



INSTITUTO TECNOLÓGICO  
DE BUENOS AIRES



COMISIÓN NACIONAL  
DE ENERGÍA ATÓMICA

PROYECTO FINAL DE CARRERA  
DEPARTAMENTO DE BIOINGENIERÍA

---

**Diseño y fabricación de un  
sistema de transporte controlado de  
nanopartículas superparamagnéticas  
para su integración a un biosensor**

---

MARÍA AGUSTINA ALTAMIRANO CARLAVAN

VALERIA MOSQUERA

TUTORES:

Cintia Notcovich

Guido Berlín

## Resumen

El trabajo presenta el diseño, la fabricación y la caracterización de un sistema de transporte controlado de nanopartículas superparamagnéticas (NPM) que se fundamenta en el uso de los campos magnéticos resultantes de la circulación de corrientes eléctricas [1][2]. Se concibe con el objetivo de ser integrado a un sistema de diagnóstico del Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) que utiliza NPM funcionalizadas con anticuerpos capaces de unirse específicamente a la bacteria causante del mismo. El proyecto Micromaglab ( *$\mu$ MAGLAB*) está actualmente desarrollando este dispositivo de tipo Lab-on-a-Chip (LoC) en el Departamento de Micro y Nanotecnología del Centro Atómico Constituyentes (CAC) perteneciente a la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA).

El diagnóstico tradicional de esta enfermedad sólo puede realizarse en establecimientos sanitarios equipados para ello, demorando el resultado con tiempos muertos de traslado de muestras, especialmente en países de población centralizada como Argentina. El SUH se presenta con mayor frecuencia en niños menores a 5 años, siendo la causa principal de insuficiencia renal aguda pediátrica a nivel mundial [9]-[19]. En Argentina, es considerado endémico con alrededor de 300 casos nuevos por año [16].

Los prototipos del sistema de transporte fueron manufacturados dentro de la sala limpia del CAC mediante técnicas de microfabricación detalladas en el presente trabajo. Entre los procedimientos realizados, se destacan la fotolitografía, spin coating, sputtering, lift-off, ataques químicos, electroplating y aislación.

Los conductores de los primeros dispositivos estaban dispuestos como meandros. Tenían 5  $\mu m$  y 10  $\mu m$  de ancho y actuaban como atrapadores de partículas. Su caracterización fue mediante el uso de técnicas microscópicas, interferometría óptica y mediante análisis de impedancia/ganancia-fase. Quedó evidenciado su comportamiento como atrapadores de partículas mediante una secuencia de experimentos. Al circular 10 mA por un meandro de 10  $\mu m$  de ancho, se tuvo un aumento de 19,89 % en el número de NPM presentes en el campo de visión (140  $\mu m$  x 100  $\mu m$ ) en dos minutos y medio y de 96,26 % respecto al estado inicial en cuatro minutos.

El prototipo final consistió de seis conductores paralelos con un ancho de 20  $\mu m$  y distanciados por la misma magnitud que conformaban una capa de una matriz de conductores para alcanzar un control bidireccional más fino de la posición de las NPM. Estos prototipos representaron una prueba de concepto de los pilares sobre los cuales se apoya el sistema de transporte. Se diseñó un porta-prototipo para proteger su integridad al utilizarlo. Su caracterización mostró una amplia concordancia con lo esperado. Se validó su comportamiento como un sistema de transporte unidimensional y bidireccional con una resolución de 20  $\mu m$ . Estos resultados prometen un control bidimensional a lo largo del plano al incluir una capa semejante de conductores dispuesta transversalmente completando el diseño de matriz, aunque su fabricación representa un desafío considerable.

Los experimentos fueron llevados a cabo con grandes concentraciones de NPM en lugar de complejos antígeno-anticuerpo-nanopartícula (AG-AC-NP). Sin embargo, hay sustento científico apoyando que el enlace del complejo AG-AC a las NPM no influye en su actividad magnética [3]-[8]. A su vez, la observación de



un comportamiento micrométrico sugiere uno semejante en la escala nanométrica. Mediante un análisis de la inserción del prototipo en el mercado, se concluye que resultará un sistema de diagnóstico asequible una vez que quede consolidado el diseño y pueda ser fabricado en serie para disminuir los costos de producción. Además, la tendencia global hacia la descentralización del sistema de salud y su creciente valor del mercado señalan una posible mejora en la eficiencia de estas tecnologías. Por último, se concluye que el prototipo es considerablemente reproducible, seguro y alineado con las regulaciones vigentes.

## Abstract

This paper presents the design, development and characterization of a controlled transport system for superparamagnetic nanoparticles (MNP) based on the use of magnetic fields resulting from electric current circulation [1] [2]. It is conceived for its integration to a Hemolytic Uremic Syndrome (HUS) diagnostic system that uses MNP functionalized with antibodies which bind specifically to the bacteria that causes it. The Micromaglab project ( *$\mu$ MAGLAB*) is currently developing this device based on Lab-on-a-Chip (LoC) technology at the Micro and Nanotechnology Department of the Constituyentes Atomic Center (CAC) belonging to the National Atomic Energy Commission (CNEA).

Only specialized equipped facilities can diagnose this disease by traditional methods, which delays the result adding extra time-out due to sample transferring, specially in countries with centralized like Argentina. HUS mainly affects children under 5 years of age, being the main cause of pediatric acute renal failure worldwide [9] - [19]. In Argentina, it is considered endemic with around 300 new cases per year [16].

The prototypes were manufactured in the CAC's clean room with microfabrication techniques thoroughly explained in this paper. Among these procedures, there is photolithography, spin coating, sputtering, lift-off, chemical attacks, electroplating and insulation.

The first prototypes' wires were arranged in a meander shape. They were 5  $\mu m$  and 10  $\mu m$  wide and acted as a MNP trap. Their characterization was carried out with a microscope, an optical interferometer and an impedance/gain-phase analyzer. A sequence of experiments showed evidence of their behaviour as a MNP trap. When a current of 10 mA circulated along one of the 10  $\mu m$ -wide meanders, the number of MNP in the field of view (140  $\mu m$  x 100  $\mu m$ ) increased in a 19.89% over the initial state in 2 and a half minutes and 96.26% over the baseline condition in 4 minutes.

The final prototype consisted of six parallel 20  $\mu m$ -wide wires which comprised a layer of a wire matrix for finer bidirectional control of the MNP position. These prototypes represent a proof of concept for the pillars on which the transportation system rests. A prototype holder was designed to protect their integrity. Their characterization showed a broad agreement with what was expected. Their behaviour as a bidirectional transport system was validated with a 20  $\mu m$  resolution. These results promise a bidimensional control along the plane once a second layer of wires is arranged transversely forming the matrix, though its manufacturing will represent a considerable challenge.

The experiments were carried out with large concentrations of MNP instead of antigen-antibody-nanoparticle (AG-AB-NP) complexes. Nevertheless, there is a large number of scientific papers supporting that the binding of an AG-AB complex to the MNP does not influence its magnetic activity [3]-[8]. Furthermore, observation of a behavior in a micrometric scale suggests a similar one on nanometric. A market insertion analysis was carried out, concluding that the diagnosis system will be affordable once the design is consolidated and mass production is achieved so production costs decrease. Moreover, the global tendency to health systems' decentralization and its rising market value suggests an increase in these technologies' efficiency. Finally, it is concluded that the prototype is reproducible, safe and in line with current regulations.

## Reconocimientos

El desarrollo del presente trabajo fue posible gracias a la ayuda que se recibió a lo largo de las distintas etapas del mismo. Al abordar la decisión de comenzar con este trabajo, el ingeniero Norberto Lerendegui nos supo aconsejar e hizo que tomemos dicha decisión con sensatez y responsabilidad. Por su guía, le agradecemos.

Desde el primer día que conocimos la CNEA de manos de Cintia Notcovich, nos inspiró cómo se involucra en el proyecto de  $\mu MAGLAB$ . Como tutora, nos acompañó y ayudó siempre que lo necesitamos.

A su vez, queremos agradecer a Guido Berlín, quien nos orientó desde su conocimiento del área para que nuestros esfuerzos estén bien direccionados. Siendo docente del ITBA, su paciencia para enseñar nos acompañó en muchas ocasiones.

Nos gustaría reconocer al ingeniero Matías Rinaldi y al ingeniero Claudio Ferrari. Su dedicación y voluntad para encontrar la mejor manera de hacer las cosas fueron esenciales. Sobre todo, su compañía y amistad. Al resto del equipo del área de Micro y Nanotecnología del CAC, por su gran predisposición a colaborar de forma desinteresada.

Por último, a nuestras familias y amigos por acompañarnos todos estos años siempre con cariño y empatía.

# Índice

<b>1. Objetivos</b>	<b>10</b>
1.1. Generales . . . . .	10
1.2. Específicos . . . . .	10
<b>2. Marco teórico</b>	<b>11</b>
2.1. Síndrome Urémico Hemolítico . . . . .	11
2.1.1. Contexto nacional e internacional . . . . .	12
2.1.2. Infección . . . . .	14
2.1.3. Diagnóstico . . . . .	14
2.2. Funcionalización de superficies . . . . .	15
2.3. Lab-on-a-chip . . . . .	16
2.3.1. Proyecto $\mu$ MAGLAB . . . . .	17
2.4. Campos magnéticos . . . . .	19
2.5. Resistencia y calor en materiales metálicos . . . . .	20
2.5.1. Disipación de calor en circuitos de microelectrónica . . . . .	21
2.6. Superparamagnetismo . . . . .	22
2.6.1. Nanopartículas superparamagnéticas . . . . .	24
2.7. Modelo de una NPM en solución bajo el efecto de diversas fuerzas . . . . .	25
<b>3. Materiales y métodos</b>	<b>29</b>
3.1. Nanopartículas superparamagnéticas . . . . .	29
3.2. Conductores . . . . .	29
3.3. Aislantes . . . . .	29
3.4. Software . . . . .	30
3.4.1. Ansys . . . . .	30
3.4.2. KLayout . . . . .	31
3.4.3. ImageJ . . . . .	31
3.4.4. Python . . . . .	31
3.4.5. SolidWorks . . . . .	32
3.5. Microfabricación . . . . .	33
3.5.1. Sala limpia . . . . .	33
3.5.2. Mesada de litografía . . . . .	34
3.5.3. Fotolitografía . . . . .	34
3.5.4. Spin coating . . . . .	36
3.5.5. Hot plate . . . . .	37
3.5.6. Sputtering . . . . .	37

3.5.7. Lift-off y Ataques químicos . . . . .	38
3.5.8. Electroplating . . . . .	39
3.5.9. Dicer . . . . .	39
3.5.10. Aislación . . . . .	39
3.6. Electrónica . . . . .	39
3.7. Impresión 3D . . . . .	40
3.8. Métodos para análisis y estudio . . . . .	40
3.8.1. Interferometría óptica . . . . .	40
3.8.2. Microscopios ópticos . . . . .	41
3.8.3. Microscopio electrónico de barrido . . . . .	42
3.8.4. Dispersión dinámica de luz . . . . .	43
3.8.5. Probe station y analizador . . . . .	44
3.8.6. Procesamiento de imágenes . . . . .	46
<b>4. Desarrollo</b>	<b>50</b>
4.1. Caracterización de las NPM . . . . .	50
4.2. Prototipo del meandro . . . . .	51
4.2.1. Simulación . . . . .	51
4.2.2. Diseño del prototipo . . . . .	53
4.2.3. Microfabricación del meandro . . . . .	55
4.2.4. Caracterización . . . . .	67
4.2.5. Experimentación . . . . .	73
4.2.6. Procesamiento de imágenes . . . . .	74
4.3. Prototipo de conductores paralelos . . . . .	77
4.3.1. Simulación . . . . .	78
4.3.2. Diseño del prototipo . . . . .	83
4.3.3. Porta-prototipo . . . . .	86
4.3.4. Microfabricación de los conductores paralelos . . . . .	89
4.3.5. Caracterización . . . . .	99
4.3.6. Experimentación . . . . .	104
4.3.7. Procesamiento de imágenes . . . . .	107
<b>5. Discusión</b>	<b>110</b>
5.1. Generalidades . . . . .	110
5.2. Análisis de la inserción del prototipo en el mercado . . . . .	112
5.2.1. Escalabilidad . . . . .	112
5.2.2. Reproducibilidad . . . . .	113
5.2.3. Seguridad . . . . .	113

5.2.4. Ética . . . . .	114
5.2.5. Riesgo de contaminación . . . . .	114
5.2.6. Reglamentación . . . . .	114
5.3. Propuestas a futuro . . . . .	115
<b>6. Conclusiones</b>	<b>118</b>
<b>7. Anexo</b>	<b>119</b>
7.1. Diseños posibles de conductores . . . . .	119
7.1.1. Espiras . . . . .	119
7.1.2. Meandros . . . . .	120
7.1.3. Matriz . . . . .	121
7.2. Primeros experimentos . . . . .	123
7.2.1. Microcanales en forma de T . . . . .	123
7.2.2. Espiras con cables de bobina . . . . .	124
7.2.3. Meandros de cables de bobina . . . . .	125
7.2.4. Matriz de cables de bobina . . . . .	126
7.3. Caracterización de NPM . . . . .	129
7.3.1. SEM (procesado con ImageJ) . . . . .	129
7.3.2. DLS . . . . .	132
7.4. Experimentos . . . . .	133
7.5. Índice de cuadros . . . . .	134
7.6. Índice de figuras . . . . .	134
<b>8. Referencias</b>	<b>141</b>

## Abreviaturas

**AC** Anticuerpo

**AG** Antígeno

**ANMAT** Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica

**CAB** Centro Atómico Bariloche

**CAC** Centro Atómico Consistuyentes

**CONICET** Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas

**CNEA** Comisión Nacional de Energía Atómica

**CuSO<sub>4</sub>** Sulfato de cobre

**DLS** Dispersión dinámica de luz

**E. coli** Escherichia Coli

**ENRE** Ente Nacional Regulador de la Electricidad

**HF** Ácido fluorhídrico

**HIBA** Hospital Italiano de Buenos Aires

**ITBA** Instituto Tecnológico de Buenos Aires

**LoC** Lab-on-a-Chip

**MEMS** Microsistemas electromecánicos

**NPM** Nanopartícula superparamagnética

**OMS** Organización Mundial de la Salud

**PCR** Reacción en Cadena de la Polimerasa

**PDMS** Polidimetilsiloxano

**PLA** Ácido Poliláctico

**PoC** Point-of-Care

**SAP** Sociedad Argentina de Pediatría

**SEM** Microscopio electrónico de barrido

**SL-CAC** Sala limpia del Centro Atómico Consistuyentes

**STEC** Cepa de la Escherichia Coli productora de toxina Shiga

**SUH** Síndrome Urémico Hemolítico

**UFC/g** Unidades Formadoras de Colonias por gramo

**UHV** Ultra alto vacío

**$\mu$ TAS** Microsistemas de Análisis Totales



## 1. Objetivos

### 1.1. Generales

Este trabajo parte de la motivación a realizar un aporte significativo al desarrollo de un sistema de diagnóstico de SUH al pie del paciente, contribuyendo de este modo a la comunidad científica. Para esto, se espera consolidar un diseño de un sistema de transporte de NPM que permita controlar la posición de las mismas en un área de dimensiones semejantes a las de un dispositivo LoC.

### 1.2. Específicos

El mecanismo elegido para llevar a cabo el objetivo principal es el de la circulación de corriente para la generación de perfiles de campo magnético que induzcan fuerzas sobre las NPM con la intensidad y localización adecuadas para controlarlas. Dado que el proyecto en el cual se enmarca el trabajo se encuentra aún en sus etapas tempranas, se espera que el sistema a desarrollar represente una prueba de concepto de que el mecanismo escogido sea el adecuado para esta función. De aquí se desglosan los siguientes objetivos particulares:

- Diseñar el patrón de conductores eléctricos.
- Llevar a cabo simulaciones relevantes para validar el modelo.
- Microfabricar al menos un prototipo funcional.
- Caracterizar éste para volverlo escalable.
- Evaluar la funcionalidad a través de experimentos documentados.

## 2. Marco teórico

A fin de adquirir una comprensión integral del contexto en el que se encuentra inmerso el presente trabajo, se exponen a continuación conceptos teóricos de las principales áreas del conocimiento que competen al desenvolvimiento del mismo. Dada la complejidad del problema abordado, se consideró necesario un enfoque multidisciplinario.

El trabajo responde a una de las necesidades más relevantes del sistema de salud no sólo argentino sino que mundial. Es sobre este pilar que se apoya la relevancia del sistema de diagnóstico planteado. En esta sección, se desarrolla la fisiopatología de la enfermedad, el estado del arte con respecto a su diagnóstico y estadísticas que reflejan su importancia a nivel nacional e internacional.

La posibilidad de otorgarle propiedades tanto a la superficie de un sensor como a la de una partícula permitió que se concibiese un método de diagnóstico como el propuesto. A través de esta técnica, se adherirán anticuerpos a las NPM para unirse específicamente a la bacteria y transportarla hacia el biosensor, el cual a su vez se encontrará funcionalizado.

El dispositivo en desarrollo a manos del equipo de  $\mu$ MAGLAB se basa tanto en la funcionalización de superficies como en la tecnología LoC. Ésta última difiere de las técnicas de laboratorio convencionales en muchos aspectos que le otorgan valor a la propuesta del equipo. Se elabora cómo la plataforma que plantea el equipo de la CNEA identifica a la bacteria STEC y la separa de la muestra del paciente para detectar su presencia y así alcanzar un diagnóstico.

Luego, debe estudiarse la física sobre la que se sostiene el funcionamiento del prototipo que se propone desarrollar. Para esto, es fundamental la comprensión de campos magnéticos y su relación con la circulación de corriente eléctrica dado que será el principio básico de funcionamiento. Por otro lado, se evalúa si la generación de calor por la circulación de corriente es una limitante para la operación del sistema de transporte.

Se enuncian las características del superparamagnetismo, entre las cuales se destacan los grandes momentos magnéticos a temperatura ambiente. Es por esto que en los últimos años ha crecido el número de trabajos científicos que explotan estas características con el uso de NPM en el ámbito de la medicina.

Por último, se estudió el conjunto de fuerzas al cual está expuesta una NPM suspendida en un medio acuoso sobre un prototipo del sistema de transporte controlado. Representa la situación en la que se encontrará cada NPM a la cual se hará referencia durante las distintas instancias de experimentación que se detallan en el desarrollo del trabajo.

### 2.1. Síndrome Urémico Hemolítico

El SUH es *"la combinación de la presentación aguda de daño renal, trombocitopenia y anemia hemolítica asociada con eritrocitos distorsionados (burr cells)"* según el Dr. Gianantonio y sus colegas del Hospital de Niños de Buenos Aires [9][10]. La presentación aguda de daño renal implica que los riñones son incapaces de filtrar adecuadamente las toxinas y otros desechos de la sangre del paciente. La trombocitope-

nia es la disminución del número de plaquetas en circulación en el torrente sanguíneo a valores por debajo de 100.000 unidades por milímetro cúbico, cantidad que representa niveles normales. La anemia hemolítica microangiopática se produce cuando traumatismos en los capilares sanguíneos generan puntos de impacto con los que colisionan los glóbulos rojos, causando la ruptura de la membrana celular de los mismos.

La forma más frecuente de SUH es denominada SUH típico o SUH diarrea positivo (SUH d+) y comprende al 90 % de los casos clínicos. Se debe al daño producido por la toxina *Shiga* 1, 2 y sus variantes. Esta toxina es liberada por bacterias de la *Escherichia Coli* (E. coli), en la cepa productora de toxina *Shiga* (STEC). El serotipo predominante es el 0157:H7, aunque hay más de 100 serotipos de esta familia que poseen un potencial patogénico semejante [11]. De forma menos frecuente, el SUH se presenta en su forma atípica (SUHa) o SUH diarrea negativa (SUH d-).

### 2.1.1. Contexto nacional e internacional

El SUH afecta principalmente a niños de entre 6 meses y 5 años. Actualmente, es la causa principal de insuficiencia renal aguda pediátrica a nivel mundial según la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la segunda de insuficiencia renal crónica [12]. Puede afectar otros parénquimas como el intestino, sistema nervioso central, páncreas, corazón e hígado [13]. También se lo conoce como *microangiopatía trombótica*, *síndrome de hemólisis*, *trombopenia* y *neuropatía*.

En el 2011, hubo un brote de STEC en Alemania que alcanzó a 4.000 niños. 855 de estos niños desarrollaron SUH con secuelas serias y el 6 % de ellos falleció debido a la enfermedad. En Estados Unidos se reportó un brote de STEC a principios del 2019 en donde 62 personas se vieron infectadas y más recientemente a inicios de diciembre, un segundo brote con 102 personas infectadas [14]. Sin embargo, es considerada una enfermedad poco frecuente a escala global, por lo que no existe aún ningún tratamiento para el SUH que haya sido aprobado por entes regulatorios.

Actualmente en nuestro país, el SUH se considera endémico con un total de 280 a 360 casos nuevos por año (figura 1). La tasa de incidencia anual de 10 y 12 casos cada 100.000 habitantes ubica al país entre uno de los que mayor número de casos recibe en el mundo [15].

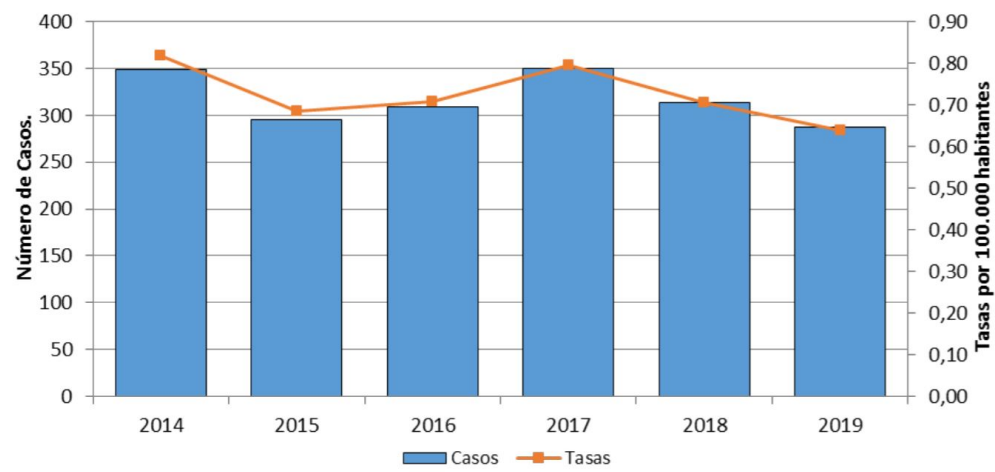


Figura 1: Casos y tasas notificados de SUH en la Argentina desde el 2014 hasta el 2019 inclusive en base a datos del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud. De enero a octubre del 2020, no se publicaron valores oficiales relacionados al SUH en el Boletín Integrado de Vigilancia. Tomado de la referencia [16].

El 94,4 % de los casos de SUH en la Argentina corresponden a niños de menos de 10 años (figura 2). En el 2016, en el Congreso de Medicina Interna organizado por la Sociedad Argentina de Pediatría (SAP), se presentó que los pacientes de SUH del Hospital Garrahan de Buenos Aires representan cerca del 30 % de sus trasplantes renales pediátricos con una mortalidad de 3 a 5 %. El 19 de agosto es el día nacional de lucha contra el SUH en Argentina e inspira múltiples campañas de prevención por parte de establecimientos de salud [15].

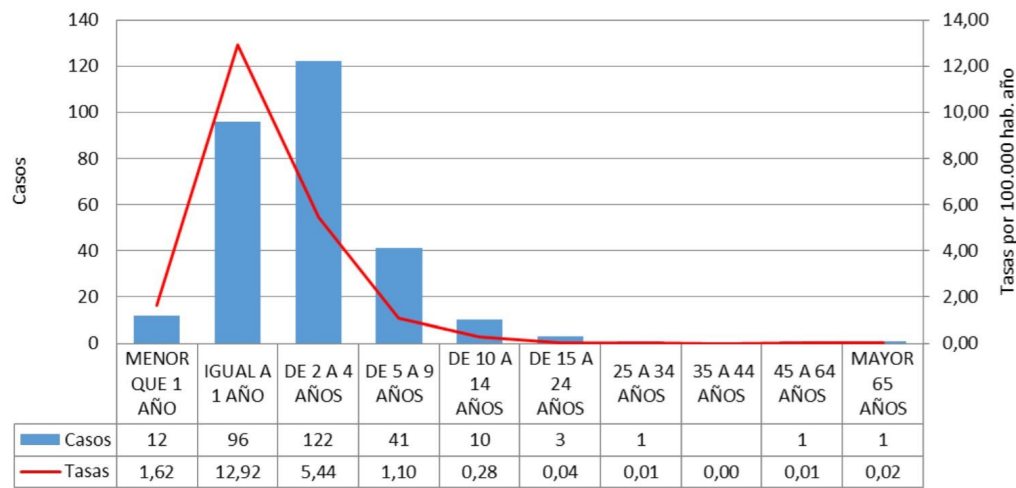


Figura 2: Distribución de los casos de SUH en Argentina según el rango etario de los pacientes en el 2019. Tomado de la referencia [16].

Hoy, el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de Argentina (CONICET), la

compañía biotecnológica Inmunova y el Hospital Italiano de Buenos Aires (HIBA) están trabajando de forma conjunta en el desarrollo de un fármaco que detendría el avance del SUH [17]. Actúa neutralizando la toxina cuando se encuentra circulando por el torrente sanguíneo de forma semejante al tratamiento de envenenamiento por un ataque de serpiente o alacrán. En abril de 2019 se presentaron los exitosos resultados del primer estudio en voluntarios sanos adultos regulado por la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). La fase 2/3 del estudio clínico se encuentra en desarrollo en este momento en el HIBA, a cargo de un equipo de pediatras y nefrólogos pediátricos.

### 2.1.2. Infección

La *E. coli* forma parte de la microbiota normal del tracto gastrointestinal de animales endotermos. Suele encontrarse en la porción distal del intestino. La gran mayoría de sus cepas no representa un riesgo para la salud. Por ende, el diagnóstico del SUH no es trivial ya que la detección de *E. coli* en el torrente sanguíneo no es un indicador exclusivo de la enfermedad.

La infección suele producirse por la ingesta de alimentos contaminados como puede ser carne cruda o pobremente cocida, frutas, hortalizas y semillas mal higienizadas o, en algunos casos, leche cruda. La cepa de *E. coli* que causa el SUH es resistente a cambios en el pH, prolifera a la temperatura corporal y se elimina cuando las temperaturas superan los 70 °C. Es una infección zoonótica, lo cual significa que el reservorio natural u hospedador de la bacteria a largo plazo es un animal. El patógeno se encuentra principalmente en el ganado bovino y en menor grado, en otros rumiantes como las ovejas, cabras y ciervos. En un estudio publicado en la Revista Médica de Chile, se encontró que en las zonas del sur de las Provincias de Santa Fe y Córdoba en Argentina, más del 50 % de los animales bovinos y porcinos tenían esta bacteria en su intestino [18]. La dosis infectiva de la misma no supera las 100 Unidades Formadoras de Colonias por gramo (UFC/g) para todos los serotipos. Esto es una dosis notablemente baja para producir una infección. En el caso del serotipo más frecuente (O157:H7), la infección se produce con una dosis ínfima de 10 UFC/g [11].

En el caso del SUH típico, primero se produce la infección por la bacteria. El tiempo de incubación es de 3 a 4 días, pudiendo extenderse hasta 8 días. Entre los síntomas que caracterizan al cuadro, se destacan los calambres abdominales, colitis hemorrágica, fiebre y vómitos. A pesar de que en la mayoría de los casos se observa una resolución espontánea, el 10 % de estas infecciones derivan a SUH, con una tasa de mortalidad que está entre el 3 % y el 5 %. Un paciente con este diagnóstico debe ser siempre internado. De sobrevivir, el 25 % de los pacientes desarrollan trastornos neurológicos como convulsiones, accidentes cerebrovasculares o estado de coma, y el 50 % tiene secuelas renales crónicas [12].

### 2.1.3. Diagnóstico

En primer lugar, se detectan anormalidades en el análisis de sangre del paciente. Esto es, si los glóbulos rojos se encuentran dañados, si el número de plaquetas o glóbulos rojos en sangre es bajo o bien si el valor de la creatinina en sangre (desecho que elimina el riñón) es alto. Sin embargo, estos indicadores aún no señalan

al SUH de forma exclusiva. El siguiente estudio que se realiza es un análisis de orina. Si se encuentra sangre en la orina, proteínas que el riñón debería conservar o algún otro signo de infección, se ordena un análisis de muestra fecal del paciente inoculada en medios de MacConkey [19]. De obtenerse un resultado negativo, la bacteria recién es detectada ya sea por el hallazgo de genes de la toxina mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) a partir de una muestra de materia fecal o por el hallazgo de verotoxina fecal libre (semejante a toxina Shiga) o mediante serología a verotoxinas o lipopolisacáridos de *E. coli*. Los resultados de estos estudios demoran aproximadamente 48 horas. Principalmente por la complejidad de estas técnicas, se carece de un método de diagnóstico que pueda llevarse a cabo al pie del paciente o animal afectado (Point of Care, POC) [20]. Esta dificultad conlleva además, en países de población centralizada como la Argentina, que la mayoría de los tests diagnósticos no puedan realizarse en todos los establecimientos de salud, agregando a la demora que la propia técnica requiere, tiempos muertos de traslado de muestras para su análisis [21].

## 2.2. Funcionalización de superficies

El proceso de funcionalizar una superficie consiste en alterar sus propiedades físicas y químicas para un fin determinado [41]. Entre las aplicaciones a mencionar, es posible unir anticuerpos a una superficie y de esta manera, potencialmente enlazarla a un antígeno. Funcionalizar la superficie de una NPM con anticuerpos permite controlar su interacción con biomoléculas y células de distintas escalas, determinando su comportamiento in vivo mientras que una inmuno-superficie puede utilizarse para capturar analitos, cuyo potencial recae en tanto la densidad de anticuerpos como en su orientación [42].

Un anticuerpo mide aproximadamente  $14,5 \text{ nm} \times 8,5 \text{ nm} \times 4,0 \text{ nm}$  [43]. En la figura 3, se incluye una representación gráfica en donde se resaltan en color azul las dos regiones de 5 a 10 aminoácidos separadas en este caso por  $13,7 \text{ nm}$  llamadas parátomos. Éstas se unen al epítomo o determinante antigénico, la región afín del antígeno. Las dimensiones del antígeno y de su epítomo varían enormemente. Si el último es una proteína que se encuentra todo a lo largo de la superficie de una bacteria, cuyo tamaño es del orden del micrón, es posible que cientos de anticuerpos se enlacen al microorganismo. Ese sería un epítomo continuo o secuencial. Por el contrario, el epítomo puede ser discontinuo, representados por residuos distantes en la secuencia del antígeno, reduciendo el número de anticuerpos que pueden unirse a una biomolécula [44].

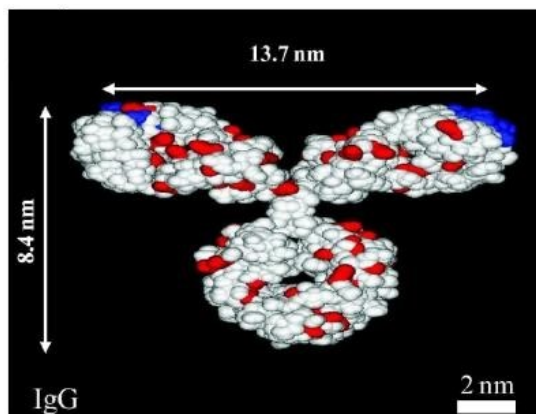


Figura 3: Estructura típica de una inmunoglobulina (IgG) cortesía del banco de datos de proteínas (ID=1IGT). Tomado de la referencia [43].

El número de anticuerpos de una NPM funcionalizada es difícil de determinar, aunque depende estrechamente del tamaño de la misma. El equipo de Sotnikov [45] publicó una funcionalización de 52 anticuerpos por cada nanopartícula de oro de diámetro promedio de 24 nm. Por otro lado, el equipo de Saha [46] funcionalizó NPM de 500 nm de diámetro con unos 5000 anticuerpos.

### 2.3. Lab-on-a-chip

La tecnología LoC busca implementar técnicas de laboratorio convencionales a microescala. Los dispositivos LoC suelen ser de pocos centímetros cuadrados. Combinan e integran la fluídica, la electrónica (y en ciertos casos, la microelectrónica), la óptica y las tecnologías de biosensado [47]. A medida que la investigación en esta área fue creciendo, se fueron definiendo ramificaciones de esta tecnología como los microsistemas de análisis totales (Micro Total Analysis Systems,  $\mu TAS$ ) y los microsistemas electromecánicos (Micro-electro-mechanical systems, *MEMS*).

Al reducir técnicas de laboratorio a escala micrométrica, los efectos de la gravedad son despreciables. A su vez, una reducción en tamaño implica necesariamente una reducción en volumen y, por ende, procesos como la sintetización de un producto, su análisis y la regulación de la temperatura de distintas sustancias conllevan menos tiempo y consumo energético [48]. Los volúmenes suelen variar entre los  $10^{-18}$  y  $10^{-9}$  litros [49]. Además, una reducción en el volumen de los sustratos requeridos implica tanto un ahorro económico en su adquisición como una reducción del desecho químico generado. Al reducir las dimensiones del dispositivo, se tiene un flujo laminar, lo que otorga un mayor control que permite que los procesos tengan una mayor resolución y sensibilidad.

Las principales áreas de investigación y desarrollo de tecnologías LoC son la síntesis de moléculas y materiales, generación de microambientes celulares y sistemas de diagnóstico.

### 2.3.1. Proyecto $\mu MAGLAB$

La CNEA comenzó hace dos años con el proyecto  $\mu MAGLAB$ . Consiste en el desarrollo de una plataforma del tipo LoC para el diagnóstico de SUH, basada en sensores de campo magnético ultrasensibles, los cuales detectan el campo producido por NPM funcionalizadas para reconocer específicamente el analito de interés presente en una muestra.  $\mu MAGLAB$  es un proyecto interdisciplinario donde participan médicos, biólogos, biotecnólogos, físicos, químicos e ingenieros. Los profesionales se agrupan tras distintos objetivos específicos: Diseño, simulación y fabricación de sensores y NPM; Electrónica; Funcionalización bioquímica y Ensayos de sensibilidad y especificidad, con una crucial e intensiva realimentación transversal entre los distintos grupos.

El sistema de diagnóstico parte de la muestra del paciente en solución en donde hay presencia del analito (toxina causante del SUH). Por otro lado, se tiene una solución de NPM funcionalizadas con el anticuerpo capaz de reconocer y unirse al antígeno de la bacteria STEC. En la figura 4, se representa esta primera etapa del proceso de diagnóstico. Nótese cómo al incubar ambas soluciones, se forma el complejo antígeno-anticuerpo-NPM (AG-AC-NP).

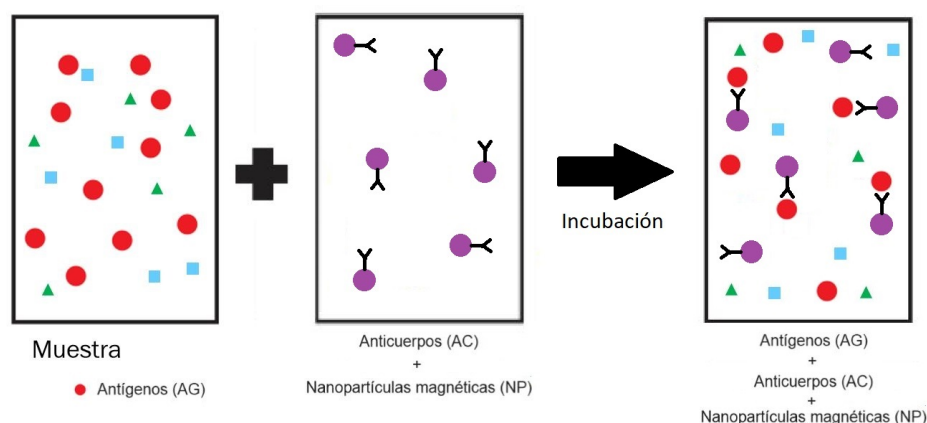


Figura 4: Diagrama del funcionamiento del sistema de diagnóstico de  $\mu MAGLAB$ . El primer recuadro simboliza la muestra del paciente. Los círculos rojos representan al analito de interés. El siguiente recuadro contiene la solución de NPM funcionalizadas con anticuerpos capaces de unirse al antígeno (complejo AC-NP). En el tercer recuadro, figura lo que se obtiene al incubar ambas soluciones juntas. La mayoría de los complejos AC-NP hallaron al antígeno (AG-AC-NP) pero se observan tanto complejos AC-NP como antígenos libres.

