie permite obtener:

$$\frac{d}{dt} \int \rho dV = - \int \nabla \cdot (\rho u) dV \quad (2.2)$$

$$\int \left[\frac{d\rho}{dt} + \nabla \cdot (\rho u) \right] dV = 0$$

Relación que es válida para el cambio del volumen dentro de todo el espacio prefijado dentro del fluido. Luego se tiene que la ecuación de continuidad resulta:

$$\frac{d\rho}{dt} + \nabla \cdot (\rho u) = 0 \quad (2.3)$$

Teniendo en cuenta que el volumen material del fluido ν cambia como resultado del movimiento de cada elemento de superficie δS con velocidad u , entonces en cada instante se tiene:

$$\frac{d\nu}{dt} = \int u \cdot n dS = \int \nabla \cdot u d\nu \quad (2.4)$$

Se puede luego expresar una velocidad de expansión $\nabla \cdot u$ como:

$$\frac{d\nu}{dt} = \nabla \cdot u \delta\nu + \mathcal{O}_{(\nu)} \quad (2.5)$$

Por otro lado el desplazamiento del elemento de área en una distancia δl permite aproximar el volumen material del fluido como:

$$\delta v \approx \delta S \cdot \delta l + \mathcal{O}_{(\delta v)} \quad (2.6)$$

El desplazamiento del elemento de área se puede aproximar a la diferencia de velocidades en los extremos:

$$\frac{d\delta l}{dt} = \delta l \cdot \nabla u + \mathcal{O}_{(\delta l)} \quad (2.7)$$

Remplazando en la ecuación anterior:

$$\delta l \left[\frac{d\delta S}{dt} + \delta S \cdot \nabla u - \delta S \nabla \cdot u \right] = \mathcal{O}_{(\delta v)} \nabla \cdot u + \mathcal{O}_{(\delta v)} - \delta S \mathcal{O}_{(l)} \sim \mathcal{O}_{(\delta v)} \quad (2.8)$$

$$\frac{d\delta S}{dt} + \delta S \cdot \nabla u - \delta S \nabla \cdot u = \mathcal{O}_{(\delta S)} \quad (2.9)$$

Relacionando esta ecuación con la ecuación de continuidad es posible obtener la velocidad de cambio del elemento superficial del material evaluando la densidad en cada posición del elemento diferencial en movimiento como:

$$\frac{d(\rho \delta S)}{dt} + \nabla \cdot (\rho \delta S u) = 0 \quad (2.10)$$

2.2 La ecuación de momentum

Sobre una porción de fluido actúan tanto las fuerzas de superficie como de volumen; la generalización de la segunda ley de Newton se puede aplicar sobre un elemento de volumen del fluido con densidad ρ y las densidades de fuerza f_j siguiendo el flujo de partículas ^[128]:

$$\rho \frac{d}{dt} v_{(r,t)} = \sum_j f_j \quad (2.11)$$

$$\rho \frac{1}{dt} \left[dt \frac{\partial v_{(r,t)}}{\partial t} + dr \cdot \frac{\partial v_{(r,t)}}{\partial r} \right] = \sum_j f_j \quad (2.12)$$

$$\rho \left(\frac{\partial v_{(r,t)}}{\partial t} + \left(\frac{dr}{dt} \cdot \nabla \right) v_{(r,t)} \right) = \sum_j f_j$$

$$\rho \left(\frac{\partial v_{(r,t)}}{\partial t} + (v_{(r,t)} \cdot \nabla) v_{(r,t)} \right) = \sum_j f_j$$

$$\rho \frac{Dv_{(r,t)}}{Dt} = \sum_j f_j \quad (2.13)$$

También se puede considerar que el cambio de velocidad es función del vector posición y del tiempo en un elemento diferencial de volumen material del fluido δv :

$$\frac{d}{dt} \int v_{(r,t)} d\mathcal{V} = \frac{d}{dt} \left[\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \sum_n v_{n(r,t)} \delta v_n \right] \quad (2.14)$$

Como se puede aproximar el elemento diferencial de volumen material del fluido entre dos puntos de desplazamiento en un intervalo de tiempo dado como:

$$\frac{d\delta v}{dt} \approx \delta v \cdot \nabla u + \mathcal{O}_{(|\delta v|)} \quad (2.15)$$

Entonces se tendría en la ecuación (2.14):

$$\frac{d}{dt} \int v_{(r,t)} d\mathcal{V} = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \sum_n \left[\frac{Dv_{n(r,t)}}{Dt} \delta v_n + v_{n(r,t)} \delta v \cdot \nabla v_{n(r,t)} \right] \quad (2.16)$$

$$\frac{d}{dt} \int v_{(r,t)} d\mathcal{V} = \int \frac{Dv_{(r,t)}}{Dt} d\mathcal{V} + \int v_{(r,t)} d\mathcal{V} \cdot \nabla v_{(r,t)} \quad (2.17)$$

La ecuación (2.17) representa la contribución de una porción de volumen del fluido moviéndose con velocidad $v_{(r,t)}$ dentro del elemento de integración δv . Luego se puede describir esta ecuación para el flujo másico por unidad de superficie $\rho v_{(r,t)}$ como:

$$\frac{d}{dt} \int \rho v_{(r,t)} d\mathbf{v} = \int \frac{D\rho v_{(r,t)}}{Dt} d\mathbf{v} + \int \rho v_{(r,t)} d\mathbf{v} \cdot \nabla v_{(r,t)} \quad (2.18)$$

La ecuación de continuidad en su forma de derivada substancial está dado por:

$$\frac{D\rho}{Dt} + \rho \nabla \cdot v_{(r,t)} = 0 \quad (2.19)$$

Luego insertando la ecuación (2.19) en (2.18) se obtiene la velocidad de cambio de momentum, que resulta similar al lado izquierdo de la ecuación (2.13):

$$\frac{d}{dt} \int \rho v_{(r,t)} d\mathbf{v} = \int \rho \frac{Dv_{(r,t)}}{Dt} d\mathbf{v} \quad (2.20)$$

Las densidades de fuerza se extienden sobre el volumen por unidad de masa del fluido y la fuerza ejercida a través del elemento de superficie por el esfuerzo tensorial respectivamente como:

$$\int \rho f_{volumen} d\mathbf{v} + \int \sigma_{ij} n_j dS \quad (2.21)$$

Sobre una porción del elemento de volumen actúan tanto las fuerzas de volumen junto con las fuerzas de superficie, luego la velocidad total de cambio de momentum estará dado por:

$$\int \rho \frac{Dv_{(r,t)}}{Dt} d\mathbf{v} = \int \rho f_{volumen} d\mathbf{v} + \int \nabla \sigma_{ij} d\mathbf{v} \quad (2.22)$$

De donde se deduce la ecuación (2.13):

$$\rho \frac{Dv_{(r,t)}}{Dt} = \rho f_{volumen} + \nabla \sigma_{ij} = \sum_j f_j \quad (2.23)$$

Entonces teniendo en cuenta tan solo la contribución viscosa y de presión la ecuación (2.23) se reduce:

$$\rho \frac{Dv_{(r,t)}}{Dt} = -\nabla p + (\eta + \beta) \nabla^2 v_{(r,t)} \quad (2.24)$$

2.3 Termodinámica del sonido

La teoría termodinámica de un estado cuasi estático es descrita por la densidad ρ y la energía interna específica u que determinan un estado específico. Luego de la segunda ley se tiene:

$$TdS = du + pdV \quad (2.25)$$

De la ecuación de conservación de masa la ecuación (2.25) se rescribe como:

$$TdS = du - p \frac{V}{\rho} d\rho \quad (2.26)$$

Expresando el volumen específico en términos de la densidad:

$$TdS = du - \frac{p}{\rho^2} d\rho \quad (2.27)$$

La formulación acústica asume que el proceso de propagación del sonido es un estado cuasi estático; entonces para un elemento de fluido en movimiento se tiene que la ecuación (2.27) se da como:

$$T \frac{DS}{Dt} = \frac{Du}{Dt} - \frac{p}{\rho^2} \frac{D\rho}{Dt} \quad (2.28)$$

De la ecuación de momentum y de conservación de energía es fácil demostrar que la entropía por unidad de masa de cualquier partícula permanezca constante.

Como se puede expresar la presión como una función de la densidad ρ y la entropía \mathbb{S} la derivada del tiempo resulta:

$$p = p(\rho, \mathbb{S}) \quad (2.29)$$

$$\frac{Dp}{Dt} = \left(\frac{\partial p}{\partial \mathbb{S}}\right)_\rho \frac{D\mathbb{S}}{Dt} + \left(\frac{\partial p}{\partial \rho}\right)_\mathbb{S} \frac{D\rho}{Dt} \quad (2.30)$$

Lo que en un proceso isentrópico se reduce:

$$\frac{Dp}{Dt} = \left(\frac{\partial p}{\partial \rho}\right)_\mathbb{S} \frac{D\rho}{Dt} \quad (2.31)$$

$$\frac{Dp}{Dt} = c_0^2 \frac{D\rho}{Dt} \quad (2.32)$$

Donde el incremento de la entropía total en un proceso irreversible requiere que la derivada parcial $\left(\frac{\partial p}{\partial \rho}\right)_\mathbb{S}$ sea positiva; y la constante c_0 es relacionada como la velocidad del sonido.

2.4 Aproximación por el método de perturbación

Las variables dinámicas pueden ser extendidas por el método de perturbación con varianza en el tiempo por medio de fluctuaciones en torno a un estado de equilibrio del medio en movimiento, en donde las características de escala de tiempo de propagación deben ser menores al del estado de equilibrio ^[19, 128].

Entonces es posible escribir la variación de cada variable como la contribución del estado de equilibrio más las contribuciones viscosa y no viscosa como:

$$p = p_0 + p_{1,no\ vis} + p_{1,vis} + p_{2,no\ vis} + p_{2,vis} \dots \quad (2.33)$$

$$v = v_0 + v_{1,no\ vis} + v_{1,vis} + v_{2,no\ vis} + v_{2,vis} \dots \quad (2.34)$$

$$\rho = \rho_0 + \rho_{1,no\ vis} + \rho_{1,vis} + \rho_{2,no\ vis} + \rho_{2,vis} \dots \quad (2.35)$$

$$p = p(\rho) \quad (2.36)$$

Utilizando la fórmula de aproximación de Taylor para un polinomio en torno de un punto:

$$F_{n(x)} = f(a) + \frac{f'(a)}{1!}(x-a) + \frac{f''(a)}{2!}(x-a)^2 + \dots + \frac{f^n(a)}{n!}(x-a)^n \quad (2.37)$$

Extendiendo la presión como función de la densidad, en la ecuación (2.33) se tiene:

$$p_{(\rho_0+\rho_1+\rho_2)} = p_0 + \left(\frac{\partial p}{\partial \rho}\right)_s \left[\begin{array}{c} \rho_{1,no\ vis} + \rho_{1,vis} \\ + \\ \rho_{2,no\ vis} + \rho_{2,vis} \end{array} \right] + \frac{1}{2!} \left(\frac{\partial^2 p}{\partial \rho^2}\right)_s \left[\begin{array}{c} \rho_{1,no\ vis} + \rho_{1,vis} \\ + \\ \rho_{2,no\ vis} + \rho_{2,vis} \end{array} \right]^2 + \dots \quad (2.38)$$

De donde se puede considerar que la derivada de presión en condiciones isentrópicas es igual a una constante definida como la velocidad de sonido:

$$\left(\frac{\partial p}{\partial \rho}\right)_s \equiv c_0^2 \quad (2.39)$$

2.4.1 Ecuaciones de Orden cero

Luego en la ecuación (2.24) se puede reducir en términos de orden cero para la ecuación de continuidad, momentum y ecuación de estado insertando las ecuaciones (2.33), (2.34), (2.35) como:

$$\partial_t \rho_0 + \nabla \cdot (\rho_0 v_0) = 0 \quad (2.40)$$

$$\rho_0 [\partial_t v_0 + (v_0 \cdot \nabla) v_0] = -\nabla p_0 + (\eta + \beta) \nabla^2 v_0 \quad (2.41)$$

$$p = p_0 \quad (2.42)$$

Las ecuaciones anteriores se pueden reducir considerando que el sistema en estado de equilibrio está quieto, es decir que $v_0 \equiv 0$, entonces:

$$\partial_t \rho_0 = 0 \quad (2.43)$$

$$\nabla p_0 = 0 \quad (2.44)$$

$$p = p_0 \quad (2.45)$$

Las ecuaciones de orden cero expresan que en estado de equilibrio los términos son constantes y no dependen de la viscosidad del medio.

2.4.2 Ecuaciones de Primer Orden

Similarmenete se tendrá para los términos de primer orden en contribución viscosa 'i':

$$\partial_t \rho_1 + \nabla \cdot (\rho_0 v_{1,i}) + \nabla \cdot (\rho_{1,i} v_0) = 0 \quad (2.46)$$

$$\rho_0 [\partial_t v_{1,i} + (v_{1,i} \cdot \nabla) v_0 + (v_0 \cdot \nabla) v_{1,i}] + \rho_{1,i} [\partial_t v_0 + (v_0 \cdot \nabla) v_0] = -\nabla p_{1,i} + (\eta + \beta) \nabla^2 v_{1,i} \quad (2.47)$$

Entonces teniendo en cuenta que $v_0 \equiv 0$, obtenemos la ecuación de continuidad, momentum y de presión:

$$\partial_t \rho_{1,i} + \nabla \cdot (\rho_0 v_{1,i}) = 0 \quad (2.48)$$

$$\rho_0 \partial_t v_{1,i} = -\nabla p_{1,i} + (\eta + \beta) \nabla^2 v_{1,i} \quad (2.49)$$

$$p_{1,i} = c_0^2 \rho_{1,i} \quad (2.50)$$

2.4.3 Ecuaciones de Segundo Orden

Insertando las ecuaciones (2.33) a (2.36), se obtienen las ecuaciones de continuidad, momentum y de presión como:

$$\partial_t \rho_{2,i} + \nabla \cdot (\rho_0 v_{2,i}) + \nabla \cdot (\rho_{2,i} v_0) + \nabla \cdot (\rho_{1,i} v_{1,i}) = 0 \quad (2.51)$$

$$\left[\begin{array}{l} \rho_0 [\partial_t v_{2,i} + (v_{2,i} \cdot \nabla) v_0 + (v_0 \cdot \nabla) v_{2,i} + (v_{1,i} \cdot \nabla) v_{1,i}] + \\ \rho_{1,i} [\partial_t v_{1,i} + (v_0 \cdot \nabla) v_{1,i} + (v_{1,i} \cdot \nabla) v_0] + \\ \rho_{2,i} [\partial_t v_0 + (v_0 \cdot \nabla) v_0] \end{array} \right] = -\nabla p_{2,i} + (\eta + \beta) \nabla^2 v_{2,i} \quad (2.52)$$

$$p_{2,i} = c_0^2 \rho_{2,i} + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial c_0^2}{\partial \rho} \right)_s \rho_{1,i}^2 \quad (2.53)$$

La linealización a segundo orden conduce luego:

$$\partial_t \rho_{2,i} + \nabla \cdot (\rho_0 v_{2,i}) + \nabla \cdot (\rho_{1,i} v_{1,i}) = 0 \quad (2.54)$$

$$\rho_0 [\partial_t v_{2,i} + (v_{1,i} \cdot \nabla) v_{1,i}] + \rho_{1,i} [\partial_t v_{1,i}] = -\nabla p_{2,i} + (\eta + \beta) \nabla^2 v_{2,i} \quad (2.55)$$

$$p_{2,i} = c_0^2 \rho_{2,i} + \frac{1}{2} \left(\frac{\partial c_0^2}{\partial \rho} \right)_s \rho_{1,i}^2 \quad (2.56)$$

2.5 Ecuación Acústica

Tomando la divergencia en la ecuación (2.49) y dado que se puede intercambiar los operadores diferenciales de espacio y tiempo, usando los términos constantes de orden cero:

$$\rho_0 \partial_t \nabla v_{1,i} = -\nabla^2 p_{1,i} + (\eta + \beta) \nabla^2 (\nabla v_{1,i}) \quad (2.57)$$

Insertando la ecuación (2.48) y (2.50) en (2.57) se obtienen las ecuaciones de onda:

$$\partial_t^2 \rho_{1,i} = c_0^2 \nabla^2 \rho_{1,i} + \frac{(\eta + \beta)}{\rho_0} \nabla^2 (\partial_t \rho_{1,i}) \quad (2.58)$$

$$\partial_t^2 p_{1,i} = c_0^2 \nabla^2 p_{1,i} + \frac{(\eta + \beta)}{\rho_0} \nabla^2 (\partial_t p_{1,i}) \quad (2.59)$$

Similarmente de las ecuaciones (2.50), (2.49) y (2.48) se tiene la ecuación de onda modificada:

$$\partial_t^2 v_{1,i} = c_0^2 \nabla (\nabla \cdot v_{1,i}) + \frac{(\eta + \beta)}{\rho_0} \nabla^2 v_{1,i} \quad (2.60)$$

2.5.1 Ecuación acústica no amortiguada

En la ecuación (2.60) se observa que el primer término del lado derecho, se puede escribir por la identidad vectorial como $\nabla(\nabla \cdot v) = \nabla^2 v + \nabla \times (\nabla \times v)$, solamente para el caso de que el fluido sea irrotacional y esto conlleva a que la velocidad sea aproximada por la función potencial de velocidad ^[38].

Entonces asumiendo condiciones de fluido no viscosas e insertando la identidad vectorial, la ecuación (2.60) se reduce:

$$\partial_t^2 v_{1,no\ vis} = c_0^2 \left(\nabla^2 v_{1,no\ vis} + \nabla \times (\nabla \times v_{1,no\ vis}) \right) \quad (2.61)$$

Para un fluido irrotacional $\nabla \times (\nabla \times v) = 0$, se tiene:

$$v_{1,no\ vis} \equiv \nabla \Phi_{1,no\ vis} \quad (2.62)$$

Luego la ecuación de onda en forma del potencial de velocidad resulta:

$$\partial_t^2 \Phi_{1,no\ vis} = c_0^2 \nabla^2 \Phi_{1,no\ vis} \quad (2.63)$$

De la ecuación (2.57) y (2.62) e insertando la ecuación (2.50) respectivamente se tiene:

$$\rho_0 \partial_t \nabla^2 \Phi_{1,no\ vis} = -\nabla^2 p_{1,no\ vis} \quad (2.64)$$

$$\rho_0 \partial_t \nabla^2 \Phi_{1,no\ vis} = -c_0^2 \nabla^2 \rho_{1,no\ vis}$$

$$\rho_0 \partial_t \Phi_{1,no\ vis} = -c_0^2 \rho_{1,no\ vis} \quad (2.65)$$

Aplicando nuevamente la ecuación (2.50) en la ecuación (2.65):

$$p_{1,no\ vis} = -\rho_0 \partial_t \Phi_{1,no\ vis} \quad (2.66)$$

Para una onda armónica plana la solución de la ecuación (2.63) es de la forma:

$$\Phi_{1,no\ vis} = \Phi_{0(r)} e^{-i\omega t} \quad (2.67)$$

Entonces reemplazando esta ecuación en la ecuación de onda se obtiene la ecuación de Helmholtz:

$$\nabla^2 \Phi_{0(r)} = -\frac{\omega^2}{c_0^2} \Phi_{0(r)} \quad (2.68)$$

2.5.2 Ecuación acústica amortiguada

Tomando la divergencia en la ecuación (2.49):

$$\rho_0 \partial_t \nabla \cdot v_{1,i} = -\nabla^2 p_{1,i} + \nabla \cdot (\eta + \beta) \nabla^2 v_{1,i} \quad (2.69)$$

$$\rho_0 \partial_t \nabla \cdot v_{1,i} = -\nabla^2 p_{1,i} + (\eta + \beta) \nabla^2 (\nabla \cdot v_{1,i}) \quad (2.70)$$

Luego insertando las ecuaciones (2.48) y (2.50) en (2.70):

$$\partial_t^2 \rho_{1,i} = -c_0^2 \nabla^2 \rho_{1,i} + \left(\frac{\eta + \beta}{\rho_0} \right) \nabla^2 (\partial_t \rho_{1,i}) \quad (2.71)$$

La ecuación (2.71) representa la ecuación de onda acústica amortiguada modificada en términos de la densidad; similarmente se puede obtener directamente el de la presión. Si la ecuación (2.71) se expresa para la presión en la forma:

$$p_{1,i} = p_{1(r)} e^{-i\omega t} \quad (2.72)$$

Entonces se puede obtener la ecuación de pérdida de Helmholtz:

$$\nabla^2 p_{1(r)} = -\frac{\omega^2}{c_0^2} \frac{1}{\left(1 - i\omega \frac{(\eta + \beta)}{\rho_0 c_0^2}\right)} p_{1(r)} \quad (2.73)$$

Donde se define entonces el coeficiente viscoso de amortiguamiento el cual es aproximadamente del orden 10^{-6} :

$$\gamma \equiv \omega \frac{(\eta + \beta)}{\rho_0 c_0^2} \quad (2.74)$$

2.5.3 Densidad de fuerza sobre el cuerpo

Sumando las ecuaciones (2.49) y (2.69) e insertando la ecuación (2.50)

$$\rho_0 \partial_t [v_{1,no\ vis} + v_{1,i}] = -c_0^2 \nabla (\rho_{1,no\ vis} + \rho_{1,i}) + (\eta + \beta) \nabla^2 v_{1,no\ vis} + (\eta + \beta) \nabla^2 v_{1,i} \quad (2.75)$$

La ecuación (2.75) muestra términos de segundo orden, los cuales se pueden despreciar y la ecuación se reduce:

$$\rho_0 \partial_t [v_{1,no\ vis} + v_{1,i}] = -c_0^2 \nabla (\rho_{1,no\ vis} + \rho_{1,i}) + (\eta + \beta) \nabla^2 v_{1,no\ vis} \quad (2.76)$$

La ecuación (2.49) para la parte no viscosa es:

$$\rho_0 \partial_t v_{1,no\ visc} = -c_0^2 \nabla \rho_{1,no\ vis} \quad (2.77)$$

Sustrayendo la ecuación (2.77) de (2.76) resulta:

$$\rho_0 \partial_t v_{1,i} = -c_0^2 \nabla \rho_{1,i} + (\eta + \beta) \nabla^2 v_{1,no\ vis} \quad (2.78)$$

$$\rho_0 \partial_t v_{1,i} \equiv -c_0^2 \nabla \rho_{1,i} + F_{1,i} \quad (2.79)$$

Ecuación en la que el término $F_{1,i}$ representa la densidad de fuerza que es ejercida sobre el elemento sometido a ondas acústicas.

2.5.4 Acústica de segundo orden no viscoso

La ecuación (2.55) para una parte no viscosa está dado por:

$$\rho_0 [\partial_t v_{2,no\ visc} + (v_{1,no\ visc} \cdot \nabla) v_{1,no\ visc}] + \rho_{1,no\ visc} [\partial_t v_{1,no\ visc}] = -\nabla p_{2,no\ visc} \quad (2.80)$$

Rescribiendo la ecuación (2.80) usando las ecuaciones (2.62) y (2.65) para el caso irrotacional resulta:

$$\rho_0 [\partial_t v_{2,no\ visc} + (\nabla \Phi_{1,no\ visc} \cdot \nabla) \nabla \Phi_{1,no\ visc}] - \frac{\rho_0}{c_0^2} \partial_t \Phi_{1,no\ visc} [\partial_t \nabla \Phi_{1,no\ visc}] = -\nabla p_{2,no\ visc} \quad (2.81)$$

$$\rho_0 \left[\partial_t v_{2,no\ visc} + \frac{1}{2} \nabla |\nabla \Phi_{1,no\ visc}|^2 \right] - \frac{\rho_0}{2c_0^2} \nabla [(\partial_t \Phi_{1,no\ visc})^2] = -\nabla p_{2,no\ visc} \quad (2.81)$$

Si se considera que la velocidad de segundo orden también se puede representar como un fluido irrotacional, la ecuación (2.81) se escribe como:

$$\rho_0 \partial_t \nabla \Phi_{2,no\ visc} = -\nabla p_{2,no\ visc} - \frac{\rho_0}{2} \nabla |\nabla \Phi_{1,no\ visc}|^2 + \frac{\rho_0}{2c_0^2} \nabla [(\partial_t \Phi_{1,no\ visc})^2] \quad (2.82)$$

De donde se puede observar que el gradiente de presión de segundo orden no viscoso depende de potenciales escalares de velocidad irrotacional:

$$\nabla p_{2,no\ visc} = -\rho_0 \partial_t \nabla \Phi_{2,no\ visc} - \frac{\rho_0}{2} \nabla |\nabla \Phi_{1,no\ visc}|^2 + \frac{\rho_0}{2c_0^2} \nabla [(\partial_t \Phi_{1,no\ visc})^2] \quad (2.83)$$

Sumando la ecuación (2.66) con la ecuación (2.83) se tiene:

$$\begin{aligned}
\nabla p_{1,no\ visc} + \nabla p_{2,no\ visc} & \qquad \qquad \qquad (2.84) \\
& = -\rho_0 [\partial_t \nabla \Phi_{1,no\ visc} + \partial_t \nabla \Phi_{2,no\ visc}] - \frac{\rho_0}{2} \nabla |\nabla \Phi_{1,no\ visc}|^2 \\
& \quad + \frac{\rho_0}{2c_0^2} \nabla [(\partial_t \Phi_{1,no\ visc})^2]
\end{aligned}$$

Es decir que la contribución diferencial de presiones no viscosas está en función de la distribución de la velocidad potencial, cuyos dos últimos términos se pueden correlacionar con la densidad de energía potencial y cinética respectivamente como:

$$\begin{aligned}
\delta p = p_{1,no\ visc} + p_{2,no\ visc} & \qquad \qquad \qquad (2.85) \\
& = -\rho_0 [\partial_t \Phi_{1,no\ visc} + \partial_t \Phi_{2,no\ visc}] - \frac{\rho_0}{2} |\nabla \Phi_{1,no\ visc}|^2 \\
& \quad + \frac{\rho_0}{2c_0^2} [(\partial_t \Phi_{1,no\ visc})^2]
\end{aligned}$$

La ecuación (2.85) promediada en el tiempo se reduce al diferencial infinitesimal de la presión acústica:

$$\langle \delta p \rangle = -\frac{\rho_0}{2} \langle |\nabla \Phi_{1,no\ visc}|^2 \rangle + \frac{\rho_0}{2c_0^2} \langle (\partial_t \Phi_{1,no\ visc})^2 \rangle \qquad (2.86)$$

CAPITULO III

PRESIÓN DE RADIACIÓN ACÚSTICA

Si las partículas en un líquido se exponen a un campo ultrasónico, estas experimentan desplazamientos por fluctuaciones de presión. Los gradientes acústicos de presión dan lugar a fuerzas acústicas. Su magnitud y dirección dependen de la diferencia en las características mecánicas entre las partículas y el medio. Se desarrolla la deducción de la ecuación generalizada sobre una esfera en base al modelo potencial de radiación acústica ^[31, 40, 42].

Las fuerzas secundarias de radiación son importantes debido al espaciamiento interpartículas en el campo de presión y pueden influenciar en el modelo de la fuerza acústica de presión.

3.1 Teoría de la fuerza acústica

Las partículas dentro de una distribución de presión de onda acústica estacionaria experimentan una fuerza de radiación que varía a lo largo de la dirección de la propagación de la onda acústica. Esta fuerza primaria de radiación es un vector definido sobre la superficie del obstáculo respecto al tiempo dado como ^[101, 128]:

$$\langle F_{rad} \rangle = \langle \int_{S(t)} (\Pi_{ij} - \rho_0 v_i v_j) dS_j \rangle \quad (3.1)$$

Donde:

Π_{ij}	Esfuerzo tensorial de radiación acústica.
i, j	Componentes de la dirección axial y lateral.
ρ_0	Densidad del fluido.
v	Velocidad de la partícula.
$S_{(t)}$	Superficie de la partícula en cada instante de tiempo t
S_j	Superficie lejos del límite de la partícula.

Para un fluido Euleriano los esfuerzos tensoriales son:

$$\Pi_{ij} = p\delta_{ij} + \rho_0 v_i v_j \quad (3.2)$$

Donde:

p	Presión del medio fluido.
δ_{ij}	Delta de Kronecker.
v_i	Velocidad de la partícula en la dirección i .

La presión descrita en términos de la velocidad potencial de la partícula, con elemento de superficie $dS = r^2 \sin\theta d\phi d\theta$ en el fluido es dado por medio de la ecuación (2.85) en la ecuación (3.1):

$$\langle F_{rad} \rangle = \left\langle \int_{S_{(t)}} \left[\rho_0 \partial_t \Phi_{1, no\ visc} + \rho_0 \partial_t \Phi_{2, no\ visc} + \frac{\rho_0}{2} |\nabla \Phi_{1, no\ visc}|^2 - \frac{\rho_0}{2c_0^2} (\partial_t \Phi_{1, no\ visc})^2 \right] ndS \right\rangle \quad (3.3)$$

3.2 Componentes de la presión de radiación acústica

Los componentes de la presión de radiación acústica se pueden agrupar como:

- Densidad de energía potencial.
- Densidad de energía cinética.
- Densidad de flux de momentum.

Donde la contribución de la energía cinética es negativa sobre la presión de radiación acústica y la de energía potencial es positiva, cuando la difracción del sonido por el obstáculo es despreciable y el tamaño del obstáculo está lejos de los valores de resonancia. La densidad de flux de momentum se toma en cuenta en coordenadas de Lagrange.

3.3 Fuerza de radiación acústica

Las ondas acústicas generan disturbios en la posición de ciertas partículas y éstas ejercen fuerzas en las partículas contiguas mientras se mueven. Bajo ciertas condiciones las fuerzas acústicas en una onda acústica estacionaria pueden mover las partículas de una manera controlada ^[92].

La fuerza de radiación primaria resulta del gradiente de presión creado por la propagación no linear de la onda acústica:

$$\langle F_{rad\ prim} \rangle = \langle V_{(t)} p_{acústica(r,t)} \rangle \quad (3.4)$$

La presión de radiación secundaria resulta de la presión mínima producida por la disipación de energía cerca de cada burbuja resonante asociado con la localización de la burbuja.

Las fuerzas acústicas de radiación se dividen en:

- Fuerzas de radiación acústica primaria, generada por la interacción de una partícula y el campo primario de la onda acústica.
- Fuerza de radiación acústica secundaria, generada por la interacción entre partículas y el campo de la onda dispersa.

3.3.1 Fuerzas de radiación acústicas primarias

La fuerza axial primaria en la dirección de propagación de la onda acústica estacionaria es la que conduce casi instantáneamente las partículas hacia los planos del nodo o antinodo del campo acústico aplicado.

Esta fuerza de radiación acústica primaria transversal agrega las partículas en puntos locales de densidad de energía acústica máxima de los planos nodales de presión. Estos máximos pueden causar una distribución de amplitud no uniforme de la fuente, divergencia de la onda e influencia

sobre la frontera. Las fuerzas primarias resultan del gradiente de presión creado por la propagación no lineal de la onda acústica ^[19, 128].

Si el campo ultrasónico es de la forma de una onda acústica estacionaria, entonces la presión acústica puede ser escrita:

$$p_{ac} = p_0 \sin(kx) \cos(\omega t) \quad (3.5)$$

Donde:

p_0	Amplitud de presión.
$k = \frac{2\pi}{\lambda}$	Número de onda.
$\omega = \frac{2\pi}{T}$	Velocidad angular.

La señal acústica es ajustada a una resonancia definido por la anchura del canal, generando una onda acústica estacionaria, ortogonal al flujo del canal.

De acuerdo con la teoría de fuerza acústica presentada por Yosioka y Kawasima la fuerza sobre la partícula puede ser expresada como ^[17, 24, 109]:

$$F_{rad} = \left[\frac{\pi p_0^2 V_c \beta_w}{2\lambda} \right] \Phi_{(\beta, \rho)} \sin(2kx) \quad (3.6)$$

Donde:

V_c	Volumen de la partícula.
β_w	Compresibilidad.
λ	Longitud de onda ultrasónica del medio.
$\Phi_{(\beta, \rho)}$	Constante cuyo signo determina la dirección acústica de la fuerza.

Cuando $\Phi_{(\beta, \rho)}$ es positivo la fuerza tirará la partícula hacia el nodo y cuando $\Phi_{(\beta, \rho)}$ es negativo hacia el anti-nodo. El factor $\Phi_{(\beta, \rho)}$ se obtiene de la expresión siguiente:

$$\Phi = \frac{5\rho_c - 2\rho_w}{2\rho_c + \rho_w} - \frac{\beta_c}{\beta_w} \quad (3.7)$$

Donde:

ρ_c, β_c Densidad y compresibilidad de la partícula.

ρ_w, β_w Densidad y compresibilidad del medio.

$\beta_i = \frac{1}{\rho_i c_0^2}$ Compresibilidad.

c_0 Velocidad del sonido en el material correspondiente.

Para una dependencia espacial sinusoidal de la presión de radiación acústica, la máxima fuerza tiene como valor:

$$F_{r,m\acute{a}x} = \left(\frac{\pi p_0^2 V_c \beta_w}{2\lambda} \right) \Phi_{(\beta,\rho)} \quad (3.8)$$

En la Tabla 3.1 se da $F_{r,m\acute{a}x}$ para diferentes diámetros de partícula asumiendo que están expuestos a la misma amplitud de presión acústica; lo cual indica la reducción en la fuerza acústica con la disminución del tamaño de partícula. La reducción tiene que ser compensada, puede ser hecha aumentando la frecuencia del campo ultrasónico (es decir disminuyendo la anchura del canal de separación) así como el aumento de la amplitud de la señal de impulsión. La disminución de la concentración de la partícula resultará en gradientes más grandes de presión y de tal modo cada partícula experimentaría una fuerza más grande.

Tabla 3.1: Fuerzas acústicas que actúan en partículas en un campo ultrasónico de 2 MHz

	c (m/s)	$\rho \times 10^3$ (kg/m ³)	$\beta * 10^{-10}$ (Pa ⁻¹)	Volumen V_c (m ³)	Φ	Fuerza $F_{r,m\acute{a}x}$ (N)
Agua	1497	0.997	4.48			
Poliamida 5 μ m	2380	1.033	1.56	5.24×10^{-16}	0.69	$4.93 * 10^{-12} p_0^2$
Poliestireno 800 nm	2320	1.060	1.75	2.14×10^{-18}	0.67	$2.00 * 10^{-14} p_0^2$
Poliestireno 400 nm	2320	1.060	1.75	2.68×10^{-19}	0.67	$2.51 * 10^{-15} p_0^2$
Poliestireno 100 nm	2320	1.060	1.75	4.19×10^{-21}	0.67	$3.93 * 10^{-17} p_0^2$

Sin embargo, el aumento de frecuencia y la presión de radiación acústica están limitados por la localización del plano nodal. Si el campo de presión acústica es muy elevado la onda acústica estacionaria va desapareciendo, esto conduce a un desarrollo de ondas acústicas lanas en el

microcanal las cuales causan las corrientes acústicas y la cavitación, lo que interrumpiría el proceso de separación. En los experimentos la amplitud del voltaje y el modo de presión acústica, fue elegida por debajo de la cavitación ^[34, 159].

3.3.2 Fuerzas de radiación acústica secundarias

La fuerza de radiación secundaria resulta de una mínima presión producida por la disipación de energía, asociada con la localización de las partículas, cerca de la burbuja resonante lo cual genera una fuerza de interacción entre partículas.

Cuando dos tipos de partículas en suspensión son expuestas a un campo ultrasónico, se produce una dispersión secundaria, donde cada partícula está sujeta a ondas acústicas incidentes y a ondas dispersas de la otra partícula. La condición requerida para la derivación de esta fuerza específica es que la distancia entre las partículas sea mucho más pequeña que la longitud de onda acústica, la fuerza secundaria de radiación entre dos esferas compresibles idénticas en un plano de onda acústica estacionaria es descrita por la ecuación ^[83, 93, 109].

$$F_{rad\ secun} = 4\pi a^6 \left[\frac{(\rho_p - \rho_m)^2 (3\cos^2\theta - 1)}{6\rho_m d^4} v_{(x)}^2 - \frac{\omega^2 \rho_m (\beta_p - \beta_m)^2}{9d^2} p_{(x)}^2 \right] \quad (3.9)$$

Donde:

- a Radio de la partícula.
- d Distancia desde el centro entre las partículas.
- θ Ángulo entre la línea central de partícula y dirección propagación de la onda.
- $v_{(x)}$ Velocidad del campo incidente no perturbado en la posición de las partículas.
- $p_{(x)}$ Presión del campo incidente no perturbado en la posición de las partículas.

Donde un signo negativo significa que hay fuerza atractiva entre las partículas y un signo positivo una fuerza repulsiva.

El primer término de la ecuación (3.9) es la contribución de dipolos dependiente de la orientación de las partículas y desaparece en los nodos de velocidad ($\theta = 0^0$) y el segundo término es la

contribución del monopolo independiente de la orientación de la partícula y que desaparece en los nodos de presión ($\theta = 90^\circ$). La influencia de la fuerza de radiación secundaria es pequeña comparada con la fuerza de radiación primaria axial.

La fuerza primaria de radiación alinea las partículas sólidas y líquidas en un plano nodal lateral, en esta localización la contribución del dipolo domina la contribución del monopolo.

Para $\theta = 0^\circ$ la fuerza depende de la distancia interpartícula, para distancias pequeñas está es repulsiva y para distancias más grandes es atractiva. Para las partículas en fase gaseosa alineadas en un plano antinodal de presión, la contribución del monopolo domina la contribución del dipolo, y la fuerza es atractiva. Así la fuerza secundaria de radiación ayuda a reducir al mínimo los efectos del componente lateral de la fuerza primaria de radiación y ayuda en la alineación y agregación de la partícula dentro de columnas en los nodos y antinodos de presión.

La fuerza secundaria de radiación acústica será $\approx 10^{-10}$ más pequeña que el componente axial de la fuerza primaria de radiación. Donde la agregación de la partícula ocurre, puede ser asumido que las partículas están tocándose y bajo estas condiciones la fuerza secundaria de radiación será $\approx 10^{-5}$ más pequeña que el componente axial de la fuerza primaria de radiación.

Tabla 3.2: Propiedades de Partículas^[51]

Partícula	Tipo	Diámetro R _o (μm)	Densidad ρ _o (g/cm ³)	Velocidad sonido c _o (m/s)
Decafluorobutano ^a	Gas encaps.	3.0	11.2x10 ⁻³	100
Aire	Gas no encaps.	35.0 ^b	1.3 x10 ^{-3 c}	344 ^c
Isobutano ^a	Gas encaps.	9.0	130.0 x10 ^{-3 d}	120 ^d
Isobutano ^a	Gas encaps.	40.0	130.0 x10 ⁻³	120
Isopentano ^a	Gas encaps.	30.0	135.0 x10 ⁻³	100
Poliestireno	Sólido	0.5	1.050	2500 ^c
Poliestireno	Sólido	15.5	1.065	2500 ^c
Poliestireno	Sólido	19.0	1.064	2500 ^c
Maicena.	Sólido	N/A	N/A	N/A
Glicerina	Líquido	N/A	1.260 ^c	1920 ^c
Células rojas sangre/ solución isotónica (I)	Biológico	4.0	1.099 ^f	1646 ±7 ^f
Células rojas sangre / solución isotónica (II)	Biológico	4.0	1.100 ^g	1600 ^h
Células rojas sangre en plasma (I)	Biológico	4.0	1.099 ^f	1631 ^f
Células rojas sangre en plasma (II)	Biológico	4.0	1.100 ^g	1600 ^h
Células rojas sangre / solución hipotónica.	Biológico	4.0	1.056 ^f	1577±5 ^f

a –Para gases no encapsulados, la densidad y velocidad del sonido están basados en una composición de una capa de gas.

b –Estimado vía inyección por jeringa.

c –Valores obtenidos de la Asociación de Ingenieros Especialistas.

d –Valores usados de Pierce & Stevens (manufactura en 40 μm diámetro de isobutano).

e –No usados en experimentos simples, mostrados solo por comparación.

f –Valores obtenidos por Weiser.

g –Valores obtenidos por Dintenaus.

h –Valores obtenidos por Wladimoff y Talbert.

i –Todos los otros valores son obtenidos de los fabricantes.

3.4 Fuerzas de radiación sobre objetos

Las partículas dentro de una distribución de presión de onda acústica estacionaria experimentan una fuerza de radiación acústica que varía a lo largo de la dirección de propagación de la onda ^[39, 42].

La presión descrita en términos de la velocidad potencial de la partícula según la ecuación (2.85) con un elemento esférico de superficie $dS = 2\pi a^2 \sin\theta d\theta$ en el fluido es:

$$\langle F_{rad} \rangle = \left\langle \int_{S(t)} \left[\rho_0 \left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial t} \right) + \rho_0 \partial_t \Phi_{2,no\ vis} + \frac{\rho_0}{2} |\nabla \Phi_{1,no\ vis}|^2 - \frac{\rho_0}{2c_0^2} \left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial t} \right)^2 \right] \cdot n dS \right\rangle \quad (3.10)$$

La fuerza de radiación corregida en términos de segundo orden, es integrada sobre una pequeña superficie S_0 en la vecindad de la partícula en un punto instantáneo:

$$\langle F_{rad} \rangle = \left\langle \int_{S(t)} \rho_0 \left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial t} \right) n dS \right\rangle + \left\langle \int_{S_0} \rho_0 \left(\frac{\partial \Phi_{2,no\ vis}}{\partial t} \right) n dS \right\rangle + \left\langle \int_{S_0} \frac{\rho_0}{2} |\nabla \Phi_{1,no\ vis}|^2 n dS \right\rangle - \left\langle \int_{S_0} \frac{\rho_0}{2c_0^2} \left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial t} \right)^2 n dS \right\rangle \quad (3.11)$$

De tal manera que si la superficie de la partícula es rígida e inamovible el segundo término del lado derecho de la ecuación es cero.

El cambio de momentum en una porción del fluido en el tiempo en un volumen $V_{(t)}$ siguiendo el teorema de transporte de Reynolds:

$$\frac{d}{dt} \int_{V(t)} (\rho v) dV = \lim_{\delta t \rightarrow 0} \left[\frac{\int_{V(t+\delta t)} (\rho v)_{(t+\delta t)} dV - \int_{V(t)} (\rho v)_{(t)} dV}{\delta t} \right] \quad (3.12)$$

Rescribiendo el lado derecho de la expresión anterior:

$$\lim_{\delta t \rightarrow 0} \left[\frac{\int_{V_{(t+\delta t)}} (\rho v)_{(t+\delta t)} dV - \int_{V_{(t)}} (\rho v)_{(t+\delta)} dV + \int_{V_{(t)}} (\rho v)_{(t+\delta t)} dV - \int_{V_{(t)}} (\rho v)_{(t)} dV}{\delta t} \right]$$

$$\lim_{\delta t \rightarrow 0} \left[\frac{\int_{V_{(t+\delta t)}} (\rho v)_{(t+\delta t)} dV - \int_{V_{(t)}} (\rho v)_{(t+\delta)} dV}{\delta t} \right] + \int_{V_{(t)}} \frac{\partial (\rho v)_{(t)}}{\partial t} dV \quad (3.13)$$

Dado que el integrando es el mismo se puede cambiar el límite de integración:

$$\lim_{\delta t \rightarrow 0} \left[\frac{\int_{V_{(t+\delta t)} - V_{(t)}} (\rho v)_{(t+\delta t)} dV}{\delta t} \right] + \int_{V_{(t)}} \frac{\partial (\rho v)_{(t)}}{\partial t} dV \quad (3.14)$$

El cambio de volumen en función de la velocidad normal saliente del elemento del fluido y del elemento de superficie dS :

$$dV = v \cdot n \delta t dS \quad (3.15)$$

Insertando en la ecuación (3.12) las ecuaciones (3.13), (3.14), (3.15) y evaluando el límite $\delta t \rightarrow 0$ la ecuación (3.12) se reduce:

$$\frac{d}{dt} \int_{V_{(t)}} (\rho v) dV = \int_{S_{(t)}} (\rho v)_{(t)} v \cdot n dS + \int_{V_{(t)}} \frac{\partial (\rho v)_{(t)}}{\partial t} dV \quad (3.16)$$

Aplicando la ecuación (3.16) para el término de primer orden se tiene:

$$\frac{d}{dt} \int_{V_{(t)}} (\rho_0 v_{1, no vis}) dV = \int_{S_{(t)}} (\rho_0 v_{1, no vis})_{(t)} v_{1, no vis} \cdot n dS + \int_{V_{(t)}} \frac{\partial (\rho_0 v_{1, no vis})_{(t)}}{\partial t} dV \quad (3.17)$$

Si se supone una superficie ficticia fija exterior R que encierra a $V_{(t)}$, entonces el $V_{(t)}$ esta dentro de esta región ficticia fija R y al cual corresponde una superficie $S_{(t)}$ interior de un objeto deformable de un obstáculo la ecuación (3.17) se escribe como:

$$\begin{aligned}
& \frac{d}{dt} \int_{V(t)} (\rho_0 v_{1,no vis}) dV \\
& = \int_{S(t)} (\rho_0 v_{1,no vis})_{(t)} v_{1,no vis} \cdot n \, dS + \int_R (\rho_0 v_{1,no vis})_{(t)} v_{1,no vis} \cdot n \, dR \\
& + \int_{V(t)} \partial_t (\rho_0 v_{1,no vis})_{(t)} dV
\end{aligned} \tag{3.18}$$

Como la superficie ficticia R es fija su velocidad normal es cero $v_{1,no vis} \cdot n_R = 0$ y sobre $S(t)$ corresponde $v_{1,no vis} \cdot n = -v_{1,no vis} \cdot n_{S(t)}$ cuyo signo es negativo por estar en dirección contraria al vector normal de $V(t)$ y $S(t)$ esta dentro de $V(t)$. Luego insertando la ecuación (2.49) en (3.18):

$$\frac{d}{dt} \int_{V(t)} (\rho_0 v_{1,no vis}) dV = - \int_{S(t)} (\rho_0 v_{1,no vis})_{(t)} v_{1,no vis} \cdot n \, dS - \int_{V(t)} \nabla p_{1,no vis} dV \tag{3.19}$$

Aplicando el teorema de Gauss en el segundo término del lado derecho de la ecuación (3.19):

$$\int_{V(t)} \nabla p_{1,no vis} dV = - \int_{S(t)} p_{1,no vis} \cdot n \, dS + \int_R p_{1,no vis} \cdot n \, dR \tag{3.20}$$

$$\begin{aligned}
& \frac{d}{dt} \int_{V(t)} (\rho_0 v_{1,no vis}) dV \\
& = - \int_{S(t)} (\rho_0 v_{1,no vis})_{(t)} v_{1,no vis} \cdot n \, dS + \int_{S(t)} p_{1,no vis} \cdot n \, dS \\
& - \int_R p_{1,no vis} \cdot n_R \, dR
\end{aligned} \tag{3.21}$$

Promediando la ecuación (3.21) se tiene:

$$\left\langle \int_{S(t)} p_{1,no vis} \cdot n \, dS \right\rangle = \left\langle \int_{S(t)} (\rho_0 v_{1,no vis})_{(t)} v_{1,no vis} \cdot n \, dS \right\rangle \tag{3.22}$$

Insertando la ecuación (2.66) en la ecuación (3.22):

$$\left\langle \int_{S(t)} \rho_0 \partial_t \Phi_{1, no vis} \cdot n \, dS \right\rangle = - \left\langle \int_{S(t)} (\rho_0 v_{1, no vis})_{(t)} v_{1, no vis} \cdot n \, dS \right\rangle \quad (3.23)$$

Entonces la ecuación (3.11) se expresa sobre la superficie S_0 de un objeto suspendido cuyo límite de superficie se mueve en un campo acústico como:

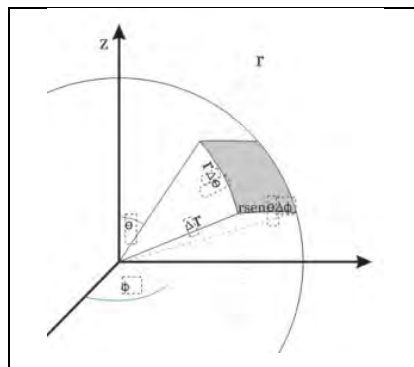
$$\begin{aligned} \langle F_{rad} \rangle = & - \left\langle \int_{S_0} (\rho_0 v_{1, no vis}) v_{1, no vis} n \, dS \right\rangle + \frac{\rho_0}{2} \left\langle \int_{S_0} |\nabla \Phi_{1, no vis}|^2 n \, dS \right\rangle \\ & - \frac{\rho_0}{2c_0^2} \left\langle \int_{S_0} (\partial_t \Phi_{1, no vis})^2 n \, dS \right\rangle \end{aligned} \quad (3.24)$$

3.5 Fuerza acústica sobre una esfera.

En la ecuación (3.24) la velocidad de primer orden no viscoso se puede expresar como una contribución de la velocidad normal y tangencial en coordenadas esféricas ^[40, 69, 127], en donde se desprecia el ángulo azimutal sobre el eje $\theta = 0$:

$$dS = r^2 \sin\theta \, d\theta \, d\phi = 2\pi r^2 \sin\theta \, d\theta \quad (3.25)$$

$$v_{1, no vis} = v_{normal} \hat{r} + v_{tangencial} \hat{\theta} = v_r \hat{r} + v_\theta \hat{\theta} \quad (3.26)$$



$$\begin{aligned}
\langle F_{rad} \rangle &= -2\pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} [v_r \hat{r} + v_\theta \hat{\theta}] (v_r \hat{z}) \text{sen}\theta \, d\theta \right\rangle + \pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} |\nabla \Phi_{1,no \, vis}|^2 \cos\theta \text{sen}\theta \, d\theta \right\rangle \\
&\quad - \frac{\pi r_0^2 \rho_0}{c_0^2} \left\langle \int_0^{2\pi} (\partial_t \Phi_{1,no \, vis})^2 \cos\theta \text{sen}\theta \, d\theta \right\rangle \\
\langle F_{rad} \rangle &= -2\pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} v_r^2 \text{sen}\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle + 2\pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} v_r v_\theta \text{sen}^2\theta \, d\theta \right\rangle \\
&\quad + \pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} |\nabla \Phi_{1,no \, vis}|^2 \text{sen}\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle \\
&\quad - \frac{\pi r_0^2 \rho_0}{c_0^2} \left\langle \int_0^{2\pi} (\partial_t \Phi_{1,no \, vis})^2 \text{sen}\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle
\end{aligned} \tag{3.27}$$

El vector gradiente de una función escalar en coordenadas polares esféricas está definido:

$$\nabla = \hat{r} \frac{\partial}{\partial r} + \frac{\hat{\theta}}{r} \frac{\partial}{\partial \theta} + \frac{\hat{\phi}}{r \text{sen}\theta} \frac{\partial}{\partial \phi} \tag{3.28}$$

Insertando la ecuación (3.28) en (3.27) y con la ecuación (2.62) se tiene:

$$\begin{aligned}
\langle F_{rad} \rangle &= -2\pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} \left[\left(\frac{\partial \Phi_{1,no \, vis}}{\partial r} \right)^2 \right]_{r=r_0} \text{sen}\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle + 2\pi r_0^2 \left\langle \int_0^{2\pi} v_r v_\theta \text{sen}^2\theta \, d\theta \right\rangle \\
&\quad + \pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} \left[\left(\frac{\partial \Phi_{1,no \, vis}}{\partial r} \right)^2 + \frac{1}{r^2} \left(\frac{\partial \Phi_{1,no \, vis}}{\partial \theta} \right)^2 \right]_{r=r_0} \text{sen}\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle \\
&\quad - \frac{\pi r_0^2 \rho_0}{c_0^2} \left\langle \int_0^{2\pi} (\partial_t \Phi_{1,no \, vis})^2 \text{sen}\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle
\end{aligned}$$

(3.29)

$$\langle F_{rad} \rangle = \left[\begin{array}{l} -\pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} \left[\left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial r} \right)^2 \right]_{r=r_0} \sen\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle \\ + 2\pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} \left[\left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial r} \right) \frac{1}{r} \left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial \theta} \right) \right]_{r=r_0} \sen^2\theta \, d\theta \right\rangle \\ + \pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} \left[\frac{1}{r^2} \left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial \theta} \right)^2 \right]_{r=r_0} \sen\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle \\ - \frac{\pi r_0^2 \rho_0}{c_0^2} \left\langle \int_0^{2\pi} (\partial_t \Phi_{1,no\ vis})^2 \sen\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle \end{array} \right]$$

De donde se puede identificar cada término de la ecuación (3.29) como:

$$\langle F_r \rangle = -\pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} \left[\left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial r} \right)^2 \right]_{r=r_0} \sen\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle \quad (3.30)$$

$$\langle F_{\theta r} \rangle = 2\pi r_0 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} \left[\left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial r} \right) \left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial \theta} \right) \right]_{r=r_0} \sen^2\theta \, d\theta \right\rangle \quad (3.31)$$

$$\langle F_\theta \rangle = \pi \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} \left[\left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial \theta} \right)^2 \right]_{r=r_0} \sen\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle \quad (3.32)$$

Y el cuarto término se puede expresar como la contribución de t:

$$\langle F_t \rangle = -\frac{\pi r_0^2 \rho_0}{c_0^2} \left\langle \int_0^{2\pi} \left[\left(\frac{\partial \Phi_{1,no\ vis}}{\partial t} \right)^2 \right]_{r=r_0} \sen\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle \quad (3.33)$$

La fuerza promedio sobre la partícula esférica resulta:

$$\langle F_{rad} \rangle = \langle F_r \rangle + \langle F_\theta \rangle + \langle F_{\theta r} \rangle + \langle F_t \rangle \quad (3.34)$$

Considerando la ecuación de Helmholtz ^[40] en coordenadas esféricas bajo simetría axial:

$$\nabla^2 \Phi_{(r,\theta)} + k^2 \Phi_{(r,\theta)} = 0 \quad (3.35)$$

$$\frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^2 \frac{\partial \Phi_{(r,\theta)}}{\partial r} \right) + \frac{1}{r^2} \left[\frac{1}{\text{sen}\theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\text{sen}\theta \frac{\partial \Phi_{(r,\theta)}}{\partial \theta} \right) \right] + k^2 \Phi_{(r,\theta)} = 0 \quad (3.36)$$

Separando variables por $\Phi_{(r,\theta)} = R_{(r)}P_{(\theta)}$ y denotando por λ_c la constante de separación se obtiene:

$$\frac{d}{dr} \left(r^2 \frac{dR}{dr} \right) + (k^2 r^2 - \lambda_c) R = 0 \quad (3.37)$$

$$\frac{1}{\text{sen}\theta} \frac{d}{d\theta} \left(\text{sen}\theta \frac{dP}{d\theta} \right) + \lambda_c P = 0 \quad (3.38)$$

$$(1 - w^2) \frac{d^2 P}{dw^2} - 2w \frac{dP}{dw} + \lambda_c P = 0 \quad (3.39)$$

La primera ecuación conduce a las funciones esféricas de Bessel y la segunda ecuación a los polinomios de Legendre donde se ha remplazado $w = \cos\theta$.

