

# MICROFLUIDOS: NUEVAS FRONTERAS

D. FERNÁNDEZ RIVAS

Departamento de Ingeniería Nuclear, Facultad de Ciencias y Tecnología Nuclear, Instituto Superior de Tecnología y Ciencias Aplicadas InSTEC. Cuba. d.fernandezrivas@utwente.nl

La Microfluídica ha abierto nuevas fronteras en cuanto a las posibilidades de control y aplicaciones en las pequeñas dimensiones que comprende. Aquí se relacionan diversas aplicaciones y dispositivos que se han empleado hasta la fecha, haciendo hincapié en aquellas que pudieran ser de interés para la ciencia en Cuba, o sea, las relacionadas con las Ciencias de la Vida, como la medicina, la biotecnología y la genómica, entre otras.

Microfluidics has opened new frontiers due to the control abilities and new applications at minute dimensions. This work is dedicated mainly to highlight several applications and devices used up to date. The focus is set on those applications of probable interest to Cuba, which means, those related with Life Sciences; Medicine, Biotechnology, Genomics, etc.

**Palabras Clave.** Mecánica de Fluidos Aplicada 47.85.-g, Sistemas Microelectromecánicos (MEMS) en fluidos 47.61.Fg

## INTRODUCCIÓN

La microfluídica es una actividad de reciente aparición y sus características fundamentales son el empleo y control de pequeños volúmenes (líquidos o gaseosos) y la multidisciplinaria complejidad de los principios físicos y los dispositivos empleados.[1] Cuenta con abundantes financiadores, como las industrias farmacéuticas y las transnacionales de la actividad química.

La multidisciplinaria se demuestra en algunas de las actividades relacionadas:

- Microfabricación
- Química, Biología, Física, Ciencia de materiales en la microescala
- Mecánica, Modelos numéricos, Sistemas de control
- Integración de sistemas y empaque, Ingeniería de confiabilidad (reliability).

La charla impartida por Feynman en 1959[2] fue seminal en lo tocante a la micro- y nanoescala. Posteriormente, en 1983, anticipó muchos de los dispositivos de los Sistemas Micro-Electro-Mecánicos (Micro Electro Mechanical Systems, MEMS, por sus siglas en inglés), la actuación electrostática y el rol de la fricción y adherencia.[3]

El desarrollo de los dispositivos microfluídicos se aceleró luego de publicarse el trabajo de Manz,[4] quien presentó el concepto revolucionario de Micro Sistemas de Análisis Total (Micro Total Analysis Systems, TAS). El mismo persigue realizar en un dispositivo, toda una serie de análisis consecutivos que se complementan (para más detalles vea[1]). La posibilidad de integrar varios canales fluidicos en un mismo dispositivo permitió la integración de análisis diversos. El concepto Laboratorio-en-un-chip (Lab-on-a-chip) parece ser una extensión del TAS y plantea la integración en un solo dispositivo de los componentes necesarios para realizar la síntesis química de compuestos, o bien el análisis (caracterización,

identificación y separación) y otras reacciones complejas, pero con la menor cantidad posible de sustancias.[5,6]

Se ve a la microfluídica como interfaz entre la nanoescala y la macroescala: la mesoescala. El término mesoescala (en la química y física) ha emergido como aquella en la cual se puede hablar de propiedades de materiales o fenómenos sin discutir el comportamiento de átomos individuales pero con características singulares cuando se compara con los fenómenos conocidos tradicionalmente. Los fenómenos en la mesoescala controlan las propiedades y comportamiento de diferentes materiales, como puede ser materia suave condensada-soft condensed matter, fluidos de surfactantes, coloides, polímeros, sistemas biológicos como proteínas, ADN y otros.[7-9]

Si bien la situación de la Microfluídica en Cuba es apenas embrionaria, se cree que podría beneficiar a varias ramas de la ciencia cubana, principalmente a la medicina y la biotecnología. Este artículo pretende ilustrar y relacionar algunos trabajos de posible interés para científicos cubanos que podrían emplear la Microfluídica en sus actividades como pudiera ser el caso del Centro de Inmunoensayos (CIE), Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales (IMRE), Centro de Investigaciones de Microelectrónica CIMECUJAE y el Instituto Central de Investigación Digital ICID, por solo mencionar algunos.

## PRECEDENTES Y SITUACIÓN ACTUAL

Durante la década de 1980, el avance fundamental en los microfluidos fue en lo tocante al desarrollo de microválvulas, microsensores y microbombas. Luego los campos de aplicación de los microfluidos han sido las ciencias de la vida y la química (MEMS-fluidic, Bio-MEMS, microfluidics).[4,10] Esta temática ha recibido atención debido a:

- La disponibilidad de métodos de fabricación de dispositivos de escalas inferiores a la decena de micrómetros.[11-13]
- El desarrollo en la biología y la biotecnología que permiten la manipulación celular, la detección de pequeñas cantidades de sustancia y el control de volúmenes ínfimos (menores que los microlitos).[14,15]
- La demanda de dispositivos portátiles y baratos para tareas analíticas (kits de detección de enfermedades o concentración de sustancias en fluidos corporales).[6,16]
- El potencial de los microsistemas para la realización de estudios fundamentales de física, química y biología.[8]

*Algunos dispositivos, fenómenos peculiares y aspectos de la microfabricación.* En la actualidad se usa cotidianamente equipamiento que contiene dispositivos de microfluidos. Pongámonos por ejemplo el uso de sensores de bolsas de aire (airbags) en los automóviles que funcionan como acelerómetros y recientemente la incorporación de sensores de movimiento en teléfonos móviles.[17]

Una ventaja de emplear líquidos en la microescala es el efecto de las fuerzas viscosas en ciertas aplicaciones como los sensores T, que consisten en una geometría simple en la que dos canales se combinan a 90° y se pueden realizar múltiples experimentos, mediciones y aplicaciones con relativa sencillez p.ej. mediciones de viscosidad, difusión.[18] Otro dispositivo muy simple (unión de dos sensores T) es el conocido Filtro H, que permite la extracción continua de analitos moleculares de fluidos que contienen partículas que interfieren entre sí (glóbulos rojos, microorganismos, polvo, virus), sin necesidad de utilizar una membrana filtro o componentes desechables. El dispositivo funciona de modo similar al Sensor T en el que la diferencia de coeficientes de difusión de las diferentes moléculas permite separar los componentes.[19,20]