Posteriormente, se transportan estos complejos AG-AC-NP hacia el biosensor mediante la fuerza magnética que se ejerce sobre ellos al exponerlos a perfiles de campo magnético. Aquí, también serán transportados aquellos complejos AC-NP que no se hayan unido a una bacteria. Luego, es importante deshacernos de estos falsos positivos en lo posible. Por ello, se funcionaliza una superficie con la misma clase de anticuerpos mencionados previamente. Entonces, solo se unirán a la superficie aquellos complejos que contengan el antígeno. La figura 5 (a) muestra cómo sería esta superficie. No es menor aclarar que para ese



entonces no debería haber bacterias libres porque no actúa ninguna fuerza magnética sobre las mismas que las transporte hacia esta superficie.

El siguiente paso es lavar la superficie lo suficiente para eliminar los complejos AC-NP pero sin comprometer la unión de los complejos AG-AC-NP a la superficie, como se representa en el diagrama que se encuentra en la figura 5 (b). Por último, el sensor detecta los campos magnéticos que generan las NPM por sí solas por magnetorresistencia gigante. Es aquí cuando, de haberse unido una bacteria aislada que no formaba parte de un complejo AG-AC-NP, no generará campo magnético y por ende, no será detectada por el sensor.

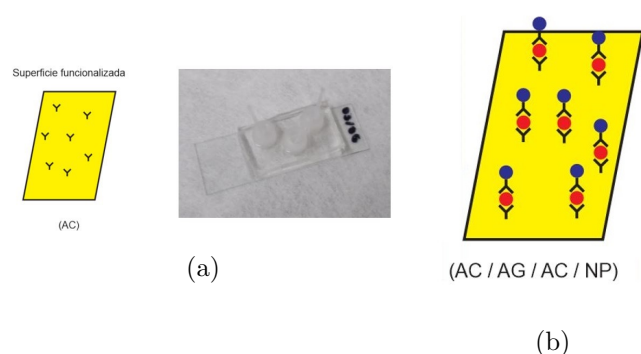


Figura 5: (a) Superficie funcionalizada con anticuerpos capaces de unirse a la bacteria STEC. A la izquierda, diagrama representando dicha superficie. A la derecha, imagen tomada de una superficie de esta naturaleza en la vida real. (b) Diagrama del funcionamiento del sistema de diagnóstico de  $\mu MAGLAB$ . Se muestra la superficie funcionalizada con los complejos AG-AC-NP unidos a ella luego del lavado.

Cabe destacar que el proyecto aún se encuentra en las primeras etapas de desarrollo. Lo que se presentó aquí fue el diseño del sistema de diagnóstico que se busca obtener al finalizar el proceso de desarrollo. Excluyendo el flujo de eventos, características del modelo planteado como el biosensor y su transducción aún no pueden tomarse como una certeza. En el presente trabajo se desarrolla una herramienta de transporte controlado de las NPM, capaz tanto de concentrarlas en una región específica del espacio como de movilizarlas en una dirección deseada. De este modo, se posee un sistema flexible con la capacidad de adaptarse a las necesidades que surjan posteriormente dentro del proyecto.

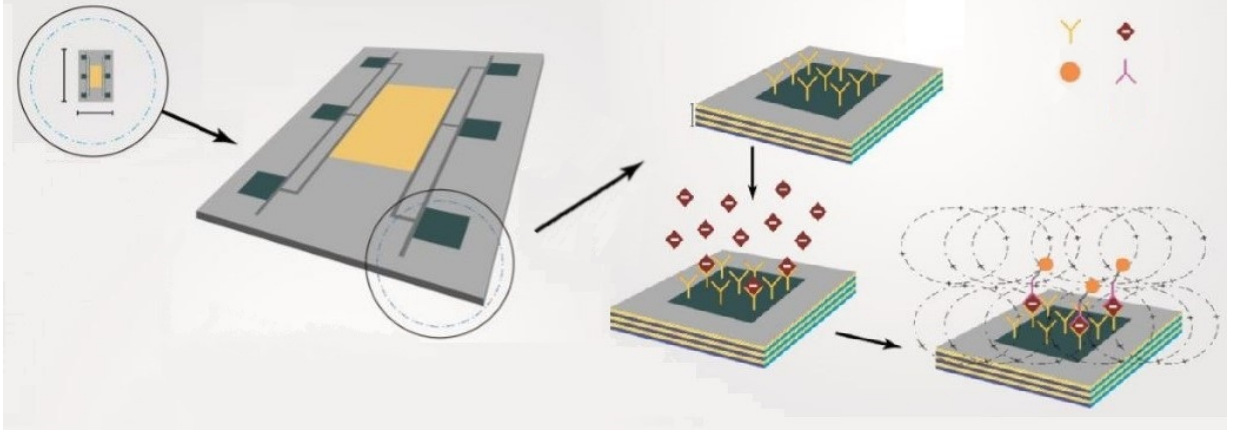


Figura 6: Diagrama del funcionamiento del sensor del sistema de diagnóstico de  $\mu\text{MAGLAB}$ . El primer símbolo en forma de Y de color amarillo representa al anticuerpo unido a la superficie. Para diferenciarlo, el anticuerpo unido a la NPM está invertido y es de color rosado. El rombo representa a la bacteria. El círculo representa a la NPM.

## 2.4. Campos magnéticos

La ley de Biot-Savart es una expresión a partir de la cual se obtiene el campo magnético en un punto dado del espacio en términos de la corriente que produce el campo y responde a la siguiente ecuación:

$$d\vec{B} = \frac{\mu_o}{4\pi} \frac{I d\vec{s} \times \vec{r}}{r^2} \quad (1)$$

En 1,  $d\vec{B}$  es el diferencial del campo magnético (marcando su dirección),  $\frac{\mu_o}{4\pi}$  equivale a  $10^{-7} \text{Wb/A.m}$ ,  $d\vec{s}$  es el diferencial de la corriente,  $\vec{r}$  es un vector que conecta el punto del espacio al cual se le está calculando el campo magnético con el punto sobre el conductor (elemento) siendo analizado en ese instante. Se destaca que:

- El vector  $d\vec{B}$  es perpendicular tanto a  $d\vec{s}$  como al vector  $\vec{r}$ .
- La magnitud del diferencial del campo magnético ( $dB$ ) es inversamente proporcional al módulo de la distancia  $\vec{r}$  al cuadrado.
- La magnitud  $dB$  es proporcional a la corriente y a la longitud del elemento ( $ds$ ).
- Depende del ángulo entre  $d\vec{s}$  y  $\vec{r}$  ( $\text{sen}\theta$ )

En el presente trabajo, la generación de campos magnéticos se consigue a partir de la circulación de corriente por cables de diámetro micrométrico y longitud del orden de los centímetros. El área de trabajo no supera los pocos milímetros en el centro de cada conductor. Luego, en dicha área el campo magnético con el cual se trabaja es comparable con el generado por un cable rectilíneo e infinito. Dicho campo magnético  $B$  está dado por la ecuación (2).

$$B = \frac{\mu_0 I}{2\pi R} \quad (2)$$

El campo se genera por la corriente  $I$  a una distancia perpendicular  $R$  del cable. Como se discutirá en la sección 2.7 (ecuación (16)), la fuerza magnética actuante sobre las NPM depende directamente del gradiente del campo. Dado que el sistema de transporte controlado de NPM se apoyará sobre la generación de esta fuerza, derivamos respecto a  $R$ , obteniendo la ecuación (3).

$$\frac{dB}{dR} = -\frac{\mu_0 I}{2\pi} * \frac{1}{R^2} \quad (3)$$

De la ecuación (3) se concluye que la derivada del campo decae con el cuadrado del radio. Por lo tanto, el gradiente aumenta cuanto más cerca se esté del cable.

## 2.5. Resistencia y calor en materiales metálicos

La resistencia eléctrica depende de distintos factores como el tipo de material, la longitud, la sección transversal y la temperatura. A su vez, cada material posee intrínsecamente una resistencia específica o resistividad. La relación entre resistencia y resistividad se observa en la siguiente ecuación:

$$R = \rho \cdot \frac{L}{A} \quad (4)$$

La resistividad se simboliza con la letra griega  $\rho$  y se mide en unidades de  $\Omega * m$ . La longitud del material se representa con la letra  $L$ , medida en  $m$  y  $A$ , en  $m^2$ , es su sección transversal. Está directamente relacionada con las vibraciones de las partículas internas y la composición atómica, entre otros aspectos microscópicos, y posee valores estandarizados a temperatura ambiente (20°C) para los diferentes materiales. Cuando no se presentan cambios significativos de temperatura, se utilizan estos valores constantes, y por lo tanto la resistencia de determinado conductor se calcula como constante también mediante la ecuación (4).

Por otro lado, en las ocasiones que sí se eleva la temperatura del material, aumenta la energía cinética de sus átomos (energía interna), lo cual genera una mayor probabilidad de choques entre sí. A escala macrométrica, esto se manifiesta como un aumento de la resistencia dado por la ecuación (5).

$$R(T) = R_o \cdot (1 \pm \alpha \cdot \Delta T) \quad (5)$$

Dado que se considera como temperatura inicial 20°C en la ecuación (5),  $R_o$  es la resistencia estandarizada,  $\alpha$  el coeficiente térmico a 20°C y  $\Delta T$  la magnitud del cambio de temperatura. Si ocurre un aumento, el último término será positivo y viceversa. En el caso del cobre,  $\rho_o = 1,7 \cdot 10^{-8}$  y el valor de  $\alpha = 3,9 \cdot 10^{-3} K^{-1}$ . El coeficiente térmico  $\alpha$  es una propiedad de los materiales que cuantifica la relación entre la variación de una propiedad física y el cambio de temperatura de un material. Es decir, es el cambio relativo de una propiedad física cuando la temperatura aumenta o disminuye en un 1 K.

### 2.5.1. Disipación de calor en circuitos de microelectrónica

El calor que se genera como consecuencia de las colisiones entre electrones en el interior de un conductor al circular corriente eléctrica y que eleva la temperatura del mismo es un fenómeno llamado Efecto Joule [39]. La potencia disipada por un conductor es igual a la diferencia de tensión entre sus extremos multiplicada por la corriente que lo atraviesa o, de manera equivalente, al producto entre la resistencia y el cuadrado de la intensidad de corriente que circula. A su vez, la potencia disipada por el tiempo transcurrido equivale a la energía disipada:

$$E = P.\Delta t \quad (6)$$

Microscópicamente, el Efecto Joule se calcula a través de la siguiente integral de volumen:

$$P = \iiint_V \vec{J} \cdot \vec{E} dv \quad (7)$$

Las dos magnitudes involucradas en el cálculo de la potencia en la ecuación (7) son el campo eléctrico ( $E$ ) y la densidad de corriente ( $J$ ).

Como la energía de la ecuación (6)) es térmica, se la denomina  $Q$ . Se puede calcular en base al cambio de temperatura mediante la ecuación:

$$Q = m.c.(\theta_f - \theta_i) \quad (8)$$

donde  $m$  es la masa del cuerpo,  $c$  su calor específico y  $\theta_f - \theta_i$  la diferencia entre las temperaturas final e inicial. El calor se transfiere por conducción, es decir por contacto, sin transferencia de materia. Se rige por la ley de Fourier, descrita en la ecuación (9).

$$C = -k.\nabla T \quad (9)$$

$C$  es la tasa de transferencia de calor sensible (si se considera una dimensión) o densidad de flujo de calor local (teniendo en cuenta las tres dimensiones),  $k$  es la conductividad térmica y  $\nabla T$  es la tasa de cambio de temperatura (una dimensión) o el gradiente de temperatura (tres dimensiones).

Según la referencia [40], la tasa de transferencia de calor en una dimensión está dada por la ecuación:

$$q_x = -k.A.\frac{\Delta T}{\Delta x} \quad (10)$$

donde  $q_x$  es la tasa de transferencia, considerando  $x$  como la dirección de la corriente y  $A$  es el área transversal del conductor.

Es necesario considerar que esta teoría tiene validez para grandes dimensiones y no puede ser automáticamente generalizada para una escala micro o nanométrica. Cuando se habla de microelectrónica, los conductores poseen dimensiones en la escala de los micrones o nanómetros y se deben tener en cuenta

posibles cambios en la conductividad térmica  $k$ . Esto sucede porque la relación de aspecto entre el ancho del cable  $L$  y la longitud media de camino libre de los electrones  $\lambda_{mfp}$  es menor que para dimensiones macroscópicas.

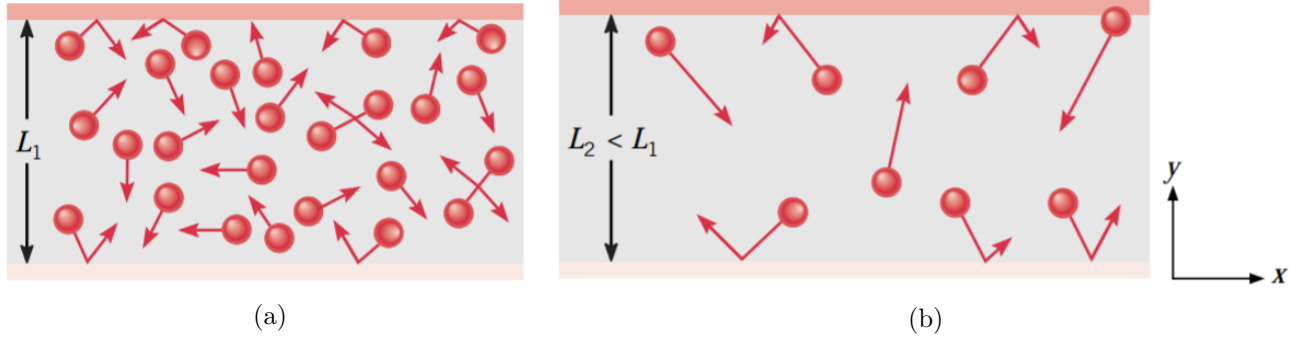


Figura 7: Trayectorias de electrones o fotones en una capa de material conductor: (a) relativamente ancha y (b) una relativamente fina, con presencia de efecto borde. Tomado de la referencia [40].

La figura 7 ilustra cualitativamente cómo los bordes físicos de los distintos conductores dispersan a los portadores de energía y redireccionan su propagación. Para valores grandes de  $\frac{L}{\lambda_{mfp}}$ , el efecto borde es menor. En cambio, para láminas delgadas de material se encuentra que disminuye la conductividad térmica al verse reducida la distancia neta que recorren los portadores de energía, especialmente en el eje  $y$ , entonces  $k_y < k_x < k$ .

Para valores de  $\frac{L}{\lambda_{mfp}} > 1$ ,  $k_x$  y  $k_y$  pueden ser estimados dentro de un 20 % con las siguientes expresiones:

$$\frac{k_x}{k} = 1 - \frac{2 \cdot \lambda_{mfp}}{3 \cdot \pi \cdot L} \quad (11)$$

$$\frac{k_y}{k} = 1 - \frac{\lambda_{mfp}}{3 \cdot L} \quad (12)$$

Las ecuaciones (11) y (12) muestran que los valores de  $k_x$  y  $k_y$  tienen un cambio menor al 5 % respecto de la conductividad térmica  $k$  si  $\frac{L}{\lambda_{mfp}} > 4,5$  para  $k_x$  y  $\frac{L}{\lambda_{mfp}} > 7$  para  $k_y$ .

## 2.6. Superparamagnetismo

Un material sometido a la presencia de un campo magnético puede ser clasificado de acuerdo al comportamiento que manifiesten los espines de los electrones en sus orbitales atómicos [22]. Las distintas clasificaciones del material según este criterio pueden ser: paramagnético, diamagnético, ferromagnético, antiferromagnético, ferrimagnético o superparamagnético [23].

Los materiales considerados paramagnéticos poseen átomos con momentos magnéticos netos, es decir, con electrones desapareados. Si no se aplica ningún campo magnético, los momentos se encuentran orientados al azar y la magnetización total del material es cero dado que los momentos individuales se cancelan unos a

otros. Al someter al material a un campo magnético externo, los espines de los electrones tienden a orientarse en la misma dirección del campo pero el movimiento térmico de los átomos tiende a oponerse. A causa de esto, no se presenta una alineación completa y cuando se retira el campo magnético externo, los espines de los electrones vuelven a su estado inicial de orientación al azar [24].

El fenómeno denominado ferromagnetismo considera la formación de pequeñas regiones dentro del material llamadas dominios que se encuentran magnetizadas espontáneamente. Las direcciones de magnetización de los dominios son tales que se cancelan unas a otras y por lo tanto el material no tiene un valor de magnetización neto. Bajo la influencia de un campo magnético, se produce la magnetización del material al alinearse los dominios paralelamente [25]. Los espines de los electrones en los átomos de este tipo de materiales presentan una tendencia a mantenerse alineados dentro de los dominios. En consecuencia, cuando se retira el campo, dichos dominios permanecen alineados conservando la magnetización adquirida.

El superparamagnetismo es un comportamiento magnético similar al paramagnetismo salvo que puede tener lugar a temperatura casi ambiente y se caracteriza por momentos magnéticos muy grandes [26][27]. Podría decirse que comparte características tanto con los materiales paramagnéticos como con los ferromagnéticos [28]. En la figura 8, puede destacarse que la curva del material superparamagnético se asemeja en forma a la del ferromagnético pero, al igual que la curva del paramagnético, pasa por el origen. Esto es debido a que los materiales superparamagnéticos se magnetizan de manera semejante a los ferromagnéticos pero a diferencia de éstos, no conservan remanencia magnética, por lo que no presenta el efecto de histéresis magnética. Su comportamiento podría compararse con el de un material paramagnético con un momento magnético muy grande dado que la susceptibilidad magnética de estos materiales es mucho más elevada que la de los materiales paramagnéticos.

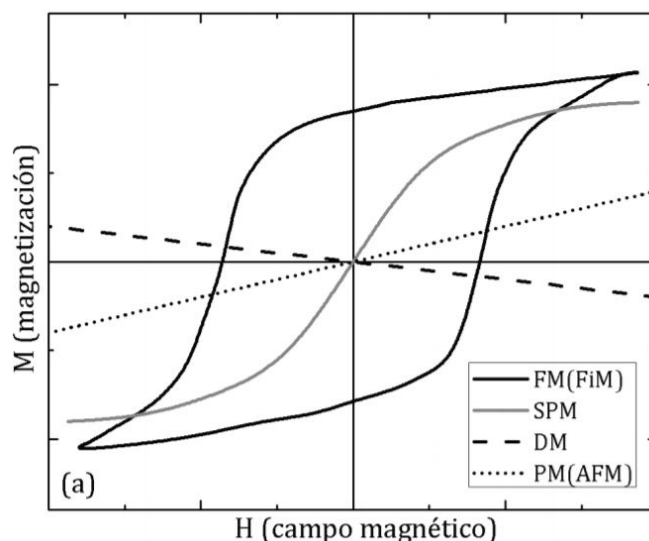


Figura 8: Esquema de la variación de la magnetización en función del campo magnético aplicado a diferentes materiales magnéticos: ferromagnético (FM), superparamagnético (SPM), diamagnético (DM) y paramagnético (PM). Tomado de la referencia [29].

Los materiales superparamagnéticos están caracterizados por una estructura de *multidominios magnéticos*, es decir regiones con orden magnético (donde los dipolos están orientados en la misma dirección), separados por paredes de dominios. Éstos se orientan disminuyendo lo más posible la energía total del sistema, haciendo que el material carezca de carácter magnético por sí mismo en ausencia de campo. Por el contrario, al exponerlo a un campo magnético, los dominios se alinean en la dirección del campo, dándole al material un carácter magnético.

### 2.6.1. Nanopartículas superparamagnéticas

Al disminuir las dimensiones del material superparamagnético, no se producen los multidominios divididos por paredes de dominios. Ya no es más energéticamente económico producirlos. Luego, el material superparamagnético se estructura de manera *monodominio* con anisotropía monoaxial (ver figura 9). Dada la dependencia dimensional de este fenómeno, es posible conocer el diámetro crítico ( $D_C$  en la figura 9) a partir del cual se tiene este comportamiento. Sin embargo, su cálculo no es trivial. Depende de múltiples variables como la magnetización de saturación, las dimensiones de la partícula, la anisotropía, la rigidez magnética e incluso las constantes elásticas del material. Dado que el diámetro crítico es siempre del orden de los nanómetros, se habla de NPM.

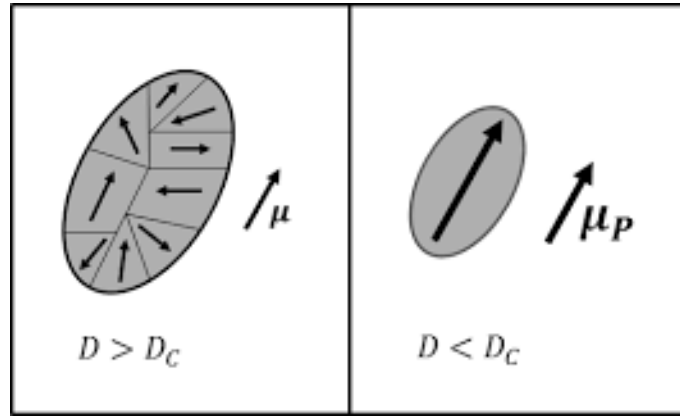


Figura 9: Esquema comparativo del momento magnético  $\mu$  de los materiales multidominio (izquierda) y monodominio (derecha). Las flechas simbolizan la orientación del momento magnético de cada dominio.  $D$ : diámetro del material.  $D_C$ : diámetro crítico. Tomado de la referencia [30].

En ausencia de un campo magnético externo, la orientación de su momento magnético presenta una fluctuación térmica que genera un movimiento browniano de la NPM. En presencia de un campo magnético externo, las dos orientaciones que minimizan la energía del sistema son la paralela y la anti-paralela al eje de magnetización fácil. Esto deriva del cálculo de la energía libre de cada NPM individual y no-interactuante con otras. Stoner y Wohlfarth [31] propusieron para la minimización de esta energía la ecuación (13).

$$E_B(\Theta) = KV \sin^2(\Theta) - \mu H \cos(\alpha - \Theta) \quad (13)$$

$K$  es la constante de anisotropía,  $V$  el volumen de la NPM,  $H$  el campo magnético externo al que está expuesta y  $\Theta$  y  $\alpha$  son los ángulos que forma el eje fácil de magnetización con el momento magnético y el campo magnético respectivamente. Luego, los mínimos energéticos se obtienen con  $\alpha = 0$  (paralela) y  $\alpha = \pi$  (antiparalela).

Entre las características de las NPM que las vuelven atractivas para su uso en el ámbito médico están su respuesta magnética rápida y fuerte, su baja toxicidad y el gran ratio superficie-volumen [32]. Las aplicaciones que utilizan NPM en medicina van desde la administración controlada de fármacos, el diagnóstico por imágenes mediante técnicas de MRI y PET y el tratamiento de tumores cancerígenos mediante la hipertermia a la separación magnética de entidades biológicas y la funcionalización con anticuerpos para biosensado [33]-[37].

Las NPM pueden sintetizarse mediante distintos procedimientos. Una forma de clasificarlos es según la fase de las nanopartículas. En fase gaseosa, pueden producirse ya sea en el vacío a altas temperaturas mediante la descarga de arco en gas como a presión atmosférica, con la descarga de arco en líquido o la pirólisis y deposición química de vapor (DQV). En fase líquida, los métodos que se destacan son el solvotérmico, el sol-gel y el método micela-microemulsión. En fase sólida, el método mecanoquímico que incluye un procedimiento de molienda [32] [38]. No cabe discutir el detalle de estos procesos para el desarrollo del presente trabajo.

## 2.7. Modelo de una NPM en solución bajo el efecto de diversas fuerzas

Una de las principales metas de este trabajo fue la consolidación de un modelo de que describa el comportamiento de una NPM en el dispositivo de LoC en desarrollo bajo el efecto de todas las fuerzas que actúan sobre ella.

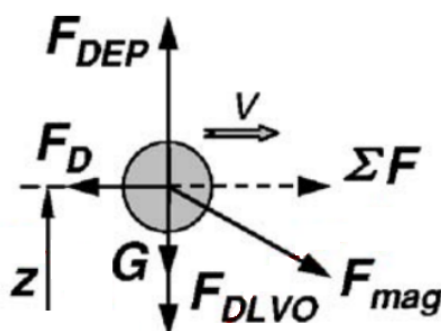


Figura 10: Fuerzas actuantes sobre la NPM en el modelo presentado.

La figura 10 fue tomada de la referencia [1]. Entre las fuerzas que actúan se destacan:

- *La fuerza de Derjaguin-Landau-Verwey-Overbeek ( $F_{DLVO}$ ):* Es una combinación de las fuerzas electrostáticas y la fuerza de Van der Waals que actúan sobre una partícula. Esta fuerza es muy dependiente



del pH, de la fuerza iónica y de las características superficiales tanto de la partícula en cuestión como del dispositivo. Dependiendo de la distancia de la interacción, puede ser sumamente atractiva o débilmente repulsiva. Cuando la NPM se adhiere a la superficie del dispositivo o varias de ellas se aglomeran, se lo suele atribuir a esta fuerza. Por esto es que se puede argumentar que es uno de los mayores obstáculos para el uso de NPM en dispositivos LoC.

- *La fuerza de arrastre en un fluido ( $F_D$ ):* Esta fuerza se opone al movimiento de la NPM. Está relacionada con el movimiento de una partícula idealmente esférica en un fluido viscoso que se traslada a bajo número de Reynolds, características típicas de los dispositivos microfluídicos. Depende de las propiedades del fluido, de las dimensiones de la NPM y de su velocidad relativa al fluido. Como las velocidades que alcanzan las NPM en dispositivos LoC son del orden de los nanómetros por segundo, se utiliza la expresión lineal:

$$\vec{F}_D = -b.\vec{v}_1 = -3.\pi.D.\eta.\vec{v}.f_D \quad (14)$$

donde  $D$  es el diámetro hidrodinámico de la partícula,  $\eta$  es la viscosidad del fluido,  $v$  es la velocidad de la partícula y  $f_D$  es el coeficiente de la fuerza de arrastre.

- *La fuerza magnética ( $F_{mag}$ ):* Las NPM utilizadas en el presente trabajo podrían ser consideradas multidominio debido a su tamaño, pero se estima que el campo al cual están sometidas se encuentra a una distancia que alcanza para estar en la condición de saturación. Por lo tanto, se puede tomar a cada partícula como un momento magnético uniforme. El movimiento de NPM debido a fuerzas magnéticas se denomina *magnetoforesis*. La energía magnética está dada por la siguiente ecuación:

$$U = -\vec{m}.\vec{B} \quad (15)$$

donde  $\vec{m}$  es el momento magnético de la partícula y  $\vec{B}$  el campo magnético. Luego, la fuerza magnética se obtiene mediante la ecuación (16). Nótese que la diferencia entre la primera y la segunda igualdad de la ecuación recae en que las partículas pueden tomarse como monodominio. Por lo tanto, la fuerza magnética varía con la variación del *gradiente* de campo magnético.

$$\vec{F} = -\vec{\nabla}(\vec{m}.\vec{B}) = -m\vec{\nabla}B \quad (16)$$

Esta fuerza magnética actúa sobre la partícula debido a que se generan campos magnéticos al hacer circular corriente a lo largo de un circuito de conductores (Ley de Biot-Savart) con una geometría diseñada. Así, se generan distribuciones de flujo de campo magnético que presentan picos y valles en puntos variables del espacio.

- *La fuerza dieléctrica ( $F_{DEP}$ ):* En la figura 10, aparece una cuarta fuerza que se genera al someter a la partícula a un campo eléctrico heterogéneo y alternante que genera una dielectroforesis. Ésta se describe de la forma:

$$F_{DEP} = 2 \cdot \pi \cdot \epsilon_0 \cdot \epsilon_m \cdot r_p^3 f \nabla E^2 \quad (17)$$

donde  $\epsilon_0$  es la constante dieléctrica o permitividad del vacío,  $\epsilon_m$  es la constante dieléctrica relativa o permitividad relativa del medio donde está suspendida la partícula,  $\nabla E$  es el gradiente del campo eléctrico y  $f$  es el factor de Clausius-Mossotti, que se obtiene mediante la ecuación (18).

$$f = \frac{\epsilon_p^* - \epsilon_m^*}{\epsilon_p^* + 2 \cdot \epsilon_m^*} \quad (18)$$

$\epsilon^* = \epsilon - \frac{i\sigma}{\omega}$  y  $\sigma$  es la conductividad compleja ya sea de la partícula como del medio. Este factor es un número complejo, por lo que posee una parte real y una imaginaria. La primera determina la fuerza dielectroforética, mientras que la segunda es un parámetro importante para el estudio de la rotación de la partícula sobre su propio eje.

Dada la posición relativa de la NPM respecto de los conductores (el desplazamiento de la NPM en el plano paralelo a los mismos es despreciable, puede considerarse que se encuentra *sobre* los conductores en todo momento), el único componente del campo magnético que ejerce un efecto sobre ella será el componente en el eje  $z$  (ver figura 10). Luego, el valor del campo magnético queda representado por la ecuación (19).

$$B_z = \frac{\mu_0 M}{2} \left( \frac{z + \frac{l}{2}}{\sqrt{R^2 + (z + \frac{l}{2})^2}} - \frac{z - \frac{l}{2}}{\sqrt{R^2 + (z - \frac{l}{2})^2}} \right) + B_0 \quad (19)$$

Al reemplazar la ecuación (19) en (16), se obtiene la ecuación (20).

$$F = \frac{\mu_0 M}{2} m R^2 \left( \frac{1}{(R^2 + (z + \frac{l}{2})^2)^{\frac{3}{2}}} - \frac{1}{(R^2 + (z - \frac{l}{2})^2)^{\frac{3}{2}}} \right) \quad (20)$$

La sumatoria de fuerzas actuantes sobre la NPM en el plano horizontal está dada por la ecuación (21). Cabe destacar que  $F_{DEP}$  y  $F_{DLVO}$  no se ven involucradas en los siguientes cálculos debido a que su injerencia es en el eje  $z$  (vertical).

$$\Delta F_{xy} = F_{mag} - F_D = m \frac{dv}{dt} \quad (21)$$

Simplificando la fuerza de arrastre a la multiplicación de un factor  $\gamma$  por la velocidad y operando, se arriba a la ecuación (22).

$$v(t) = \frac{F}{\gamma}(1 - e^{-\frac{\gamma}{m}t}) \quad (22)$$

La relación dimensional entre la NPM y la distancia entre ella y los conductores es mínima, por lo que puede tomarse la fuerza magnética como uniforme con un buen grado de aproximación. Luego, el factor  $\frac{F}{\gamma}$  puede tomarse como constante. La exponencial decae rápidamente según la constante de tiempo  $\tau = \frac{m}{\gamma}$ . De aquí se deriva que transcurrida una constante de tiempo, la NPM alcanza una velocidad límite igual a  $\frac{F}{\gamma}$ . Dado que la NPM es en un 99 % magnetita, el valor de la constante de tiempo está dado por la ecuación (23).

$$\tau \simeq 5 \times 10^{-6} s \quad (23)$$

Se observa que la constante de tiempo está en el orden de los microsegundos. Por lo tanto, se concluye que es adecuado considerar que la velocidad límite se alcanza de manera prácticamente instantánea.

### 3. Materiales y métodos

#### 3.1. Nanopartículas superparamagnéticas

Las NPM con las que se trabaja son de estructura *core-shell*. Esto significa que en el centro o *core* están compuestas de nanopartículas superparamagnéticas, ferro o ferrimagnéticas y que su carcasa o *shell* consiste de un material elegido para otorgarles propiedades deseadas, puede ser dióxido de titanio para otorgar actividad fotocatalítica o plata para otorgar actividad biocida. En nuestro caso, contienen magnetita ( $Fe_3O_4$ ) en su centro y están recubiertas con polietilenglicol (*PEG2000*). Fueron sintetizadas químicamente en el Centro Atómico Bariloche (CAB) a partir de un precursor sólido de magnetita.

Las NPM utilizadas están en el Centro Atómico Consistuyentes donde se desenvuelve gran parte de la investigación del proyecto. Se conservan en un refrigerador a 4 °C, dentro de un recipiente de tipo Eppendorf. La refrigeración de la solución de NPM es importante para evitar crecimiento de microorganismos, sobre todo porque puede comprometer la visibilidad que se necesita para la experimentación dado que sus dimensiones son del orden de las NPM o incluso en muchos casos mayores.

#### 3.2. Conductores

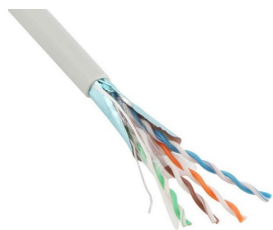


Figura 11: Cable de Red RJ-45 Jetlan 6+ categoría 6 con malla FTP.

Para los primeros prototipos, se utilizaron cables de bobina esmaltados de 100  $\mu m$  o 300  $\mu m$  de espesor. Luego, para las últimas matrices anteriores a la microfabricación, se extrajeron cables conductores de cable de red. En la figura 11, se muestra el interior de un cable de red. Contiene 4 pares rígidos de 23AWG. Se extrajeron los conductores trenzados. Estos cables de cobre internos tienen un diámetro de 0,5 mm (23 AWG). Están recubiertos por un aislamiento de polietileno que hace que su diámetro total aumente a 1 mm.

Luego, para los prototipos microfabricados, se depositó titanio y cobre. La diferencia de costo entre ambos es significativa. Sin embargo, aunque el cobre sea más económico, su adhesión al vidrio es pobre. Por esto, se deposita una fina capa de titanio entre el vidrio y el cobre. Los parámetros de red del titanio son similares a los del vidrio.

#### 3.3. Aislantes

El polidimetilsiloxano, mejor conocido por sus siglas PDMS, es un polímero lineal orgánico. Es prácticamente transparente, inocuo, inerte y no inflamable. Cuando se utiliza en procesos de microfluídica, se parte de PDMS en estado líquido y se le agrega un agente curador. Luego, se endurece ya sea de forma natural o de forma acelerada al calentarlo. El resultado es hidrofóbico, lo cual lo convierte en un buen material de aislación. De ser necesario que el líquido fluya por su superficie, requiere un último tratamiento de plasma que vuelve a la misma hidrofílica. En comparación con otras alternativas del mercado como la silicona pura,

el PDMS es notablemente más económico.

El barniz utilizado se adquirió en el mercado local. Es una alternativa simple y sumamente económica para la aislación de los conductores sin dejar de ser efectiva. Tiene propiedades hidrorrepelentes. Entre las diferencias más importantes en la elección de barniz y PDMS para la aislación de conductores, se destaca el espesor de la capa de aislación (mucho menor utilizando barniz) y la necesidad de utilizar un equipo especializado para la colocación homogénea de PDMS sobre una superficie.

### 3.4. Software

#### 3.4.1. Ansys

Ansys es un software de simulación diseñado por expertos en elementos finitos (para simulación de estructuras) y en dinámica de fluidos computacional (volúmenes finitos para simulación de fluidos) para resolver problemas de ingeniería en un entorno real. La empresa que lo desarrolló es Swanson Analysis Systems, Inc., fundada en 1970 [55].

El primer módulo consiste en un software de CAD para el diseño de las piezas. El segundo módulo es el de procesamiento. Aquí, se aplican múltiples estrategias de simulación. Entre ellas, el análisis de estructuras dinámicas y estáticas para problemas lineales y no-lineales, análisis de transferencia de calor y fluido-dinámica, análisis acústico y electromagnético [56]. Se destaca la asociación de estas tecnologías ya que los análisis se realizan de forma simultánea y hasta conjunta con cómputos integradores sin necesidad de cambiar de aplicación y con una secuencia de pasos muy reducida.

El tercer y último módulo es el de pos-procesamiento, en donde se exhiben los resultados obtenidos en el módulo anterior. Ésta es otra característica que hace sumamente atractiva la adopción de la herramienta. Una vez realizado el procesamiento, la plataforma ofrece múltiples formas de visualizar los resultados y de exportarlos para conservarlos. Posee una interfaz gráfica en donde se presenta el objeto diseñado por el usuario pero intervenido representando lo que se busca simular.