Si el polinomio de Legendre se plantea como una serie de la forma:

$$P_{(w)} = w^r \sum_{k=0}^{\infty} a_k w^k \quad (3.40)$$

Luego elaborando cada término de la ecuación (3.39):

$$\frac{dP_{(w)}}{dw} = r w^{r-1} \sum_{k=0}^{\infty} a_k w^k + w^r \sum_{k=1}^{\infty} k a_k w^{k-1}$$

$$(1 - w^2) \frac{dP_{(w)}}{dw} = r w^{r-1} \sum_{k=0}^{\infty} a_k w^k + w^r \sum_{k=1}^{\infty} k a_k w^{k-1} - r w^{r+1} \sum_{k=0}^{\infty} a_k w^k - w^r \sum_{k=1}^{\infty} k a_k w^{k+1}$$

$$\begin{aligned}
& \frac{d}{dw} \left[(1-w^2) \frac{dP(w)}{dw} \right] \\
&= r(r-1)w^{r-2} \sum_{k=0}^{\infty} a_k w^k + rw^{r-1} \sum_{k=1}^{\infty} k a_k w^{k-1} + rw^{r-1} \sum_{k=1}^{\infty} k a_k w^{k-1} \\
&+ w^r \sum_{k=1}^{\infty} k(k-1) a_k w^{k-2} - r(r+1)w^r \sum_{k=0}^{\infty} a_k w^k - rw^{r+1} \sum_{k=1}^{\infty} k a_k w^{k-1} \\
&- rw^{r-1} \sum_{k=1}^{\infty} k a_k w^{k+1} - w^r \sum_{k=1}^{\infty} k(k+1) a_k w^k
\end{aligned}$$

Remplazando en la ecuación diferencial y extendiendo sobre términos de igual potencia:

$$r(r-1)a_0 = 0$$

$$r(r+1)a_1 = 0$$

$$[r(r-1) + 2r(k+2) + (k+1)(k+2)]a_{k+2} = [r(r+1) - \lambda_c + 2(r+1)k + k(k-1)]a_k$$

⇒

$$a_{k+2} = \frac{(k+r)(k+r+1) - \lambda_c}{(k+r+1)(k+r+2) + r} a_k$$

La relación de recurrencia para a_k es posible cuando $\lambda_c = l(l+1)$, si $r = 0$:

$$a_{k+2} = \frac{(k)(k+1) - l(l+1)}{(k+1)(k+2)} a_k$$

De modo que la serie resulta:

$$P_{l(w)} = \begin{cases} K = \frac{l}{2} & \text{para } l \text{ par} \\ K = \frac{l-1}{2} & \text{para } l \text{ impar} \end{cases} \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(-1)^k (2l-2k)!}{2^l k! (l-k)! (l-2k)!} w^{l-2k} \quad (3.41)$$

En la ecuación (3.37) cambiando la variable $t = kr$ y $\lambda_c = l(l+1)$ se tiene:

$$\frac{d}{dt} \left(t^2 \frac{dR}{dt} \right) + [t^2 - l(l+1)]R = 0 \quad (3.42)$$

Si la solución es de la forma:

$$R = t^p J_{\nu(t)} \quad (3.43)$$

Sustituyendo en la ecuación diferencial se tiene:

$$t^2 J_{\nu}'' + [2p+2]t J_{\nu}' + [t^2 + p(p+1) - l(l+1)] J_{\nu} = 0$$

Ecuación que se asemeja a la ecuación de Bessel si $2p+2 = 1 \Rightarrow p = -1/2$

$$t^2 J_{\nu}'' + t J_{\nu}' + \left[t^2 - \frac{1}{4} - l(l+1) \right] J_{\nu} = 0$$

Si se restringe en la ecuación anterior $\nu^2 = l(l+1) + 1/4 \Rightarrow \nu = \pm(l+1/2)$.

Luego las soluciones linealmente independientes para R son de la forma:

$$R_1 \approx \frac{1}{\sqrt{t}} J_{(l+\frac{1}{2})(t)} \quad (3.44)$$

$$R_2 \approx \frac{1}{\sqrt{t}} J_{(-l-\frac{1}{2})(t)} \quad (3.45)$$

Cuyas soluciones originan funciones esféricas de Bessel de primer y segundo orden cuya definición estándar es:

$$j_{l(t)} \approx \left(\frac{\pi}{2t} \right)^{1/2} J_{(l+\frac{1}{2})(t)} \quad \text{Función esférica de Bessel.}$$

$$n_{l(t)} = (-1)^{l+1} \left(\frac{\pi}{2t} \right)^{1/2} J_{(-l-\frac{1}{2})(t)} \quad \text{Función esférica de Newman.}$$

La solución general de la ecuación de Helmholtz resulta entonces de la forma:

$$\Phi_{(r,\theta)} = \sum_{l=0}^{\infty} [A_l j_l(kr) + B_l n_l(kr)] P_l(\cos\theta) \quad (3.46)$$

3.6 Modelo del potencial acústico sobre una esfera.

Como el potencial de velocidad en el interior de la partícula esférica es de naturaleza más simple que el potencial en su superficie exterior, el potencial de velocidad de onda $\Phi_{1,no\ visc}$ se describe como la suma de velocidades potenciales incidente y dispersa ^[40, 127]:

$$\Phi_{1,no\ visc} = \Phi_{incidente} + \Phi_{dispersa} \quad (3.47)$$

Luego se puede expresar las velocidades potenciales incidente y dispersa como una suma infinita del producto de la función esférica de Bessel, la función esférica de Hankel y el polinomio de Legendre como:

$$\Phi_{inc} = \Phi_0 \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1)(-i)^n j_n(kr) P_n(\cos\theta) e^{i\omega t} \quad (3.48)$$

$$\Phi_{disp} = \Phi_0 \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1)(-i)^n C_n h_n^{(2)}(kr) P_n(\cos\theta) e^{i\omega t} \quad (3.49)$$

$$h_n^{(2)} = j_{n(z)} - i n_{n(z)}$$

Donde:

- Φ_0 Amplitud de velocidad potencial del plano de onda incidente.
- P_n Polinomio de Legendre.
- k Número de onda.
- $h_n^{(2)}$ Función esférica de Hankel de segunda clase.
- j_n Función de Bessel esférica de orden n .
- $n_{n(z)}$ Función esférica de Neumann de orden n .
- C_n Coeficiente de la onda acústica dispersa nth parcial.

De las ecuaciones (3.48) y (3.49) se puede deducir por la ecuación (2.66) las expresiones de la presión de onda incidente y la presión acústica dispersa son respectivamente de la forma:

$$P_{inc} = P_0 \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1)(-i)^n j_{n(kr)} P_n(\cos\theta) e^{i\omega t} \quad (3.50)$$

$$P_{disp} = P_0 \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1)(-i)^n C_n h_{n(kr)}^{(2)} P_n(\cos\theta) e^{i\omega t} \quad (3.51)$$

Similarmente con las ecuaciones (2.62), (2.66), (3.48) y (3.49) el componente radial de desplazamiento de la onda incidente y dispersa en la partícula resulta ($\nabla = \partial_r + \frac{1}{r}\partial_\theta$):

$$v_{inc,r} = \frac{P_0 k}{\omega \rho} \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1)(-i)^n j'_{n(kr)} P_n(\cos\theta) e^{i\omega t} \quad (3.52)$$

$$v_{disp,r} = \frac{P_0 k}{\omega \rho} \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1)(-i)^n C_n h_{n(kr)}^{(2)'} P_n(\cos\theta) e^{i\omega t} \quad (3.53)$$

Se puede escribir la velocidad de desplazamiento en el fluido como $v = -\nabla\Phi + \nabla \times A_\phi$, el cual está asociado con la onda compresional y de cizalla. Estos potenciales son de la forma:

$$\Phi = \sum_{n=0}^{\infty} a_n j_{n(k_1 r)} P_n(\cos\theta) \quad (3.54)$$

$$A_\phi = \sum_{n=0}^{\infty} b_n j_{n(k_2 r)} \partial_\theta P_n(\cos\theta) \quad (3.55)$$

Luego de estas dos ecuaciones se puede derivar:

$$v_r = - \sum_{n=0}^{\infty} \left[a_n k_1 j'_{n(k_1 r)} P_n(\cos\theta) + \frac{b_n}{r} j_{n(k_2 r)} \partial_\theta^2 P_n(\cos\theta) \right] \quad (3.56)$$

$$v_{\theta} = - \sum_{n=0}^{\infty} \left[\frac{a_n}{r} j_{n(k_1 r)} \partial_{\theta} P_n(\cos\theta) - b_n k_2 j'_{n(k_2 r)} \partial_{\theta} P_n(\cos\theta) \right] \quad (3.57)$$

En la superficie de la partícula esférica las condiciones límite son:

C. L. 1: La presión que ejerce el fluido sobre la superficie de la partícula esférica y el componente normal del esfuerzo en la superficie de la esfera son iguales en $r = r_0$:

$$P_{inc} + P_{disp} = -\tau_{rr} \quad (3.58)$$

$$\tau_{rr} = 2\rho_1 c_2^2 \left[\left(\frac{\sigma}{1-2\sigma} \right) \nabla \cdot (-\nabla\phi) + \frac{\partial v_r}{\partial r} \right] \quad (3.59)$$

Donde:

$$\sigma = \frac{2-(c_1/c_2)^2}{2[1-(c_1/c_2)^2]} = \text{Relación de Poisson's.}$$

c_1 = Velocidad de onda compresional en la esfera del material.

c_2 = Velocidad de onda de cizalla en la esfera del material.

ρ_1 = Densidad de la esfera del material.

$k_i = \omega/c_i$ = Número de onda.

$\omega = 2\pi f$ = Frecuencia angular.

C. L. 2: El componente normal de desplazamiento del fluido es igual al componente de velocidad de desplazamiento de la esfera en la interface $r = r_0$:

$$v_r = v_{inc,r} + v_{disp,r} \quad (3.60)$$

C. L. 3: El componente del esfuerzo tangencial (shearing stress) en la superficie de la esfera es cero $r = r_0$:

$$\tau_{r\theta} = \tau_{r\phi} = 0 \quad (3.61)$$

$$\tau_{r\theta} = \mu \left[\frac{\partial v_{\theta}}{\partial r} - \frac{v_{\theta}}{r} + \frac{1}{r} \frac{\partial v_r}{\partial \theta} \right] \quad (3.62)$$

$$\tau_{r\phi} = \mu \left[\frac{1}{r \sin\theta} \frac{\partial v_r}{\partial \theta} + \frac{\partial v_\phi}{\partial r} - \frac{v_\phi}{r} \right] \quad (3.63)$$

Aplicando las condiciones límite el coeficiente de la onda acústica dispersa C_n resulta:

$$C_n = - \frac{F_n j_{n(x)} - x j'_{n(x)}}{F_n h_{n(x)}^{(2)} - x h_{n(x)}^{(2)'}} \quad (3.64)$$

Donde:

$$x_i = k_i r_0 \quad (3.65)$$

$$j'_{n(x)} = \frac{\partial j_{n(x)}}{\partial x} \quad (3.66)$$

$$h_{n(x)}^{(2)'} = \frac{\partial j_{n(x)}}{\partial x} - i \frac{\partial n_{n(x)}}{\partial x} \quad (3.67)$$

$$F_n = \frac{x_2^2 \rho_f}{2 \rho_p} \frac{\frac{x_1 j'_{n(x_1)}}{x_1 j'_{n(x_1)} - j_{n(x_1)}} - \frac{2n(n+1)j_{n(x_2)}}{(n+2)(n-1)j_{n(x_2)} + x_2^2 j''_{n(x_2)}}}{\frac{x_1 [\sigma(1-2\sigma)j_{n(x_1)} - j''_{n(x_1)}]}{x_1 j'_{n(x_1)} - j_{n(x_1)}} - \frac{2n(n+1)[j_{n(x_2)} + x_2 j'_{n(x_2)}]}{(n+2)(n-1)j_{n(x_2)} + x_2^2 j''_{n(x_2)}}} \quad (3.68)$$

Desarrollando la función esférica de Hankel de segundo orden en el denominador de la ecuación (3.64) y multiplicando por su conjugada:

$$C_n = \frac{-[F_n j_{n(x)} - x j'_{n(x)}]^2 + (-i)[F_n j_{n(x)} - x j'_{n(x)}][F_n n_{n(x)} - x n'_{n(x)}]}{[F_n j_{n(x)} - x j'_{n(x)}]^2 + [F_n n_{n(x)} - x n'_{n(x)}]^2} = \alpha_n + i\beta_n \quad (3.69)$$

El potencial de velocidad en el interior de la partícula esférica en la ecuación (3.47) resulta:

$$\Phi_{1,no\ visc} = \Phi_0 \sum_{n=0}^{\infty} (2n+1)(-i)^n [U_n(kr) + iV_n(kr)] P_n(\cos\theta) e^{i\omega t} \quad (3.70)$$

$$U_{n(kr)} = (1 + \alpha_n)j_{n(kr)} + \beta_n n_{n(kr)} \quad (3.71)$$

$$V_{n(kr)} = \beta_n j_{n(kr)} - \alpha_n n_{n(kr)} \quad (3.72)$$

Donde la parte real de la ecuación (3.70):

$$Re\{\Phi_{1,no\ visc}\} = \Phi_0 \sum_{n=0}^{\infty} (2n + 1) Re\{R_n\} P_n(\cos\theta) \quad (3.73)$$

$$R_n = \{(-i)^n [U_{n(kr)} + iV_{n(kr)}] e^{i\omega t}\} \quad (3.74)$$

Como la distribución acústica es axialmente simétrica con respecto a la dirección θ , en las ecuaciones (3.30), (3.31), (3.32), (3.33) realizando el cambio de variable $\mu = \cos\theta$ se tiene:

$$\langle F_r \rangle = -\pi r_0^2 \rho_f \left\langle \int_{-1}^1 (\partial_r \Phi_{1,no\ vis})_{r=r_0}^2 \mu d\mu \right\rangle \quad (3.75)$$

$$\langle F_\theta \rangle = \pi \rho_0 f \left\langle \int_{-1}^1 (\partial_\mu \Phi_{1,no\ vis})^2 (1 - \mu^2) \mu d\mu \right\rangle \quad (3.76)$$

$$\langle F_{\theta r} \rangle = -2\pi r_0 \rho_f \left\langle \int_{-1}^1 (\partial_r \Phi_{1,no\ vis})(\partial_\mu \Phi_{1,no\ vis}) (1 - \mu^2) d\mu \right\rangle \quad (3.77)$$

$$\langle F_t \rangle = -\frac{\pi r_0^2 \rho_f}{c_0^2} \left\langle \int_{-1}^1 (\partial_t \Phi_{1,no\ vis})^2 \mu d\mu \right\rangle \quad (3.78)$$

Remplazando la ecuación (3.73) en (3.75), (3.76), (3.77), (3.78) se tendrá:

$$\langle F_r \rangle = -\pi r_0^2 \rho_f \left\langle \int_{-1}^1 \left(\Phi_0 \sum_{n=0}^{\infty} (2n + 1) \{R'_n\} P_n(\mu) \right)_{r=r_0}^2 \mu d\mu \right\rangle \quad (3.79)$$

Desarrollando la sumatoria se tiene la forma siguiente:

$$\langle F_r \rangle = -\pi r_0^2 \rho_f \left\langle \int_{-1}^1 (k\Phi_0)^2 \sum_{n=0}^{\infty} 2(2n+1)(2(n+1)+1) R'_n R'_{n+1} P_{n(\mu)} P_{n+1(\mu)} \mu d\mu \right\rangle \quad (3.80)$$

Asociando la identidad del polinomio de Legendre:

$$\int_{-1}^1 \mu P_n(\mu) P_l(\mu) d\mu = \begin{cases} \frac{2(l+1)}{(2l+1)(2l+3)} & , \text{ cuando } n = l + 1 \\ \frac{2l}{(2l-1)(2l+3)} & , \text{ cuando } n = l - 1 \\ 0 & \text{ otro} \end{cases} \quad (3.81)$$

$$\langle F_r \rangle = -\pi r_0^2 \rho_f (k\Phi_0)^2 \left\langle \sum_{n=0}^{\infty} 2(2n+1)(2(n+1)+1) R'_n R'_{n+1} \frac{2(n+1)}{(2n+1)(2n+3)} \right\rangle$$

$$\langle F_r \rangle = -4\pi r_0^2 \rho_f (k\Phi_0)^2 \sum_{n=0}^{\infty} (n+1) \langle R'_n R'_{n+1} \rangle \quad (3.82)$$

Usando las siguientes ecuaciones promediadas en el tiempo:

$$\langle R_n R_{n+1} \rangle = \frac{1}{2} (U_n V_{n+1} - V_n U_{n+1}) \quad (3.83)$$

$$\langle R'_n R'_{n+1} \rangle = \frac{1}{2} (U'_n V'_{n+1} - V'_n U'_{n+1}) \quad (3.84)$$

$$\langle R_n R'_{n+1} \rangle = \frac{1}{2} (U_n V'_{n+1} - V_n U'_{n+1}) \quad (3.85)$$

$$\langle R'_n R_{n+1} \rangle = \frac{1}{2} (U'_n V_{n+1} - V'_n U_{n+1}) \quad (3.86)$$

Remplazando la ecuación (3.85) en la ecuación (3.82) resulta:

$$\langle F_r \rangle = -2\pi \rho_f (kr_0)^2 \Phi_0^2 \sum_{n=0}^{\infty} (n+1) (U'_n V'_{n+1} - V'_n U'_{n+1}) \quad (3.87)$$

Similarmente se pueden obtener:

$$\langle F_\theta \rangle = 2\pi\rho_f\Phi_0^2 \sum_{n=0}^{\infty} n(n+1)(n+2) (U_n V_{n+1} - V_n U_{n+1}) \quad (3.88)$$

$$\begin{aligned} \langle F_{r\theta} \rangle = 2\pi\rho_f(kr_0) \Phi_0^2 \sum_{n=0}^{\infty} [n(n+1)(U_n V'_{n+1} - V_n U'_{n+1}) \\ - (n+1)(n+2)(U'_n V_{n+1} - V'_n U_{n+1})] \end{aligned} \quad (3.89)$$

$$\langle F_t \rangle = -2\pi\rho_f(kr_0)^2 \Phi_0^2 \sum_{n=0}^{\infty} (n+1) (U_n V_{n+1} - V_n U_{n+1}) \quad (3.90)$$

La fuerza de radiación acústica sobre una partícula esférica promediada en el tiempo resulta:

$$\langle F_{rad} \rangle = \langle F_r \rangle + \langle F_\theta \rangle + \langle F_{r\theta} \rangle + \langle F_t \rangle \quad (3.91)$$

CAPITULO IV

Corrientes acústicas

Las altas intensidades acústicas pueden también inducir el movimiento del fluido vía corrientes acústicas. Las corrientes acústicas son de larga escala y son generados por la atenuación de una onda acústica. Una típica corriente geométrica que fluye en la cavidad es de carácter rotatorio, tiene una dirección en el eje de la cavidad y otra dirección cerca del límite de la cavidad y su magnitud puede variar varios centímetros por segundo. Si el movimiento del fluido es bastante grande, la fuerza de fricción viscosa puede exceder la fuerza de radiación acústica y destruir la separación ^[83, 96]. En este capítulo se utilizarán las ecuaciones de segundo orden obtenidas de la solución aproximada por el método de perturbación que describen la corriente acústica y su aproximación por capa límite aplicando el criterio de velocidad normal sobre la superficie de la esfera.

4.1 Distribución de presión en corriente acústica

La interacción de cantidades armónicas de primer orden en la capa límite puede introducir una distribución promedio de segundo orden en el movimiento del fluido.

Vamos a considerar la generalización de fluido no viscoso, tal como se formuló en el apartado 2.4 con la aproximación por el método de perturbación las condiciones de estado no estacionario se expresan como una contribución de equilibrio y otra de perturbación; en base a ello se planteó la

aproximación de orden cero que nos conduce directamente a condiciones de equilibrio en ρ_0, p_0, \mathbf{p} ecuaciones (2.43 - 2.45). Similarmente con las ecuaciones de primer orden (2.48 – 2.50) se obtuvo la generalización de distribución en acústica que nos conducen a la conocida ecuación Helmholtz (2.68).

Siguiendo esto pasamos a la aproximación de segundo orden que involucra la fluctuación en la ecuación de continuidad viscosa ecuación (2.51), en la referencia ^[128] plantea el análisis para un flujo no viscoso partiendo de la definición de la densidad de flujo de masa promediado en el tiempo es idénticamente igual a cero.

Las corrientes de flujo en acústica son el producto de transferencia de momentum, luego el tiempo promedio de la velocidad de segundo orden está relacionado con la velocidad de corriente, entonces esto se atribuye a la transferencia de momentum debido al esfuerzo viscoso y atenuación acústica.

Tomando el promedio en el tiempo de la ecuación de continuidad (2.51):

$$\langle \partial_t \rho_{2,vis} \rangle + \langle \rho_0 \nabla \cdot v_{2,vis} \rangle + \langle \nabla \cdot (\rho_{1,vis} v_{1,vis}) \rangle = 0 \quad (4.1)$$

$$\rho_0 \langle \nabla \cdot v_{2,vis} \rangle + \langle \nabla \cdot (\rho_{1,vis} v_{1,vis}) \rangle = 0 \quad (4.2)$$

Similarmente en la ecuación de momentum aproximada de segundo orden (2.52) se tiene:

$$\rho_0 \langle (v_{1,visc} \cdot \nabla) v_{1,visc} \rangle + \langle \rho_{1,visc} \partial_t v_{1,visc} \rangle = -\langle \nabla p_{2,visc} \rangle + (\eta + \beta) \langle \nabla^2 v_{2,visc} \rangle \quad (4.3)$$

Retomando la forma de la ecuación (2.79) de la densidad de fuerza sobre el cuerpo $F_{1,i}$ en la ecuación (4.3):

$$\nabla \langle p_{2,visc} \rangle = -\rho_0 \langle (v_{1,visc} \cdot \nabla) v_{1,visc} \rangle - \langle \rho_{1,visc} \partial_t v_{1,visc} \rangle + (\eta + \beta) \langle \nabla^2 v_{2,visc} \rangle \quad (4.4)$$

$$\begin{aligned} \nabla \langle p_{2,visc} \rangle = & -\rho_0 \langle (v_{1,visc} \cdot \nabla) v_{1,visc} \rangle - \langle \partial_t (\rho_{1,visc} v_{1,visc}) - v_{1,visc} \partial_t \rho_{1,visc} \rangle \\ & + (\eta + \beta) \langle \nabla^2 v_{2,visc} \rangle \end{aligned} \quad (4.5)$$

Insertando la ecuación (2.48) en (4.5) a fin de eliminar la densidad de primer orden viscoso:

$$\nabla \langle p_{2,visc} \rangle = -\rho_0 \langle (v_{1,visc} \cdot \nabla) v_{1,visc} \rangle - \langle \partial_t (\rho_{1,visc} v_{1,visc}) + \rho_0 v_{1,visc} (\nabla \cdot v_{1,visc}) \rangle + (\eta + \beta) \langle \nabla^2 v_{2,visc} \rangle \quad (4.6)$$

Esta ecuación se reduce aplicando el operador de tiempo promedio en:

$$\nabla \langle p_{2,visc} \rangle = -\rho_0 \langle (v_{1,visc} \cdot \nabla) v_{1,visc} \rangle - \langle \rho_0 v_{1,visc} (\nabla \cdot v_{1,visc}) \rangle + (\eta + \beta) \langle \nabla^2 v_{2,visc} \rangle \quad (4.7)$$

Los dos primeros términos de la ecuación (4.7) del lado derecho se pueden agrupar, siendo considerados estos como términos de primer orden de la densidad de fuerza de cuerpo viscoso:

$$\langle F_{visc} \rangle = \rho_0 \langle (v_{1,visc} \cdot \nabla) v_{1,visc} \rangle + \langle \rho_0 v_{1,visc} (\nabla \cdot v_{1,visc}) \rangle \quad (4.8)$$

Obteniendo el gradiente de presión aproximada de segundo orden viscoso en acústica:

$$\nabla \langle p_{2,visc} \rangle = -\langle F_{visc} \rangle + (\eta + \beta) \langle \nabla^2 v_{2,visc} \rangle \quad (4.9)$$

Sin pérdida de generalidad la densidad de fuerza sobre el cuerpo se puede escribir como la contribución de un gradiente para una parte de amortiguamiento y otra parte no amortiguada, luego la ecuación (4.9) toma la forma:

$$\nabla \langle p_{2,visc} \rangle - \langle \nabla f_{no\ amort} \rangle = -\langle \nabla f_{amort} \rangle + (\eta + \beta) \langle \nabla^2 v_{2,visc\ global} \rangle \quad (4.10)$$

Esta ecuación representa que el sistema es dependiente de la presión de segundo orden viscoso juntamente con el componente no amortiguado de flujo, el cual determinara la distribución de presión acústica por efecto de las corrientes acústicas en el caso amortiguado.

4.2 Teoría de capa límite para la corriente acústica

El radio de la partícula esférica se toma mayor que la amplitud de desplazamiento del fluido oscilante, pero menor que la longitud de onda de la distribución del sonido. Solamente el límite de alta frecuencia se considera, para una capa límite oscilatoria de Stokes λ_v es mucho más pequeño que el radio de la esfera, y los efectos de corriente de la capa de límite son más pronunciados^[137].

$$\lambda \gg l_{\text{característica}} \gg \lambda_v \quad (4.11)$$

Los efectos volumétricos se podrían tratar con condiciones límite de deslizamiento al no deslizamiento tal como se plantea en^[42, 93, 128].

Aquí como se puede asumir que el comportamiento de la distribución de velocidad de primer orden será similar al de segundo orden en el entorno de la región de flujo de capa límite.

Dado que la densidad y la presión pueden ser asumidos independientes del tiempo entonces:

$$\rho = \rho_{\text{ref}} + \rho_{\text{acústica}} \quad (4.12)$$

$$p = p_{\text{ref}} + p_{\text{acústica}} \quad (4.13)$$

Las ecuaciones de continuidad y de momentum respectivamente para capa límite son:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{v}) = 0 \quad (4.14)$$

$$\rho \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + \rho \nabla \cdot \mathbf{v} = -\nabla p + \mu \nabla^2 \mathbf{v} \quad (4.15)$$

En lo que sigue se determina la velocidad de la corriente acústica por medio de la expresión de velocidad de una onda acústica estacionaria y la aplicación de aproximación por el método de perturbación aplicado a las esferas de la partícula suspendidas en el fluido.

Ahora bien matemáticamente para una onda acústica estacionaria con velocidad local unidimensional se tiene ^[42]:

$$u_z = U_\infty \cos\left(kz + \frac{\pi}{2}\right) e^{i\omega t} \quad (4.16)$$

$$u_z = -U_\infty \sin(kz) e^{i\omega t} \approx -U_\infty \left[kz - \frac{k^3 z^3}{3!} \right] e^{i\omega t} \quad (4.17)$$

Para una partícula esférica pequeña en el nodo (ecuación 4.11), la ecuación anterior se puede aproximar al primer término:

$$z = r \cos\theta$$

$$u_z = -U_\infty k z e^{i\omega t} = -U_\infty k r \cos\theta e^{i\omega t} \quad (4.18)$$

Mientras que el medio dentro de la capa límite cerca de la esfera vibra rotacionalmente, para resolver la condición límite de no deslizamiento en la pared, el medio fuera de la capa vibra irrotacionalmente con el campo de sonido. Por lo tanto, la distribución de flujo se puede escribir como una función potencial que satisface la ecuación (4.17):

$$\psi_{z \rightarrow \infty} = \frac{-U_\infty}{k} \cos(kz) e^{i\omega t} \quad (4.19)$$

Expandiendo la serie $\cos(kz)$ en la ecuación anterior e insertando la ecuación (4.18):

$$\psi_{r \rightarrow \infty} = \frac{U_\infty}{k} \left[1 - \frac{(kr)^2}{2!} \cos^2\theta + \dots \right] e^{i\omega t} \quad (4.20)$$

$$\psi_{r \rightarrow \infty} = \frac{U_\infty}{k} \left[1 - \frac{(kr)^2}{3} \left(\frac{3}{2} \cos^2\theta - \frac{1}{2} + \frac{1}{2} \right) + \dots \right] e^{i\omega t} \quad (4.21)$$

Usando el polinomio de Legendre con $n=2$:

$$\psi_{r \rightarrow \infty} = \frac{U_{\infty}}{k} \left[1 - \frac{(kr)^2}{3} P_2(\cos\theta) - \frac{(kr)^2}{6} + \dots \right] e^{i\omega t} \quad (4.22)$$

Las condiciones límite para las ecuaciones (4.14) y (4.15) son:

$$\begin{aligned} u &= 0 & r &= r_0 \\ \psi_{r \rightarrow \infty} &= \frac{-U_{\infty}}{k} \left[1 - \frac{(kr)^2}{3} P_2(\cos\theta) - \frac{(kr)^2}{6} + \dots \right] e^{i\omega t} & r &= \infty \end{aligned} \quad (4.23)$$

4.3 Método de perturbación en capa límite

El método de la perturbación se emplea para derivar el campo del flujo para la situación cuando una partícula esférica se coloca en el nodo de velocidad ^[32].

Esta solución es aplicable para una esfera pequeña colocada en el antinodo de velocidad de una onda acústica estacionaria con $r_0 \ll \lambda$.

Por el método de perturbación independiente del tiempo se tiene:

$$v = v_0 + \epsilon v_1 + \mathcal{O}(\epsilon^2) \quad (4.24)$$

$$p = p_0 + \epsilon p_1 + \mathcal{O}(\epsilon^2) \quad (4.25)$$

$$\rho = \rho_0 + \epsilon \rho_1 + \mathcal{O}(\epsilon^2) \quad (4.26)$$

4.4 Solución de orden cero

La ecuación de momentum por el método de perturbación para orden cero es:

$$\rho_{ref} \frac{\partial v_0}{\partial t} = -\nabla p_0 \quad (4.27)$$

La ecuación expresa la estructura no solenoidal de un potencial de velocidad, luego por similitud con la ecuación (2.66) se tiene entonces:

$$p_0 = -\rho_{ref} \partial_t \psi_0 \quad (4.28)$$

Entonces resulta de la ecuación (4.24) para $r \rightarrow \infty$ la distribución de presión en la corriente acústica es igual:

$$p_{r \rightarrow \infty} = \frac{-i\omega \rho_{ref} U_\infty}{k} \left[1 - \frac{(kr)^2}{3} P_{2(\cos\theta)} - \frac{(kr)^2}{6} + \dots \right] e^{i\omega t} \quad r = \infty \quad (4.29)$$

En la superficie de la esfera la velocidad normal es cero:

$$u_0 = \frac{\partial \psi_0}{\partial r} = 0 \quad r = 1 \quad (4.30)$$

Manipulando la ecuación (4.22) a fin de que cumpla la condición límite anterior:

$$\psi_0 = \frac{-U_\infty}{k} \left[1 - \frac{k^2}{3} \left(r^2 + \frac{2}{3r^3} \right) P_{2(\cos\theta)} - \frac{k^2}{3} \left(\frac{r^2}{2} + \frac{1}{r} \right) + \dots \right] e^{i\omega t} \quad (4.31)$$

De igual manera la presión en la superficie de la esfera según la ecuación (4.28) resulta:

$$p_0 = \frac{-i\omega \rho_{ref} U_\infty}{k} \left[1 - \frac{k^2}{3} \left(r^2 + \frac{2}{3r^3} \right) P_{2(\cos\theta)} - \frac{k^2}{3} \left(\frac{r^2}{2} + \frac{1}{r} \right) + \dots \right] e^{i\omega t} \quad (4.32)$$

Como la velocidad del fluido sobre la superficie de la partícula esférica es debido a la contribución de velocidad normal y tangencial se tiene entonces que la velocidad de capa límite de la corriente acústica es una contribución radial y azimutal ^[97]:

$$v^b = v_r^b + v_\theta^b \quad (4.33)$$

De donde la ecuación de momentum de orden cero para el componente normal, permite establecer que en capa límite la presión es esencialmente constante y perpendicular a la superficie, entonces no es función de la dirección normal:

$$\frac{\partial p_0^b}{\partial r} = 0 \quad r = 1 \quad (4.34)$$

Lo cual reduciría a la ecuación (4.32) a una función independiente de la dirección normal y establecer a su vez la condición límite de la velocidad tangencial de capa límite en la superficie de la esfera:

$$p_0^b = \frac{-i\omega\rho_{ref}U_\infty}{k} \left[1 - \frac{5k^2}{9} P_2(\cos\theta) - \frac{k^2}{2} + \dots \right] e^{i\omega t} \quad (4.35)$$

$$v_{\theta 0}^b = 0 \quad r = 1 \quad (4.36)$$

La condición límite de la ecuación (4.36) debe cumplirse para la ecuación de momentum del componente tangencial:

$$\rho_{ref} \frac{\partial v_{\theta 0}^b}{\partial t} = -\frac{\partial p_0^b}{\partial \theta} + \mu \frac{\partial^2 v_{\theta 0}^b}{\partial r^2} \quad (4.37)$$

De la ecuación (4.35) resulta:

$$\frac{\partial p_0^b}{\partial \theta} = -\frac{5ki\omega\rho_{ref}U_\infty}{3} \cos\theta \operatorname{sen}\theta e^{i\omega t} \quad (4.38)$$

Por tanto a fin de poder cumplir con la ecuación (4.37) el componente de velocidad tangencial de capa límite será igual:

$$v_{\theta 0}^b = \frac{5kU_\infty}{3} \cos\theta \operatorname{sen}\theta \left[1 + e^{-(1+i)\sqrt{\frac{\rho_{ref}\omega}{2\mu}}(r-1)} \right] e^{i\omega t} \quad (4.39)$$

Similarmente el componente de velocidad normal se obtiene a partir de la ecuación de continuidad y la condición límite en la superficie de la partícula esférica:

$$\frac{\partial \rho_0^b}{\partial t} + \rho_{ref} \frac{\partial v_{r 0}^b}{\partial r} + \frac{\rho_{ref}}{\operatorname{sen}\theta} \frac{\partial (v_{\theta 0}^b \operatorname{sen}\theta)}{\partial \theta} = 0 \quad (4.40)$$

$$v_{r 0}^b = 0 \quad r = 1 \quad (4.41)$$

Aplicando el criterio de orden cero es posible obtener la densidad en la superficie ρ_0^b de capa límite de la ecuación (4.34) e insertando (4.37), se desarrollan las derivadas de la ecuación (4.38), (4.40) se tiene entonces que el componente resultante para la velocidad normal de capa límite para la corriente acústica es:

$$\begin{aligned}
 v_{r0}^b &= -kU_\infty \left[\left(1 - \frac{k^2}{2}\right) (r-1) \right. \\
 &+ \left. \left[\left(\frac{10}{3} - \frac{5k^2}{9}\right) (r-1) + \frac{10}{6} (1-i) \sqrt{\frac{2\mu}{\rho_{\text{ref}}\omega}} \left(1 - e^{-(1+i)\sqrt{\frac{\rho_{\text{ref}}\omega}{2\mu}}(r-1)}\right) \right] P_{2(\cos\theta)} \right] e^{i\omega t}
 \end{aligned}
 \tag{4.42}$$

CAPITULO V

SIMULACIÓN NUMÉRICA COMPUTACIONAL

La distribución laminar de velocidad en la suspensión de partículas dentro del microdispositivo permite asumir la constancia de trayectoria en las partículas.

La operación de separación utiliza ondas acústicas estacionarias (standing wave) a través del microcanal principal, cierto tipo de partículas se dirigen al plano nodal axial del microcanal y las restantes hacia el plano antinodal de presión acústica, obteniendo dos concentraciones de partículas en las salidas. Es posible identificar un rango de frecuencias resonantes en el dispositivo y el funcionamiento asociado con la separación ^[95, 110].

Un balance de fuerzas sobre la superficie de la partícula conlleva a poder controlar su movimiento y velocidad de aglomeración. Por efecto de los componentes de las fuerzas ejercidas sobre la partícula se determina las trayectorias de estas al ser sometidas a la fuerza de radiación acústica.

Se va a desarrollar en este capítulo la implementación del modelamiento de separación de partículas de eritrocitos/lípidos por el uso del microdispositivo propuesto por Martin Hill ^[56, 60, 67, 68, 144], si bien el autor utiliza el microdispositivo para separar partículas de látex y esporas “bacillus globilli”, se mostrara por simulación que es posible separar de la sangre humana los eritrocitos de los lípidos utilizando este microdispositivo, asimismo se plantea la dependencia de la frecuencia de actuación sobre la fuerza de radiación acústica que no se ha tenido en cuenta en estudios de aplicación de la acustifóresis en flujo continuo utilizados en la separación de componentes de la sangre humana ^[36, 86, 87, 88, 110, 112, 146].

Se plantea la acción de la frecuencia de actuación sobre la fuerza de radiación acústica, la cual determina su influencia sobre los componentes de la fuerza de radiación y el hecho por el cual es posible la separación o la formación de corrientes acústicas en la microcámara resonante, este planteamiento no ha sido tratado en la separación de partículas por acustifóresis [6, 7, 9, 12,17, 28, 33, 42, 52,55 57, 64, 109, 111, 144]

5.1 Implementación de la simulación.

En el capítulo III se ha desarrollado y presentado como se obtiene la expresión generalizada de la presión de radiación acústica sobre una esfera (ecuación 3.91), las cuales conducen al análisis de la distribución de presión acústica mediante dos teorías conocidas [7, 9, 12, 29, 55, 66,77, 111, 143].

En el caso unidimensional la teoría de Yosioka, la cual predice que las partículas se desplazan a los nodos o antinodos de presión de acuerdo a sus propiedades físicas [9, 63, 85, 110]:

$$\langle F_{rad} \rangle = \frac{\pi P_0^2 V \beta_0}{2\lambda} \phi_{(\beta, \rho)} \text{sen} \left(\frac{4\pi z}{\lambda} \right) \quad (5.1)$$

$$\phi_{(\beta, \rho)} = \frac{5\rho_p - 2\rho_0}{2\rho_p + \rho_0} - \frac{\beta_p}{\beta_0} \quad (5.2)$$

En el caso de dos o más dimensiones la teoría de Gor'kov, considera que las fuerzas actúan en todas las direcciones, lo cual es dado por un promedio en el tiempo del gradiente negativo del potencial de radiación definido [43, 60, 62, 89, 93, 143].

$$\langle F_{rad} \rangle = -\nabla \langle U \rangle \quad (5.3)$$

$$\langle U \rangle = 2\pi r_0^3 \rho_0 \left[\frac{1}{3} \frac{\langle p^2 \rangle}{\rho_0^2 c_0^2} f_1 - \frac{1}{2} \langle v^2 \rangle f_2 \right] \quad (5.4)$$

$$f_1 = 1 - \frac{\rho_0 c_0^2}{\rho_p c_p^2} \quad (5.5)$$

$$f_2 = 2 \frac{\rho_p - \rho_0}{2\rho_p + \rho_0} \quad (5.6)$$

Donde:

P_0	Amplitud de presión del sonido.
V	Volumen de la partícula.
z	Distancia de un nodo de presión.
λ	Longitud de onda ultrasónica.
$\phi_{(\theta,\rho)}$	Factor adimensional.
ρ_p	Densidad de la partícula.
ρ_0	Densidad del medio.
β_p	Compresibilidad de la partícula.
β_0	Compresibilidad del medio.
c_0	Velocidad de sonido del medio.
c_p	Velocidad de sonido de la partícula.
$\langle p \rangle$	Amplitud de presión promediada en el tiempo.
$\langle v \rangle$	Velocidad de amplitud promediada en el tiempo.

5.2 Condiciones límite

Las condiciones límite definen la naturaleza de como la simulación computacional sobre los contornos de un dominio, responden a un gradiente de potencial incidente sobre ellos; dado que la propagación de sonido es elástica las ondas de sonido se transmiten por los medios de forma ordinaria, en tanto que la interacción acústica sobre estructuras crea una aceleración estructural sobre este dominio a través del contorno fluido/sólido; lo que sigue es la presentación de condiciones de frontera que emplea COMSOL 4.3 y se emplean en el análisis de formulación acústica^[29, 103] como:

Frontera rígida: La condición de frontera de sonido rígida se refiere al componente normal de aceleración cero para una densidad de fluido constante:

$$\frac{\partial p}{\partial r} = 0 \quad (5.7)$$

Frontera flexible: En la condición de frontera flexible el diferencial de presión es despreciable entonces:

$$p = 0 \quad (5.8)$$

Fuente de presión: La condición límite para una presión acústica específica constante:

$$p = p_0 \quad (5.9)$$

Condición límite de impedancia: La condición límite de impedancia es una generalización de las condiciones límite de sonido rígido y flexible:

$$\left[\frac{1}{\rho_0} \frac{\partial p}{\partial r} \right] + \frac{i\omega}{Z_i} p = 0 \quad (5.10)$$

La condición límite de impedancia es una aproximación para una superficie/superficie para la cual la velocidad normal en cualquier momento depende solamente de la presión local en ese punto.

Condiciones límite de radiación: La condición límite de radiación describe una onda saliente del dominio que se modela con reflexiones mínimas.

$$\mathbf{n} \cdot \frac{1}{\rho_0} \frac{\partial p}{\partial r} + [ik + \kappa_{(r)}] \frac{p}{\rho_0} = [ik + \kappa_{(r)} - i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{n})] \frac{p_0}{\rho_0} e^{-i(\mathbf{k} \cdot \mathbf{r})} \quad (5.11)$$

Donde:

- k : Número de onda.
- r : Distancia más corta de un punto sobre la frontera hasta la fuente.
- p_0 : Amplitud de presión.
- $\mathbf{k} = k\mathbf{n}_k$: Vector de onda.
- \mathbf{n}_k : Vector unitario en la dirección de propagación.
- $\kappa_{(r)}$: Función de forma que depende del tipo de onda.

Onda plana: $\kappa_{(r)} = 0$

Onda cilíndrica: $\kappa_{(r)} = \frac{1}{2r}$

Onda esférica: $\kappa_{(r)} = \frac{1}{r}$

Aceleración normal específica: La aceleración normal interna a_n representa una fuente externa, una forma de análisis estructural de acoplamiento:

$$\frac{1}{\rho_0} \frac{\partial p}{\partial r} = a_n \quad (5.12)$$

Condición de interface en la frontera: Sistema de continuidad para límites interiores:

$$\left. \frac{1}{\rho_0} \frac{\partial p}{\partial r} \right|_1 = \left. \frac{1}{\rho_0} \frac{\partial p}{\partial r} \right|_2 \quad (5.13)$$

5.3 Modelamiento

En el dispositivo propuesto por Martin Hill ^[56, 60, 61, 62, 67, 68,144] el modo de operación se realiza en un modo de resonancia fundamental de media longitud de onda (figura 5.1), este microdispositivo es empleado para separar partículas de látex y esporas "bacillus globilli" así como se hace un estudio de impedancia y voltajes. Para este modelo en esta tesis se plantea que es posible separar de la sangre humana las partículas de eritrocitos de los lípidos bajo la acción de la fuerza de radiación acústica, las partículas de eritrocitos serán dirigidas a una franja comprendida en un plano nodal a la cuarta parte de la altura del microcanal y su posterior separación a través de la segunda salida en un modo de operación de cuarta longitud de onda.

Como se aprecia en el microdispositivo de laboratorio de superficie integrado (lab on chip LOC) propuesto por Martin Hill, cuenta con una entrada y dos salidas luego es conveniente que la separación de partículas de eritrocitos de la sangre humana se efectúe por la segunda salida en tanto que la partículas de lípidos lo realice por la primera; esto nos conduce a que se necesite generar un plano nodal en modo de operación de cuarta longitud de onda.

Se considera una distribución laminar parabólica de flujo dentro del compartimiento, las simulaciones estructurales del dispositivo resonador ayudan a determinar el plano al cual las partículas convergen (nodos de presión) y estiman la proporción de partículas capturadas en la superficie ^[111, 144] dentro del área de máxima energía acústica alcanzado.

Entre las variables más importantes se tiene:

- Profundidad de la cavidad.
- Espesor de la capa de Pírex.
- Espesor de la capa de silicio.

La estructura básica se compone de un transductor piezoeléctrico, una capa de pegamento, una capa de silicón, una microcámara de separación para las partículas en suspensión y una placa reflectora de pírex.

El modelo asume que la concentración de partículas no es tan alta como para interrumpir la distribución acústica, por lo cual se utiliza para la simulación computacional una concentración de sangre humana al 40%.

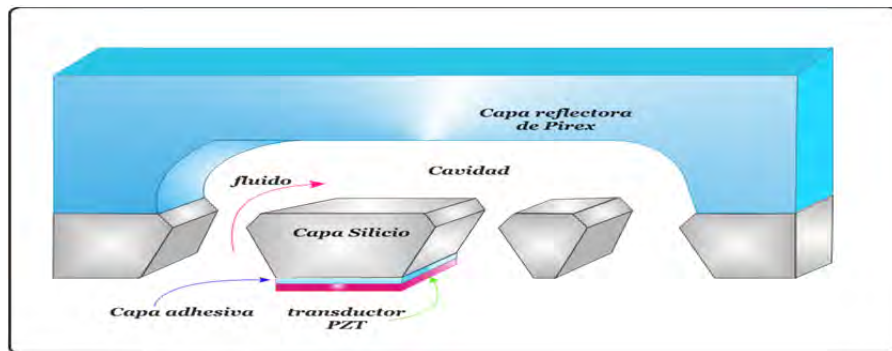


Figura 5.1: Sección transversal del microdispositivo propuesto por Hill [56, 60, 61, 62, 67, 68,144].

La generación de un modo de resonancia $n\lambda/2$ dentro de la capa del reflector impone un mínimo de presión en la interface fluido/reflector, esto significa que la resonancia del dispositivo y por tanto la densidad de energía acústica, esta predominante asociada con el reflector más bien que con la capa del fluido [136, 144, 156].

En la figura 5.2 se muestra la distribución de presión acústica para el modo fundamental de resonancia de operación de cuarta longitud de onda y para una operación de media longitud de onda en el microdispositivo de Hill utilizando COMSOL 4.3.

De la figura se puede observar en el sector de la microcámara, en el caso de un modo de operación en cuarta longitud de onda la presión acústica resultante (figura 5.2b) con la formación de zonas de alta (color rojo) y baja intensidad (color azul) de presión acústica; siendo mayor la

incidencia de fluctuación cuando se aplica un modo de operación de media longitud de onda (figura 5.2d), con lo cual se verifica que un modo de operación en media longitud de onda es más energético y eficiente para la separación de eritrocitos.

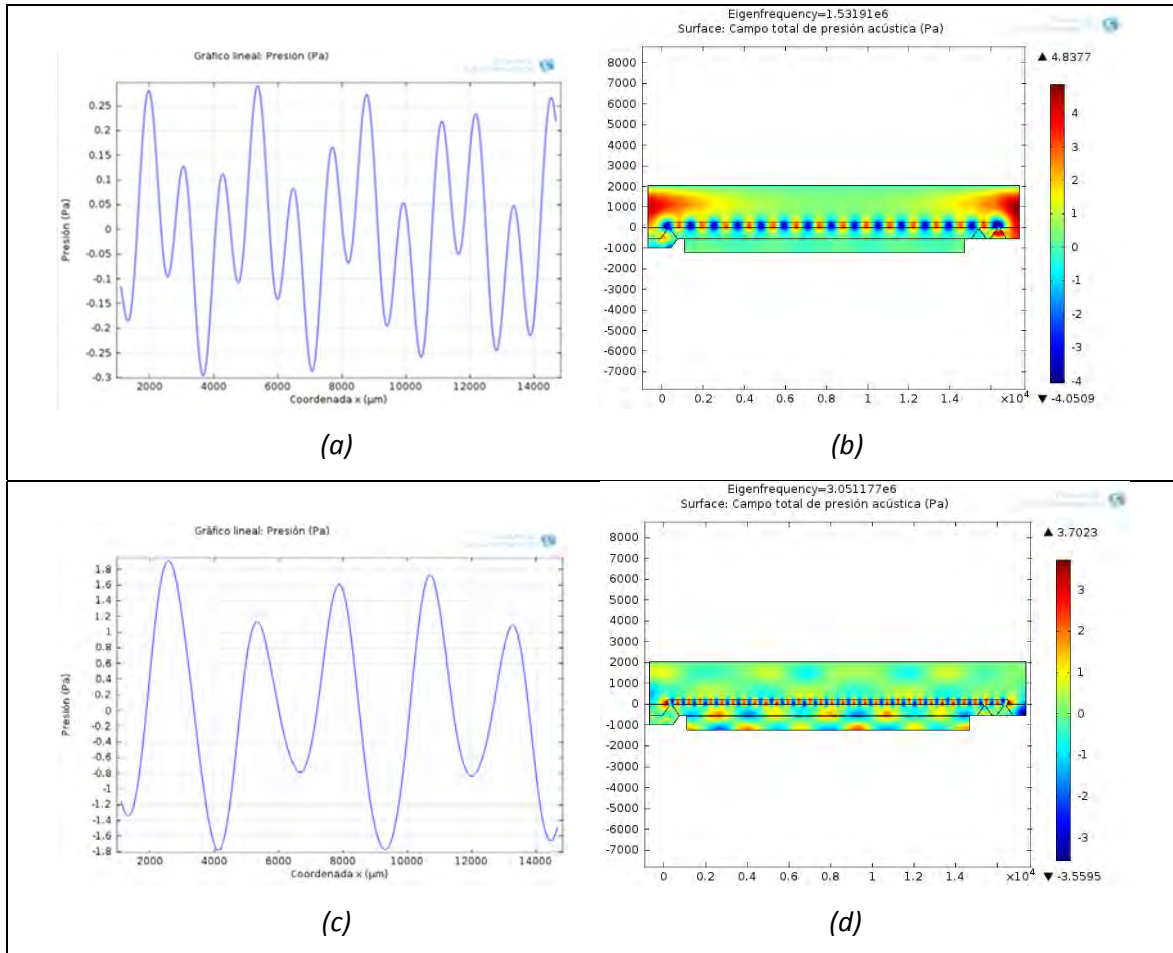


Figura 5.2: Distribución de presión acústica a través de la superficie del microdispositivo de Hill cuando se aplica un modo de operación en cuarta y media longitud de onda. Para un modo de operación de cuarta longitud de onda en el microcanal (a), (b) con $\lambda = 968.07 \mu\text{m}$, $h = 240 \mu\text{m}$, $f = 1.532 \text{ MHz}$. En modo de operación de media longitud de onda en el microcanal (c), (d) con $\lambda = 480.04 \mu\text{m}$, $h = 240 \mu\text{m}$, $f = 3.0512 \text{ MHz}$.

Cuando se varia el espesor del reflector se puede observar en la figura 5.3 que se generan dos nodos de presión, tal que si se aumenta el espesor del reflector $> 1 \text{ mm}$ para una frecuencia de cuarta longitud de onda en el modelo anterior, se observa que un nodo se va acercando más a la superficie del reflector; en tanto para un espesor $< 1 \text{ mm}$ el plano nodal va tendiendo al compartimiento del fluido alejándose de la superficie del reflector^[162]. Con lo cual se verifica que la densidad de energía acústica está asociada con el espesor de la capa del reflector y ello impone

un mínimo de presión acústica en las cercanías de la interface fluido/reflector que es lo que se requiere para este modo de operación planteado y poder efectuar la separación entre las partículas de eritrocitos/lípidos.

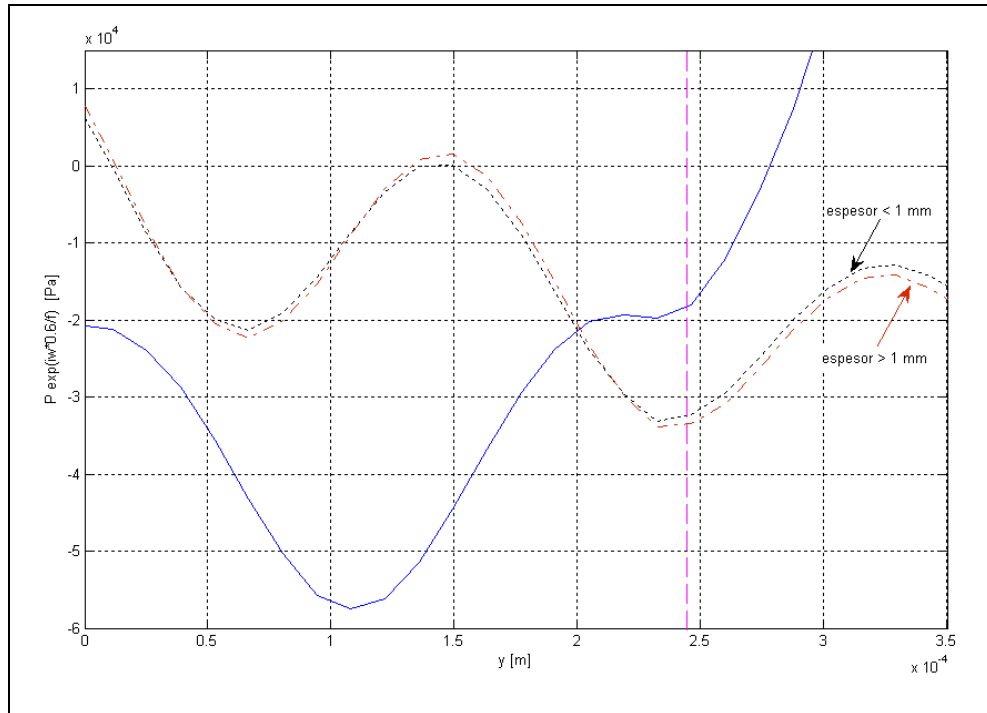


Figura 5.3: Variación del espesor del reflector para el modelo de Hill, observándose la tendencia de dirección del nodo hacia la superficie del reflector y la generación de nuevos nodos de presión para un canal con $h=240 \mu\text{m}$, $\lambda=968.07 \mu\text{m}$, $f=1.532 \text{ MHz}$, en modo de operación de cuarta longitud de onda.