La dificultad existente al intentar controlar ínfimas cantidades de fluidos ha impulsado el desarrollo de métodos novedosos de bombeo. Las microbombas han sido clasificadas de acuerdo al principio de funcionamiento: mecánicas (rotatorias, diafragmas vibrantes y peristálticas); electrocinéticas y magnetocinéticas (electrohidrodinámicas, electroosmóticas y magnetohidrodinámicas); cambio de fase (bombas de burbujas y electroquímicas). Es importante señalar que la gravedad puede ser utilizada también en algunos casos lo cual representa una solución accesible a las condiciones experimentales limitadas de los países en desarrollo, como ha sido demostrado en Cuba.[21]

En el diseño y fabricación de los dispositivos de microfluidos se ha dado mayor importancia a la simplicidad por encima de la complejidad, y otro tanto a la funcionalidad sobre la miniaturización. Estos factores han estado condicionados por los elevados costos de las tecnologías de fabricación, las limitaciones de empleo de diferentes materiales, así como la dificultad de bombeo a tales escalas. Estas limitaciones impulsaron la búsqueda de nuevos materiales y conceptos de utilización de dispositivos lo más simples posibles y que, a la vez, no fueran costosos, ya que en muchos casos deben ser desechados luego

de ser empleados. El principal método de fabricación consiste en el empleo de moldes reutilizables de modo que la replicación de los dispositivos no sea un problema. La interconexión de los dispositivos se logra utilizando monturas especiales que pueden ser utilizadas una y otra vez, y que tienen los sensores y sistemas de conexión debidamente instalados.

Numerosas publicaciones y libros describen los medios de fabricación, pudiéndose resaltar dos estrategias básicas:[22-25]

- De arriba a abajo (Top-down) basada en crear patrones a gran escala y reducir luego las dimensiones laterales
- De abajo a arriba (Bottom-up) basada en organizar átomos y moléculas en nanoestructuras que luego tienen propiedades específicas utilizables en alguna aplicación.

El empleo de la litografía blanda (soft lithography) es una opción para los países en desarrollo. Generalizando, consiste en el empleo de un chip de silicio en el que sobresale el patrón al relieve con las características geométricas deseadas (realizado con técnicas usuales de la microfabricación en salas limpias -cleanrooms) o alternativamente empleando impresoras convencionales y transparencias que permitan transferir el diseño de los microcanales a un substrato dado. Sobre él se vierte una capa de silicón, que al ser curada (cocinada en un horno, o ¡tal vez al sol!) se separa del chip, teniendo en una de sus caras el patrón en negativo. Se perforan agujeros para permitir la conexión de tubos. Luego, esta cara se puede cubrir con vidrio u otro material. Otra interesante posibilidad es el uso de papel convencional para aplicaciones fundamentalmente orientadas a países en desarrollo.<sup>16</sup>

*Aplicaciones, aspectos comerciales y científicos.* Es imposible resumir en pocas páginas todo el potencial de los microfluidos, pero es menester mencionar ciertos trabajos. Habida cuenta del desarrollo alcanzado por nuestro país en la elaboración de vacunas, medicamentos y otros, se da un mayor peso a los conceptos de microreactores,  $\mu$ TAS y Laboratorios-en-un-chip (LOC-del inglés Lab-on-a-chip).

La microfluídica promete ser el segmento más dinámico del impulso que tienen los MEMS como lo demuestra el creciente número de publicaciones que versan sobre los microfluidos (véa Figura 1).

El impacto de los microfluidos en la química analítica ha sido similar al de los circuitos integrados en la electrónica y la computación, ya que se realizan de manera automatizada análisis en paralelo. Los resultados de dichos procedimientos puede ser monitoreados con el uso de computadoras en fracciones de segundos, lo que no se logra con experimentos clásicos en un laboratorio convencional.

El análisis casi instantáneo se logra mediante el empleo de ínfimas cantidades de reactivos, y a la par se reducen costos. Entre las aplicaciones más frecuentes se encuentran: diagnóstico médico, secuenciado genético, producción química, descubrimiento de medicamentos y proteómica. Los sistemas LOC han

sido empleados eficientemente en aplicaciones biomédicas y de monitoreo ambiental, así como para la detección de la presencia de iones en fluidos orgánicos, la identificación forense de explosivos, el seguimiento de contaminantes en el agua y atmósfera, el control de la calidad de alimentos, técnicas analíticas o de preparación tales como separación, marcaje químico y detección y otros procesos de la industria química.[16,20,26–30]

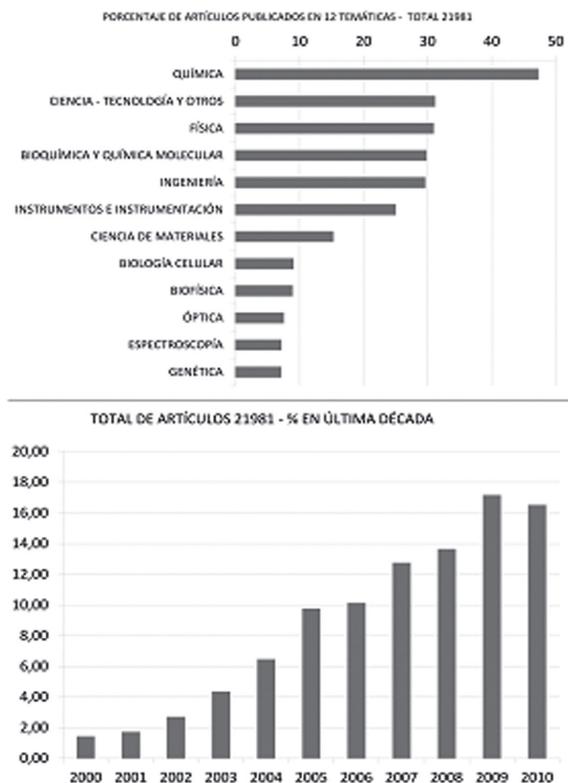


Figura 1: Resultados de búsqueda de artículos publicados en el Web of Science (ISI Web of Knowledge), para un total de 21981 artículos desde 1987

El embalaje y ensamblaje de los dispositivos microfluidicos, así como su interconexión, es tarea difícil, sobre todo cuando se debe tener en cuenta, la biocompatibilidad del dispositivo con las sustancias que fluirán por él y su inserción en el mercado. La durabilidad y posibilidad de reutilizar los dispositivos también es importante. Se prevé un mayor empleo de dispositivos plásticos desechables y de bajo impacto ambiental, debido a sus ventajas económicas y a la garantía de que las muestras no se contaminarán por usos anteriores. Sensores.