En la presente investigación, se utilizó principalmente el producto ANSYS Maxwell para el simulado de los campos magnéticos. Se realizaron también algunos modelos en ANSYS Fluent, Magnetostatic y Thermal-Electric, para simular la dinámica de fluidos, campos magnéticos estáticos y el efecto en la temperatura por circulación de corriente eléctrica. En el momento, no se disponía de ningún software de simulación que reconstruya una combinación de campos magnéticos y elementos magnéticos suspendidos en un fluido. He aquí la mayor limitación de nuestra simulación. ANSYS se encuentra entre las tecnologías de frontera para las problemáticas más tradicionales de ingeniería civil, eléctrica, física y hasta química pero no contempla este caso específico. Por lo tanto, fue necesario separar el magnetismo de la fluidica que en la práctica del presente trabajo se encuentran amalgamados.

### 3.4.2. KLayout

KLayout es un software de código abierto para el diseño, la manipulación y la verificación de máscaras con una calidad apta para producción. El software puede ser descargado de forma gratuita, es compatible con los sistemas operativos líderes del mercado como Mac OS, Linux y Windows y presenta una interfaz de usuario de fácil comprensión. De esta manera, compite en el mercado con otros softwares semejantes. Al abordarla por primera vez, se percibe como una herramienta simple, genérica, rápida y fidedigna. Sin embargo, consta de módulos más específicos para ciertas aplicaciones [57].

Permite hacer desde placas de circuito impreso para el ámbito de la electrónica y máscaras ópticas para usos diversos. Una de las aplicaciones más importantes que tiene es en el mundo de la fotolitografía, como es el caso del presente trabajo. Esto es posible debido a la alta precisión que tiene la herramienta para diseños complejos.

Trabaja con archivos de sistemas de datos gráficos (Graphical Data System files) cuya extensión es *.gds*. El lenguaje de programación utilizado es C++. Posee una plataforma de colaboración en GitHub para que los usuarios puedan aportar al desarrollo continuo de la aplicación.

### 3.4.3. ImageJ

ImageJ es un software de procesamiento y análisis de imágenes con Java desarrollado por las Instituciones Nacionales de Salud de los Estados Unidos (NIH). Por lo tanto, tiene una fuerte orientación hacia imágenes del ámbito de la salud. Consta de las herramientas clásicas para el procesado de imágenes como lo son las funciones lógicas y aritméticas entre imágenes, el suavizado, el manejo del contraste, la detección de bordes, entre otras. Sin embargo, gran parte de las funciones que lo diferencian de otros software de procesado de imágenes son los plugins desarrollados por usuarios que resultan más específicos para el ámbito de aplicación. Por ejemplo, existen plugins que permiten trabajar con imágenes en vivo de las células en tres dimensiones, imágenes radiológicas y hasta imágenes de hematología.

### 3.4.4. Python

Python es un lenguaje de programación interpretado, dinámico y multiplataforma desarrollado por la organización Python Software Foundation sin fines de lucro. Python a su vez es un lenguaje multiparadigma ya que en él conviven muchos estilos de programación, como lo son la programación orientada a objetos, la programación imperativa y la programación funcional. Su objetivo principal es poner la menor cantidad de límites posibles e incentivar una redacción de código intuitiva que se asemeje lo más posible a un flujo de decisiones redactado por escrito.

Recientemente, la compañía Google lanzó un proyecto orientado a la investigación apoyado en este lenguaje de programación llamado Google Colaboratory (Colab). Mediante una aceptada interoperabilidad con Google Drive y ofreciendo un entorno de programación remoto, el poder de procesamiento de esta herramienta y su potencialidad han hecho que la popularidad de Colab crezca a ritmo acelerado.

Colab es totalmente gratuito y no requiere que el usuario instale ninguna aplicación en su computadora personal. El único requerimiento para su uso es el de tener una cuenta de Google. El código de los usuarios está dividido en *notebooks*. Éstos son una lista de celdas que pueden contener ya sea texto explicativo o código ejecutable. Como gran parte de las herramientas de Google, permite que múltiples usuarios accedan a un mismo notebook y le ofrece al propietario de éste la posibilidad de definir qué usuarios pueden editar contenido y cuáles sólo pueden leerlo. Al ser un servicio en la nube, puede ser utilizado desde cualquier sistema operativo.

Colab permite la importación de las librerías más comúnmente utilizadas en el campo del datascience para que el usuario pueda hacer uso de funcionalidades desarrolladas en las mismas. Entre ellas, está NumPy, una extensión de Python que permite trabajar con matrices y vectores de alta complejidad matemática. Matplotlib es otra librería de Python que permite graficar datos a partir de listas o arreglos (arrays). A su vez, Python tiene una librería especialmente dedicada a la manipulación de imágenes de distinto formato llamada Python Imaging Library (PIL). Para un procesamiento de imágenes más avanzado, Python ofrece la librería SciKit-Image (skimage) que está conformada por un conjunto de algoritmos desarrollados por una comunidad de voluntarios.

También, el usuario puede optar por la instalación de librerías para su posterior importación que no forman parte del conjunto de librerías preinstaladas. Una de estas librerías es la Insight Toolkit (ITK). Ésta ofrece un conjunto de herramientas de procesamiento, segmentado y registración de imágenes científicas de dos, tres o incluso más dimensiones. Visualization Toolkit (VTK) es una librería para la manipulación y visualización de datos e imágenes del mundo de la ciencia.

### 3.4.5. SolidWorks

SolidWorks es un software de CAD. Como tal, tiene como objetivo principal permitirle al usuario crear y modificar diseños de piezas y conjuntos bidimensionales y tridimensionales. Fue desarrollado por la corporación SolidWorks Corp. que forma parte de la sociedad anónima francesa Dassault Systèmes.

Entre muchas de las ventajas que ofrece frente a otras alternativas del mercado, SolidWorks permite realizar planos técnicos de los diseños de una forma muy simple dando resultados de alto profesionalismo. También posee un entorno de simulación que es explotado principalmente por profesionales de la ingeniería mecánica y la civil. A su vez, ofrece un análisis predictivo del impacto medioambiental de la producción de la pieza diseñada.

Uno de los formatos de exportación de las piezas diseñadas con este software es el de lenguaje de triángulos estándar (Standard Triangle Language, STL), haciendo referencia a la representación de las piezas mediante el mallado triangular estándar. Este formato es uno de los más comúnmente aceptados por los software de apoyo de las impresoras 3D. Un archivo .stl carece de color y textura. Representa la forma tridimensional de la superficie de un objeto. De forma semejante a otras herramientas de modelado digital, SolidWorks permite ajustar la resolución del mallado al momento de exportar la pieza en este formato. Un archivo de baja resolución resultará en una pieza de baja calidad. Sin embargo, un archivo de muy alta

resolución se vuelve difícil de manejar ya que es costoso computacionalmente y afecta proporcionalmente el tiempo que toma la impresión.

### 3.5. Microfabricación

Dado que el proyecto se encontraba en etapas tempranas, se diseñó un prototipo cuya resolución no resulte limitante para el desenvolvimiento de las otras áreas del equipo y que permita una buena visualización de la dinámica de las NPM. Las técnicas de microfabricación permiten no sólo disminuir la escala de trabajo sino también estandarizar el proceso de producción del prototipo para el transporte controlado de NPM. Es necesario llevar a cabo los procedimientos de esta naturaleza en ambientes controlados como el de una sala limpia ya que al trabajar con dimensiones tan reducidas, las partículas suspendidas en el aire pueden afectar la calidad del resultado.

#### 3.5.1. Sala limpia

La sala limpia del CAC (SL-CAC) está equipada para el diseño, la simulación, la microfabricación y la caracterización de dispositivos MEMS. Tiene  $120\text{ m}^2$ . Existen diversas formas de categorizar la limpieza en cuanto a las partículas en el aire para las salas blancas y las zonas limpias. Según la clasificación del estándar federal 209E de los Estados Unidos, se encuentra entre la clase 100 y la clase 1000. Para ser clase 1000, no pueden haber más de 7 partículas de diámetro mayor a  $5\text{ }\mu\text{m}$  ni más de 1000 partículas de diámetro mayor a  $0,5\text{ }\mu\text{m}$  en un pie cúbico. La clase 100 es más exigente. No pueden haber partículas de diámetro mayor a  $5\text{ }\mu\text{m}$  y en un pie cúbico, no pueden haber más de 100 partículas de diámetro mayor a  $0,5\text{ }\mu\text{m}$ , 300 de diámetro mayor a  $0,3\text{ }\mu\text{m}$  y 750 de diámetro mayor a  $0,2\text{ }\mu\text{m}$ . La clase 100 es equivalente a la clase 5 de la norma ISO 14644-1, y la 1000 a la clase 6 [58].

Para cumplir con estas exigencias, la sala es acondicionada por un equipo diariamente y se le realiza además una limpieza más profunda al finalizar la semana. A su vez, las personas deben seguir un protocolo de uso de la sala limpia para no contaminarla. Las manos de una persona tienen entre 100 y  $1.000\frac{\text{bacterias}}{\text{cm}^2}$ . La frente entre  $10.000$  y  $100.000\frac{\text{bacterias}}{\text{cm}^2}$ , el cuero cabelludo alrededor de  $1.000.000\frac{\text{bacterias}}{\text{cm}^2}$ , la secreción nasal alrededor de  $10.000.000\frac{\text{bacterias}}{\text{g}}$  y la saliva puede superar las  $100.000.000\frac{\text{bacterias}}{\text{g}}$  [59]. Por esto, primero se ingresa descalzo a una antesala dividida en dos mitades. En la figura 12, se incluye una imagen tomada del ingreso a la misma. Se comienza por colocarse un barbijo y una cofia. Luego, se cubren las prendas con un traje enterizo que va de pies a cabeza. Una vez puesto el traje, se cruza a la otra mitad de la sala, donde se coloca un par de cubrepies, calzado especial y guantes. De esta forma, la persona entra completamente cubierta.





Figura 12: Imagen tomada de la entrada a la SL-CAC. La única puerta es la de la izquierda que lleva a la antesala. Se observa a un técnico dentro de la antesala dirigiéndose hacia la puerta que lleva a la SL-CAC. Tomada de la referencia [60].

La sala se mantiene siempre a presión positiva, de forma que de haber flujo de aire no controlado, éste siempre sea de egreso. Si se necesita ingresar algún elemento o equipo a la sala limpia, primero debe ser debidamente desinfectado y luego, se tienen dos *pass-through*. Un *pass-through* consiste en un pequeño espacio en la pared similar a un estante con doble compuerta para evitar el ingreso de flujo de aire del exterior a la sala.

### 3.5.2. Mesada de litografía

La mesada consta de un lavador ultrasónico TESTLAB, modelo TB010. Vibra a una frecuencia de 40kHz con 400 W de potencia. También posee una pistola rinser de 18  $M\Omega$  que se utiliza con agua desionizada (DI). Por último, se tiene una pistola de aire comprimido.

### 3.5.3. Fotolitografía

Los patrones que componen a un diseño de esta naturaleza tienen dimensiones micrométricas y pueden ser sumamente complejos. Luego, no es trivial su materialización. La fotolitografía es uno de los métodos más utilizados y de menor complejidad disponibles en el mercado para llevar esto a cabo.

El prefijo *foto* indica luz. El prefijo *lito* proviene del griego y significa piedra. El sufijo *grafía* proviene del latín y simboliza la representación gráfica, generación de imágenes o derivados. La fotolitografía es el proceso para la transferencia de un patrón a la superficie de una oblea mediante la exposición controlada de luz.

En primer lugar, se necesita una máscara fotográfica o fotomáscara. Ésta consiste de una fina capa de material foto-opaco denominada película sobre un sustrato de contención transparente. El material foto-opaco se dispone de manera controlada, formando un patrón de transparencia. El sustrato de contención suele ser sílice fundido, vidrio o cuarzo mientras que el material foto-opaco es un metal cromado. Los patrones fueron diseñados en KLayout. La fabricación de la máscara no compete al presente trabajo.

Luego, sobre una oblea se vierte una fotoresina. Esta clase de resina cambia sus propiedades físicas y químicas ante la exposición a la luz y al calor. Las fotoresinas se dividen en dos grandes grupos según cómo se produce esta transformación. Una fotoresina es *positiva* cuando se vuelve más soluble ante la exposición a la luz y es *negativa* cuando se endurece ante la misma. En la figura 13, se presenta un diagrama representativo.

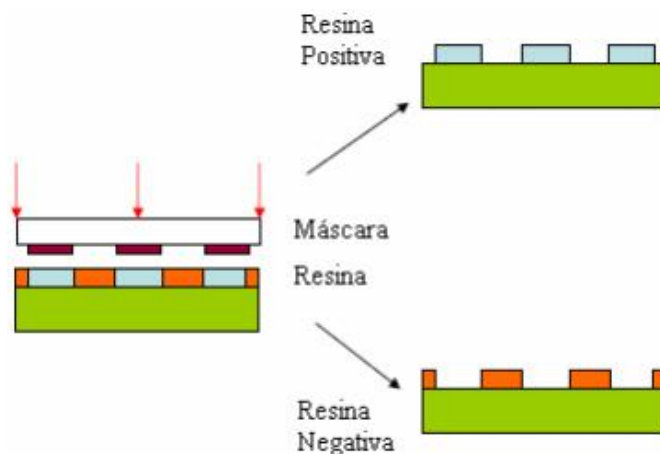


Figura 13: Diagrama representativo de la diferencia entre una fotoresina positiva y una negativa y cómo se transfiere el patrón de la máscara.

En ambos casos, el sustrato se almacena en forma líquida. Durante su colocación, es crucial que la resina alcance la *energía de activación* que la endurece de forma controlada. Mediante una secuencia de procedimientos, que consiste en protegerla de la exposición de la luz durante unos minutos mientras se seca, la exposición a luz ultravioleta durante un tiempo y con una intensidad previamente determinados, el horneado y la remoción de fotoresina líquida, se consigue grabar sobre la superficie de la oblea el patrón de la máscara. El orden de estos procedimientos y su duración varían de una fotoresina a la otra, y del objetivo que se tenga (por ejemplo, generar una capa de cierto espesor o altura). La SL-CAC consta de un repositorio de recetas indicando la secuencia específica que debe utilizarse para distintos casos de aplicación.

Las máscaras se clasifican en máscaras de campo claro para resinas negativas y de campo oscuro para resinas positivas. Una diferencia importante entre ellas es que cuando se tiene una máscara de campo oscuro, se dificulta la alineación de la máscara con el prototipo porque compromete la visualización con el microscopio de las marcas de alineación.

En el CAC, se dispone de un EVG-620, como se muestra en la figura 14. Este equipo es un alineador de máscaras para litografía de una o dos caras [61]. Para el revelado de la fotoresina, utiliza radiación UV de 300 W de potencia con un haz plano de 6". Consta de un microscopio de alta definición con una cámara digital de tecnología CCD (Dispositivo de Carga Acoplada) con su propio display.

Dado que el material de la máscara y el fin para el cual está intencionada determinan la fragilidad de la misma, el equipo utilizado posee distintos modos. Se tiene contacto suave y contacto fuerte. También diferentes parámetros de proximidad.

Para la alineación, tiene un sistema de movimiento hidráulico. El proceso puede realizarse en modo semiautomático requiriendo un posicionado manual de la oblea o totalmente automático con un sistema motorizado. La resolución de la alineación es del orden de  $0,5 \mu m$ .



Figura 14: Imagen tomada del alineador de máscaras EVG620 del CAC.

Nótese en la figura 14 que la iluminación de la sala de litografía tiene un tono amarillento. Detrás del equipo, se tiene una ventana que da a otra sala dentro de la SL-CAC. En el resto de las salas dentro de SL-CAC, la iluminación es de luz blanca tradicional. Esto se debe justamente al uso de fotoresinas en estado líquido dentro de la sala de litografía, para evitar su activación prematura. La iluminación es de baja potencia y es filtrada para reducir la emisión de luz de menos de 500 nm de longitud de onda. Esto incluye a la luz ultravioleta y a la luz azul visible. Es esta última privación la que produce el efecto percibido a simple vista de una iluminación amarillenta.

#### 3.5.4. Spin coating

El revestimiento por rotación o *Spin Coating* consiste en la colocación de un sustrato líquido sobre una superficie plana a recubrir y su distribución uniforme a lo largo de la misma mediante el giro del soporte de la muestra con una velocidad angular controlada. La fuerza centrífuga desplaza gran parte del sustrato desde centro hacia los bordes de manera radial. Sin embargo, se produce una distribución homogénea debido a que dicha fuerza depende de la distancia al centro, por lo que no actuará la misma fuerza a lo largo de toda la superficie. De esta forma, se genera una película cuyo espesor depende de la velocidad angular y el tiempo que dure el proceso.

En la presente investigación, se utilizó un G3P SPINCOAT de Specialty Coating Systems Inc. para la distribución de las fotoresinas sobre los distintos prototipos. Dado que los parámetros de tiempo y velocidad dependen de la resina que se utiliza y del espesor que se busca, es importante contar ya sea con experiencia

o con una referencia para poder llevar a cabo un revestimiento de forma exitosa. Se utilizó un recetario propio de la SL-CAC, elaborado a partir de la conjunción del trabajo de sus especialistas.

### 3.5.5. Hot plate

Un hot plate es un anafe eléctrico de temperatura monitoreada con un controlador digital de lazo simple mediante un microprocesador. La SL-CAC posee un dispositivo del modelo TLK 49 de la compañía italiana Tecnologic. Es posible precargar conjuntos de parámetros bajo el nombre de recetas. En la presente investigación, se lo utiliza para el cocido de las fotoresinas, ya sea antes o después de la exposición a la radiación UV.

### 3.5.6. Sputtering

La pulverización catódica o *sputtering* es un procedimiento para el depósito de películas metálicas sobre la superficie de un objeto de dimensiones reducidas. En el presente trabajo, se utilizó la técnica sobre obleas y portaobjetos de vidrio. El espesor de estas capas delgadas es del orden de los nanómetros.

La técnica consiste en la vaporización de un sustrato metálico denominado blanco, de donde se desprenden átomos metálicos en estado gaseoso. La vaporización se consigue mediante el bombardeo del blanco con iones energéticos. Es necesario trabajar a muy baja presión para alcanzar el estado gaseoso parcial del metal. El gas se condensa al entrar en contacto con la superficie a metalizar.

La SL-CAC consta de un equipo de la empresa AJA Internacional, modelo ATC ORION Series. Éste permite depositar multicapas de hasta cinco materiales sobre obleas de hasta 4". Para esto, tiene una cámara de ultra alto vacío (UHV) y un generador magnetrón de 750 W de potencia DC y 300 W de RF. En la figura 15, se muestran imágenes del equipo descripto.

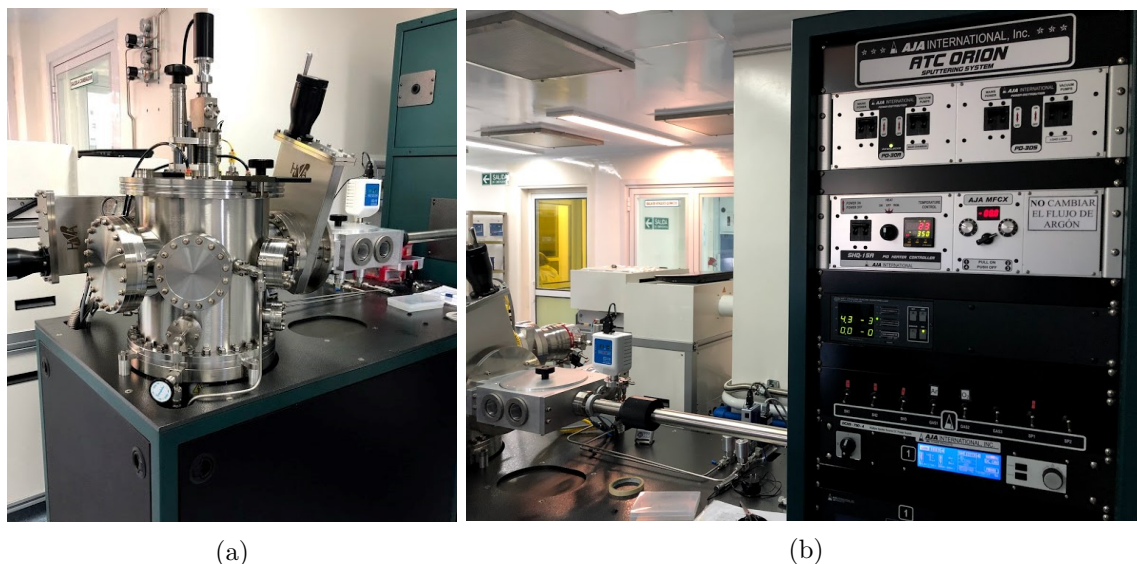


Figura 15: Imágenes tomadas dentro de la SL-CAC del equipo de sputtering. Consta de (a) una cámara de UHV donde se coloca la muestra y (b) un panel de control accionado por el usuario.

### 3.5.7. Lift-off y Ataques químicos

Estos procesos buscan crear estructuras en forma de un patrón determinado de un material específico sobre un sustrato (patterning). Ambas técnicas utilizan una capa de sacrificio que protege parcialmente al sustrato del material con el que se busca realizar el patrón.

En el proceso de *lift-off*, la capa de sacrificio es la fotoresina. Se la coloca directamente sobre el vidrio y se realiza el proceso de fotolitografía. Luego, una capa de metal es depositada por sputtering. La creación del patrón se observa al retirar la fotoresina cubierta de metal. La única porción de metal que permanece es la que fue depositada de forma directa sobre el sustrato. Para esto, se sumerge al dispositivo en acetona. Se utilizó el artículo 702110 de los *Laboratorios Cicarelli*.

En el ataque químico o *etching*, primero se deposita el metal mediante la técnica de sputtering y luego se lo protege parcialmente al colocar una fotoresina y transmitirle el patrón deseado por fotolitografía. Una vez curada la fotoresina, se procede a atacar el metal. Para esto se utiliza un ácido cuya naturaleza varía según qué metal se esté atacando. En la presente investigación, se utiliza ácido acético para atacar al cobre y ácido fluorhídrico para atacar al titanio. El ácido fluorhídrico utilizado fue el artículo 144110 de los *Laboratorios Cicarelli*. Estos ácidos no consiguen atacar a la fotoresina con la misma rapidez con la que consumen al metal, por lo que el metal cubierto por ésta no es removido. El factor tiempo de exposición es crucial para este proceso ya que de dejar a la fotoresina expuesta al ácido por demasiado tiempo, éste terminaría consumiéndola y atacando al metal subyacente.

### 3.5.8. Electroplating

La técnica de electroplating consiste en realizar un proceso de electrólisis en donde se deposita metal sobre una superficie ya metálica. No es necesario que sea el mismo metal pero sí que sea capaz de conducir corriente. Se sumerge dicha superficie en una solución acuosa junto con un ánodo de sacrificio y se hace circular una corriente entre éste y la superficie a metalizar.

El espesor  $t$  de la capa de metal depositada se calcula mediante la ecuación (24).

$$t = \frac{C.M.T}{\delta.A.F.n} \cdot \eta \quad (24)$$

El tiempo  $T$  y la intensidad de corriente  $C$  requeridos se deciden de acuerdo al espesor de metal que se quiere depositar, teniendo en cuenta la fórmula correspondiente. La misma depende además de  $M$  (masa molecular del cobre [kg/mol]),  $\delta$  (densidad del cobre [kg/m<sup>3</sup>]),  $A$  (área donde se va a depositar [m<sup>2</sup>]),  $F$  (constante de Faraday [C/mol]),  $n$  (número de oxidación del cobre en CuSO<sub>4</sub>) y  $\eta$  (rendimiento). Cabe aclarar que el espesor resultante es en metros, la corriente en amperes y el tiempo se incluye en segundos.

### 3.5.9. Dicer

Para la separación de los prototipos, se disponía de un DAD3240 de la compañía DISCO. Este equipo contiene una sierra manejada de forma semi-automática. Esto es, el punto de partida, la dirección y la longitud del corte son definidos por el usuario pero dicha definición es asistida por una pantalla LCD táctil y una interfaz de usuario. El corte se realiza luego de forma automática. En el anexo (sección 7.4), se incluye un vídeo del equipo en funcionamiento.

Las obleas de vidrio no son perfectamente circulares. Carecen de una porción pequeña del círculo, denominada *flap*. Ésta es una arista recta cuya función es la de permitir una buena alineación de la oblea. Equipos como el dicer cuentan con ella para alinear a las obleas al momento de realizar el corte.

### 3.5.10. Aislación

La aislación es el último proceso de la fabricación, que deja al dispositivo en condiciones para su utilización. Es indispensable separar los conductores entre sí ya que al utilizar las NPM en solución acuosa, si no se aislara el prototipo, el agua dejaría a todos los conductores en cortocircuito. Para llevar a cabo dicho proceso, algunos dispositivos fueron recubiertos con PDMS y otros con barniz transparente.

## 3.6. Electrónica

La fuente de corriente utilizada es de la marca Agilent, modelo E3634A. Trabaja entre 0 y 25 V y entre 0 y 7 A o bien entre 0 y 50 V y entre 0 y 4 A. Es digital, por lo que permite mayor precisión.

El soldador es de marca Weller y al encenderse, se calienta mediante una corriente de 315 mA. Se utilizó pasta de soldar, compuesta principalmente de aleación de estaño microgranulado (25 a 75  $\mu\text{m}$ ) mezclado

con flux. Su aplicación más usual es para soldar componentes de montaje superficial.

### 3.7. Impresión 3D

La impresora 3D utilizada es del tipo Prusa mk2, como se observa en la figura 16. Utiliza el método de modelado por deposición fundida (FDM, por sus siglas en inglés) de filamentos termoplásticos. Consiste en una cama caliente sobre la cual se realiza la impresión, un extrusor que deposita el filamento, un sistema electromecánico que posiciona adecuadamente al extrusor y un procesador con un software de control que interpreta el archivo .STL que se ingresa. Además, el extrusor está formado por una resistencia que calienta el barril donde se encuentra el termoplástico para fundirlo, un recubrimiento aislante para evitar que el filamento se adhiera al interior y bloquee la salida de material, y una boquilla por la cual es depositado.

En este caso, se utilizaron carretes de ácido poliláctico (PLA) de color negro y celeste. Este material es un plástico derivado del maíz o la caña de azúcar. Su comportamiento y resistencia son similares a los del PET pero a diferencia de éste, es biodegradable. El PLA es uno de los materiales más comunes en la tecnología de impresión 3D ya que es fácil de imprimir, no tóxico, posee casi nula deformación térmica y los resultados que se obtienen son altamente resistentes [62]. La temperatura recomendada para la boquilla extrusora es de  $215^{\circ}\text{C}$  y para la plataforma entre  $50$  y  $60^{\circ}\text{C}$ .

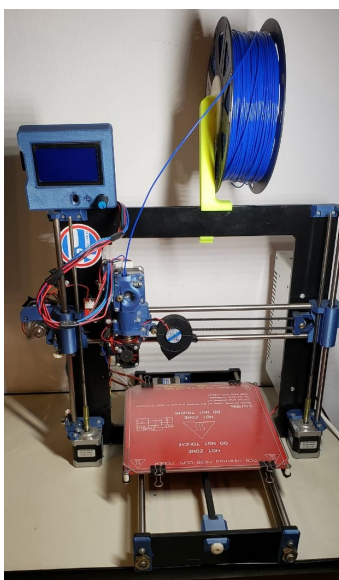


Figura 16: Imagen tomada de la impresora 3D utilizada.

### 3.8. Métodos para análisis y estudio

#### 3.8.1. Interferometría óptica

La interferometría es un método de medición de alta precisión que utiliza como principio básico de funcionamiento el fenómeno físico de interferencia constructiva y destructiva de las ondas. Se proyectan dos



rayos de luz y se forma un patrón de interferencia al superponerlos. Dado que la longitud de onda de la luz visible es corta (del orden de los  $nm$ ), se pueden detectar pequeñas variaciones en la distancia óptica recorrida. El patrón de interferencia se presenta como una serie de franjas blancas y negras alternadas. Las primeras corresponden a la interferencia constructiva, en la que los dos rayos de luz coinciden en fase. Esto sucede en los múltiplos de la longitud de onda de la fuente. Por otro lado, las franjas oscuras hacen referencia a la interferencia destructiva. El espaciado entre las mismas corresponderá a la diferencia de trayectoria óptica entre ambos rayos [63]. En todo caso, para realizar una medición confiable, se debe observar en el microscopio, una serie de bandas paralelas y bien definidas, donde se deben contabilizar entre 3 y 5 pares de franjas.

En este caso, el equipo utilizado fue el perfilómetro óptico Wyko NT1100 de la marca Veeco (figura 17), con su software de visualización correspondiente Wyko Vision 32. Proporciona mediciones tridimensionales de perfil de superficie sin contacto con el prototipo. La fuente de luz que utiliza es una lámpara halógena de tungsteno, por lo que su rango de emisión está entre los 350 y 950nm. Posee distintos parámetros ajustables, como la intensidad de la luz, aumento del microscopio, campo de visión, modo de toma de datos y graduación de la inclinación tanto en el eje X como el eje Y [64].

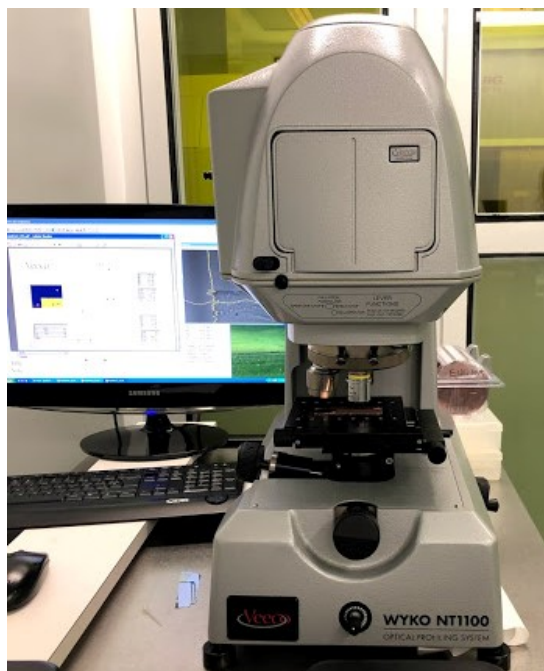


Figura 17: Imagen tomada del perfilómetro óptico utilizado, Veeco Wyko NT1100.

### 3.8.2. Microscopios ópticos

Dado que se trabaja en escalas micro y nanométricas, es necesaria la utilización de microscopio óptico para observar y caracterizar los prototipos a cada paso de la microfabricación y durante la realización de los diferentes experimentos. Se utilizaron tres microscopios diferentes a lo largo del desarrollo de este



trabajo. Dos de ellos son marca Leica. Uno está ubicado fuera de la sala limpia, tiene menor resolución y a diferencia de los otros dos, no cuenta con una cámara integrada para el registro de lo observado. Dentro de la sala, se utilizó principalmente el modelo DM 2700. En la figura 18 (a), se incluye una imagen tomada durante la caracterización del prototipo final. Es un microscopio trinocular con cuatro objetivos de aumento acromáticos: 5x, 10x, 20x y 50x. Además, un objetivo macro de 0.7x que permite observar 40mm a simple vista, lo cual es de utilidad para orientarse rápidamente dentro de la muestra. Cuenta con iluminación LED de alta potencia, la cual provee una temperatura de color constante a 4500 K para todos los métodos de contraste (campo oscuro, campo claro, interferencia diferencial, polarización y fluorescencia) [65]. Posee una cámara de la misma marca, modelo dfc 450 c. La compañía productora pone a disposición del cliente un software para la recepción, visualización y el procesamiento de imágenes con el microscopio.

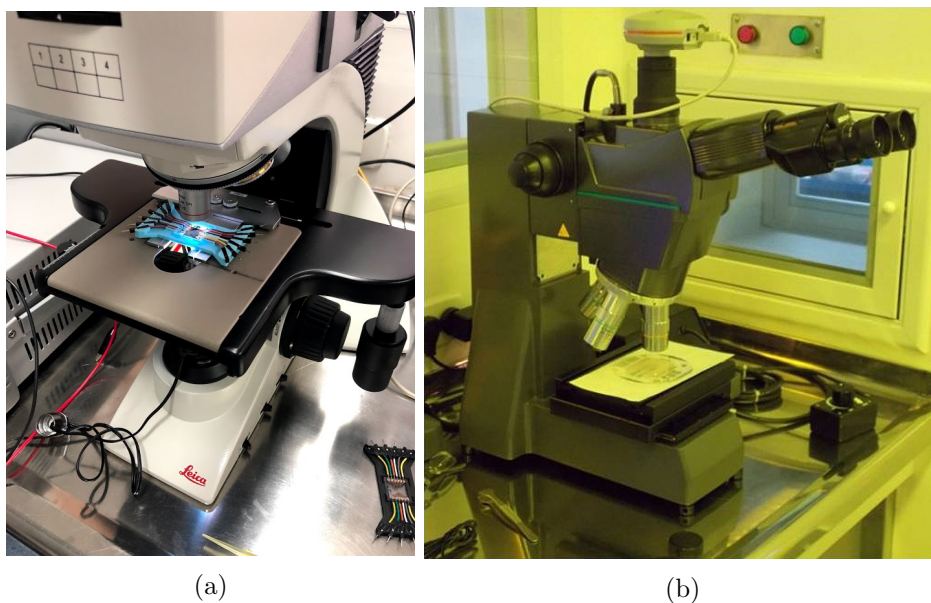


Figura 18: Imágenes tomadas dentro de la SL-CAC: (a) el microscopio Leica y (b) el microscopio MITUTOYO de la sala de litografía.

Dentro de la sala de fotolitografía de la SL-CAC, se tiene un microscopio de la marca MITUTOYO, con objetivos de 10x, 20x y 50x. Posee una cámara CMOS integrada. Se incluye una imagen tomada del mismo en la figura 18 (b).

### 3.8.3. Microscopio electrónico de barrido

La microscopía electrónica de barrido (SEM) es una técnica para la generación de imágenes que se basa en la interacción de electrones con la materia. Fue desarrollada en 1937 por Manfred von Ardenne, quien se basó en la investigación de Max Knoll de los años treinta. Consiste en la emisión de un haz de electrones y el sensado de aquellas partículas que regresan tras interaccionar con la materia. Es necesario que la muestra a estudiar sea recubierta por un material denso como el carbono, el oro o algún otro metal

para volverla conductora. Para sensar los electrones reflejados, se utiliza un sistema de electroimanes. Según cuántos electrones fueron reflejados y de qué manera, se puede obtener información sobre la naturaleza de la materia. Los resultados se procesan para una reconstrucción tridimensional de la información aportada en forma de figura digital a partir de la cual se pueden obtener imágenes. Su resolución varía entre los 0,4 y los 20  $\mu m$  [66].

El microscopio utilizado para capturar las imágenes de microscopía electrónica de barrido está ubicado en la sala de nanofabricación del CAB. Es el modelo XL30/TMP LaB6 de la compañía de microscopía FEI, como puede observarse a la derecha de la figura 19.

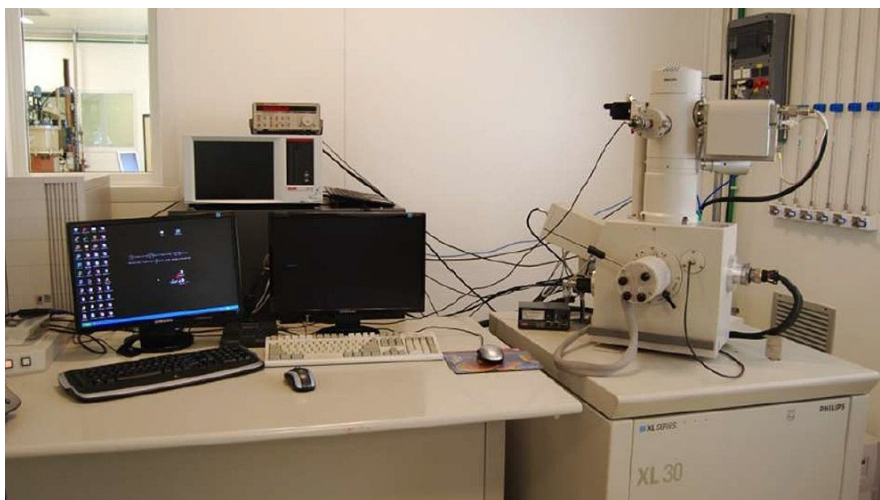


Figura 19: Imagen tomada del microscopio SEM utilizado. Cuenta con un sistema de litografía NPGS v9.0 y un nanomanipulador Zyvek.