Un análisis estructural de resonancia para las eigenfrecuencias en el modelo de Hill empleando COMSOL 4.3, nos permite apreciar la fluctuación en la presión acústica que se genera a través de las capas micromaquinadas y la sección de energía acústica.

Las eigenfrecuencias resultantes por simulación para el microdispositivo propuesto por Martin Hill (figura 5.1) en MHz son los siguientes para $n_{\text{eigenfrecuencias}} = 10$:

$$\text{Ans} = 1 \times 10^6 * [2.9168 \ 2.9267 \ 2.9572 \ 2.9861 \ 3.0280 \ 3.0512 \ 3.0581 \ 3.0819 \ 3.0951 \ 3.1005]/(\text{MHz})$$

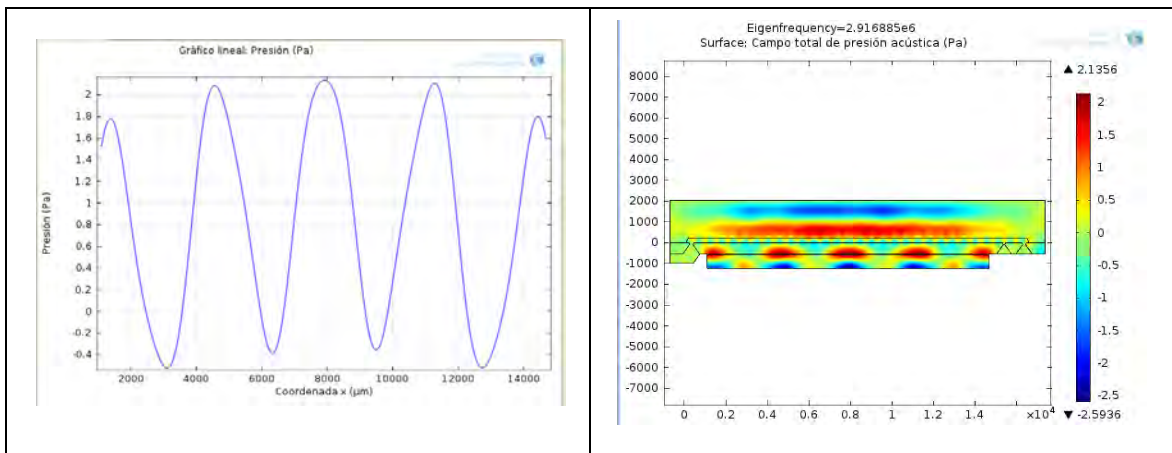


Figura 5.4: Distribución de presión acústica simulada con COMSOL 4.3 a través de las capas del microdispositivo para $f = 2.9168 \times 10^6$ MHz para el modelo propuesto por Hill.

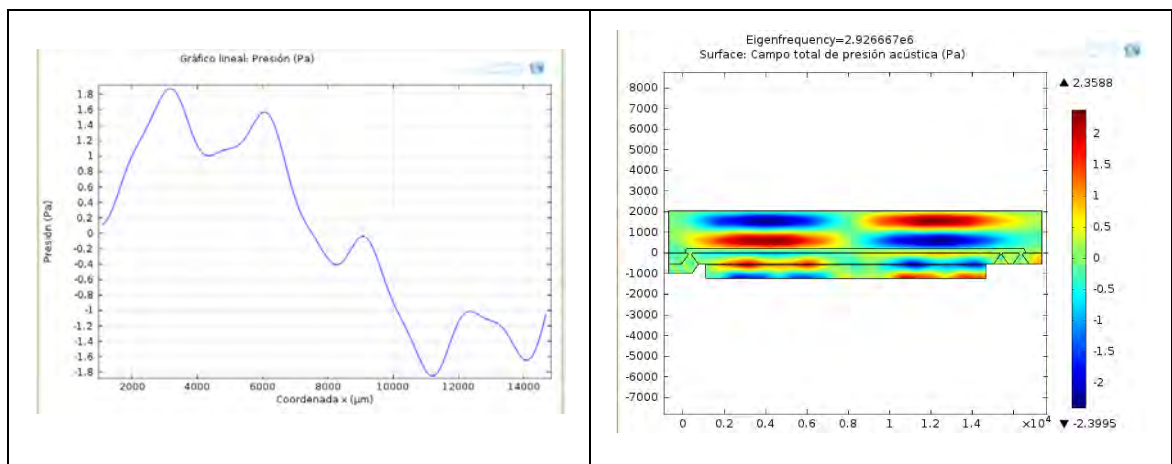


Figura 5.5: Distribución de presión acústica simulada con COMSOL 4.3 a través de las capas del microdispositivo propuesto por Martin Hill para $f = 2.9267 \times 10^6$ MHz

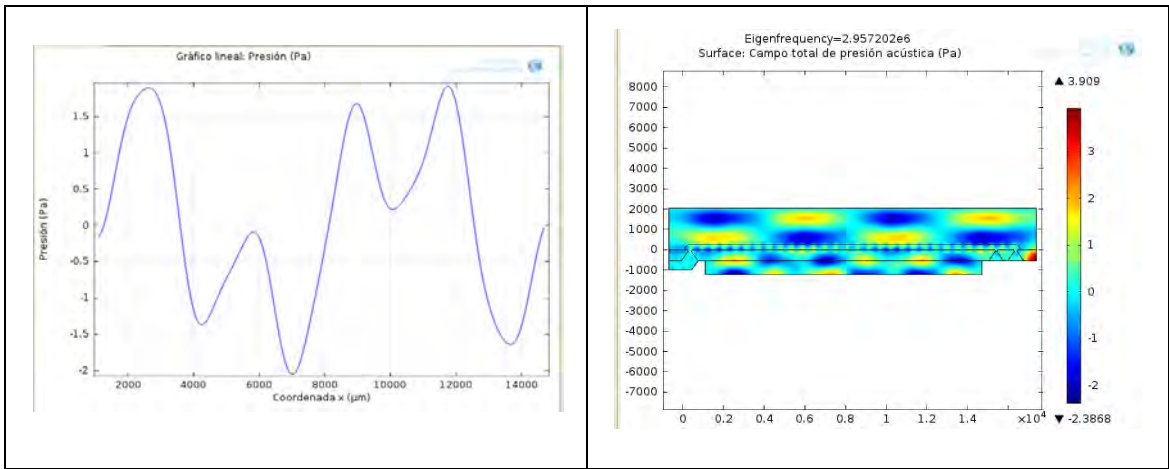


Figura 5.6: Distribución de presión acústica para $f = 2.9572 \cdot 10^6$ MHz

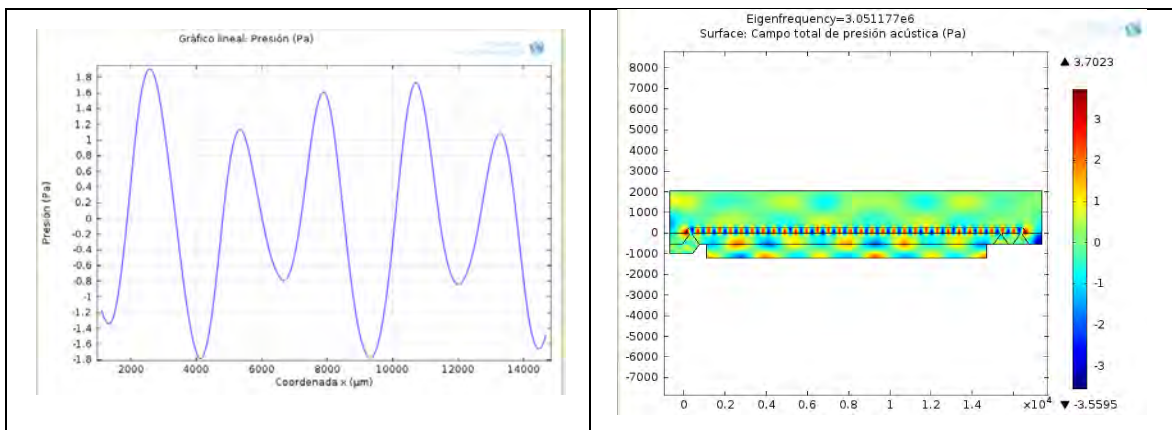


Figura 5.7: Distribución de presión acústica para $f = 3.0512 \cdot 10^6$ MHz

5.4 La sangre humana y sus constituyentes

La fisiología médica define histológicamente la sangre humana como ^[164, 165, 167,173] un tejido conjuntivo compuesto de elementos formados y materia intracelular. Los elementos formados o líquido orgánico intracelular está constituido por los glóbulos blancos, glóbulos rojos y las plaquetas; la materia intracelular o líquido orgánico extracelular es el componente líquido de la sangre llamada plasma en el cual se encuentran los elementos figurados en suspensión.

La sangre actúa manteniendo la composición adecuada y casi constante de los líquidos corporales los que permiten la nutrición, el crecimiento y la función de las células del organismo.

Es de color rojo intenso, con derivados oxigenados de hierro en la hemoglobina, mientras que la sangre desoxigenada es de color rojo oscuro la cual se puede ver en la sangre venosa; la sangre venosa se ve de color azul a través de la piel como resultado de la deflexión de la luz cuando penetra en la piel.

La sangre es el fluido que circula por todo el organismo a través del sistema circulatorio, es un tejido líquido compuesto por agua y sustancias orgánicas e inorgánicas disueltas, que forman el plasma sanguíneo y está constituido por:

- Glóbulos rojos.
- Glóbulos blancos.
- Plaquetas.

Una gota de sangre de 1 mm³ contiene aproximadamente unos 5 millones de glóbulos rojos, de 5000 a 10000 glóbulos blancos y alrededor de 250000 plaquetas ^[164, 168,173].

Las funciones de la sangre en el cuerpo humano son:

Transporte. Es el principal medio de transporte de anticuerpos, ácidos, bases, iones, vitaminas, hormonas, lípidos, pigmentos, metabolitos y minerales en el cuerpo humano; estas sustancias transportadas se encuentran disueltas o enlazadas a proteínas, en el caso de sustancias transportadas por las células se encuentran preferentemente el O₂ y CO₂ enlazadas a la hemoglobina. El sistema circulatorio es el responsable de la homotermia distribuyendo el calor a través de todo el cuerpo.

Hemóstasis. Es un mecanismo complejo que previene la pérdida de sangre a través de los vasos sanguíneos. La detención de la hemorragia es llamada hemóstasis.

Homeóstasis. Es un estado estacionario que proporciona un óptimo desarrollo interno de la función celular, el mantenimiento del pH, suministro de nutrientes, la temperatura, concentración de iones. La homeóstasis es el resultado de un normal funcionamiento de transporte de la sangre, sistema inmunológico y hemostático.

Inmunidad. Los leucocitos en la sangre en conjunción con las proteínas detectan microorganismos y otras sustancias extrañas constituyendo un sistema de defensa ante microorganismos que ingresan por lo general por medio de una infección.

Tabla N° 5.1: Niveles normales de los constituyentes de la sangre ^[164, 165, 167,173]

Células	Diámetro (μm)	Niveles
Eritrocitos	3.0-7.5	Hombres $4.5-6.5 \times 10^6/\text{mm}^3$ Mujeres $3.8-5.8 \times 10^6/\text{mm}^3$
Leucocitos		$5000-10000 /\text{mm}^3$
Neutrófilos	12-15	60 - 70 %
Eosinófilos	12-15	2 - 4 %
Basófilos	12-15	0 - 1 %
Linfocitos	6-8	20 - 30 %
Monocitos	12-20	3 - 8 %
Plaquetas	2-4	$1.5-4.5 \times 10^5/\text{mm}^3$
Hemoglobina		14-18 g/dl en varones 12-16 g/dl en mujeres
Hematocrito		40-54% en varones 37-47% en mujeres
Fibrinógeno		200-450 mg/dl

5.4.1 El plasma sanguíneo

Es la parte líquida de la sangre de sabor salado, color amarillento y en él flotan los demás componentes de la sangre, en el plasma se encuentran las sustancias nutritivas provenientes del sistema digestivo, las sustancias de desecho producidas por los tejidos y las hormonas. Cuando la sangre se pone en contacto con el aire o se interrumpe la circulación, una de las proteínas plasmáticas, el fibrinógeno, se precipita en forma de red (fibrina) dando lugar a la coagulación. Cuando este fenómeno se produce, se obtiene el plasma coagulado como un líquido amarillento y transparente denominado suero sanguíneo.

Está formado en un 90 por ciento de agua, un 7 % de proteínas (fibrinógeno, albúmina y globulinas) y un 3 % de sales inorgánicas las cuales por su importancia en el organismo se agrupan en proteínas plasmáticas y los lípidos del plasma ^[157, 165, 168, 169,172].

5.4.1.1 Proteínas plasmáticas

Las proteínas plasmáticas están constituido por albúminas y varias fracciones de globulinas como el fibrinógeno, inhibidores de las proteasas (antitripsina y macroglobulina), proteínas transportadoras (transferina, haptoglobina y ceruloplasmina; las que se encuentran en equilibrio dinámico entre la formación y su utilización por los tejidos; no existen órganos de depósito. Se forman dependiendo de la ingesta de aminoácidos esenciales.

La mayoría de las proteínas plasmáticas se sintetizan en el hígado ^[168, 170, 171,172], a excepción de las inmunoglobulinas que son elaboradas por los plasmocitos. Una pequeña parte es producida por macrófagos, células endoteliales renales, etc.

5.4.1.2 Lípidos en el plasma sanguíneo

Es un grupo de sustancias muy heterogéneas que se clasifican en dos grupos ^[164, 168, 170,173], atendiendo a que posean en su composición ácidos grasos (Lípidos saponificables) o no lo posean (Lípidos insaponificables). Los ácidos grasos son moléculas formadas por una larga cadena hidrocarbonada de tipo lineal (zona lipófila) y un número par de átomos de carbono. Tienen en un extremo de la cadena un grupo carboxilo $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n\text{-COOH}$ los que se clasifican en dos grupos.

Los ácidos grasos saturados: tienen enlaces simples entre los átomos de carbono como los ácidos mirístico (C₁₄); el palmítico (C₁₆) y el esteárico (C₁₈), las grasas saturadas se encuentran tanto en los alimentos de origen animal (carne de res, aves, productos lácteos enteros) como en los alimentos de origen vegetal (coco, aceite de palma).

Los ácidos grasos insaturados: tienen uno o varios enlaces dobles en su cadena y sus moléculas con cambios de dirección en dónde aparece un doble enlace. Son ejemplos el oleico (C₁₈, un doble enlace) y el linoleico (C₁₈, dos dobles enlaces).

Las grasas mono insaturadas se encuentran en el aceite de oliva, el maní, el aguacate y el aceite de semilla de nabos. La grasa polinsaturada se encuentra en alimentos vegetales como el azafrán, el girasol, el maíz y el aceite de soya. El ácido graso omega-tres (aceite de pescado) es un tipo de grasa polinsaturada que se encuentra en la comida marina, especialmente en los pescados con tejido graso.

Estos lípidos del plasma llegan al plasma sanguíneo a través de las células intestinales, los ácidos grasos libres se combinan con el glicerol para formar triglicéridos y en menor cantidad el colesterol absorbido se esterifica, se transportan como quilomicrones. La lipoproteína más importante es la apo-lipoproteína apo B48, pero la apo C-II contiene un factor para que actúe la lipoproteína lipasa disolviendo los triglicéridos en ácidos grasos. Los quilomicrones remanentes pasan al hígado donde se adhieren a receptores específicos ^[173, 174, 176].

El metabolismo endógeno forma partículas de lipoproteínas de muy baja densidad en el hígado que contienen apo-lipoproteínas apo B-100 y apo-lipoproteínas del tipo E. Su hidrólisis produce lipoproteínas de baja densidad. Esta síntesis final en el hígado genera las proteínas plasmáticas, una parte de estos ácidos grasos lípidos saponificables y lípidos insaponificables que no han sido sintetizados pasan al plasma sanguíneo.

Tabla N^o. 5.2: Componentes básicos del plasma sanguíneo humano ^[166, 168, 172,173]			
Clase : Sustancia	Rango	Clase: Sustancia	Rango
Cationes:		Proteínas:	
Na ⁺	136-145 mEq/L	Albúmina	3.5-5.5 g/dL
K ⁺	3.5-5.0 mEq/L	Globulina	2.3-3.5 g/dL
Ca ⁺²	4.2-5.2 mEq/L	Grasas:	
Mg ⁺²	1.5-2.0 mEq/L	Colesterol	150-200 mg/dL
Fe ⁺³	50-170 µg/dL	Fosfolípidos	150-200 mg/dL
Cu ⁺²	70-155 µg/dL	Triglicéridos	35-160 mg/dL
H ⁺	35-45 nmol/L		
Aniones		Otros:	
Cl ⁻	95-105 mEq/L	Creatinina	0.6-1.2 mg/dL
HCO ₃ ⁻	22-26 mEq/L	Vitamina A	0.15-0.6 µg/ml
SO ₄ ⁻²	0.9-1.1 mEq/L	Vitamina B12	200-800 pg/ml
HPO ₄ ⁻² /H ₂ PO ₄ ⁻	3.0-4.5 mg/dL	Vitamina C	0.4-1.5 mg/dL

5.4.2 Los glóbulos rojos

Denominados eritrocitos o hematíes ^[169, 172, 173], tienen forma de disco bicóncavo con un diámetro de 3 – 7.5 µm, con una vida útil en el cuerpo humano de 120 días siendo destruidos en el bazo, en el hígado y médula ósea por los macrófagos y no en la sangre. En la destrucción eritrocítica la molécula de hemoglobina se desdobra en hematina y globina. De la hematina se separa el hierro, que es utilizado de nuevo o almacenado y la bilirrubina es secretada por el hígado con la bilis.

Esta forma bicóncava favorece tanto la difusión rápida del oxígeno así como su deformación a través del paso capilar por las arterias; el termino poiquilocitosis se refiere a una excesiva variación en la forma de eritrocitos y a la excesiva variación en el tamaño se denomina anisocitosis.

Su formación es regulada por la hormona llamada eritropoyetina (glicoproteína) mediante el proceso de eritropoyesis iniciando con proeritroblasto -- eritroblasto basófilo --ritroblastos policromáticos--eritroblastos ortocromáticos -- reticulocitos -- eritrocitos.

Los eritrocitos contienen la proteína hemoglobina con enlaces reversibles de oxígeno presentes en el citoplasma de las células rojas, siendo su función la de transportar el oxígeno desde los pulmones a los tejidos y también transportar el dióxido de carbono desde los tejidos a los pulmones, la hemoglobina mantiene el equilibrio ácido-base en la sangre. Cuando la hemoglobina está enriquecida en oxígeno (sangre arterializada) aparece de un color rojo brillante y cuando tiene un contenido pobre de oxígeno (sangre venosa) aparece de un color rojo oscuro. Su concentración en los hombres es de 15.5 ± 2.5 g/dL y en las mujeres de 14 ± 2.5 g/dL.

La membrana citoplasmática del eritrocito está asociada al citoesqueleto, compuesto por proteínas como la espectrina, ancrina. La función de esta armazón proteínica determina la forma del glóbulo rojo y permite su necesaria deformación al pasar por capilares muy estrechos. Los esfingolípidos presentes en la membrana constituyen los antígenos para la determinación de los grupos sanguíneos del sistema ABO. El citoplasma tiene afinidad por los colorantes ácidos (eosina) con los que adquiere un tono rosado debido a la presencia de hemoglobina. En general los eritrocitos humanos son células que no presentan en su estructura núcleo, mitocondrias, lisosomas, ribosomas, retículo endoplasmático y aparato de Golgi ^[169,173].

Esto hace que el metabolismo humano sea muy limitado incapaz de sintetizar nuevas proteínas o lípidos por lo que deben obtener su energía metabólica a través de la fermentación láctica, requiriendo una cantidad menor de energía que otras células para su capacidad reductora en los diferentes procesos metabólicos.

La cantidad considerada normal fluctúa entre 4.500.000 (en la mujer) y 5.000.000 (en el hombre) por milímetro cúbico de sangre ^[157] el número depende del oxígeno necesario en el cuerpo y la disponibilidad de oxígeno al pulmón. Una alta producción de eritrocitos se denomina policitemia generando hipoxia estancada y cianosis periférica; para el caso de insuficiencia de eritrocitos como resultado de un proceso patológico se define la anemia (deficiencia de hierro, vitamina B12, ácido fólico)

5.4.3 Los glóbulos blancos

Llamados también leucocitos son células que no tienen color, tienen un tamaño mayor que los glóbulos rojos; tienen la función en el sistema inmunológico de efectuar la fagocitosis y defensa linfocítica. Son de tamaño mayor que los hematíes ^[164, 165, 166, 171], en un recién nacido el número de leucocitos es de 20000 leucocitos/mm³ y decrece en los adultos a 4000-11000 leucocitos/mm³, son células vivas que se trasladan por los capilares y se dedican a destruir microbios y las células muertas que encuentran por el organismo. También producen anticuerpos que neutralizan los microbios que producen las enfermedades infecciosas.

Se originan en la médula ósea roja; pero la mayoría de los linfocitos y monocitos derivan de hemocitoblastos del tejido linfático junto con los tejidos hemopoyéticos.

Los leucocitos se clasifican según la presencia o ausencia de gránulos en su citoplasma y constituyen la parte inmunológica del cuerpo humano.

Leucocitos granulosos: Neutrófilos. Eosinófilos. Basófilos.

Leucocitos no granulosos: Linfocitos. Monocitos.

Tabla N° 5.3: Propiedades físicas glóbulos blancos ^[165, 167]

Células	Diámetro (μm)	Densidad (Kg/m ³)
Leucocitos	5-20	1062-1082
Neutrófilos	12-15	1032-1075
Eosinófilos	12-17	1046
Basófilos	6-8	1029
Linfocitos	4-10	1055-1080
Monocitos	10-30	1060-1067

5.4.3.1 Neutrófilos

Los leucocitos polimorfo nucleares neutrófilos ^[169, 170] son las células predominantes (40 - 75 %) en la sangre periférica del adulto normal. Su tamaño es homogéneo, entre 12 a 15 μm y se caracterizan por presentar un núcleo con cromatina compacta segmentado en 2 a 5 lóbulos

conectados por delgados puentes. Su citoplasma contiene abundantes gránulos finos color púrpura que contienen abundantes enzimas destructoras, así como una sustancia antibacteriana llamada fagocitina, necesarias para la lucha contra los gérmenes extraños.

Es una célula muy móvil y su consistencia gelatinosa le facilita atravesar las paredes de los vasos sanguíneos y migrar hacia los tejidos para destruir microbios y responder a estímulos inflamatorios. La principal función de los neutrófilos es la de detener o retardar la acción de agentes infecciosos o materiales extraños. Su propiedad más importante es la fagocitosis y son capaces de ingerir bacterias y pequeñas partículas.

Su capacidad fagocítica aumenta cuando las bacterias están recubiertas de anticuerpos. Para esto, el neutrófilo emite pseudópodos alrededor de la partícula a ingerir, la rodea y los fusiona, con lo que la misma queda en su interior, englobada por una vacuola fagocítica, donde será destruida con ayuda de las enzimas líticas que posee la célula.

Los neutrófilos en banda, "bastones" o "cayados" es la más inmadura de las células granulocíticas que pueden verse en sangre periférica de personas normales y comprenden aproximadamente 1 a 3% del total leucocitario. En muchas oportunidades, cuando se trata de combatir infecciones bacterianas severas, pueden aumentar su número, ya que la médula ósea los libera antes de terminar su maduración.

5.4.3.2 Eosinófilos

Los eosinófilos son los granulocitos maduros que responden a infecciones parasitarias y condiciones alérgicas, es una célula fácilmente identificable por la presencia de grandes gránulos color naranja en su citoplasma.

El eosinófilo maduro es redondeado ^[165, 168,171] con un diámetro entre 12 a 17 μm y un núcleo generalmente bilobulado. Comprenden entre 1 a 4 % de los leucocitos en sangre periférica.

Los eosinófilos tienen igual actividad motriz que los neutrófilos y aunque poseen propiedades fagocíticas, participan menos en la ingestión y muerte de las bacterias. Un aumento en su número frecuentemente acompaña a reacciones alérgicas o procesos inmunológicos.

5.4.3.3 Basófilos

El menos numeroso de los granulocitos en la sangre periférica, se distingue por sus gránulos oscuros, que con frecuencia oscurecen los detalles del núcleo y que se sabe contienen grandes cantidades de heparina e histamina ^[169, 172, 173]. Comprenden aproximadamente 0.5% del total de leucocitos y de todos los granulocitos, son los que tienen menos movilidad y menor capacidad fagocítica.

Participan en reacciones de hipersensibilidad inmediata, tales como reacciones alérgicas secundarias a picaduras de insectos y están involucrados también en algunas reacciones de hipersensibilidad.

5.4.3.4 Linfocitos

Las funciones del sistema linfático son en general la producción de anticuerpos circulantes y la expresión de la inmunidad celular, hipersensibilidad retardada, rechazo de los injertos y reacciones injerto/huésped. Los linfocitos en la sangre periférica han sido descritos en base a su tamaño y granularidad de su citoplasma, los linfocitos pequeños son los más comunes, con un tamaño entre 4 y 10 μm y su citoplasma se percibe frecuentemente con un anillo periférico alrededor del núcleo.

Dos tipos funcionalmente diferentes de linfocitos son definidos ^[164, 167, 170]: los linfocitos T o timo-dependientes y los linfocitos B o médula ósea dependientes. Aproximadamente el 70 a 80% de los linfocitos en sangre periférica muestran características de células T. Estos tienen una vida media de varios años, así como una gran capacidad y velocidad para recircular entre la sangre y los tejidos.

Además, una vez activadas, son las células efectoras o ejecutoras de la inmunidad celular y secretan sustancias biológicamente activas (linfoquinas) que sirven de mediadores solubles de inmunidad en la respuesta inflamatoria.

Por otra parte, algunos linfocitos T colaboran en la diferenciación de estimulación por antígenos que inducen los linfocitos B en las células plasmáticas, responsables de la producción de anticuerpos circulantes o inmunidad humoral.

5.4.3.5 Monocitos

Son un sistema de células fagocíticas producidas en la médula ósea, que viajan por la sangre para luego emigrar a diferentes tejidos ^[168,173] como el hígado, bazo, pulmones, ganglios linfáticos, huesos, cavidades serosas, etc., para convertirse en macrófagos libres o fijos, cuyas funciones corresponden al sistema mononuclear fagocitario.

Los monocitos varían considerablemente en tamaño entre 10 - 30 μm de diámetro, con una relación núcleo/citoplasma que varía entre 2:1 a 1:1 y su núcleo frecuentemente muestra forma de riñón. Su citoplasma es abundante y de color gris azulado contenedor de muchos y finos gránulos púrpura, pudiendo estar acompañados de vacuolas blanquecinas.

5.4.4 Las plaquetas

Las plaquetas sanguíneas son corpúsculos incoloros anucleados en forma de discos biconvexos, redondos u ovals, cuyo diámetro está comprendido entre 1.5-3 μm . En el hombre su número varía entre 150 000 a 350 000 plaquetas/ mm^3 , contribuyen a la formación de los coágulos en el proceso de hemóstasis, complementada por el fibrinógeno que es una proteína sintetizada en el hígado.

Se distinguen en la plaqueta con la coloración de May Grünwald Giemsa ^[166, 171, 172] dos zonas bien definidas, una porción central compuesta por granulaciones púrpuras denominadas cromómera y una porción periférica homogénea más clara denominada hialómera.

En la cromómera se localizan las mitocondrias, ribosomas, glucógeno, vesículas dilatadas y gránulos. El significado fisiológico de estos gránulos se desconoce aunque se supone que contienen el factor 3, uno de los factores que intervienen en la coagulación.

La hialómera contiene en su porción periférica un anillo constituido por micro túbulos, estos son los responsables del movimiento y contractilidad de las plaquetas y de la formación de los pseudópodos; la contractilidad de las plaquetas es de especial importancia en la adhesividad y coagulación, los micro túbulos están relacionados con la trombostenina, una proteína contráctil del tipo actina.

5.4.5 Análisis de la Sangre Humana

Los análisis de sangre se usan como rutina para ayudar en el diagnóstico de enfermedades, mediante los análisis se puede detectar la presencia de muchas enfermedades habituales y frecuentes como la anemia, la diabetes, infecciones, pero también pueden dar a conocer otras menos frecuentes y más graves como la leucemia.

5.4.5.1 El Hemograma

Es un análisis que se realiza a una muestra de sangre; para la realización del hemograma se requiere adicionar EDTA a la muestra, lo que impide que se coagule. Esta prueba sirve para el recuento de la cantidad y las propiedades de los elementos formes, glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas ^[164, 173]; comprende una parte cualitativa (eritrocitos, leucocitos, plaquetas) y otra parte cuantitativa (hematocrito, hemoglobina).

El hemograma ayuda para el diagnóstico de ciertas infecciones, refleja la capacidad del organismo para reaccionar frente a la enfermedad, sirve de indicador de los progresos del paciente en algunos estados patológicos como la infección y la anemia ^[164, 165, 167, 168].

Hemograma o análisis de células:

- Hematíes (RBC): Los hematíes se encargan del transporte de la hemoglobina y del oxígeno. Gracias a ellos el O₂ que entra en los pulmones llega al resto del cuerpo.
- Número de leucocitos (WCC): Los glóbulos blancos o leucocitos son células de defensa que circulan por el torrente sanguíneo. Existen varios tipos: neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos. El valor total agrupa a la suma de todos ellos; si uno de estos tipos está elevado o disminuido, puede afectar a la cifra global.
- Hemoglobina corpuscular media (HCM): Indica la cantidad de hemoglobina que hay en cada glóbulo rojo. En cierto modo nos está diciendo lo 'rojos' que son los hematíes.
- Plaquetas: Son las células de la sangre encargadas de la hemóstasis, es decir, de cerrar los vasos sanguíneos cuando se produce una herida formando parte del coágulo.
- Velocidad de sedimentación (VSG): Se relaciona directamente con la tendencia que tienen los glóbulos rojos a formar acúmulos y con la cantidad de proteínas que hay en el plasma.

Tabla N° 5.4: Valores normales en sangre humana en el análisis celular ^[164, 165, 167,168].

Item	Valores normales	Referencia
Eritrocitos	V 4.5-5.6 mill./ μ L M 4.2-5.4 mill./ μ L	↑ Tabaquismo, insuficiencia respiratoria, fibrosis pulmonar, deshidratación, cardiopatía, corpulmonar, ↓ Anemia, hemolisis, hemorragia, mieloma multiple, falta hierro, vitamina B12, acido fólico.
Leucocitos	4000-11000/ μ l	↑ Infección aguda, hemorragia, alergia, leucemia ↓ Infección grave, quimioterapia, antibióticos (cloranfenicol), analgésicos (nolotil).
Neutrófilos	2500-6000	↓ Riesgo a infección, neutropenia, leucemia mieloide, apendicitis.
Linfocitos	200-1000	↑ TBC, brucelosis, leucemias monocíticas, recuperación medular.
Eosinófilos	50-300	↑ Asma, alergias, parasitosis, eczema, psoriasis.
Basófilos	0-100	↑ Leucemia mieloide, policitemia vera.
Hemoglobina	14-18g/dl 12-16 g/dL	↓ Insuficiencia renal crónica, deficiencia hormona eritropoyetina, sangrado postoperatorio.
Plaquetas	130000-450000/ml	↑ Enfermedad transitoria, hemorragia aguda. ↓ Infección grave, actividad excesiva del bazo, púrpura trombocitométrica idiopática.
VCM	78-100 fl ^(a)	↑ Déficit vitamina B12, acido fólico. ↓ Talasemia, déficit de hierro.
HCM	27-32 pg ^(b)	↑ Déficit vitamina B12, acido fólico. ↓ Talasemia, déficit de hierro.
VSG	V 10-14 ml/h M 10-20 ml/h	↑ Infecciones, lupus, artritis reumatoide, polimialgia, anemia, embarazo, TBC. Si es mayor a 100 mm/h problema de cáncer, colagenosis. ↓ Policitemia, fallo cardiaco, descenso proteínas.

^(a) fl: femtolitros por hematíe. ^(b) pg: picogramos. V: varones. M: mujeres.

5.4.5.2 Análisis químico / bioquímico de la sangre

En estas pruebas se mide la concentración de las sustancias disueltas en el plasma sanguíneo y partículas en suspensión, así como las funciones hepática y renal; se determina el nivel de minerales (electrolitos), azúcar (glucosa) y grasas (lípidos) ^[166, 168, 169,170]. Se pueden cuantificar otras sustancias en función de la enfermedad y los síntomas de cada paciente.

Análisis bioquímico:

- Glucosa: Mide la cantidad de este azúcar que circula por la sangre. Estas cifras se miden cuando la persona se encuentra en ayunas.
- Creatinina: Es una proteína derivada del músculo que circula por la sangre y se elimina a través de la orina. Se emplea para valorar la función de los riñones.
- Albúmina: Favorece la presión osmótica coloidal para mantener líquidos en el torrente sanguíneo y que no pasen a los tejidos, manteniendo un equilibrio.
- Urea: Es otra medida de la función renal y también del grado de hidratación y de la masa muscular.
- Ácido úrico: Es el producto final del metabolismo de algunos aminoácidos, que a su vez son las sustancias que componen las proteínas. Se elimina fundamentalmente por la orina.
- Bilirrubina: Es un pigmento que se almacena en la vesícula y se elimina por la bilis al tubo digestivo. Se emplea fundamentalmente para valorar la función de la vía biliar y del hígado.
- Transaminasas: Son enzimas que se encuentran en el interior de las células hepáticas (hepatocitos). Existen tres tipos principales: GOT – ALT, GPT – AST, GGT. Sirven para medir la función del hígado.
- Fosfatasa alcalina: Es una sustancia (enzima) presente en diferentes partes del organismo, como el hígado, el hueso o el intestino. Puede alterarse en situaciones de enfermedad, pero también durante el crecimiento.
- Calcio: Mantiene la arquitectura ósea y la transmisión neuromuscular. La falta de Calcio produce excitación de los músculos y de los nervios, al contrario el exceso produce una relajación de los mismos.

- Potasio: Sirve para mantener la carga eléctrica de la membrana celular, para la transmisión de estímulos nerviosos y musculares, para el transporte de nutrientes al interior de las células y la salida de productos de degradación de las mismas.
- Colesterol: Es un lípido o grasa que circula por la sangre y que también está presente en otros tejidos como el hígado o el cerebro. Las cifras normales varían en función de la forma de colesterol.
- Colesterol total: Si la cifra es normal, el nivel de grasas en el organismo es bueno. Cuando está elevado, hay que analizar las otras fracciones de colesterol. Aunque no es frecuente, se puede tener un colesterol total alto porque se tiene un colesterol HDL muy elevado sin que en estos casos sea necesario hacer dieta o tomar tratamientos.
- Colesterol LDL: Los niveles altos se asocian a mayor riesgo de infarto de miocardio y otras enfermedades cardiovasculares. Se deben tener cifras bajas, sobre todo después de haber tenido algún problema cardiovascular (prevención secundaria).
- Colesterol HDL: Las cifras elevadas son protectoras del sistema cardiovascular, de forma que no solo no importa tenerlo alto sino que es el objetivo de algunos tratamientos que esta cifra se eleve, al menos por encima de 35 mg/dL.
- Triglicéridos: Son también un tipo especial de grasas que circulan en la sangre.

Tabla N^o 5.5: Valores normales en sangre humana en el análisis químico ^[166, 168, 169,170]

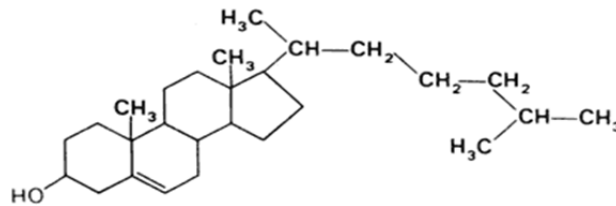
Item	Valores normales	Referencia
Glucosa	70-110 mg/dL	↑ Pre-diabetes, diabetes, síndrome de Cushing, medicación con corticoides. ↓ Hipoglucemia, exceso insulina.
Creatinina	0.6-1.2 mg/dL	↑ Deshidratación, problemas riñón ó en vías urinarias. ↓ Desnutrición.
Albúmina	3.4-5.4 g/dL	↓ Desnutrición, síndrome nefrótico, hepatitis, cirrosis.
Urea	10-40 mg/dL	↑ Deshidratación, insuficiencia renal, individuos mucha masa muscular. ↓ Personas con poca masa muscular.
Ácido úrico	3.4-7 mg/dL	↑ Dieta abundante en proteínas: marisco, carnes, espinaca, recambio celular rápido.
Bilirrubina	0.2-1 mg/dL	↑ Hepatitis, hemólisis, obstrucción piedras en vesícula.
Transaminasas: GOT-ALT GPT-AST GGT	0-37 U/L 0-41 U/L 11-50 U/L	↑ Hepatitis por virus, hígado graso, consumo alcohol, obstrucción vía biliar, quistes, tumores.
Fosfatasa alcalina	40-129 U/L	↑ Obstrucción biliar, crecimiento óseo, raquitismo, recup. fractura ósea, medic. epilepsia/anticonceptivos. ↓ Desnutrición.
Potasio	3.5- mmol/L	↑ Bloqueo cardíaco. ↓ Arritmia cardíaca.
Calcio	84-105 mg/L	↓ Descalcificación, alteración hormona paratiroidea.
Colesterol LDL	100-135 mg/dL	↑ Riesgo de infarto.
Colesterol HDL	40 -60 mg/dL	↑ Dietas ricas en grasas, hipercolesterolemia familiar. ↓ Desnutrición, dietas severas.
Triglicéridos	0-150 mg/dL	↑ Dietas ricas en grasas, hipertrigliceridemia, ingesta elevada de alcohol tabaco.

5.4.6 Lípidos en la sangre

El análisis de la sangre determina un perfil lipídico que mide la cantidad de lípidos que hay en la sangre. Los lípidos que se miden son por lo general el colesterol total, el colesterol HLD, el colesterol LDL y los triglicéridos, cuando los niveles de estos lípidos son anormales existe un mayor riesgo de enfermedad cardíaca y derrame cerebral.

5.4.7 El colesterol

El colesterol es un alcohol que pertenece al grupo de los esteroides cuyos compuestos se les clasifica como lípidos ^[177, 178, 182]. Son necesarios para el buen funcionamiento de la actividad neuronal del cuerpo humano, la formación de membranas en el organismo; pero si se encuentra en exceso puede ser perjudicial. El colesterol total es la suma de los diferentes tipos de colesterol ^[157].



El colesterol es uno solo, se divide en dos tipos por su diferencia de transporte:

Lipoproteína de alta densidad (HDL).

Lipoproteína de baja densidad (LDL).

Para que el colesterol y los ácidos grasos sean transportados en la sangre y usados por las células, el cuerpo debe usar un tipo de proteína llamada apoproteína para transportar los lípidos a través de la sangre al interior de las células. Estas grasas ligadas a proteínas se llaman lipoproteínas ^[174, 176, 179].

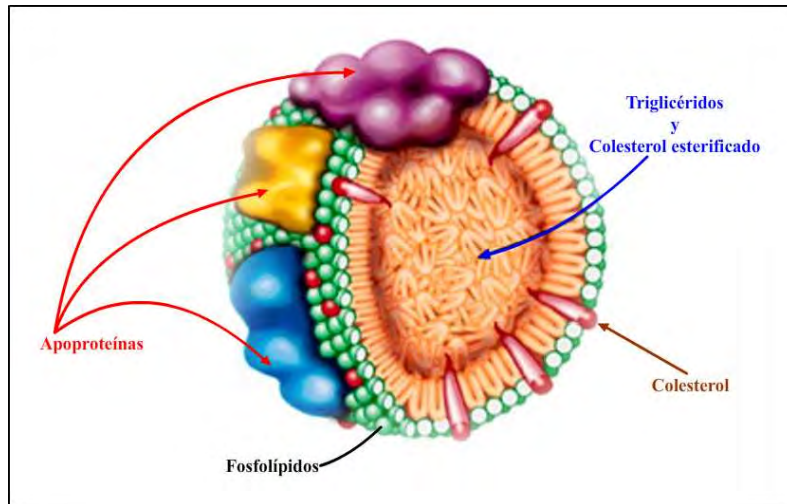


Figura 5.8: Esquema estructura de las lipoproteínas.

Las lipoproteínas se definen como macromoléculas compuestas por lípidos y proteínas, cuya función es envolver los líquidos insolubles en el plasma provenientes de los alimentos y los sintetizados por el organismo humano, transportándolos desde el intestino y el hígado a los tejidos periféricos y viceversa; devolviendo el colesterol al hígado para su eliminación del organismo en forma de ácidos biliares.

Tabla N° 5.6: Límites de concentración de colesterol.	
Nivel (mg/dl)	Interpretación
<200	Óptimo
200-239	Alto
>240	Muy alto.

Fuente: Asociación Americana del Corazón.

5.4.8 Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

Está constituida por lipoproteínas heterogéneas (diferentes partículas, tamaños, porcentajes proteínas/lípidos). La HDL va adquiriendo colesterol de los tejidos periféricos y transportan este nuevo colesterol al hígado ^[174, 175, 176, 179], donde se excreta después de la conversión en ácidos biliares (función transporte de colesterol inverso). Son las lipoproteínas más pequeñas (5-25 nm) y más densas (1019-1210 Kg/m³) y ejercen una función anti-inflamatoria, antioxidante y un efecto vaso dilatador.

A medida que el HDL3 circula por el torrente sanguíneo recoge más colesterol y mediante la acción de la lipoproteína acil-colesterol-transferasa genera más ésteres de colesterol. Como el HDL3 migra a través de la vasculatura existe una interacción con las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y de baja densidad (LDL) ^[176, 179], esta interacción se produce a través de la acción de la transferencia de la proteína de éster del colesterol que intercambia los ésteres de colesterol de la HDL3 con los de LDL, esto produce una conversión de partículas HDL3 a HDL2 por lo cual incrementa su tamaño.

Está compuesto por apo lipoproteínas periféricas, α -lipoproteína designada con la letra A, hay 3 tipos de HDL: HDL1, HDL2 y HDL3.

Tabla N° 5.7: Especificación de propiedades de lipoproteínas (HDL)				
Lipoproteína	Diámetro (nm)	Densidad (Kg/m ³)	Proteínas (%)	Lípidos (%)
HDL1	20-25	1019-1063	32	68
HDL2	10-20	1063-1125	33	67
HDL3	5-12	1125-1210	57	43

Fuente: Centro Médico Universidad de Maryland (UMMC).

Tabla N° 5.8: Límites de concentración de lipoproteínas HDL		
Nivel HDL		Interpretación
mg/dl	mmol/L	
<40	<1.03	Riesgo enfermedad cardíaca.
40-59	1.03-1.52	Nivel medio.
>60	>1.55	Óptima protección cardíaca.

Fuente: Asociación Americana del Corazón

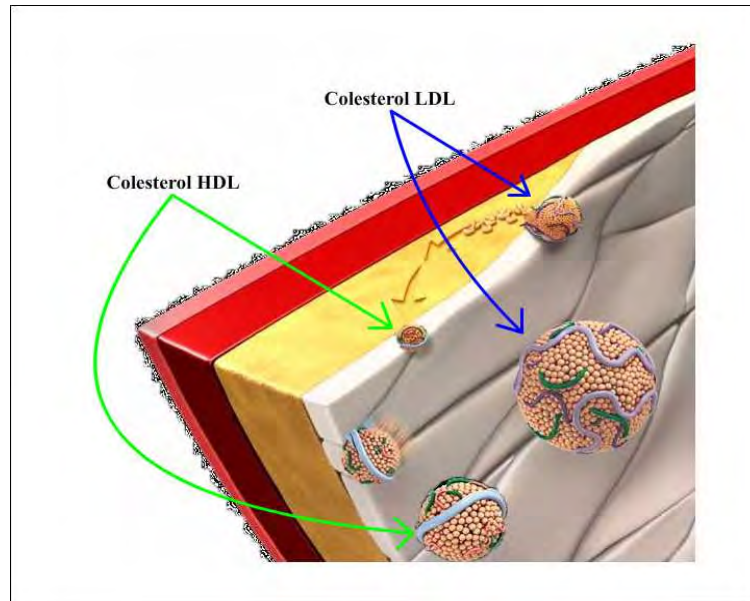


Figura 5.9: Bosquejo del colesterol LDL en el flujo sanguíneo e inicio de aterosclerosis que conduce al endurecimiento de arterias (arteriosclerosis).

5.4.9 Lipoproteínas de baja densidad (LDL)

Este tipo de lípido normalmente no es dañino, salvo cuando existe alguna afección en las paredes internas de las arterias sanguíneas en donde se acumulan; los radicales libres liberados por las membranas de la pared se unen a la LDL y modifican su forma a LDL oxidada (LDLc) ^[176, 178, 180] esta estimula a los glóbulos blancos del sistema inmune a reunirse en ese lugar, formando una sustancia grasa llamada placa y causando inflamación consecuente.

La aterosclerosis se inicia por una lesión en el endotelio vascular por factores diversos (hipoxia, hipertensión, virus, radicales libres, citosinas, lipoproteínas oxidadas), produciendo un aumento en la permeabilidad arterial a los distintos componentes del plasma incluidos las lipoproteínas LDL que están circulando en el torrente sanguíneo.

El sistema inmunológico llevan a los monocitos y plaquetas al sitio donde se ha producido la lesión y ambos atraviesan la capa de células endoteliales, llegando a la capa íntima; allí los monocitos se transforman en macrófagos y captan por sus receptores de eliminación las lipoproteínas aterogénicas ^[180, 181] principalmente las LDL las cuales completan su oxidación por

peroxidación lipídica y por acción del radical libre 'NO' que se libera en grandes cantidades como respuesta a la lesión.

Como consecuencia de estos procesos, los macrófagos almacenan colesterol en su interior, adquiriendo el aspecto característico de células espumosas formando el núcleo lipídico del ateroma. Cuando el almacenamiento es excesivo, las células pueden llegar a necrosarse, depositándose entonces el colesterol extra celularmente.

Fruto del daño endotelial y de la activación de los macrófagos, se produce la migración y proliferación de las células musculares desde la capa media hasta capa íntima. Como consecuencia producen colágeno y proteoglicanos ^[181, 182], que serán responsables de la formación de una capa fibrosa sobre el núcleo lipídico aumentando el tamaño del ateroma. Cuando esta capa fibrosa pierde elasticidad se formara una trombosis que es responsable del infarto agudo.

No están fisiológicamente involucradas en un influjo neto de colesterol hacia los tejidos, son producidas como proteínas receptoras de LDL por las células para la síntesis de la membrana plasmática. Cuando el colesterol es captado pasa a los lisosomas donde se hidrolizan los ésteres de colesterol dando lugar a colesterol libre, quedando a disposición de la célula para la biosíntesis de las membranas. Si se acumula demasiado colesterol libre en la célula, ésta detiene tanto la síntesis de colesterol como la síntesis de proteínas receptoras de LDL, con lo que la célula produce y absorbe menos colesterol.

En determinadas circunstancias patológicas ^[177, 184] como la hipercolesterolemia LDL, la hipertensión arterial, la diabetes mellitus, se desarrolla una entrega exagerada y no regulada de colesterol LDL químicamente modificadas a células macrófagas subendoteliales, cuya acumulación sobrecargada de colesterol, conocidos como células espumosas, determina el desarrollo de placas de ateroma en la pared arterial.

Tabla N° 5.9: Especificación de propiedades de lipoproteínas (LDL) ^[174, 178, 180].

Lipoproteína	Diámetro (nm)	Densidad (Kg/m ³)	Proteínas (%)	Lípidos (%)
LDL pequeño	18-21.2	1006-1063	19	81
LDL mediano	21.2-23	1063-1092	20	80
LDL grandes	23-29	1092 -1123	22	78

Tabla N° 5.10: Límites de concentración de lipoproteínas LDL

Nivel LDL (mg/dl)	Interpretación
<100	Optimo
100-129	Próximo al optimo
130-159	Limítrofe al alto nivel
160-189	Alto nivel
>190	Muy alto riesgo cardiopatía isquémica.

Fuente: Centro Médico Universidad de Maryland (UMMC).

Tabla N° 5.11: Composición de los principales complejos de lipoproteínas en la sangre ^[174, 178, 180].

Complejo	Origen	Densidad/(Kg/m ³)	%Proteína	%A ^a	%B ^b	%C ^c	%D ^d	%E ^e
Quilomicrón	Intestino	< 950	1–2	85–88	8	3	1	0
VLDL	Hígado	950 – 1006	7–10	50–55	18–20	12–15	8–10	1
IDL	VLDL	1006 – 1019	10–12	25–30	25–27	32–35	8–10	1
LDL	VLDL	1019 – 1063	20–22	10–15	20–28	37–48	8–10	1
HDL1	Intestino, hígado (quilomicrones y VLDL)	1019 - 1063	32 - 68	2 - 10	28 - 45	25 - 33	7 - 13	0
HDL2	Intestino, hígado (quilomicrones y VLDL)	1063 – 1125	33–35	5–15	32–43	20–30	5–10	0
HDL3	Intestino, hígado (quilomicrones y VLDLs)	1125 – 1210	55–57	3–13	26–46	15–30	2–6	6
Albúmina	Tejido adiposo	> 1281	99	0	0	0	0	100

^a Triglicéridos, ^b Fosfolípidos, ^c Esteres de colesterol, ^d Colesterol libre, ^e Ácidos grasos.

VLDL: lipoproteína de muy baja densidad. ILD: lipoproteína de densidad intermedia.

5.4.10 Los triglicéridos

Los triglicéridos (triacilgliceroles o triacilglicéridos) son una clase de lípidos que se forman por una molécula de glicerina y tres ácidos grasos libres con una longitud de cadena de 10 - 24 carbonos, siendo los ácidos grasos más comunes en la sangre humana: Caprílico $C_{8:0}$, Cáprico $C_{10:0}$, Láurico $C_{12:0}$, Mirístico $C_{14:0}$, Palmítico $C_{16:0}$, Esteárico $C_{18:0}$, Linolenico $C_{18:2}$, Oleico $C_{18:1}$, Linoleico $C_{18:2}$; los cuales pueden ser producidos por el hígado ^[178, 179, 183]. Transformando el exceso de hidratos de carbono y calorías en grasas almacenando energía para el organismo, si el cuerpo acumula demasiados triglicéridos, los vasos sanguíneos se pueden obstruir y provocar problemas de salud ^[157].

Las grasas se hidrolizan en el intestino delgado al combinarse con los jugos pancreáticos e intestinales en ácidos grasos y glicerina para atravesar la pared intestinal. Luego son reconstruidos al otro lado de la pared intestinal; dado que los lípidos son insolubles en agua deben combinarse con proteínas sintetizadas por el intestino para ser transportadas y distribuidas a través de la sangre a todo el organismo. Los triglicéridos son empaquetados junto con el colesterol en las esferas de transporte de las lipoproteínas.



El incremento en el nivel de los triglicéridos que se hallan en la sangre, se conoce como hipertrigliceridemia; la acumulación de triglicéridos en el hígado es patológico (esteatosis hepática). El tejido adiposo acumula energía a través de los triglicéridos si se producen irregularidades metabólicas se desarrolla la obesidad.

Los triglicéridos son transportados a través de las lipoproteínas ^[174, 183, 184] que los llevan desde el intestino hasta el hígado y luego los distribuyen a las demás células del organismo humano, la albúmina sérica y los cuerpos cetónicos.

La síntesis de los triglicéridos se realiza en el retículo endoplasmático de la mayoría de las células del organismo, el proceso es más activo en el hígado (especialmente en los hepatocitos) y

en el tejido adiposo. Dicha síntesis suele estar relacionada a la acción de segregar lipoproteínas de muy baja densidad.

Tabla N° 5.12: Propiedades físicas triglicéridos ^[178, 179, 183].

Triglicérido	Diámetro (μm)	Densidad (Kg/m ³)	# C
Triglicéridos _{<C10}	0.03	973	<10
Triglicéridos _{C10-C14}	0.09	925	10-16
Triglicéridos _{>C16}	1-5	875	>16

Tabla N° 5.13: Límites de concentración de triglicéridos.

Nivel Triglicéridos (mg/dl)	Interpretación
<150	Normal
150-199	Nivel alto
200-499	Alto
>500	Muy alto riesgo apoplejía

Fuente: Centro Médico de la Universidad de Maryland (UMMC).

5.5 Mecanismo de separación

Un diagrama esquemático del dispositivo de separación se muestra en la figura 5.10. El transductor interdigital (IDTs) depositado por técnicas de fotolitografía sobre un substrato piezoeléctrico transparente y el microcanal de polidimetilsiloxano son enlazados anódicamente entre los IDTs. La solución de la mezcla de las partículas es inyectada por microbombas de jeringa, un flujo laminar es establecido a la entrada del microcanal; aplicando señales de CA al IDTs se genera dos series de ondas acústicas de superficie la cual se propaga en direcciones opuestas hacia el canal ^[11, 31].

Esta interferencia constructiva de ondas acústicas da lugar a ondas longitudinales de salida generando la onda acústica estacionaria, causando una fluctuación de presión acústica dentro del fluido, la cual es la causante de conducir a las partículas suspendidas hacia los planos nodales/antinodales generados.