**Sensores.** Gran parte del reto que representa la microfluídica ha sido el desarrollo de sensores capaces de registrar las magnitudes sin afectar sustancialmente el flujo o sistema. Es necesario señalar que la energía y momento de estos flujos es muy baja y por tanto la interacción flujo/sensor debe mantenerse lo más baja posible. Si además se requiere medir la variación temporal de una magnitud, aparecen interrogantes sobre el proceso de calibración y significado físico de la magnitud en cuestión. Las técnicas no invasivas, como las ópticas, han tenido los mejores

resultados; tal es el caso de la Velocimetría de Imágenes de Partículas (Particle Image Velocimetry, PIV, por sus siglas en inglés). Sin embargo su empleo está restringido a flujos contenidos en medios transparentes a la luz.[31,32] Otro ejemplo es la microscopía de fluorescencia, en la que se emplea un pulso de láser de alta intensidad para crear fosforescencia química en un pequeño elemento de fluido, y luego se sigue el movimiento visualizando en el microscopio el perfil de velocidad y recientemente mediciones citométricas de células en microcanales.[33,34]

El empleo de microsensors de diferentes tipos se ha generalizado. Hay sensores infrarrojos, otros permiten realizar espectrometría de masa, Raman, fotoacústica; cromatografía líquida y columnas de separación más compactas.[35–40] La resonancia magnética nuclear no ha escapado tampoco al proceso de miniaturización (véa Figuras 2 y 3).[42,43]

**Sentido práctico -escalamiento** Es lógico preguntarse: ¿Es posible lograr aplicaciones prácticas o la factibilidad de producción masiva más allá de la curiosidad científica? El comportamiento en un microcanal puede ser replicado, de manera que distintos microcanales pueden ser conectados y controlados a la vez.[44] De aquí viene la estrategia de escalar la producción de algún producto, no mediante la construcción de dispositivos (reactores) más grandes a semejanza, sino conectando en paralelo múltiples dispositivos (microrreactores) lo que se conoce como numbering up. A modo de ilustración se puede decir que el flujo capilar típico en microrreactores se encuentra entre 0,1  $\mu\text{L/s}$  y 10  $\mu\text{L/s}$  para diámetros en el rango de 100  $\mu\text{m}$  hasta 400  $\mu\text{m}$ . De modo que con 10-100 capilares operando en paralelo en un sustrato de 30 centímetros cuadrados, se pudiera obtener una salida de 0.3-3 toneladas por año.[45] Los microrreactores de flujo continuo han sido de gran utilidad en reacciones químicas de pequeños volúmenes, como la síntesis de cantidades del orden de los nanogramos, para compuestos altamente sensibles.[46,47] Un ejemplo de manipulación de reactivos caros y peligrosos lo es el empleo de un circuito de microfluidos que realiza cinco pasos secuenciales con el objeto de sintetizar una sonda molecular radiomarcada para ser empleada en tomografía por emisión de positrón (Positron Emission Tomography, PET, por sus siglas en inglés), con lo que se logra acelerar el proceso sintético y ahorrar en los reactivos y solventes requeridos.[48] El empleo de los PET ha revolucionado la medicina nuclear en actividades tan importantes como el diagnóstico y tratamiento de enfermedades como el cáncer. En Cuba se han realizado algunos estudios relacionados con generadores de radionúclidos para estas aplicaciones, mediante el empleo de microflujos a través de resinas especiales.[49,50]

**Empleo de flujos multifásicos.** Se entiende que un flujo es multifásico cuando se presentan al menos dos sustancias diferentes o la misma en varios estados de agregación en movimiento. Por ejemplo, sistemas de gotas o burbujas en movimiento. En esta sección se relacionan trabajos de importancia y posible empleo en Cuba dada su simplicidad de fabricación y utilización.

Microfluidos multifásicos pueden ser utilizados de varias maneras: gotas como actuantes para mezclar o inducir flujo,

gotas como microreactores químicos y biológicos, formación de emulsiones con tamaño y distribución controlados, por ejemplo para la generación de agentes de contraste para el análisis de ultrasonido médico. En todos los casos es necesario entender y dominar los procesos de formación, traslación, mezclado interno, coalescencia y ruptura de las gotas/burbujas que fluyen normalmente a bajos números de Reynolds, así como las posibilidades de llevar a cabo reacciones químicas en forma controlada.[51-57]

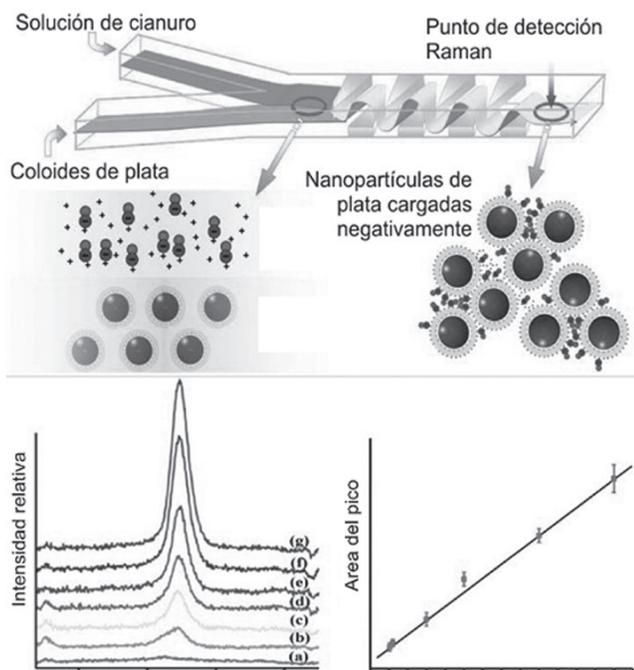


Figura 2: Análisis ultrasensible de trazas de agua contaminada con cianuro, empleando espectrometría Raman de superficie mejorada. Adaptado de [41]