#### 3.8.4. Dispersión dinámica de luz

La dispersión dinámica de la luz (DLS) es una electroscopía de correlación de fotones o de dispersión cuasi-estática de la luz. Es una técnica físico-química para la determinación de la distribución de tamaños de partículas en solución generalmente nanométricas. Tiene una capacidad de discriminación de partículas de hasta 1 nm de diámetro. Consiste en la iluminación de la muestra mediante luz láser. La luz es dispersada y sensada por un detector rápido de fotones ubicado a un ángulo de dispersión  $\theta$  conocido. Al estar en solución, las partículas se encuentran en movimiento. Por esto, la intensidad detectada para cada ángulo corresponde a una función de intensidades que aporta información tanto del tamaño de las partículas como de su difusión (figura 20).

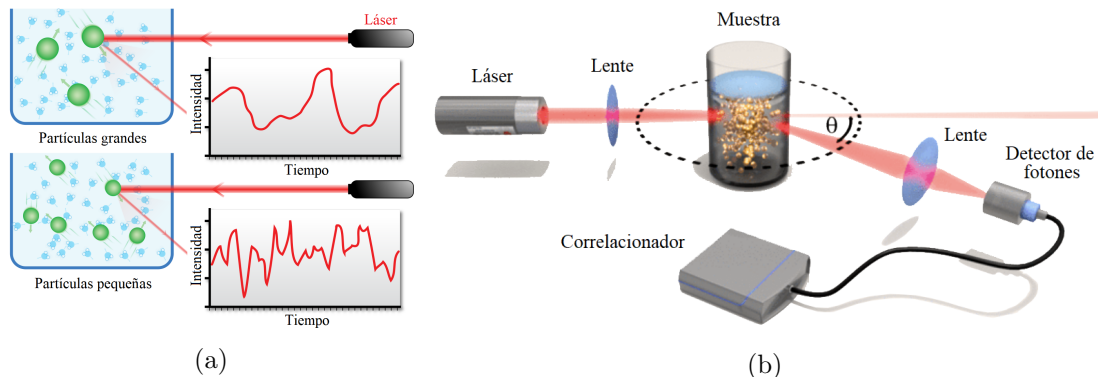


Figura 20: Esquemas ilustrativos de: (a) La técnica de dispersión dinámica de luz. Se relaciona el tamaño de las partículas y su cantidad con el resultado obtenido mediante un equipo de DLS; y (b) Las partes del dispositivo. De izquierda a derecha: el láser emisor, el lente focalizador, el correlacionador que procesa la detección, la muestra, el segundo lente focalizador y el detector de fotones.

El coeficiente de difusión de las partículas se relaciona con su radio por la ecuación de Stokes-Einstein:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta R} \quad (25)$$

donde  $k_B$  es la constante de Boltzmann,  $T$  es la temperatura y  $\eta$  es la viscosidad.

El estudio de DLS fue realizado con el equipo DLS-SLS SM200 que se ve en la figura 21. Este equipo puede utilizarse para DLS o SLS (dispersión de luz *estática*). La muestra se coloca sobre un goniómetro que permite medir en un rango de  $15^\circ$  a  $155^\circ$  pudiendo medir objetos de diámetro nanométrico, entre 1 nm y 1000 nm.



Figura 21: Imagen tomada del equipo de DLS del CAC.

### 3.8.5. Probe station y analizador

Por la naturaleza de los dispositivos que usualmente se evalúan, microfabricados, cuyos conductores son de magnitudes micrométricas, el equipo del laboratorio de electrónica de la CNEA fabricó una probe

station (o estación de sonda). Ésta se encuentra enmarcada dentro de una jaula de Faraday, por lo que anula el efecto de los campos externos reduciendo de este modo el ruido de manera considerable. En el interior se encuentra un microscopio óptico, acoplado a un sistema mecánico de alta precisión que controla cuatro finas puntas metálicas. Éstas se apoyan suavemente sobre el dispositivo y de este modo se cierra el circuito para analizar el conductor microfabricado. Este dispositivo brinda la posibilidad de evaluar el prototipo aún antes de haber soldado algún conector y sin la resistencia que agregan los cables.



Figura 22: Imagen tomada de la estación de sonda en el laboratorio de electrónica del CAC.

Con el objetivo de medir la respuesta de un dispositivo conductor a distintos valores de corriente y voltaje se utiliza un analizador de impedancia/ganancia-fase. En este caso, fue el equipo Solartron SI 1260 [67], el cual es compatible con la probe station. Se puede controlar por corriente o voltaje, se hace un barrido a través del rango configurado y se obtiene la respuesta del dispositivo en el otro parámetro, el cual también tendrá un intervalo previamente seteado por seguridad. Si al recorrer el intervalo, la respuesta se encuentra fuera de rango, el gráfico presentará saturación ya que frenará el valor de la variable respuesta en el valor máximo o mínimo permitido. Realiza un ida y vuelta por el intervalo de la variable de control, y se supone que el resultado debería ser un gráfico lineal. El equipo utilizado permite configurar la cantidad de muestras y la velocidad de toma de datos, además de los parámetros ya mencionados. Como resultado, se obtiene un archivo para exportar en formato .CSV con la totalidad de los datos sensados. Existen dos signos para notar que el dispositivo está aumentando su temperatura y que, por lo tanto, comienza a haber riesgos con los valores de corriente. Uno es la aparición de histéresis (el gráfico deja de ir y volver por el

mismo lugar, aparece un área encerrada por la curva) y el otro es la pérdida de linealidad de la curva. Con esta información, se puede obtener inequívocamente la resistencia del dispositivo analizado, al calcular la pendiente de la curva. Cabe aclarar que, además de caracterizar el resultado de la microfabricación en sí, también es de interés evaluar el dispositivo final en su totalidad, con los cables correspondientes soldados a los contactos ya que es de este modo como será luego utilizado en la práctica.

### 3.8.6. Procesamiento de imágenes

#### *Umbralizado de Otsu*

El umbralizado de Otsu es el método de segmentación de imágenes más utilizado y para la cual se cuenta con mayor respaldo bibliográfico [68]. La segmentación es la separación de regiones de una imagen basada en la intensidad de gris de sus píxeles con el fin de disgregar objetos de interés en distintas capas.

Se comienza por estudiar la probabilidad de ocurrencia de cada intensidad de gris, lo cual puede ilustrarse como el armado de un histograma. Para explicar el método, se presenta la implementación para un único umbral. El umbral es un valor de intensidad de gris que divide al histograma en dos clases. La ecuación (26) representa la probabilidad de la clase 0, representada por los píxeles de intensidad menor al umbral y mientras que la ecuación (27) representa aquella de la clase 1, de intensidad mayor al umbral [69].

$$\omega_0(t) = \sum_{i=1}^{t-1} p(i) \quad (26)$$

$$\omega_1(t) = \sum_{i=t}^{L-1} p(i) \quad (27)$$

La probabilidad de la clase  $i$  depende del umbral  $t$  y está representada como  $\omega_i(t)$ .  $L$  es el número de bins del histograma. El algoritmo del método minimiza la varianza dentro de cada clase y maximiza la varianza entre clase diferentes mediante la ecuación (28), llamada ecuación de optimización [69].

$$\sigma_w^2(t) = \omega_0(t)\sigma_0^2(t) + \omega_1(t)\sigma_1^2(t) \quad (28)$$

El desvío de la clase  $i$  es función también del umbral y está representado como  $\sigma_i(t)$ , el cual elevado al cuadrado es la varianza de la clase. En la figura 23, se incluye un gráfico donde se ve el histograma de una imagen dividido en dos clases con este método. Nótese que el umbralizado no divide al histograma en mitades de igual área ni tampoco respecto a la mitad de la escala de grises. Esto es lo que permite que este método devuelva buenos resultados para la segmentación de objetos incluso cuando ocupan pocos píxeles en la imagen.



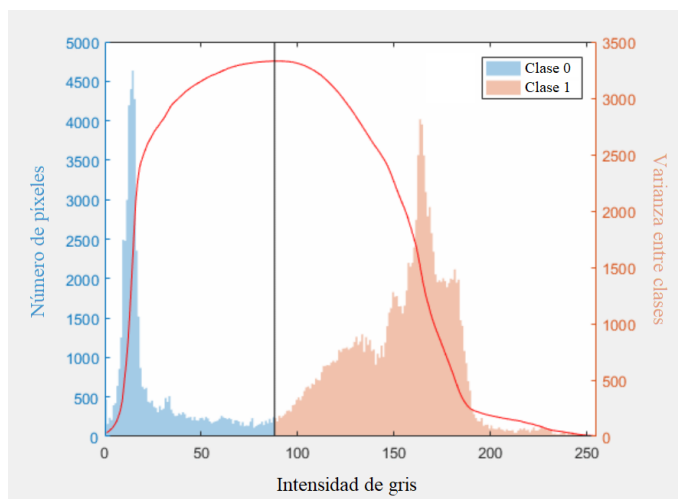


Figura 23: Gráfico representativo del método de umbralizado de Otsu. Tomado de la referencia [70].

### *Morfología matemática*

El procesamiento de imágenes con morfología matemática es un método para extraer o modificar la información que se presenta en una imagen que suele ser binaria. Se apoya en su forma geométrica. Utiliza operadores morfológicos no lineales como la dilatación, erosión y esqueletización. Éstos permiten llevar a cabo procesos como el filtrado, la detección de bordes, la detección de características, el contado de objetos, la segmentación de imágenes y la reducción de ruido [69].

El método está basado en la teoría de los conjuntos, la cual conceptualiza a un objeto como un conjunto de píxeles semejantes conectados (“1”s en una imagen binaria). Cada operador morfológico posee elementos estructurantes de distintos tamaños y formas según la operación que llevan a cabo. Un elemento estructurante es una matriz pequeña en relación a la imagen compuesta por números que pueden ser tanto negativos como positivos. La aplicación de un operador morfológico puede comprenderse como la superposición del elemento estructurante sobre píxeles de la imagen y la multiplicación de cada elemento de la matriz con el nivel de gris de dichos píxeles subyacentes. Para ilustrar este proceso, se incluye el esquema de la figura 24. De esta manera, al mover el elemento estructurante a lo largo de la imagen, se obtiene una imagen de dimensiones semejantes compuesta de los resultados de estas operaciones [71].

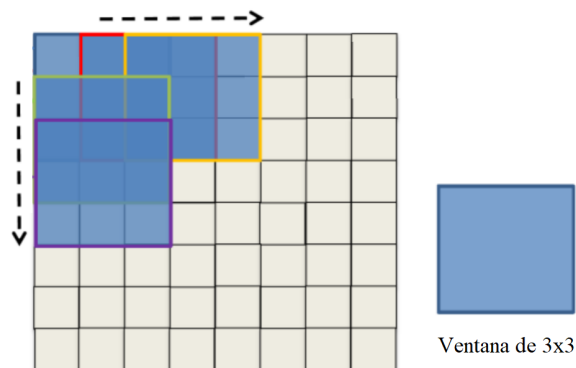


Figura 24: Esquema de la aplicación de morfología matemática a una imagen. El elemento estructurante o ventana es la matriz azul que se superpone sobre la imagen, representante por la matriz gris. La ventana de borde azul es el punto de partida, y luego se mueve en ambos sentidos: hacia la derecha, ocupando la posición de la matriz de borde rojo y después aquella de amarillo y hacia abajo, ocupando la de borde verde y luego la de violeta. Tomado de la referencia [72].

La dilatación de una imagen binaria hace que crezcan los objetos “encendidos”, llamados frente, mientras que la erosión hace que crezcan los objetos “apagados”, llamados fondo. En la figura 25, se ilustra el efecto que tienen estos dos operadores sobre una imagen binaria.

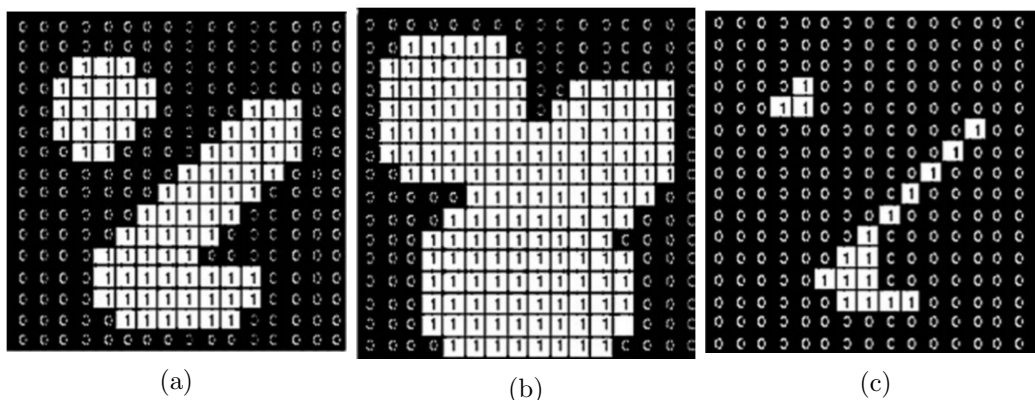


Figura 25: Aplicación de los operadores morfológicos de dilatación y erosión. (a) Imagen original, (b) aplicación del operador de dilatación a la imagen original y (c) aplicación del operador de erosión a la imagen original. Las imágenes fueron tomadas de la referencia [69].

El operador de apertura consta en la erosión de una imagen binaria y luego la dilatación del resultado *con el mismo elemento estructurante*. En la figura 26, se incluye una imagen con tiras y esferas. Las tiras se remueven al erosionar y no regresan al dilatar. Como las esferas sobreviven a la erosión, luego de la dilatación recuperan sus dimensiones originales.

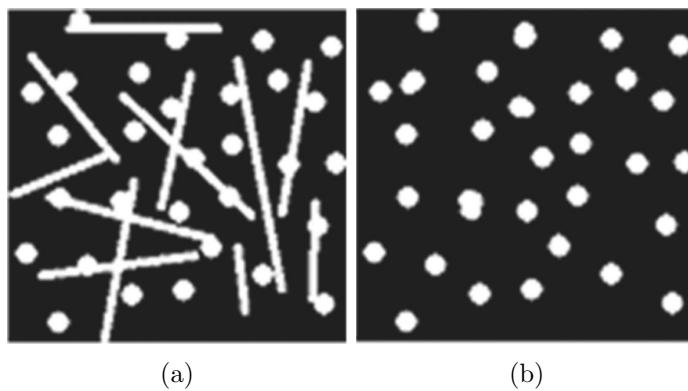


Figura 26: Aplicación del operador morfológico de apertura. (a) Imagen original e (b) imagen resultante. Tomado de la referencia [69].



## 4. Desarrollo

El primer diseño elegido para el desarrollo del sistema de transporte controlado de NPM fue un meandro conductor. Al ser un único conductor, el objetivo de su fabricación fue conseguir un atrapador de partículas que permita aumentar la concentración de NPM en un área determinada. El segundo, una disposición de seis conductores paralelos que representan una capa de una matriz. Se eligió tener múltiples conductores con el fin de alcanzar un control bidireccional de la posición de las NPM. Luego, la presente sección comienza con la caracterización de estas partículas para continuar con una exposición y análisis de lo obtenido con cada uno de estos diseños.

Para comprender la consolidación de los dos diseños mencionados, se incluyen en las secciones 7.1 y 7.2 pertenecientes al anexo, una descripción de los diseños previamente explorados y lo descubierto durante la experimentación con los prototipos de complejidad inferior respectivamente.

### 4.1. Caracterización de las NPM

El proceso de fabricación de NPM del CAB no está industrializado, por lo que pueden detectarse diferencias entre las distintas tandas de producción. En consecuencia, se consideró que era importante comenzar con una caracterización de las NPM para saber con qué se iba a trabajar [73].

Para la caracterización de las NPM, inicialmente se utilizó un microscopio SEM para realizar un análisis dimensional de las mismas. Se incluye una de las imágenes tomadas en la figura 27. Para el análisis posterior, se utilizó el software *ImageJ*. Los resultados obtenidos se volcaron en el anexo (sección 7.3.1). Consistió en la clasificación de las partículas según el número de píxeles que ocupaban en la imagen. Se lo documentó como una tabla de frecuencias. A partir de la referencia a la escala de la imagen microscópica, se pudo calcular que el largo de cada píxel era de 50 nm. Con esta información, se agregó una columna indicando el diámetro de una partícula del área correspondiente. Pese a la gran dispersión observada en el diámetro de las NPM, la media del área ocupada en píxeles<sup>2</sup> se encontró entre los 20 y los 40 píxeles<sup>2</sup>, proporcionalmente alrededor de los 23 píxeles<sup>2</sup>. Luego, el análisis concluyó en un diámetro medio de 270,58 nm.

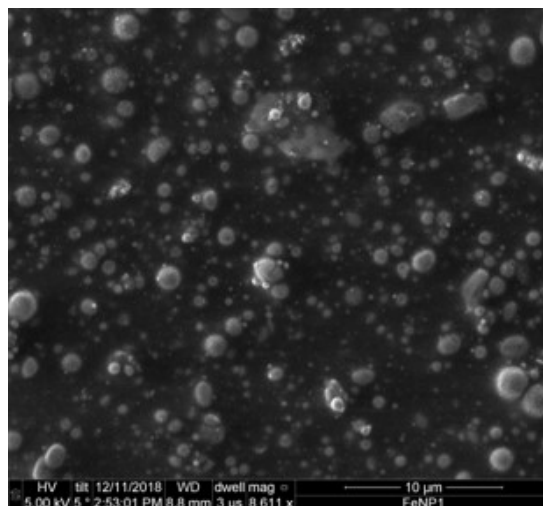


Figura 27: Imagen microscópica de barrido (SEM) de las NPM tomada en el CAB.

El segundo paso de la caracterización se hizo por DLS. Se estudiaron dos muestras del mismo lote de partículas, de las que se tomaron 5 mediciones por cada una. Una vez más, lo obtenido se presenta en el anexo (sección 7.3.2). El análisis de los resultados de las 10 mediciones señaló un diámetro promedio de 249,75 nm, lo cual es coherente con las mediciones anteriores con el microscopio SEM.

## 4.2. Prototipo del meandro

Se decidió abordar la manufactura mediante técnicas de microfabricación. Esta decisión fue basada en la experiencia previa con prototipos confeccionados a partir de cables de bobina y de red (la experimentación con dichos prototipos está descrita en la sección 7.2 del anexo). El diámetro de los conductores y el diámetro promedio de las NPM diferían en 4 órdenes de magnitud y la microfabricación permitió reducir esta diferencia. Además, era necesario fabricar los prototipos mediante procesos estandarizados y reproducibles ya que de otro modo los resultados no tendrían validez relevante.

### 4.2.1. Simulación

Para abordar el diseño de los perfiles de campos magnéticos para transportar NPM con las fuerzas generadas, se llevó a cabo una etapa de simulación. Como cualquier software, es posible destacar algunas debilidades de la plataforma Ansys. En primer lugar, incluso con el nivel de detalle y complejidad que permite la herramienta, fue necesario simplificar algunas variables, lo cual aleja a la simulación de la realidad. Éste es el caso de propiedades como la temperatura. El hecho de que sea un análisis de elementos finitos implica cálculos discretos de propiedades que en la realidad son parámetros continuos. A su vez, al igual que otras herramientas que utilizan elementos finitos, el mallado puede resultar en una deformación de las dimensiones reales del objeto, presentando de forma errónea los ángulos de las aristas o las relaciones de tamaño entre éstas. Este tipo de errores afectan la convergencia del sistema y por lo tanto, los resultados que se ofrecen.

Además, se pueden destacar otras desventajas de este software como el hecho de que la densidad de elementos finitos es un parámetro que debe ingresar el usuario. La determinación de este valor no es trivial, por lo que suele requerir que el usuario itere hasta encontrar una solución que lo satisfaga. Este proceso es lento y computacionalmente costoso. En esta misma línea, se resalta la escasez de alerta sobre rangos de utilización normales o coherentes para ciertos parámetros. En el afán de ofrecer una herramienta de simulación que permita ajustarla al problema de forma sumamente específica, se requiere un ingreso manual de parámetros poco convencionales y sobre todo, poco intuitivos, que tienen un peso relevante a la hora de llevar a cabo la simulación. Así, surgen errores de tipo humano difíciles de identificar [56].

Las primeras simulaciones planteadas con circulación de corriente a través de microconductores fueron con el objetivo de evaluar la importancia del efecto Joule generado por las colisiones entre electrones en el interior de los mismos. A menor área transversal, por la ecuación (4), la resistencia del conductor aumenta, característica que afecta de manera directa a la potencia disipada en forma de calor por el mismo y aumenta su temperatura y la del medio circundante. En la figura 28 (a), se observa la geometría de meandros superpuestos, diseño tomado de la referencia [1] y llevado a cabo en el módulo Design Modeler de ANSYS. Consiste en dos meandros de cobre intercalados con una capa de aislante de dióxido de silicio entre ambos. En la figura 28 (b), se presentan los nodos generados para realizar el cálculo de la simulación mediante el método de elementos finitos. El tamaño de los mismos se determinó de manera iterativa con un criterio visual, buscando el equilibrio entre una aproximación lo más cercana posible a la realidad y el nivel de complejidad computacional con el tiempo que eso implica para converger a una solución. Uno de los interrogantes a contestar sobre este diseño era si dicho aislante iba a ser capaz de tolerar el calor proveniente de ambos conductores sin verse modificado química o físicamente.

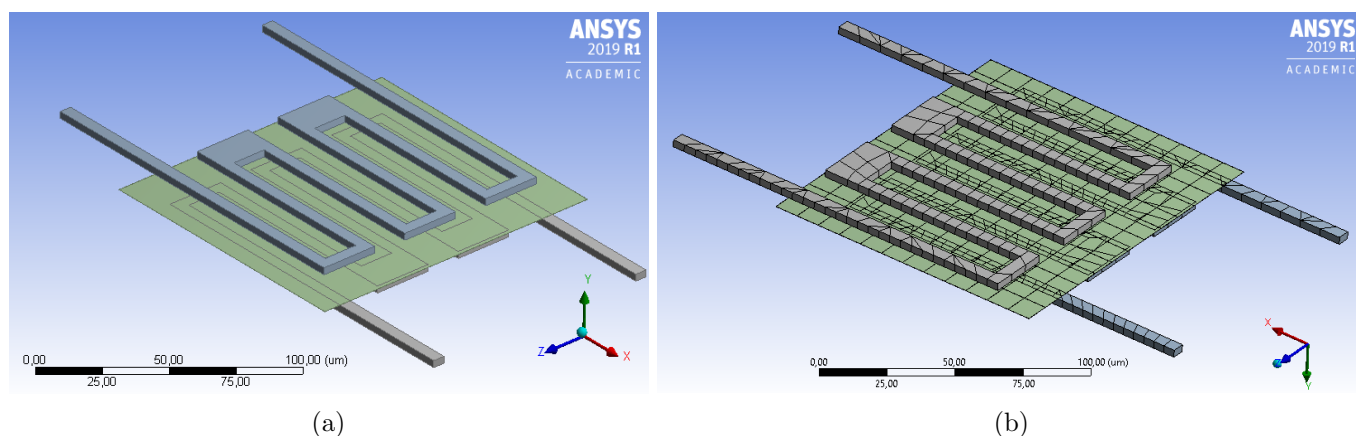


Figura 28: Diseño de meandros superpuestos, intercalados con un aislante entre ellos, realizado en Ansys: (a) geometría y (b) nodos para el cálculo con elementos finitos.

El escenario de parámetros que se decidió simular se puede observar en la figura 29. La temperatura inicial elegida fue de 20 °C, se hizo circular una corriente eléctrica de 50 mA por cada meandro y para la transferencia de calor se tuvieron en cuenta los fenómenos de radiación y convección. A pesar de que

estos parámetros ingresados parecen ser correctos, en este punto fue donde se vieron reflejadas todas las problemáticas previamente mencionadas. No se obtuvieron resultados físicamente posibles. Se deduce que la razón de esto fue tanto una sobre-simplificación de la situación planteada al no poder recrear la totalidad de fenómenos que ocurren como el ingreso incorrecto de valores por defecto para parámetros complejos por falta de experiencia en el uso de la herramienta.

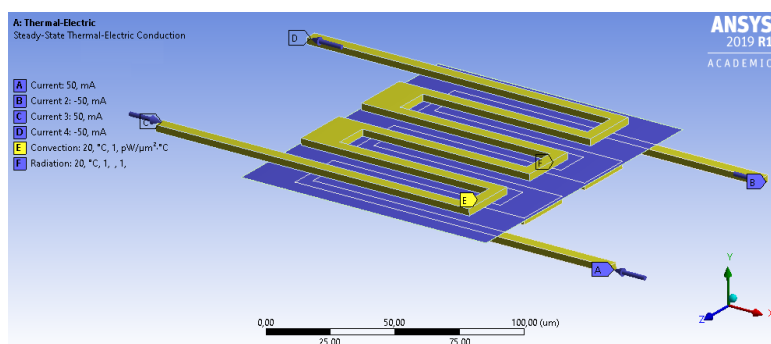


Figura 29: Captura de pantalla del módulo Thermal Electric, donde se visualizan los valores de corriente y fenómenos térmicos simulados.

#### 4.2.2. Diseño del prototipo

Inicialmente, la disposición de los conductores elegida fue la presentada en la referencia [1] (la consolidación del diseño está desarrollada en la sección 7.1.2 del anexo). Esta decisión fue debido a la adhesión de las NPM a la superficie que se observó en la experimentación de la sección del anexo 7.2.1, lo cual evitaría que lleguen a la superficie de sensado. A causa de esto, se exploraron formas de combatir dicha adhesión y se eligió finalmente la disposición mencionada, por su capacidad de implementar la levitación por dielectroforesis. Se diseñó entonces la máscara correspondiente en el software KLayout, la cual se observa en la figura 30. Como el diseño era de dimensiones pequeñas en comparación al tamaño de la oblea, se decidió utilizar únicamente la mitad de la misma, dejando el resto del espacio a otros proyectos del Departamento de Micro y Nanotecnología que fueran a necesitarlo, lo cual es una práctica usual ya que el costo del proceso es de unos AR\$20.000, representando aproximadamente un 50 % del total, como se discutirá en la sección 5.2.1.

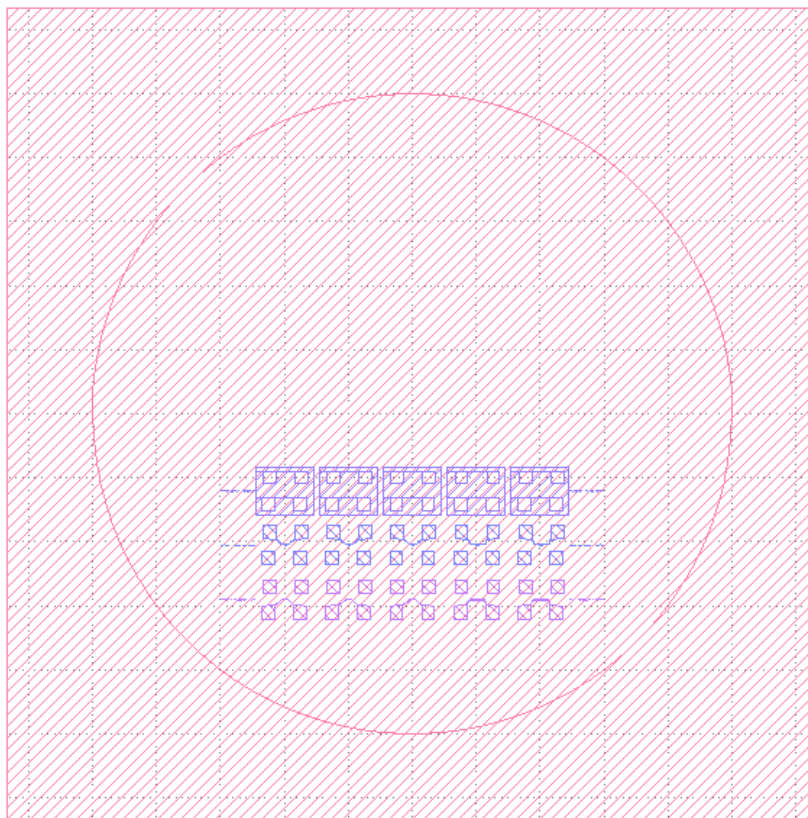


Figura 30: Captura de pantalla de KLayout de la máscara diseñada para la microfabricación de los meandros.

El diseño permite microfabricar 5 prototipos. Cada uno requiere tres capas: los dos meandros a superponer y la capa aislante. El diseño se organizó en una matriz de tres filas por cinco columnas, donde cada columna forma un prototipo distinto. De los cinco prototipos, tres eran meandros de  $5\ \mu m$  de ancho y dos de  $10\ \mu m$ . Esta decisión de diseño surgió a partir de dos características deseables pero contrapuestas entre sí: una alta resolución espacial para el transporte de las NPM y una baja probabilidad de error durante el proceso de microfabricación. El diseño de  $5\ \mu m$ , tomado de la referencia [1], brinda mayor control sobre el transporte pero para su microfabricación se debe trabajar al límite de la resolución del equipo de fotolitografía, lo cual aumenta considerablemente el riesgo de un resultado defectuoso en el proceso de microfabricación. De quedar mal alineados la máscara y el prototipo, la fotoresina se expondrá a la luz UV en un sector no deseado y posteriormente quedarán en contacto conductores que deberían ser independientes o se atacará químicamente metal que debería estar protegido por la fotoresina.

Todos los prototipos se diseñaron enmarcados en un rectángulo de  $0,9\text{ cm} \times 0,75\text{ cm}$ . La zona de interés, es decir el tamaño neto del meandro, es de  $200 \times 100\ \mu m$  para los meandros de menor tamaño y de  $400 \times 200\ \mu m$  para los mayores. En la figura 31, se incluyen los dos diseños diferentes en dimensiones. Nótese que se incluyeron en el diseño también los contactos para la conexión eléctrica, se decidió que sean de un tamaño de  $2 \times 2\text{ mm}$  dado que se consideró que era una dimensión adecuada para poder realizar una soldadura manualmente sin complicaciones. Se procuró extender el conductor desde el meandro, inicialmente

en línea recta y luego con un ángulo poco pronunciado hacia los contactos, ubicados a cierta lejanía, para evitar la deformación del campo magnético en la zona de interés donde se encontrarán las NPM.

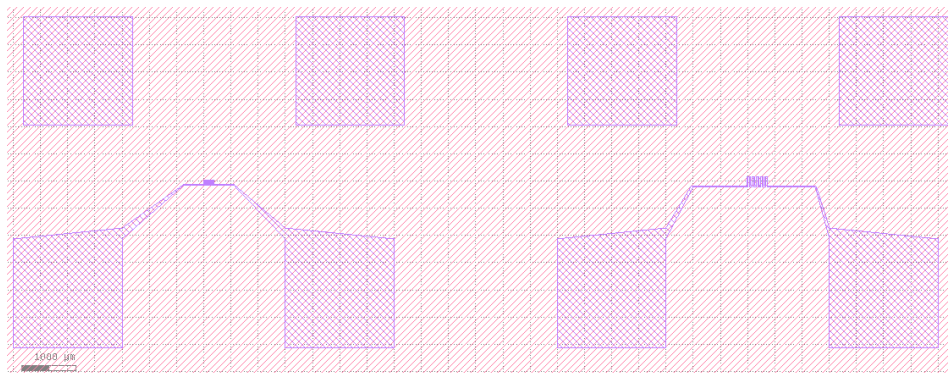


Figura 31: Acercamiento a dos meandros dentro de la máscara, a la izquierda de  $5 \mu m$  de ancho y a la derecha de  $10 \mu m$ .

La fila superior corresponde a la máscara para aislar ya que cubre todo menos los contactos. Las filas restantes son las dos capas de meandros que se superpondrían como se ilustra en la figura 32. Lo que se observa en la figura 30 en los extremos de cada fila son las marcas de alineación, indispensables para poder alinear adecuadamente la máscara con la muestra en el equipo de exposición a luz ultravioleta.

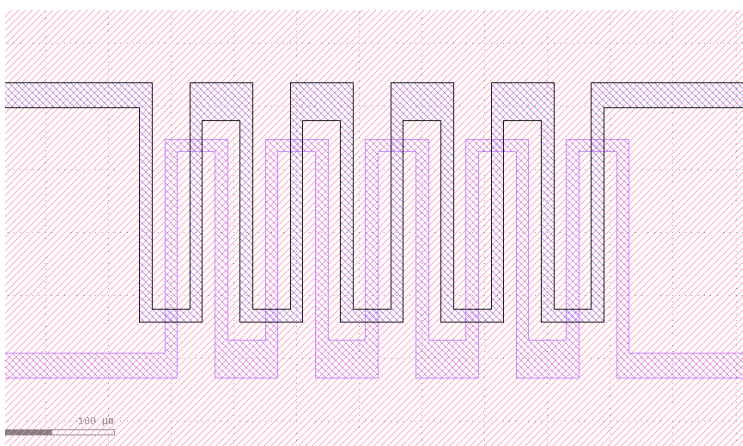


Figura 32: Captura de pantalla de KLayout de la superposición de los meandros, en el diseño de  $10 \mu m$  de ancho.

### 4.2.3. Microfabricación del meandro

Al abordar la microfabricación de los prototipos, se llegó a la conclusión de que tener ambos meandros superpuestos agregaba un nivel de complejidad al proceso de microfabricación que excedía las habilidades de las personas a cargo del presente proyecto. Además, ningún miembro del personal de la SL-CAC había realizado un prototipo de esta naturaleza anteriormente, por lo que implicaba capacitar al personal acerca

las nuevas técnicas. A su vez, esto aumentaba el costo de la microfabricación respecto a lo que se había conceptualizado originalmente. Se tomó la decisión de realizar una simplificación del diseño original. Esto es, en lugar de ser dos meandros superpuestos se optó por fabricar solo uno, con la intención de ser un *atrapador de partículas*. Esta modificación del diseño implicaría tener necesariamente que descartar la implementación de la dielectroforesis ya que se precisa de dos capas de conductores para poder generar una variación en la diferencia de potencial. En este punto cabe destacar la escasez de trabajos de investigación que utilizan esta técnica para sortear la adhesión a la superficie de las NPM, por lo que se priorizó asegurar la calidad de los prototipos resultantes con las técnicas previamente conocidas.

A su vez, en lugar de microfabricar los prototipos sobre una oblea de vidrio, se decidió microfabricarlos sobre portaobjetos de muestras de microscopio. Esto abarataba los costos de producción de los mismos y dado que luego los prototipos iban a utilizarse individualmente, no se iba a sacar provecho de microfabricar todos juntos. Se tomaron 3 portaobjetos, en los cuales se podían hacer 10 prototipos en cada uno ya que se imprimirían las dos capas de 5 meandros en la misma superficie.

Todos los equipos utilizados para esta microfabricación fueron diseñados para su uso sobre obleas de vidrio. La colocación y alineación de los portaobjetos en los mismos es imperfecta ya que no fueron conceptualizados para tal fin.

Este proceso de microfabricación se dividió en tres grandes etapas. La primera fue la deposición del patrón conductor principal del diseño que contiene al meandro en sí. Para esto, se utilizaron la segunda y la tercera hilera de patrones del diseño que se presentó en la figura 30. La segunda etapa consistió en el engrosamiento de los contactos del prototipo para disminuir su resistencia a la corriente, para lo que se utilizó la primera hilera de patrones del mismo diseño. Por último, ya fuera de la sala limpia, se procedió a aislar el prototipo y prepararlo para la experimentación.

Dado que cada microfabricación es distinta, se presenta la figura 33 para ilustrar los pasos de las primeras dos etapas de la microfabricación del prototipo del meandro. Aquí es importante destacar la semejanza de las primeras dos etapas dado que en ambos casos se transmite un patrón de diseño al prototipo, aún cuando esto se realiza con distinto fin.