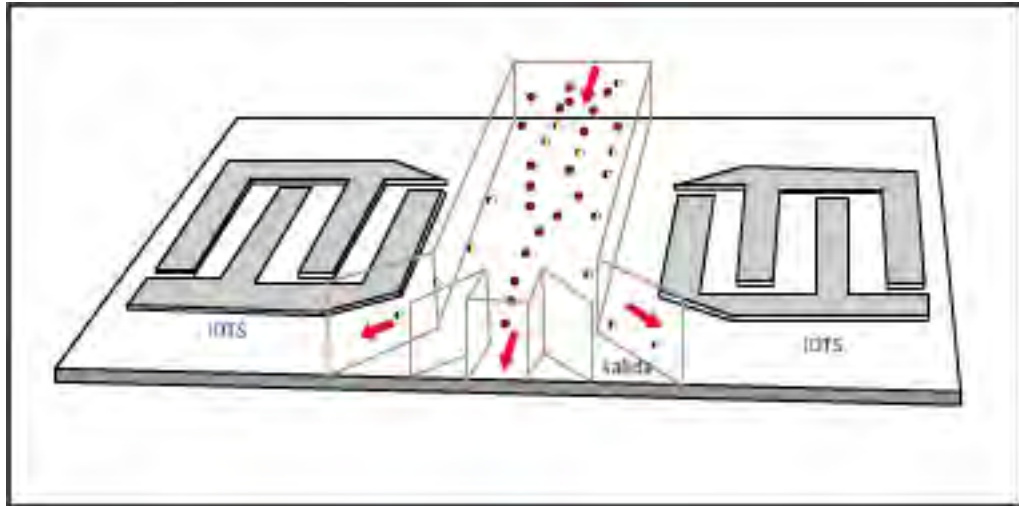


Figura 5.10: Mecanismo de separación, mostrando el posicionamiento de la trayectoria de partículas al actuar la fuerza de radiación acústica.

La modificación de trayectoria de las partículas conlleva a colocarlas a un plano nodal de presión sobre los nodos (amplitud mínima de presión) ó hacia los antinodos (amplitud máxima de presión) [59, 85, 144,] , dependiendo del factor adimensional de contraste (ecuación 1.12) la cual es función de la densidad y compresibilidad entre las partículas y el medio que las contiene; entonces resulta para las partículas de eritrocitos un $\Phi \approx 0.3432$ y para las partículas lípidas de triglicéridos_{>C16} un $\Phi \approx -0.3285$, lo que conlleva a que la trayectoria de las partículas de eritrocitos se modifique desplazándolos plano de presión acústica nodal, mientras que las partículas lípidas de triglicéridos_{>C16} se ubiquen en el plano antinodal (figura 5.11).

Las partículas experimentan la acción de la fuerza de radiación acústica, fuerza viscosa, fuerza de arrastre, fuerza boyante y la fuerza de gravedad, siendo reposicionadas en una nueva trayectoria de flujo tanto las partículas de eritrocitos como las partículas lípidas de triglicéridos_{>C16} a lo largo de la sección transversal del microcanal, las muestras recogidas en los puntos de salida del microcanal se han separado en base al tamaño de partícula, densidad y compresibilidad. Las

partículas guardarán su posición lateral incluso después de dejar de actuar la fuerza acústica de radiación debido a las condiciones laminares.

El método de acustifóresis se emplea para separar eritrocitos de las partículas lípidas de triglicéridos_{>C16} en la sangre humana ^[36, 86, 87, 88, 110, 112, 146] para evitar la microembolia, las partículas de eritrocitos tienen un tamaño de 3 – 7.5 μm , en estos modelos utilizados se emplea un modo de operación de media longitud de onda.

Desarrollándose la aplicación de este método de acustifóresis en la separación de componentes de la sangre humana en los siguientes centros de medicina ^[36, 86, 87, 88, 110, 112, 146]:

- Inmunología Clínica y Medicina de Transfusión Regional - laboratorios de la Universidad de Lund, Suecia
- Instituto de Medicina de Laboratorio Stem Cell Center, Universidad de Lund Suecia
- Tecnología de Medición e Ingeniería Eléctrica Industrial, Universidad de Lund Suecia.
- Departamento de Hematología Hospital de Skane, Universidad de Lund Suecia.
- Ingeniería Biomédica, Universidad de Dongguk Seúl Corea.

Una partícula puesta en un campo de onda acústica estacionaria experimentará una fuerza acústica de radiación ^[60, 85], cuya magnitud es proporcional al volumen de la partícula, a la frecuencia del ultrasonido, a la diferencia en densidad y compresibilidad entre la partícula y su medio.

Esto implica que ciertas partículas serán dirigidas hacia los nodos de presión, mientras que otras se recogerán en los antinodos dependiendo de sus características físicas respectivas, para un canal con un ancho de 240 μm x 120 μm , las partículas de eritrocitos tienen un factor de contraste $\Phi \approx 0.3432$ y para las partículas lípidas de triglicéridos_{>C16} resulta $\Phi \approx - 0.3285$, entonces los eritrocitos serán arrastrados al nodo central mientras que las partículas lípidas de triglicéridos_{>C16} se fuerzan hacia fuera contra los antinodos para el modo de media longitud de onda como se bosqueja en la figura 5.11.

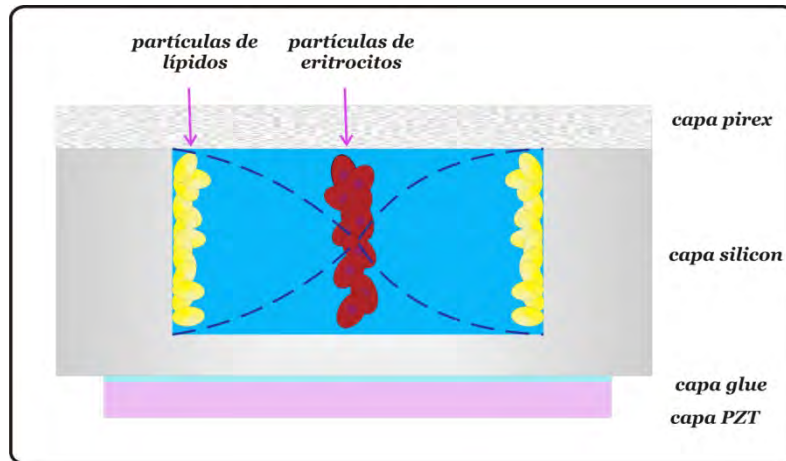


Figura 5.11: Sección transversal del microcanal con una onda ultrasónica estacionaria en modo fundamental de resonancia de media longitud de onda ortogonal a la dirección del flujo ^[65, 85, 106,110].

Las ondas ultrasónicas fueron generadas por un cristal piezoeléctrico resonante PZT26 (Ferropem Piezoceramics AS Kvistgard Dinamarca), el microdispositivo posee una tapa de cristal de boro-silicato enlazada a la oblea de silicón ^[64, 91, 11].

5.6 Simulación numérica computacional.

La acustifóresis en flujo continuo requiere tener en cuenta el modo armónico al cual se desea operar el microcanal, las ondas acústicas estacionarias generan los planos nodales de posición, luego la separación será posible si existe una gran diferencia entre los factores de contraste ecuación (5.2) entre las partículas de eritrocitos y las partículas lípidas de triglicéridos_{>C16}.

Tabla N° 5.14: Factor de contraste de los constituyentes de la sangre.				
Constituyentes	Diámetro (µm)	Densidad (Kg/m ³)	Velocidad sonido (m/s)	Factor de contraste Φ
Eritrocitos	3-7	1099	1631	0.3432
Leucocitos	5-20	1062-1082	1642	0.2941-0.3264
Plaquetas	2.4	1058	1639	0.2847
Triglicéridos _{<C10}	0.03	973	1473	-0.0662
Triglicéridos _{C10-C14}	0.09	925	1467	-0.1805
Triglicéridos _{>C16}	1-5	875	1450	-0.3285

De la tabla anterior se observa el factor de contraste (ecuación 5.2) para los principales componentes de la sangre humana, los valores positivos del factor de contraste Φ^+ indican que estas partículas serán desplazadas hacia el nodo de presión acústica al actuar la fuerza de radiación acústica sobre ellas; en tanto que los triglicéridos presentan valores negativos en el factor de contraste Φ^- ; para este caso se aprecia que existe una gran diferencia en el factor Φ entre los eritrocitos y los triglicéridos_{>c16} por consiguiente es posible separar estas partículas mediante un cambio de trayectoria en flujo continuo.

Para el caso de eritrocitos y leucocitos el factor de Φ indica que ambas partículas se trasladaran a los nodos de presión, como la frecuencia aplicada es constante consecuentemente la longitud de onda también, de la ecuación (5.1) variaría tan sólo el global de la amplitud de presión acústica entre ambas partículas y esto corresponde a trayectorias contiguas.

Por otro lado para el caso de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y de alta densidad (HDL) no es aplicable el método de separación por acustifóresis, de la ecuación (5.1) se tiene que la fuerza de radiación acústica es proporcional al volumen de la partícula suspendida y por consiguiente al radio de la partícula $\langle F_{rad} \rangle \propto r_{particula}^3$, siendo los diámetros de las partículas para las lipoproteínas HDL y LDL del orden de 5 -25 nm a 18 - 29 nm respectivamente, se tendría para un diámetro promedio de 20 nm un factor de $1 \cdot 10^{-6}$ veces menor para la magnitud de la fuerza de radiación acústica lo cual hace despreciable esta fuerza; un análisis cualitativo de la ecuación (5.32) para una fuerza de radiación acústica muy pequeña, muestra que el único termino que contribuirá de manera positiva es la fuerza boyante la cual se contrarresta con la fuerza de arrastre, luego no sería posible alterar el desplazamiento de la trayectoria de las partículas en suspensión.

En tanto que para el triglicérido_{<c10} su valor de factor de contraste cercano a cero indica que la trayectoria de este tipo de partícula no se verá afectado por la fuerza de radiación acústica aplicada.

Tabla N° 5.15: Diferentes métodos de separación componentes sangre humana en microfluidos.				
Método	Componente	Ref. []	Alimentación	Separación (%)
Dielectrofóresis	Plaquetas	187, 192, 193	134 $\mu\text{m/s}$	98.8
Hidrodinámica y magnetofóresis	Eritrocitos	194	2.36×10^6 cel/ml	68.26
Magnetofóresis	Eritrocitos	107	10000 cel/s	80
	Leucocitos	190	110 $\mu\text{m/s}$	50
	Plasma (1/20)	188	0.5-0.7 ml sangre/h	5
Cd-centrifugación	Plasma	185	2 ml sangre	99.9
	Leucocitos	191	500/ μL	99
Filtración	Plasma	189	40-50 $\mu\text{L/cm}^2$	74
Acustifóresis	Leucocitos	186	320 $\mu\text{L/min}$	93
	Eritrocitos	36, 86, 87, 88, 110, 112, 146	0.1 ml/min	90

Se plantea a continuación el balance de fuerzas sobre una esfera de eritrocito y se realiza la simulación con Matlab 7.14 para determinar la trayectoria de las partículas de eritrocito al aplicar la fuerza de radiación acústica y separarlas de las partículas lípidas de triglicéridos_{>c16}, siguiendo este modelamiento sobre el microdispositivo integrado (LOC) propuesto por Martin Hill [56, 60, 67, 68, 144].

Las interacciones entre las ondas incidentes y las ondas dispersas gobiernan el desplazamiento de la partícula hacia cualquier localización en el nodo de presión acústica [102, 124, 136].

El movimiento de la partícula cerca de los nodos de presión puede verse afectado por fuerzas secundarias las que producen desviaciones de la trayectoria alrededor del equilibrio, de igual manera las partículas más pequeñas en la suspensión están influenciadas por otras partículas más grandes [115].

Estableciendo un balance de fuerzas en un espacio bidimensional sobre la partícula ^[62, 143, 144] se puede calcular el movimiento de la partícula de masa m como la contribución de la fuerza de arrastre viscosa y la fuerza boyante en la dirección del eje x :

$$\sum F_x = m\ddot{x} = F_{Dx} + F_{By} \quad (5.14)$$

$$\sum F_y = m\ddot{y} = F_{ac} + F_{Dy} + F_{By} \quad (5.15)$$

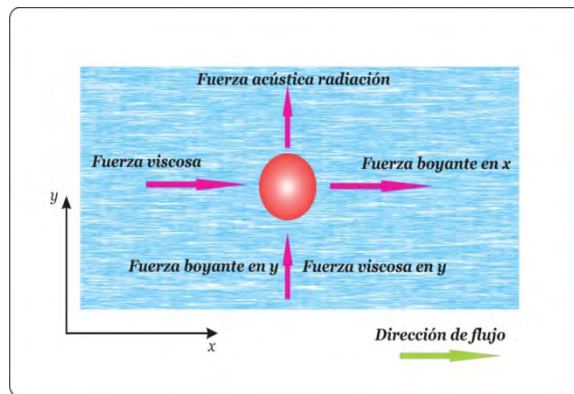


Figura 5.12: Fuerzas que actúan sobre una partícula en una onda acústica estacionaria.

Sin embargo, en una suspensión de partículas también están presentes fuerzas acústicas *Wake* $F_{AWE} y_{i,k}$ y la fuerza de radiación generados entre las partículas próximas $F_{MRP} y_{i,k}$ entre partículas $i: k^{th}$.

5.6.1 Efecto acústico Wake

Este tipo de fuerza acústica secundaria plantea que el desplazamiento de la partícula es función de la velocidad del fluido en la superficie de la esfera y la velocidad de perturbación v_{ik} ; si consideramos las ecuaciones (3.30) – (3.33), se aprecia que la velocidad potencial en la superficie de la partícula es de grado dos; en el capítulo II se expresó la velocidad por el método de perturbación de orden cero, primero, segundo y de ordenes mayores $\mathcal{O}_{(n)}$, entonces $v_{3,n} \rightarrow 0$. Extendiendo por Taylor la ecuación 5.17 y remplazando en la ecuación (3.30)-(3.33) se determina que el efecto acústico Wake es despreciable.

Las partículas en flujos laminares en régimen de Oseen, producen oscilaciones viscosas Wake y generan fuerzas de segundo orden sobre otras partículas próximas ^[85, 111, 114, 144], que pueden alcanzar distancias hasta dos órdenes de magnitud de sus radios.

Esta fuerza se define para un régimen de Oseen como:

$$F_{Oseen} = F_{Stokes} \left(1 + \frac{3R_{pi}|u_{fi} - u_{pi}|}{8\nu} \right) \quad (5.16)$$

La velocidad del fluido se expresa como una combinación de la velocidad de la onda acústica incidente y la velocidad de perturbación v_{ik} asociada al efecto acústico Wake:

$$u_{fluido} = u_{f,i} + v_{ik} \quad (5.17)$$

El término v_{ik} toma en cuenta el cambio de velocidad vibratorio en la partícula "i" debido a la presencia de la partícula "k". Las expresiones para los componentes x-y de esta velocidad son:

$$v_{ikx} = \left\{ \frac{A_{0k}}{r^2} \left[1 - \left(1 + \frac{r[|V_k| + V_k \cos \theta_{ki}]}{2\nu} \right) \right] \cos \theta_{ki} + \frac{A_{0k} V_k}{2r\nu} \sin^2 \theta_{ki} \right\} e^{\left(\frac{-r[|V_k|] - V_k \cos \theta_{ki}}{2\nu} \right)} \quad (5.18)$$

$$v_{iky} = \left\{ \frac{A_{0k}}{r^2} \left[1 - \left(1 + \frac{r[|V_k| + V_k \cos \theta_{ki}]}{2\nu} \right) \right] \sen \theta_{ki} - \frac{A_{0k} V_k}{4r\nu} \sen 2\theta_{ki} \right\} e^{\left(\frac{-r[|V_k|] - V_k \cos \theta_{ki}}{2\nu} \right)} \quad (5.19)$$

Donde:

- A_0 Coeficiente complejo.
- r Distancia entre las partículas.
- θ_{ki} Ángulo de orientación formado por su línea central con respecto a la dirección de la onda acústica.

$$V_k = u_{f,k} + u_{pk}$$

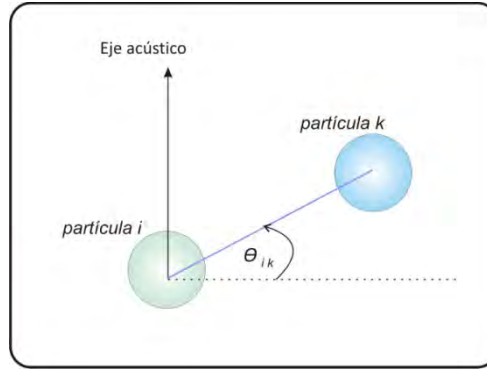


Figura 5.13: Posición arbitraria de las partículas con respecto al eje acústico

5.6.2 Fuerza mutua de radiación

Dado que la velocidad potencial de onda de la partícula se expresa como la contribución $\Phi_{incidente} + \Phi_{dispersa}$ ecuación (3.47), el efecto de la fuerza mutua de radiación secundaria se considera despreciable al tener en cuenta que la onda acústica estacionaria incide sobre la partícula y esta a su vez es reflectada a la esfera contigua, lo cual se interpreta como un campo de generación de onda mayor al de atracción mutua entre partículas.

Lo anterior también se puede analizar si tenemos en cuenta que la fuerza acústica de radiación promediada en el tiempo es distinta de cero ecuación (3.10) lo cual no ocurre si se aplica con las ecuaciones (5.20)-(5.21).

Las ondas incidentes interactúan con ondas dispersas en la partícula esto da lugar a una atracción-repulsión mutua entre partículas ^[114, 144]. Este mecanismo de segundo orden es derivado por Song para describir la fuerza que actúa en cada partícula de forma recíproca:

A lo largo del eje acústico:

$$F_{kix} = \frac{3}{16\pi} \frac{(R_i R_k)^3}{r^4} \rho_0 U_0^2 [(3 \cos^2 \theta_{ki} - 1) g_{kir(r,\theta)} \cos \theta_{ki} + \sin 2\theta_{ki} \cdot g_{ki\theta(r)} \sin \theta_{ki}] \quad (5.20)$$

Perpendicular al eje acústico:

$$F_{kly} = \frac{3}{16\pi} \frac{(R_i R_k)^3}{r^4} \rho_0 U_0^2 [(3\cos^2\theta_{ki} - 1)g_{kir(r,\theta)}\sin\theta_{ki} - \sin 2\theta_{ki} \cdot g_{ki\theta(r)}\cos\theta_{ki}] \quad (5.21)$$

Donde los parámetros g_{kir} y $g_{ki\theta}$ son descritos por Song.

La influencia de este mecanismo en el movimiento de la partícula no es insignificante dentro de un rango de distancias cortas alrededor de las partículas, de hasta cerca de diez veces su radio y es mucho más débil que el efecto acústico Wake principalmente en los fluidos de baja densidad.

5.7 Ecuaciones para determinar la trayectoria de las partículas

La influencia de los mecanismos de segundo orden asociados a la presencia de otras partículas es insignificante siendo despreciable también el efecto acústico Wake como se vio en los párrafos anteriores. En sistemas microfluidos por lo general se producen flujos laminares y es conocido las dificultades de mezclado cuando se tratan dos corrientes fluidas, por lo cual se recurre a los micro mezcladores estructurales.

Desarrollando la ecuación de Navier Stokes ecuación de continuidad y de momentum se puede encontrar la distribución de flujo $U_{(x,y)}$, dado que la concentración de partículas es pequeña, la complejidad de la simulación puede reducirse a la determinación de las fuerzas que actúan en las partículas y su posterior efecto en la trayectoria de las mismas, lo cual es hallado por resolución de la segunda ley de Newton; luego las ecuaciones que permiten determinar la trayectoria de las partículas se obtienen estableciendo un balance de fuerzas bidimensional sobre la partícula^[8, 51] aplicando las ecuaciones (5.14) y (5.15) se obtendrá las ecuaciones (5.26) y (5.32).

Se debe tener en cuenta que la acustifóresis en flujo continuo, producen ondas acústicas estacionarias en dirección perpendicular al flujo, de allí que en el eje 'x' sea predominante la fuerza de arrastre viscosa.

Continuando con el microdispositivo propuesto por Hill, se realiza la simulación para separar partículas de eritrocitos de los lípidos mediante el balance de fuerzas bidimensional a fin de

obtener la trayectoria final que tendrán las partículas luego de haber cesado la aplicación de la fuerza de radiación acústica.

La contribución de fuerzas en el eje x estará dada por la fuerza de radiación acústica, la fuerza de arrastre y la fuerza boyante:

$$\sum F_x = m\ddot{x} = F_{ac,x} + F_{Dx} + F_{Bx} \quad (5.22)$$

$$F_{Dx} = 6\pi\mu R(U_{(x,y)} - \dot{x}) \quad (5.23)$$

$$F_{Dx} = 6\pi\mu R \left[6\bar{U}_{prom} \left(\frac{y}{h} - \left(\frac{y}{h} \right)^2 \right) - \dot{x} \right] \quad (5.24)$$

$$F_{Bx} = \frac{4}{3}\pi R^3 g(\rho_f - \rho_p)\text{sen}\theta \quad (5.25)$$

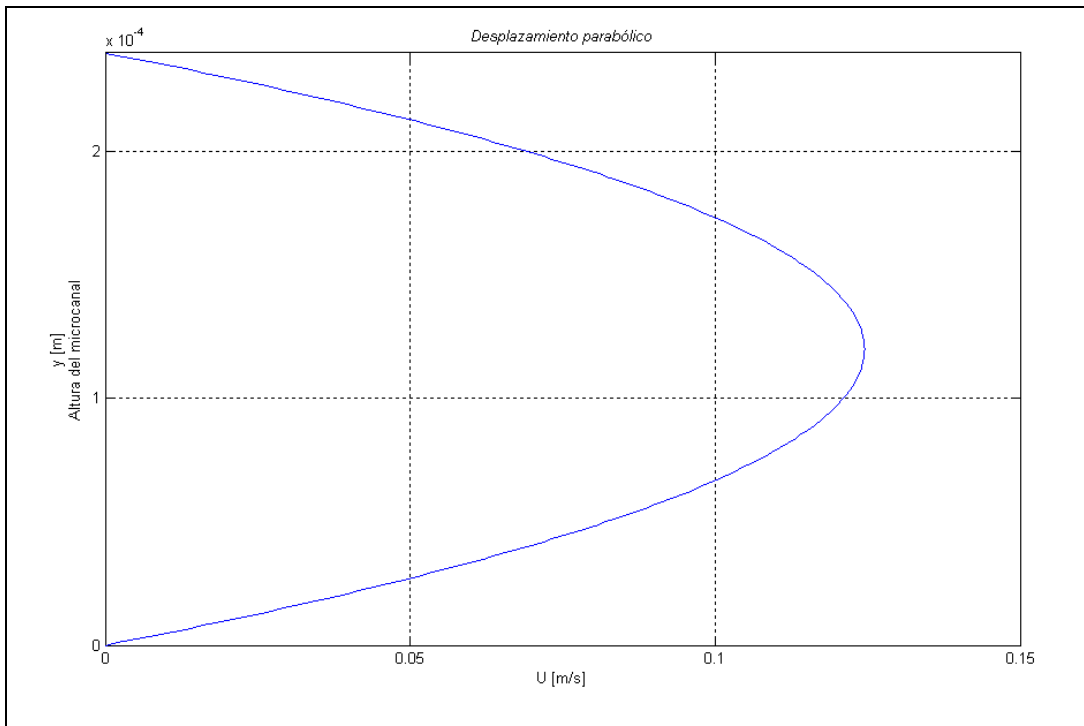


Figura 5.14: Desplazamiento de flujo parabólico.

$$\ddot{x} = \frac{6\pi\mu R}{m} \left[6\bar{U}_x \left(\frac{y}{h} - \left(\frac{y}{h} \right)^2 \right) - \dot{x} \right] + \frac{4}{3m} \pi R^3 g(\rho_f - \rho_p) \text{sen}\theta \quad (5.26)$$

El movimiento que resulta para la partícula a lo largo del eje 'y' entonces es gobernado por la siguiente ecuación en donde se aprecia la contribución de la fuerza de radiación acústica:

$$\sum F_y = m\ddot{y} = F_{ac,y} + F_{Dy} + F_{By} \quad (5.27)$$

$$F_{Dy} = 6\pi\mu R(U_{(x,y)} - \dot{y}) = -6\pi\mu R \dot{y} \quad (5.28)$$

$$F_{By} = \frac{4}{3} \pi R^3 g(\rho_f - \rho_p) \text{cos}\theta \quad (5.29)$$

$$F_{rad\ ac} = \frac{\pi P_0^2 V_{particula} \beta_{medio}}{(2\lambda)} \cdot \phi_{(\beta,\rho)} \text{sen}\left(\frac{4\pi y}{\lambda}\right) \quad (5.30)$$

$$\phi_{(\beta,\rho)} = \frac{5\rho_p - 2\rho_0}{2\rho_p + \rho_0} - \frac{\beta_p}{\beta_0} \quad (5.31)$$

$$\ddot{y} = \frac{F_{ac}}{m} - \frac{6\pi\mu R}{m} \dot{y} + \frac{4}{3m} \pi R^3 g(\rho_f - \rho_p) \text{cos}\theta \quad (5.32)$$

La masa de la partícula se puede escribir en función del volumen de una partícula esférica como:

$$m_{particula} = \frac{4\pi}{3} R_{particula}^3 \rho_{particula} \quad (5.33)$$

La simulación numérica se realiza utilizando un software comercial Matlab 7.14 (R2012a) [5] y COMSOL 4.3, la separación de partículas eritrocitos/triglicéridos_{>c16} por acustifóresis ocurre generando una onda ultrasónica estacionarias de cuarta longitud de onda dentro del dispositivo perpendicular a la dirección de flujo, debido a la diferencia de densidades y compresibilidades entre las partículas de eritrocitos y partículas lípidas de triglicéridos_{>c16} es posible obtener en el nodo una franja en el lado superior del medio del canal a los eritrocitos y en los antinodos a las partículas lípidas de triglicéridos_{>c16}.

Se generan campos ultrasónicos de onda acústica estacionaria cuando la interferencia constructiva entre una onda ultrasónica viajera y la onda reflejada se alcanza, cuando la distancia entre la superficie que genera la onda acústica y el reflector es un múltiplo de la cuarta longitud de onda acústica ($\lambda/4$). La onda acústica estacionaria se caracteriza por una serie de nodos de presión (mínimos de presión) y de antinodos de presión (máximos de presión) ^[6, 7, 45, 144]. Para el caso planteado y la forma del microdispositivo solo será requerido un plano nodal a una altura aproximada a la cuarta longitud de onda.

La onda de sonido que se propaga en la dirección de propagación es dada matemáticamente por la expresión generalizada de solución de la ecuación de Helmholtz ecuación (2.68) como:

$$p_{(x,t)} = p_0 \text{sen}(wt - kx) \quad (5.34)$$

La onda acústica estacionaria es un caso de formación de onda de sonido que se genera por la superposición de la onda incidente y reflectante generada por el transductor y resonador, matemáticamente ^[11, 31] esta onda viajera es descrita como una onda sinusoidal (este efecto es tratado en el apartado 6.3 en la propagación de onda a través de múltiples interfases):

$$p_{(x,t)_{total}} = p_0 \text{sen}(wt - kx) + p_0 \text{sen}(wt + kx) \quad (5.35)$$

$$p_{(x,t)_{total}} = 2p_0 \cos(kx) \cdot \text{sen}(wt) \quad (5.36)$$

La ecuación anterior nos permite prever la distribución de la onda acústica estacionaria; aplicando la teoría de Yosioka ^[127, 143] ecuación (5.1) con Matlab 7.14 (R2012a) basado en la dependencia de la amplitud de presión acústica, para el caso de generación de cuarta longitud de onda ($\lambda/4$) en el modelo del microdispositivo de Hill se obtiene la figura 5.15 para partículas de eritrocito, en donde se aprecia el plano de presión nodal generada por la fuerza de radiación acústica y su efecto no lineal promediado en el tiempo junto con el factor de contraste (ecuación 5.2) $\Phi \approx 0.3432$ contribuye al desplazamiento que adoptarán los eritrocitos.

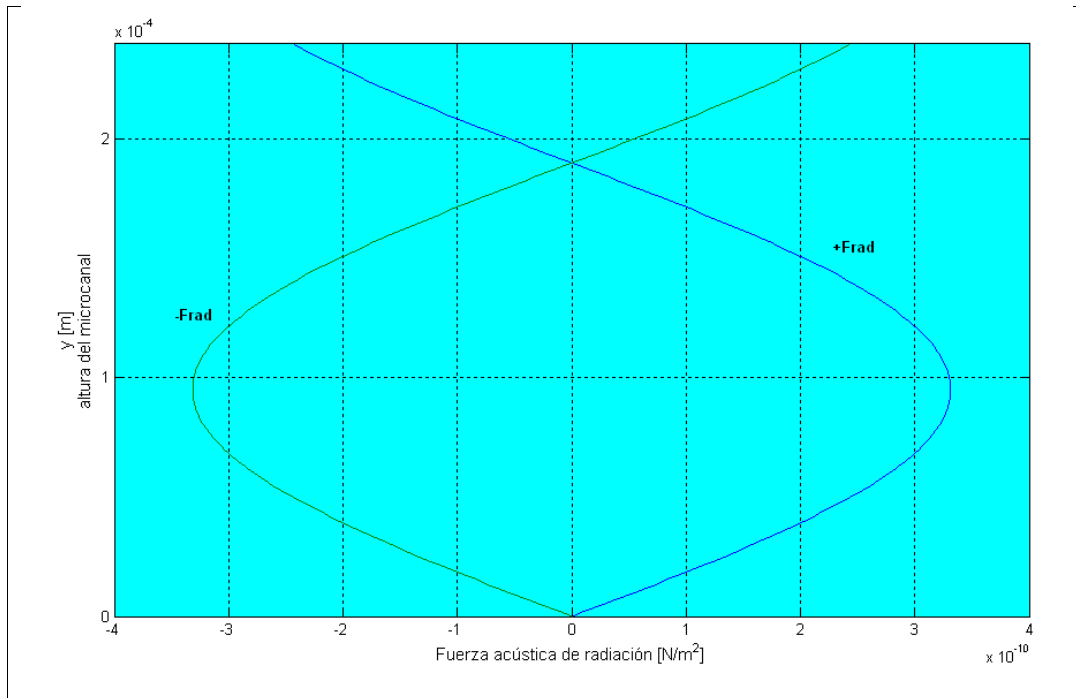


Figura 5.15: Distribución de la fuerza acústica 1D a través del ancho del microcanal en el microdispositivo propuesto por Hill, con generación de cuarta longitud de onda acústica estacionaria.

El fluido pasa a través de la microcámara y el transductor PZT 26 (zirconato titanato piezoeléctrico) ubicado en la parte inferior de la pared del canal origina una distribución de sonido de onda acústica estacionaria ^[89, 142], lo cual originará una nueva distribución de trayectoria en las partículas eritrocitos/triglicéridos _{>C16} y como existe una diferencia en sus factores de contraste el desplazamiento a planos de presión nodales/antinodales diferentes ocurrirá.

Asumiendo que la partícula sigue un elemento fluido en la dirección de flujo, las velocidades de la partícula y del líquido en la dirección x son iguales. La simulación numérica para una gran cantidad de partículas con diversas localizaciones iniciales en la dirección transversal al flujo predice la localización de las partículas en un plano nodal/antinodal de velocidad lo que permitirá la remoción de partículas del flujo inicial.

En el microdispositivo propuesto por Martin Hill ^[56, 60, 67, 68, 144], se realiza la simulación con Matlab 7.14 (R2012a) en un modo de operación de cuarta longitud de onda, aplicando para el caso propuesto de partículas de eritrocitos/triglicéridos _{>C16} de la sangre humana como se planteó en un inicio, la acción de la fuerza de radiación dirigida en dirección perpendicular al flujo originará un plano nodal en modo de operación fundamental de cuarta longitud de onda, en una franja de

partículas de eritrocitos que estará comprendida en la cuarta parte de la altura del microcanal y su posterior separación a través de la segunda salida de este microdispositivo, tal como se observa en la figura 5.16, de allí que se justifica por que se decidió utilizar un modo de operación de cuarta longitud de onda.

La figura 5.16 muestra la trayectoria de las partículas sujetas a la fuerza de radiación acústica en flujo laminar con el solver ODE de Matlab con lo cual se puede predecir la localización y distribución de partículas [52, 59, 60].

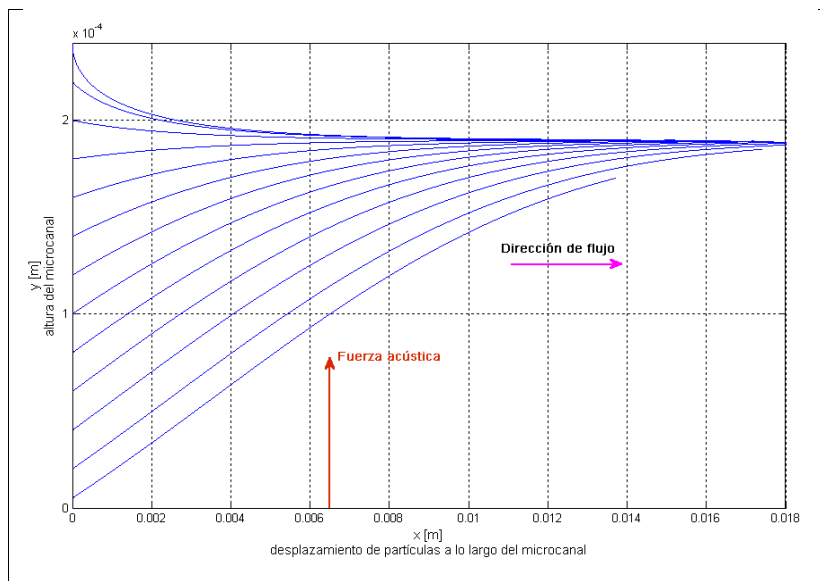


Figura 5.16: Trayectoria de partículas para una distribución de flujo parabólico con velocidad promedio $U_{prom} = 0.083 \text{ m/s}$; para el modelo 1D de la fuerza de radiación acústica.

Una simulación para una distribución de flujo plano en este mismo microdispositivo, permite observar que la trayectoria de las partículas no se ve influenciada por su distribución de velocidad entrante, si no que estas tienden hacia el nodo en modo de operación de cuarta longitud de onda al ser aplicado la fuerza de radiación acústica dentro del microcanal figura 5.17:

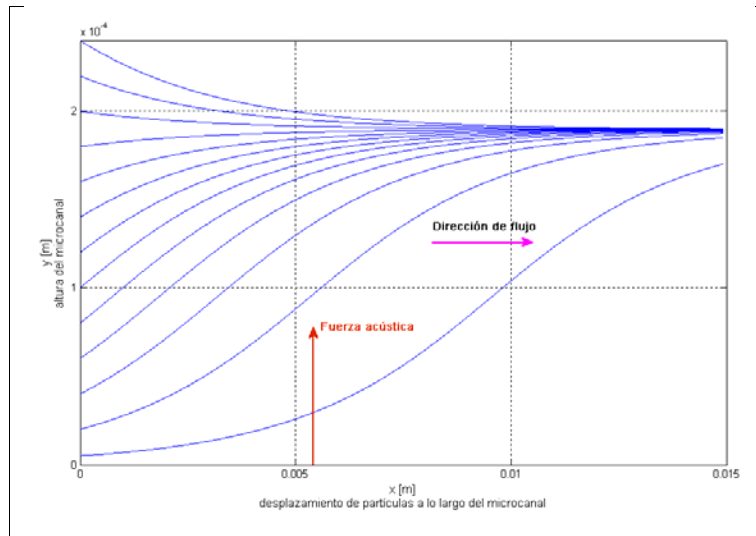


Figura 5.17: Trayectoria de partículas para una distribución de flujo plano con velocidad promedio $U_{prom} = 0.083 \text{ m/s}$; para el modelo 1D de la fuerza de radiación acústica.

Bajo una misma intensidad de fuerza de radiación acústica en el microdispositivo propuesto por Hill, se observa en la figura 5.18 la variación del desplazamiento de su trayectoria que sufren las partículas de eritrocitos tanto para una distribución de flujo parabólico como para un flujo plano, lo cual determina la capacidad de la acustifóresis para poder separar partículas en función de su densidad, factor de compresibilidad según su factor de contraste.

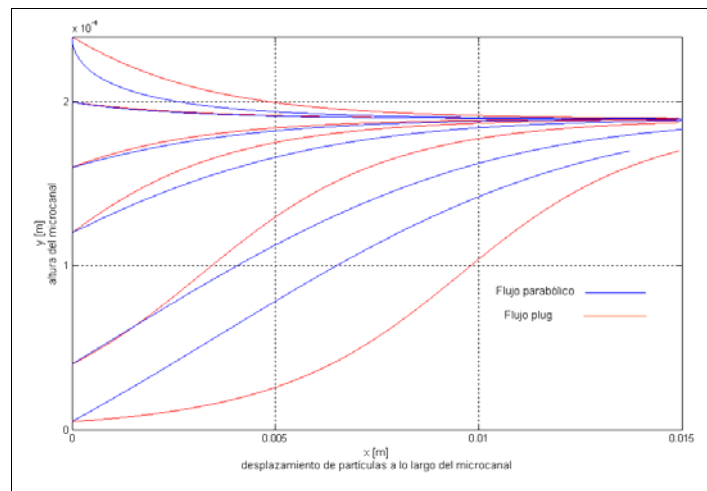


Figura 5.18: Trayectoria de partículas para distribuciones de velocidad en flujo parabólico y flujo plano.

5.8 Esquema de implementación para la solución numérica.

El diseño del microdispositivo considera el empleo de una resonancia de cuarta longitud de onda con lo cual las partículas migran a un plano superior cercano del compartimiento. Un modo de media longitud de onda es más eficiente energéticamente que uno de cuarta longitud de onda ^[28, 42, 66, 68] tal como se muestra en la figura 5.2d.

Para crear una onda acústica estacionaria estable en el microcanal es importante elegir la frecuencia en la sección transversal del microcanal, con el empleo del modo fundamental de resonancia $\sim \lambda/2$ que creará una sola formación de nodo en el medio del canal; es también posible funcionar en modos armónicos más altos generando bandas múltiples.

5.8.1 Diseño hidráulico

Uno de los puntos más cruciales en microdispositivos es su diseño hidráulico, es por ello que se utilizan planos cristalinos de corte para poder obtener el diseño estructural en base a estos planos cristalinos, otra consideración es el método de grabado que puede ser anisotrópico o isotrópico utilizado en la elaboración del microdispositivo. El diseño hidráulico de los microdispositivos afecta su funcionamiento, la sedimentación de partículas es un problema común en microfluidos, reduciendo la concentración considerada a través de la salida y es agravada por los bajos flujos volumétricos usados. La reducción de áreas transversales en los canales hidráulicos puede aliviar esto, pero las resistencias crecientes del flujo están en relación con las técnicas de fabricación del microdispositivo.

El tamaño de partículas concerniente a las características hidráulicas puede también determinar la concentración de salida. Para las partículas grandes es posible ubicar el nodo acústico cerca de la superficie del reflector, las partículas pueden atraparse en la superficie aunque pueden ocurrir problemas de obstrucción o fuerzas acústicas interpartículas de Bjerknes.

5.8.2 Geometría de Microcanal

La formación de turbulencia puede variar la trayectoria de la partícula restringiendo el normal funcionamiento del microdispositivo, siendo influenciado por la geometría angular del dispositivo ultrasónico del microcanal debido al proceso anisotrópico de grabado usado. El proceso del grabado de pistas crea geometrías dependientes de la orientación de planos cristalinos (1 1 1), formando ángulos de 54.74° [64, 67, 85].

Tales discontinuidades causan que el líquido fluya hacia la parte de la pared del canal que da lugar a remolinos y el fluido invierta su dirección de flujo [61, 64, 82, 93, 144], en la figura 5.19 se observa la fotografía obtenida por imagen velocimétrica de partícula de las líneas de corriente de flujo apreciándose zonas turbulentas y laminares.

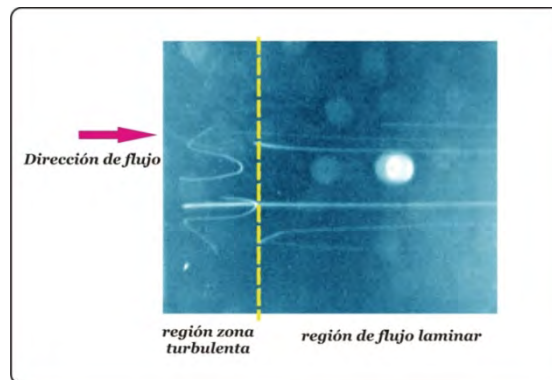


Figura 5. 19: Formación de turbulencia dentro de la región de la entrada del dispositivo [61, 64, 82, 93, 144].

El flujo turbulento altera la trayectoria laminar de la partícula lo cual afecta la eficacia de separación en el microdispositivo, dado que se requiere un flujo laminar antes de que actué la fuerza de radiación acústica sobre el microdispositivo.

La distribución de flujo es alterado por la existencia de zonas de turbulencia que también se generan por irregularidades de la superficie interna o de acoplamiento; realizando simulaciones con COMSOL 4.3 se busca estudiar la turbulencia de ingreso del fluido al microcanal teniendo en cuenta los ángulos del grabado de pistas anisotrópicos [61, 64, 85, 144].

El diseño geométrico del conducto por medio de la simulación permite restringir el inicio de turbulencia y caída de presión, siendo por lo general encontradas discontinuidades de fabricación

dentro del conducto, una inspección visual identifica estas irregularidades de la superficie interna en el microdispositivo generado durante el proceso anisotrópico del grabado de pistas y en los bordes agudos, que están en relación con el acoplamiento de las capas. En la figura 5.20 se presenta la correlación de corte basada en planos cristalinos en las entradas/salidas de microdispositivos ^[61, 64, 144].

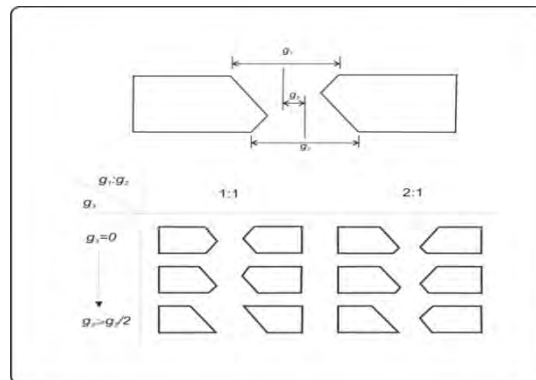


Figura 5.20: Grupos básicos de geometría en el conducto.

Para estudiar la influencia de la geometría en el microcanal se modela una variedad de geometrías para visualizar el flujo (figura 5.21); como las partículas son pequeñas su efecto en la dinámica del fluido no puede ser despreciado, las simulaciones con COMSOL 4.3 consideran sólo el flujo del líquido transportador con una distribución de velocidad de Poiseuille a la entrada. Se observa que la velocidad de flujo a la entrada del conducto no es uniforme a través de la anchura del dispositivo lo que desvía algunas partículas en la región de turbulencia, creando una zona central de alta turbulencia a la entrada en el lado izquierdo de la pared, extendiéndose luego líneas de corriente laminar ^[61, 62].

El tamaño de la región de turbulencia se relaciona con:

- El flujo volumétrico del fluido.
- La condición de entrada de perfil parabólico asumido.
- Separación de flujo de la pared durante su conducción.
- Contracciones en las bombas peristálticas pueden causar fluctuaciones de caudal.
- La simulación 3D en el dispositivo sería apropiado con mayor costo computacional.
- Una acumulación de partículas puede obstruir la entrada del conducto.

Tomando como referencia lo anterior y con el uso de la figura 5.20, se construye la geometría del microcanal y se compara cual es la geometría más eficiente para ser utilizada a fin de obtener un flujo laminar y la condición de flujo volumétrico mayor en la segunda salida simulando con COMSOL 4.3, lo cual permite que se incremente el plano conducente de eritrocitos concentrados provenientes del plano nodal acústico aplicado.

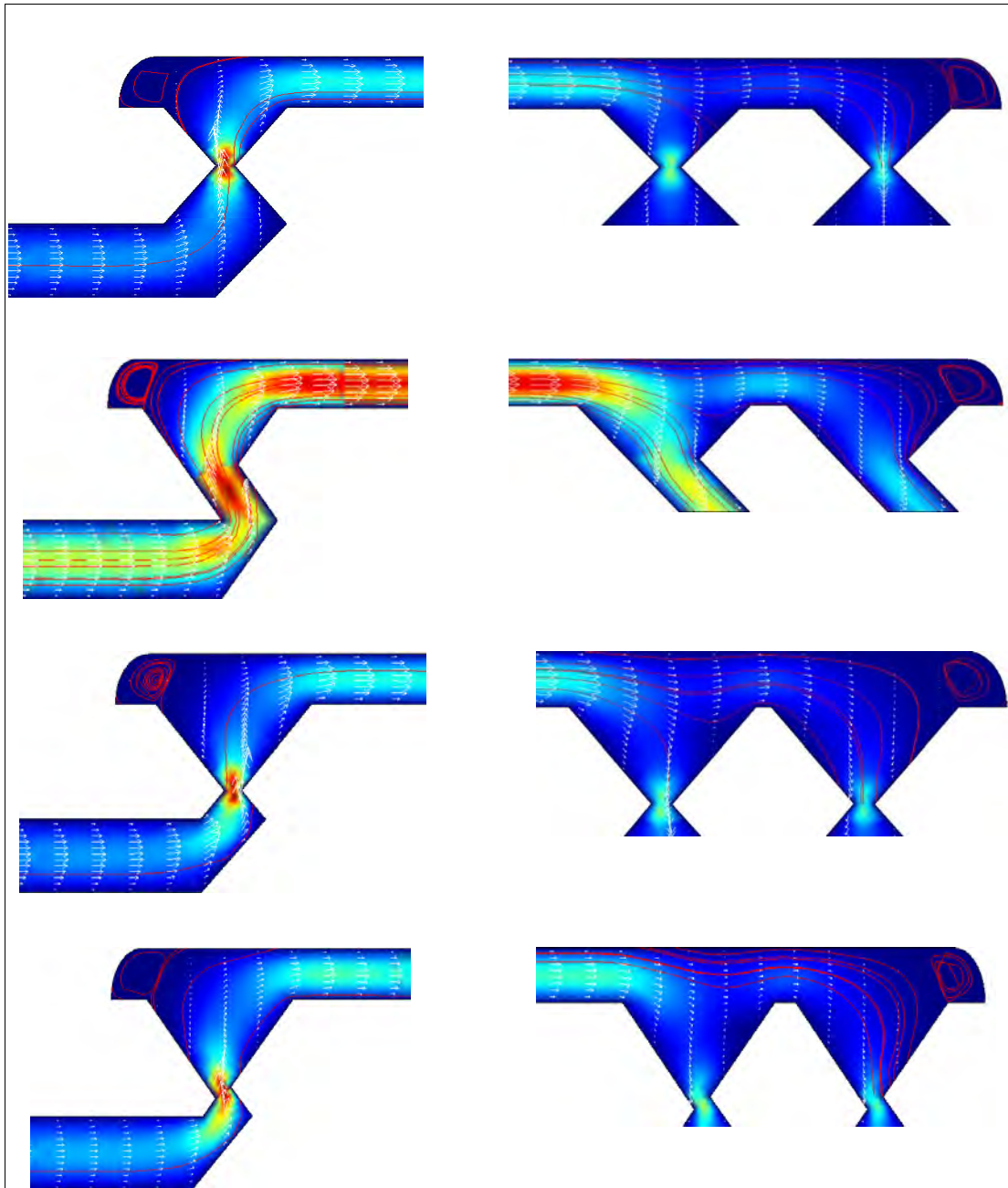


Figura 5.21: La geometría del microcanal determina el comportamiento acústico del dispositivo y la posición del nodo, que está en función de la distribución de flujo laminar.

Una inspección inicial muestra que la simulación dinámica del fluido subestima la longitud de la región del remolino, sin embargo la geometría más óptima produce una región levemente con turbulencia, así la geometría del microcanal más óptimo sería el primer y tercer gráfico. En la figura 5.22 se aprecia las irregularidades en una microcámara debido al grabado de pistas anisotrópico.

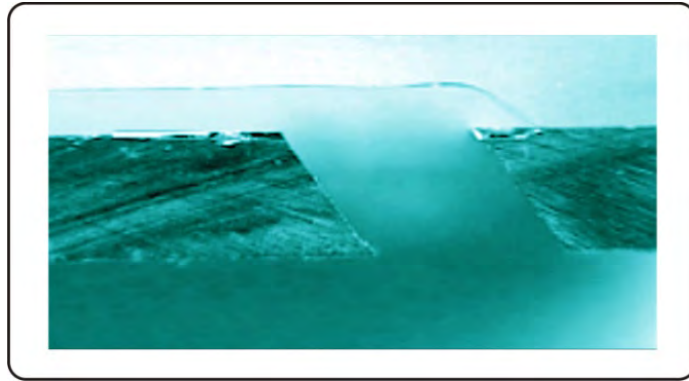


Figura 5.22: Irregularidades del microcanal a la salida ^[61, 82, 144].

5.8.3 Diseño estructural

Los canales de separación son modelados sobre silicón con litografía UV y grabado en agua fuerte, fueron sellados con una tapa de cristal anódico enlazada al silicón; la tubería y una placa piezoeléctrica PZ26 fueron unidas al lado posterior del chip. El accesorio PZT es muy importante pues asegura una buena impedancia acústica entre el PZT – Silicón ^[9, 43, 45, 55, 57, 65] y la generación de ondas acústicas estacionarias.

El microdispositivo puede ser simulado mediante el software COMSOL 4.3, el modelo de transferencia de impedancia es utilizado para seleccionar el espesor apropiado para la capa del fluido y la capa del reflector, con la finalidad de predecir la posición del nodo, generando resonancias de cuarta y media longitud de onda ^[143, 160].

Las dimensiones fueron elegidas para:

- Situar el nodo de presión en un plano requerido del microcanal.
- Proporcionar una buena densidad de energía acústica.
- Disminuir las incertidumbres de modelamiento de parámetros y las tolerancias de fabricación.

Tabla N° 5.16: Especificación nominal de propiedades de microdispositivos ^[63]			
Capa	Espesor (μm)	Densidad (kg/m ³)	Velocidad sonido (m/s)
Transductor PZ26	670	7700	4080
EpoTek 301 glue	10	1080	2640
Silicón	550	2340	8430
Cavidad del fluido	240	998.5	1483
Pírex	1800	2240	5430

5.8.4 Selección entre los espesores.

El modelo unidimensional es utilizado tal que la frecuencia de funcionamiento genere una resonancia en modo fundamental de operación de cuarta longitud de onda con un nodo cerca de la superficie superior del microcanal.

La variación de espesores de capa permite poner el nodo en posiciones arbitrarias dentro de la capa del fluido ^[58, 59], siendo dependientes del espesor del reflector lo cual se ha mostrado en la figura 5.3.

Las relaciones siguientes nos permiten calcular los espesores de las capas maquinadas ^[55, 58, 64, 144] aplicando esto para un modo de operación de cuarta longitud de onda obtenemos los espesores de la microcámara y del reflector; sin embargo debe tenerse en cuenta que esto es función de los materiales utilizados dado que están en relación directa con su impedancia, aceleración de actuación en el PZT y es por ello necesario la simulación estructural tal como se hizo para la figura 5.3 y el plano nodal que se desea obtener:

$$\frac{c_{\text{reflector}}}{f} = 2l_{\text{reflector}} \quad (5.37)$$

$$\frac{c_{\text{cámara}}}{f} = 4l_{\text{cámara}} \quad (5.38)$$

$$l_{\text{reflector}} + l_{\text{cámara}} = 2.04 \times 10^{-3} \text{ m} \quad (5.39)$$

$$\frac{c_{silicon}}{f} = 10 l_{silicon} \quad (5.40)$$

$$\frac{c_{PZT}}{f} = 4 l_{PZT} \quad (5.41)$$

$$\frac{l_{reflector} + l_{cámara}}{l_{silicon} + l_{PZT}} \sim 1.7 \quad (5.42)$$

$$\Rightarrow f = 1.513 \text{ MHz}$$

$$l_{reflector} = 1794 \mu m \quad \wedge \quad l_{cámara} = 245 \mu m$$

$$l_{silicon} = 557 \mu m \quad \wedge \quad l_{PZT} = 674 \mu m$$

Para el caso de un nodo acústico de cuarta longitud de onda se puede establecer una distancia relativamente lejana del reflector a fin de evitar que las partículas se adhieran a la superficie superior.

Los resultados de simulaciones múltiples dan las dimensiones del espesor de las capas que influyen en la densidad de energía acústica dentro de la capa del fluido y la posición del nodo con la frecuencia resonante ^[14, 24, 31,90].

Utilizando los valores de espesores anteriores y la tabla 5.16, se determina los modos de resonancia resultantes para la geometría y material empleado en el microdispositivo propuesto por Hill utilizando COMSOL 4.3, como se desea operar en un modo de operación de cuarta longitud de onda se halla que el valor requerido es 1.53191 MHz \approx 1.513 MHz.

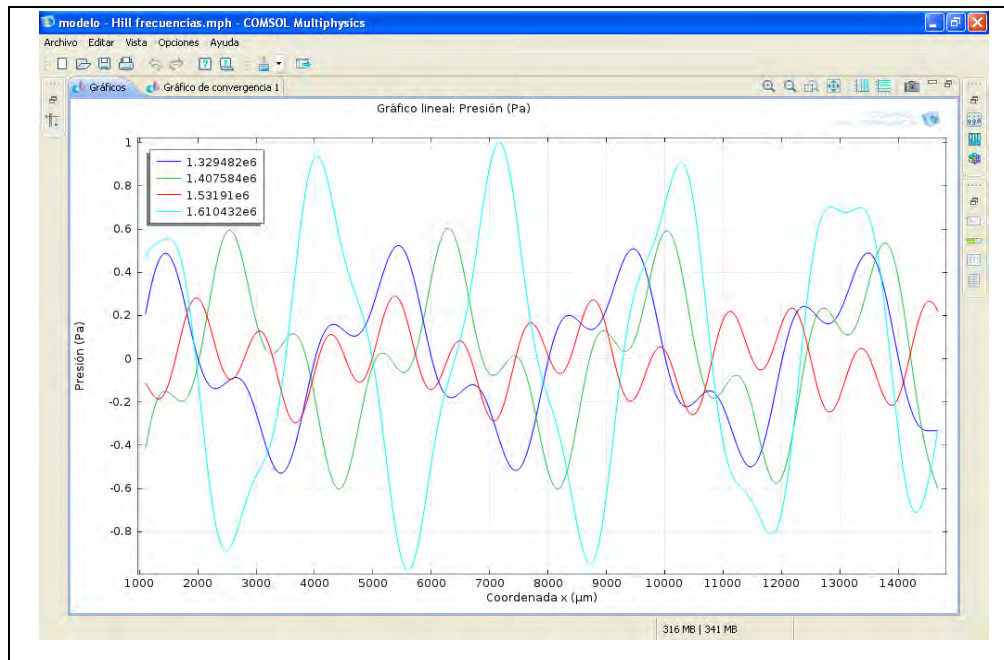


Figura 5.23: Selección de frecuencia que genere el plano nodal en el sistema micro resonador simulado con COMSOL 4.3.