Al trabajar con pequeñas cantidades de reactivos, se minimiza el riesgo de reacciones exotérmicas o explosivas así como el gasto en reactivos si no se logra el resultado esperado. Se pueden estudiar diferentes variantes de una misma reacción en paralelo y encontrar un óptimo de operación en menor tiempo. El mezclado dentro de una gota (sin dispersión axial) puede ser mucho más rápido que en un reactor químico convencional. Las herramientas de modelación numérica han sido muy útiles en estos estudios, así como la comparación con mediciones experimentales y ya en Cuba se han iniciado estudios en este campo.<sup>21,58,59</sup>

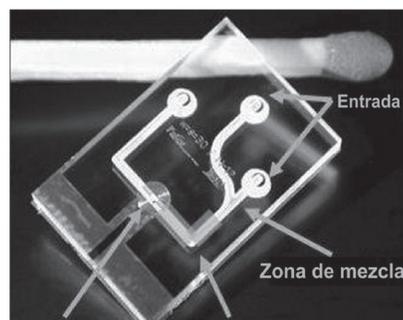


Figura 3: Comparación de un dispositivo para resonancia magnética nuclear y un fósforo. Cortesía J. Bart (vea [42])

En muchos casos hay que controlar la cantidad de sustancia que se va a introducir en un sistema vivo para la liberación controlada del medicamento, o en el caso de compuestos para reacciones químicas complejas o peligrosas y se preparan entonces emulsiones y similares soluciones. El control de la formación de emulsiones o la formación de burbujas muy pequeñas se logra sin grandes complicaciones en sistemas microfluidicos, pues se puede manipular la formación, rotación-traslación y división de las burbujas y gotas. La simple configuración de T (o Y) que se emplea en estos casos ya ha sido utilizada en Cuba.<sup>21</sup> Este sistema se ha usado además para el control de reacciones de síntesis de nanopartículas.[60,61]

Un comportamiento peculiar de sistemas líquido/gas en microescala es que pueden ser empleados para desplazar fluidos sin la necesidad de partes móviles. Irradiando ultrasonido es posible el empleo de la oscilación de burbujas para poner en movimiento el fluido circundante.[62] En este caso, se emplea una combinación de hoyo con un transductor piezoeléctrico oscilante en su fondo, y justo a un lado, una protuberancia rompe la simetría propiciando una dirección preferencial en el flujo (bubble-induced microstreaming = microcorrientes inducidas por burbujas). Este tipo de dispositivo puede ser empleado para romper vesículas, hacer interactuar células con medios específicos, así como para bombear fluido debido al fenómeno de microcorrientes; no requiere gradientes de presión y no hay canales que puedan obstruirse. En la siguiente figura se puede observar un caso de burbujas que tienen un diámetro de 30  $\mu\text{m}$  (delineadas en blanco). Las trayectorias se hacen visibles mediante partículas fluorescentes que se mueven en la dirección indicada por la flecha.

Curiosamente con un sistema experimental similar se pueden lograr microburbujas que al ser expuestas al campo de presiones generado por el transductor pueden realizar reacciones químicas. Resulta que las burbujas al expandirse y colapsar debido al campo de presiones oscilantes funcionan como microreactores individuales en cuyo interior se alcanzan elevadas presiones (más de 1000 bar) y temperaturas (más de 15000 K) sin afectar la temperatura del líquido circundante.[63-65] Por solo mencionar una aplicación, mediante la formación de radicales libres en el interior de las burbujas se puede reducir la concentración de moléculas nocivas disueltas en el líquido y contribuir a su purificación (tratamiento de agua).

*Aplicaciones biomédicas* El uso de dispositivos microfluidicos en la química clínica permite realizar análisis con baja concentración de analitos sin el empleo de grandes volúmenes de reactivos costosos. Esto es conveniente en inmunoensayos, en el estudio de bibliotecas de fármacos para el descubrimiento de nuevas drogas o en el desarrollo de bibliotecas de síntesis de polímeros, o la producción de matrices de gotas orgánicas como reactores o aspectos de la circulación sanguínea.[12,30,66]

Una aplicación que podría revolucionar la forma en que se realizan los análisis de sangre (temido por muchos) es la uti-

lización de microagujas, con la consecuente disminución del dolor al extraer la muestra de sangre y de traumatismos al paciente, unido al análisis instantáneo, en el mismo dispositivo.[26]



Figura 4: Vista lateral del flujo producto de tres dobletes protuberantes (i, ii, iii). Microfotografía electrónica de protuberancia y agujero adyacente en silicio. El diámetro del agujero es de aproximadamente 30  $\mu\text{m}$ . Adaptado de [62].

Es tentador pensar en la posibilidad de contar con numerosos dispositivos como el mostrado en la Figura 27 c), y en caso de alguna catástrofe o demanda masiva de medios de diagnóstico o de suministro de fármacos, poder transportarlos al lugar requerido. Este concepto se entiende como “punto de cuidado” (Point-of-care).[6,20]

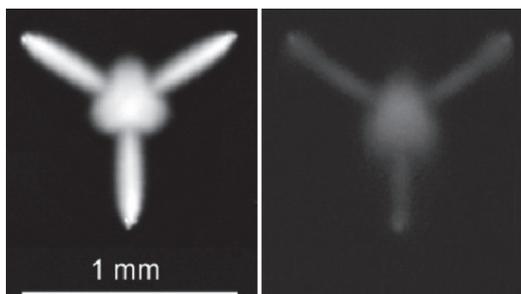


Figura 5: Evidencia de la actividad química generada por microburbujas productoras de radicales libres. Adaptado de [63].

Un ejemplo de cómo un dispositivo de microfluidos creado en una universidad ha sido comercializado eficazmente y es empleado en la actualidad es el caso de la compañía MEDIMATE <http://www.medimate.com/>. El sistema desarrollado por ellos está enfocado al “punto de cuidado” y permite analizar la concentración de litio en sangre, sodio en orina, mediante el empleo de dispositivos microfluídicos que son insertados en un lector que da al instante la concentración del analito en cuestión.[67,68]

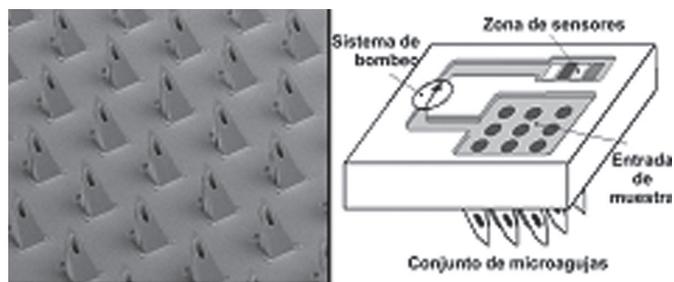


Figura 6: Arreglo de microagujas con distancia de separación de 555  $\mu\text{m}$  y esquema de dispositivo. Adaptado de [26].