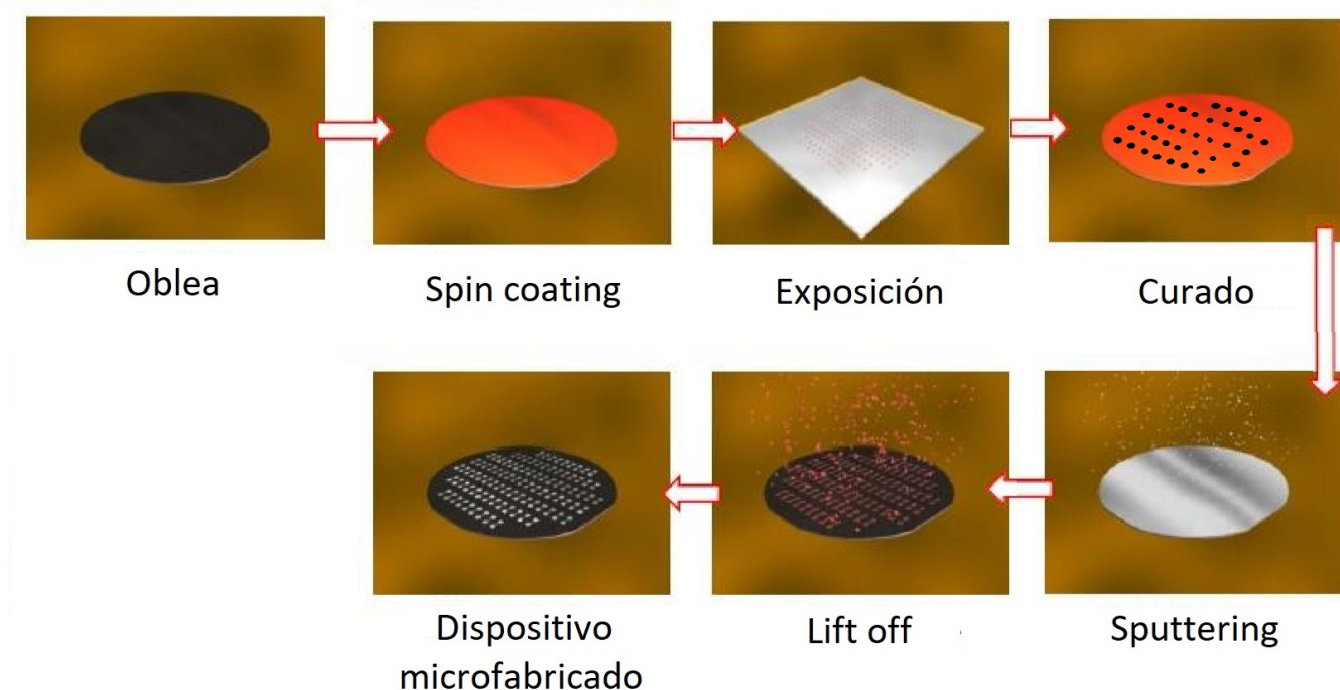


Figura 33: Diagrama ilustrativo de una forma de llevar a cabo el proceso de transmisión del patrón de diseño a un prototipo.

El primer paso que se realizó fue la limpieza de los portaobjetos con el objetivo de quitar cualquier residuo preexistente antes de colocar la fotoresina. Fueron sumergidos primero en acetona y luego en isopropanol. El producto utilizado fue *2-Propanol para análisis ACS* de *Sintorgan*. Posteriormente fueron secados con una pistola de aire comprimido de ambos lados (aunque estrictamente sólo es necesario limpiarlos de un lado).

A continuación, se realizó el spin coating. Aquí se encontró la primer dificultad provocada por la realización de los prototipos sobre un portaobjetos rectangular y no en una oblea de vidrio circular. El soporte del equipo tiene un diseño tal que permite encastrar a la oblea. La característica que permite que la fuerza centrífuga genere una distribución homogénea del sustrato a lo largo de la superficie es justamente la geometría circular de la oblea. Al tener una geometría rectangular, se tuvo que lidiar con el efecto borde que se genera por el carácter radial de la fuerza centrífuga. En la disposición resultante de la resina aparecieron irregularidades en las cercanías a los bordes aunque se consideran aceptables ya que se encuentran lejos de nuestra zona de interés, que son los meandros.

En este caso, se pegó cada portaobjetos con cinta bifaz a dicho soporte. Se hizo una prueba inicial sin resina para asegurar que el portaobjetos no se desplazara y cayera del soporte. Para lograr esto, es vital que esté bien centrado con el objetivo de evitar la asimetría de fuerzas en la mayor medida posible y de este modo obtener una sumatoria de fuerzas prácticamente nula. Luego de verificar esto, se colocó fotoresina AZ 2070 y se realizó el spin coating propiamente dicho con el objetivo de que quede un espesor de  $7 \mu m$ . Para ello, se



utilizó la receta n°5 del equipo, la cual consiste en un primer paso a 500 rpm durante 10 segundos, luego se eleva a la velocidad máxima de 3000 rpm durante 30 segundos (la transición entre ambas velocidades dura 10 segundos) y finalmente se detiene en un lapso de 5 segundos.

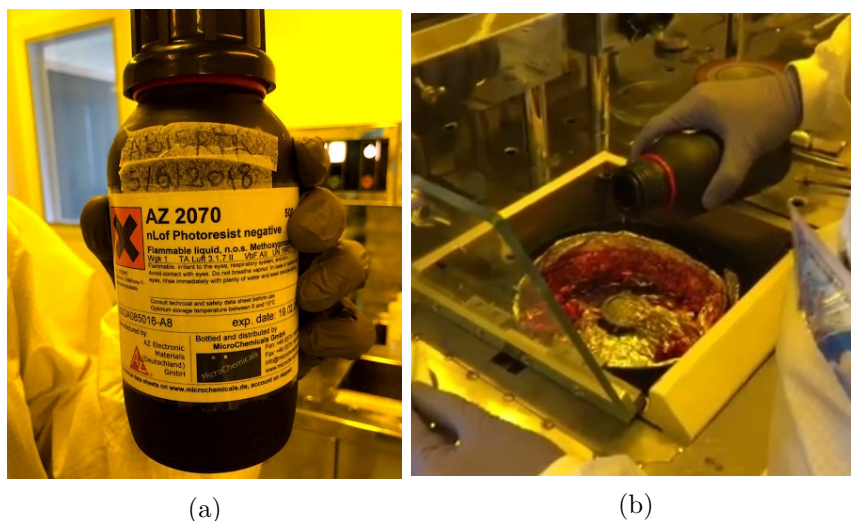


Figura 34: Imágenes tomadas dentro de la sala limpia de: (a) el envase de la fotoresina AZ 2070 y (b) la colocación de la misma a un portaobjetos colocado en el spinner.

La elección de una fotoresina negativa es una decisión de diseño. Para facilitar la comprensión, se incluyen los esquemas ilustrativos de la figura 35. La principal diferencia yace en el ángulo que forma la resina con la superficie. Se lo denomina como el *perfil* de la resina. El ideal es tener un perfil de ángulo recto. Sin embargo, con las resinas negativas, se observan perfiles con ángulos agudos (figura 35 (a)) y con las positivas, ángulos obtusos (figura 35 (b)). Luego de depositar una capa metálica mediante sputtering, es necesario realizar lift-off y este procedimiento puede comprometer la integridad de la superficie metálica. En el caso de una fotoresina positiva, la capa metálica es continua como se observa en la figura 35 (b) y posee enlaces atómicos que producen que al levantar la resina, se pueda levantar parcialmente la porción de la capa metálica que está sobre el vidrio. Si la pista metálica es muy pequeña, es más probable que se mantenga unida al resto de la capa metálica más que al vidrio e incluso puede desprenderse completamente, generando discontinuidades del conductor. Además, frente a un exceso de revelado, la resina positiva provoca que se ensanche el diseño y se genera riesgo de superposición entre las pistas. Por otro lado, la fotoresina positiva presenta mejores resultados frente a la negativa cuando se realizan ataques químicos. En este caso, debido a que se estaba trabajando al borde de la resolución de la máquina de fotolitografía, se optó por la fotoresina negativa para evitar la superposición de las pistas.

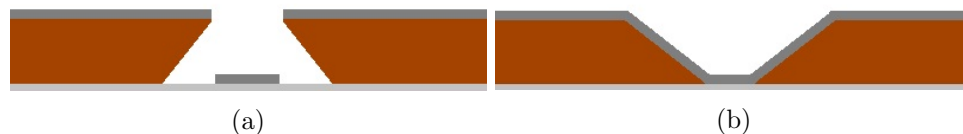


Figura 35: Esquemas ilustrativos de: (a) fotoresina con perfil negativo y (b) fotoresina con perfil positivo. En ambos casos el sustrato de vidrio es color gris claro, la fotoresina marrón anaranjada y el metal depositado encima gris oscuro.

Luego del spin coating se realizó el precocido, lo cual consistió en colocar cada portaobjetos en el hot plate durante 1 minuto a 110 °C, como se observa en la figura 36. Posteriormente, para la rehumidificación, se los colocó en un reservorio resguardado de toda iluminación donde se los debía mantener durante 15 minutos como mínimo. El objetivo de este proceso es dejar estacionar la resina, evitando que se exponga a la luz ambiente para que no alcance la energía de activación. A pesar de que las luces de la sala limpia tienen filtros, si no se la protegiera esta iluminación alcanzaría para llegar a la energía de activación eventualmente. Esto sucede a pesar de la baja potencia ya que la energía es equivalente a la potencia multiplicada por el tiempo de exposición (ecuación (6)). Esta ecuación también es la que determina el tiempo de exposición en la máquina de fotolitografía porque la potencia de la luz es siempre la misma y lo que varía es el tiempo necesario para llegar a la energía de activación según la resina utilizada.



Figura 36: Imagen tomada dentro de la sala limpia durante el precocido de dos prototipos.

Se procedió a setear la máquina de exposición a luz ultravioleta. Como la luz infrarroja que utilizan los microscopios del alineador de máscaras expone la fotoresina, con anterioridad se bajó la intensidad de la misma para reducirlo en lo posible. Las medidas se tomaron de manera rápida para que la exposición sea mínima. Como el sustrato era transparente, se debió apagar también las luces de los microscopios inferiores con el mismo fin. En el proceso de colocación, el haber realizado los prototipos sobre portaobjetos y no

sobre una oblea circular volvió a ser un problema dado que un portaobjetos es mucho más pequeño. Se tuvo que aproximar inicialmente a simple vista la posición del mismo para quedar alineado con la máscara (alineación semi-automática, figura 37 (a)). Una vez que quedaron relativamente cerca, fue posible alinear con el microscopio (figura 37 (b)) y ejecutar la exposición a luz ultravioleta durante 10 segundos (figura 37 (c)). Se utilizó el equipo con modo de contacto suave ya que de esta manera, no se ejerce fuerza para comprimir la máscara sobre la muestra. Luego, se colocaron nuevamente los prototipos en el hot plate para realizar un horneado post exposición, a  $110^{\circ}\text{C}$  durante 1 minuto.

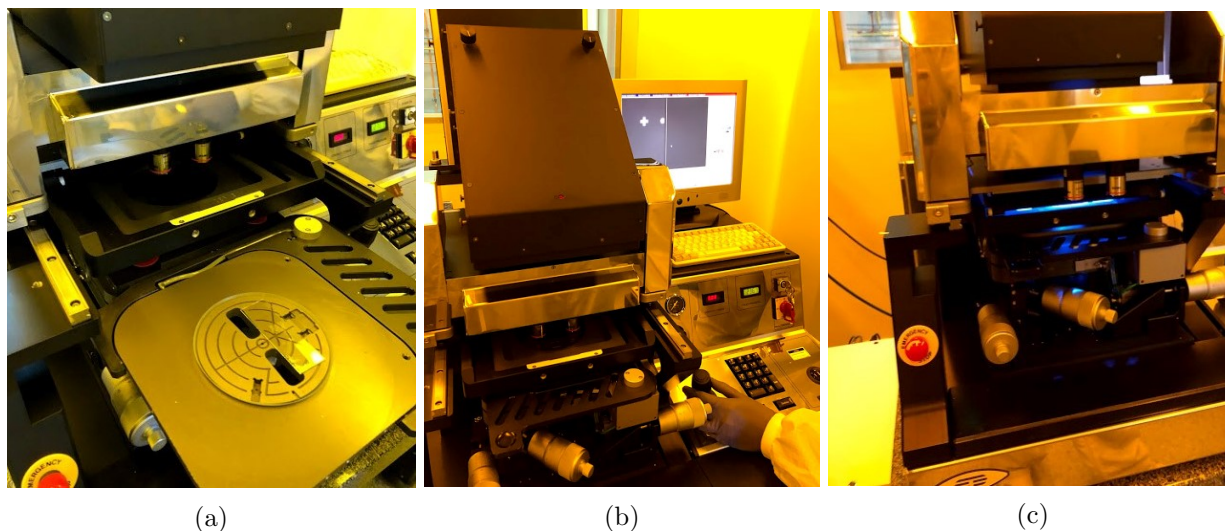


Figura 37: Imágenes tomadas dentro de la sala limpia del equipo de exposición a luz ultravioleta en las que se observa: (a) la dificultad agregada en la colocación, (b) el proceso de alineación con microscopio óptico y (c) en funcionamiento

Para el proceso de revelado se utilizó el revelador AZ 826 por 1 minuto y 15 segundos aproximadamente. Para esta etapa de la microfabricación, el tiempo es estimativo. Se debe ir corroborando cómo reacciona la fotoresina para evitar un sobre revelado. Es preferible remover el prototipo antes de tiempo ya que siempre se puede continuar con el proceso de revelado. En cambio, una vez que hubo exceso del mismo, es irreversible. Al retirar el prototipo del revelador, se lo lavó con agua y se lo secó con aire comprimido. Se confirmó que se haya revelado bien con el microscopio óptico de la sala de fotolitografía. En la figura 38, se incluye una imagen tomada con dicho microscopio. Puede observarse una doble línea, esperable dado el perfil de la resina y su naturaleza parcialmente traslúcida (figura 35). Al examinar con el microscopio, se notó un patrón de difracción en uno de los portaobjetos. Esto indicaba que le faltaba revelado así que se lo sumergió nuevamente en AZ 826. Cabe destacar que a este prototipo se lo había dejado menos tiempo, alrededor de 50 segundos, para examinar el resultado y continuar ajustando los parámetros del proceso. Dado que fue necesario revelarlo por otros 20 segundos, se confirmó la precisión del tiempo indicado inicialmente.



Figura 38: Imagen obtenida del microscopio óptico donde se observa la doble línea generada por el perfil negativo de la fotoresina.

Esta fotoresina no requería post cocido. Por lo tanto, luego del revelado se realizó el proceso de sputtering para la deposición metálica. La presión de argón utilizada fue inicialmente de  $2 \times 10^{-2}$  Torr para activar el plasma. Luego, se la llevó a un valor de  $4,5 \times 10^{-3}$  Torr para la generación del plasma metálico. Se mantuvo esta presión de trabajo durante la deposición. Primero se depositó una capa de titanio durante 2 minutos a una tasa de  $4,8 \pm 0,3$  nm/min. Al finalizar, se retornó a la presión de  $2 \times 10^{-2}$  Torr para volver a activar el plasma, ahora de cobre. Una vez activado, se volvió a la presión de trabajo y depositó una capa de cobre a  $19,1 \pm 0,7$  nm/min durante 20 minutos. Nótese que tanto la tasa como el tiempo de deposición del cobre fue mucho mayor que la del titanio. Como fue explicado anteriormente, el titanio es más costoso que el cobre pero tiene una mejor adherencia al silicio y por lo tanto, al vidrio. Mientras ayude a la adhesión de la capa de cobre, el espesor de la capa de titanio se mantiene lo menor posible.

Al finalizar el proceso y abrir la cámara para retirar los prototipos, se encontró que durante el procedimiento uno de éstos se desprendió del soporte y cayó al fondo de la cámara, por lo que no se depositó metal en dicho portaobjetos. A partir de este suceso, se continuó la microfabricación únicamente con los dos portaobjetos restantes. Además, en esta instancia se descubrió que una de las dos filas de cinco meandros había quedado excesivamente al borde del portaobjetos en la alineación de la máscara al exponer la fotoresina por lo que se vio perjudicada por el efecto borde y al realizar el sputtering quedaron los cinco meandros de esa fila en contacto entre sí. Es decir, cada portaobjetos quedó con cinco meandros utilizables con los que se continuó la microfabricación.

Como el metal se deposita sobre toda la superficie, se procedió a realizar el lift-off para remover la resina con metal encima. Este proceso consiste de dos pasos. Primero, se sumergen los dispositivos en acetona para disolver la resina (figura 39 (a)). Luego, el lavador ultrasónico desprende y remueve la resina disuelta mediante una vibración de alta frecuencia (figura 39 (b)).



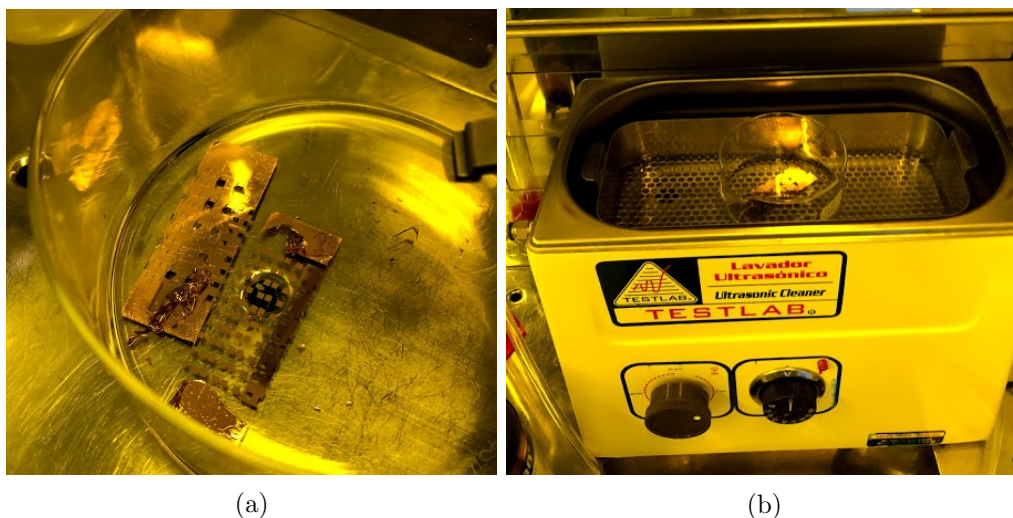


Figura 39: Imágenes tomadas dentro de la sala limpia del proceso de remoción de la fotoresina: (a) lift-off con acetona y (b) utilización del equipo ultrasónico.

En el anexo (sección 7.4), se incluye un vídeo del lavador ultrasónico en funcionamiento. Se observó luego el resultado obtenido a través del microscopio óptico (figura 40). Nótese que ya no se observa el fenómeno de la doble línea como en la figura 38.

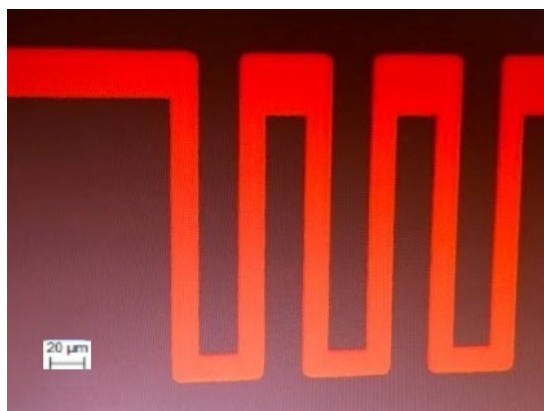


Figura 40: Imagen obtenida del microscopio óptico donde se observa el prototipo luego de realizar el lift off.

Luego, se realizó una segunda fotolitografía con la fotoresina positiva AZ 9260 para cubrir todo menos los contactos que luego debían ser engrosados mediante electroplating. En la figura 41, se incluye una imagen tomada del recipiente contenedor y de la resina sobre el portaobjetos, ya fijado al soporte del equipo de spin coating. Para llevarla a cabo, se utilizó la receta n°9 del spinner a 1200 rpm durante 45 segundos, con rampas ascendentes y descendentes de 5 segundos cada una. Esto generó un espesor de  $12 \mu m$  de esta fotoresina.

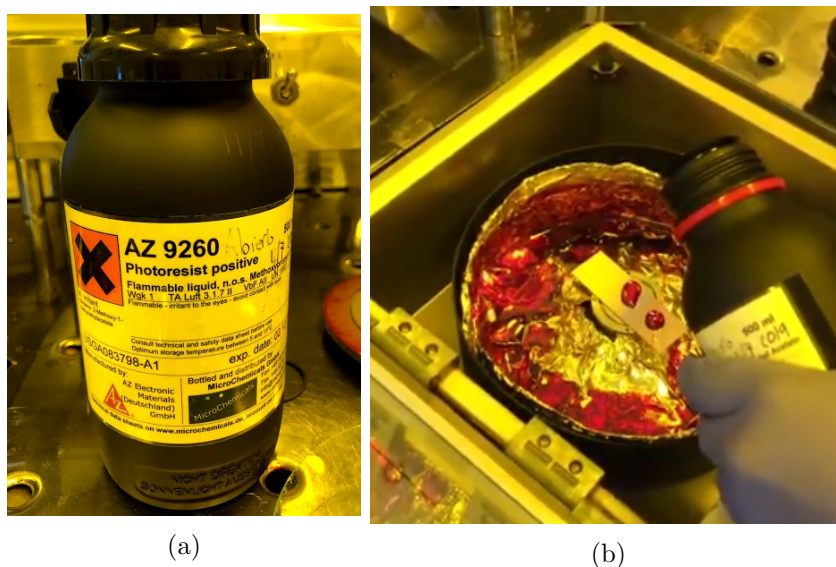


Figura 41: Imágenes tomadas dentro de la sala limpia de: (a) el envase de la fotoresina AZ 9260 y (b) la colocación de la misma a un portaobjetos colocado en el spinner.

El precocido tuvo una duración de 3 minutos a 110°C. Posteriormente, se dejó estacionar la fotoresina a través de una rehumidificación de 25 minutos en un reservorio. La exposición a luz ultravioleta en este caso fue de 40 segundos y el revelado de 3 minutos y medio, con una solución de AZ 400 en agua desionizada con una concentración de 1:4. En la figura 42, se incluye una imagen tomada de este procedimiento. Para esta fotoresina en específico no fue necesario realizar horneado post exposición ni post cocido.



Figura 42: Imagen tomada dentro de la sala limpia del proceso de revelado de la fotoresina AZ 9260 con el revelador AZ 400.

A continuación, se realizó electroplating para aumentar el espesor de los contactos. Consistió en una electrólisis con solución de sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ), controlando el circuito por corriente a 300 mA, durante

1 hora y media.

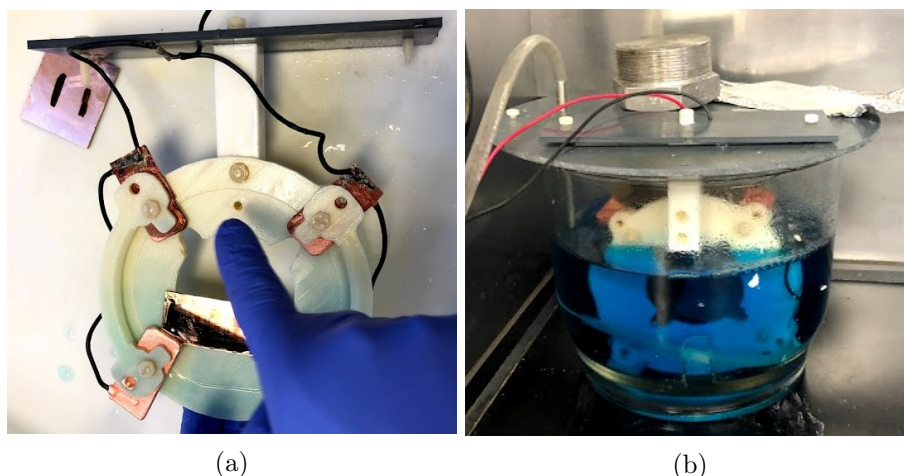


Figura 43: Imágenes tomadas del proceso de electroplating: (a) preparación y (b) ejecución.

El circuito se cerraba entre una placa de cobre de sacrificio que actuaba como un electrodo y la muestra, donde se depositó el cobre. En la figura 43, se incluyen dos imágenes tomadas del montaje del procedimiento. A la izquierda, se puede observar que una vez más el equipo fue diseñado para sostener una oblea tradicional, por lo que la placa debió ser ajustada de forma manual. Se hizo burbujear nitrógeno con el objetivo de agitar la muestra ya que en realidad debería estar en circulación. El nitrógeno no afecta químicamente a la electrólisis dado que es no reactivo. Previo a colocar la muestra, se la sumergió en agua para minimizar la posibilidad de que ingresen burbujas de aire en las esquinas. Sin embargo, esta complicación siempre está presente en un cierto grado. En la figura 44, se muestran imágenes tomadas de los contactos luego del electroplating. A pesar de que se procuró colocar la muestra lo más lejos posible del burbujeo de nitrógeno, nótese cómo en ambas imágenes pueden distinguirse las siluetas de las burbujas de aire que se formaron durante el procedimiento, afectando la uniformidad de la superficie de deposición.

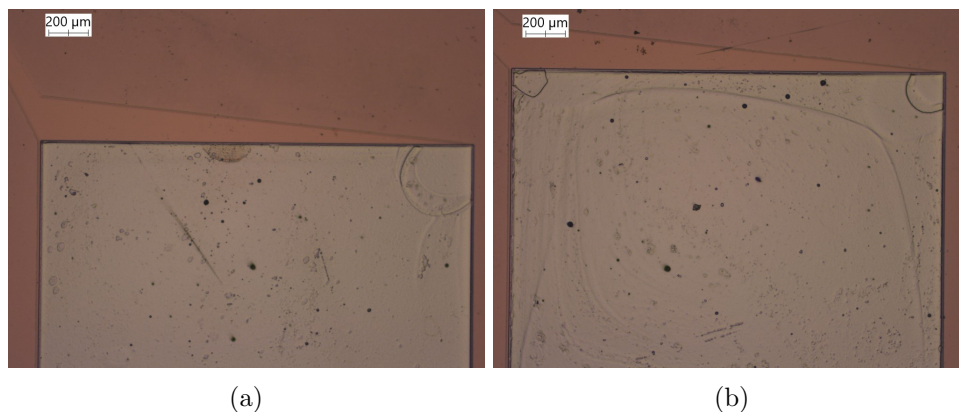


Figura 44: Imágenes tomadas por el microscopio óptico Leica de dos prototipos luego del electroplating. Se observa la presencia de burbujas en las esquinas de los contactos.



Luego, se efectuó el ataque químico y la remoción de la resina con acetona. El primer ataque tenía como objetivo remover el cobre. Para ello se utilizó una solución de ácido acético, agua oxigenada y agua con una concentración de 1:1:20. Por su parte, el ataque químico al titanio se realizó con una solución de ácido fluorhídrico (HF) al 49 % y agua desionizada en proporciones 1:10. En el caso del titanio, se dejó la muestra hasta que no se observaron rastros del mismo a atacar en las superficies expuestas. La velocidad de ataque es de alrededor de 5 nm por segundo.

Es importante destacar que al realizar estos procedimientos, es necesario el uso de elementos de protección personal especiales como guantes de mayor grosor y protector facial. Esto se debe a que hasta en cantidades muy pequeñas, el contacto del HF con la piel y los ojos es altamente nocivo (figura 45 (a)). Otra medida de seguridad requerida es la utilización de campana de extracción de gases para evitar la inhalación de los químicos provenientes del proceso, perjudiciales para el sistema respiratorio. A su vez, la sala de ataques químicos de la SL-CAC cuenta con una crema para quemaduras por entrar en contacto directo con el HF. Esta crema está visible y al alcance de la mano sobre un soporte especialmente colocado para ella de forma tal que sea fácilmente accesible en una situación de emergencia (figura 45 (b)).



Figura 45: Imágenes tomadas dentro de la sala limpia de la protección contra el HF: (a) Elementos de protección personal y (b) crema para quemaduras por contacto con HF.

Para la aislación de los prototipos, se generó un preparado de PDMS. Se tomó elastómero de silicona (líquido espeso) y se le agregó un agente curador en gotas con pipeta de Pasteur en una relación 10:1. En la figura 46, se incluyen fotografías de los recipientes contenedores de los mismos. Ambos componen al producto *SYLGARD* ®184 de la empresa estadounidense *Dow Silicones Corporation*.



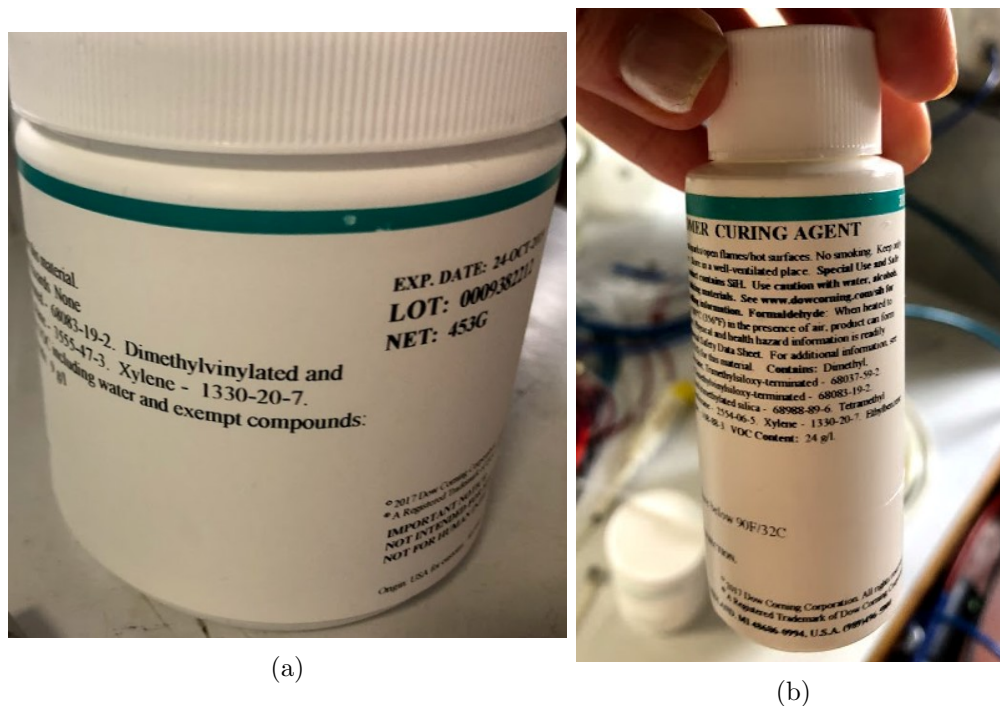


Figura 46: Imágenes tomadas de: (a) el envase de elastómero de silicona y (b) el envase del agente curador.

En la microbalanza de precisión (figura 47) se colocaron aproximadamente 3,5 g de elastómero, correspondientes con la cantidad de PDMS que se deseaba producir. La decisión de esta cantidad fue basada en el consejo de los profesionales del laboratorio que acostumbran a preparar PDMS y sabían que se usaba alrededor de 1 g por lámina. En la 47 (b), se observa el recipiente con elastómero dentro de la microbalanza y la administración del agente mediante la pipeta de Pasteur. Una vez colocado el agente se mezcló a mano.

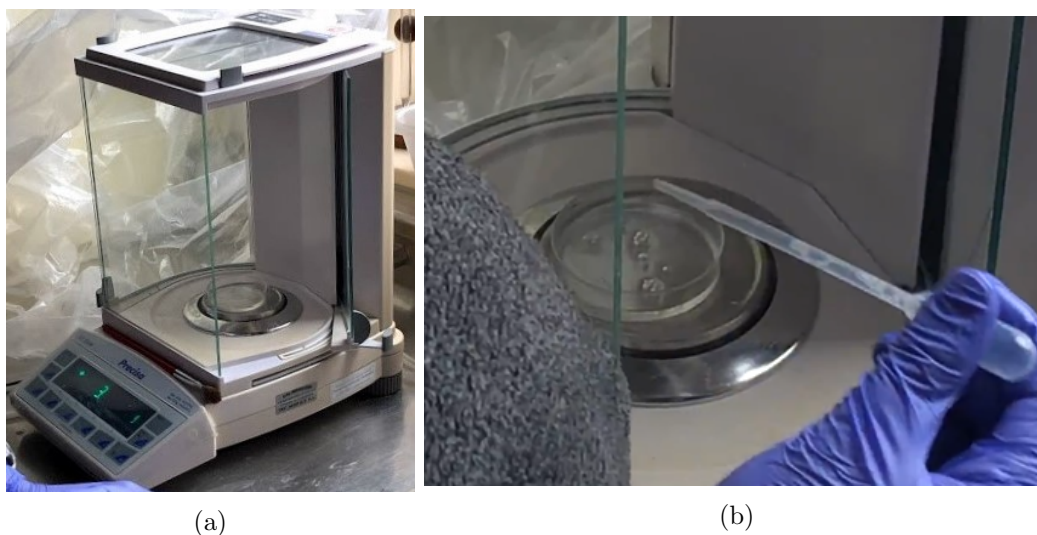


Figura 47: Imágenes tomadas de la preparación de PDMS, utilizando la microbalanza.

Para aislar los prototipos, se distribuyó el PDMS mediante *spin coating* con el mismo equipo que se había utilizado para colocar la fotoresina. El proceso se llevó a cabo durante 1 min dividido en 10 segundos iniciales de rampa hasta llegar a la velocidad máxima de 1500 rpm durante 45 segundos y luego 5 segundos de rampa descendente para detener el equipo. Dado que el PDMS se esparció por toda la superficie, fue necesario dejar al descubierto los contactos. Se cortó superficialmente el aislante con un bisturí y luego con una pinza se lo desprendió. Al ser un procedimiento completamente manual, las dimensiones del meandro resultaban una complicación. Fue necesario utilizar una lupa y llevarlo a cabo con mucha delicadeza.

Una vez expuestos los contactos, se comenzó con las soldaduras de los cables a los prototipos. En la figura 48, se muestra a la izquierda una imagen tomada del procedimiento y a la derecha, el resultado. En esta etapa surgió que por la naturaleza del proceso de microfabricación o por el método de soldadura utilizado, la capa de electroplating de cobre se desprendió de muchos contactos. En algunas ocasiones ocurrió al momento de soldar y en otras por una tracción sutil del cable por roce. A partir de estos sucesos, se concluyó que para la siguiente microfabricación de prototipos era necesario encontrar una manera de reducir el estrés sobre los contactos, minimizando el riesgo de comprometer la soldadura.

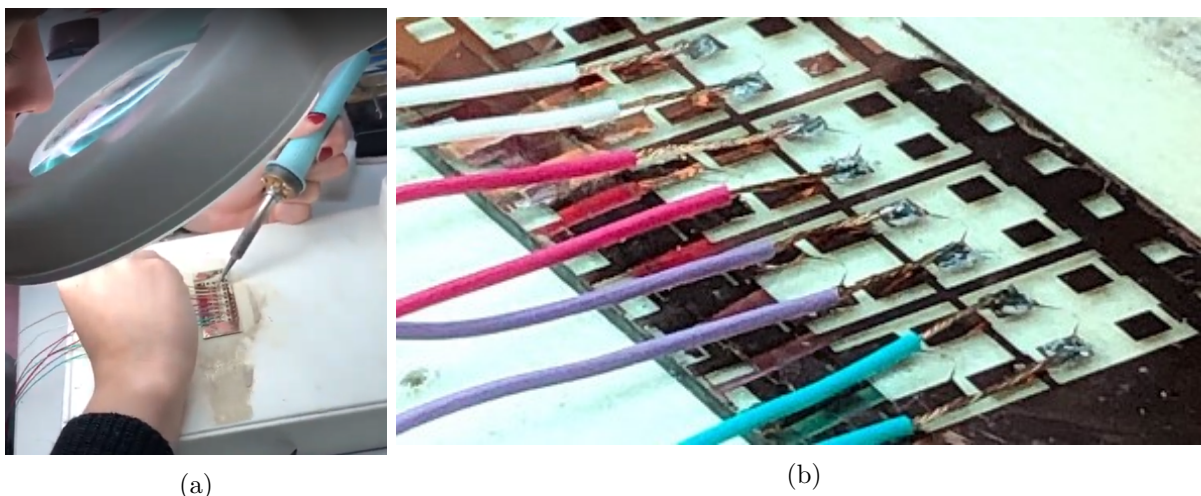


Figura 48: Imágenes tomadas de: (a) el proceso para soldar los cables a los conductores mediante el uso de la lupa y (b) las soldaduras con pasta de estaño.

#### 4.2.4. Caracterización

Luego del electroplating pero previo a realizar el ataque químico y la remoción de la resina, se caracterizaron los prototipos obtenidos hasta el momento con el equipo de interferencia óptica de la luz. No se realizó al finalizar ya que es necesario que las superficies a analizar sean opacas para que la luz pueda reflejarse en ellas y generar los patrones de interferencia constructiva y destructiva. En la figura 49, se observa el preciso momento de la caracterización de uno de los portaobjetos bajo el objetivo del microscopio que tiene integrado el perfilómetro. En los bordes de la imagen se alcanza a vislumbrar las perillas que permiten ajustar la ubicación en el plano superficial (ejes X e Y). El modo utilizado de toma de datos fue

*Vertical Scanning Interferometry* (VSI). Este método escanea de manera vertical, movilizando el objetivo de manera simétrica a lo largo de un rango definido previamente. En el anexo (sección 7.4) se incluye un vídeo de la caracterización en proceso. Algo que se destaca es la posibilidad de observar distintas rugosidades, provenientes de los diferentes métodos de deposición de cobre realizados a lo largo de la microfabricación. El cobre proveniente del electroplating presenta mayores irregularidades que el depositado por sputtering. Es conveniente tomar superficies lisas como referencia para la generación del patrón de interferencia, por lo que se utilizó el segundo.