5.9 Influencia de la frecuencia de actuación sobre la fuerza acústica

Un tratamiento que no se estipula en la separación de partículas por acustifóresis [6, 7, 9, 12,17, 28, 33, 42, 52,55 57, 64, 109, 111, 144] es la influencia de la frecuencia de actuación sobre la fuerza de radiación acústica, en lo que sigue se plantea como la frecuencia de actuación incide sobre la fuerza de radiación acústica.

Se asume que la partícula esférica es libre de ser sometida a vibraciones elásticas. En consecuencia la fuerza de radiación acústica sobre la partícula de eritrocitos está en función de la frecuencia aplicada, la cual genera la resonancia sobre las esferas elásticas de eritrocitos.

Del planteamiento dado sobre la fuerza acústica sobre una esfera dado por la ecuación (3.27) se tiene que sin pérdida de generalidad se puede descomponer en tres componentes definidos como una densidad de energía cinética, una densidad de energía potencial y una densidad de flux de momentum.

$$\langle E_{cin} \rangle = -2\pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} v_r^2 \sin\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle + 2\pi r_0^2 \left\langle \int_0^{2\pi} v_r v_\theta \sin^2\theta \, d\theta \right\rangle \quad (5.43)$$

$$\langle E_{pot} \rangle = +\pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} |\nabla \Phi_{1,no \, vis}|^2 \sin\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle \quad (5.44)$$

$$\langle E_{mom} \rangle = -\frac{\pi r_0^2 \rho_0}{c_0^2} \left\langle \int_0^{2\pi} (\partial_t \Phi_{1,no \, vis})^2 \sin\theta \cos\theta \, d\theta \right\rangle \quad (5.45)$$

Se aprecia en la ecuación (5.43) que la contribución de esta densidad de energía cinética es negativa; en tanto que la densidad de energía potencial ecuación (5.44) es positiva lo cual proporcionara que la difracción del sonido al incidir sobre la esfera de eritrocito deba ser muy pequeña dado que la superficie de la esfera se encuentra amortiguada en el medio fluido y esto hace que se encuentre alejado del valor de resonancia.

Como la densidad de energía cinética y potencial son esfuerzos aplicados sobre la superficie de la esfera de eritrocito, podemos agruparlas como una densidad de energía por unidad de superficie de la partícula:

$$\langle E_{esfuerzos} \rangle = \langle E_{cin} \rangle + \langle E_{pot} \rangle \quad (5.46)$$

Por similitud con la expresión de energía cinética se expresa la velocidad con que se desplaza el eritrocito $\approx \kappa \Phi_{ref}$, luego resulta que la densidad de energía cinética de las ondas acústicas incidentes sobre la esfera de eritrocito es:

$$\langle E_{cin} \rangle = \frac{\rho_0}{2} (\kappa \Phi_0)^2 \approx -2\pi r_0^2 \rho_0 \left\langle \int_0^{2\pi} v_r^2 \sin\theta \cos\theta \, d\theta - \int_0^{2\pi} v_r v_\theta \sin^2\theta \, d\theta \right\rangle \quad (5.47)$$

De la deducción realizada en la ecuación (3.34) en donde el dominio de frontera Ω_{sup} sobre una esfera es axialmente simétrico se pudo definir la fuerza de radiación acústica a lo largo de $\theta = 0$, obteniendo la ecuación (3.91):

$$\langle F_{rad} \rangle = [2\langle F_r \rangle + \langle F_{r\theta} \rangle] + [\langle F_\theta \rangle - \langle F_r \rangle] + [\langle F_t \rangle] \quad (5.48)$$

$$\langle F_{rad} \rangle = \langle E_{cinetico} \rangle + \langle E_{potencial} \rangle + \langle E_{momentum} \rangle \quad (5.49)$$

Relacionando la ecuación anterior con la densidad de energía aplicada sobre la superficie de la esfera de radio r_0 , se puede obtener la relación de la fuerza de radiación acústica promediada en el tiempo con la densidad de energía de esfuerzos sobre la superficie promediada en el tiempo.

La ecuación (5.48) y (5.49) son evaluadas utilizando la nomenclatura dada en el apartado 3.6 para la partícula de eritrocito con $r_0 = 4 \mu m$, velocidad compresional $c_{p,1} = 1631 m/s$, velocidad de cizalla $c_{p,2} = 960.54 m/s$, densidad de la partícula $\rho_p = 1099 Kg/m^3$, y con una relación de elasticidad de Poisson's $\sigma = 0.2345$ ^[49, 50, 100, 130] y asumiendo que $\Phi_{ref}^2 = 1$; los resultados obtenidos se muestran en la figura 5.24 y 5.26.

De la figura 5.24 se observa que a medida que aumenta la frecuencia de actuación sobre la partícula esférica de eritrocitos $(\dot{I} * r_0 = \frac{2\pi}{c_{ref}} f_{actuación})$, se va incrementado la fuerza de radiación acústica, la cual es influenciada de manera distinta por cada uno de sus componentes.

Los valores de la coordenada $\left(\frac{F_{componente}}{\Phi_{ref}^2}\right)$ en la región donde $(\dot{I} * r_0) < 0.15$, son pequeños debido a que las ondas de sonido son difractadas hacia fuera de la superficie de la esfera y el componente radial sobre esta región ejerce una acción negativa sobre la esfera que hace que la fuerza de radiación se mantenga constante, de allí las eigenfrecuencias muestren modos alternos de resonancia.

En la región donde $(\dot{I} * r_0) > 0.15$, el componente radial tangencial de la esfera alcanza altos valores, la frecuencia de actuación es muy alta creando corrientes acústicas que conducen a la cavitación dentro de la cámara de resonancia, la fuerza de radiación acústica se incrementa, sin embargo se aprecia la existencia de picos lo cual corresponde al hecho que la partícula elástica se encuentra en un modo de resonancia vibracional traslacional. También se observa que el componente $\langle F_t \rangle$ derivado como la contribución de la variación de velocidad potencial con el

tiempo (ecuación (3.33)) va fluctuando cerca de cero lo cual corresponde al hecho de que la fuerza resultante promediada en el tiempo es una contribución de segundo orden (2.4.3).

La tendencia negativa del componente radial $\langle F_r \rangle$ para $(\hat{I} * r_0) > 0.15$, indica que es la densidad de energía cinética (ecuación 5.48) es quien controla la formación de corrientes acústicas disminuyendo la posibilidad de separar partículas en esta región.

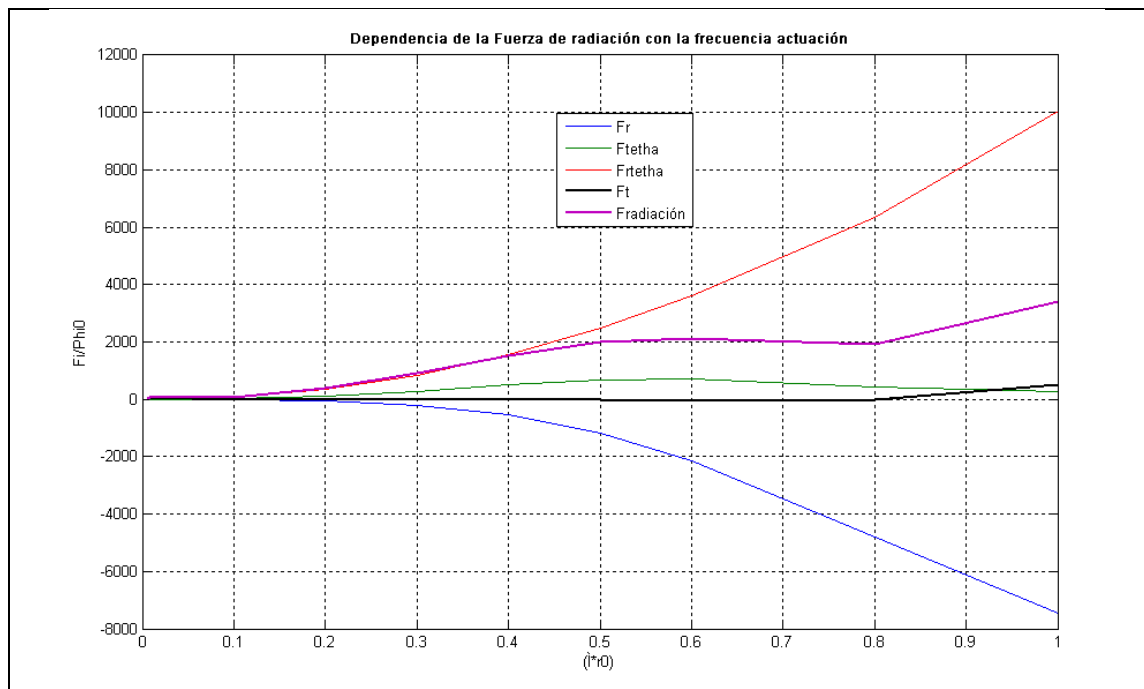


Figura 5.24: Acción de la frecuencia de actuación sobre la fuerza de radiación acústica.

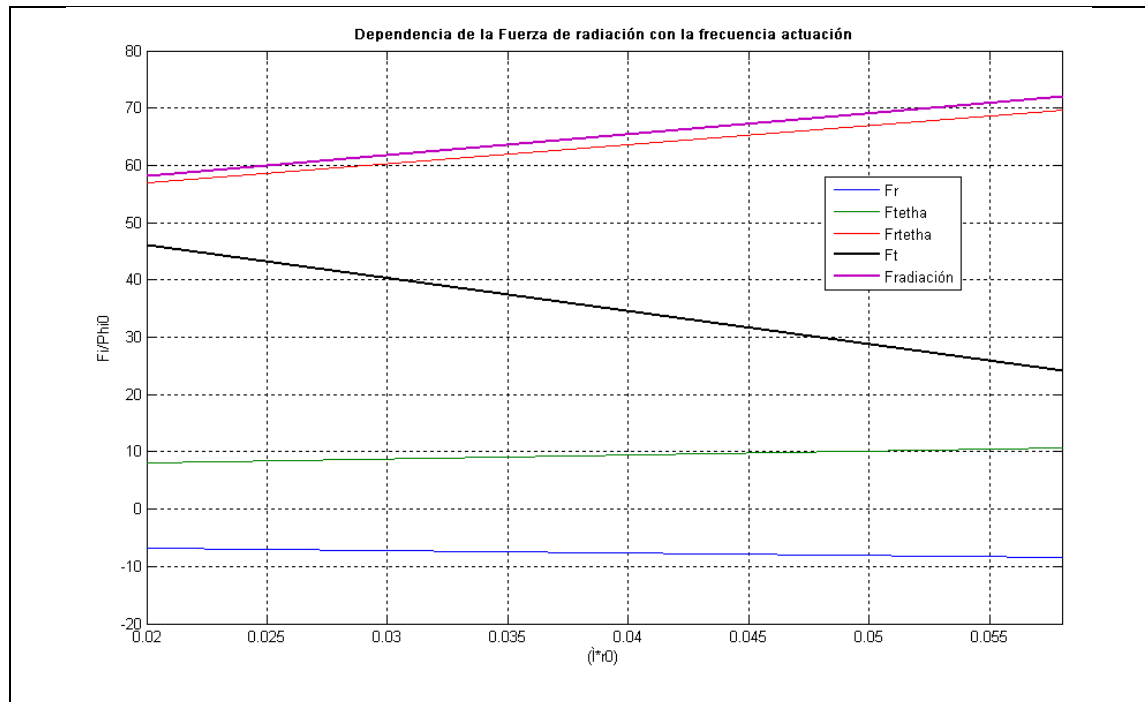


Figura 5.25: Contribución del componente azimutal en la separación de partículas.

En una ampliación de la figura 5.24 en el plano $(\hat{I} * r_0) = 0.042$, que corresponde a $f_{actuación} = 2.29 \text{ MHz}$ en la figura 5.25, la fuerza de radiación acústica es determinada por el componente de la fuerza radial tangencial de la esfera, siendo la contribución de la fuerza angular $\langle F_{\theta} \rangle$ descrita como rotacional.

De la ecuación (5.49) se puede interpretar la figura 5.26, como la densidad de energía cinética es negativa con respecto a la fuerza de radiación acústica, por ejercer sobre la esfera un efecto de arrastre, si bien hay una región comprendida entre $0.1 < (\hat{I} * r_0) < 0.5$ en el cual la densidad de energía cinética es positiva se debe a la velocidad sobre la superficie de la esfera es mayor comparada con la velocidad potencial acústica; por otro lado el hecho de presentar una caída en $(\hat{I} * r_0) \sim 0.5$ se debe a que la frecuencia de actuación actúa como una resonancia de traslación vibracional de la esfera.

La densidad de energía potencial es positiva tal como se verifica en la ecuación (5.44) y es la responsable de la existencia de la fuerza de radiación, con lo cual se verifica que a medida que se incrementa la densidad potencial también se incrementa la frecuencia de actuación sobre la partícula.

El hecho de que la densidad de momentum tenga un efecto despreciable sobre la fuerza de radiación acústica se debe a que la velocidad potencial sobre la superficie de la esfera está en dirección a la velocidad del fluido y no en dirección perpendicular al flujo, que es en donde se ejerce la fuerza de radiación acústica.

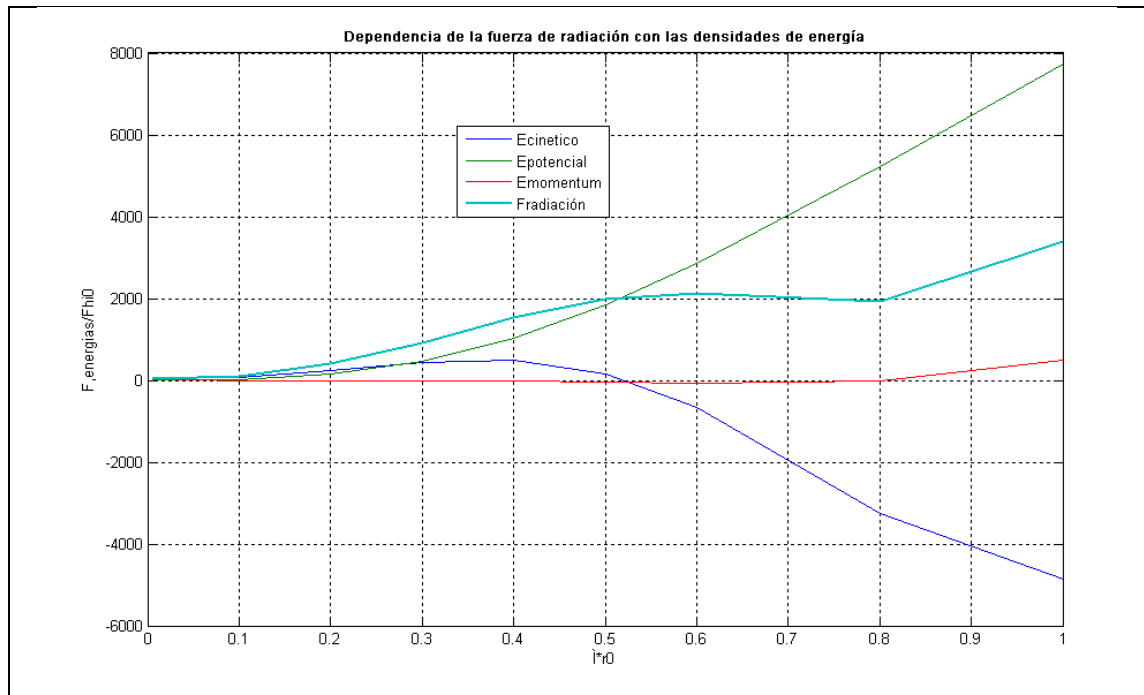


Figura 5.26: Efecto de las densidades de energía sobre la fuerza de radiación acústica.

En la figura 5.27 se muestra como a bajas frecuencia de actuación es la densidad de energía cinética la que contribuye con la separación de partículas, actuando la densidad de momentum de manera adversa, esto se debe a que frecuencias bajas de actuación pueden generar hasta tres planos nodales, lo cual corresponde a pequeñas longitudes de onda y por ello la velocidad angular muestra el efecto rotacional de la partícula es mayor que la de desplazamiento radial.

Se puede concluir que la fuerza de radiación acústica está en función de la frecuencia de actuación quien determina la región en la cual un componente actúa en forma favorable o adversa sobre la separación, lo cual se verifica en la figura 5.27 donde se observa como cambia marcadamente la densidad de energía potencial en tanto que la densidad de energía de momentum se hace más negativa.

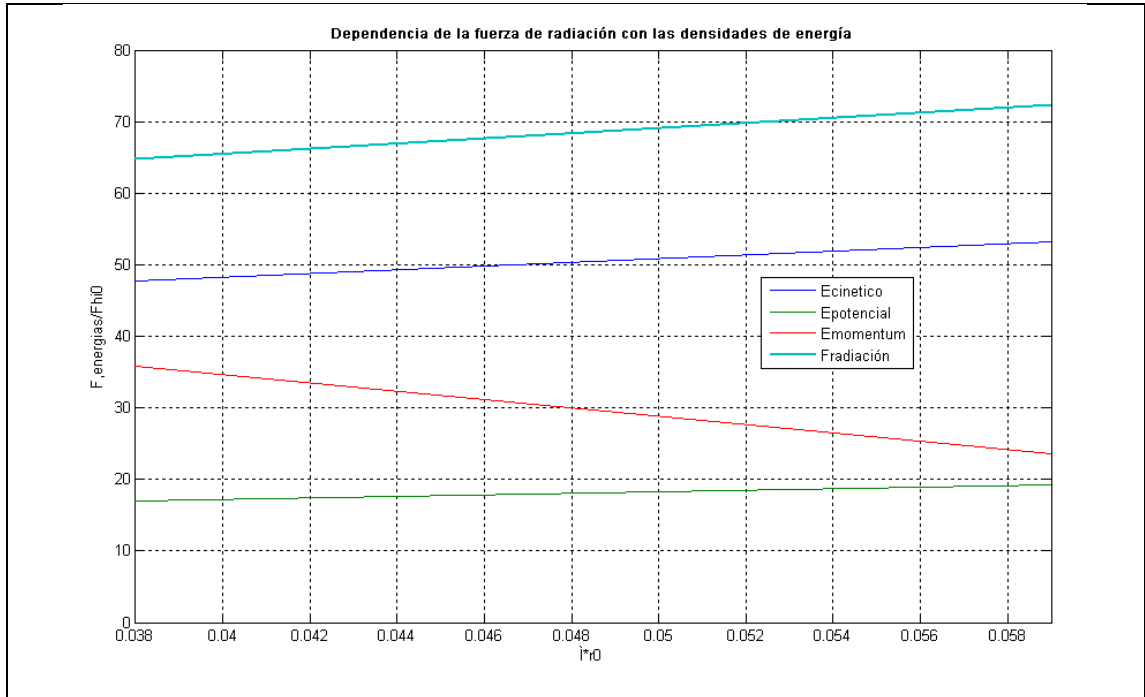


Figura 5.27: Influencia de la densidad de energía cinética sobre la fuerza de radiación acústica.

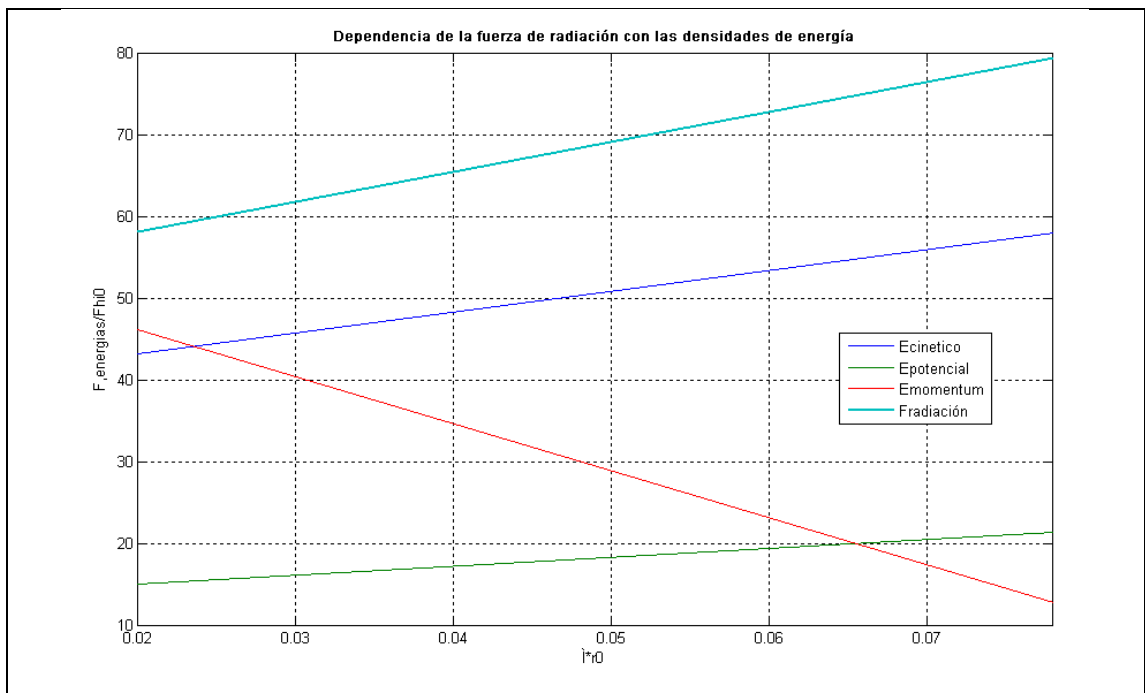


Figura 5.28: Contribución en la fuerza de radiación para la separación de partículas f_{act} 3.54 MHz.

5.10 Concentración de partículas

Para el caso de simulación de la concentración de partículas, puede ser esta representada como una función de distribución de partículas en un espaciamento transversal dentro del microcanal, lo que equivale a la aplicación de la ley de continuidad; el espaciamento corriente abajo depende de la trayectoria de partículas de una serie determinada de partículas adoptado luego del cese de la aplicación de la fuerza de radiación acústica ^[13, 91, 144].

Se puede calcular el cambio en la concentración de partículas por sectores a la entrada del microcanal en un plano de corte 'x', teniendo en cuenta las coordenadas de la trayectoria resultante que es dependiente del cambio en el espaciamento lateral (x) entre cada partícula. El flujo volumétrico relativo a sectores sobre el espaciamento transversal del microcanal debe aumentar por el consiguiente traslado de partículas hacia sus planos nodales respectivos.

La naturaleza asimétrica de la fuerza acústica de radiación a través del microcanal es evidente al variar la posición de las partículas de eritrocitos conduciéndolas al plano nodal en modo de operación de cuarta longitud de onda.

Se puede observar en la figura 5.16 como las partículas son forzadas hacia el plano nodal prefijado en el microcanal de Hill, donde ahora la concentración de partículas de eritrocitos es mayor.

La concentración a través de la salida se calcula por la determinación del flujo másico entre un plano de entrada y el correspondiente a su salida, luego el flujo volumétrico de la partícula entre la pared y la posición en la cual el flujo se divide entre las salidas, dividiendo esto por el flujo volumétrico correspondiente del fluido de salida resulta en la concentración de la partícula.

En la figura 5.29 se muestra las coordenadas de la posición de dos partículas antes de ejercerse la fuerza de radiación acústica y la posición de salida después que deja de actuar la fuerza de radiación acústica ^[13, 91, 144].

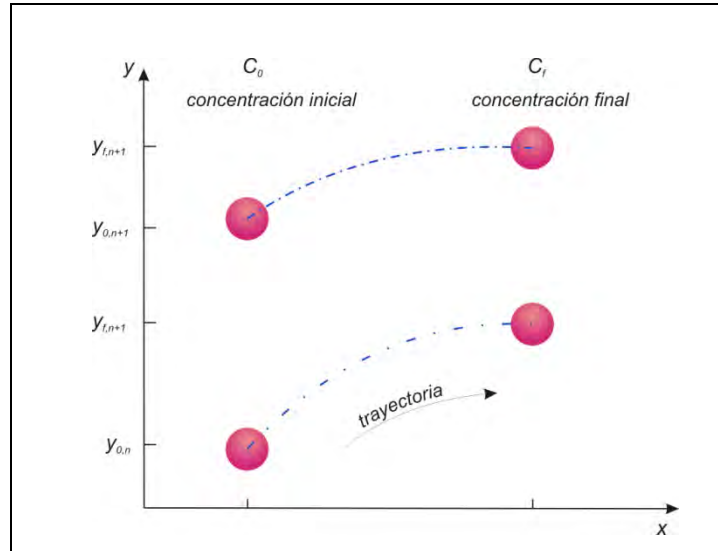


Figura 5.29: Coordenadas de variación de trayectoria de partículas para el cálculo de concentración, en la dirección de flujo en el microcanal.

Aplicando un balance de flujo másico por unidad de área transversal entre dos planos perpendiculares a la dirección de flujo se tiene:

$$C_f \approx \frac{\dot{x}_0}{\dot{x}_f} \frac{L_{transv,z}}{L_{transv,z}} \frac{(y_{0,n+1} - y_{0,n})}{(y_{f,n+1} - y_{f,n})} C_0 \quad (5.49)$$

Aplicando a ecuación (5.49) con los datos obtenidos en la figura 5.17 de la trayectoria de partículas de eritrocitos se obtiene la figura 5.30, evidenciando que estas convergen a un plano cercano a un cuarto de longitud de la pared superior del ancho del microcanal; demostrándose que la concentración de partículas luego que deja de actuar la fuerza de radiación acústica ha aumentado sobre el plano nodal siendo muy pequeña la concentración en la pared inferior, como se mantiene un flujo laminar las partículas continuarán esta trayectoria hasta las zonas de salida.

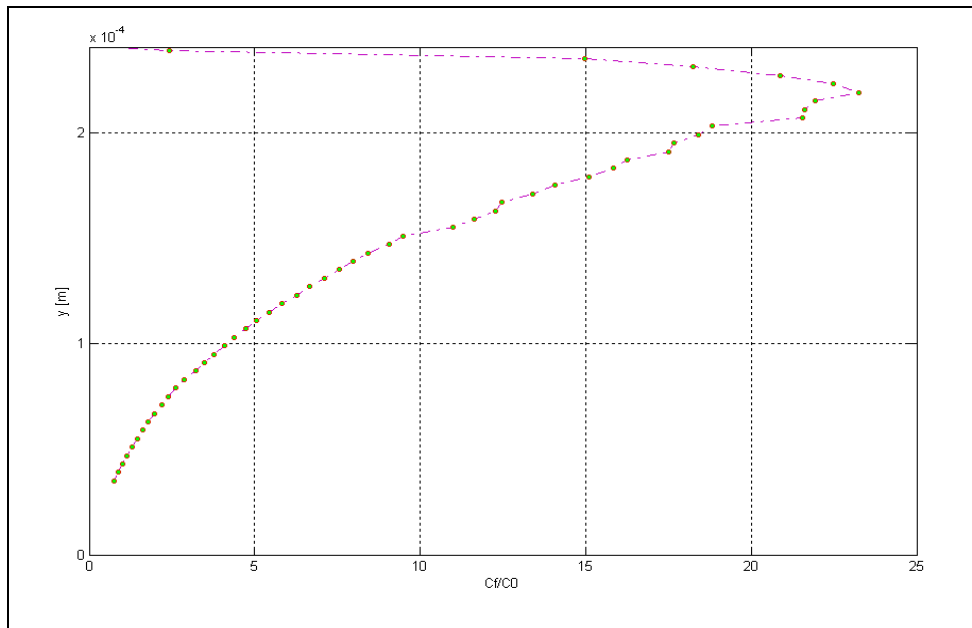


Figura 5.30: Distribución de la concentración relativa de partículas después del cese de la fuerza de radiación acústica para el modelo de Hill desarrollada con Matlab 7.14 (R2012a)

En la figura 5.31 se muestra el desplazamiento de partículas en el tiempo durante la aplicación de la fuerza de radiación acústica, en el modo de cuarta longitud de onda para las partículas de eritrocitos propuesto en este capítulo utilizando el microdispositivo de Hill [56, 60, 61, 62, 67, 68,144].

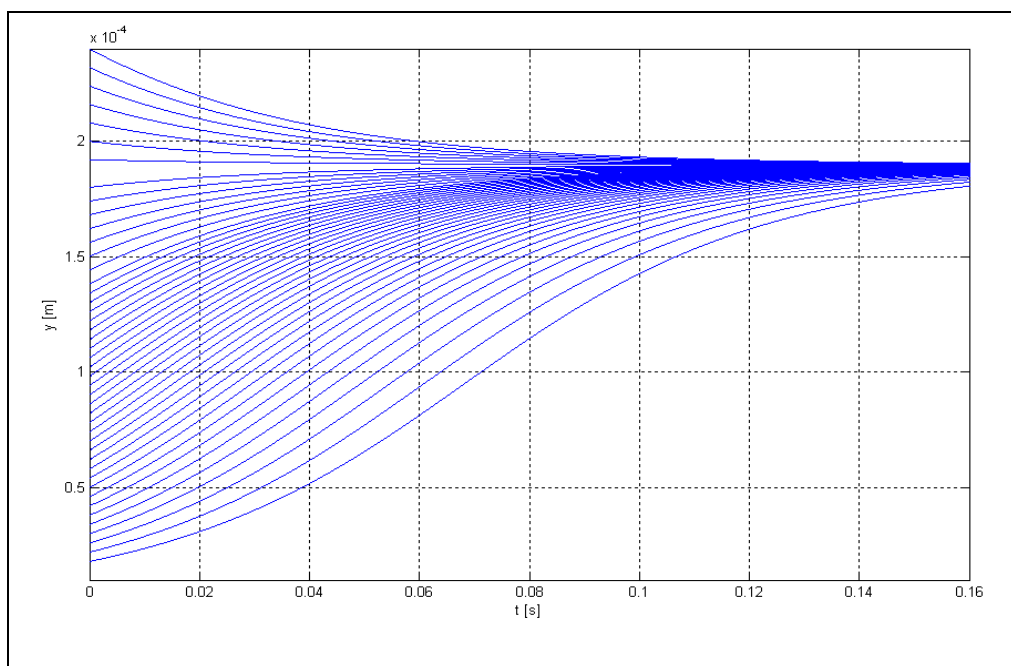


Figura 5.31: Distribución de partículas en el tiempo durante la aplicación de la fuerza acústica.

5.11 Eficiencia de separación

Finalmente se calcula la eficiencia de separación entre las partículas de eritrocitos y triglicéridos_{>C16} contenidos en la sangre humana en una concentración al 40 %, calculando que si se utiliza el microdispositivo de Martin Hill se alcanzaría una eficiencia del 80.33 % operando en un modo de operación de cuarta longitud de onda.

Esta distribución de concentración de partículas final en virtud del desplazamiento laminar, se puede utilizar para calcular el grado de separación de partículas alcanzado. Analizando la figura 5.28 es posible limitar la anchura del microcanal a una altura intermedia h_{inter} , tal que se divide en este caso en dos caudales de flujo salientes luego el flujo másico es aproximado para cada sector transversal de salida como ^[104, 144]:

$$C_{i,salida} Q_{salida} \approx \sum_{n=1}^{n=n} v_{f,n} C_{f,n} \Delta y \Delta z \quad (5.50)$$

$$C_{i,salida} \approx \frac{\sum_{n=1}^{n=n} v_{f,n} C_{f,n} \Delta y \Delta z}{\int_{h_{inicial}}^{h_{final}} v_{(y)} \Delta z dy} \quad (5.51)$$

La eficacia de separación es determinada como una relación de flujo saliente a la fracción total obtenida en las salidas:

$$S = \frac{A}{A + B} 100 \quad (5.52)$$

A = fracción relativa de partículas recogida en la salida principal.

B = fracción relativa de partículas recogida en las salidas laterales.

Aplicando la ecuación (5.52) y con la figuras 5.17 - 5.30 en la ecuación (5.51), se obtiene que la eficiencia de separación por la última salida de la derecha en el modelo del microdispositivo propuesto por Hill en una onda acústica estacionaria de cuarta longitud de onda resulta 80.33 %, en un proceso de un solo paso para los eritrocitos.

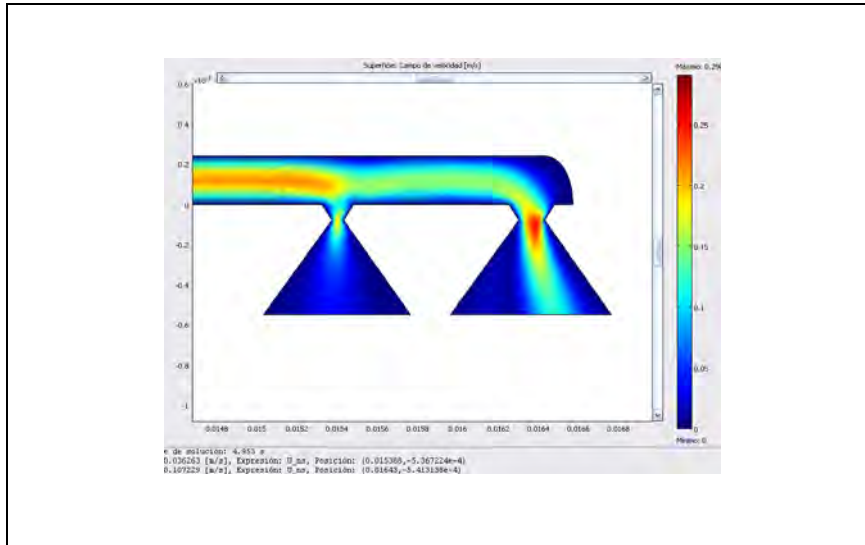


Figura 5.32: Campo de velocidad saliente en modo de cuarta longitud de onda para el modelo de Hill; con velocidad media de entrada de 0.083 m/s y con velocidades de salida 0.0363 y 0.1072 m/s.

CAPITULO VI

APLICACIÓN ACÚSTICA EN SISTEMAS MICROFLUIDOS

Las ondas acústicas son generadas en el electrodo las que causan en la región del cristal con la fuente piezoeléctrica que esta varíe espacialmente, resultando entonces en un desplazamiento de ondas acústicas en el cristal por superposición de ondas.

En este capítulo se realiza la generalización matemática de la propagación de ondas acústicas a través de múltiples interfaces de incidencia del sonido sobre las cuales es reflejada y transmitida, a partir de la superficie de actuación que genera el transductor, lo que conlleva a la propagación de la onda acústica a través de los medios.

6.1 Emisión de ondas en superficies oscilantes

Cuando una onda plana de ultrasonido incide en una interface entre dos medios diversos, la fuerza acústica de radiación se ejerce en la interface.

Asumiendo que la pared del microcanal es excitado vibratoriamente por un elemento piezoeléctrico, la ecuación de desplazamiento de ondas generadas en el microfluido por un actuador piezoeléctrico con una amplitud máxima de vibración l es dada por ^[19, 31]:

$$\xi_{(t)} = \pm ile^{-i\omega t} \quad (6.1)$$

El uso de la notación compleja en la ecuación de desplazamiento permite obtener una velocidad oscilante de la pared piezoeléctrica:

$$v_{pared} = \frac{\partial \xi(t)}{\partial t} = \pm \omega l e^{-i\omega t} \quad (6.2)$$

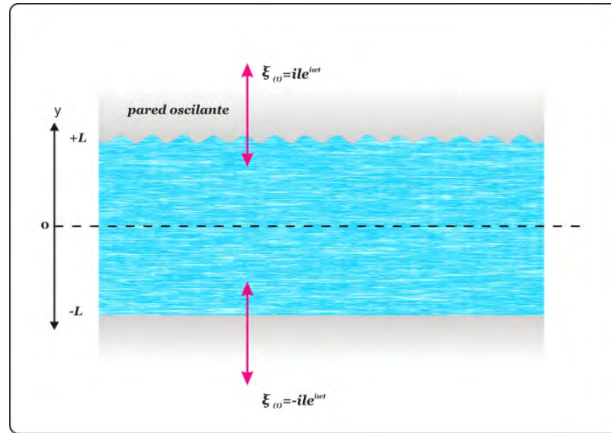


Figura 6.1: Actuador piezoeléctrico con desplazamiento vertical de vibración.

Luego se puede observar que es necesario que la pared opuesta del lado inferior deba actuar en forma opuesta y crear así la superposición de ondas acústicas dentro del microfluido.

Entonces se tiene, que si se usa como condición de frontera la velocidad oscilante de la pared para la distribución del fluido, para una superposición de ondas es posible formular en las dos paredes del elemento piezoeléctrico:

$$v_{fluido}(y,t) = Ae^{i(k_0 y - \omega t)} + Be^{-i(k_0 y + \omega t)} \quad (6.3)$$

C.L.:

$$v_{pared, sup} = +\omega l e^{-i\omega t} \quad y = +L \quad (6.4)$$

$$v_{pared, inf} = -\omega l e^{-i\omega t} \quad y = -L \quad (6.5)$$

$$\omega l = Ae^{i(k_0 L)} + Be^{-i(k_0 L)}$$

$$-\omega l = Ae^{-i(k_0 L)} + Be^{i(k_0 L)}$$

De donde resulta:

$$A = -B = \frac{\omega l}{2i \operatorname{sen}(k_0 L)} \quad (6.6)$$

Remplazando en la ecuación (6.3) y acomodando términos se tiene:

$$v_{fluido(y,t)} = \frac{\omega l}{2i \operatorname{sen}(k_0 L)} [e^{i(k_0 y - \omega t)} - e^{-i(k_0 y + \omega t)}] \quad (6.7)$$

$$v_{fluido(y,t)} = \omega l \frac{\operatorname{sen}(k_0 y)}{\operatorname{sen}(k_0 L)} e^{-i\omega t} \quad (6.8)$$

La ecuación de onda acústica estacionaria permite hallar la velocidad potencial de la ecuación (2.62):

$$\Phi_{(y,t)} = -\frac{\omega l}{k_0} \frac{\cos(k_0 y)}{\operatorname{sen}(k_0 L)} e^{-i\omega t} \quad (6.9)$$

La presión acústica no viscosa de primer orden se puede obtener insertando la ecuación (6.9) en la ecuación (2.66) de donde resulta:

$$P_{10(y,t)} = -i\rho_0 c_0^2 k_0 l \frac{\cos(k_0 y)}{\operatorname{sen}(k_0 L)} e^{-i\omega t} \quad (6.10)$$

De donde la resonancia ocurre en $k_0 L = m\pi$ $m \in N$.

Se puede bosquejar la parte real de las ecuaciones (6.8) y (6.10) y observar el cambio de fase para una frecuencia dada en dos intervalos diferentes de tiempo, se puede apreciar como en la posición nodal de presión en donde la presión es mínima, la velocidad alcanza un máximo valor; en tanto cuando el plano nodal se localiza en los antinodos donde la presión acústica alcanza un valor máximo la velocidad en este plano es mínima.

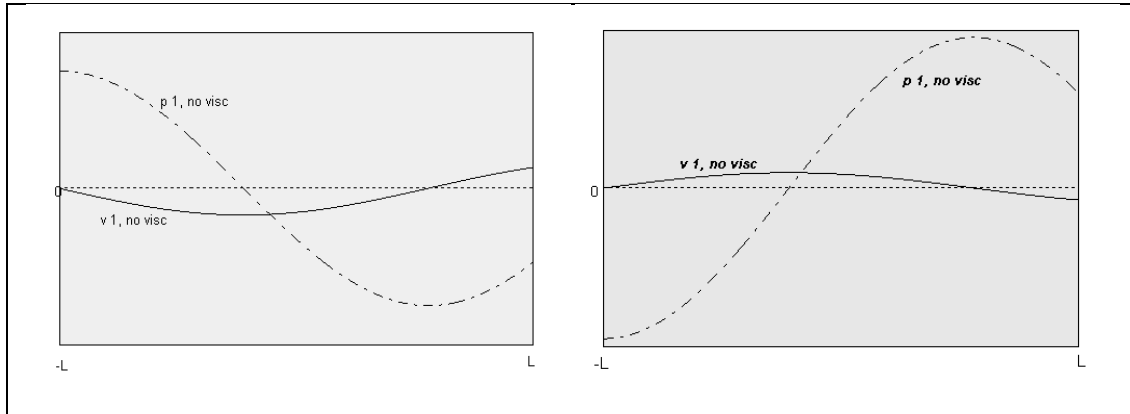


Figura 6.2: distribución de presión y velocidad de primer orden en el modelo armónico.

6.2 Frecuencia de resonancia dentro del dispositivo separador

Las dimensiones del espesor de la capa son relativamente pequeñas comparadas con la longitud y la anchura del microdispositivo, sobre el cual actúan frecuencias de resonancia.

Es importante la geometría de la microcámara y su maquinado anisotrópico, las variaciones laterales dentro del dispositivo pueden causar turbulencia demasiado alta dentro de las paredes del compartimiento ^[61, 64, 144], que para el caso de separación de partículas no es conveniente.

Las eigenfrecuencias se pueden estimar para una geometría rectangular, donde las longitudes de onda de resonancia se aproximan a las fracciones de las dimensiones de la cavidad rectangular con límites rígidos ^[56, 66, 106].

$$f = \frac{c}{2} \sqrt{\left\langle \frac{l}{L_x} \right\rangle^2 + \left\langle \frac{m}{L_y} \right\rangle^2 + \left\langle \frac{n}{L_z} \right\rangle^2} \quad (6.11)$$

Donde las dimensiones de L_x , L_y y L_z varían con modos de órdenes relativos l , m y n (0,1). La existencia de tales modos dentro del microdispositivo separador dará lugar a gradientes axiales de presión laterales (z) y (y).

Las frecuencias de resonancia ocurren en diferentes modos, por lo que la frecuencia puede ser elegida arbitrariamente.

6.3 Propagación de onda a través de múltiples interfaces

Asumiendo que el movimiento de la pared piezoeléctrica superior tiene un comportamiento oscilante y que la onda es reflejada hacia la otra pared reflectora a través del fluido, se conduce a una expansión en el desplazamiento superficial [52, 78]:

$$\Xi_{trans\ 1}(x,t) = \xi_0 e^{-i\omega t - k_0 x} \quad (6.12)$$

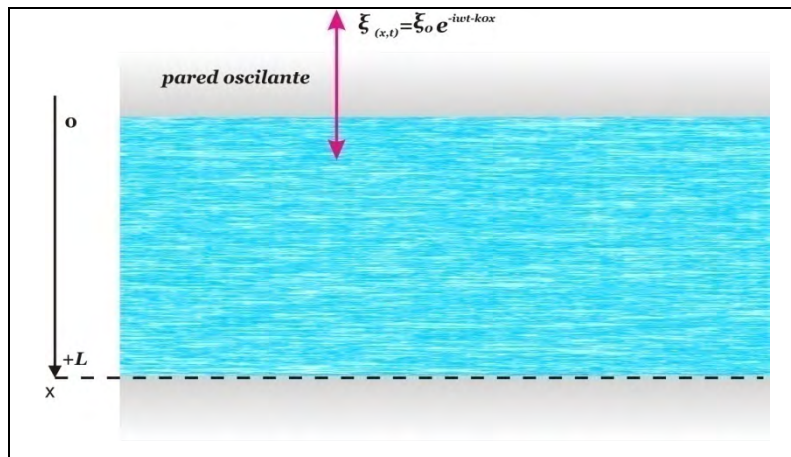


Figura 6.3: Pared superior oscilante con desplazamiento superficial.

De tal manera que en $x = L$ la posición de la onda acústica derivada del transductor sería:

$$\Xi_{trans\ 1}(L,t) = \xi_0 e^{-i\omega t - k_0 L} \quad (6.13)$$

Luego la onda reflejada transmite la amplitud de desplazamiento con fase π :

$$\Xi_{refl\ 1}(x,t) = \left| \xi_0 e^{-i\omega t - k_0 L} \right|_{t=0} e^{-i(\omega t + \pi) - k_0(L-x)} = \xi_0 e^{-i\omega(t+\pi) - k_0(2L-x)} = -\xi_0 e^{-i\omega t - k_0(2L-x)}$$

Similarmente la onda que fue transmitida incide sobre el medio contiguo transmitiéndose y reflejándose sobre otra capa:

$$\Xi_{trans\ 2}(x,t) = \left| -\xi_0 e^{-i\omega t - k_0(2L-x)} \right|_{t=0} e^{-i\omega t - k_0(x)} = \xi_0 e^{-i\omega t - k_0(2L+x)}$$

$$\Xi_{refl\ 2}(x,t) = \left| -\xi_0 e^{-i\omega t - k_0(2L+x)} \right|_{t=0} e^{-i(\omega t + \pi) - k_0(x)} = -\xi_0 e^{-i\omega t - k_0(4L-x)}$$

Esto conlleva a que la onda de sonido se vaya propagando a través de las capas contiguas:

$$\Xi_{(x,t)} = \Xi_{trans\ 1}(x,t) + \Xi_{refl\ 1}(x,t) + \Xi_{trans\ 2}(x,t) + \Xi_{refl\ 2}(x,t) + \dots \quad (6.14)$$

$$\Xi_{(x,t)} = \xi_0 e^{-i\omega t} [e^{-k_0 x} - e^{-k_0(2L-x)} + e^{-k_0(2L+x)} - e^{-k_0(4L-x)} + e^{-k_0(4L+x)} + \dots]$$

$$\Xi_{(x,t)} = \xi_0 e^{-i\omega t} \sum_{n=0}^{\infty} [e^{-k_0(2nL+x)} - e^{-k_0(2(n+1)L-x)}]$$

$$\Xi_{(x,t)} = \xi_0 e^{-i\omega t} \sum_{n=0}^{\infty} e^{-k_0(2nL+x)} - \xi_0 e^{-i\omega t} \sum_{n=0}^{\infty} e^{-k_0(2(n+1)L-x)}$$

$$\Xi_{(x,t)} = \Xi_t e^{-i\omega t - k_0 x} + \Xi_r e^{-i\omega t + k_0 x} \quad (6.15)$$

Como la onda de sonido incidente es igual a la onda transmitida y reflejada esto permite establecer la continuidad de onda en la interface de contacto:

$$\Xi_{incidente}(z,t) = \varphi_t(z,t) + \varphi_r(z,t) \quad (6.16)$$

$$\Xi_{m,incidente}(x,t) = \Xi_{m,t} e^{i(\kappa_m x - \omega t)} + \Xi_{m,r} e^{-i(\kappa_m x + \omega t)} \quad (6.17)$$

$$\frac{\partial}{\partial x} \Xi_{m,incidente}(x,t) = i\kappa_m \Xi_{m,t} e^{i(\kappa_m x - \omega t)} + -i\kappa_m \Xi_{m,r} e^{-i(\kappa_m x + \omega t)}$$

$$\frac{\partial}{\partial t} \Xi_{m,incidente}(x,t) = -i\omega \Xi_{m,t} e^{i(\kappa_m x - \omega t)} + -i\omega \Xi_{m,r} e^{-i(\kappa_m x + \omega t)}$$

La condición de frontera en la interface "m" corresponde a la continuidad de la onda entrante entre las dos capas adyacentes:

$$\frac{\partial}{\partial x} \Xi_{m,incidente}(L_m,t) = \frac{\partial}{\partial x} \Xi_{m+1,incidente}(L_m,t) \quad (6.18)$$

Además la fuerza en la interface debe ser la misma en ambas capas:

$$-\rho_m \frac{\partial}{\partial t} \Xi_{m,incidente(L_m,t)} = -\rho_{m+1} \frac{\partial}{\partial t} \Xi_{m+1,incidente(L_m,t)} \quad (6.19)$$

Aplicando las condiciones de frontera en la interface $x = L_m$, en las ecuaciones de propagación de onda a través de cada interfase se obtiene entonces:

$$\Xi_{m+1,t} e^{i k_{m+1} x} - \Xi_{m+1,r} e^{-i k_{m+1} x} = \left[\frac{k_m}{k_{m+1}} \Xi_{m,t} e^{i k_m x} - \Xi_{m,r} e^{-i k_m x} \right] \Big|_{x=L_m}$$

$$\left[\Xi_{m+1,t} e^{i k_{m+1} x} + \Xi_{m+1,r} e^{-i k_{m+1} x} \right] = \frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} \left[\Xi_{m,t} e^{i k_m x} + \Xi_{m,r} e^{-i k_m x} \right] \Big|_{x=L_m}$$

Expresando las dos ecuaciones anteriores en forma matricial se tiene:

$$\begin{bmatrix} e^{i k_{m+1} x} & -e^{-i k_{m+1} x} \\ e^{i k_{m+1} x} & e^{-i k_{m+1} x} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \Xi_{m+1,t} \\ \Xi_{m+1,r} \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{k_m}{k_{m+1}} e^{i k_m x} & -\frac{k_m}{k_{m+1}} e^{-i k_m x} \\ \frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} e^{i k_m x} & \frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} e^{-i k_m x} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \Xi_{m,t} \\ \Xi_{m,r} \end{pmatrix} \Big|_{x=L_m} \quad (6.20)$$

De donde multiplicando por la matriz inversa del lado izquierdo resulta:

$$\begin{pmatrix} \Xi_{m+1,t} \\ \Xi_{m+1,r} \end{pmatrix} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} e^{-i k_{m+1} x} & e^{-i k_{m+1} x} \\ -e^{i k_{m+1} x} & e^{i k_{m+1} x} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \frac{k_m}{k_{m+1}} e^{i k_m x} & -\frac{k_m}{k_{m+1}} e^{-i k_m x} \\ \frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} e^{i k_m x} & \frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} e^{-i k_m x} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \Xi_{m,t} \\ \Xi_{m,r} \end{pmatrix} \Big|_{x=L_m}$$

$$\begin{pmatrix} \Xi_{m+1,t} \\ \Xi_{m+1,r} \end{pmatrix} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} \left(\frac{k_m}{k_{m+1}} + \frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} \right) e^{i(k_m - k_{m+1})x} & \left(\frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} - \frac{k_m}{k_{m+1}} \right) e^{-i(k_m + k_{m+1})x} \\ \left(\frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} - \frac{k_m}{k_{m+1}} \right) e^{i(k_m + k_{m+1})x} & \left(\frac{k_m}{k_{m+1}} + \frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} \right) e^{-i(k_m - k_{m+1})x} \end{bmatrix} \begin{pmatrix} \Xi_{m,t} \\ \Xi_{m,r} \end{pmatrix} \Big|_{x=L_m}$$

De donde se puede definir la matriz de transmisión desde la fase $m + 1$ a m :

$$T_{(m+1,m)} = \frac{1}{2} \left[\begin{array}{cc} \left(\frac{\kappa_m}{\kappa_{m+1}} + \frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} \right) e^{i(\kappa_m - \kappa_{m+1})x} & \left(\frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} - \frac{\kappa_m}{\kappa_{m+1}} \right) e^{-i(\kappa_m + \kappa_{m+1})x} \\ \left(\frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} - \frac{\kappa_m}{\kappa_{m+1}} \right) e^{i(\kappa_m + \kappa_{m+1})x} & \left(\frac{\kappa_m}{\kappa_{m+1}} + \frac{\rho_m}{\rho_{m+1}} \right) e^{-i(\kappa_m - \kappa_{m+1})x} \end{array} \right]_{x=L_m}$$

$$\begin{pmatrix} \bar{\Xi}_{m+1,t} \\ \bar{\Xi}_{m+1,r} \end{pmatrix} = T_{(m+1,m)} \begin{pmatrix} \bar{\Xi}_{m,t} \\ \bar{\Xi}_{m,r} \end{pmatrix} \quad (6.21)$$

Similarmenre por recurrencia es posible obtener para las capas subsiguientes:

$$\begin{pmatrix} \bar{\Xi}_{m,t} \\ \bar{\Xi}_{m,r} \end{pmatrix} = T_{(m,m-1)} \begin{pmatrix} \bar{\Xi}_{m-1,t} \\ \bar{\Xi}_{m-1,r} \end{pmatrix}$$

$$\begin{pmatrix} \bar{\Xi}_{m-1,t} \\ \bar{\Xi}_{m-1,r} \end{pmatrix} = T_{(m-1,m-2)} \begin{pmatrix} \bar{\Xi}_{m-2,t} \\ \bar{\Xi}_{m-2,r} \end{pmatrix}$$

$$\begin{pmatrix} \bar{\Xi}_{m,t} \\ \bar{\Xi}_{m,r} \end{pmatrix} = T_{(m,m-1)} T_{(m-1,m-2)} \begin{pmatrix} \bar{\Xi}_{m-2,t} \\ \bar{\Xi}_{m-2,r} \end{pmatrix} \quad (6.22)$$

Entonces las amplitudes de transmisión-reflexión viene dado por el conjunto de ecuaciones lineales dados en forma matricial extendida generalizada como:

$$\begin{pmatrix} \bar{\Xi}_{m+1,t} \\ \bar{\Xi}_{m+1,r} \end{pmatrix} = T_{(m+1,m)} T_{(m,m-1)} T_{(m-1,m-2)} \dots T_{(2,1)} \begin{pmatrix} \bar{\Xi}_{1,t} \\ \bar{\Xi}_{1,r} \end{pmatrix} \quad (6.23)$$

El conjunto de ecuaciones lineales puede ser entonces resuelto asumiendo que en la última fase la reflexión del sonido es nula así como la forma de la velocidad de las partículas en elemento piezoeléctrico.