Los análisis de sangre para detectar la presencia de litio pueden indicar la cercanía de un ataque o recaída. La persona afecta-

da usualmente debe someterse a un análisis cuyo resultado se conoce luego de varios días y, por consiguiente, el tratamiento se retrasa y el paciente queda expuesto a un stress considerable. Disponer de un dispositivo que advierta la cercanía de una crisis sería esencial para aplicar el tratamiento oportuno.

La microfluídica ha ayudado a combatir otras enfermedades mediante microdispositivos para estudiar células de la sangre (glóbulos rojos) infectadas con el parásito *Plasmodium falciparum* causante del paludismo o la malaria.[6,69,70] En Cuba, como en tantas partes del mundo, se trata de controlar los vectores de enfermedades contagiosas como la fiebre amarilla. Se ha avanzado en materia de investigación y desarrollo de dispositivos microfluídicos que al ser portátiles pueden ser trasladados a lugares donde se quiere detectar la presencia de animales portadores. En lugar de esperar a que los enfermos lleguen a los hospitales para declarar una zona como positiva de infección, se podría realizar un monitoreo en pocos minutos y tomar medidas preventivas mucho antes de que la enfermedad se propague a otras zonas.

El concepto de los biorreactores se ha llevado a tal punto en que se emplean las células como re-actores individuales. Las células neuronales interconectadas pueden realizar operaciones de cómputo. Adicionalmente se emplean las células como reactores (concepto Laboratorio en una célula “Lab-in-a-cell”).[71,72]

Es sabido que el comportamiento de las células depende considerablemente del medio que las rodea, de modo que se puede variar las condiciones de ensayo con células (adsorción, metabolismo, excreción, toxicidad).[4,73] El proceso de apoptosis (ruptura) y necrosis (muerte) celular ha sido estudiado debido a la importancia para el descubrimiento de fármacos y procesos celulares.[74] Este proceso guarda una relación estrecha con enfermedades neurodegenerativas y el SIDA

El encapsulamiento de sustancias también ha recibido gran atención debido a las posibilidades de tratamiento de enfermedades difíciles de combatir. De esta manera se han logrado sistemas coloidales complejos que permiten la liberación y el suministro del fármaco en un lugar específico.[75] Los dispositivos microfluídicos han ayudado en la lucha contra el cáncer, por ejemplo, en la preparación de fármacos en forma de nanopartículas que pueden llegar a lugares que los medicamentos tradicionales no lo hacen.[60]

En la ingeniería de tejidos se ha demostrado la posibilidad de crecer tejidos complejos a partir del suministro constante de sangre y, por consiguiente, de oxígeno, gracias al empleo de dispositivos microfluídicos. Aún más importante es la posibilidad probada de combinar los microfluidos con la micro- y nanotecnología para desarrollar estudios fundamentales de fenómenos biológicos in vitro, lo que permitirá disponer de órganos artificiales.[76] En los estudios de toxicidad de determinadas sustancias o fármacos, se puede ahorrar tiempo, recursos y riesgos para la vida de los seres

humanos (y de animales), al reproducir de cierta manera el funcionamiento del organismo humano, y su respuesta a determinadas sustancias.[77]

En el Proyecto del Genoma Humano, la mi-crofluídica ha servido como interfaz entre la mi-croescala y la nanoescala. Por ejemplo, la electroforésis capilar en Microchip (MCE, por sus siglas en inglés) de muestras de ADN ha impulsado notablemente la velocidad de los experimentos (diagnóstico, farmacogenética, pruebas forenses y otros) y el secuenciado, el ahorro de compuestos y muestras, la automatización, así como su separación, etc.[9,20,78,79]

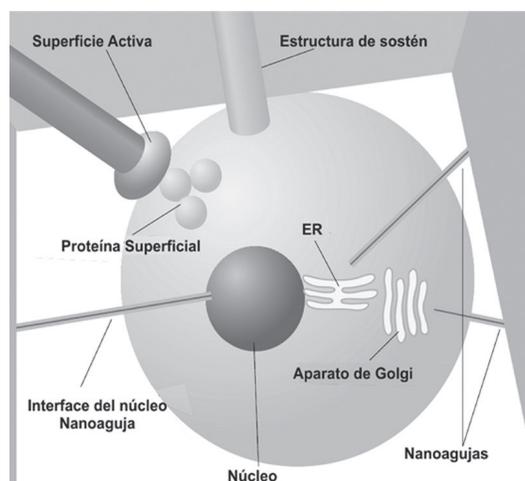


Figura 7: Dibujo conceptual del concepto Laboratorio en una célula. Adaptado de [72] .

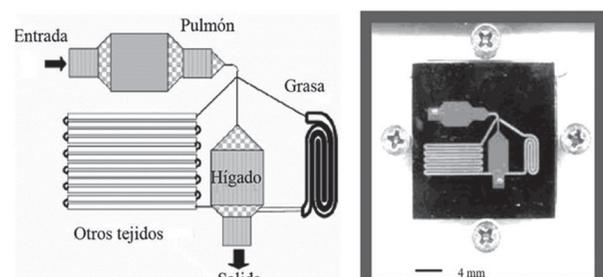


Figura 8: Esquema de conexiones de un sistema de prueba de alimentos y fotografía del dispositivo. Adaptado de [77] .