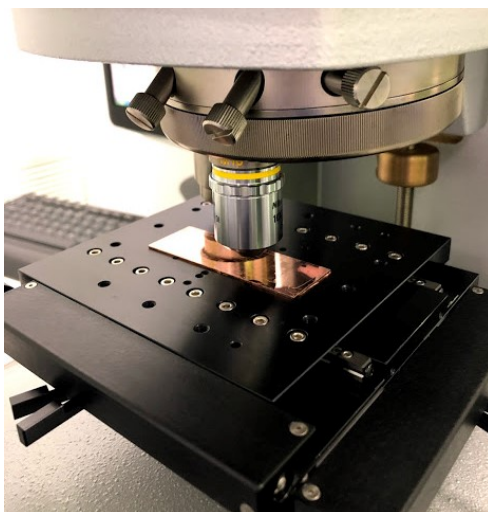


Figura 49: Imagen tomada dentro de la sala limpia del prototipo en el perfilómetro óptico.

Utilizando el software de visualización, se obtuvo un modelo tridimensional interactivo del cual se seleccionó una vista, presentada en la figura 50. Allí se muestra en gris oscuro la superficie del prototipo ( $-3,5 \mu m$  según la escala de colores dispuesta a la derecha de la imagen) y en amarillo un contacto del meandro ( $9 \mu m$ ). Con esta información se calcula que poseen aproximadamente  $12,5 \mu m$  de altura. Esto se corresponde con la altura de  $12 \mu m$  de fotoresina AZ 9260 que se había colocado previamente, indicando un desvío en este proceso de tan sólo  $0,5 \mu m$ , lo cual representa un 4% del total. Cabe destacar que este valor es considerablemente bajo dado que los equipos están diseñados para optimizar la microfabricación con obleas y en el caso de los meandros se utilizaron portaobjetos. Se observa además en toda la superficie del contacto un color mayormente uniforme, lo cual implica que la microfabricación fue exitosa.

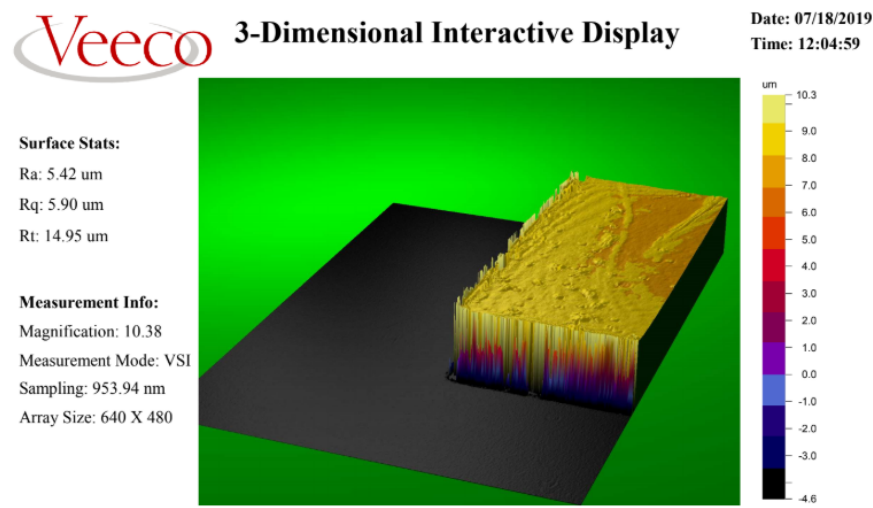


Figura 50: Estudio de la superficie del prototipo mediante perfilometría óptica.

En la figura 51, se presenta un análisis bidimensional del prototipo en la posición ilustrada a la izquierda del gráfico. El eje rojo, horizontal, se corresponde con el gráfico superior, y el eje azul con el inferior. Es posible observar en estas curvas, una altura de 12,5  $\mu\text{m}$  efectivamente, como había sido calculada con el gráfico tridimensional.

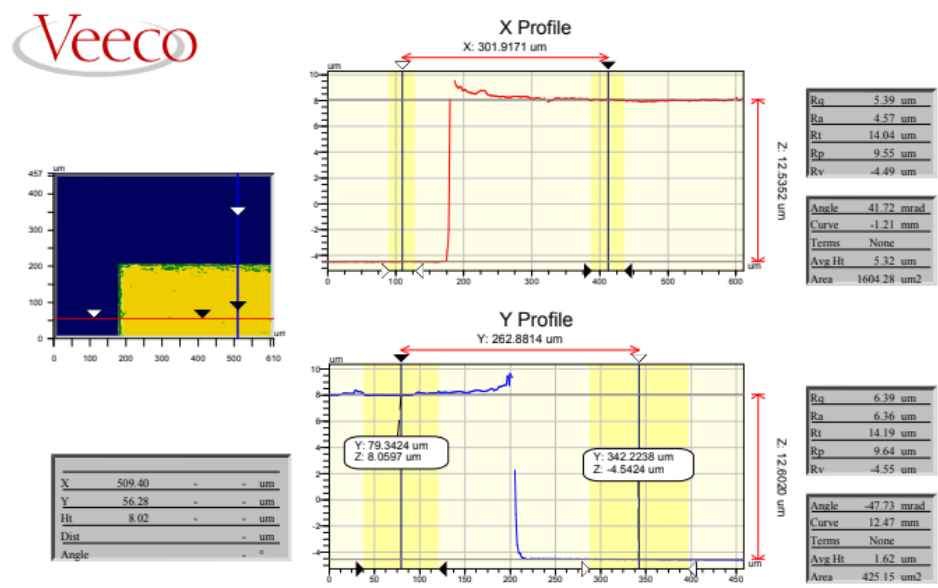


Figura 51: Estudio de la superficie del prototipo mediante perfilometría óptica.

Al finalizar todas las etapas de la microfabricación, se procedió a caracterizar los meandros obtenidos con el objetivo de evaluar la calidad y funcionalidad de los mismos previo a realizar los experimentos con NPM. El primer paso fue la observación a través del microscopio óptico Leica.

En la figura 52, se destacan cuatro meandros para ejemplificar las diferencias resultantes entre el portaobjetos 1 y el 2, y entre los meandros de  $5\ \mu\text{m}$  de ancho y los de  $10\ \mu\text{m}$  de ancho. A pesar de que la microfabricación es un proceso altamente estandarizado, posee una variabilidad intrínseca difícil de controlar que puede provocar diferencias sustanciales incluso realizando dos procesos exactamente iguales. Esto es lo que sucede al observar las desigualdades que se encuentran entre estos portaobjetos ya que ambos fueron fabricados de manera simultánea, realizando exactamente los mismos procesos.

Se observa la desventaja de trabajar al límite de resolución de la máquina, situación en la que aumenta la probabilidad de error y disminuye la calidad del prototipo resultante. En consecuencia, si se comparan meandros de un mismo portaobjetos, el meandro de menores dimensiones posee mayor cantidad de imperfecciones. De hecho, el meandro proveniente del portaobjetos 1 (figura 52(a)) presenta un corte total de la continuidad del conductor en el sector derecho y dentro de las curvas del meandro, por lo que no es funcional.



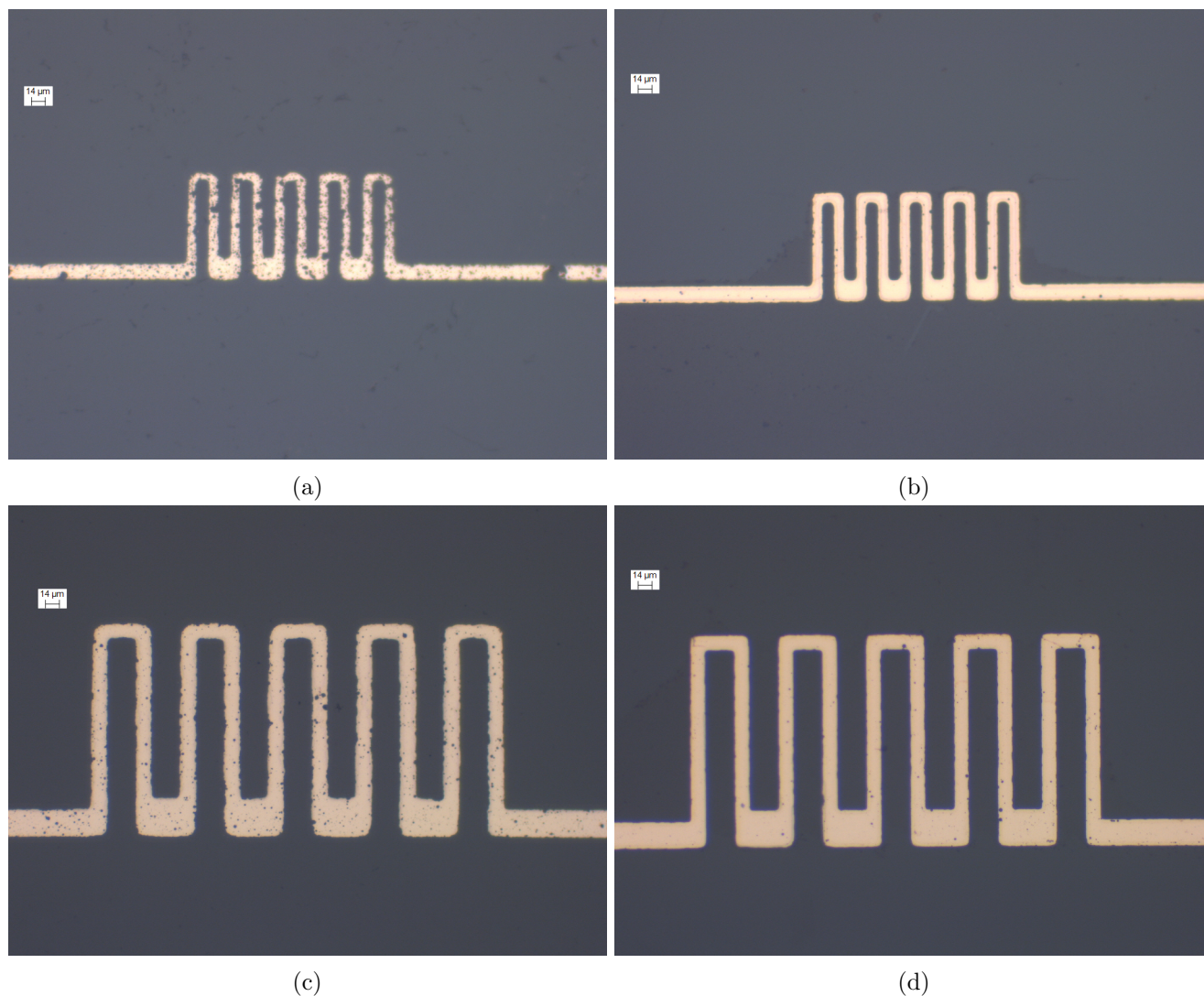


Figura 52: Imágenes de microscopía donde se observan los resultados de la microfabricación de los meandros y las diferencias de calidad resultante entre los dispositivos de distintas dimensiones: (a) portaobjetos 1, meandro de  $5\mu\text{m}$ , (b) portaobjetos 2, meandro de  $5\mu\text{m}$  (c) portaobjetos 1, meandro de  $10\mu\text{m}$  y (d) portaobjetos 2, meandro de  $10\mu\text{m}$ . Se observa el efecto positivo en la calidad de los mismos al aumentar las dimensiones de los

En la figura 53, se presenta la medición de las dimensiones efectivas de uno de los meandros del portaobjetos 2. En el diseño, el ancho del conductor era de  $10\mu\text{m}$ , que finalmente resultó de  $14\mu\text{m}$ , ilustrando el margen de inexactitud que puede surgir durante el proceso de microfabricación. Es necesario tener en cuenta estos aspectos durante el proceso de diseño ya que si no se separan los conductores una distancia mayor al doble del margen de error, éstos podrían superponerse y generar que todo el dispositivo quede en cortocircuito, inutilizándolo por completo.

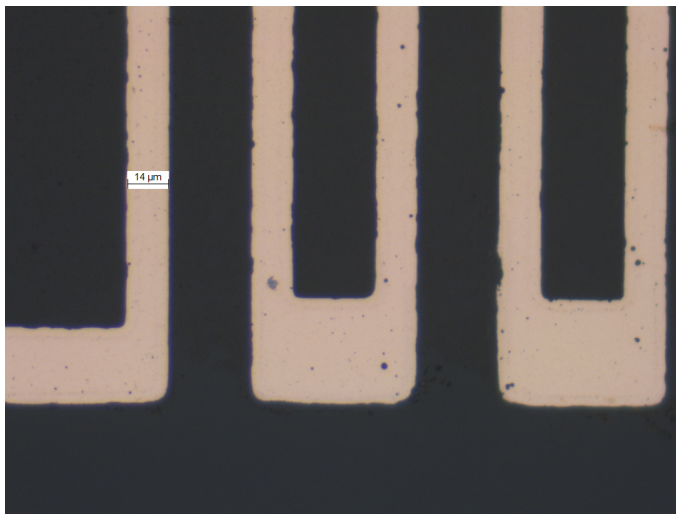


Figura 53: Imágenes de microscopía donde se observa claramente las dimensiones efectivas de un meandro del portaobjetos 2.

Se generaron las curvas I-V mediante el analizador de frecuencia para determinar la resistencia efectiva al hacer circular corriente por los dispositivos. Por la Ley de Ohm, se sabe que la pendiente de la curva obtenida es el inverso de la resistencia. Si esta curva es lineal, significa que la resistencia es constante y por lo tanto no hay un aumento de temperatura significativo (ecuación (5)). También, se deduce de manera directa que a menor pendiente mayor es la resistencia. Es de esperar que los meandros de menores dimensiones posean mayores resistencias, por efecto de la ecuación (4), ya que disminuye el área transversal del conductor. Se exponen en la figura 54 un ejemplo de curva obtenida para cada tamaño de meandro, las cuales se corresponden con las deducciones teóricas. El eje horizontal pertenece a los valores de tensión (V) y el vertical a la intensidad de corriente eléctrica (A) generada por la diferencia de potencial entre los extremos del conductor. El corte abrupto que aparece en ambos gráficos se debe a que alcanzó el valor límite del parámetro de corriente seteado (10 mA). Posteriormente, se aumentó el rango de corriente máximo para evitar la saturación y permitir la caracterización a valores mayores. Observando los gráficos, se determinó con un intervalo amplio de seguridad que se podía trabajar hasta 10 mA ya que es cuando recién comienza a aparecer histéresis en la curva y a dejar de ser completamente lineal (figura 55).

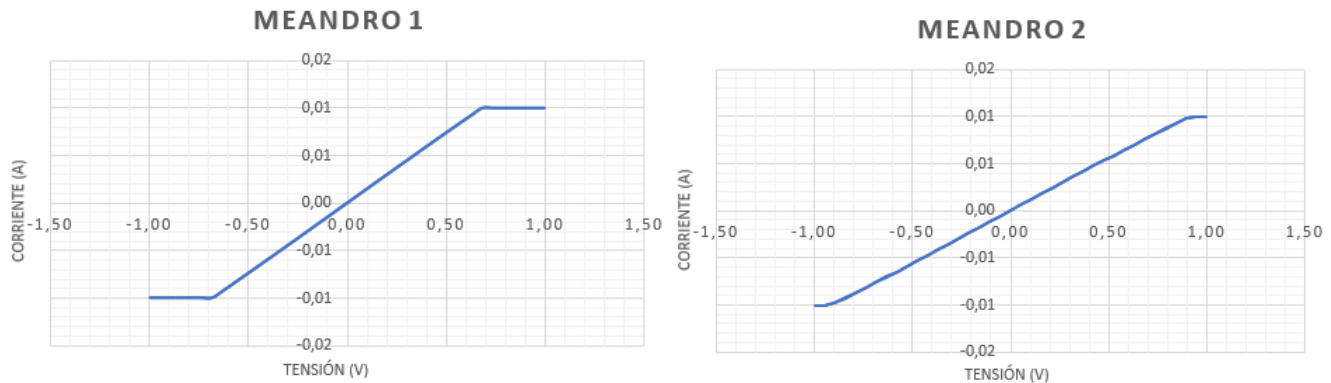


Figura 54: Gráficos obtenidos con el analizador, se observa la diferencia en las pendientes dado que (a) corresponde a un meandro de  $10\ \mu m$  y (b) uno de  $5\ \mu m$ .

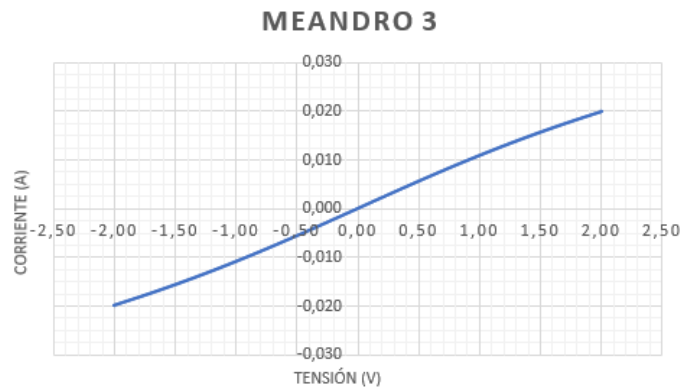


Figura 55: Gráfico obtenido con el analizador de un meandro de  $5\ \mu m$  de ancho, se observa como comienza a perder al linealidad.

#### 4.2.5. Experimentación

Se incluyen múltiples vídeos de experimentos llevados a cabo con los prototipos de meandros microfabricados en el anexo (sección 7.4). Se decidió reducir esta sección a la discusión de los resultados obtenidos con algunas ilustraciones a modo de ejemplo para una mejor visualización.

Las imágenes de la figura 56 fueron tomadas antes y después de hacer circular 10 mA por el meandro durante 4 minutos. De una instancia a la siguiente, la concentración de NPM junto a los conductores aumenta de manera considerable. Esto valida el comportamiento del prototipo como *atrapador de partículas*.



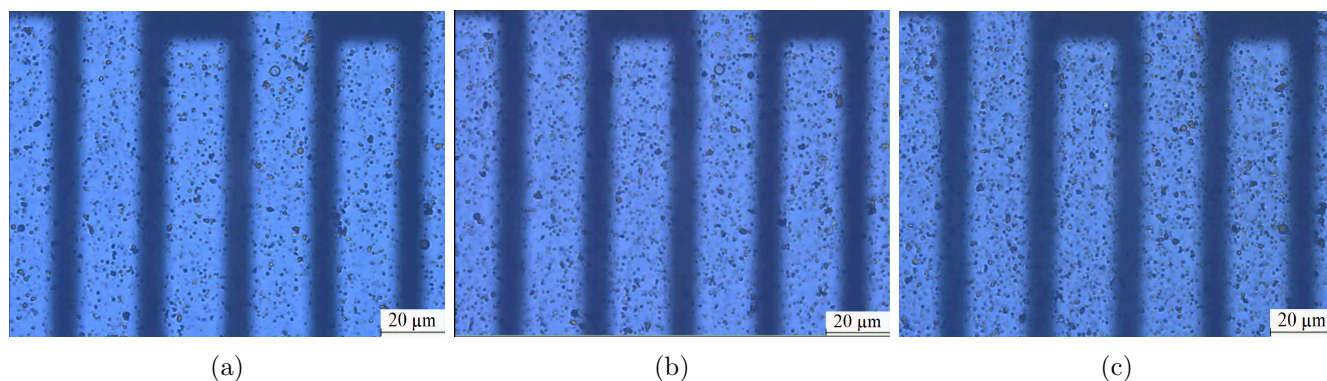


Figura 56: Imágenes de microscopía. NPM en suspensión (a) al iniciar el experimento, (b) luego de la circulación de 10 mA de corriente durante 2 minutos y medio y (c) luego de 4 minutos.

En estos experimentos, hubo un salto cualitativo en cuanto a la visualización. En comparación a los experimentos previos, pueden distinguirse las NPM casi individualmente. Esto es más acorde al objetivo de la presente investigación, dado que cada NPM a transportar es importante de forma individual. Cada NPM que se encuentre adherida una bacteria del paciente se enlazará a un AC unido a la superficie del sensor. Esto es incompatible con las aglomeraciones que se tenían hasta este punto.

#### 4.2.6. Procesamiento de imágenes

Se procedió a realizar un procesamiento en Python de las imágenes obtenidas. El primer paso fue aplicar el umbralizado de Otsu a la imagen con tres umbrales para poder segmentarla y de esta manera, agrupar las NPM y facilitar su conteo. Se utilizó la implementación *OtsuMultipleThresholdsImageFilter* del *toolkit* de segmentación y registración de la empresa *Insight*, mejor conocido como ITK.

A modo de ejemplo, se presenta en la figura 57 (a) el histograma que resulta de aplicar dicho método a la imagen de la figura 56 (a). Junto a él en la figura 57 (b), la aplicación de este umbralizado a la imagen. Como puede notarse, las NPM se dividen en la clase representada por el tono gris oscuro y también en la clase de tono negro.

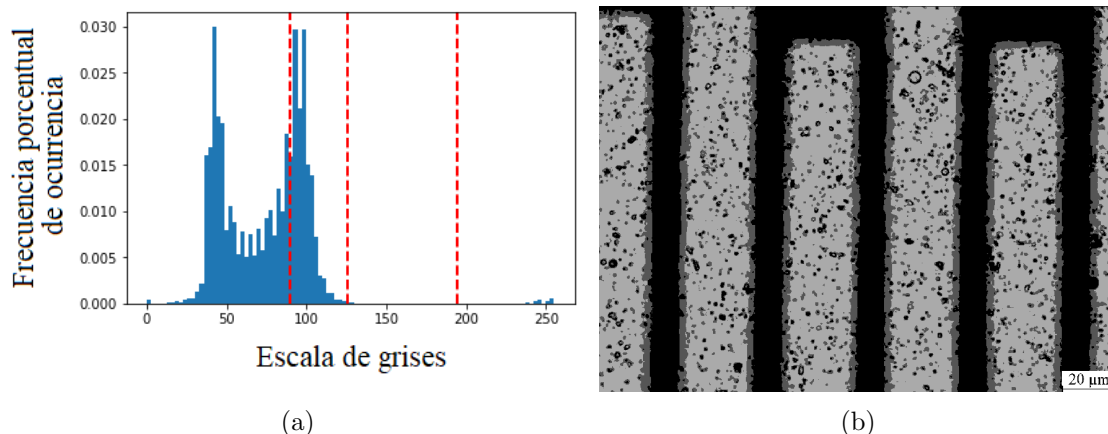


Figura 57: Resultado de la aplicación del umbralizado de Otsu a la imagen de la figura 56 (a). Por un lado, (a) el histograma que indica la frecuencia de ocurrencia (número de píxeles) porcentual de cada intensidad de gris en la imagen original. Por el otro, (b) el renderizado de la imagen original representada en 4 tonos de gris, cada uno correspondiente a uno de los intervalos delimitados por los umbrales.

Seleccionando únicamente las capas indicadas, se binarizaron las imágenes. Los resultados para la binarización de las imágenes de la figura 56 se presentan en la figura 58. Nótese que gran parte de los píxeles “encendidos” corresponden a los conductores.

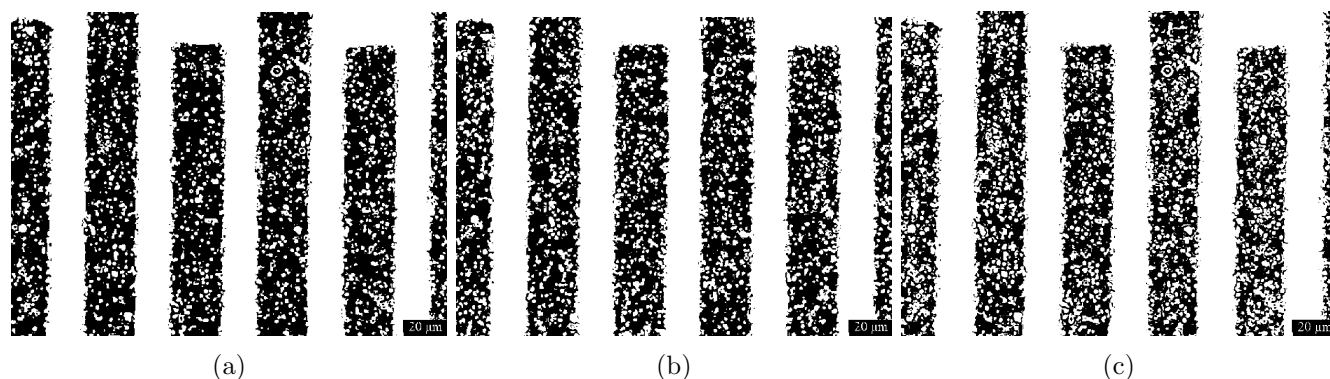


Figura 58: Binarización de las tres imágenes presentadas en la figura 56.

Para poder separar las NPM en suspensión de los conductores, se optó por aplicar morfología matemática. El operador morfológico elegido fue el de apertura. De esta forma, las NPM no sobrevivirían a la erosión mientras que las dimensiones del conductor se conservarían. A modo ilustrativo, se incluye la apertura de la imagen de la figura 58 (a). A pesar de que algunas aglomeraciones sobrevivieron a la erosión por estar encimados con los bordes de los conductores, se pudo segmentar la región de la imagen que corresponde a los mismos como puede observarse a simple vista.

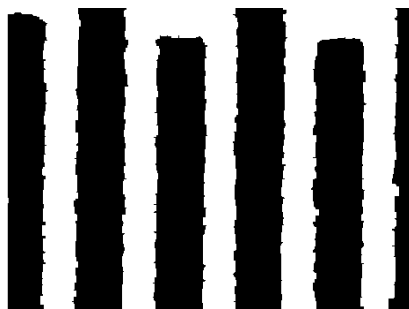


Figura 59: Resultado de la apertura de la imagen binaria de la figura 58 (a).

A la imagen binaria, se le restó el resultado de la apertura. Al procesar imágenes que provenían del mismo experimento, se realizó una única apertura y se utilizó la misma máscara de conductores para todas. De esta manera, se redujo el problema que traían las aglomeraciones que sobrevivían a la operación, ya que dichos píxeles eran “apagados” en todas las imágenes. En la figura 60, se presentan los resultados de restar la imagen de la figura 59 a las imágenes de la figura 58.

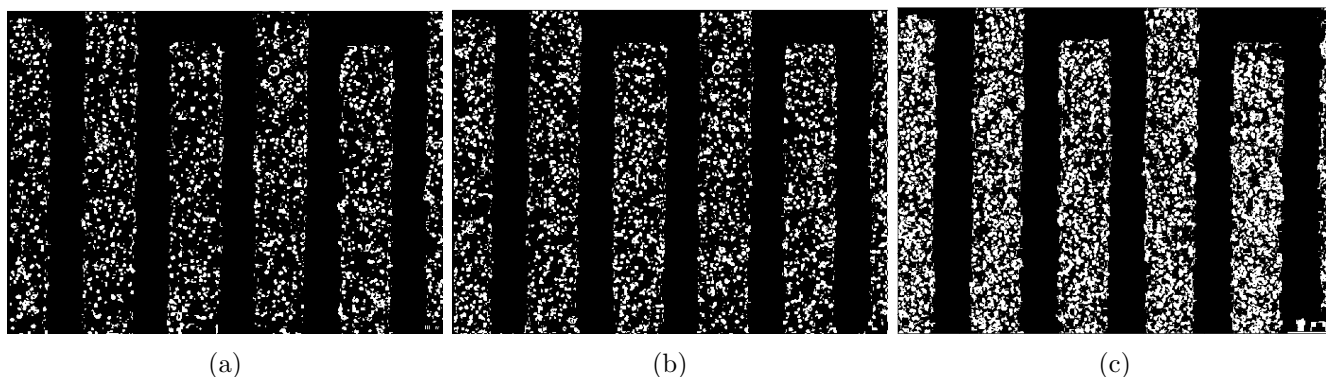


Figura 60: Imágenes resultantes de restar la imagen presentada en la figura 59 a las imágenes binarias de la figura 58.

Al finalizar este proceso, se tienen imágenes compuestas únicamente por píxeles correspondientes a NPM. Se sumaron los píxeles del frente de cada imagen y se registró la variación del número respecto de la correspondiente al inicio del experimento. En el caso de las imágenes presentadas en la figura 60 donde circulaban 10 mA por un meandro de  $10\ \mu\text{m}$  de ancho, de la instancia (a) a la (b) en un lapso de dos minutos y medio se obtuvo un aumento del 19,89 % mientras que de la instancia (a) a la (c) en un lapso de cuatro minutos hubo un aumento del 96,26 % respecto a un campo de visión de  $140\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$ .

Para discutir estos resultados, es importante ponerlos en perspectiva. En el experimento presentado, se tenía una alta concentración de NPM, significativamente mayor a la cual se tendrá cuando el sistema de transporte se integre al biosensor. Sin embargo, se cuenta con un abundante respaldo bibliográfico que defiende que los resultados que se obtienen para altas concentraciones de NPM pueden esperarse en bajas concentraciones [77]-[81]. Sumado a esto, es difícil cuantificar la magnetización de la muestra en el momento

en el que se capturaron las imágenes presentadas. Por último, debe considerarse que esta imagen bidimensional comprende partículas dispuestas en un espacio tridimensional. Sería interesante conocer la altura de la gota al momento de tomar las imágenes. La principal limitante para esto es el hecho de que la exposición de la muestra a la iluminación del microscopio produce la evaporación parcial de la gota. Sería arduo registrar a tiempo real las dimensiones de la misma.

### 4.3. Prototipo de conductores paralelos

Lo primero que se hizo fue reconsiderar la idea de microfabricar la matriz. Para ese entonces, ya se comprendía mejor el desafío que presenta cada paso de la microfabricación y sus complicaciones. Luego, se podía discernir qué implicaría abordar la microfabricación de dos capas de conductores aisladas entre sí y de la superficie. Dado que el objetivo del presente trabajo es el de realizar una prueba de concepto de que es posible transportar NPM mediante la generación de perfiles de campos magnéticos, se concluyó que era suficiente probar que se tiene un transporte controlado en una dimensión. La extensión a dos dimensiones no es trivial dado el peso que tiene la distancia de la partícula al conductor en el valor del campo magnético. Sin embargo, es posible argumentar que de comprobarse un transporte efectivo en una dimensión, será factible probar a su vez un transporte efectivo en dos dimensiones. Se procedió con el diseño de sólo una de las capas de la matriz. En adelante se hará referencia a este diseño como “conductores paralelos”.

El diseño de la disposición de conductores se basó en la matriz desarrollada por *Lee et al.* [76] (la consolidación del diseño se desarrolla en la sección 7.1.3 del anexo). El equipo de Lee optó por un ensanchamiento progresivo del diámetro de los conductores para simplificar la conexión a la corriente. Se tomó esta decisión de diseño pero procurando evitar la desviación en ángulos rectos de los conductores que puede observarse en el diseño original mencionado (en la sección previamente indicada, se incluye la figura 103 en donde se observa el diseño original. Puede notarse esta característica hacia los bordes de la imagen). Esta modificación se concibe desde la preocupación por la generación de campos magnéticos que consigan modificar el campo al cual se exponen las NPM que se encuentran en la zona de interés ya que la circulación de corriente por un conductor produce campos perpendiculares a él.

A continuación, se presenta el desarrollo del prototipo final. En la figura 61, se incluye una fotografía del mismo.

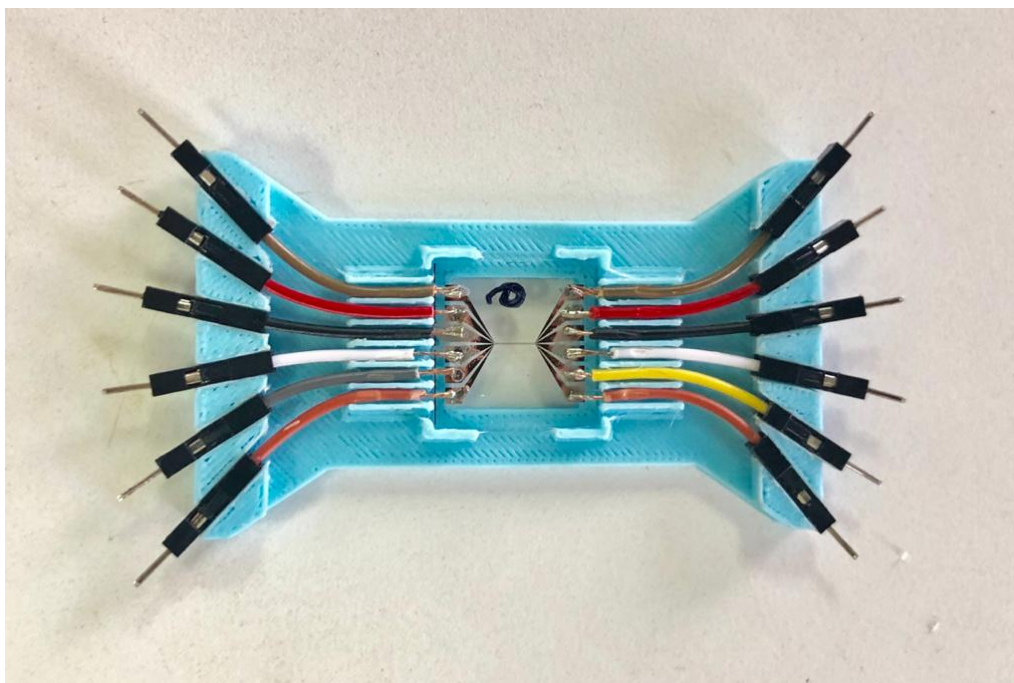


Figura 61: Prototipo final.

#### 4.3.1. Simulación

Antes de consolidar el diseño de la máscara del nuevo prototipo, se realizó otra etapa de simulación utilizando el modelo de conductores paralelos diseñado en Ansys (figura 62) con el objetivo de obtener de una mejor comprensión de la generación de campos magnéticos a causa de la circulación de corriente a través de los microconductores. Para ello, se procedió a generar una geometría simplificada de la matriz bidimensional consistente en seis conductores paralelos de  $20\ \mu\text{m}$ , equidistantes entre sí, separados por un espacio de la misma magnitud, que luego se ensanchan hasta alcanzar los 2 mm para desembocar en los contactos. Entonces los correspondientes análisis y simulaciones fueron realizados sobre esta geometría.

En la figura 62 (a) se observa el diseño de conductores paralelos modelado en Ansys Maxwell. Para una mejor comprensión se realizó un acercamiento del diseño en la figura 62 (b). Se optó por no incluir en la simulación a los contactos dado que al poseer un área superficial significativamente mayor en relación al resto del dispositivo y teniendo en cuenta que el campo magnético tiene una relación de proporcionalidad inversa con la distancia, se deduce que su influencia en el área de interés es despreciable. Se realizaron simulaciones, haciendo circular corriente eléctrica por los conductores. Los parámetros variados fueron la intensidad de dicha corriente y su sentido, realizando distintas observaciones de los resultados como el módulo del campo magnético generado en los distintos puntos del espacio, su perfil bidimensional sobre una recta perpendicular a los conductores que cruza el centro del dispositivo y el gradiente del mismo.