La ecuación anterior también permite demostrar que el paso de la onda incidente al pasar de una fase a otra:

$$I_{Transmitida (m+1)}(x,t) = I_{Reflejada (m+1)}(x,t) + I_{Transmitida (m)}(x,t) \Big|_{x=L_m} \quad (6.24)$$

Ecuación que refleja la pérdida de intensidad acústica en el medio circundante, de allí que sea importante el material del transductor y reflector para mantener la onda acústica estacionaria.

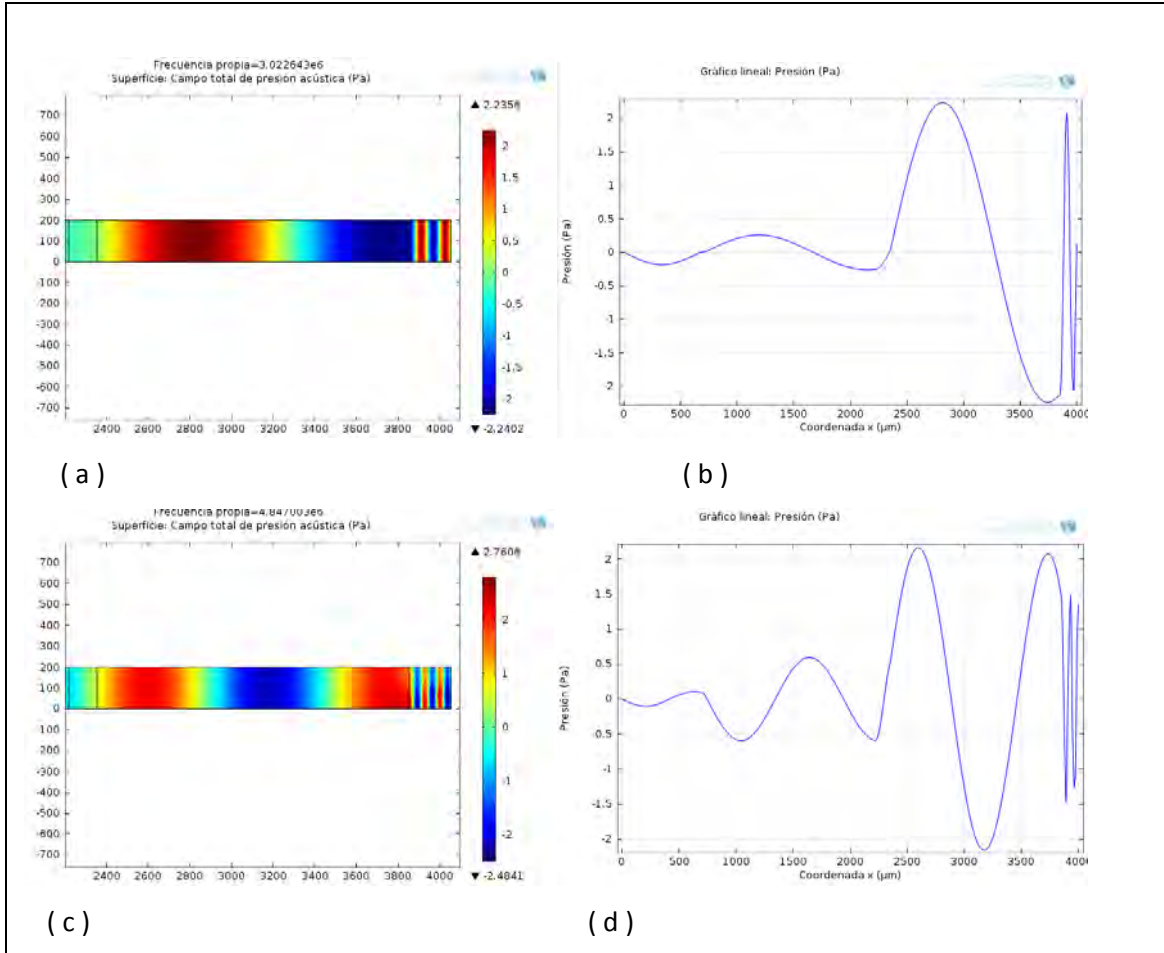


Figura 6.4: Propagación de presión acústica a través de múltiples interfaces.

a) $f=3.0226$ MHz

b) $f=4.8470$ MHz

La figura 6.4 muestra la propagación continua de la presión acústica de la onda acústica estacionaria, al incrementar la frecuencia se crean dos campos de alta intensidad en el reflector en las interfaces microcámara/reflector y reflector/aire (zona de color rojo); en tanto que en la microcámara (lado izquierdo de la figura) se ha creado una condición de presión acústica cercana a cero lo que sería propicio para obtener un modo de operación cercano a la pared del reflector.

CAPITULO VII

COMPARACIÓN TEÓRICA Y EXPERIMENTAL

La simulación numérica computacional permite predecir el funcionamiento de un separador ultrasónico en el que se asume flujo laminar, el modelamiento planteado se adapta para cualquier diseño del microdispositivo separador. Los resultados experimentales muestran concentraciones más bajas que las modeladas ^[10,27, 32].

En el capítulo V se realizó la simulación computacional para la separación de partículas eritrocitos-triglicéridos_{>C16} de la sangre humana utilizando el microdispositivo de Hill; aquí se realiza la separación en el microdispositivo PARSUS el cual ha sido utilizado para la separación de eritrocitos-triglicéridos_{>C16} en la sangre de bovinos ^[41, 76, 83, 85, 109, 110, 111, 128], comparando los resultados experimentales referenciales de Petersson ^[109] con los obtenidos por simulación, demostrando que los resultados de eficiencia son mayores en este tipo de microdispositivo, de allí que se halla expandido el uso de este modelo para el tratamiento de sangre humana ^[36, 86, 87, 88, 110, 112, 146].

Las fuerzas acústicas en un campo de onda acústicas estacionarias fueron utilizadas para separar partículas del triglicéridos_{>C16} de los eritrocitos en la sangre. El método propone una manera de evitar embolias de triglicéridos_{>C16} en la sangre recuperada durante una cirugía cardíaca. Los eritrocitos y las partículas del triglicéridos_{>C16} suspendidas en plasma de sangre se exponen a un campo de onda acústica estacionaria de longitud de onda ortogonal a la dirección del flujo

mientras que pasan a través del microcanal, los eritrocitos se dirigen hacia el centro del microcanal y las partículas de triglicéridos_{>c16} hacia las paredes laterales.

El desarrollo de las técnicas de alta resolución y alta velocidad de proyección de imagen son utilizados para estudiar el comportamiento de partículas en sistemas ultrasónicos de onda acústica estacionaria, por medio de interceptación óptica y etiquetado magnético de las partículas en suspensión.

Un número de imágenes capturadas consecutivas de vectores velocidad es tomado en secuencia y correlacionado con su anterior. La velocidad de las partículas es asumida estar en estado estacionario durante un período corto siendo calculada la distribución de velocidad de la partícula por promedio de datos para cada punto individual del vector^[42, 128, 141].

7.1 Modelos de compartimientos integrados experimentales

Dos tipos de microdispositivos integrados (LOC) que se utilizaron en los experimentos de Glasdam^[42], fueron diseñados teniendo en cuenta la asunción de la interfase silicón/agua que puede ser considerado como una condición de frontera de pared dura, dada su alta diferencia de impedancias. La correspondencia entre los eigenmodos experimentales y los hallados con el software COMSOL 4.3, permiten predecir las frecuencias experimentales determinando así la distribución de presión acústica en el microdispositivo a utilizar^[75, 76].

Se observa en la figura 7.1 las corrientes acústicas que ocurren en recintos cerrados bajo la acción de un campo acústico libre a una determinada frecuencia de actuación, lo que puede explicarse como una sobre exposición de la fuerza de radiación acústica.

Si relacionamos la corriente acústica con la fuerza de radiación acústica (ecuación 4.41 y 5.1) obtenemos un factor proporcional a $1/r^2$, de allí que para pequeñas partículas la corriente acústica se incrementa rápidamente.

Mediante la propagación de sonido en las dos direcciones perpendiculares de estas microcámaras se genera una concentración de partículas alrededor de las isolíneas del potencial de la fuerza de

radiación acústica, la longitud de onda depende de la frecuencia de actuación es por esto que al incrementar la frecuencia la longitud de onda decrece y se obtiene un mayor conglomerado de partículas.

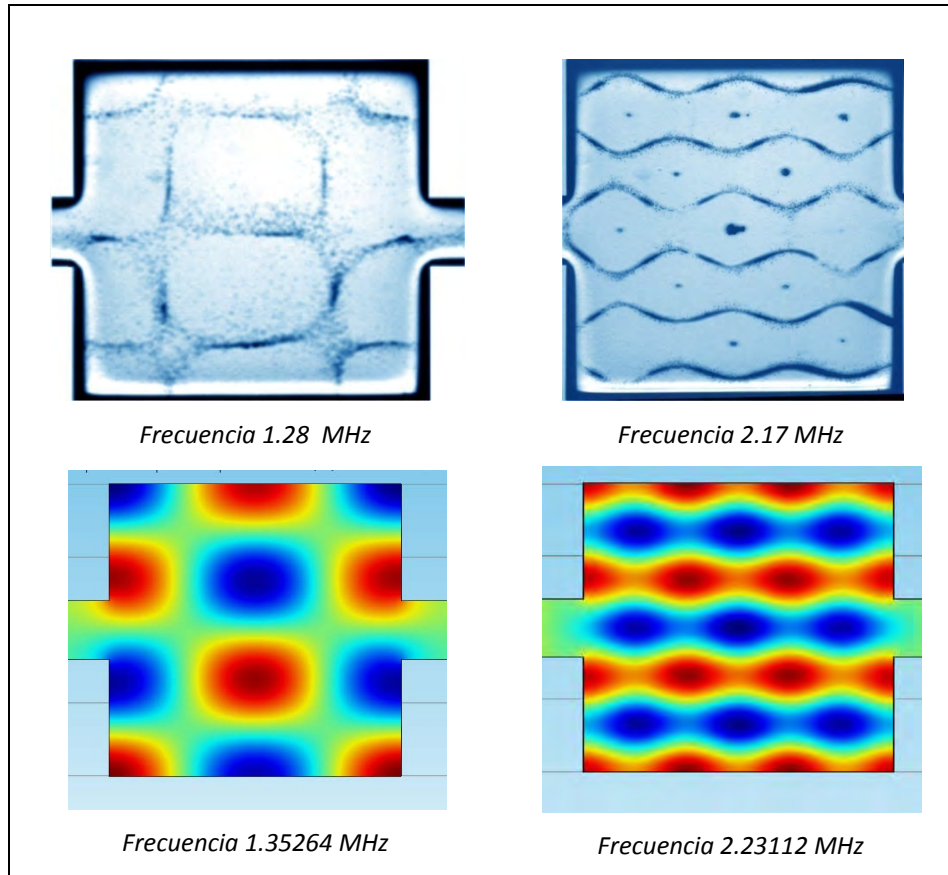


Figura 7.1: Comparación de las frecuencias simuladas con las determinadas experimentalmente para un compartimiento de forma cuadrada. Fuente de las fotografías experimentales: Melker Sundin^[132] las que se muestran en la fila superior.

En la figura 7.1 la simulación de las líneas de curva de niveles de presión simulados con los patrones de distribución de partículas obtenido experimentalmente, muestra que las partículas expuestas a la fuerza de presión acústica se acumulan en líneas nodales definidas y la presencia de partículas diferentes tienden a definir líneas no simétricas de estos planos nodales^[105, 106].

Se observa la diferencia de presión acústica dependiente de la frecuencia entre las figuras 7.1 y 7.2 debido a la mayor resonancia en el compartimiento como en el caso 7.1.a y 7.2.b en que la presión acústica es mayor.

La desviación entre la frecuencia simulada y experimental obedece también al calentamiento durante la separación de los microdispositivos; pero se observa la tendencia de distribución de las partículas dentro del compartimiento ^[74].

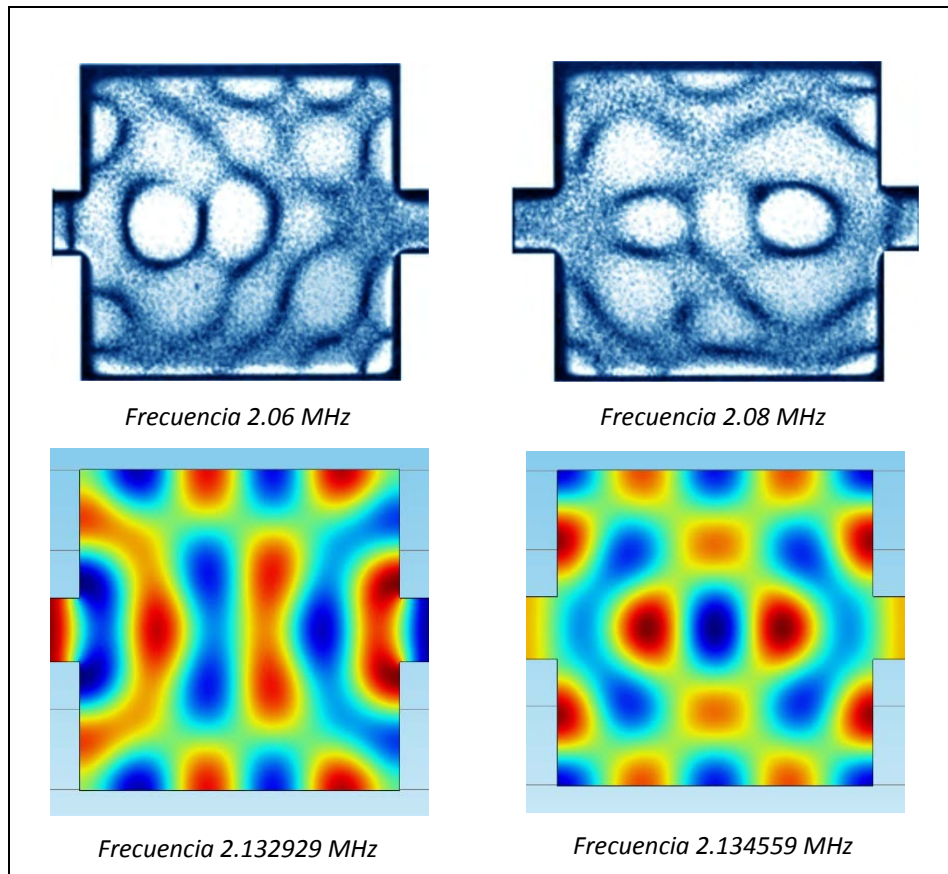


Figura 7.2: Comparación de las frecuencias simuladas con las determinadas experimentalmente para un compartimiento de forma cuadrada a frecuencias de resonancia mayores. Fuente de las fotografías experimentales: Melker Sundin ^[132] las que se muestran en la fila superior.

La correspondencia entre las simulaciones realizadas con COMSOL 4.3 y las fotografías experimentales en microcámaras circulares de Glasdam ^[42,132], son similares tal como se muestra en la figura 7.3, mostrando la correspondencia de la simulación de actuación del fluido dentro de la microcámara ^[132, 133].

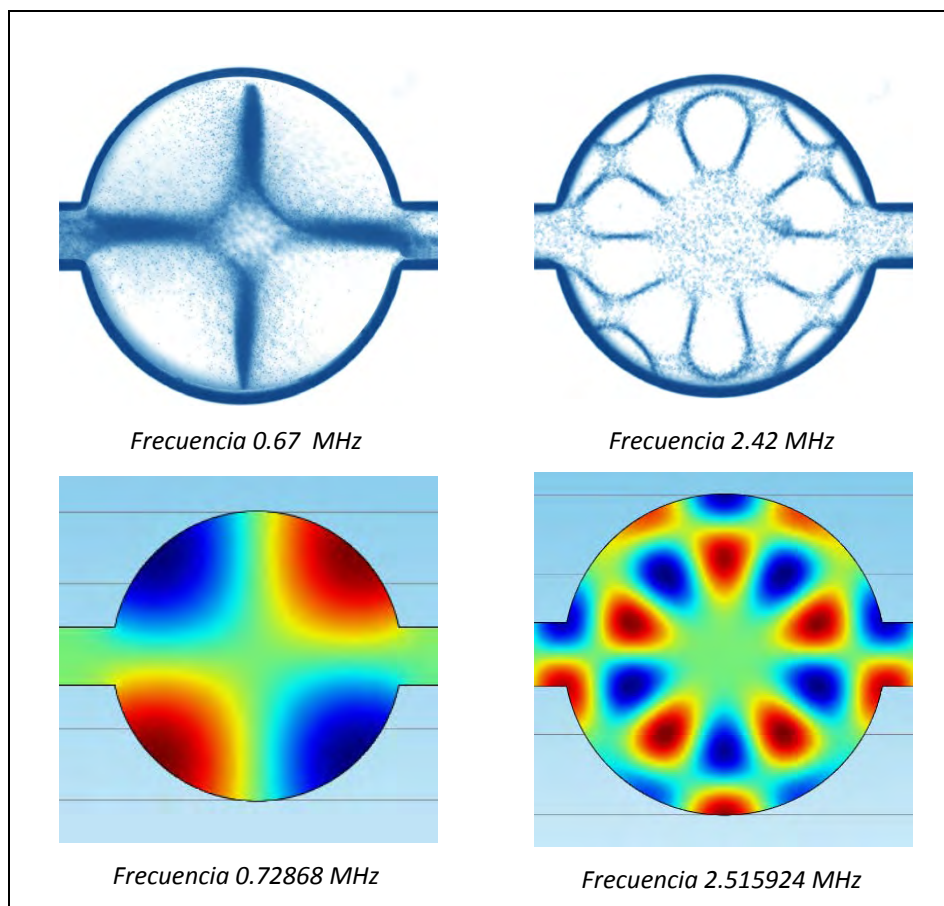


Figura 7.3: Cámara circular con frecuencias simuladas con las determinadas experimentalmente. Fuente de las fotografías experimentales: Melker Sundin^[132] las que se muestran en la fila superior.

7.2 Simulación de la fuerza de radiación

Trazando la fuerza acústica normalizada de radiación por medio de los niveles de presión simulados con COMSOL 4.3, para un compartimiento de forma cuadrada con mallado no simétrico, se puede observar la correspondencia entre la posición de las líneas nodales para las partículas en la figura 7.4 entre la simulación con COMSOL 4.3 y la fotografía experimental obtenida por Melker Sundin^[42, 132]; en la figura 7.5 se muestra la tendencia de la fuerza acústica a través de los diferentes límites del microdispositivo del compartimiento de cámara cuadrada^[35, 47].

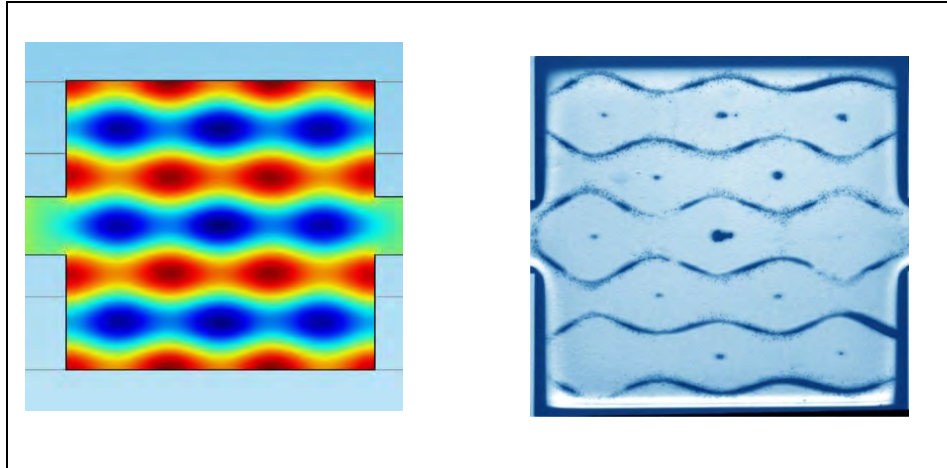


Figura 7.4: Simulación de la tendencia de las partículas a ubicarse sobre las líneas nodales comparadas con la fotografía experimental del lado derecho. Fuente: Melker Sundin^[132].

Esta tendencia alta de la fuerza de radiación acústica lleva a plantear que la amplitud de presión acústica P_0 es elevado, dado que se ejerce una densidad de energía eléctrica centrada sobre el transductor lleva esto a relacionarlo con la aplicación de voltaje $V_{on\ PZT}$ sobre el transductor, entonces se puede realizar un escalamiento:

$$P_0 \approx V_{on\ PZT}$$

Lo anterior ha centrado su investigación sobre el voltaje aplicado dada la complejidad de la ecuación de la fuerza de radiación acústica (ecuación 3.91), existen un gran número de investigaciones a este respecto^[45, 51, 55-68] que buscan correlacionar el voltaje aplicado sobre la denominada densidad de energía acústica $E_{acústica}$, cuya expresión se deriva de la ecuación (5.3):

$$E_{acústica} = \frac{P_0^2}{4\rho_0 c_0^2}$$

Como se ha planteado en el apartado 5.9 es la frecuencia de actuación quien determina la magnitud de la fuerza de radiación acústica en base al efecto de sus componentes que se ha mostrado tienen un comportamiento oscilante y es la que determina si puede darse la separación de partículas por acustifóresis o si es la responsable de formación de corrientes acústicas que es lo que se muestra en la fotografía figura 7.4.

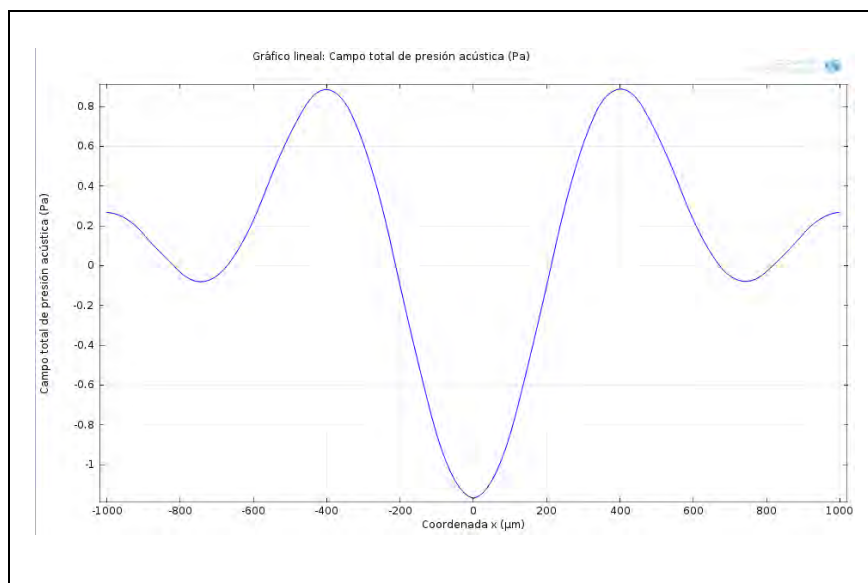


Figura 7.5: Simulación de la dirección de fuerza acústica a través de la microcámara cuadrada por los dominios circundantes del fluido; longitud de microcámara 2x2 mm, longitud de conductos 0.4 x 11.5 mm.

7.3 Componentes de la sangre humana y de bovino

Los componentes entre la sangre de bovino [202, 203, 206, 210, 212] y la sangre humana son los mismos pero no así las funciones celulares, la sangre está formada por numerosos tipos de células somáticas con funciones fisiológicas específicas a cada especie las cuales se determinan por los códigos genéticos que están dentro de los cromosomas.

Tabla N° 7.1: Contenido de aminoácidos esenciales en sangre de bovino (g/100g de proteína)			
Aminoácidos esenciales	Sangre	Glóbulos	Plasma
Histidina	6.69	5.80	5.18
Isoleucina	0.93	1.08	2.56
Leucina	8.12	10.03	5.95
Lisina	8.68	9.10	7.18
Metionina	0.28	0.39	0.21
Fenilalanina + Tirosina	12.81	13.70	6.11
Treonina	4.75	5.00	5.34
Valina	5.6	5.65	3.85
Total	47.86	50.75	5.18

Fuente: Organización Mundial de la Salud, organización de alimento y agricultura ONU.

La albúmina humana es la proteína más abundante en el plasma sanguíneo pero no posee estabilidad inmunológica, la albúmina de suero de bovino ^[195-199] se puede utilizar en cambio como un diluyente en pruebas de reacciones de transferencias e inmuno-histoquímica, para estabilizar algunas enzimas durante la digestión del ADN y para evitar la adhesión de la enzima a tubos de reacción que son utilizado en los estudios in vitro biológicos.

Otra de las diferencias entre la sangre de bovino y humana es la cristalización inmunológica de la albúmina ^[196-198] presentando la de los bovinos mayor pureza química, diferencias entre el tamaño, forma y constitución química indican que son distintas proteínas.

El análisis cromatográfico de la acetilcolinesterasas de los eritrocitos de bovino (EBO) y eritrocitos humanos (EHU) ^[196-197] reveló una diferencia importante en los anclajes de membrana de las dos enzimas. El fragmento liberado de Acetilcolinesterasas EBO por este procedimiento migraba conjuntamente con fosfatidilinositol, mientras que el fragmento correspondiente de Acetilcolinesterasas EHU tenía una movilidad mucho mayor que la de fosfatidilinositol incluso si no contenía ácidos myo-inositol y de ácidos grasos, aproximadamente el 85% del etiquetado se separó de los eritrocitos de bovino (EBO), mientras que sólo el 5% fue liberado por los eritrocitos humanos (EHU).

Los Grupos Sanguíneos son marcadores genéticos que se hacen evidentes en la membrana celular, además de sus múltiples funciones en la vida de la célula, es el sitio que evidencia en su superficie "señales" características de individualidad biológica. Estas señales son glicoproteínas y/o lipoproteínas cuya estructura es consecuencia de la actividad de los genes del individuo biológico.

Los bovinos presentan un grupo sanguíneo ^[206, 210, 212] que es determinado por un antígeno en la membrana de los eritrocitos parcialmente solubles, aunque no son del mismo tipo que en humanos, los cuales expresan mecanismos de antigenicidad (aloanticuerpos) y receptores específicos de histocompatibilidad, mediante pruebas de hemólisis, incubando antisueros específicos se producen reacciones inmunológicas provocadas por incompatibilidad. Clasificándose en los bovinos los grupos sanguíneos como: A, B, C, F, J, L, M, S, T, Z y R.

Las clasificaciones más importantes para describir los grupos sanguíneos en humanos son los antígenos (sistema ABO) y el factor RH.

En la tabla 7.2 se muestra la función de aminoácidos esenciales que no pueden ser metabolizados por el cuerpo humano y que son necesarios por suministro exógeno; estos aminoácidos esenciales si se encuentran presentes en la sangre de bovinos (tabla 7.1).

Tabla N° 7.2: Función de aminoácidos esenciales necesarios en el organismo humano ^[200, 202, 203, 209, 211].

Aminoácidos esenciales	Función
Histidina	Crecimiento y reparación de los tejidos. producción de glóbulos rojos y blancos en la sangre, protege al organismo de los daños por radiación, reduce la presión arterial,
Isoleucina	Formación de hemoglobina, estabiliza y regula el azúcar en la sangre y los niveles de energía.
Leucina	Interactúa con isoleucina y valina promueve la cicatrización del tejido muscular, piel y huesos.
Lisina	Absorción de calcio, equilibrio de nitrógeno en los adultos. Forma colágeno en cartílago y tejido conectivo.
Metionina	Antioxidante, ayuda a prevenir la acumulación de grasa en hígado y arterias
Fenilalanina	Produce la noradrenalina, sustancia química que transmite señales entre las células nerviosas en el cerebro
Triptófano	Ayuda en el sistema inmunológico
Valina	Metabolismo muscular, coordinación, reparación de tejidos, mantenimiento del equilibrio adecuado de nitrógeno en el cuerpo
Alanina	Transferencia de nitrógeno de los tejidos periféricos hacia el hígado, ayuda en el metabolismo de la glucosa

La mayor parte de la grasa ingerida se halla en forma de triglicéridos ^[201, 204, 205, 213] que son hidrolizados en el intestino en ácidos grasos y glicerol, estos se absorben y luego pasan a la sangre. Los ácidos grasos de cadena menor a 12 átomos de carbono circulan en la sangre unidos a la albúmina, independientemente de las lipoproteínas. Los ácidos grasos de cadena larga son esterificados rápidamente y convertidos en triglicéridos y se los transportan dentro de las lipoproteínas en el núcleo o junto al colesterol.

Las lipoproteínas principales que circulan en el plasma humano ^[174, 180] se clasifican con base en su densidad en quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), las lipoproteínas de baja

densidad (LDL) y las lipoproteínas de alta densidad (HDL). La densidad de las lipoproteínas refleja la relación existente entre la cantidad de lípidos y de proteínas, los lípidos endógenos, principalmente los triacilglicéridos y el colesterol se transportan desde el hígado a los tejidos mediante las lipoproteínas VLDL.

Tabla No 7.3: Función de aminoácidos no esenciales presentes en sangre humana ^[174, 200, 206, 208, 210, 211]

Aminoácidos No-esenciales	Función
Arginina	Refuerza el sistema inmunológico, aumenta la actividad de la glándula del timo.
Ácido Aspártico	Formación de células y su metabolismo, absorbe toxinas de la circulación sanguínea.
Ácido Glutámico	Actúa como un neurotransmisor, metaboliza azúcares y grasas.
Cisteína	Antioxidante, promueve la recuperación de quemaduras graves.
Glutamina	Regenerar el tejido muscular.
Glicina	Almacenamiento de glucógeno, repara tejidos dañados.
Ornitina	Regenera el hígado y estimula la secreción de insulina.
Prolina	Reduce la pérdida de colágeno.
Serina	Metabolismo de grasas y ácidos grasos, crecimiento del músculo.
Tirosina	Precursor de la adrenalina, dopamina, produce la melanina.

La mayor parte de los lípidos presentes en la sangre de bovinos está constituida por grasas neutras, colesterol y fosfátidos unidos a proteínas (seroproteínas).

El colesterol es transportado en la sangre humana por tres diferentes lipoproteínas ^[174, 178,180]: las LDL (78 a 81%), las HDL (43 a 68%) y las VLDL (10%).

En la sangre de bovinos, el colesterol transportado por las lipoproteínas ^[201, 204, 205, 209, 213]: los quilomicrones (72-87%), las LDL (40 a 52%), las HDL (39 a 72%), las VLDL (45-63%) y pueden ser de origen hepático e intestinal.

Tabla N° 7.4: Valores promedios de las seroproteínas en la sangre humana y de bovinos ^[174, 180, 210, 212].

Componente común	Bovino	Humana	Función
Proteínas totales (g/100ml)	7.63	6.4-8.3	Constituyentes esenciales de la célula formados por cadenas de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos.
Albumina (g/dL)	2.8	3.5-5	Mantiene presión osmótica de líquidos corporales entre el compartimento intravascular y extravascular.
α -Globulina (g/dL)	0.82	0.1-1.0	Controla acción de enzimas lisosomales, neutraliza enzimas proteolíticas.
β -Globulina (g/dL)	1.08	0.7-1.2	Transporta el grupo hemo de la hemoglobina.
γ -Globulina (g/dL)	2.81	0.7-1.6	Soporte de anticuerpos, reacciones de aglutinación antígeno-anticuerpo.
Globulinas totales (g/dL)	4.84	2.3	Actúan como enzimas/catalizadores reacciones orgánicas.
Albumina/Globulina	0.58	1.5-1.9	Trastorno nivel hepático, síndrome nefrótico.

Un sustituto de la sangre ^[214, 215] no hemoglobínico es la 'sangre artificial' que se divide en dos grupos los expansores de volumen que incrementan el volumen sanguíneo (Haemacel, Gelofusin), y los transportadores de oxígeno que sustituyen la habilidad natural de la sangre para transportar oxígeno (perfluorocarbonos, Hemopure, Oxyglobin, Hemolink, Plyheme, Hemospan y Dextran-Hemoglobin).

Otro sustituto de la sangre ^[207, 214] son los derivados de la hemoglobina de bovino, en la que se retira la membrana y el estroma, su limitación es su vida media de 6 a 12 horas en el cuerpo humano, actuando como puentes de transfusión portadores de oxígeno.

Los lípidos en emulsión ^[216, 217, 218] son fármacos de administración intravenosa venosa 0.25 ml/Kg-min (1.5 ml/kg de Intralipid al 20%, aceite de soja al 20%, fosfolípidos 1.2%, glicerina 2.25% y agua) que dan estabilidad hemodinámica, los cuales inhiben la oxidación de los ácidos grasos en el miocardio debido a anestésicos locales (anestésicos locales solubles en lípidos) y extraen

moléculas lipofílicas de anestésicos de los tejidos acuosos, incluido el plasma. Tiene efectos secundarios en dosis altas (> 500 ml/día o infusión > 12,5 ml/min en personas adultas), que pueden interferir con la homeóstasis corporal, disnea, reacciones alérgicas e hipercoagulabilidad, reacciones adversas retrasadas como la hepatomegalia, colestasis lobular central, esplenomegalia y trombocitopenia.

La acustifóresis es un método que se utiliza para separar partículas en suspensión y no partículas emulsionadas de las glicoproteínas en el plasma sanguíneo (apartado 5.6), empleando la diferencia de las propiedades físicas densidad – compresibilidad y no se utiliza la reactividad de antígenos sobre proteínas específicas en la sangre.

En el apartado 7.5 se realiza la simulación para la separación de partículas de eritrocitos de las partículas lípidas de triglicéridos_{>c16} presentes en la sangre; la parte experimental realizada en los laboratorios de la Universidad de Lund^[109] utilizó sangre de bovino como muestra representativa de la cantidad de eritrocitos que se halla en la sangre humana; la adición de crema de leche (forma emulsionada de la leche) a la sangre de bovino incrementa su concentración total de triglicéridos_{>c16} de 50 mg/dL a 200 mg/dL; con el fin de poder simular su contenido en la sangre humana, empleándose los valores de las propiedades físicas de la sangre humana en el apartado 7.6.

Tabla N° 7.5: Composición de lípidos en la leche^[220].

Lípido	% total de lípidos	Concentración (g/L)
Triacilglicéridos	96-98	31
Diacilglicéridos	2,10	0,72
Monoacilglicéridos	0,08	0,03
Fosfolípidos	1,1	0,35
Ácidos grasos libres	0,2	0,08
Colesterol	0,45	0,15

Tabla N° 7.6: Contenido porcentual de ácidos grasos presentes en la crema de leche ^[219, 221]

Ácidos grasos	# lipídico	%
Caprílico	C8:0	9.58
Cáprico	C10:0	4.83
Laúrico	C12:0	12.54
Mirístico	C14:0	6.39
Palmítico	C16:0	24.58
Esteárico	C18:0	35.13
Oleico	C18:1	5.80
Linoleico	C18:2	0.70

Tabla N° 7.7 : Comparación de componentes entre la sangre de bovino y humana ^[195-199]

Componente	Bovino	Humano
Eritrocito (células/mm ³)	5-10*10 ⁶	4.5-6.5*10 ⁶
Leucocito(células/mm ³)	4000-12000	5000-10000
Neutrófilos	0-2%	60-70%
Neutrófilos segmentados	15-45%	----
Linfocitos	45-75%	20-30%
Eosinófilos	2-20%	2-4%
Monocitos	2-7%	3-8%
Proteínas	8.3-13.2 g/dL	6-8.3 g/dL

7.4 Parte experimental

La muestra de sangre es tratada con un anticoagulante como el citrato de sodio, el cual es un componente natural del cuerpo; para pruebas reológicas se utiliza el EDTA en esta prueba no se utiliza anticoagulantes como la heparina o trombina por ser inhibidos por el plasma sanguíneo, el almacenamiento de la sangre se realiza a 4 °C.

La frecuencia de resonancia aplicada es ajustada por el generador de señal ^[76, 83, 85, 110, 111, 128], cuya frecuencia está en función a la geometría de la cavidad acústica del microcanal y la capa del reflector.

La actuación del ultrasonido requiere de un cristal piezoeléctrico PZT26 (PZ26, Ferroperm Piezoceramics AS Kvistgard, Dinamarca (www.ferroperm-piezo.com) con resonancia $\sim 2\text{-}3.5$ MHz, unida a entradas de vidrio Loctite 3430, Henkel Loctite Corporation Helsinki Finlandia (www.loctite.com). De acuerdo al criterio de resonancia deseado se producen vibraciones de frecuencia (ecuaciones 5.34-5.39), para el modelo de Hill con $\lambda/4$ resulta ~ 1.95 MHz siendo el ancho del microcanal de $400\ \mu\text{m}$ en donde se generaran distribuciones de ondas acústicas estacionarias a lo largo del microcanal (figura 5.2).

El equipo de función generadora de ondas es dado por HP 3325B, Hewlett-Packard Inc. Palo Alto, CA USA y un amplificador de potencia AG 1020 T&C Power Conversion Inc. Rochester NY USA (www.tcpowerconversion.com) la cual va a conducir ondas sinusoidales continuas en el transductor. El voltaje sobre el transductor es monitoreado por un osciloscopio TDS1002, Tektronix UK Ltd. Bracknell UK (www.tek.com) y un medidor de voltaje ThruLine Wattmeter, Bird Electronic Corp., Cleveland, OH, USA (www.birdelectronic.com) ajustado a 25 Vpp con una potencia neta de 0.6 W en el transductor piezoeléctrico. La temperatura sobre la superficie del chip es de aproximadamente $30\ ^\circ\text{C}$ medido en la vecindad del transductor con un sensor Pt100-sensor.

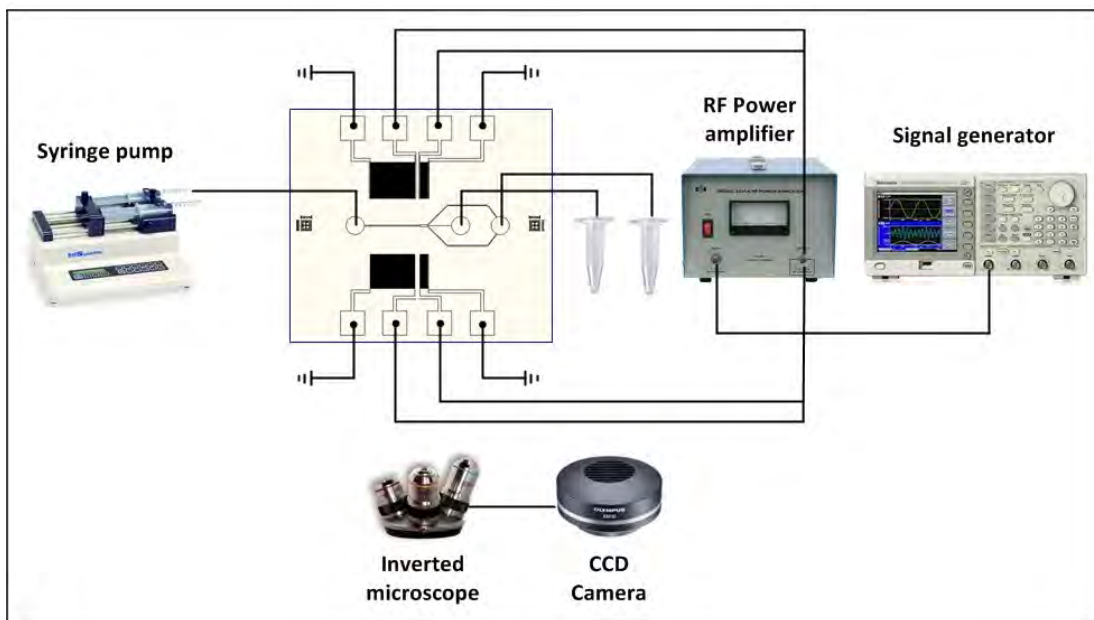


Figura 7.6: Esquema de equipos de laboratorio utilizados para acustifóresis en la separación de partículas en flujo continuo de eritrocitos y triglicéridos.^{C16}

Los flujos volumétrico se encuentran comprendidos entre 50–120 $\mu\text{L}/\text{min}$ desde jeringas de vidrio de 10 ml 1010 TLLHamilton Bonaduz AG Bonaduz Switzerland, (www.hamiltoncompany.com), acoplado a una bomba de jeringa NE1000 New pump systems inc. Farmingdale NY USA, (www.syringepump.com).

La inspección de salida de los flujos resultantes se realiza por inspección manual usando un microscopio SMZ-2T Nikon Tokyo-Japón, posicionado cerca del microdispositivo. El uso de cámaras digitales permite obtener imágenes de flujo velocimétrico (figura 7.1 de Melker Sundin); finalmente las muestras son analizadas en un hemocitómetro Coulter counter Multisizer 3, Beckman Coulter Inc. Fullerton CA USA (www.beckmancoulter.com) con el cual se determina la distribución de partículas así como el número de partículas por mililitro y la fracción volumétrica de los tamaños obtenidos, un análisis cuantitativo puede ser obtenido por un espectrofotómetro Multiskan Multisoft Labsystems Helsinki Finland a 595 nm ^[9, 17, 27, 46, 52, 63, 111].

7.5 Método de separación y diseño del microdispositivo PARSUS

La separación y clasificación continua por tamaño de partículas y de células en la sangre, suspendidas en un flujo del microcanal debido a una fuerza acústica, es estudiado por medio de la trayectoria de flujo de las partículas dentro de un microcanal sujeto a la fuerza de radiación acústica obtenido por simulación numérica y comparado con la parte experimental la cual se mostrara es concordante. La eficacia de separación, en un microdispositivo PARSUS de tres fases experimentalmente es de 99.975% ^[109, 111] en condiciones de dilución al 12.5% en volumen para el caso de una sola partícula en suspensión, en estos experimentos se ha utilizado sangre de bovinos; se utilizan como datos los de la sangre humana por estar documentados los valores de su densidad, velocidad del sonido, relación de Poisson's. La separación de partículas componentes de la sangre puede ser ampliada agregando varias etapas de separación gradual a sus tamaños.

El diseño del microdispositivo integrado para separación de partículas en la sangre propuesto por Laurell Thomas, Petersson Filip ^[63, 109], es utilizado para la simulación de separación de partículas en la sangre de bovinos. El extremo del canal PARSUS está dividido en tres canales de salida que conducen a los eritrocitos y las partículas de triglicéridos $>_{C16}$ a las salidas conservando la distribución laminar del flujo modificado durante la acción de la fuerza de radiación acústica.

En el experimento realizado en la universidad de Lund el microcanal de separación fue evaluado in vitro usando esferas de poliamida suspendidas en agua, demostrando que las eficacias de separación se acercaban al 100% cuando fue empleado el modelo de 16 pasos. El sistema también fue evaluado en sangre ^[109] usando partículas de lípidos etiquetadas con tritio agregadas a la sangre de los bovinos. Más del 80% de las partículas del lípido podrían ser quitados mientras que aproximadamente 70% de los eritrocitos fueron recogidos en un tercio del volumen fluido original.

El separador ultrasónico utilizado con 400 μm de ancho y 125 μm de profundidad se muestra en la figura 7.7. Las ondas ultrasónicas estacionarias (standing wave) fueron generadas a través de un PZT con frecuencia de resonancia 1.95 MHz ^[64, 67, 155].

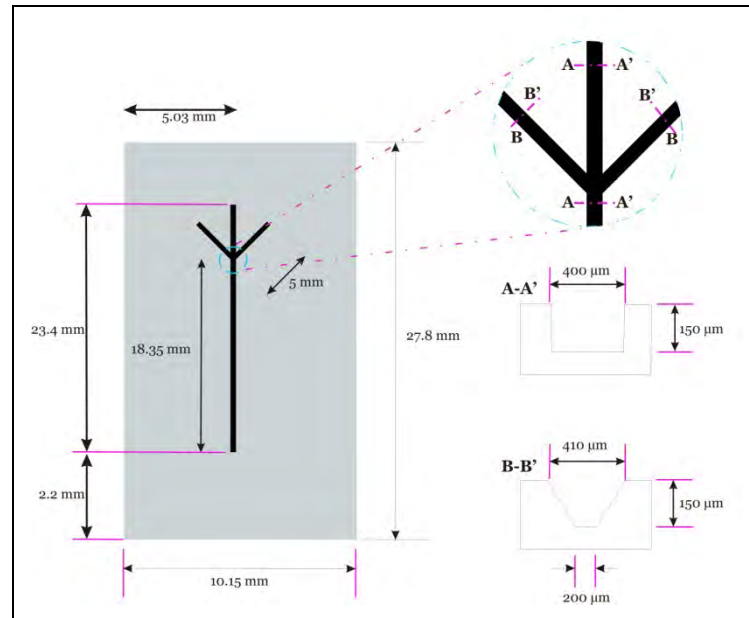


Figura 7.7: Vista superior e inferior del separador PARSUS (400 x 125 μm) con tapa de cristal ^[63, 91, 109, 153].

En base a los datos tomados como referencia para la separación de partículas eritrocitos-triglicéridos ^[85, 109, 111] en el microdispositivo de PARSUS de un solo paso, se va a implementar la simulación computacional (figura 7.9).

Bajo estas condiciones se realiza la simulación computacional para separar los triglicéridos ^[85, 109, 111] de los eritrocitos, utilizando el modelo del microdispositivo de PARSUS de un solo paso para dos concentraciones de sangre de bovino al 12.5 y 25% en volumen ^[85, 109, 111].

Del modelo geométrico se prevé que es conveniente en este caso el empleo de una operación en media longitud de onda, siguiendo el mismo mecanismo empleado en el capítulo V se emplea el software COMSOL 4.3 para generar resultados estructurales de resonancia como los obtenidos en las figuras 5.13, 5.19, 5.21 (que se aplicaron al modelo del microdispositivo de Hill), referentes a la resonancia acústica y estructural del microdispositivo, así como también se puede observar la influencia de la fuerza de radiación acústica. Se muestra en la figura 7.8 la vista superior e inferior del separador PARSUS de un solo paso.

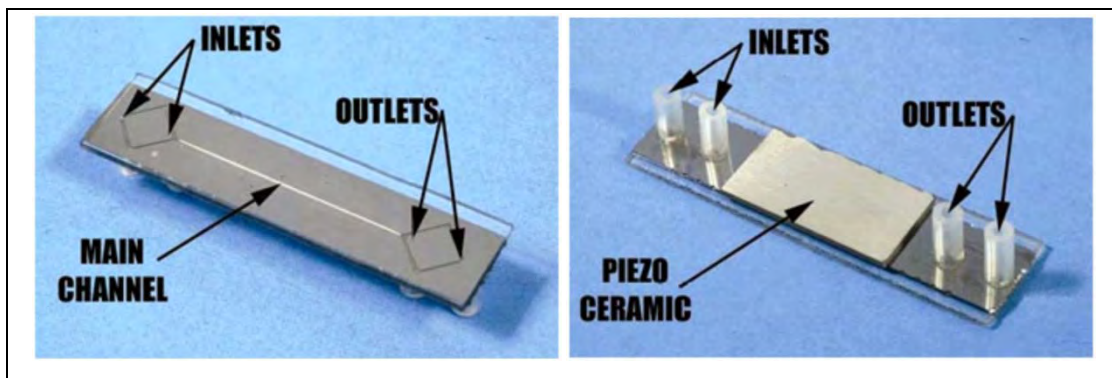


Figura 7.8: Vista superior e inferior del separador PARSUS (400 x 125 μm) con tapa de cristal ^[63, 91, 109, 153].

Aplicando las ecuaciones (5.22)-(5.33) con el resolovedor ode de Matlab 7.14 (R2012a) podemos obtener la trayectoria de partículas al incidir la fuerza de radiación acústica sobre el flujo laminar de la mezcla de partículas entrante lo cual resulta en la figura 7.9, donde se aprecia como las partículas de eritrocitos son conducidas al medio del microcanal PARSUS en tanto que las partículas de triglicéridos_{>c16} son llevadas al lado de las paredes del microcanal; el microdispositivo elaborado por el método anisotrópico se muestra en la figura 7.9 por medio de microscopia fluorescente.

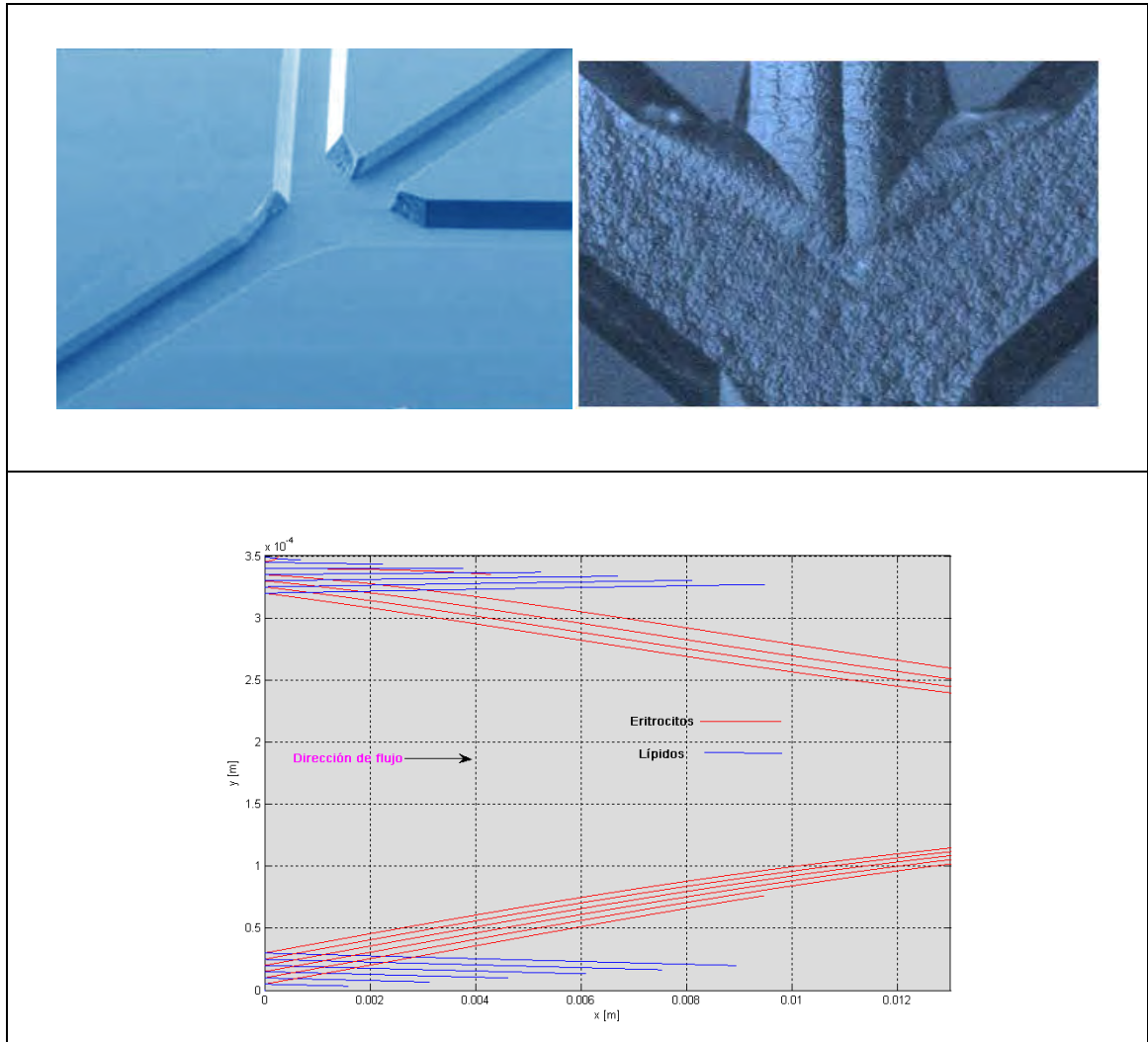


Figura 7.9: Microscopía fluorescente con imagen del conducto ^[63, 91, 109, 153] y de los canales de salida sin líquido. En la parte inferior se muestra el esquema de separación realizado por simulación con Matlab 7.14 (R2012a).

En la parte inferior de la figura 7.9, se muestra la simulación obtenida con Matlab 7.14 (R2012a) para la trayectoria de partículas al someterlas a la fuerza de radiación acústica, en un proceso de una etapa para el modelo de PARSUS, observándose que las partículas de eritrocitos son emplazadas al medio del microcanal en tanto que los triglicéridos $>C_{16}$ se trasladan a lo largo del separador cercano a las paredes laterales.

7.6 Separación de eritrocitos y lípidos de la sangre

En el apartado 5.5 se expuso que de los componentes de la sangre las partículas de eritrocitos y las partículas lípidas de triglicéridos_{>C16} eran los dos componentes que mostraban una gran diferencia en el valor de contraste, entonces los eritrocitos con Φ^+ se desplazarán hacia el nodo de presión, en tanto que las partículas de triglicéridos_{>C16} Φ^- se dirigirán hacia los antinodos cuando sobre ellos incida la fuerza de radiación acústica.

Cuando se realiza la autotransfusión ^[86, 87, 88, 110, 112, 146], millones de partículas pequeñas de lípidos pasan a través del filtro y son introducidos al sistema circulatorio del paciente, dando por resultado microembolización (micro embolia por lípidos) de la red capilar corporal de órganos y subsecuente daños isquémicos locales del tejido fino, como las propiedades de los triglicéridos_{C10-C14} dan un factor de contraste igual a -0.1805 sería posible también separar estas partículas a una posición de antinodo con la variación de la amplitud de presión acústica; pero no se podrá separar los triglicéridos_{<C10} por tener un valor indicativo de contraste igual a -0.0662 (tabla 5.14).

En el apartado 7.3 se trató sobre la similitud en los elementos formes de la sangre de bovino con la sangre humana, en lo siguiente se empleará los valores de las propiedades físicas de la sangre humana; en la tabla 7.8 se presenta la magnitud de la fuerza de radiación acústica máxima y la leyenda de los colores de las líneas utilizadas en la figura 7.10, mostrando que son las partículas de eritrocitos y las partículas lípidas de triglicéridos_{>C16} sobre las cuales la fuerza de presión de radiación acústica es mayor y hace posible su separación al modificarse su trayectoria como se muestra en la figura 7.10; esta figura se obtuvo por simulación con Matlab en un punto sobre el eje 'y' localizado a 230 μm para una altura del microdispositivo PARSUS de 400 μm ; para el caso de las partículas de triglicéridos_{<C10} y las partículas de los triglicéridos_{C10-C14} las líneas de color azul y negro se superponen mostrando que este tipo de partículas no es afectada por la fuerza de radiación acústica.