Otras aplicaciones Además de las aplicaciones mencionadas, se están empleando los microfluidos en actividades como el suministro de energía distribuida, el control térmico distribuido y las producciones químicas en gran escala (mediante el escalamiento y la paralelización de microreactores).[12]

## CONCLUSIONES

El desarrollo de la microfluídica ha sido progresivo, como queda demostrado por la creciente complejidad de los dispositivos empleados y que parcialmente han sido expuestos aquí. En este sentido, ha sido vital la formación y superación gradual de personas capacitadas y en particular de grupos multidisciplinarios de científicos en numerosos centros de investigación del mundo entero. Para que en Cuba se pueda lograr algún avance en

este campo fascinante de la ciencia, es necesario aunar esfuerzos y trazar objetivos comunes entre diversos grupos a lo largo del país. Los resultados demorarían algún tiempo, pero sin dudas serían de un alto impacto en las actividades priorizadas del país. La creación de condiciones materiales para la fabricación de dispositivos de microfluidos puede ser lo mismo muy compleja (pues requiere laboratorios caros, atmósferas inertes, salas limpias -clean rooms) o extremadamente simple (empleo de impresoras láser, siliconas, jeringuillas, papel). Todo dependerá de las aplicaciones que sean factibles y necesarias para que la microfluídica pueda ser empleada con éxito en Cuba y la posibilidad de cooperación con otras instituciones foráneas. El potencial humano y nuestras tradiciones científicas heredadas son una buena combinación para lograr insertar nuestro microaporte en la microfluídica.

## AGRADECIMIENTOS

La realización de este artículo no habría sido posible sin la cooperación de varios profesores y amigos entre los que no puedo dejar de mencionar a: J.G.E. Gardeniers, R. Luttge, A. Beskok, H. A. Stone, T. Thorsen, A. Felipe, F. Guzmán y A. J. Batista-Leyva.

- [1] D. Rivas. "Microfluidos: ¿cuánto hay de nuevo?" *Cubana de Física*, Revista 25, 142–149. ISSN 0253-9268 (2008)
- [2] R. Feynman. "There's plenty of room at the bottom." *Microelectromechanical Systems*, Journal of 1, 60–66. ISSN 10577157 (2002).
- [3] W. Trimmer, I. of Electrical and E. Engineers. *Micromechanics and MEMS: classic and seminal papers to 1990* (IEEE press, 1997). ISBN 0780310853.
- [4] A. Manz, N. Graber and H. Widmer. "Miniaturized total chemical analysis systems: a novel concept for chemical sensing." *Sensors and actuators B: Chemical* 1, 244–248. ISSN 0925-4005 (1990).
- [5] H. Stone, A. Stroock and A. Ajdari. "Engineering flows in small devices." *Annual Review of Fluid Mechanics* 36, 381 (2004).
- [6] C. Chin, V. Linder and S. Sia. "Lab-on-a-chip devices for global health: past studies and future opportunities." *Lab Chip* 7, 41–57 (2006).
- [7] F. Case, P. Alexandridis, A. C. S. D. of Physical Chemistry, A. C. S. D. of Colloid, S. Chemistry and A. C. S. Meeting. *Mesoscale phenomena in fluid systems* (ACS Publications, 2003). ISBN 0841238677.
- [8] P. Nghe, E. Terriac, M. Schneider, Z. Li, M. Cloitre, B. Abecassis and P. Tabeling. "Microfluidics and complex fluids." *Lab Chip* (2011).
- [9] C. Zhang and D. Xing. "Miniaturized PCR chips for nucleic acid amplification and analysis: latest advances and future trends." *Nucleic Acids Research* 35, 4223. ISSN 0305-1048 (2007).
- [10] G. Whitesides. "The origins and the future of microfluidics." *Nature* 442, 368–373. ISSN 0028-0836 (2006).
- [11] C. Ho and Y. Tai. "Micro-electro-mechanical-systems (MEMS) and fluid flows." *Annual Review of Fluid Mechanics* 30, 579–612. ISSN 0066-4189 (1998).
- [12] H. Stone and S. Kim. "Microfluidics: basic issues, applications, and challenges." *AIChE Journal* 47, 1250–1254. ISSN 1547-5905 (2001).
- [13] G. Whitesides and A. Stroock. "Flexible methods for microfluidics." *Physics Today* 54, 42 (2001).
- [14] J. Voldman, M. Gray and M. Schmidt. "Microfabrication in biology and medicine." *Annual review of biomedical engineering* 1, 401–425. ISSN 1523-9829 (1999).
- [15] J. Desai and I. Banat. "Microbial production of surfactants and their commercial potential." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 61, 47. ISSN 1092-2172 (1997).
- [16] A. Martinez, S. Phillips, G. Whitesides and E. Carrilho. "Diagnostics for the developing world: microfluidic paper-based analytical devices." *Analytical chemistry* 82, 3–10. ISSN 00032700 (2009).
- [17] L. Collins. "You ain't seen nothin'yet." *Engineering & Technology* 5, 64–65. ISSN 1750-9637 (2010).