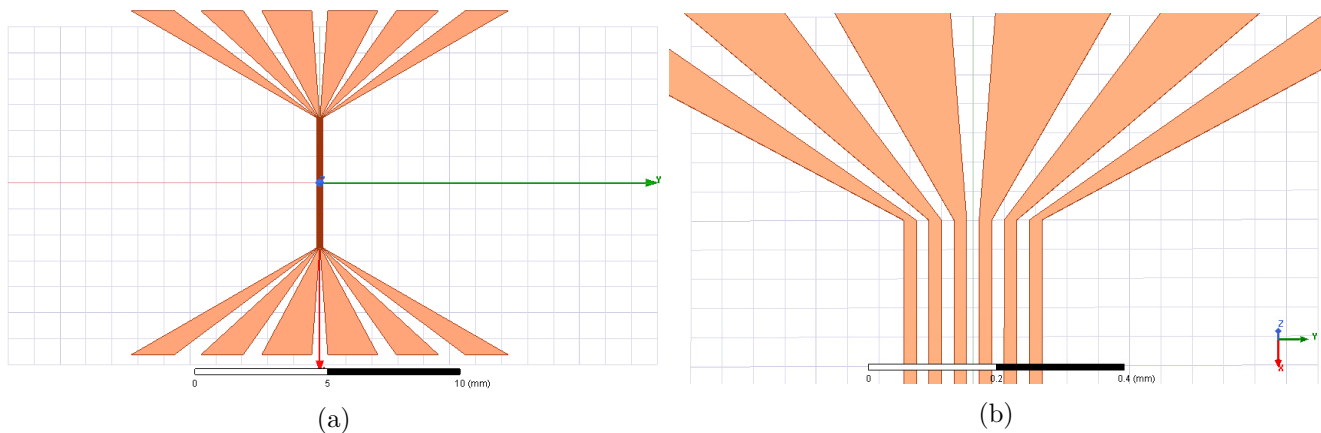


Figura 62: Modelado del diseño final de la distribución de conductores: (a) diseño completo y (b) acercamiento al modelo en el sector de transición hacia los contactos.

A continuación se presentan los resultados obtenidos con las diferentes evaluaciones realizadas. En todos los casos, las figuras, gráficos y animaciones a las que se hace referencia fueron obtenidos mediante el programa Ansys Maxwell 3D Design.

En la figura 63, se observa un mapa bidimensional del módulo del campo magnético generado por la circulación de corriente a través de los seis conductores paralelos, con igual intensidad (20 mA) y sentido de corriente. Se destaca principalmente que el campo se concentra en los conductores, alcanzando un valor máximo de  $1312,45 \mu\text{T}$ , a diferencia de los valores en el sector de transición hacia los contactos. Se observa también cómo disminuye abruptamente en las cercanías de los conductores paralelos al alejarse de la superficie de los mismos. Esto nos permite asumir despreciable la influencia del sector de transición ya que la magnitud del campo disminuye en un factor de 100 casi inmediatamente (zona amarilla) que finalmente alcanza hasta una disminución de 500 veces (zona verde).



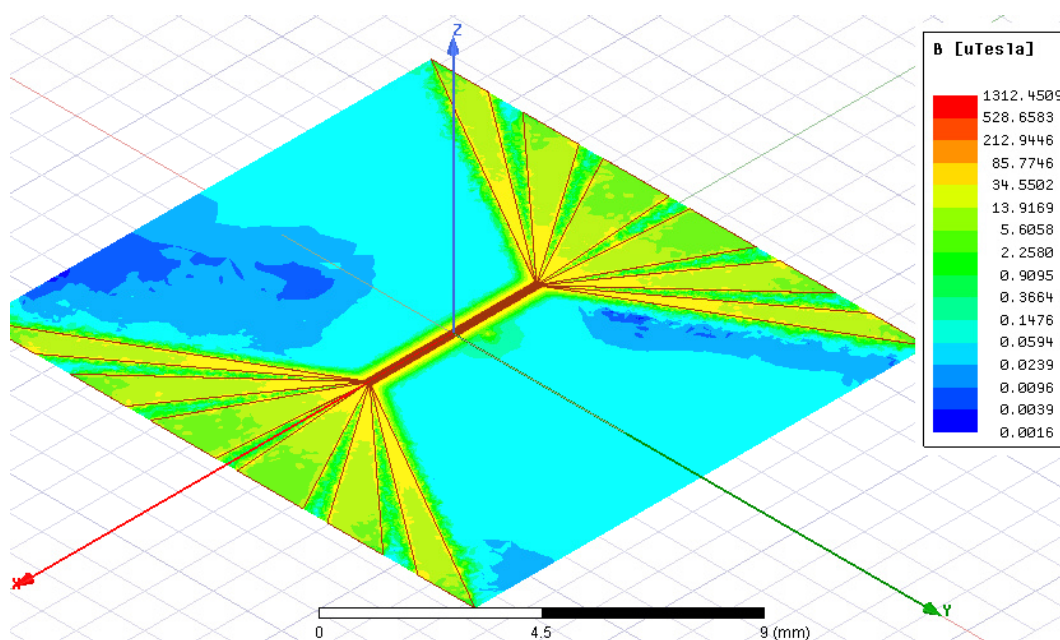


Figura 63: Captura de pantalla del modelado de la magnitud del campo magnético al circular 20 mA por cada conductor, todos en el mismo sentido.

A partir de esta conclusión, el resto de las simulaciones fueron realizadas únicamente sobre la porción paralela de los conductores en un esfuerzo por reducir el costo computacional de cada simulación y poder así realizar un mayor número de simulaciones para el ajuste de los parámetros. Por otro lado, se observa la falta de simetría en el sector mayormente celeste, donde aparecen algunas manchas de tonos más oscuros. Esto es una inexactitud en la simulación lo cual evidencia que las mismas no son 100% perfectas, sino que son una representación simplificada de la realidad. Deben considerarse como una herramienta más para profundizar la comprensión de la misma y ser capaces de visualizarla de manera más gráfica y tangible.

En la figura 64 se presenta un corte transversal del dispositivo en el sector de los conductores paralelos. Circulaba corriente únicamente por los dos conductores centrales, con una intensidad de 3 mA y sentido opuesto entre sí. En el gráfico cada flecha representa el vector campo magnético el punto dado del espacio. La dirección y sentido del mismo están representados por la dirección y el sentido de la flecha y su magnitud por un color. Esto permite la visualización de la ley de Biot-Savart, la generación radial del campo y su disminución con la distancia.

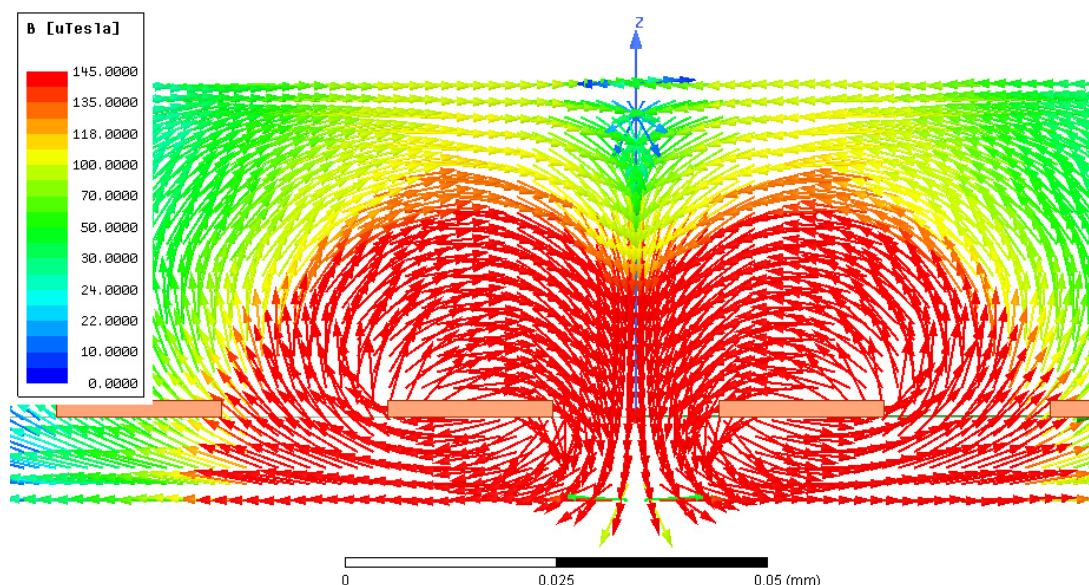


Figura 64: Captura de pantalla del modelado de la magnitud y dirección del vector campo magnético. A la izquierda, se indica la codificación del color del vector con la intensidad de campo que representa.

A continuación se observa en la figura 65, la superposición de dos curvas, cada una correspondiente a la magnitud del campo en una instancia sobre la misma recta transversal a los conductores paralelos, llamado perfil de campo magnético. Se obtuvo haciendo circular 10mA de corriente por todos los conductores con el mismo sentido en un caso (curva violeta) y 30mA por un solo conductor en otro (curva roja). De este modo, se manifiesta la proporcionalidad directa y de manera lineal de la intensidad de corriente con el módulo del campo magnético. Cabe destacar que cuando circula por todos los conductores, los mínimos no son cero y los picos en los máximos de la curva violeta son imprecisiones de la simulación.

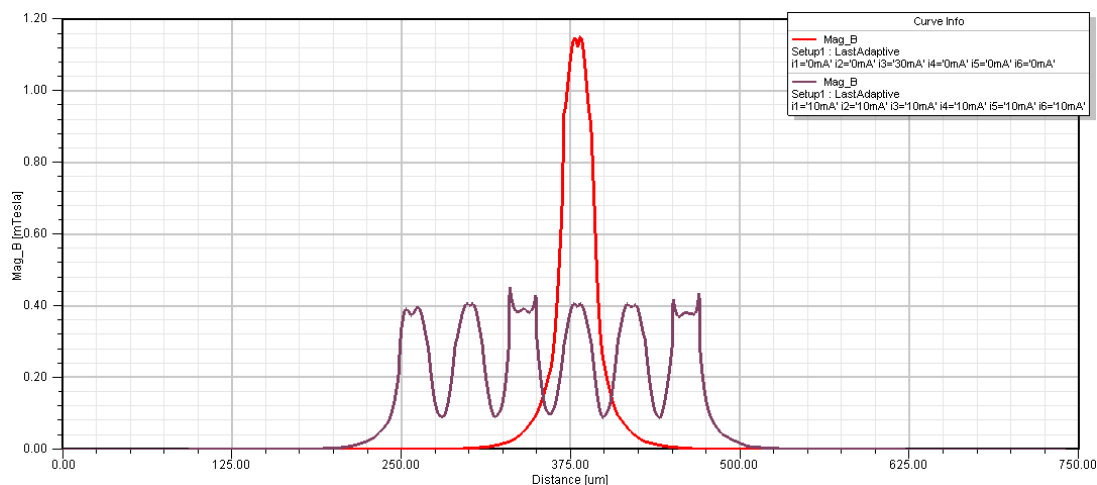


Figura 65: Gráfico de la magnitud del campo magnético, con circulación de 10mA en todos los conductores en la misma dirección (violeta) y 30mA sólo en un conductor (rojo).



En el gráfico de la figura 66, se presentan tres perfiles de campo magnético en distintas situaciones. En todos los casos los valores corresponden a una recta transversal a los conductores a una distancia de  $10\ \mu\text{m}$  sobre la superficie. La curva azul corresponde a la circulación de 10mA con el mismo sentido por todos los conductores. La violeta representa un escenario semejante donde no circula corriente en la pista 4, numerando de izquierda a derecha. Luego, se invirtió el sentido de la misma pista, manteniendo los 10mA iniciales. La curva roja hace referencia a dicha instancia.

El perfil de campo alcanza el valor nulo cuando no circula corriente por el conductor. En el caso de la inversión de sentido de corriente, los dos mínimos relativos circundantes a la pista invertida aumentan ya que en el centro del espacio entre conductores ya no se cancelan los vectores de campo magnético en el eje vertical.

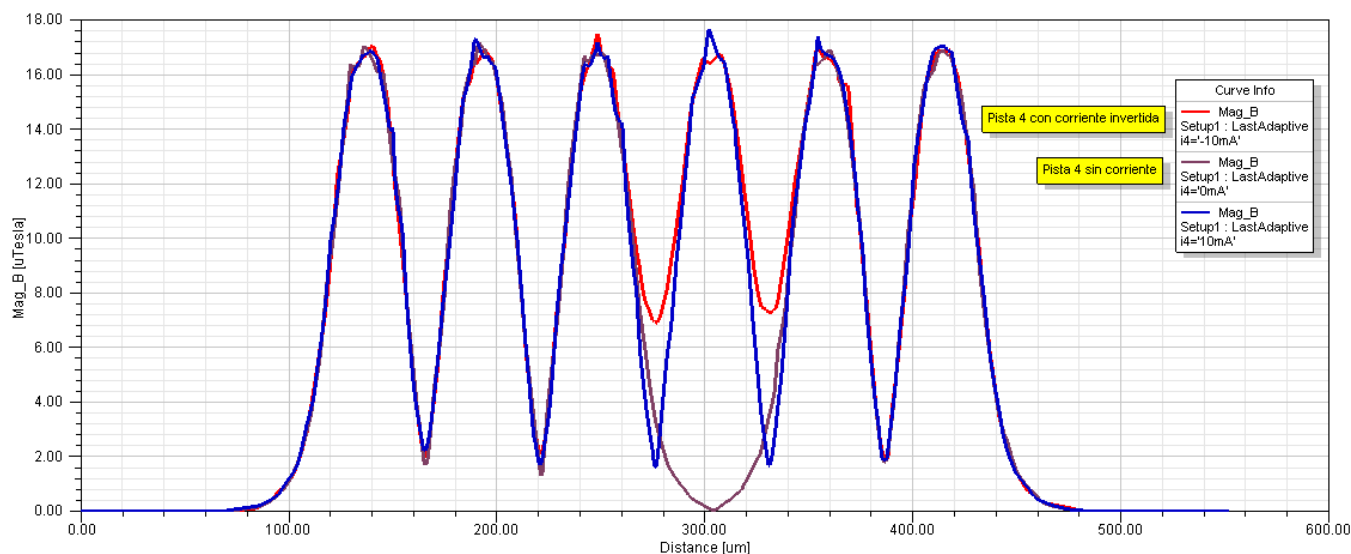


Figura 66: Gráfico de la magnitud del campo magnético a  $10\ \mu\text{m}$  sobre la superficie de los conductores. Circulación de 10mA en todas las pistas, en el mismo sentido (azul), sin circulación de corriente en la pista 4 numerando de izquierda a derecha (violeta) y circulación de 10mA en sentido opuesto en la pista 4 (rojo).

Dado que en la fórmula de fuerza magnética aparece de manera explícita el gradiente del campo magnético, se procedió finalmente a derivar algunas curvas de magnitud de campo magnético y, de este modo, analizar hacia qué puntos del espacio se verán atraídas en mayor medida las NPM. Se observan tres curvas en el gráfico de la figura 67. Al igual que en la simulación anterior, la curva azul corresponde a la circulación de 10mA en todas las pistas, en el mismo sentido. La violeta representa el gradiente que genera la circulación de 30mA en la pista 4 (numerando de izquierda a derecha). Por último, la curva roja explicita el perfil obtenido haciendo circular 30mA únicamente por las pistas 3 y 4, en sentidos opuestos.

Se observa máximos de gradiente donde se tiene el mayor cambio de la magnitud del campo. Los máximos y mínimos de magnitud son puntos donde el gradiente es nulo. Por eso, el centro de cada conductor posee un valor de gradiente cero y el borde de los mismos son máximos porque comienza una caída abrupta de la magnitud del campo. Cabe resaltar que como la fuerza magnética es proporcional al gradiente,

entonces las curvas en el gráfico indican también dónde se encuentran los máximos y mínimos de fuerza. Con esta información, es posible predecir con mayor certeza hacia donde se desplazarán las NPM durante las experimentaciones.

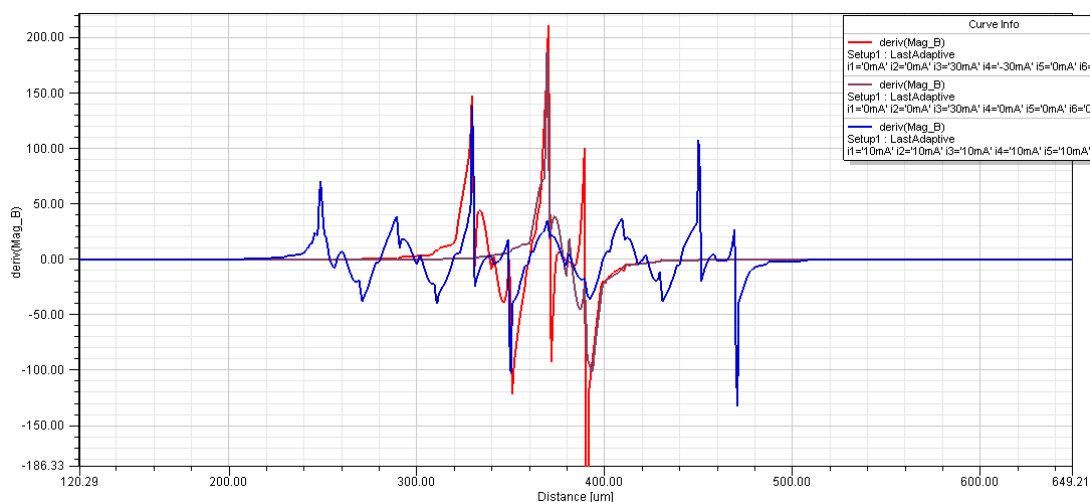


Figura 67: Gráfico del gradiente de campo magnético. Circulación de 10mA en todas las pistas, en el mismo sentido (azul), con circulación de 30mA en la pista 4 numerando de izquierda a derecha (violeta) y circulación de 30mA en las pistas 3 y 4 en sentidos opuestos (rojo).

Por otro lado, teniendo en cuenta los sucesos relacionados a las simulaciones de calor, se decidió realizar cálculos estimativos puntuales para aproximar cuánta energía se disiparía y, por lo tanto, cuánto se elevaría la temperatura en el prototipo. El primer aspecto a evaluar fue si era necesario tener en cuenta la magnitud micrométrica de los conductores, y en consecuencia utilizar o no la teoría de disipación de calor en circuitos de microelectrónica (sección 2.5.1). Para tomar una decisión al respecto, se buscó el factor de error producido por el efecto de miniaturización utilizando las ecuaciones (11) y (12) y teniendo en cuenta las dimensiones de los conductores. El error entre los índices de conductividad térmica se calcula haciendo un análisis del camino libre promedio de los electrones en comparación con la dimensión del conductor.

Se consideró el camino libre promedio  $\lambda_{mfp}$  de los electrones en el cobre como 0,38 nm y el espesor  $L$  del conductor 350 nm. Se halló que el error es de aproximadamente 0,023 % para  $k_x$  y 0,036 % para  $k_y$ , por lo que se define como despreciable y se considera apropiado trabajar con el efecto joule macroscópico.

#### 4.3.2. Diseño del prototipo

Los conductores que conformaron a los meandros fueron microfabricados con 5  $\mu m$  de ancho (con una separación de 15  $\mu m$ ) y con 10  $\mu m$  de ancho (30  $\mu m$  de distancia entre sí). Los primeros se encontraban al borde de la resolución de la fotolitografía, lo que aumentaba el riesgo de error y terminaron resultando en prototipos de calidad notablemente inferior, como se concluyó en la caracterización de dicho dispositivo. A raíz de esto, se meditó la necesidad de trabajar en dimensiones tan pequeñas. La decisión de fabricar

prototipos de dimensiones micrométricas se apoyó en una mejor visualización de las NPM y un control más fino de las mismas. Al fin y al cabo, el chip al cual se integrarán no superará los pocos centímetros y resulta crucial tener un control micrométrico de su posición. Sin embargo, por la misma razón, con una resolución de decenas de micrómetros debería ser suficiente y este aumento dimensional implica un salto significativo de la calidad del prototipo. En cuanto a la dimensión de los contactos, no se realizó ninguna modificación dado que resultó apropiada.

El prototipo del meandro tenía una zona de interés de  $200\ \mu m$  por  $100\ \mu m$  (o  $400\ \mu m$  por  $200\ \mu m$  en los más grandes). Al ser un espacio tan acotado, no se tenían dos sectores de un mismo prototipo para realizar experimentos comparables. Resultó limitante comparar entre los resultados obtenidos con diferentes prototipos ya que existían muchas diferencias entre un prototipo y otro, aún habiendo formado parte del mismo portaobjetos. Para el diseño del prototipo final, se buscó que la longitud de la zona de interés (porción paralela de los conductores) sea más extensa, teniendo en cuenta que a lo largo de dicha zona, el campo magnético al cual se exponen las NPM puede ser tomado como uniforme y por lo tanto pueden tomarse valores en múltiples sectores de un mismo prototipo.

De forma semejante, la decisión de cuántos conductores paralelos incluir en el diseño se tomó en base a la visibilidad que se tenía con el microscopio disponible. Se buscó que se pudiera visualizar el alto del prototipo en su totalidad. Con fines prácticos, se diseñó dicha altura ligeramente menor al campo de visión del microscopio para simplificar el montaje del experimento.

Por último, como se tenía intenciones de individualizar cada prototipo por medio de un equipo Dicer, éstos debían estar contenidos en recuadros definidos y de dimensiones de unidades completas (números redondos) del orden de los centímetros. Además, se incluyeron en la máscara marcas en forma de cruz en cada esquina de la cuadrícula para facilitar la alineación en el Dicer.

En la figura 68, se muestra el diseño final de la máscara para la litografía realizado en KLayout. Consiste de 6 conductores paralelos de  $20\ \mu m$  de ancho separados por otros  $20\ \mu m$  de  $5\ mm$  de longitud. Cada prototipo estaba confinado a un cuadrado de  $2\ cm$  por  $2\ cm$ . Para corroborar que se haya respetado el diseño de manera adecuada durante la fabricación de la máscara, se procedió a observarla en el microscopio óptico y medir efectivamente las dimensiones del patrón. Como se presenta en la figura 69, tanto el ancho de los conductores paralelos como su espaciado es de  $20\ \mu m$ .

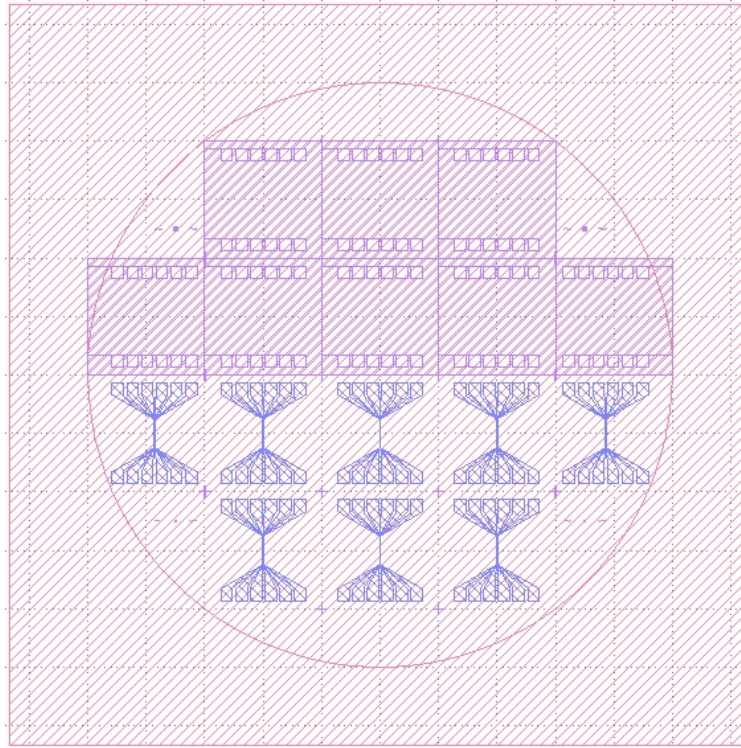


Figura 68: Captura de pantalla del programa KLayout del diseño de la máscara.

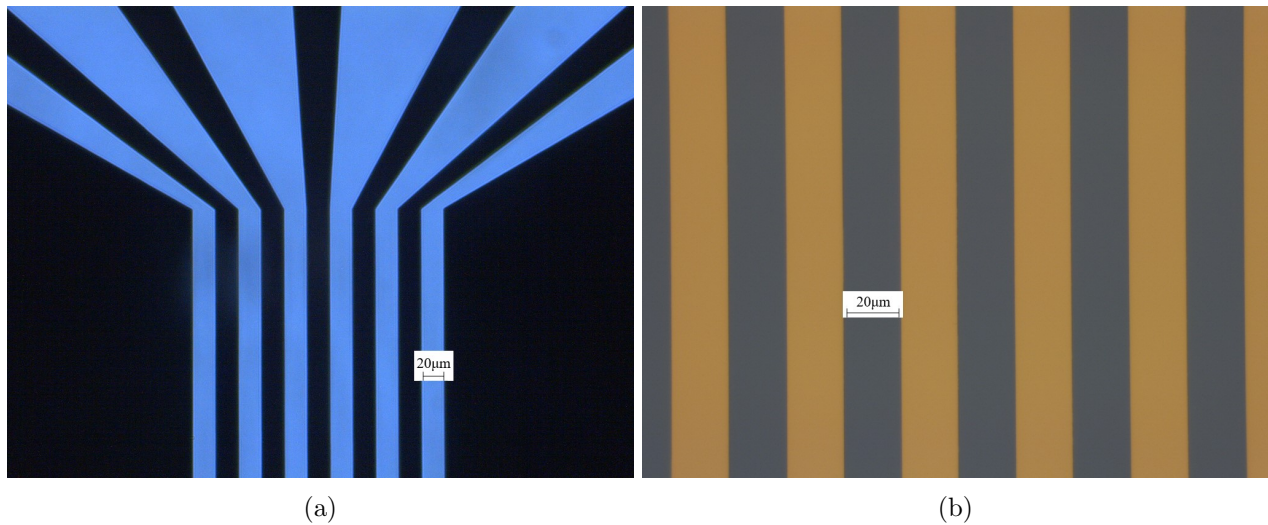


Figura 69: Observación en el microscopio de la máscara: (a) medición de los conductores y (b) medición de la distancia entre conductores.

Se decidió utilizar medias obleas para resolver las complicaciones de efecto borde presentadas en el primer proceso de microfabricación. No fue necesario utilizar una oblea completa ya que observando el diseño, las dos mitades del mismo se utilizan en distintos momentos de la microfabricación y es necesario

eventualmente superponer el diseño superior (para el engrosamiento de los contactos) al inferior. Sumado a esto, las dimensiones de este prototipo son mayores, por lo que cabría muy justo dentro de un portaobjetos sin suficiente margen de error.

Por razones operativas del Departamento de Micro y Nanotecnología de la CNEA, fue menester la fabricación de la máscara de tipo campo oscuro (figura 70), en contraposición a la del diseño de los meandros. A causa de este suceso, la secuencia de los distintos procesos que involucraron a la microfabricación fueron reorganizados para adaptarse al tipo de máscara del que se disponía.

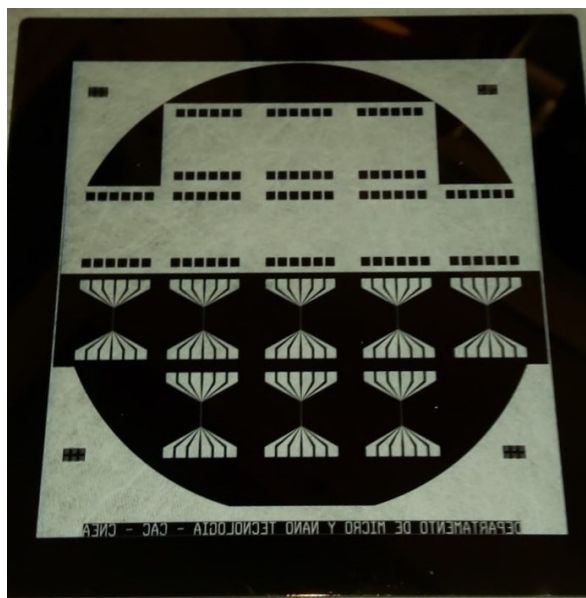


Figura 70: Imagen tomada de la máscara fabricada con el patrón diseñado.

#### 4.3.3. Porta-prototipo

Como fue explicado anteriormente, mediante la fabricación y experimentación con los meandros se encontró que al soldar los cables a los contactos, se compromete la integridad del prototipo. El desprendimiento de la capa de cobre depositada por electroplating se observó en múltiples casos por muy leves tracciones como el roce del cable con la mesa. Esto planteó la preocupación de qué efecto tienen estos eventos sobre el resto del prototipo, si comprometía en algún punto la adhesión de los conductores a la superficie. Es necesario utilizar cables banana-coco para conectar estos cables soldados a la fuente de corriente. Al conectarlo, era imprescindible contener el movimiento de los cables manualmente.

Para lidiar con este problema, se conceptualizó la necesidad de proveer al prototipo con algún tipo de soporte que reduzca la tensión sobre los contactos. Con este fin, se diseñó un porta-prototipo. Como pilares del diseño se tienen que:

- La zona de interés del prototipo (donde están los conductores paralelos) debe continuar siendo transparente para poder realizar la experimentación sin separar al prototipo de su porta-prototipo.

- El posicionamiento de los cables a soldar tenga un sentido pautado y simple para que sea posible contenerlos con el porta-prototipo.
- La contención del movimiento del cable cerca del contacto.
- La contención del movimiento del cable donde se lo conecta a la fuente de corriente.

El primer proceso de diseño resultó en el porta-prototipo que se muestra en la figura 71. En el centro, se coloca el prototipo. Allí, se tiene una hendidura de dimensiones sutilmente mayores a las del prototipo (4 %) y de 0,6 mm de profundidad para que éste encastre y así contener su movimiento. En cuanto a los cables a soldar, se los limitó a ser de conexión jumper. Estos tienen un diámetro de aproximadamente 1,5 mm salvo por el cabezal que es de 2 mm.

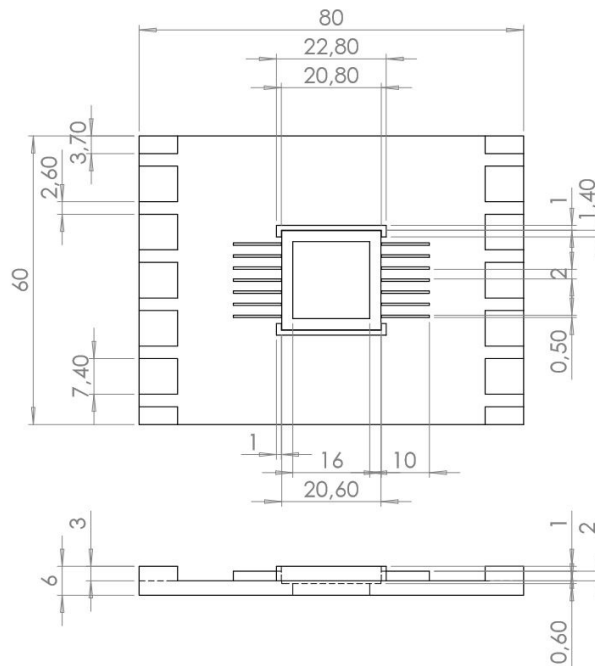


Figura 71: Primer diseño del porta-prototipo. Todas las dimensiones se expresan en milímetros.

Los “pasillos” por donde van los cables son de 2 mm de ancho. Así los cables no encastran sino que se apoyan y su movimiento está contenido. Esto se decidió ya que los cables se soldaban primero y luego se colocaba al prototipo en el soporte. De encajar, este movimiento también podría comprometer a las soldaduras. Luego, más lejos de los contactos (la zona más comprometida), el cabezal del cable encastra en el borde del soporte. Al estar más lejos, el encastrado no comprometería a la soldadura y después prometía que al enchufar los cables banana-coco, no se transfería la tensión a los contactos.

Sin embargo, al imprimir el prototipo se descubrieron algunos errores de diseño. La falta de experiencia en impresión 3D hizo que no se definieran correctamente las dimensiones de las estructuras. Con el objetivo



de que las piezas encastran, se dejaron 0,3 mm a cada lado, en lugar de hacer que el ancho de cada hendidura sea en total de 0,3 mm más que el espesor de la pieza a encajar. Luego, los cabezales no encastraban. Además, surgieron otras dificultades con respecto a las paredes que separan a los pasillos de los cables que se observan en la figura 72 (a). La pared superior al cable azul está casi totalmente desprendida, las paredes en torno al cable rojo no consiguen contener su movimiento y observando el cable amarillo se nota que el espacio que conecta a los pasillos con el encastre de los cabezales es demasiado acotado. Esto fuerza a que los cables se curven pronunciadamente y que se ejerza una tensión indeseada sobre los mismos. Además, quedó una gran porción del soporte inutilizada. Por otro lado, la pared que bordea la hendidura hacía imposible colocar el prototipo con delicadeza. Éste se sostiene mediante pinzas y no hay espacio para ellas por lo que se lo tuvo que dejar caer desde una altura de 3 mm. Por último, la naturaleza de la impresión 3D hizo que la porción de soporte del prototipo sea de menor espesor por la hendidura y se conciba como una estructura distinta unida al resto. En la figura 72 (b) ilustra esta discrepancia. Ésta es por lo tanto más propensa a desprenderse del soporte, lo cual puede poner en peligro al prototipo.

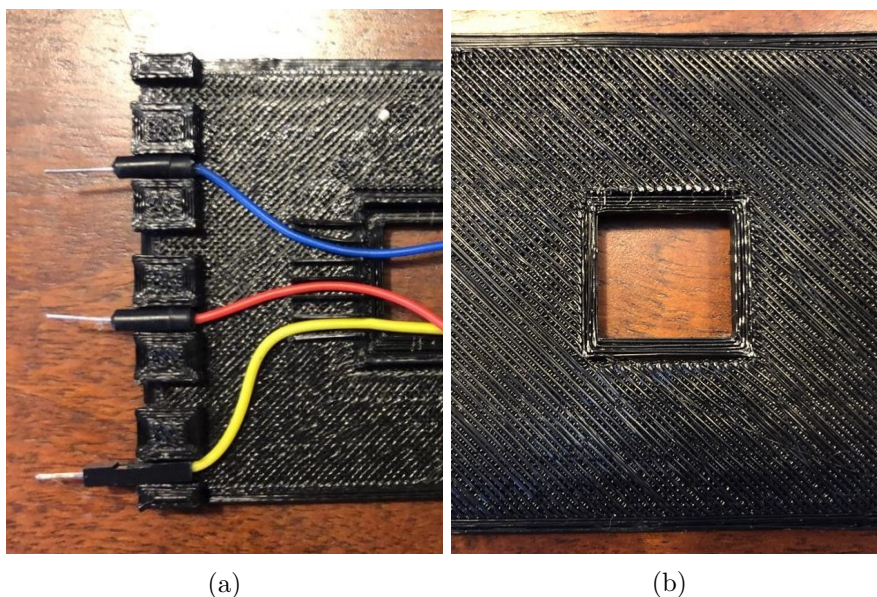


Figura 72: Fallas del primer porta-prototipo. (a) Vista superior. Se incluye una imagen tomada con cables colocados para que sea más fácil observar las fallas. (b) Vista inferior. Soporte del prototipo.

El quinto diseño del porta-prototipo se muestra en la figura 73. Obsérvese que el ancho de los canales es sólo 0,3 mm más que el ancho de los cabezales, por lo que encastraban perfectamente. Además, al estar dispuestos en forma radial se disminuye la torsión del cable (observar la figura 61). Se eliminó toda la porción del porta-prototipo que careciese de funcionalidad. Las paredes que bordean al prototipo tienen aperturas para poder colocarlo con pinzas. Son 0,6 mm más anchas que el prototipo en sí (3 %) por lo que no encastra y de esta forma puede contenerlo sin comprometerlo. Tienen redondeada la unión a la base lo cual hace que la colocación sea más suave y le da más sostén, disminuyendo las probabilidades de que se desprenda. Nótese

en el esquema inferior de la figura que no hay hendidura para que sea menos probable que se desprenda esta porción. Los pasillos por donde van los cables también se encuentran redondeados para darle mayor estabilidad a las paredes.

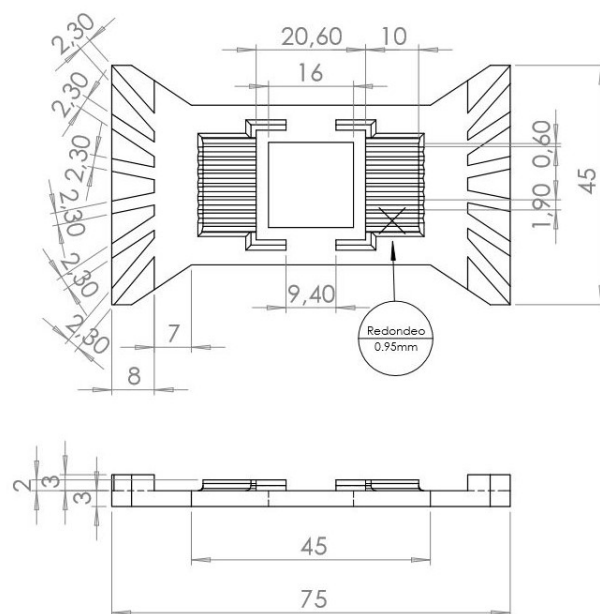


Figura 73: Quinto diseño del porta-prototipo. Todas las dimensiones se expresan en milímetros.