La centrifugación de la sangre implica manejar volúmenes grandes de sangre, se exponen las células de sangre a altos niveles tensión mecánica de daño ^[86, 87, 88, 146] y no son continuos. Lo cual no sucede al aplicar la acustifóresis debido a su magnitud de acción periódica y de respuesta producida por la partícula en el medio fluido conductor; las partículas de triglicérido_{>C16} exhiben un factor negativo, mientras que es positivo para los eritrocitos.

Tabla N° 7.8: Factor de contraste en los constituyentes de la sangre humana.

Constituyentes	Diámetro (μm)	Densidad (Kg/m ³)	Velocidad sonido (m/s)	Factor de contraste Φ	Fuerza máx. radiación acústica (N)	Color línea
Eritrocitos	3-7	1099	1631	0.3432	$9.51 \cdot 10^{-11}$	rojo
Leucocitos	5-20	1072	1642	0.3104	$2.90 \cdot 10^{-10}$	verde
Plaquetas	2.4	1058	1639	0.2847	$1.09 \cdot 10^{-12}$	amarillo
Triglicéridos _{<C10}	0.03	973	1473	-0.0662	$-4.95 \cdot 10^{-19}$	azul
Triglicéridos _{C10-C14}	0.09	925	1467	-0.1805	$-3.64 \cdot 10^{-17}$	negro
Triglicéridos _{>C16}	3	875	1450	-0.3285	$-2.45 \cdot 10^{-12}$	cian

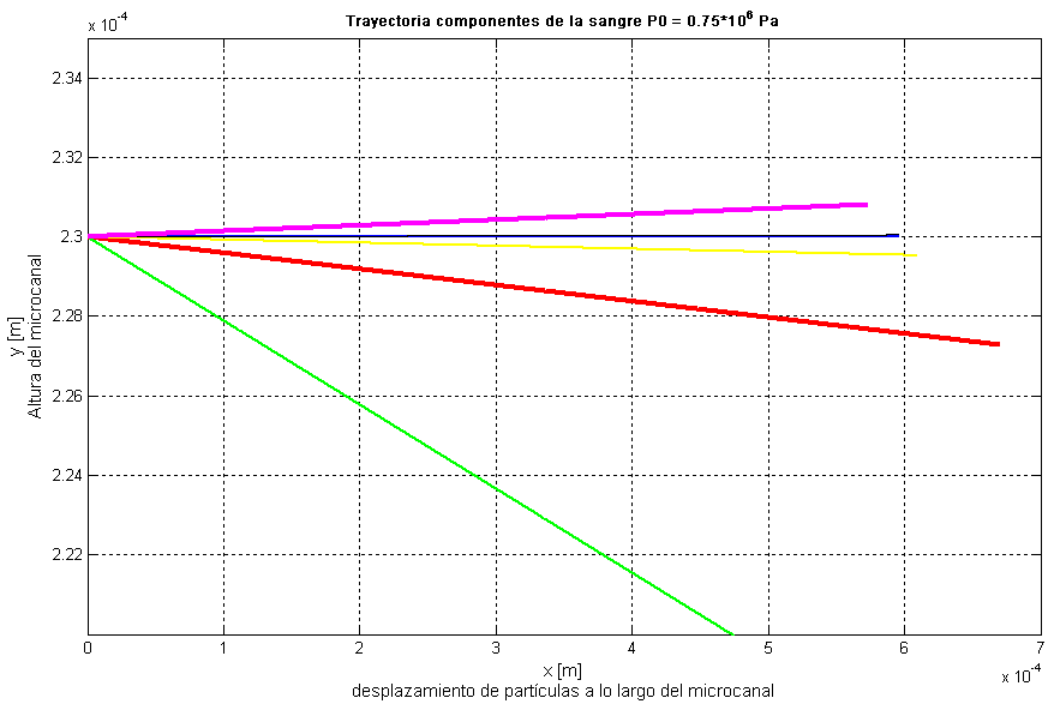


Figura 7.10: Simulación separación de los componentes de la sangre humana.

Al pasar por un microcanal de separación actuado en ~1.95 MHz las partículas de triglicéridos_{>C16} se moverán hacia las paredes laterales y saldrá del sistema vía salidas laterales mientras que los eritrocitos se mueven al centro y salen a través del centro (figura 7.9). La fracción en suspensión

que sale del sistema junto con partículas de triglicéridos_{>c16} será determinada por las velocidades de flujo a través de las salidas.

Una simulación de lavado de sangre experimentalmente fue hecha en los laboratorios de la Universidad de Lund^[109, 111], utilizando el modelo de microdispositivo PARSUS empleando sangre de bovinos y crema de leche para obtener un contenido de grasas entre el 25 -12.5 %, obteniendo una separación^[109], entre el 91 – 96 % respectivamente para los eritrocitos y 87 -83.2 % para las partículas lípidas en su forma de triglicéridos_{>c16}. La frecuencia de resonancia utilizada era 1.95 MHz, para conseguir una onda *standing* de primer orden en el canal, con un flujo volumétrico de ~0.019 m/s. Las muestras separadas en la salida fueron centrifugadas por dos minutos a 13000 RPM para su análisis en un hemocitómetro.

En el apartado 7.3 se muestra la similitud de composición de los componentes entre la sangre de bovino y la sangre humana en cuanto al número de eritrocitos, leucocitos pero no así en sus funciones celulares que son distintas; la acustifóresis es un método de separación física de un flujo fluido de partículas en suspensión, para la consideración de eritrocitos y lipoproteínas HDL, LDL estas últimas emulsificadas en la sangre, se dio que un factor que hacía muy pequeña la fuerza de radiación acústica era el tamaño de estas partículas.

La eficacia de separación en la sangre fue determinada como una relación de flujo de sangre saliente por el centro a la fracción del total obtenida en las tres salidas:

$$S = \frac{A}{A + B} 100$$

A = fracción relativa de partículas recogida en el centro.

B= fracción relativa de partículas recogida en las dos salidas laterales.

En la figura 7.11 se tiene el caso de experimentación de la Universidad de Lund^[109], con una mezcla de sangre de bovino 25% y crema de leche 25% sin onda ultrasónica; la simulación con Matlab 7.14 muestra que las partículas siguen un flujo laminar parabólico siendo la velocidad de flujo ~0.019 m/s. Tomando como referencia los datos proporcionados dados en la tabla 7.10 de concentración C_0 , flujo volumétrico Q_0 y las dimensiones del microdispositivo PARSUS de un solo paso (figura 7.7) se realiza la simulación mostrando como resultado el cambio en la trayectoria de

partículas de eritrocitos, que es apreciada al ejercer sobre ellas la fuerza de radiación acústica para un modo de operación de media longitud de onda $f=1.95$ MHz.

El resultado experimental mostró que el proceso de separación para un solo paso, tenía una eficacia de separación por lo menos del 91.0 %^[109].

Dos corridas fueron realizadas para sangre de bovino con una mezcla de sangre 25% y crema de leche 25% y otra corrida con una composición de mezcla de sangre 12.5% y crema de leche 12.5% con flujo de ~ 0.019 m/s.

Para la transfusión sanguínea en intervención quirúrgica^[222,224], se puede utilizar la denominada sangre total sin fraccionar (aquella que no ha sido separada en sus diferentes componentes) o la administración de glóbulos rojos con soluciones cristaloides o con plasma fresco congelado, supliéndose así la capacidad de transporte de oxígeno y restaurándose el volumen perdido; una unidad de sangre se compone de un volumen de 430 ml de sangre + 70 ml de anticoagulante-conservante [CPD (citrato fosfato dextrosa) o CPDA-1 (citrato fosfato dextrosa adenina)], la cual tiene una velocidad de administración al paciente de 1.875 ml/min.

En un paciente adulto, una unidad de sangre^[223] total aumenta sus hematocritos en un 3-4% y la hemoglobina en 1 g/dL, en pacientes pediátricos la transfusión es de 8 mL/kg. La velocidad de infusión depende del estado clínico del paciente, pero por razones de seguridad, su tiempo de administración no debe ser mayor de 4 h.

La sangre total no se administra a pacientes con anemia crónica que estén normovolémicos y únicamente necesiten un aumento de su masa de glóbulos rojos. En tal caso se recomienda usar concentrados de glóbulos rojos. En pacientes que reciban grandes cantidades de sangre almacenada se puede presentar una coagulopatía dilucional por disminución de los factores lábiles de coagulación y de las plaquetas; el almacenamiento origina una disminución de la 2,3-difosfoglicerato, que es la molécula que facilita la liberación de oxígeno de la hemoglobina.

De la tabla 5.15 se tiene los métodos de separación aplicados en microfluidos para la separación de componentes de la sangre humana, se realiza por métodos inmunológicos (apartado 1.3) a través de inmuno-reacciones con antígenos específicos que se enlazan a la superficie de la partícula como ocurre en la magnetofóresis/hidrodinámica; en tanto que en las técnicas no-

inmunológicas ^[17, 33, 133] la separación de partículas se realiza en base de sus propiedades físicas la dielectroforesis, filtración, cd-centrifugación y la acustifóresis.

Los métodos de acustifóresis y Cd-centrifugación son los que presentan una mayor ventaja con respecto a la separación de los elementos formes de la sangre del plasma sanguíneo sin que se requiera de un tratamiento posterior de separación de los antígenos enlazados sobre la superficie de los elementos formes de la sangre sin aplicar campos eléctricos o magnéticos sobre ellos. Por el método de Cd-centrifugación existe pérdida de muestra al no poder extraer la totalidad de la muestra separada y el mecanismo necesario de rotura de la microcámara contenedora ^[185, 191].

Tabla N° 7.9: Comparación métodos separación de los componentes de la sangre en microfluidos.				
Método	Componente	Desventajas	m ⁰	Separación (%)
Dielectroforesis	Plaquetas	Aplicación de un campo eléctrico.	134 μm/s	98.8
Hidrodinámica y magnetofóresis	Eritrocitos	Aplicación de un campo magnético.	2.36×10 ⁶ cel/ml	68.26
Magnetofóresis	Eritrocitos	Aplicación de un campo magnético.	10000 cel/s	80
	Leucocitos		110 μm/s	50
	Plasma (1/20)	Requiere de proceso adicional para separar los antígenos magnéticos.	0.5-0.7 ml sangre/h	5
Cd-centrifugación	Plasma	Aplicación de fuerza centrífuga.	2 ml sangre	99.9
	Leucocitos	Perdida de muestra y del Cd	500/μL	99
Filtración	Plasma	Imposibilidad separación de los elementos formes.	40-50 μL/cm ²	74
Acustifóresis	Leucocitos	No aplicable a separación de glicoproteínas.	320 μL/min	93
	Eritrocitos		0.1 ml/min	90

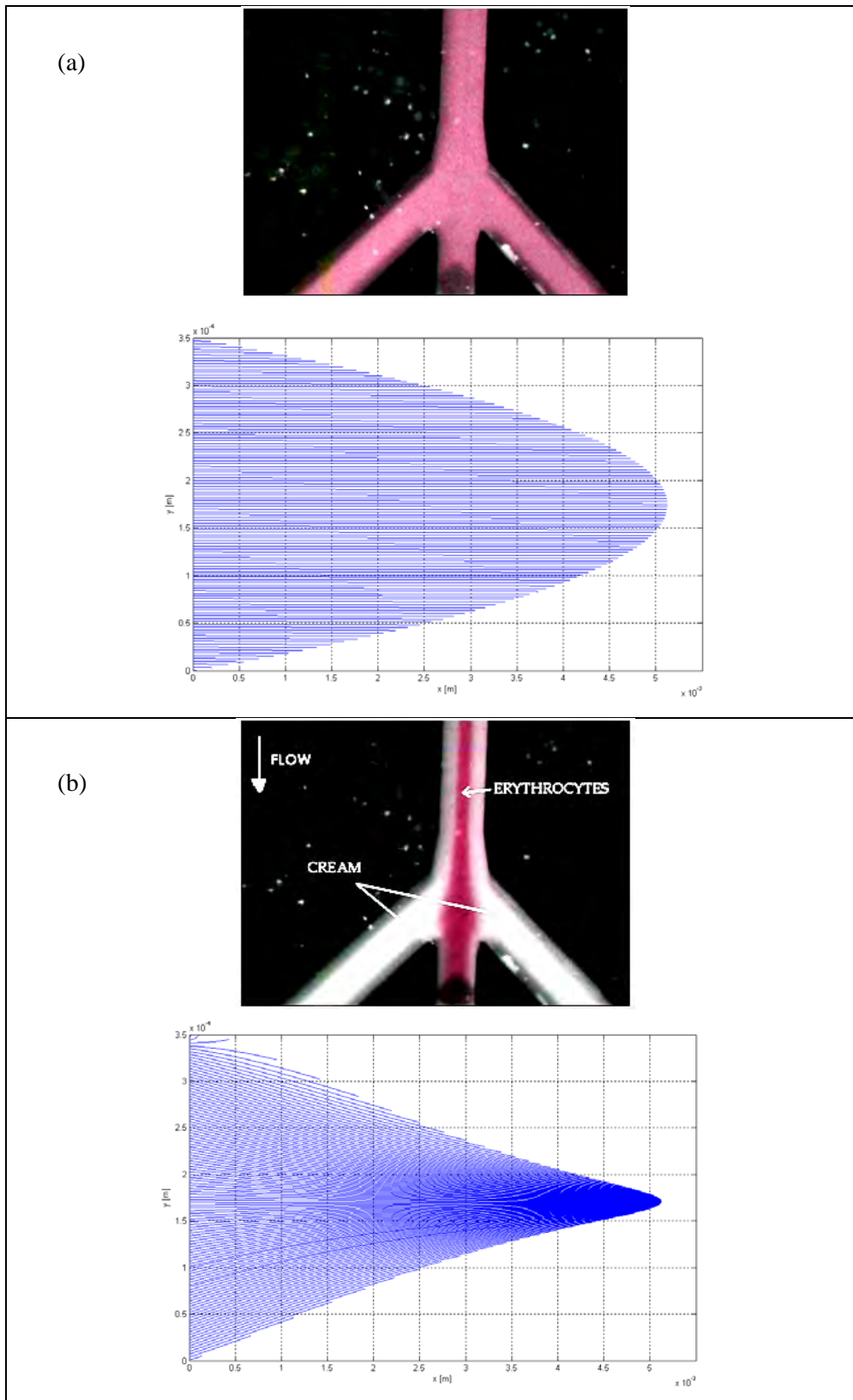


Figura 7.11: (a) Una mezcla de sangre 25% y crema 25% sin onda ultrasónica. (b) La misma mezcla con onda ultrasónica ajustada. El flujo era ~ 0.019 m/s. Abajo la simulación realizada con Matlab 7.14 (R2012a) en modo de media longitud de onda $f=1.95$ MHz. Fuente de las fotografías Filip Peterson^[109, 111].

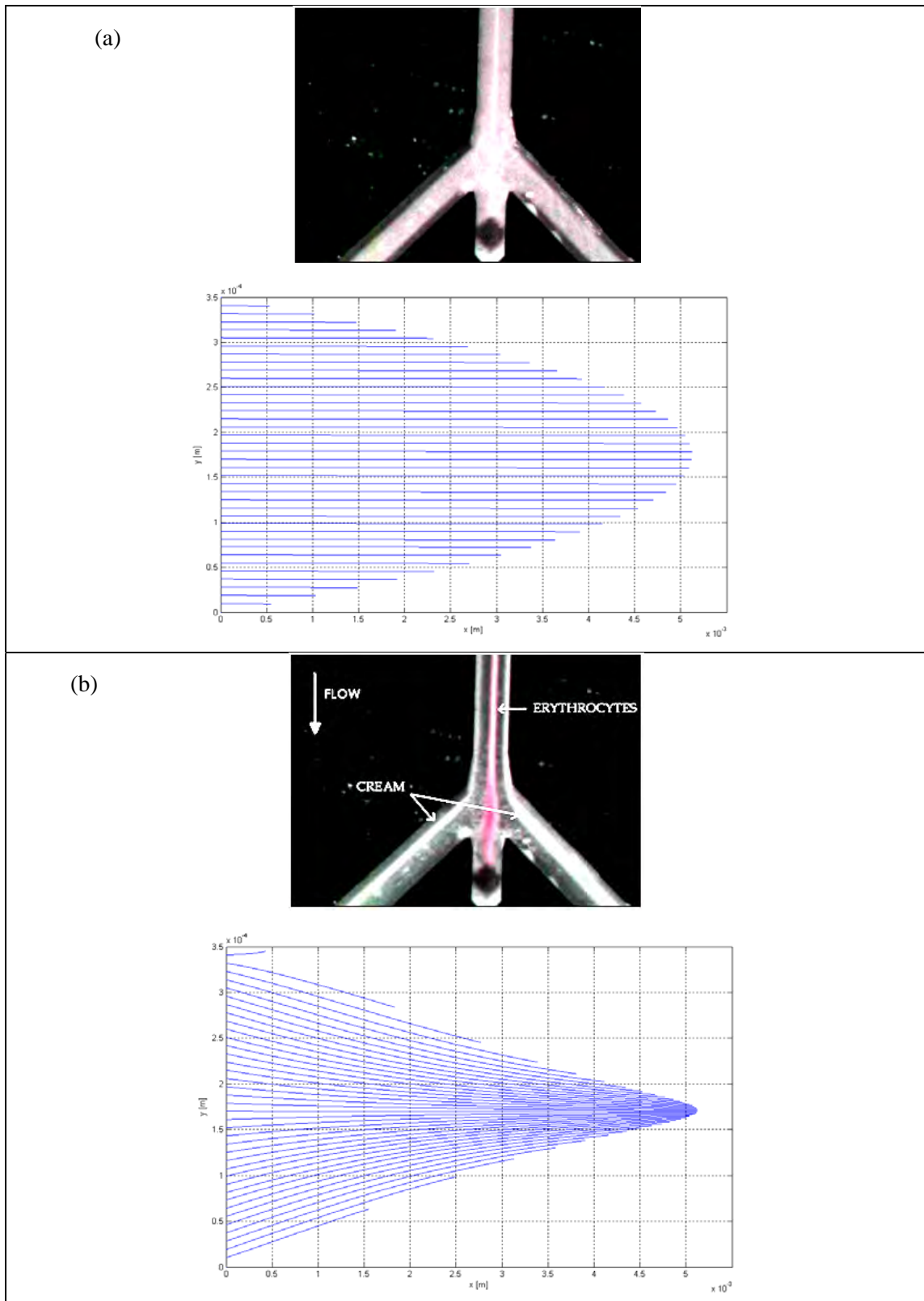


Figura 7.12: (a) Una mezcla de sangre 12.5% y crema 12.5% sin onda ultrasónica. (b) La misma mezcla con onda ultrasónica ajustada. El flujo era ~ 0.019 m/s. Abajo la simulación realizada con Matlab 7.14 (R2012a) en modo de media longitud de onda $f=1.95$ MHz. Fuente de las fotografías Filip Peterson ^[109, 111].

La sangre de los bovinos tiene casi las mismas características que la sangre humana (apartado 7.3) con la salvedad que los eritrocitos humanos carecen de núcleo y de mitocondrias; la crema fue diluida con solución de NaCl por ser un medio natural en el cuerpo y no afecta el comportamiento de las células rojas de la sangre.

En la figura 7.13 se muestra los resultados de simulación con Matlab 7.14 (R2012a) para la distribución de concentración en el microcanal, en un plano 2.5 mm después de ejercida la fuerza de radiación acústica ^[63,77], aplicando la ecuación (5.40) y (5.42) resulta las figuras 7.13 y 7.14, para una mezcla de sangre de bovino 25 % y crema de leche 25 %.

Los resultados son comparados con los datos obtenidos experimentalmente ^[109] dados en la tabla 7.10 (para la mezcla 25/25 se aplicó una amplitud de voltaje de 17 V_{pp} y para 12.5/12.5 de 10 V_{pp}).

Tabla N° 7.10: Eficacia de separación para diversas mezclas de sangre y de crema diluida.

	C_0	f MHz	Q_0 $\mu\text{l}/\text{min}$	$C_{s, \text{cent exp}}$ %	$C_{s, \text{lat exp}}$ %	$C_{s, \text{cent sim}}$ %	$C_{s, \text{lat sim}}$ %	S_{exp} %	S_{sim} %
Sangre	25	2	50	22.83	2.17	22.87	2.13	91	91.48
Crema	25			3.26	21.74	2.96	22.04	87	88.16
Sangre	12.5	2	50	12	0.5	11.76	0.74	96	94.08
Crema	12.5			2.1	10.4	1.99	10.51	83.2	84.08

- C_0 Contenido en volumen antes de la separación.
- $C_{s, \text{cent}}$ Contenido en volumen después de la separación en la salida del centro
- $C_{s, \text{lat exp}}$ Contenido en volumen después de la separación en la salida lateral experimental.
- $C_{s, \text{lat sim}}$ Contenido en volumen después de la separación en la salida lateral simulada.
- Q_0 Flujo volumétrico.
- S_{exp} Eficacia de separación experimental.
- S_{sim} Eficacia de separación simulada.

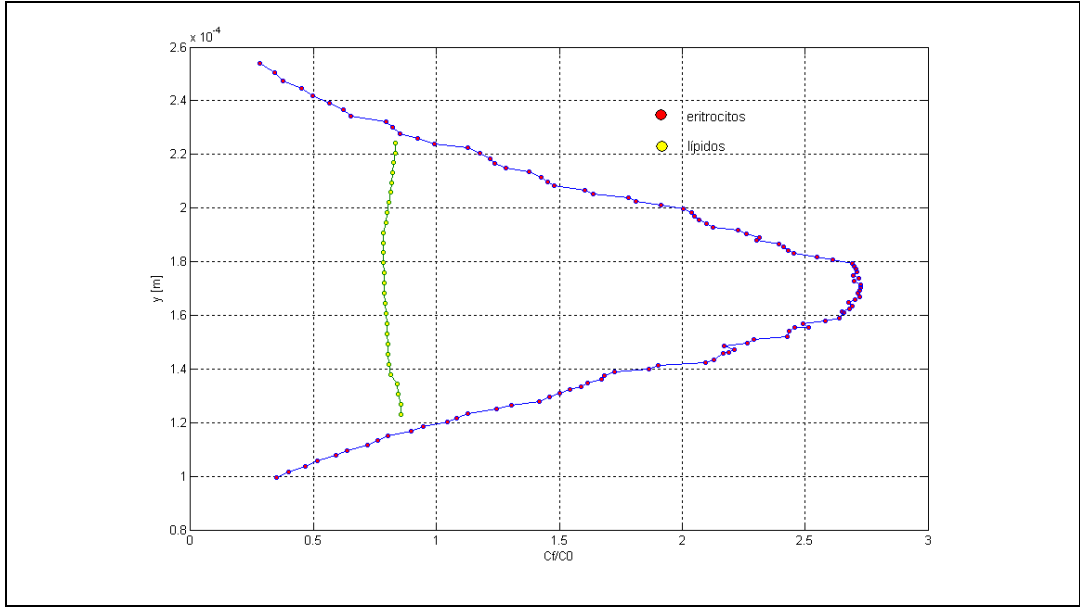


Figura 7.13: (a) Distribución de la concentración en una mezcla sangre 25% y crema 25% en un plano 2.5 mm después de ejercida la fuerza acústica. El flujo era ~ 0.019 m/s, $f=1.95$ MHz.

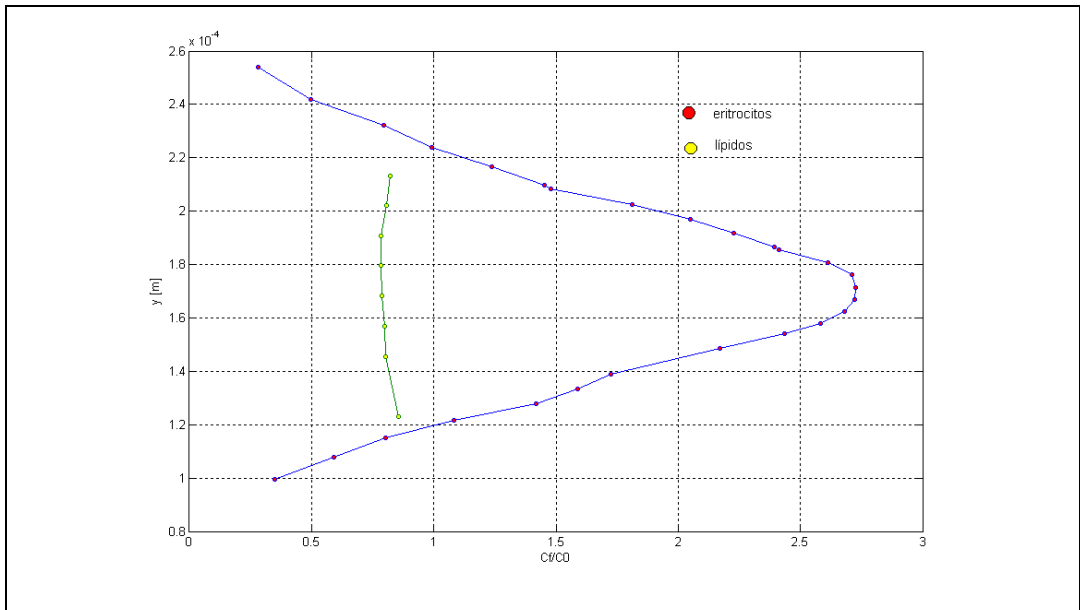


Figura 7.14: (a) Distribución de la concentración en una mezcla sangre 12.5% y crema 12.5% en un plano 2.5 mm después de ejercida la fuerza de radiación acústica. El flujo era ~ 0.019 m/s, $f=1.95$ MHz.

7.7 Separación de partículas de diversos tamaños

Otra aplicación de la acustifóresis con el microdispositivo PARSUS modificado es la separación de partículas de diferentes diámetros 3, 7, 10 μm cuyo material eran esferas de poliestireno suspendidos en agua destilada ^[9, 109, 111].

Se ha expandido el uso del modelo del microdispositivo de PARSUS, para el tratamiento de sangre humana ^[36, 86, 87, 88, 110, 112, 146], como se ha mostrado su eficacia es mayor debido al principio de operación de media longitud de onda, lo que lleva a las partículas de triglicéridos $>C_{16}$ a los dos planos antinodales, en tanto que las partículas de eritrocitos se trasladan a un solo plano nodal; en virtud a esto la modificación del microdispositivo de PARSUS emplea la generación de $n\lambda/2$ modos de operación de longitud de onda y la gradual separación en planos nodales conforme avanza el flujo de la mezcla de partículas, incidiendo por tramos secciones con diferente frecuencia de actuación a través de múltiples salidas que van separando gradualmente las partículas por etapas.

En la figura 7.15 se muestra el bosquejo del microdispositivo modificado de PARSUS, así como las fotografías obtenidas en el experimento realizado por Filip Petersson ^[109, 111, 112] cuando se aplica la fuerza acústica de radiación para separar las partículas de poliestireno, se realiza la simulación en un modo de operación de media longitud de onda; en la parte inferior se muestra los resultados obtenidos por simulación realizada con Matlab 7.14 (R2012a) mostrando la concordancia de la trayectoria obtenida cuando es aplicada la fuerza de radiación acústica y cuando ella no es ejercida sobre el flujo de una mezcla del mismo tipo de partículas de poliestireno con diferente diámetro; verificando la capacidad selectiva de la acustifóresis sobre las partículas.

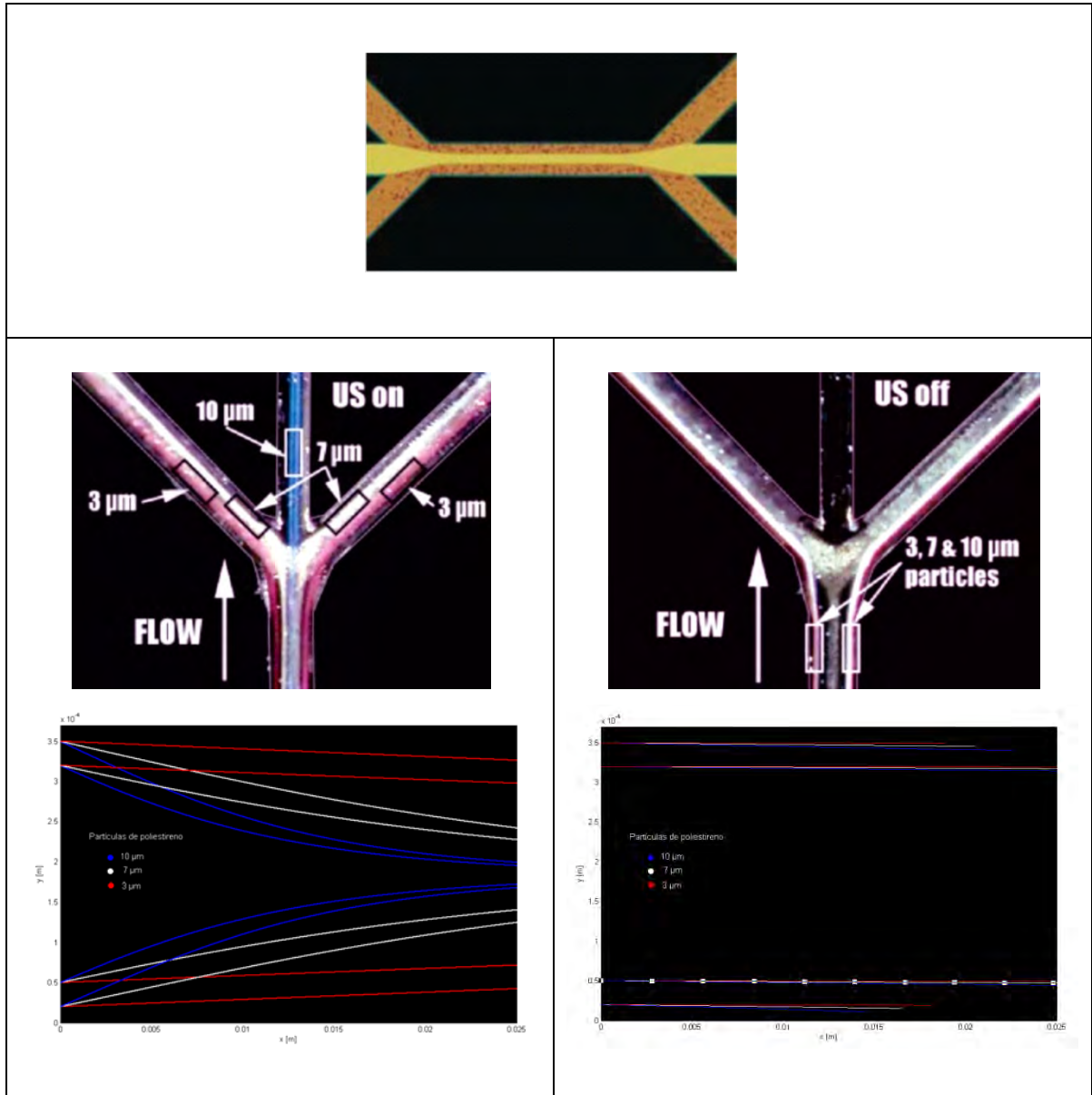


Figura 7.15: Distribución de partículas de poliestireno de diferentes diámetros con y sin aplicación de fuerza de radiación acústica. Fuente de fotografías de Petersson ^[109, 111, 112] y las inferiores son obtenidas con Matlab 7.14 (R2012a).

CONCLUSIONES

La interferencia constructiva de ondas acústicas da lugar a ondas acústicas estacionarias, causando una fluctuación de presión de radiación acústica dentro del fluido, la cual es la causante de conducir a las partículas suspendidas hacia los planos nodales/antinodales generados.

La modificación de trayectoria de las partículas conlleva a colocarlas a un plano nodal de presión sobre los nodos o los antinodos, para las partículas de eritrocitos un $\Phi \approx 0.3432$ y para las partículas de triglicéridos_{>C16} un $\Phi \approx -0.3285$, lo que conlleva a que los eritrocitos sean arrastrados al nodo central mientras que las partículas de triglicéridos_{>C16} se ubiquen en las antinodos.

En un nodo de desplazamiento las variaciones de presión por encima y debajo de la presión media son máximas. Por consiguiente un nodo de desplazamiento corresponde a un antinodo de presión. En un antinodo de desplazamiento no hay variación de presión, por consiguiente, un antinodo de desplazamiento corresponde a un nodo de presión.

Las ondas acústicas estacionarias proporcionan un método reproducible de generación de ondas al ser aplicadas al microdispositivo, la baja potencia de separación que se emplea $17 V_{pp}$ hace que se cause daño mínimo a las células. Debido a la dependencia del volumen por la fuerza, partículas más grandes experimentan nodos de presión de una mayor fuerza y el alcance de partículas más pequeñas en los antinodos más rápidamente.

El índice de convergencia hacia el nodo no es influenciado por el perfil longitudinal del flujo, asumiendo los efectos de elevación insignificante. Sin embargo, para el perfil parabólico un bajo flujo volumétrico en la pared causa que las partículas comiencen a converger a una posición más

lejos de la corriente con respecto a flujo plano. Esto demuestra la influencia significativa que el perfil del flujo tiene en la trayectoria de la partícula y por lo tanto las implicaciones en el diseño y eficacia que resulta del dispositivo.

Puede ser visto que no es la fuerza acústica de radiación cero en la pared del canal. Además, el plano nodal no será localizado necesariamente a lo largo del plano del centro del canal, pero su posición puede ser predicha.

Dos tipos de partícula se pueden separar aumentando la amplitud de presión acústica, esto se puede hacer solamente hasta cierto punto pues da lugar a la disipación de energía y al calentamiento del material circundante y en última instancia la cavitación formando burbujas de gas en el sistema. La mejor manera de aumentar la fuerza acústica es disminuir la longitud de onda del ultrasonido y la anchura del microcanal de separación.

La acustifóresis es un método de separación de flujo continuo que es aplicado a partículas suspendidas en un medio como son los elementos formes de la sangre; pero tiene la desventaja de no poder aplicarlo para separar las formas emulsionadas de las glicoproteínas presentes en el plasma sanguíneo.

La similitud entre los componentes de los elementos formes de la sangre de bovino y sangre humana, permite aplicar la simulación por acustifóresis al ser este un método de separación no-inmunológico.

Los eritrocitos y las partículas de triglicéridos_{>c16} suspendidas en el plasma sanguíneo son expuestos a campos acústicos ortogonales de ondas acústicas estacionarias de longitud de onda media a la dirección de flujo. Debido a la diferencia de compresibilidades y densidades entre los dos tipos de partículas estas se mueven en distintas direcciones, los eritrocitos hacia el centro del canal y las partículas de triglicéridos_{>c16} hacia las paredes laterales. El extremo del canal está dividido en tres canales de salida los eritrocitos a la salida del centro y las partículas de triglicéridos_{>c16} a las salidas laterales, esto debido a que son las partículas que presentan mayor magnitud de la fuerza de radiación acústica ($9.51 \cdot 10^{-11} \text{ N} - 2.45 \cdot 10^{-12}$) indicando los signos su posición en los diferentes planos nodales.

Se ha mostrado como la frecuencia de actuación es la variable que determina la fuerza de radiación acústica promediada en el tiempo y el comportamiento que esta adopta al ser influenciada por sus componentes.

Las altas intensidades acústicas pueden inducir el movimiento del fluido vía corrientes acústicas. Las corrientes acústicas son de larga escala y son generados por la atenuación de la onda acústica. Una típica corriente acústica que fluye en la cavidad es de carácter rotatorio, tiene una dirección en el eje de la cavidad y otra dirección cerca del límite de la cavidad y su magnitud puede estar varios centímetros por segundo mayor que la velocidad acustifóretica. Si el movimiento del fluido es bastante grande, la fuerza de fricción viscosa puede exceder la fuerza acústica e interrumpir la separación.

Los métodos de acustifóresis y Cd-centrifugación son los métodos que presentan mayor ventaja con respecto a la separación de los elementos formes de la sangre del plasma sanguíneo, siendo la acustifóresis la que permite alterar la trayectoria de estos elementos y muestra la posibilidad de separarlos independientemente tal como se muestra en la figura 7.10.

APÉNDICE A

Glosario de términos.

Acustifóresis	Separación de partículas en suspensión usando ondas sonoras estacionarias de alta intensidad (acoustophoresis).
Anisotrópico	Característica de los cuerpos cuyas propiedades físicas dependen de la dirección de su estructura cristalina.
Anticuerpos	Proteínas pertenecientes al grupo de la gamma-globulina o inmunoglobulina.
Antígenos	Cualquier sustancia extraña que introducida en el interior de un organismo provoque una respuesta inmunitaria.
Arteriosclerosis	Término general utilizado en medicina humana que se refiere a un endurecimiento de arterias
Ateroesclerosis	Es un síndrome caracterizado por el depósito e infiltración de sustancias lipídicas en las paredes de las arterias
Ateroma	Lesiones focales que se inician en la capa íntima de una arteria.
Biocompatibilidad	El término se refiere a la capacidad de un material biológico para llevar a cabo una respuesta del huésped asociado en una situación específica.
Bioteología	Aplicación tecnológica a sistemas biológicos para su modificación o producción de nueva entidad biológica.
Chip	Circuito integrado de material semiconductor obtenido por fotolitografía.
Dextran	Es un polisacárido complejo y ramificado formado por numerosas moléculas de glucosa usado como antitrombótico (antiplaqueta) y para reducir la viscosidad de la sangre.
Dielectrofóresis	Fuerza que se ejerce sobre partículas dieléctricas bajo la aplicación no uniforme de un campo eléctrico.
Inmunogenético	Estudia los caracteres genéticos mediante el uso de técnicas inmunológicas.
Inmunológicas	Estudio del sistema inmunitario, entendiendo como tal al conjunto de órganos, tejidos y células que tienen como función reconocer elementos ajenos dando una respuesta inmunitaria.
Isotónica	Referente a soluciones en hematología que tienen la misma concentración de sales que las células de la sangre.
Isotrópico	Característica de los cuerpos cuyas propiedades físicas no dependen de la dirección.
Lab on chip	Dispositivo que integra una o varias funciones de laboratorio en un solo chip.

Lisosomales	Son orgánulos relativamente grandes, formados por el retículo endoplasmático rugoso y luego empaquetadas por el complejo de Golgi, que contienen enzimas hidrolíticas y proteolíticas que sirven para digerir los materiales de origen externo (heterofagia) o interno (autofagia) que llegan a ellos.
Litotricia	Procedimiento médico que utiliza ondas de choque para romper cálculos que se forman en el riñón, uréter.
Magnetofóresis	Movimiento de partículas dispersas magnética relativa a un fluido bajo la influencia de un campo magnético.
Microcámara	Estructura básica utilizada en la microtecnología.
Microfluidos	Manipulación de fluidos a través de canales microfabricados.
Monoclonal	Se asocia a un grupo de células que se producen a partir de una célula ancestral única por replicación celular repetida.
Normovolémicos	Equilibrio normal de líquidos con disminución de sodio en la sangre.
Onda estacionaria	Onda de posición fija resultado de la interferencia de ondas de igual amplitud en direcciones opuestas.
Silicón	Silicio de alto grado de pureza utilizado en semiconductores.
Solenoidal	Corresponde a la aceleración de la partícula fluida siguiéndola desde una referencia inercial.
Susceptibilidad	Grado de magnetización de un material en respuesta a un campo magnético.
Transductor	Dispositivo capaz de transformar un determinado tipo de energía de entrada en otra diferente a la salida.
Trombostenina	Proteína contráctil que causa encogimiento y contracción del coágulo.

APÉNDICE B

Modelo para el análisis de paredes acopladas eigenvalores.

% Model exported on Nov 17 2012, 19:17 by COMSOL 4.3.0.151.

```
model = ModelUtil.create('Model');

model.modelPath('D:\Contenido\archivos acoustophoresis\modelos comsol');

model.name('paredes acopladas.mph');

model.param.set('cs1', '4080', 'veloc sonido PZT');
model.param.set('cs2', '2440', 'veloc sonido Glue');
model.param.set('cs3', '5800', 'veloc sonido Silicon');
model.param.set('cs4', '1500', 'veloc sonido Fluido');
model.param.set('cs5', '5600', 'veloc sonido Pirex');
model.param.set('cs6', '343.4', 'veloc sonido Aire');
model.param.set('rho1', '7700', 'den PZT');
model.param.set('rho2', '2000', 'den Glue');
model.param.set('rho3', '7800', 'den Silicon');
model.param.set('rho4', '998.2', 'den Fluido');
model.param.set('rho5', '2400', 'den Pirex');
model.param.set('rho6', '1.611', 'den Aire');
model.param.set('w', '6.2832');

model.modelNode.create('mod1');

model.geom.create('geom1', 2);
model.geom('geom1').lengthUnit([native2unicode(hex2dec('00b5'), 'Cp1252') 'm']);
model.geom('geom1').feature.create('r1', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature.create('r2', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature.create('r3', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature.create('r4', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature.create('r5', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature.create('r6', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature('r1').name('PZT');
model.geom('geom1').feature('r1').set('size', {'670' '200'});
model.geom('geom1').feature('r2').name('glue');
model.geom('geom1').feature('r2').set('pos', {'670' '0'});
model.geom('geom1').feature('r2').set('size', {'50' '200'});
model.geom('geom1').feature('r3').name('silicon');
model.geom('geom1').feature('r3').set('pos', {'720' '0'});
model.geom('geom1').feature('r3').set('size', {'1500' '200'});
model.geom('geom1').feature('r4').name('fluido');
model.geom('geom1').feature('r4').set('pos', {'2220' '0'});
model.geom('geom1').feature('r4').set('size', {'135' '200'});
model.geom('geom1').feature('r5').name('pirex');
model.geom('geom1').feature('r5').set('pos', {'2355' '0'});
model.geom('geom1').feature('r5').set('size', {'1500' '200'});
model.geom('geom1').feature('r6').name('aire');
model.geom('geom1').feature('r6').set('pos', {'3855' '0'});
model.geom('geom1').feature('r6').set('size', {'200' '200'});
model.geom('geom1').run;

model.material.create('mat1');
model.material('mat1').selection.set([1]);
model.material.create('mat2');
model.material('mat2').selection.set([2]);
model.material.create('mat3');
model.material('mat3').selection.set([3]);
```

```

model.material.create('mat4');
model.material('mat4').selection.set([4]);
model.material.create('mat5');
model.material('mat5').selection.set([5]);
model.material.create('mat6');
model.material('mat6').selection.set([6]);

model.physics.create('acpr', 'PressureAcoustics', 'geom1');
model.physics('acpr').feature.create('ssb1', 'SoundSoft', 1);
model.physics('acpr').feature('ssb1').selection.set([1 19]);

model.mesh.create('mesh1', 'geom1');
model.mesh('mesh1').feature.create('ftri1', 'FreeTri');

model.result.table.create('evl2', 'Table');

model.view('view1').axis.set('xmin', '3732.826416015625');
model.view('view1').axis.set('xmax', '4174.97509765625');
model.view('view1').axis.set('ymin', '-209.92578125');
model.view('view1').axis.set('ymax', '203.30859375');

model.material('mat1').name('PZT');
model.material('mat1').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat1').propertyGroup('def').set('density', 'rho1');
model.material('mat1').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs1');
model.material('mat2').name('Glue');
model.material('mat2').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat2').propertyGroup('def').set('density', 'rho2');
model.material('mat2').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs2');
model.material('mat3').name('Silicon');
model.material('mat3').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat3').propertyGroup('def').set('density', 'rho3');
model.material('mat3').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs3');
model.material('mat4').name('Fluido');
model.material('mat4').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat4').propertyGroup('def').set('density', 'rho4');
model.material('mat4').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs4');
model.material('mat5').name('Pirex');
model.material('mat5').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat5').propertyGroup('def').set('density', 'rho5');
model.material('mat5').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs5');
model.material('mat6').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat6').propertyGroup('def').set('density', 'rho6');
model.material('mat6').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs6');

model.mesh('mesh1').feature('size').set('hauto', 1);
model.mesh('mesh1').run;

model.result.table('evl2').name('Evaluation 2D');
model.result.table('evl2').comments('Valores interactivos 2D');

model.study.create('std1');
model.study('std1').feature.create('eig', 'Eigenfrequency');

model.sol.create('sol1');
model.sol('sol1').study('std1');
model.sol('sol1').attach('std1');
model.sol('sol1').feature.create('st1', 'StudyStep');
model.sol('sol1').feature.create('v1', 'Variables');
model.sol('sol1').feature.create('e1', 'Eigenvalue');

```

```

model.result.dataset.create('cln1', 'CutLine2D');
model.result.create('pg1', 'PlotGroup2D');
model.result('pg1').feature.create('surf1', 'Surface');
model.result.create('pg2', 'PlotGroup2D');
model.result('pg2').feature.create('surf1', 'Surface');
model.result.create('pg3', 'PlotGroup1D');
model.result('pg3').set('probetag', 'none');
model.result('pg3').feature.create('Ingr1', 'LineGraph');
model.result('pg3').feature.create('Ingr2', 'LineGraph');

model.study('std1').feature('eig').set('neigs', '20');
model.study('std1').feature('eig').set('shift', '3e6');

model.sol('sol1').attach('std1');
model.sol('sol1').feature('st1').name('Compilar ecuaciones: Frecuencia propia');
model.sol('sol1').feature('st1').set('studystep', 'eig');
model.sol('sol1').feature('v1').set('control', 'eig');
model.sol('sol1').feature('e1').set('neigs', '20');
model.sol('sol1').feature('e1').set('transform', 'eigenfrequency');
model.sol('sol1').feature('e1').set('shift', '2e6');
model.sol('sol1').feature('e1').set('eigref', '100');
model.sol('sol1').feature('e1').feature('aDef').set('complexfun', true);
model.sol('sol1').runAll();

model.result.dataset('cln1').set('genpoints', {'0' '0'; '4000' '200'});
model.result('pg1').name(['Presi' native2unicode(hex2dec('00f3'), 'Cp1252') 'n ac' native2unicode(hex2dec('00fa'), 'Cp1252') 'stica (acpr)']);
model.result('pg1').setIndex('looplevel', '10', 0);
model.result('pg1').feature('surf1').set('resolution', 'extrafine');
model.result('pg2').name(['Nivel de presi' native2unicode(hex2dec('00f3'), 'Cp1252') 'n de sonido (acpr)']);
model.result('pg2').setIndex('looplevel', '6', 0);
model.result('pg2').feature('surf1').set('expr', 'acpr.Lp');
model.result('pg2').feature('surf1').set('unit', 'dB');
model.result('pg2').feature('surf1').set('descr', ['Nivel de presi' native2unicode(hex2dec('00f3'), 'Cp1252') 'n de
sonido']);
model.result('pg3').set('data', 'cln1');
model.result('pg3').set('xlabel', ['Coordenada x (' native2unicode(hex2dec('00b5'), 'Cp1252') 'm)']);
model.result('pg3').set('looplevelinput', {'manualindices'});
model.result('pg3').set('showlooplevelindices', {'on' 'off' 'off'});
model.result('pg3').set('looplevelindices', {'25'});
model.result('pg3').set('xlabelactive', false);
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('expr', 'p');
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('descr', ['Presi' native2unicode(hex2dec('00f3'), 'Cp1252') 'n']);
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('xdata', 'expr');
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('xdataexpr', 'x');
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('xdataunit', [native2unicode(hex2dec('00b5'), 'Cp1252') 'm']);
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('xdatadescr', 'Coordenada x');
model.result('pg3').feature('Ingr2').set('expr', '-p');
model.result('pg3').feature('Ingr2').set('descr', '-p');
model.result('pg3').feature('Ingr2').set('xdata', 'expr');
model.result('pg3').feature('Ingr2').set('xdataexpr', 'x');
model.result('pg3').feature('Ingr2').set('xdataunit', [native2unicode(hex2dec('00b5'), 'Cp1252') 'm']);
model.result('pg3').feature('Ingr2').set('xdatadescr', 'Coordenada x');

mphplot(model,'pg1')

```

APÉNDICE C

Análisis variación de frecuencia en 6 paredes acopladas.

% Model exported on Nov 17 2012, 19:12 by COMSOL 4.3.0.151.

```
model = ModelUtil.create('Model');

model.modelPath('D:\Contenido\archivos acoustophoresis\modelos comsol');

model.name ('paredes acopladas dominio frecuencia.mph');

model.param.set ('cs1', '4080', 'veloc sonido PZT');
model.param.set ('cs2', '2440', 'veloc sonido Glue');
model.param.set ('cs3', '5800', 'veloc sonido Silicon');
model.param.set ('cs4', '1500', 'veloc sonido Fluido');
model.param.set ('cs5', '5600', 'veloc sonido Pirex');
model.param.set ('cs6', '343.4', 'veloc sonido Aire');
model.param.set ('rho1', '7700', 'den PZT');
model.param.set ('rho2', '2000', 'den Glue');
model.param.set ('rho3', '7800', 'den Silicon');
model.param.set ('rho4', '998.2', 'den Fluido');
model.param.set ('rho5', '2400', 'den Pirex');
model.param.set ('rho6', '1.611', 'den Aire');
model.param.set ('f', '3.6887e6', 'frecuencia');
model.param.set ('w', '2*pi*f', 'veloc angular');
model.param.set ('Lmax', '1e-9', 'longitud maxima desplazamiento');

model.modelNode.create ('mod1');

model.geom.create('geom1', 2);
model.geom('geom1').lengthUnit([native2unicode(hex2dec('00b5'), 'Cp1252') 'm']);
model.geom('geom1').feature.create('r1', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature.create('r2', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature.create('r3', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature.create('r4', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature.create('r5', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature.create('r6', 'Rectangle');
model.geom('geom1').feature('r1').name('PZT');
model.geom('geom1').feature('r1').set('size', {'670' '200'});
model.geom('geom1').feature('r2').set('pos', {'670' '0'});
model.geom('geom1').feature('r2').set('size', {'50' '200'});
model.geom('geom1').feature('r3').set('pos', {'720' '0'});
model.geom('geom1').feature('r3').set('size', {'1500' '200'});
model.geom('geom1').feature('r4').set('pos', {'2220' '0'});
model.geom('geom1').feature('r4').set('size', {'135' '200'});
model.geom('geom1').feature('r5').set('pos', {'2355' '0'});
model.geom('geom1').feature('r5').set('size', {'1500' '200'});
model.geom('geom1').feature('r6').set('pos', {'3855' '0'});
model.geom('geom1').feature('r6').set('size', {'200' '200'});
model.geom('geom1').run;

model.material.create('mat1');
model.material('mat1').selection.set([1]);
model.material.create('mat2');
model.material('mat2').selection.set([2]);
model.material.create('mat3');
model.material('mat3').selection.set([3]);
model.material.create('mat4');
model.material('mat4').selection.set([4]);
model.material.create('mat5');
```



```

model.material('mat5').selection.set([5]);
model.material.create('mat6');
model.material('mat6').selection.set([6]);

model.physics.create('actd', 'TransientPressureAcoustics', 'geom1');
model.physics('actd').feature.create('nacc1', 'NormalAcceleration', 1);
model.physics('actd').feature('nacc1').selection.set([1]);
model.physics('actd').feature.create('imp1', 'Impedance', 1);
model.physics('actd').feature('imp1').selection.set([19]);

model.mesh.create('mesh1', 'geom1');
model.mesh('mesh1').feature.create('ftri1', 'FreeTri');

model.view('view1').axis.set('xmin', '-960.7677001953125');
model.view('view1').axis.set('xmax', '5130.767578125');
model.view('view1').axis.set('ymin', '-2725.79541015625');
model.view('view1').axis.set('ymax', '2925.79541015625');

model.material('mat1').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat1').propertyGroup('def').set('density', 'rho1');
model.material('mat1').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs1');
model.material('mat2').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat2').propertyGroup('def').set('density', 'rho2');
model.material('mat2').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs2');
model.material('mat3').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat3').propertyGroup('def').set('density', 'rho3');
model.material('mat3').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs3');
model.material('mat4').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat4').propertyGroup('def').set('density', 'rho4');
model.material('mat4').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs4');
model.material('mat5').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat5').propertyGroup('def').set('density', 'rho5');
model.material('mat5').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs5');
model.material('mat6').propertyGroup('def').func.name('Funciones');
model.material('mat6').propertyGroup('def').set('density', 'rho6');
model.material('mat6').propertyGroup('def').set('soundspeed', 'cs6');

model.physics('actd').feature('nacc1').set('nacc', '-i*Lmax*w^2');
model.physics('actd').feature('imp1').set('Zi', 'rho6[kg/m^3]*cs6[m/s]');

model.mesh('mesh1').feature('size').set('hauto', 3);
model.mesh('mesh1').run;

model.study.create('std1');
model.study('std1').feature.create('freq', 'Frequency');

model.sol.create('sol1');
model.sol('sol1').study('std1');
model.sol('sol1').attach('std1');
model.sol('sol1').feature.create('st1', 'StudyStep');
model.sol('sol1').feature.create('v1', 'Variables');
model.sol('sol1').feature.create('s1', 'Stationary');
model.sol('sol1').feature('s1').feature.create('fc1', 'FullyCoupled');
model.sol('sol1').feature('s1').feature.remove('fcDef');

model.result.dataset.create('cln1', 'CutLine2D');
model.result.create('pg1', 'PlotGroup2D');
model.result('pg1').feature.create('surf1', 'Surface');
model.result.create('pg2', 'PlotGroup2D');
model.result('pg2').feature.create('surf1', 'Surface');
model.result.create('pg3', 'PlotGroup1D');

```

```

model.result('pg3').set('probetag', 'none');
model.result('pg3').feature.create('Ingr1', 'LineGraph');
model.study('std1').feature('freq').set('plist', 'f');

model.sol('sol1').attach('std1');
model.sol('sol1').feature('st1').name('Compilar ecuaciones: Dominio de la frecuencia');
model.sol('sol1').feature('st1').set('studystep', 'freq');
model.sol('sol1').feature('v1').set('control', 'freq');
model.sol('sol1').feature('s1').set('control', 'freq');
model.sol('sol1').feature('s1').feature('aDef').set('complexfun', true);
model.sol('sol1').runAll();

model.result.dataset('cln1').set('genpoints', {'0' '0'; '4000' '200'});
model.result('pg1').name(['Presi' native2unicode(hex2dec('00f3'), 'Cp1252') 'n ac' native2unicode(hex2dec('00fa'), 'Cp1252') 'stica (actd)']);
model.result('pg2').name(['Nivel de presi' native2unicode(hex2dec('00f3'), 'Cp1252') 'n de sonido (actd)']);
model.result('pg2').feature('surf1').set('expr', 'actd.Lp');
model.result('pg2').feature('surf1').set('unit', 'dB');
model.result('pg2').feature('surf1').set('descr', ['Nivel de presi' native2unicode(hex2dec('00f3'), 'Cp1252') 'n de sonido']);
model.result('pg3').set('data', 'cln1');
model.result('pg3').set('xlabel', ['Coordenada x (' native2unicode(hex2dec('00b5'), 'Cp1252') 'm)']);
model.result('pg3').set('ylabel', ['Presi' native2unicode(hex2dec('00f3'), 'Cp1252') 'n (Pa)']);
model.result('pg3').set('xlabelactive', false);
model.result('pg3').set('ylabelactive', false);
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('expr', 'p');
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('descr', ['Presi' native2unicode(hex2dec('00f3'), 'Cp1252') 'n']);
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('xdata', 'expr');
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('xdataexpr', 'x');
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('xdataunit', [native2unicode(hex2dec('00b5'), 'Cp1252') 'm']);
model.result('pg3').feature('Ingr1').set('xdatadescr', 'Coordenada x');

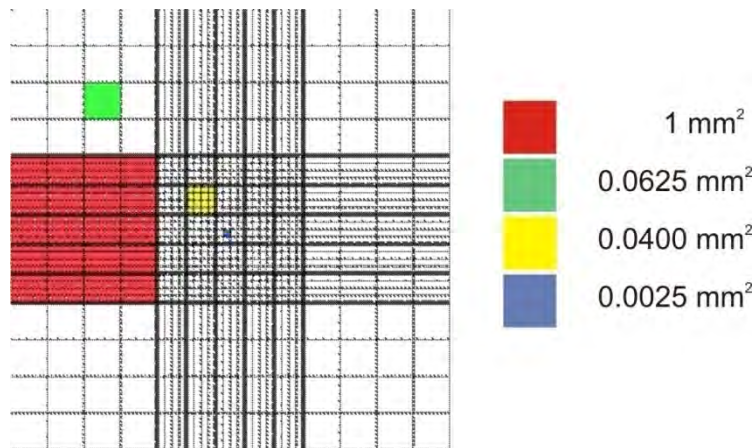
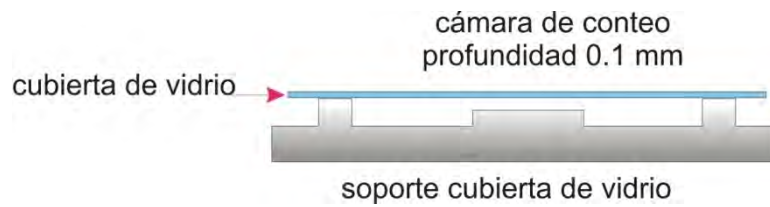
mphplot(model,'pg1')

```

APÉNDICE D

Hemocitómetro.