- [18] B. Weigl, G. Domingo, P. LaBarre and J. Gerlach. "Towards non-and minimally instrumented, microfluidics-based diagnostic devices." *Lab on a Chip* 8, 1999 (2008).
- [19] A. Kamholz, B. Weigl, B. Finlayson and P. Yager. "Quantitative analysis of molecular interaction in a microfluidic channel: the T-sensor." *Anal. Chem* 71, 5340–5347 (1999).
- [20] P. Yager, T. Edwards, E. Fu, K. Helton, K. Nelson, M. Tam and B. Weigl. "Microfluidic diagnostic technologies for global public health." *Nature* 442, 412–418. ISSN 0028-0836 (2006).
- [21] A. Reyes. "Modelación y estudio experimental del flujo de slug en microreactores capilares." Tesis de Diploma, In-STECC, Cuba (2010).
- [22] D. Mijatovic, J. Eijkel and A. Berg. "Technologies for nanofluidic systems: top-down vs. bottom-up *Lab on a Chip* 5, 492–500. ISSN 1473-0197 (2005).
- [23] N. Nguyen and S. Wereley. *Fundamentals and applications of microfluidics* (Artech House Publishers, 2002). ISBN 1580533434.
- [24] M. Madou. *Fundamentals of microfabrication: the science of miniaturization* (CRC, 2002). ISBN 0849308267.
- [25] G. Kovacs. "Micromachined transducers sourcebook" New York, NY (1998).
- [26] H. Gardeniers, R. Lutge, E. Berenschot, M. de Boer, S. Yeshurun, M. Hefetz, R. Van't Oever and A. Van Den Berg. "Silicon micromachined hollow microneedles for transdermal liquid transport." *Microelectromechanical Systems, Journal of* 12, 855–862. ISSN 1057-7157 (2004).
- [27] J. Gardeniers and A. Berg. "Micro- and nanofluidic devices for environmental and biomedical applications." *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 84, 809–819. ISSN 0306-7319 (2004).
- [28] D. Reyes, D. Iossifidis, P. Auroux and A. Manz. "Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology." *Anal. Chem* 74, 2623–2636 (2002).
- [29] P. Auroux, D. Iossifidis, D. Reyes and A. Manz. "Micro total analysis systems. 2. Analytical standard operations and applications." *Anal. Chem* 74, 2637–2652 (2002).
- [30] I. Dimov, L. Basabe-Desmonts, J. Garcia-Cordero, B. Ross, A. Ricco and L. Lee. "Stand-alone self-powered integrated microfluidic blood analysis system (SIMBAS)." *Lab Chip* (2010).
- [31] C. Meinhart, S. Wereley and J. Santiago. "PIV measurements of a microchannel flow." *Experiments in Fluids* 27, 414–419. ISSN 0723-4864 (1999).
- [32] C. Snoeyink and S. Wereley. "A Novel 3 Dimension 3 Component Micro-PIV System." *Bulletin of the American Physical Society* 55 (2010).
- [33] P. Paul, M. Garguilo and D. Rakestraw. "Imaging of pressure- and electrokinetically driven flows through open capillaries." *Anal. Chem* 70, 2459–2467 (1998).
- [34] A. van der Meer, K. Vermeul, A. Poot, J. Feijen and I. Vermees. "Flow cytometric analysis of the uptake of low-density lipoprotein by endothelial cells in microfluidic channels." *Cytometry Part A* 77, 971–975. ISSN 1552-4930 (2010).
- [35] O. Krasnykov, A. Karabchevsky, A. Shalabney, M. Auslender and I. Abdulhalim. "Sensor with increased sensitivity based on enhanced optical transmission in the infrared." *Optics Communications* ISSN 0030-4018 (2010).
- [36] K. Nichols and H. Gardeniers. "A digital microfluidic system for the investigation of pre-steady-state enzyme kinetics using rapid quenching with MALDI-TOF mass spectrometry." *Anal. Chem* 79, 8699–8704 (2007).
- [37] L. Chen and J. Choo. "Recent advances in surface-enhanced Raman scattering detection technology for microfluidic chips." *Electrophoresis* 29, 1815–1828. ISSN 1522-2683 (2008).
- [38] S. Firebaugh, K. Jensen and M. Schmidt. "Miniaturization and integration of photoacoustic detection with a microfabricated chemical reactor system." *Microelectromechanical Systems, Journal of* 10, 232–237. ISSN 1057-7157 (2002).
- [39] W. De Malsche, H. Eghbali, D. Clicq, J. Vangelooen, H. Gardeniers and G. Desmet. "Pressure-driven reverse-phase liquid chromatography separations in ordered nonporous pillar array columns." *Anal. Chem* 79, 5915–5926 (2007).
- [40] N. Vervoort, J. Billen, P. Gzil, G. Baron and G. Desmet. "Importance and reduction of the sidewall-induced band-broadening effect in pressure-driven microfabricated columns." *Anal. Chem* 76, 4501–4507 (2004).
- [41] K. Yea, S. Lee, J. Kyong, J. Choo, E. Lee, S. Joo and S. Lee. "Ultra-sensitive trace analysis of cyanide water pollutant in a PDMS microfluidic channel using surface-enhanced Raman spectroscopy." *The Analyst* 130, 1009–1011. ISSN 0003-2654 (2005).
- [42] J. Bart, A. Kolkman, A. Oosthoek-de Vries, K. Koch, P. Nieuwland, H. Janssen, J. van Bentum, K. Ampt, F. Rutjes, S. Wijmenga et al. "A microfluidic high-resolution NMR flow probe." *Journal of the American Chemical Society* 131, 5014–5015. ISSN 0002-7863 (2009).
- [43] G. Moresi and R. Magin. "Miniature permanent magnet for table-top NMR." *Concepts in Magnetic Resonance Part B: Magnetic Resonance Engineering* 19, 35–43. ISSN 1099-0534 (2003).
- [44] T. Thorsen, S. Maerkl and S. Quake. "Microfluidic large-scale integration." *Science* 298, 580 (2002).
- [45] J. Burns and C. Ramshaw. "The intensification of rapid reactions in multiphase systems using slug flow in capillaries." *Lab on a Chip* 1, 10–15. ISSN 1473-0197 (2001).
- [46] B. Ahmed-Omer, J. Brandt and T. Wirth. "Advanced organic synthesis using microreactor technology." *Organic & Biomolecular Chemistry* 5, 733–740. ISSN 1477-0520 (2007).
- [47] J. Wood. "Microreactor speeds synthesis of molecular probe: Microfluidics." *Nano Today* 1, 13. ISSN 1748-0132 (2006).
- [48] C. Lee, G. Sui, A. Elizarov, C. Shu, Y. Shin, A. Dooley, J. Huang, A. Daridon, P. Wyatt, D. Stout et al. "Multistep synthesis of a radiolabeled imaging probe using integrated microfluidics." *Science* 310, 1793 (2005).
- [49] A. Amor Coarasa, A. Xiquez Castillo and J. Morin Zorrilla. "Preliminary work for construction of a <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga radioisotopic generator for medical use in positron emission tomography." *Cuban Chemistry Magazine* 1 (2007).
- [50] A. Amor Coarasa. "Generador <sup>68</sup>Ge/<sup>68</sup>Ga." Tesis de Maestría, In-STECC, Cuba (2007).
- [51] Z. Stone and H. Stone. "Imaging and quantifying mixing in a model droplet micromixer." *Physics of Fluids* 17, 063103 (2005).
- [52] V. Taly, B. Kelly and A. Griffiths. "Droplets as Microreactors for High-Throughput Biology." *ChemBioChem* 8, 263–272. ISSN 1439-7633 (2007).
- [53] B. Dollet, W. van Hoeve, J. Raven, P. Marmottant and M. Versluis. "Role of the channel geometry on the bubble pinch-off in flow-focusing devices." *Physical review letters* 100, 34504. ISSN 1079-7114 (2008).
- [54] A. Bouakaz, M. Versluis and N. de Jong. "High-speed optical observations of contrast agent destruction." *Ultrasound in medicine & biology* 31, 391–399. ISSN 0301-5629 (2005).
- [55] M. Kashid, D. Fernandez Rivas, D. Agar and S. Turek. "On the hydrodynamics of liquid-liquid slug flow capillary microreactors." *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering* 3, 151–160. ISSN 1932-2143 (2008).
- [56] H. Song, J. Tice and R. Ismagilov. "A microfluidic system for controlling reaction networks in time." *Angewandte Chemie* 115, 792–796. ISSN 1521-3757 (2003).
- [57] M. Kashid, D. Agar and S. Turek. "CFD modelling of mass transfer with and without chemical reaction in the liquid-liquid slug flow microreactor." *Chemical Engineering Science* 62, 5102–5109. ISSN 0009-2509 (2007).
- [58] D. Fernandez Rivas, M. Kashid, D. Agar and S. Turek. "A microfluidic system for controlling reaction networks in time." *African Physical Review* 1, 9–11. ISSN 1970-4097 (2007).
- [59] J. Rodríguez Ramos. "Modelación numérica de microreactor bifásico líquido-líquido de canal alargado con reacción química de primer orden." Tesis de Maestría, InSTECC, Cuba (2007).
- [60] F. Gu, R. Karnik, A. Wang, F. Alexis, E. Levy-Nissenbaum, S. Hong, R. Langer and O. Farokhzad. "Targeted nanoparticles for cancer therapy." *Nano Today* 2, 14–21. ISSN 1748-0132 (2007).
- [61] T. Thorsen, R. Roberts, F. Arnold and S. Quake. "Dynamic pattern formation in a vesicle-generating microfluidic device." *Physical Review Letters* 86, 4163–4166. ISSN 1079-7114 (2001).
- [62] P. Marmottant, J. Raven, H. Gardeniers, J. Bomer and S. Hilgenfeldt. "Microfluidics with ultrasound-driven bubbles." *Journal of fluid mechanics* 568, 109–118. ISSN 0022-1120 (2006).
- [63] D. Fernandez Rivas, A. Prosperetti, A. G. Zijlstra, D. Lohse and H. J. G. E. Gardeniers. "Efficient Sonochemistry through Microbubbles Generated with Micromachined Surfaces." *Angewandte Chemie International Edition* 49, 9699–9701. ISSN 1521-3773 (2010).
- [64] D. Lohse. "Sonoluminescence -Cavitation hots up." *Nature* 434, 33–34. ISSN 0028-0836 (2005).
- [65] K. Suslick and D. Flannigan. "Inside a collapsing bubble: Sonoluminescence and the conditions during cavitation." *Physical Chemistry* 59, 659 (2008).

- [66] I. Takeuchi, J. Lauterbach and M. Fasolka. "Combinatorial materials synthesis." *Materials Today* 8, 18–26. ISSN 1369-7021 (2005).
- [67] E. Vrouwe, R. Lutttge, I. Vermes and A. van den Berg. "Microchip capillary electrophoresis for point-of-care analysis of lithium." *Clinical chemistry* 53, 117 (2007).
- [68] S. Staal, J. Floris, S. Lenk, A. Munoz, D. Kohlheyer, J. Eijkel and A. van den Berg. "A prefilled, ready-to-use, electrophoresis-based lab-on-a-chip device for monitoring ions in blood and urin." 14th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences,  $\mu$ TAS 2010, Groningen, 2107–2109 ISSN 1556-5904 (2010).
- [69] J. Shelby, J. White, K. Ganesan, P. Rathod and D. Chiu. "A microfluidic model for single-cell capillary obstruction by Plasmodium falciparum-infected erythrocytes." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100, 14618 (2003).
- [70] H. Bow, I. Pivkin, M. Diez-Silva, S. Goldfless, M. Dao, J. Niles, S. Sureshb and J. Han. "A microfabricated deformability-based flow cytometer with application to malaria." *Lab on a Chip* ISSN 1473-0189 (2011).
- [71] M. M. Maharbiz, W. J. Holtz, R. T. Howe and J. D. Keasling. "Microbio-reactor arrays with parametric control for high-throughput experimentation." *Biotechnology and Bioengineering* 85, 376–381. ISSN 1097-0290 (2004).
- [72] H. Andersson and A. van den Berg. "Microtechnologies and nanotechnologies for single-cell analysis." *Current opinion in biotechnology* 15, 44–49. ISSN 0958-1669 (2004).
- [73] J. Pihl, J. Sinclair, M. Karlsson and O. Orwar. "Microfluidics for cell-based assays." *Materials today* 8, 46–51. ISSN 1369-7021 (2005).
- [74] A. Valero, F. Merino, F. Wolbers, R. Lutttge, I. Vermes, H. Andersson and A. Berg. "Apoptotic cell death dynamics of HL60 cells studied using a microfluidic cell trap device." *Lab on a Chip* 5, 49–55. ISSN 1473-0197 (2005).
- [75] T. Nisisako, S. Okushima and T. Torii. "Controlled formulation of monodisperse double emulsions in a multiple-phase microfluidic system." *Soft Matter* 1, 23–27. ISSN 1744-683X (2005).
- [76] H. Andersson and A. Berg. "Microfabrication and microfluidics for tissue engineering: state of the art and future opportunities." *Lab on a Chip* 4, 98–103. ISSN 1473-0197 (2004).
- [77] K. Viravaidya, A. Sin and M. L. Shuler. "Development of a Microscale Cell Culture Analog To Probe Naphthalene Toxicity." *Biotechnology Progress* 20, 316–323. ISSN 1520-6033 (2004).
- [78] M. Mohamadi, L. Mahmoudian, N. Kaji, M. Tokeshi, H. Chuman and Y. Baba. "Nanotechnology for genomics & proteomics." *Nano Today* 1, 38–45. ISSN 1748-0132 (2006).
- [79] C.-F. Chou, O. Bakajin, S. W. P. Turner, T. A. J. Duke, S. S. Chan, E. C. Cox, H. G. Craighead and R. H. Austin. "Sorting by diffusion: An asymmetric obstacle course for continuous molecular separation." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96, 13762–13765 (1999).