El hemocitómetro es un dispositivo usado originalmente para contar las células de sangre y muchos tipos de partículas microscópicas.



$$\text{concentración de células en la mezcla original} = \frac{\text{número de células contadas}}{\left(\frac{\text{proporción de la cámara contada}}{\text{volumen de la cámara}}\right) \left(\frac{\text{volumen de la muestra diluida}}{\text{volumen de la mezcla original en la muestra}}\right)}$$

BIBLIOGRAFÍA

1. ACHEMA 2006 28th International Exhibition Congress on Chemical Engineering, Environmental Protection and Biotechnology. Frankfurt am Main, Germany May 15 – 19, 2006.
2. Ahmadi S., Hassani F., Korman C., Rahaman M., Zaghoul M. **“Characterization of multi and single layer structures SAW sensor”** Department of Electrical and Computer Engineering The George Washington University 20007.
3. Akheshmeh Saeid, Pourmahmoud Nader and Sedgi Hasan **“Numerical Study of the Temperature Separation in the Ranque-Hilsch Vortex Tube”** American J. of Engineering and Applied Sciences 1 (3): 181-187, 2008. ISSN 1941-7020.
4. Alkahby H. Y.; Jalbout F. N. **“Numerical studies of vertically propagating acoustic and magneto-acoustic waves in an isothermal atmosphere”** 15th Annual Conference of Applied Mathematics, University of Central Oklahoma, Electronic Journal of Differential Equations, Conference 02, 1999, pp. 93-103. ISSN: 1072-6691.
5. Alvarado Fernando L. **“Solving Power Flow Problems with a Matlab Implementation of the Power System Applications Data Dictionary”** Proceedings of the 32nd Hawaii International Conference on System Sciences – 1999.
6. Anderson Michael J., Budwig Ralph S., Line K. Scott, and Frankel Joseph G. **“Use of Acoustic Radiation Pressure to Concentrate Small Particles in an Air Flow”** Department of Mechanical Engineering, University of Idaho Moscow Idaho U.S.A. 83844-0902.
7. Anderson M., Budwig R., Cluff A., Lemmon E., and Putnam G. **“The physics and technology of ultrasonic particle separation in air”** Department of Mechanical Engineering, University of Idaho, Moscow Idaho, USA. WCU 2003, Paris, september 7-10, 2003.
8. Ascher Uri M., Ruuth Steven J., Spiteri Raymond J. **“Implicit-explicit Runge Kutta methods for time dependent partial differential equations”** Institute of applied Mathematics and departamento of Mathematics University of British Columbia, Vancouver Canada 13 Marzo 1997.
9. Augustsson Per, Åberg Lena B., Ann-Margret K., Nilsson Swärd, Laurell Thomas **“Buffer medium exchange in continuous cell and particle streams using ultrasonic standing wave focusing”** Microchim Acta DOI 10.1007/s00604-008-0084-4, Julio 2008.
10. Baliga B.R., Savage S.B., Jesuthasan N. **“Use of Particle Tracking Velocimetry for Measurements of Granular Flows: Review and application–Particle Tracking Velocimetry for Granular Flow Measurements”** Department of Mechanical Engineering- Applied Mechanics and Department of Civil Engineering of Mc G Hill University KONA No.24 (2006).
11. Ballantine D. S., White R. M., Martin S. J., Ricco A. J., Zellers E. T., Frye G. C., Wohltjen H. **“Acoustic Wave sensors theory, design and physico chemical applications”** Ed. Academic Press Inc. 1997.
12. Barrios del Valle M. Guillermo **“Levitación de partículas en ondas de sonido usando el método de Boltzmann en redes”** Tesis Doctor en Ingeniería Área mecánica opción termofluidos Universidad Nacional Autónoma de México Agosto 2007.
13. Beers Kenneth J. **“Numerical methods for chemical engineering”** Cambridge University Press 2007. ISBN-13 978-0-521-85971-4.

14. Benoit J.P. Chick ***“Computer Simulation of the Acoustic Impedance of Modern Orchestral Horns”*** John von Neumann Institute for Computing, Jülich, NIC Series, Vol. 33, ISBN 3-00-017352-8, pp. 423-430, 2006. Bitsch L., Olesen L. H., Westergaard C. H., Bruus H., Klank H., Kutter J. P. ***“Micro particle image velocimetry of bead suspensions and blood flows”*** Experiments in Fluids 2005, 39: 505-511.
15. Böhm H; Briarty LG; Lowe KC; Power JB; Benes E; Davey MR ***“Application of a Novel h-Shaped Ultrasonic Particle Separator under Microgravity Conditions”*** Proc. Forum Acusticum 2002 Sevilla, Spain, Special Session PHA-01: Acoustics of Dispersed Particulate Matter, 16-20.09.2002.
16. Bosma R., Spronsen W.A. van, Tramper J. Wijffels and R.H., ***“Ultrasound, a new separation technique to harvest microalgae”*** J. Appl. Phycol., 2003, 15, 143-153.
17. Brian J. Kirby, Ernest F. Hasselbrink Jr. ***“Zeta potential of microfluidic substrates: 2. Data for polymers”*** Electrophoresis 2004, 25, 203–213.
18. Bruus Henrik ***“Theoretical Microfluidics”*** Oxford Master Series in Physics No. 18 Oxford University Press 2008. ISBN 978-0-19-923508-7.
19. Campbell Christopher J. and Grzybowski Bartosz A. ***“Microfluidic mixers: from microfabricated to self-assembling devices”*** The Royal Society Phil. Trans. Lond. A (2004) 10.1098/rsta.2003.1363.
20. Carroll Stephanie Alyssa ***“Ultrasound-Mediated Leakage from DMPC-Cholesterol Model Membrane”*** Thesis Master of Science in Chemical Engineering June 2008 Drexel of University.
21. Chainarong Chaktrannond, Koji Fukagata, Nobuhide Kasagi ***“Mixing enhancement in a lamination micro mixer for cell sorting”*** 20th. Conference of mechanical engineering network of Thailand 18-20 Octubre 2006, Nakhon Ratchasima, Tailandia.
22. Chen X., Y.C. Lam, X.Y. Chen, J.C., Chai and C. Yang ***“Numerical Simulation of Electroosmotic Flow with Step Change in Zeta Potential”*** Singapore-MIT Alliance Programme, Nanyang Technological University, Singapore 639798 2 School of Mechanical & Production Engineering, Nanyang Technological University.
23. Chinchurreta Francisco; Hekkenberg Rob; Montero de Espinosa Francisco ***“Power measurement of airborne ultrasonic transducers”*** 19th International Congress on Acoustics Madrid, 2-7 septiembre 2007.
24. Chio Henry, Jensen Mads Jakob, Wang Xiaolin, Bruus Henrik, Attinger Daniel ***“On the motion of a bubble through microchannel contractions”*** NSTI Nanotech 2006 ISBN 097677985-7-3 Vol. 2, 2006.
25. Chiou Pei Yu, Ohta Aaron T. & Wu Ming C. ***“Massively parallel manipulation of single cells and microparticles using optical images”*** Vol 436 Nature Publishing Group 21 July 2005. Doi: 10.1038/nature03831.
26. Chung Euiheon, Kim Daekeun, Cui Yan, Kim Yang-Hyo and So Peter T. C. ***“Two-Dimensional Standing Wave Total Internal Reflection Fluorescence Microscopy: Superresolution Imaging of Single Molecular and Biological Specimens”*** Biophysical Journal 93:1747:1757(2007) 4 Mayo del 2007.
27. Colletti Ashley ***“Utilization of surface acoustic waves for n-chip manipulation of micro/nano particles”*** National Nanotechnology Infrastructure Network 2007.
28. COMSOL ***“Acoustics Module”*** Version Mayo 2012 COMSOL 4.3.
29. Cordero Garayar María Luisa ***“Efectos de presión de radiación en cavidades acústicas”*** Tesis de Magister en Ciencias mención Física 2006. Universidad de Chile facultad de ciencias físicas y matemáticas departamento de física.

30. Crocker Malcolm J. ***“Handbook of acoustics”*** A Wiley Interscience Publication. Editorial Board 1998.
31. Cross M.C., Newell Alan C. ***“Convection patterns in large aspect ratio systems”*** North-Holland, Amsterdam Physica 10D (1984) 299-328.
32. D’Silva Joseph ***“Microfluidic Cell Sorters for Stem Cell Separation and Size-Profiling Using Pressurized Laminar Flows at High Spatial-Temporal Resolution”*** Biological Applications. NNIN REU 2006 Microelectronics Research Center, the University of Texas at Austin
33. Dazhi Wang, Marin Sigurdson, Carl D. Meinhart ***“Experimental analysis of particle and fluid motion in ac electrokinetics”*** Experiments in Fluids 38 (2005) 1-10 DOI 10.1007/s00348-004-0864-5.
34. Desjouy C., Lotton P., Penelet G., Blondeau J. ***“LDV measurements of acoustic streaming in a traveling wave, closed-loop resonator”*** Euronise Acoustic Paris June 29 – July 4, 2008.
35. Dykes Josefina, Lenshof Andreas, Åstrand-Grundström Ing-Britt, Laurell Thomas, Scheduling Stefan ***“Efficient Removal of Platelets from Peripheral Blood Progenitor Cell Products Using a Novel Micro-Chip Based Acoustophoretic Platform”*** Editor: Mauricio Rojas, University of Pittsburgh, United States of America August 9, 2011.
36. Dittrich Petra S., Tachikawa Kaoru y Manz Andreas ***“Micro Total Analysis Systems. Latest Advancements and Trends”*** Anal. Chem. 2006, 78, 3887-3908.
37. Eichler Liebenow C., Cong N. H., Weiner R., Strhmel K. ***“Linearly implicit splitting methods for higher space-dimensional parabolic differential equations”*** Report N. 41 1997 Department of Mathematics and Computer Science Martin-Luther University Halle-Wittenberg.
38. Eymard Robert, Gallouët Thierry, Herbin Raphaèle ***“Finite volumen methods”*** Université de Provence Marseille September 1997.
39. Faran James J. ***“Sound scattering by solid cylinder and spheres”*** The Journal of the Acoustical Society of América Vol. 23, No. 4, Julio 1951, 405-418.
40. George N. Doku, Willem Verboom, David N. Reinhoudtand Albert van den Berg ***“On-microchip multiphase chemistry—a review of microreactor design principles and reagent contacting modes”*** Tetrahedron 61 (2005) 2733–2742 (report number 708).
41. Glasdam Jensen Thomas ***“Acoustic radiation in microfluidic systems”*** Master Thesis MIC Department of Micro and Nanotechnology Technical University of Denmark 2 de Abril 2007.
42. Glynne Jones P., Hill M., Harris N. R., Townsend R. J., Ravula S. K. ***“The design and modelling of a lateral acoustic particle manipulator exhibiting quarter wave operation”*** Euronise Acoustic Paris June 29 – July 4, 2008.
43. Griebel Michael y Zumbusch Gerhard ***“Hash based adaptive parallel multilevel methods with space-filling curves”*** John von Neumann Institute for Computing (NIC) at Research Centre Jülich (Cray T3E-600) and the Institute for Scientific Computing Research (ISCR) of the Lawrence Livermore National Laboratory (ASCI Blue Pacific).
44. Haake Albrecht ***“Micromanipulation of small particles with ultrasound”*** Thesis of degree of Doctor of Technical Sciences, Technische Universität Berlin Zürich 2004.
45. Hagsäter S. M., Lenshof A., Skaftø Pedersen P., Kutter J. P., Laurell T., Bruus Henrik ***“Acoustic resonances in straight micro channels: beyond the 1 D approximation”*** Lab on Chip 2008, 8, 1178-1184.

46. Håkan Jönsson **"Microfluidics for lab-on-a-chip applications"** The Lund graduate school of biomedical research at the department of physics division of solid state physics Lunds Universitet 2007.
47. Hancock Andrew **"Observation of forces on microparticles in acoustic standing waves"** Thesis Master Science in Biomedical Engineering University of California Davis 2001.
48. Hansen J., Skalak R., Chien S., Hoger A. **"An Elastic Network Model Based on the Structure of the Red Blood Cell Membrane Skeleton"** Biophysical Journal Volume 70 January 1996 146-166.
49. Hasegawa H., Kanai N., Chubachi, Koiwa Y. **"Non-invasive evaluation of Poisson's ratio of arterial wall using ultrasound"** Electronics Letters 13th February 1997 Vol. 33 No. 4.
50. Hawkes Jeremy J. W. and Coakley Terence **"Force field particle filter, combining ultrasound standing waves and laminar flow"** Sensors and Actuators B: Chemical Volume 75, Issue 3, 15 May 2001, Pages 213-222.
51. Hawkes Jeremy J., Gröschl Martin, Benes Ewald, Nowotny Helmut, Coakley W. Terence **"Positioning particles within liquids using ultrasound force fields"** Proc. Forum Acusticum 2002 Sevilla, Spain, Special Session PHA -01: Acoustics of Dispersed Particulate Matter, 16-20-09-2002.
52. Herr A. E., Molho J. I., Santiago J. G., Mungal M. G., Kenny T. W., Garguilo M. G. **"Electroosmotic Capillary Flow with Nonuniform Zeta Potential"** Anal. Chem. 2000 72, 1053-1057.
53. Herzenberg L.A.; De la Rosa S.C.y Herzenberg L.A. **"Monoclonal Antibodies and the FACS: complementary tools for the immunobiology and medicine"** Immunology Today Vol. 21(8) pp 383-390, 2000.
54. Hill Martyn, Shen Yijun, Hawkes Jeremy **"Modelling of layered resonators for ultrasonic separation"** Ultrasonic 40 pp 385-392, 2002.
55. Hill M., Harris N.R., Shen Y., Townsend R.J., Beeby S. and White N.M. **"A dual frequency, ultrasonic, microengineered particle manipulator"** Ultrasonics, Proceedings of Ultrasonics International 2003.
56. Hill M., Townsend R.J., Harris N.R. and White N.M. **"Modelling of particle paths passing through an ultrasonic standing wave"** Ultrasonics, Proceedings of Ultrasonics International 2003.
57. Hill Martyn **"The selection of layer thicknesses to control acoustic radiation force profiles in layered resonators"** Journal of the Acoustical Society of America Volume 114, Issue 5, pp. 2654-2661 November 2003.
58. Hill M., Harris N. R., Beeby S., Shen Y., White N. M., Hawkes J. J., Coakley W. T. **"A silicon microfluidic ultrasonic separator"** Sensor and Actuators B 95 pp 425-434, 2003.
59. Hill M., Townsend R.J., Harris N.R. and White N.M. **"Microfabricated acoustic resonators for manipulating particles within a fluid"** Proceedings of the Institute of Acoustics, 26(2), pp 442-451, 2004.
60. Hill M., Townsend R.J., Harris N.R., White N.M., Beeby S.P. and Wood R.J.K. **"Fluid modelling of microfluidic separator channels"** Sensors and Actuators B: Chemical, 111-112, pp 455-462, 2005.
61. Hill M., Harris N.R., Townsend R., White N.M. and Beeby S.P. **"Performance of a micro-engineered ultrasonic particle manipulator"** Sensors and Actuators B: Chemical, 111-112, pp 481-486, 2005.

62. Hill M., Townsend R.J., Martin S.P., Kuznetsova L.A., Borthwick K.A.J., McDonnell M.B. and Coakley W.T. **"Spore and micro-particle capture on an immunosensor surface in an ultrasound standing wave system"** Biosensors and Bioelectronics, 21(5), pp 758-767, 2005.
63. Hill M., Townsend R.J., Harris N.R., White N.M. **"Investigation of 2-d acoustic resonant modes in a particle separator"** Ultrasonic 44 (2006) 467-471.
64. Hill M., Townsend R.J., Harris N.R., White N.M. and Beeby S.P. **"Numerical Modelling of a microfluidic ultrasonic particle separator"** Conference at Nanotech 2005, Anaheim, CA, USA. May 2005.
65. Hill M., Townsend R.J., Harris N.R., White N.M., Beeby S.P., McDonnell M.B. **"Particle Concentration using a microfabricated ultrasonic resonator"** Conference at WCU/UI 2005, Beijing. August 2005.
66. Hill M., Harris N.R., Townsend R.J., White N.M., Beeby S.P., Ding and J. **"An ultrasonic MEMS particle separator with thick film piezoelectric actuation"** Conference at 2005 IEEE International Ultrasonics Symposium, Rotterdam. September 2005.
67. Hill M., Harris N.R., Torah R., Townsend R., Beeby S., White N.M., Ding J. **"A multilayer thick-film PZT actuator for MEMs applications"** Conference at Eurosensors 2005, Barcelona. September 2005.
68. Hoar Robert H. **"An Adaptive stencil Finite difference scheme for firts order linear hyperbolic systems"** Elsevier Science 27 Enero 1995.
69. Höppner Jürgen **"Verfahren zur berührungslosen handhabung mittels leistungsstarker schallwandler"** Thesis Doktor-Ingenieurs Lehrstuhl für Montagesystemtechnik und Betriebswissenschaften der Technischen Universität München 17-12-2001.
70. Hoyos Mauricio **"Separacion hidrodinámica de macromoléculas, partículas y células"** Acta biológica colombiana Vol.8 N.1-2003.
71. Hultström Jessica; Manneberg Otto; Hertz Hans M.; Wiklund Martin **"Gentle cell handling using ultrasonic standing waves in a chip-based perfusion system for cell characterization and on-chip cultivation"** 19th International Congress on Acoustics Madrid, 2-7 september 2007.
72. Joshua I. Molho, Amy E. Herr, Thomas W. Kenny, M. Godfrey Mungal, Michael G. Garguilo, Phillip H. Paul, Manish Deshpande, John R. Gilbert, Pamela M. St. John, Timothy M. Woudenberg, Charles Connell **"Fluid transport mechanisms in microfluidic devices"** DARPA Composite CAD (Grant no. F30602-96-0306) the National Science Foundation and Stanford University.
73. Jun Yang, Fuzhi Lu, Larry, Wkostiuk and Daniel Y. Kwok **"Electrokinetic microchannel battery by means of electrokinetic and microfluidic phenomena"** J. Micromech. Microeng. 13 (2003) 963-970.
74. Justin E Davies, Zachary I Whinnett, Darrel P Francis, Keith Willson, Rodney A Foale, Iqbal S Malik, Alun D Hughes, Kim H Parker, Jamil Mayet **"Use of simultaneous pressure and velocity measurements to estimate arterial wave speed at a single site in humans"** Am. J. Physiol Heart Circ. Physiol. (August 26, 2005). doi:10.1152/ajpheart.00751.2005.
75. Kažys R., Voleišis A., Voleišienė Šliteris B., Mažeika R. L., Grybauskas P. **"Ultrasonic multi-channel method for investigation of non-stationary biologic liquids"** ISSN 1392-2114 ULTRAGARSAS, Nr.4 (49). 2003.
76. Kippenberg T. J., Vahala K.J. **"Demonstration of High-Q Microdisk Resonators: Fabrication and Nonlinear Properties"** 2000 Optical Society of America. OCIS codes: (230.5750).

77. Kozień Marek S., Wiciak Jerzy **"Acoustic radiation by set of L-jointed Vibrating plates"** Molecular and Quantum Acoustics vol. 26, (2005).
78. Kozuka Teruyuki, Tuziuti Toru, Mitome Hideto **"One dimensional transportation of particles using an ultrasonic standing wave"** Sixth International Symposium on Micro Machine and Human Science 0-7803-2676-8 1995.
79. Kozuka Teruyuki, Tuziuti Toru, Mitome Hideto **"Non contac micromanipulation using an ultrasonic standing wave field"** International Symposium on Micro Machine and Human Science 0-7803-2985-6 1996.
80. Kozuka Teruyuki, Tuziuti Toru, Mitome Hideto **"Three dimensional acoustic micromanipulation using four ultrasonic transducer"** International Symposium on Micro Mechatronics and Human Science 0-7803-6498-8 2000.
81. Kulkarni Amit S. **"Effects of surface roughness in microchannel flows"** Thesis of degree Master of Science University of Florida 2004.
82. Kuznetsova Larisa A., Coakley W. Terence **"Applications of ultrasound streaming and radiation forcé in biosensors"** Biosensors and Bioelectronics Elsevier 2006.
83. Laure Ménétrier, Fridolin Okkels, Charles N. Baroud, Jean-Baptiste Salmon and Patrick Tabeling **"Using microfluidics to investigate reaction-diffusion phenomena in simple flows"** Microfluidique, MEMS et Nanostructures- ESPCI, 10 rue Vauquelin, 75005 Paris, France- LADHYX, Ecole Polytechnique, Palaiseau, France.
84. Laurell Thomas, Petersson Filip **"Chip integrated strategies for acoustic separation and manipulation of cells and particles"** Chemical society Reviews 2007, 36, 492-506.
85. Lenshof Andreas, Asilah Ahmad-Tajudin, Järås Kerstin, Swärd-Nilsson Ann-Margret, Aberg Lena, György Marko-Varga, Malm Johan, Lilja Hans, Laurell Thomas **"Acoustic Whole Blood Plasmapheresis Chip for Prostate Specific Antigen Microarray Diagnostics"** Analytical Chemistry 07/2009; DOI: 10.1021/ac9013572
86. Lenshof A, Laurell Thomas **"Emerging clinical applications of microchip-based acoustophoresis"** J Lab Autom 2011 Dec; 16(6):443-9.
87. Lenshof Andreas, Laurell Thomas **"Continuous separation of cells and particles in microfluidic systems"** Chemical Society Reviews, 2010, 39, 1203-1217.
88. Lilliehorn Tobias **"Piezoactuators for microfluidics towards dynamic arraying"** The Dean of the Faculty of Science and Technology December 2003 Uppsala Sweden University library ISBN 91-554-5810-6.
89. Lipkens Bart, Costolo Michael, Rietman Edward **"The effect of frecuency sweeping and fluid flow on particle trajectories in ultrasonic standing waves"** IEEE Sensors Journal Vol. 8, No, 6, Junio 2008.
90. Lipkens B., Dionne J., Costolo M., Rietman E. **"Frecuency sweeping and fluid flow effects on particle trajectories in ultrasonic standing waves"** Euronise Acoustic Paris June 29 – July 4, 2008.
91. Ma R., Schliesser A., Del'Haye P., Dabirian A. **"Radiation pressure driven vibrational modes in ultra-high-Q silica microspheres"** Max Planck Independent Junior Research Group grand and Marie Curie International Reintegration 2007.

92. Manneberg Otto, Hagsäter S. Melker, Svennebring Jessica, Hertz Hans M., Kutter Jörg, Bruus Henrik, Wiklund Martin **"Spatial confinement of ultrasonic forced fields in microfluidic channel"** Article in press Journal Ultrasonic 2008.
93. Martin Z.Bazant, Todd M. Squires **"Induced-Charge Electrokinetic Phenomena: Theory and Microfluidic Applications"** Physical Review Letters 13 February vol. 92, N^o 6 2004.
94. Markham Jordan J. **"Mechanisms of Sound Absorption in Fluids"** The Journal of the Acoustical Society of America -- September 1950 -- Volume 22, Issue 5, p. 684
95. Martijn Frijlink **"Harmonic Intravascular Ultrasound"** Cover design by XD designers, Delft september 2006 ISBN-13: 978-90-9020916-6 support by the Netherlands Heart Foundation and the Interuniversity Cardiology Institute of the Netherlands (ICIN).
96. Meinhart Carl D., Steve T. Wereley and Juan G. Santiago **"A PIV Algorithm for Estimating Time-Averaged Velocity Fields"** Journal of Fluids Engineering 2000 June 2000, Vol. 122 285-289.
97. Michal Pribyl, Dalimil Snita, Milos Marek **"Nonlinear phenomena and qualitative evaluation of risk of clogging in a capillary microreactor under imposed electric field"** Chemical Engineering Journal 105 (2005) 99–109.
98. "Microsystems Framework Program 2004 – 2009". Federal Ministry of Education and Research (BMBF) Publications and Website Division 11055 Bonn, Berlin 2005.
99. Miles MacMeccan Robert **"Mechanistic Effects of Erythrocytes on Platelet Deposition in Coronary Thrombosis"** Tesis Doctor of Philosophy in Mechanical Engineering Georgia Institute of Technology December, 2007.
100. Motamed Mohammad **"Topics in Analysis and Computation of Linear Wave Propagation"** Doctoral Thesis in Numerical Analysis Stockholm, Sweden 20 maj 2008 ISBN 978-91-7178-961-7
101. Muhammet Kursad Araz, Chung-Hoon Lee y Amit Lal **"Ultrasonic separation in microfluidic capillaries"** IEEE Ultrasonics symposium (0-7803-7922-5/03) 1066 2003.
102. Muhammet Kürşad Araz, Chung-Hoon Lee, Amit Lal **"Finite Element Modeling of Ultrasonic Separation at the Microscale"** 2004 IEEE International Ultrasonics, Ferroelectrics, and Frequency Control Joint 50th Anniversary Conference.
103. Myung-Suk Chun **"Electrokinetic Flow Velocity in Charged Slit-like Microfluidic Channels with Linearized Poisson-Boltzmann Field"** Complex Fluids and Membrane Team, Korea Institute of Science and Technology (KIST), J. Chem. Eng. Vol. 19, N^o 5, 25 June 2002.
104. Newton Michael I., Roach Paul, McHale Glen **"ST quartz acoustic wave sensors with sectional guiding layer"** Sensor 2008, 8, 4384-4391.
105. Nilsson Andreas, Petersson Filip, Jönsson Henrik, Laurell Thomas **"Acoustic control of suspended particles in micro fluidic chips"** Lab on Chip 2004, 4, 131-135.
106. Pankhurst Q. A., Connolly J., Jones S. K., Dobson J. **"Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine"** Journal of Physics D: Applied Physics 36 (2003) R167-R168.
107. Parker Thomas E., Montress Gary K. **"Precision surface acoustic wave (saw) oscillators"** IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics, and frequency control Vol 35. No 3. MAY 1988.

108. Petersson Filip, Nilsson Andreas, Holm Cecilia, Jönsson Henrik y Laurell Thomas ***“Separation of lipids from blood utilizing ultrasonic standing waves in microfluidic channels”*** Analyst Vol. 129, 2004 938 – 943.
109. Petersson Filip, Nilsson Andreas, Holm Cecilia, Jönsson Henrik y Laurell Thomas ***“Continuous separation of lipid particles from erythrocytes by means of laminar flow and acoustic standing wave forces”*** Lab Chip 2005, 5, 20-22.
110. Petersson Filip ***“On acoustic particle and cell manipulation in microfluidic systems”*** Doctoral Thesis University Lund Department of electrical Measurements, Lund Institute of Technology Sweden 11 Mayo del 2007.
111. Petersson Filip, Åberg Lena, Swärd-Nilsson Ann-Margret y Laurell Thomas ***“Free Flow Acoustophoresis: Microfluidic-Based Mode of Particle and Cell Separation”*** Anal. Chem, Vol. 79, N^o 14, 15 Julio 2007, 5117-5123.
112. Qi Quan, Brerenton Giles J. ***“Mechanisms of removal of micrón sized particles by high frequency ultrasonic waves”*** IEEE Transactions on Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control Vol. 42, No. 4, Julio 1995, 619-629.
113. Ramis Soriano Jaime; Alba Fernández Jesús, Peyró Navarrete David ***“Ultrans1_0: software para el diseño de transductores Ultrasónicos”*** PACS: 43.35.C TecniAcustica Terrassa 2005.
114. Ranz Guerra C. y Cobo Parra P. ***“Levantamiento del campo acústico de una fuente sonora Subacuática en el tanque hidroacústico del instituto de Acústica”*** Tecni-Acustica Madrid 2000.
115. Rathgeber A., Strobl C., Kutschera H. J., y Wixforth A. ***“Planar microfluidics - liquid handling without walls”*** Center for NanoScience (CeNS), University of Munich, D-80539 Munich, Germany.
116. Rice Richard G., Do Duong D. ***“Applied mathematics and modeling for chemical engineers”*** Ed. Jonh Wiley & Sons Inc. 1995. ISBN 0-471-30377-1.
117. Riley K. F., Hobson M. P., Bence S. J. ***“Mathematical methods for physics and engineering”*** Third Edition Cambridge University Press 2006.
118. Rodríguez Corral Germán; Campos Pozuelo Cleofé; Acosta Aparicio Victor M.; Vázquez Martínez Fernando; Gallego Juárez Juan A. ***“Desarrollo de sistemas acústicos para tratamiento de fluidos. Escalamiento de prototipos de laboratorio a sistema industrial”*** PACS: 43.25.Cb TecniAcustica Madrid 2000.
119. Rosas Hirache Manuel D. ***“Transporte de calor y cantidad de movimiento”*** D. R. 1ra. Edición, Diciembre 2005.
120. Rose Moth Sofie Sabine, Refsgaard Lawaetz Julie ***“Theoretical acousto-fluidics in microsystems”*** Bachelor Thesis MIC Department of Micro and Nanotechnology Technical University of Denmark 19 Junio 2007.
121. Saito Yoshihiro ***“Miniaturization of separation systems and its applications”*** Chromatography Vol 24 No 1 2003.
122. Sarro P. M., Van Herwaarden A. W., Van der Vlist W. ***“A silicon-silicon nitride membrane fabrication process for smart termal sensors”*** Sensors and Actuators A, 41-42 (1994) 666-671.

123. Schladitz K., Peters S., Reinel-Bitzer D., Wiegmann A., Ohser J. ***“Design of acoustic trim based on geometric modeling and flow simulation for non-woven”*** Fraunhofer-Institut für Techno-und Wirtschaftsmathematik ITWM 2005. ISSN 1434-9973. Bericht 72 (2005).
124. Seshadri Madhumathi and Sivasubramaniam Lakshmi ***“Biomolecular Devices and Analysis-Nanoscale Optofluidic Devices for Biomolecular Analysis”*** Vellore Institute of Technology, Vellore-632 014, India 2002.
125. Siegel R.W., E. Hu, M.C. Roco WTEC ***“Nanostructure Science and Technology A Worldwide Study”*** National Science and Technology Council (NSTC) Committee on Technology, Edited Loyola College in Maryland September 1999.
126. Silva Glauber T. ***“Dynamic radiation forcé of acoustic wave son solid elastic spheres”*** Centro de Pesquisa em Matemática Computacional Universidade Federal de Alagoas, Maceió; Al, Brasil Julio 2006.
127. Skaftø Pedersen Peder ***“Acoustic forces on particles and liquids in microfluidic systems”*** Master Thesis MIC Department of Micro and Nanotechnology Technical University of Denmark 31 de Enero 2008.
128. Splenger J. F., Coakley W. T., Christensen K. T: ***“Microstreaming effects on particle concentration in an ultrasonic standing wave”*** AICHE journal November 2003, Vol. 49 No. 11, 2773-2782.
129. Starodubtseva M., Chizhik S., Yegorenkov N., Nikitina I., Drozd E. ***“Study of the mechanical properties of single cells as biocomposites by atomic force microscopy”*** Chair of Medical and Biological Physics, Gomel State Medical University, Microscopy: Science, Technology, Applications and Education 2010.
130. Sumita Pennathur and Juan G. Santiago ***“Electrokinetic Transport in Nanochannels Theory”*** Analytical Chemistry August 19, 2005.
131. Sundin Melker, Glasdam Jensen Thomas, Bruus Henrik y Kutter Jörg P. ***“Microfluidic structures under piezoactuation”*** The 10th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS 2006) Noviembre 5-9, 2006, Tokyo, Japan Society for Chemistry and Micro-Nano Systems 2006.
132. Sundin Melker, Glasdam Jensen Thomas, Bruus Henrik y Kutter Jörg P. ***“Acoustics resonances in microfluidic chips: full image micro PIV experiments and numerical simulations”*** MIC Department of Micro and Nanotechnology, Technical University of Denmark 30 Marzo 2007.
133. Takahi Hasegawa, Tohru Kido, Takeshi Iizuka, Chirhiro Matsuoka ***“A general theory of Rayleigh and Langevin radiation pressures”*** Journal Acoustic Soc. Jpn. (E) 21, 3(2000).
134. Takahashi K., Hattori A., Suzuki I., T. Ichiki and Yasuda K., ***“Non-destructive on-chip cell sorting system with real-time microscopic image processing”*** J. Nanobiotechnology, 2004, 2, 5.
135. Takashi Masudo, Tetsuo Okada ***“Ultrasonic radiation- novel principle for microparticles separation”*** Analytical Sciences 2001, Vol. 17 Supplement 2001. The Japan Society for Analytical Chemistry.
136. Takahashi Mikito, Hasegawa Hideyuki, Kanai Hiroshi ***“Ultrasonic measurement of displacement inside object caused by dual acoustic radiation force”*** 8th Senday Symposium on Ultrasonic Tissue Characterization 200...
137. Takahi Hasegawa, Katuya Yosioka ***“Acoustic radiation Force on a solid elastic sphere”*** The Journal of the Acoustical Society of América Mayo 1969, 1139-1143.

138. Tamaki E., Y. Morita, A. Hibara, H. B. Kim, M. Tokeshi, T. Ooi, M. Nakao and T. Kitamori **"Nano chemical reactor"** 7th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysts Systems, Squaw Valley, California-USA October 5-9, 2003.
139. Tamer M. Said, Sonja Grunewald, Uwe Paasch, Manja Rasch, Ashok Agarwal, Hans-Juergen Glander **"Effects of magnetics-activated cell sorting on sperm motility and cryosurvival rates"** American Society for Reproductive Medicine, Fertility and Sterility Vol. 83 N^o 5 Mayo 2005.
140. Tamer M. Said, Sonja Grunewald, Uwe Paasch, Manja Rasch, Ashok Agarwal, Hans-Juergen Glander **"Evaluation of sperm recovery following annexin V magnetics-activated cell sorting separation"** American Society for Reproductive Medicine, Fertility and Sterility Vol. 13 N^o 3 pp 336-339, enero 2006.
141. Tan Ming K., Friend James R. y Yeo Leslie Y. **"Microparticle collection and concentration via a miniature surface acoustic wave device"** Lab on a Chip 2007, 7, 618 - 625, DOI: 10.1039/b618044b.
142. Townsend R.J., Hill M., Harris N.R., White N.M. **"Modelling of particle paths passing through an ultrasonic standing wave"** Ultrasonics 42 (2004) 319–324.
143. Townsend Rosemary June **"Modelling of a microfluidics ultrasonic particle separator"** tesis of degree of Doctor of Philosophy University of Southampton, School of engineering Sciences, Febrero 2006.
144. Vann Brasher, Finlayson Bruce **"Characterizing Mixing in Lithographed Flow Device"** Report June 4, 2007. Spring 2008.
145. Van Delinder Virginia, Groisman Alex **"Perfusion in Microfluidic Cross-Flow: Separation of White Blood Cells from Whole Blood and Exchange of Medium in a Continuous Flow"** Anal. Chem., 2007, 79 (5), pp 2023–2030.
146. Van der Wouden E.J., Heuser T., Hermes D.C., Oosterbroek R.E., Gardeniers J.G.E., Van den Berg A. **"Field-effect control of electro-osmotic flow in microfluidic networks"** Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 267 (2005) 110–116.
147. Van Male P., M.H.J.M. de Croon, Tiggelaar R.M., Van den Berg A., Schouten J.C. **"Heat and mass transfer in a square microchannel with asymmetric heating"** International Journal of Heat and Mass Transfer 47 (2004) 87–99.
148. Vargas Watson L., Pineda Lyda M. y Riaño Carlos A. **"Sedimentación de una esfera en un cilindro vertical con paredes de radio variable"** Ciencia e Ingeniería Neogranadina No 15 128-137 Noviembre 2005.
149. Versteeg H. K., Malalasekera W. **"An introduction to computational fluid dynamics the finite volumen method"** Second Edition Ed. Pearson Educational Limited 2007.
150. Victor Okhonin, Xin Liu, and Sergey N. Krylov **"Transverse Diffusion of Laminar Flow Profiles To Produce Capillary Nanoreactors"** Canadá Anal. Chem. Vol. 77, No. 18, September 15, 2005, 5925-5929.
151. Vijay Srinivasan, Vamsee K. Pamula, Richard B. Fair **"Droplet-based microfluidic lab-on-a-chip for glucose detection"** Analytica Chimica Acta 507 (2004) 145–150.
152. Vilkner T., Janasek D. and Manz A., **"Micro total analysis systems recent developments"** Anal. Chem., 2004, 76, 3373-3386.
153. Wang Xiaobo, Wu Lei, Cheng Jing, Yang Weiping, Xu Junquan **"Methods for manipulating moieties in microfluidic systems"** United States Patent US 7, 081,192 B1 Date of Patent: Jul. 25,2006.

154. Wiklund M., Toivonen J., Tirri M., Hänninen P., Hertz H. M. ***“Ultrasonic enrichment of microspheres for ultrasensitive biomedical analysis in confocal laser-scanning fluorescence detection”*** Journal of applied physics volume 96, number 2 15 July 2004.
155. Wiklund Martin ***“Ultrasonic enrichment of microparticles in bioaffinity assays”*** Doctoral Thesis Department of Physics Royal Institute of Technology Stockholm, Sweden 2004.
156. Wintrobe Maxwell M. ***“Blood pure and eloquent”*** Ed. Mc Graw Hill Inc, USA February 1983
157. Wouter van der Wijngaart ***“Designing Microfluidic Control Components”*** Thesis degree of Doctor of Philosophy Royal Institute of Technology (KTH), Stockholm, Sweden ISSN 0281-2878- Stockholm 2002.
158. Young-Sup Lee, Dong-Jin Yoon, Jaehwa Kwon and Dae-Cheol Seo ***“Smart Separation Devices for Particle Concentration in Water using Ultrasonic Standing Wave”*** IEEE Ultrasonics Symposium (20005) 7803-9383.
159. Zhao Hong, Sadhal S. S. ***“Singular perturbation analysis of an acoustically levitated sphere: flow about the velocity node”*** Journal Acoustical Society of America 106 (2), August 1999.
160. Zhao Shukui, Borden Mark, Bloch Susannab H., Kruse Dustin, Ferrara Katherine W., Dayton Paul A. ***“Radiation forcé assisted targeting facilitates ultrasonic molecular imaging”*** Molecular Imaging Vol. 3, No. 3 Julio 2004, 135-148.
161. Zieziulewicz Thomas, Sturm James, Lawrence David, Inglis David, Davis John, Austin Robert ***“Determining blood cell size using microfluidic Hydrodynamics”*** DARPA/ONR (W911NF-05-1-0392, N00014-04-1-0776, MDA972-1200-1-0031), NSF Nanobiology Technology Center (BSCCECS9876771) and the State of New Jersey (NJCST 99-100-082-2042-007) 24 April 2007.
162. Zhang Yonghao, Barber Robert W. y Emerson David R. ***“Particle Separation in Microfluidic Devices SPLITT Fractionation and Microfluidics”*** Current Analytical Chemistry, 2005, 1, 345-354 Bentham Science Publishers Ltd.
163. Bijlani R.L., M.D., Bijlani RL MD SM DSc (Hon Causa) FAMS, Manjunatha S., M.D. ***“Understanding Medical Physiology: A Textbook for Medical Students”*** 4 Ed. Editorial JP Medical Ltd., 2010.
164. Boron Walter F., Boulpaep Emile L. ***“Medical Physiology”*** Editorial Elsevier Health Sciences 2008.
165. Faller Adolf, Schuenke Michael ***“The Human Body: An Introduction to Structure and Function”*** Editorial Thieme 2004.
166. Khurana ***“Textbook Of Medical Physiology”*** Editorial Elsevier India 2005.
167. Klabunde Richard ***“Cardiovascular Physiology Concepts”*** 2Ed. Editorial Lippincott Williams & Wilkins 2011.
168. Joel Michael, Sabyasachi Sircar ***“Fundamentals of Medical Physiology”*** Editorial Thieme, 2010.
169. Rhoades Rodney A., Bell David R. ***“Medical Physiology: Principles for Clinical Medicine”*** 4Ed. Editorial Lippincott Williams & Wilkins, 2012.
170. Sandha H.S. ***“Textbook of Physiology”*** Editorial B. Jain Publishers, 2004.
171. Seifter Julian , Ratner Austin , Sloane David ***“Concepts in Medical Physiology”*** Editorial Lippincott Williams & Wilkins, 2005.

172. Silbernagl Stefan, Despopoulos Agamemnon **"Color Atlas of Physiology"** 6 Ed. Editorial Thieme 2009.
173. Aguilar C. A., F. J., Gómez **"Lipoproteínas y aterogénesis Metabolismo normal de las lipoproteínas"**, *Revista del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán*, vol. I, núm. 2, 1989.
174. Assmann G. *et al*, **"HDL and Atherosclerosis: Biochemical Concepts and Clinical Implications. Lipid Disorders in Diabetes. Abstracts"**, en *Satellite Symposium to Triglycerides. The Role in Diabetes and Atherosclerosis*, Viena, 1990.
175. Blanco Antonio **"Química Biológica"** Séptima edición, editorial El Ateneo Argentina 2000.
176. Cook R. P., **"Cholesterol. Chemistry, Biochemistry and Pathology"**, Nueva York: Academic Press, 1958.
177. Goldstein J. L. y M. S. Brown, **"Regulation of Genes that Control Cholesterol"** Abstracts en *13th Meeting of the International Society of Hypertension*, Montreal, 1990.
178. Murray Robert K., Mayes Peter A., Granner Daryl K., **"Bioquímica"** Decimocuarta edición. Editorial Manual Moderno. México D.F. 1997.
179. Mora Samia, Szklo Moyses, Otvos James D., Greenland Philip, Psaty Bruce M., Goff David, O'Leary Daniel H., Saad Mohammed F., Tsai Michael, Sharrett A. Richey **"LDL particle subclasses, LDL particle size, and carotid atherosclerosis in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis "** *Atherosclerosis* 192 (2007) 211–217
180. Murray Robert K., Mayes Peter A., Granner Daryl K., **"Bioquímica"** Decimocuarta edición. Editorial Manual Moderno. México D.F. 1997.
181. Pyörälä K., **"Dietary Cholesterol in Relation to Plasma Cholesterol and Coronary Heart Disease"**, *Am. J. Clin. Nutr.*, 45: 1176-1184, 1987.
182. Sott M. G., **"Monounsaturated Fatty Acids, Plasma Cholesterol, and Coronary Heart Disease"**, *Am J. Clin. Nutr.*, 1168-1175, 1987.
183. Thelle D. S., **"Hypercholesterolemia, Hypertriglyceridemia and High Blood Pressure; are this Factors Independents? Abstracts"**, en *13th Scientific Meeting of the International Society of Hypertension*, Montreal, 1990.
184. Amasia Mary, Madou Marc **"Large-volume centrifugal microfluidic device for blood plasma separation"** *Bioanalysis* (2010) 2(10), 1701–1710
185. Augustsson P., Magnusson C., Grenvall C., Lilja H., Laurell T. **"Extraction of circulating tumor cells from blood using acoustophoresis"** 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences 3 - 7 October 2010,
186. Cheng I-Fang, Froude Victoria E., Zhu Yingxi, Chang Hsueh-Chia, Chang Hsien-Chang **"A continuous high-throughput bioparticle sorter based on 3D traveling-wave Dielectrophoresis"** *Lab Chip*, 2009, 9, 3193–3201
187. Iliescu Ciprian, Xu Guolin, Barbarini Elena, Avram Marioara, Iliescu Florina S. **"Paramagnetic microchip for high-gradient separation of blood cell"** *Micro- and Nanotechnology: Materials, Processes, Packaging, and Systems IV* Vol. 7269 726907-1 2008.
188. Homsy Alexandra, van der Wal Peter D., Doll Werner, Schaller Roland, Korsatko Stefan, Ratzer Maria, Ellmerer Martin, Pieber Thomas R., Nicol Andreas, Rooij Nico F. **"Development and validation of a low**

- cost blood filtration element separating plasma from undiluted whole blood**" *Biomicrofluidics* 6, 012804 (2012).
189. Inglis David, Riehn Robert, Sturm James, Austin Robert H. **"Microfluidic high gradient magnetic cell separation"** *Journal of applied physics* **99**, 08-2006.
190. Inglis David W., Davis John A., Zieziulewicz Thomas J., Lawrence David A., Austin Robert H., Sturm James C. **"Determining blood cell size using microfluidic hydrodynamics"** *Journal of Immunological Methods* 329 (2008)
191. Piacentini Niccolo, Mernier Guillaume, Tornay Raphael I, Renaud Philippe **"Separation of platelets from other blood cells in continuous-flow by dielectrophoresis field flow fractionation"** *Biomicrofluidics* 5, 034122 (2011).
192. Pommer Matthew S., Zhang Yanting, Keerthi Nawarathna, Chen Dong, Thomson James A., Meinhart Carl D., Soh Hyongsok T. **"Dielectrophoretic separation of platelets from diluted whole blood in microfluidic channels"** *Electrophoresis* 2008, 29, 1213–1218
193. Seo H.K., Kim H.O., Kim Y.J. **"Hydrodynamics and magnetophoresis based hybrid blood Cell sorter for high throughput separation"** Korea Seoul Research and Business Development Program 2009.
194. Maxine M. Benjamin **"Manual de patología clínica en veterinaria"** Editorial Limusa, 1984
195. Heyl James, Gibson John, Janeway Charles **"Studies on the plasma proteins v. the effect of concentrated solutions of human and bovine serumalbumin on blood volume after acute blood loss in man"** Department of Medicine, Harvard Medical School, Boston August 19, 1942.
196. Radostits O., Gay C. **"Enfermedades del sistema musculosquelético en medicina veterinaria, tratado de las enfermedades del Ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino"** 9 ed. Vol. 1 Editorial Mc. Graw Hill Interamericana España 2002.
197. Robert William., Kim Benedict, Rosenberry Terrone **"Differences in the glycolipid membrane anchors of bovine and human erythrocyte acetylcholinesterases"** *Biochemistry* Vol. 84, pp. 7817-7821, November 1987.
198. Vives Corrons Joan Lluís, Aguilar Bascompte Josep Lluís **"Manual de técnicas de laboratorio en hematología"** 3 Edición Editorial Elsevier España, 2006.
199. Alfonso Valdés Yalile, Bencomo Hernández Antonio **"Procedimientos para la detección e identificación de anticuerpos eritrocitarios"** *Rev. Cubana Hematología Inmunológica Hemoter.* 17(): 98-107 2001.
200. Bauchart, D. **"Lipid absorption and transport in ruminants"** *J. Dairy Sci.*, 1993, vol. 76, p. 3864-3881.
201. Bracho Mariela N., Márquez Salas Enrique, Arias de Muñoz Beatriz **"Estudio comparativo del contenido de aminoácidos esenciales en sangre de bovino y cerdo"** *Revista Científica, CV-LUZ /Vol. XI, N"*, 133-138, 2001.
202. Colby, R. W., Ware, J. H., Backer, J. P., Lyman, C. M. **"The Relationship of Various Blood Constituents to Rate of Gain in Beef Cattle"** *J. Anim. Sci.* 9, 652 (1950).
203. Crispin SM., Bolton Ch., **"Plasma lipid and lipoprotein profile of workings and pet border collies"** *Vet. Rec.* 130: 185-816, 1992.

204. Di Michele de Rosa, Silvana; Otaiza V., Edgar, Valeri S., Humberto **“Valores hematológicos y de la química sanguínea en bovinos de los estados Carabobo y Guarico III Proteínas séricas, nitrógeno ureico y creatinina”** *Agronomía Tropical*. 28(3): 233-248 1978.
205. Feola M, Simini J, Angelilloo R. **“Clinical trial of a hemoglobin based blood substitute in patients with sickle cell anemia”** *Surg Gynec Obstet* 174:379-86 1992.
206. Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M, **“Blood transfusion in clinical Medicine”** 10th ed. London: Blackwell Science LTD. 1997.
207. Pocock, Gillian; Richards, Christopher D. **“El riñón y la regulación del medio interno Fisiología humana: La base de la Medicina”** Editorial Elsevier España 2005.
208. Rajkumar SV. **“Plasma cell disorders”** Editorial *Cecil Medicine* 24th ed. Philadelphia Elsevier; 2011.
209. Theodor Caminhas Maria, Bortolozzi Jehud, Chamma Oslei, Curi Paulo **“Grupos sanguíneos de bovinos”** *Pesq. Agropec. Brasilia, Brasilia* 27 (8): 1195-1299 1992.
210. Tybor, P., Dill, C.; Landmann, W. **“Functional properties of proteins isolated from bovine blood by a continuous pilot process”** *Journal Food Science* 40: 155-159. 1975.
211. Vallejo M., Zaragoza I., Lasierra J., Monge E., Lamuela J. **“Grupos sanguíneos en razas vacunas españolas 1.- Rubia gallega y Pirenaica”** Facultad de Veterinaria de Zaragoza Septiembre 1976.
212. Wattiaux Michel A., Grummer Ric R. **“Metabolismo de lípidos en las vacas lecheras”** *Instituto Babcock -Universidad de Wisconsin-Madison*.
213. Boffard Kenneth D. **“Manejo Quirúrgico Del Paciente Politraumatizado”** 2 Edición Ed. Médica Panamericana 2009.
214. Swi Chang Thomas Ming **“Artificial Cells: Biotechnology, Nanomedicine, Regenerative Medicine, Blood Substitutes, Bioencapsulation, and Cell/Stem Cell Therapy”** Editor World Scientific 2007.
215. Fischer Josef E. **“Nutrition and metabolism in the surgical patient”** 2 Edición Universidad de Michigan Little, Brown 1996.
216. Springhouse Corporation **“Nursing procedures”** Universidad de Michigan Springhouse Corp., 1992
217. Winslow Robert M. **“Blood Substitutes”** Editorial Academic Press, 2006.
218. Crosch, B. **“Química de los Alimentos”** 2da Edición. Editorial Acribia Zaragoza España 1997.
219. Ramírez López Gladys **“Estudio de la leche”** Universidad de Antioquia, Facultad de química farmacéutica 2008.
220. Pacheco de Delahaye, Rojas A., Salinas N. **“Caracterización físico-química de cremas de leche”** *Revista de la Facultad de Agronomía* v.25 n.2 Caracas jun. 2008.
221. Mollison P. L. **“Transfusión de sangre en medicina clínica”** Editorial Reverte 1987.
222. Paredes Aspilcueta Miguel **“Manual de hemoterapia”** Ministerio de salud-Perú mayo 2008.
223. Salazar Mauricio **“Guías para la transfusión de sangre y sus componentes”** *Revista Panamericana de Salud Publica* vol.13 no.2-3 Washington Feb/Mar 2003.

Sensat Corp. http://www.sensant.com/co_corp.html
Thermasonic: <http://www.sonotech-inc.com/pi00033.cfm>
Aquasonic: <http://www.trimed.com/ult/parker/Aqua100.htm>
Ultrasonic instruments: <http://www.matec.com/instruments.htm>
Sonatech: <http://www.sonatech.com/>
Tokin: <http://www.tokin.com/catalog.html>
GE Medical systems: <http://www.gemedicalsystems.com/rad/us/index.html>
http://www.chemsoc.org/exemplarchem/entries/2004/bristol_eaimkhong/sonochemistry.htm
<http://www.miltenyibiotec.com/>
<http://www.dynalbiotech.com/>
<http://www.asiabiotech.com>
<http://www.nanovip.com>
<http://www.nano.org.uk>