#### 4.3.4. Microfabricación de los conductores paralelos

Para esta microfabricación, se decidió que las dos semi-obleas utilizadas transitaran distintos procesos. Esto surgió de la discusión acerca del desprendimiento de la capa de cobre depositada por electroplating durante y después del acondicionamiento de los prototipos del meandro. Se decidió que valía la pena experimentar la deposición mediante electroplating sobre el patrón conductor en su totalidad y no únicamente sobre los contactos. De ahora en más, se referirá a esta semi-oblea como *oblea 1*. Sin embargo, se optó por a su vez llevar adelante la producción de otro conjunto de prototipos de forma semejante a como se microfabricaron los meandros. Se referirá a la misma como *oblea 2*.

Se incluyen las figuras 74 y 75 para ilustrar las sucesiones de pasos de la microfabricación. La figura 74 muestra los pasos para microfabricar los prototipos de la oblea 1. En la microfabricación de los meandros, la resina evitaba que se depositara metal sobre una porción del prototipo. Se conceptualizó un rol diferente para la resina. La resina cubriría el metal de aquella porción del prototipo que no forme parte del patrón conductor. Luego, al realizar la deposición por electroplating, crecería únicamente la porción de la capa metálica que está en contacto con la solución. Una vez hecho esto, se removería la resina y se atacaría químicamente y de forma pareja a toda la superficie metálica durante un breve período de tiempo. Como



la superficie crecida por electroplating tendría un espesor notablemente mayor, no sufriría grandes cambios frente al ataque. Por el otro lado, la porción previamente protegida por la resina sería atacada por completo.

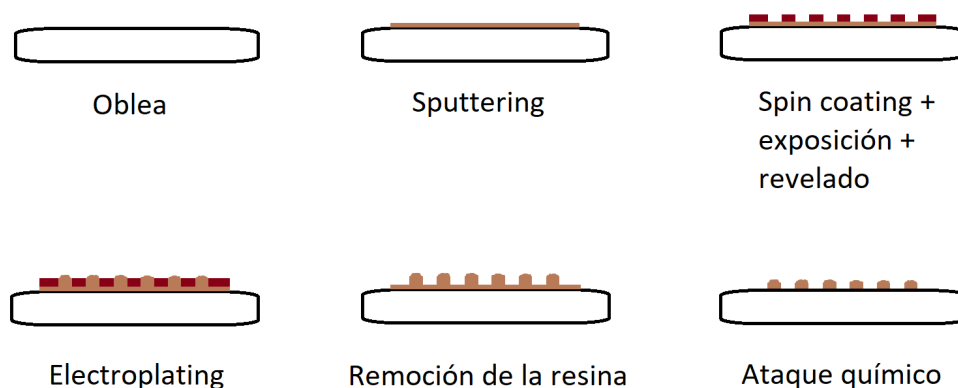


Figura 74: Diagrama ilustrativo de la forma de llevar a cabo el proceso de transmisión del patrón de diseño a la oblea 1.

La figura 75 ilustra la secuencia de pasos que atravesó la oblea 2, en donde la resina protege una porción de superficie metálica de un ataque químico.

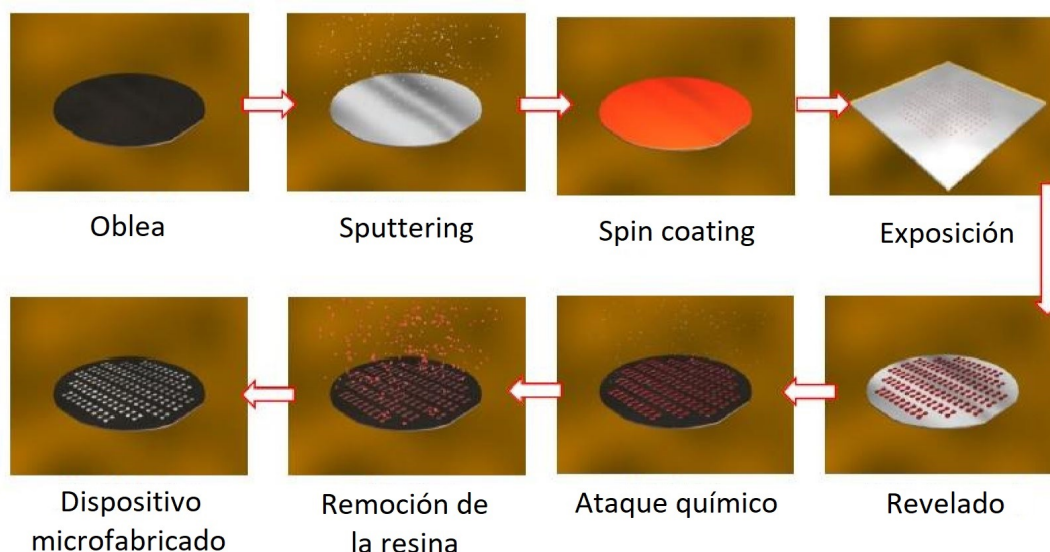


Figura 75: Diagrama ilustrativo de la forma de llevar a cabo el proceso de transmisión del patrón de diseño a la oblea 2.

Como se ilustra en las figuras 74 y 75, en ambos casos se comenzó con la deposición metálica. La deposición de metal mediante la técnica de sputtering es un proceso muy costoso. Dado que se había

decidido que se realizaría deposición de cobre por electroplating sobre la oblea 1, no era necesario que la capa depositada mediante sputtering tenga un espesor significativo ya que solo era necesario que permita el paso de corriente. Aquí divergen los caminos de las obleas. Para el caso de la oblea 2, era necesario depositar una capa de cobre de mayor espesor ya que éste iba a definir el área transversal de los conductores y por consiguiente, su resistencia a la corriente.

La secuencia de cambios de presión fue tal como la descrita para el prototipo del meandro. Las tasas de deposición del titanio y del cobre son las mismas que se utilizaron anteriormente. Primero, se depositó una seed layer de sacrificio de titanio sobre ambas semi-obleas durante 2 minutos. Luego, se depositó una fina capa de cobre sobre la oblea 1 durante 4 minutos, resultando en un espesor de menos de 100 nm. Sobre la oblea 2, se depositó una capa de casi 400 nm de espesor en un plazo de 20 minutos. En la figura 76, se incluyen dos imágenes tomadas de la oblea 2 antes y después de la deposición.

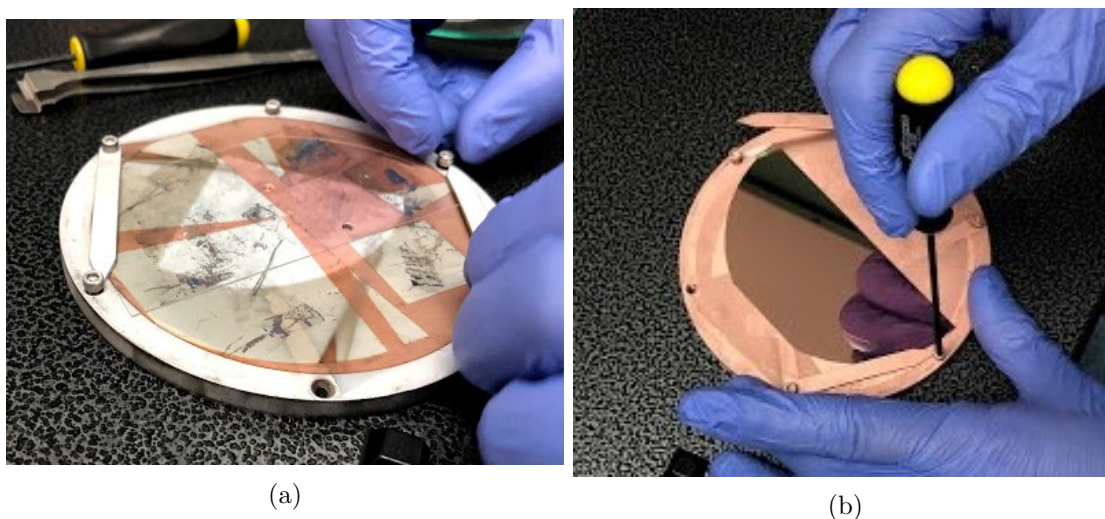


Figura 76: Imágenes tomadas dentro de la sala limpia del proceso de sputtering: (a) antes y (b) después.

Para la selección de las fotorresinas a utilizar, cabe recordar que la máscara que se utilizó era de campo oscuro. Luego, una fotorresina negativa que se endurece frente a la exposición a la luz conservará la forma del patrón conductor mientras que una fotorresina positiva se endurecerá en el negativo del patrón conductor. Observando las figuras 74 y 75, puede observarse por qué se eligió una fotorresina positiva para la oblea 1 y una negativa para la oblea 2.

A pesar de que en la primera microfabricación se había utilizado una fotorresina negativa, ésta poseía un propósito diferente ya que no debía resistir ningún ataque químico sino evitar que el metal depositado por sputtering entre en contacto con el vidrio. La fotorresina negativa AZ 125nXT que se utilizó para la oblea 2 es notablemente más densa (figura 77 (a)). Para su colocación por spin coating, se utilizó la receta n°28 a 1600 rpm. Dada su densidad, se depositó con el spinner en funcionamiento para evitar la generación de burbujas que podría darse al atrapar aire mientras se deposita. Se incluye una imagen de esto en la figura 77 (b).

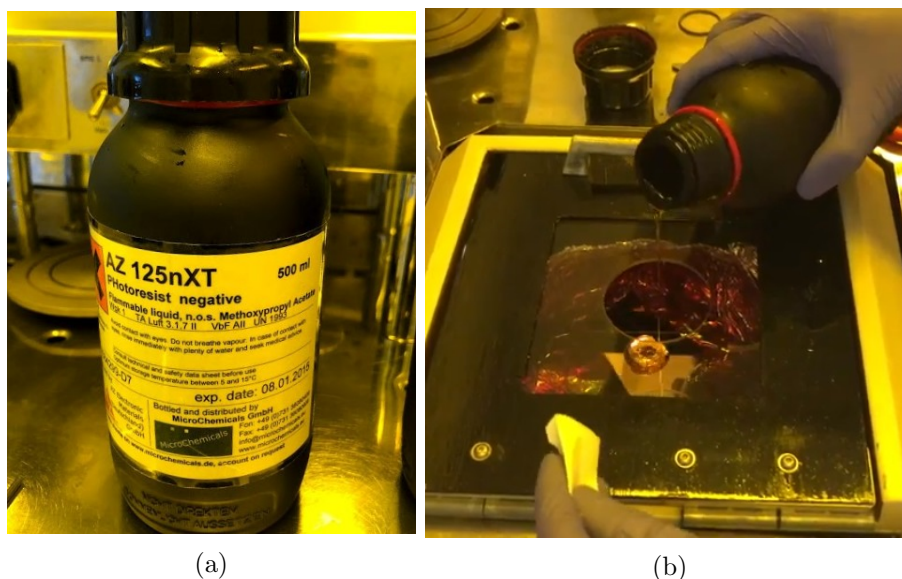


Figura 77: Imágenes tomadas dentro de la sala limpia de: (a) el envase de la fotoresina AZ 125nXT y (b) la colocación de la misma a una media oblea colocada en el spinner.

El precocido tuvo una duración de 15 minutos a 120 °C y la rehumidificación 5 minutos a temperatura ambiente. Incluso con la precaución tomada, se observó la formación de burbujas de aire tanto apenas se depositó sobre la oblea (figura 78(a)) como una vez finalizado el spin coating, durante el precocido (figura 78 (b)). La presencia de burbujas en la fotoresina aumenta las probabilidades de falla de los prototipos ya que en esas zonas no se protege la capa metálica del ataque químico.

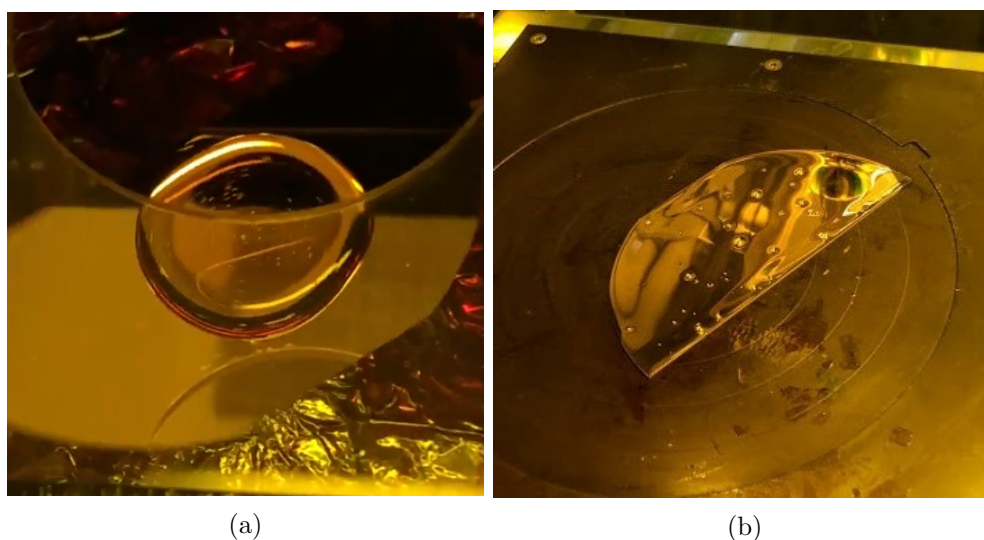


Figura 78: Imágenes tomadas dentro de la sala limpia donde se observa la formación de burbujas desde el inicio con la utilización de la resina AZ 125nXT: (a) durante el proceso de spin coating y (b) durante el precocido en el hot plate.

En el caso de la oblea 1, se utilizó la fotoresina AZ 9260. Ésta es la misma que se utilizó en la etapa de engrosamiento de los contactos de los prototipos del meandro. El procedimiento fue semejante. Se incluye una imagen tomada de la colocación en la figura 79. Requirió un precocido de 3 minutos a 110 °C y una rehumidificación de 25 minutos.



Figura 79: Imagen tomada dentro de la sala limpia durante la colocación de AZ 9260 sobre la seed layer.

A continuación, se realizaron ambas fotolitografías. La fotoresina de la oblea 2 requirió ser expuesta a luz ultravioleta durante un período de 4 minutos. Luego, se reveló con el componente AZ 826 durante dos intervalos de 1 minuto cada uno. Para la oblea 1, la exposición fue de solo 40 segundos y el revelado se llevó a cabo con una solución 1:4 de AZ 400 en agua desionizada, al igual que se hizo anteriormente con la fotoresina AZ 9260.

Continuando con la microfabricación de la oblea 2, se realizó el ataque químico para remover el cobre y el titanio que no estaban protegidos por la fotoresina y, por lo tanto, no pertenecían al patrón conductor. A pesar de que se tienen parámetros de tiempo conocidos y que éstos se pueden tomar como estimativos, es esencial determinarlo de manera visual en cada ataque. En este caso, fue sencillo ya que el sustrato debajo del metal era de vidrio y en la ausencia de metal, se veía traslúcido. Cuando el sustrato es de silicio, este proceso es más complicado porque es opaco y su color es similar al del titanio.



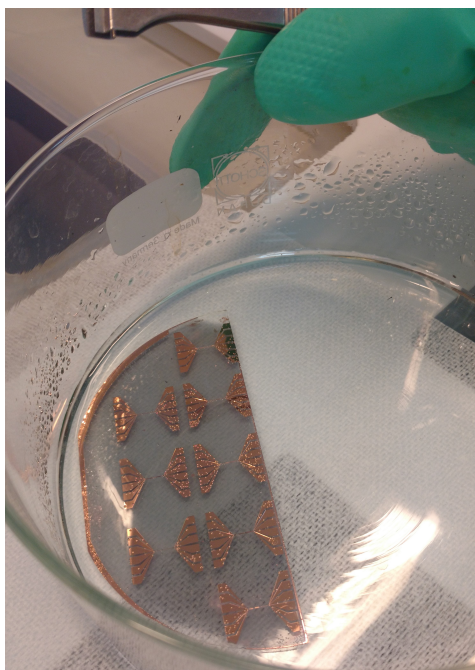


Figura 80: Imagen tomada dentro de la sala limpia del proceso de ataque químico a los metales.

Después del primer ataque, se observaron los prototipos con el microscopio para corroborar que se hubiera removido el cobre de manera correcta, especialmente en sectores donde se había detectado dificultad para el revelado de la resina. Algunos estaban lejos de la zona de interés por lo que no eran relevantes pero otros generaban cortocircuitos entre los conductores así que se volvió a atacar un minuto más con ácido acético.

Al revisar los resultados obtenidos luego de este ataque, se observó que había un prototipo completamente destruido (figura 81). Dada la densidad de la resina, idealmente no debería ser posible atravesarla y atacar el patrón conductor. Sin embargo, un sobreataque o la presencia de burbujas pueden comprometer la protección que aporta.

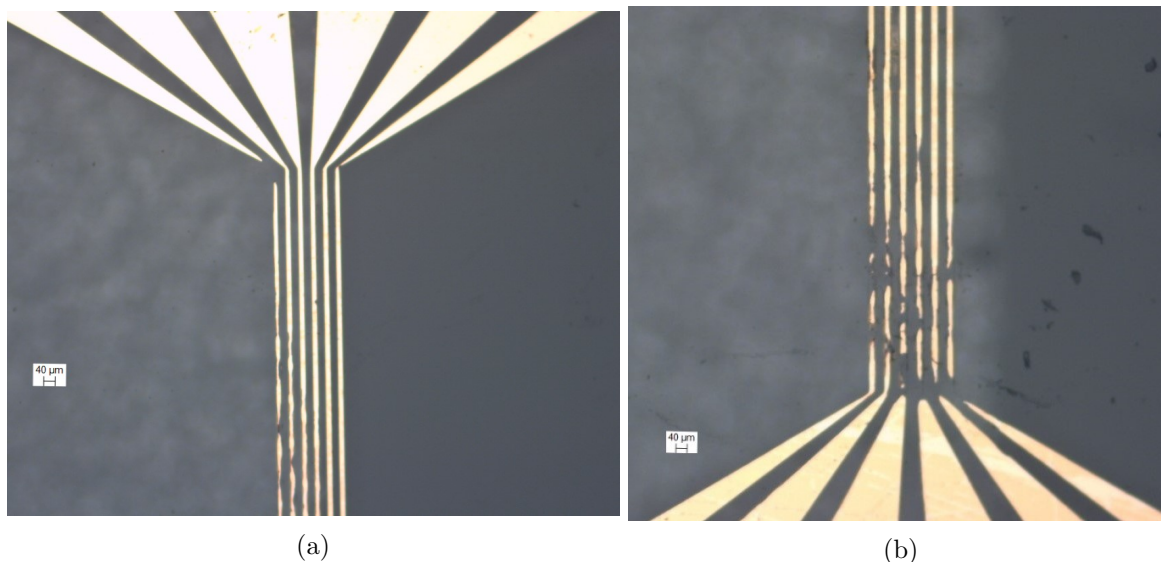


Figura 81: Imágenes tomadas por el microscopio óptico donde se observa el deterioro del prototipo 5: (a) zona superior y (b) zona inferior.

El siguiente paso fue atacar el titanio con el ácido fluorhídrico en una concentración de 1:10. Como el ácido utilizado para atacar la seed layer es más agresivo, el riesgo de realizar un sobreataque es mayor que con el ácido acético. En todos los casos se chequearon los resultados con el microscopio. En general, se observó que los conductores que se encontraban en los extremos habían quedado más estrechos que el resto, específicamente en el sector curvo de transición. El problema de esta imperfección es que implica un aumento de la resistencia en ese sector, disminuyendo la corriente que se puede hacer circular sin un aumento de temperatura no deseado y además, pone en riesgo la continuidad de los conductores.

Finalmente, se colocó en acetona para disolver la fotoresina. Esta fotoresina no se disolvió con la misma facilidad que la utilizada para la microfabricación de los meandros. Debido una vez más a su densidad, se desprendía de forma conjunta, sin efectivamente estar disuelta y esto generaba complicaciones en las zonas más angostas. Fue necesario sumergir la oblea en acetona múltiples veces porque se seguía identificando en el microscopio la presencia de sectores donde aún había fotoresina. Al notar nuevamente que la fotoresina no había sido removida por completo, se renovó la acetona y el isopropanol para evitar su saturación y menor eficiencia y se repitió el procedimiento.

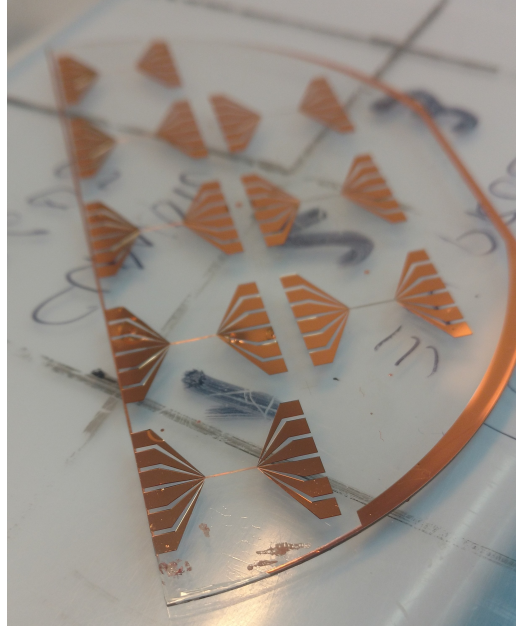


Figura 82: Imagen tomada de los prototipos luego del ataque químico y remoción de la fotoresina.

Al concluir, se procedió a revisar los prototipos en el microscopio óptico y se observó que en su mayor parte habían quedado deteriorados.

Posteriormente, se prosiguió con la microfabricación de la oblea 1. Se la colocó en la cámara de electroplating con la intención de que se deposite un espesor de cobre entre 6 y 7  $\mu m$  tanto en los contactos como en los conductores. Utilizando la ecuación (24), se definió que era necesario circular 200 mA de corriente por 1:30 hs, tomando un valor de 0,7 de rendimiento porque la solución era más nueva que la utilizada al realizarle electroplating a los meandros y a medida que circula más, aumenta el rendimiento.

Al finalizar el tiempo determinado, se retiró la muestra del recipiente y se observaron resultados visiblemente distintos a los esperados, como se muestra en la imagen de la figura 83. Se estima que hubo un falso contacto en la conexión a la corriente por lo que la corriente no cerró el circuito por la seed layer de la forma esperada. Los prototipos no actuaron como cátodo ya que no se observa la reducción de cobre sobre su superficie. Por el contrario, se estima que actuaron como ánodo, dado que el cobre se desprendió en su totalidad y pasó a formar parte del cobre en solución.



Figura 83: Imagen tomada donde se observa el levantamiento absoluto de los conductores luego del electroplating.

Como el sustrato de vidrio no había sido arruinado, se decidió entonces remover la fotoresina y atacar el metal restante, por lo que la semi-oblea quedó prácticamente limpia. Se abordó la microfabricación de la misma manera que los meandros. La fotoresina utilizada fue nuevamente AZ9260. Al ser una fotoresina positiva, la única porción no cubierta por fotoresina sería el patrón conductor. Se realizó un depósito de titanio y cobre semejante al anterior y luego, un lift-off. A esta altura, lo único que faltaba era el depósito de cobre por electroplating sobre los contactos. Para esto, se depositó una capa de cobre de 40 nm de espesor mediante la técnica de sputtering, que actuaría como seed layer permitiendo la circulación de corriente durante el electroplating. Sobre ésta, una fotoresina debía proteger los prototipos, dejando expuestos únicamente los contactos para que la deposición de cobre se produzca únicamente allí.

Durante el proceso de spin coating, la oblea se soltó del soporte y la fuerza centrífuga generó su colisión contra las paredes del dispositivo. En consecuencia, se partió en varios pedazos. Esto hizo que sea imposible la exposición a la luz ultravioleta debido a que las marcas de alineación se encontraban en trozos separados de la oblea. La decisión que se tomó entonces fue quitar la seed layer y conservar los conductores subyacentes. Esto implicaba renunciar al electroplating sobre los contactos. Teniendo en cuenta la experiencia previa con el prototipo de los meandros, se había aprendido que ese proceso no era estrictamente necesario como se pensaba inicialmente. Los prototipos de los cuales se había desprendido la capa de cobre de electroplating de los contactos eran tan funcionales como los otros.

Por precaución, los prototipos contenidos en los distintos pedazos de la semi-oblea que había sido partida se individualizaron con el equipo dicer antes de realizar el ataque a la seed layer. De esta forma, era



posible determinar el tiempo de ataque específicamente para cada prototipo por separado, disminuyendo el riesgo de un sobreataque. Primero, se individualizaron los prototipos contenidos en la oblea 2 original. Para estos, se seteo el equipo con las dimensiones del diseño. En la figura 84, se incluye una imagen tomada del equipo en funcionamiento y una del resultado obtenido.

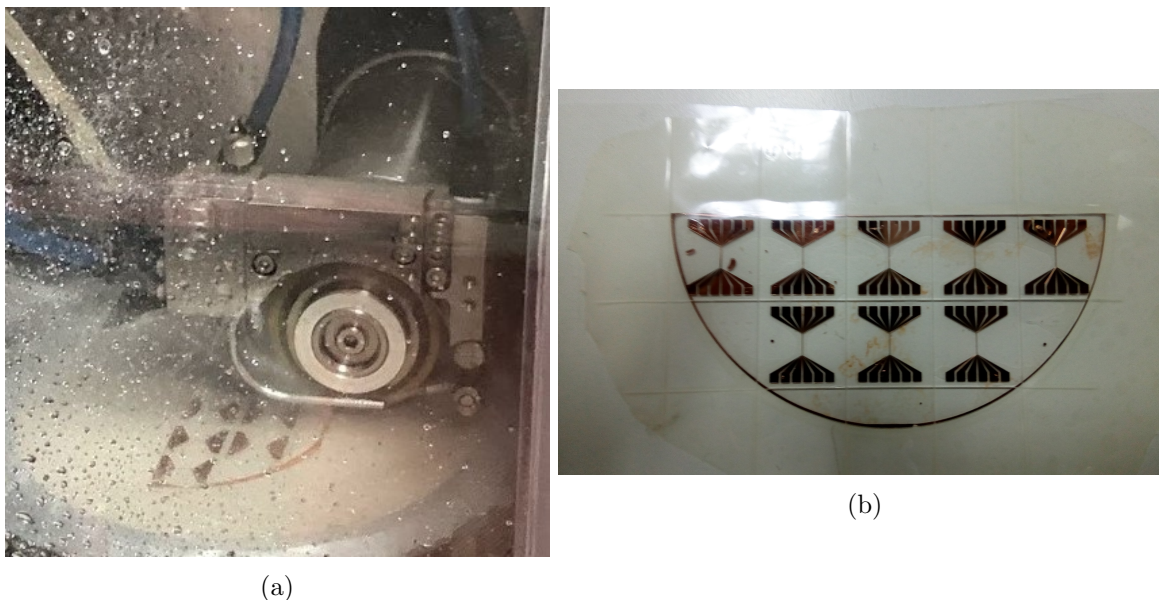


Figura 84: Imágenes tomadas de: (a) el dicar en funcionamiento (b) oblea luego de ser cortada, aún con la capa adhesiva colocada.

Para la otra semi-oblea, el proceso de corte fue más complejo de lo usual dado que estaba partida. Como se observa en la figura 84 (b), para utilizar el equipo es necesario colocar la oblea entre dos capas de papel adhesivo. En este caso, esto cumplió una doble función ya que a su vez permitió rearmar la oblea y fijarla entre estas capas adhesivas, manteniendo así todos los pedazos unidos en su lugar. Realizarlo de este modo daba lugar a error pero los prototipos habían sido prudentemente distanciados desde el diseño, por lo que la posibilidad de que el equipo partiese un prototipo era muy baja, incluso con el error de la reconstrucción manual. Una vez reconstruido, se conocían los parámetros de distancia para poder realizar el corte. De no reconstruirla, este proceso hubiese sido tedioso y mucho más inexacto. Sin embargo, antes de comenzar se midieron las dimensiones de los prototipos con el equipo y aunque éstas estuvieron cerca de las dimensiones reales de  $20 \times 20 \text{ mm}^2$ , presentaron una dispersión hasta del 2,5 %. Se tomaron las dimensiones medidas como referencia para realizar el corte. Es necesario discutir esta última decisión ya que había mayor lugar a error midiendo las dimensiones con el equipo de forma casi manual que confiando en el diseño original y su propio margen de error. A pesar de que ningún prototipo se vio comprometido, en algunos casos el corte se realizó muy próximo a la zona de interés de los mismos.

El siguiente paso en la microfabricación de los prototipos provenientes de la semi-oblea partida, fue atacar químicamente uno por uno y observarlos en el microscopio. De este modo, se determinó en cada caso

si estaba listo o era necesario realizar un último ataque químico con ácido acético y ácido fluorhídrico.

Finalmente, para aislar los dispositivos se evaluó una alternativa diferente a la utilizada para los meandros ya que el PDMS presentó algunas complicaciones. Uno de los aspectos tenidos en cuenta al tomar dicha decisión fue que la superficie resultante no era completamente plana, incluso habiéndola depositado mediante spin coating. Esto se debe a que el PDMS es un compuesto considerablemente más espeso que las resinas utilizadas. Además, la viscosidad de este material lo hace susceptible a la adherencia de suciedad que dificulta la observación de las NPM y su movimiento durante los experimentos, y la contaminación de la muestra que esto implica. En consecuencia, se decidió aislar los prototipos de conductores paralelos mediante una fina capa de barniz transparente aplicada manualmente. Se obtuvo así una capa más uniforme, de menor espesor y viscosidad que la resultante de la primer microfabricación.

#### 4.3.5. Caracterización

Para la caracterización mediante interferometría fue necesario sacrificar uno de los prototipos ya que se requiere que todas las superficies a analizar sean foto-opacas. Se procedió a depositar 80 nm de cromo mediante el equipo de sputtering. Para esto, se utilizó plasma de argón con una corriente de 120 mA durante 120 segundos.

En la figura 85, se ilustra el ajuste del equipo que debe realizarse antes de cada estudio.

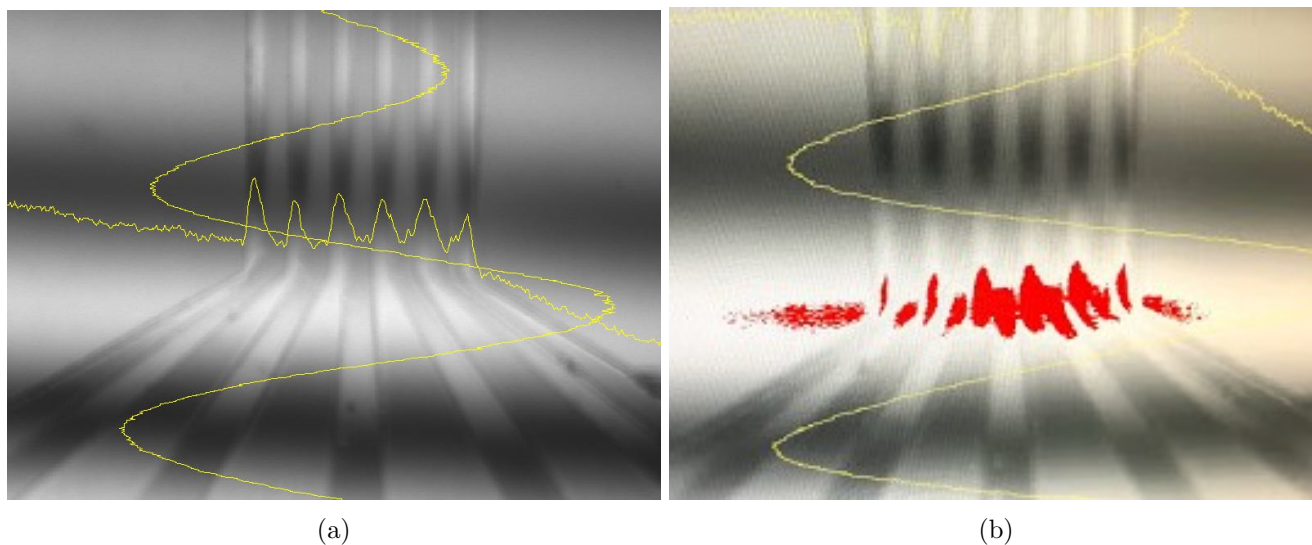


Figura 85: Ajuste de la intensidad de la fuente de luz para el estudio de interferometría con el perfilómetro óptico. El equipo consta con un software de visualización para facilitar este ajuste. En la imagen (a), se observa cómo la curva horizontal detecta los cambios de relieve que se busca estudiar. En la imagen (b), se muestra un ejemplo de cuando la intensidad de la luz es demasiado alta para realizar el estudio.

En la figura 86, se muestra la visualización convencional del estudio de interferometría. Nótese a la derecha de la figura una escala de colores que indica la altura relativa de cada punto de la imagen. La superficie es de color azul marino (aproximadamente -50 nm) y la cresta de los conductores es de color

amarillo oscuro (aproximadamente 300 nm), por lo que se tiene una altura de los conductores que ronda los 350 nm. Entre los conductores, se tiene nuevamente una superficie color azul marino y a lo largo de las crestas de los conductores, se tiene el mismo color uniforme. Esto es un rasgo positivo a destacar de la microfabricación del prototipo.

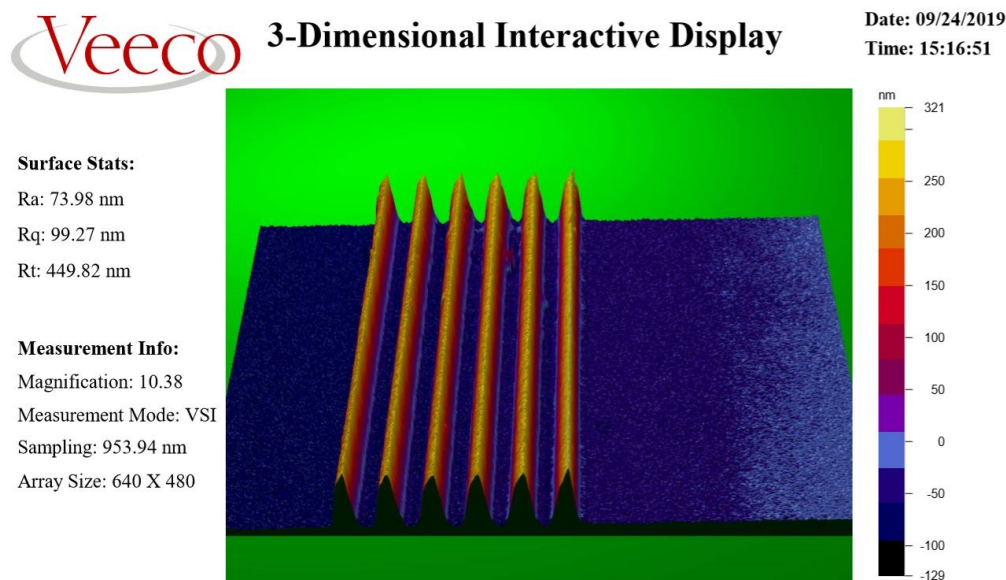


Figura 86: Estudio de la superficie del prototipo mediante perfilometría óptica.

En la figura 87, se muestra un análisis más acotado de la información. En la figura superior izquierda de la imagen, se muestra la posición de los ejes para el análisis bidimensional. El eje rojo cruza transversalmente a los conductores. El gráfico superior de curva roja muestra los resultados de la variación de rugosidad que encuentra dicho eje. Puede observarse una altura de 339,1 nm de los conductores respecto a la superficie. A su vez, cabe destacar que los surcos entre los conductores alcanzan la superficie, lo cual significa que no hay conexión entre ellos a esa altura.

El eje azul parte de la superficie (entre dos conductores) y luego asciende al conductor cuando éste se ensancha para permanecer arriba. El gráfico inferior de curva azul muestra la rugosidad que se sensa en la dirección señalada por la línea azul de la figura superior izquierda. En el gráfico, a valores bajos de la variable  $y$  se está sobre los conductores de baja rugosidad y a valores altos, se está sobre la superficie también de baja rugosidad, con un salto de  $348,3 \mu\text{m}$  en la dirección del eje  $z$ . Se destaca que dicho salto en el valor de  $z$  se da con una variación de  $40 \mu\text{m}$  en el eje  $y$ , por lo que es un cambio brusco.

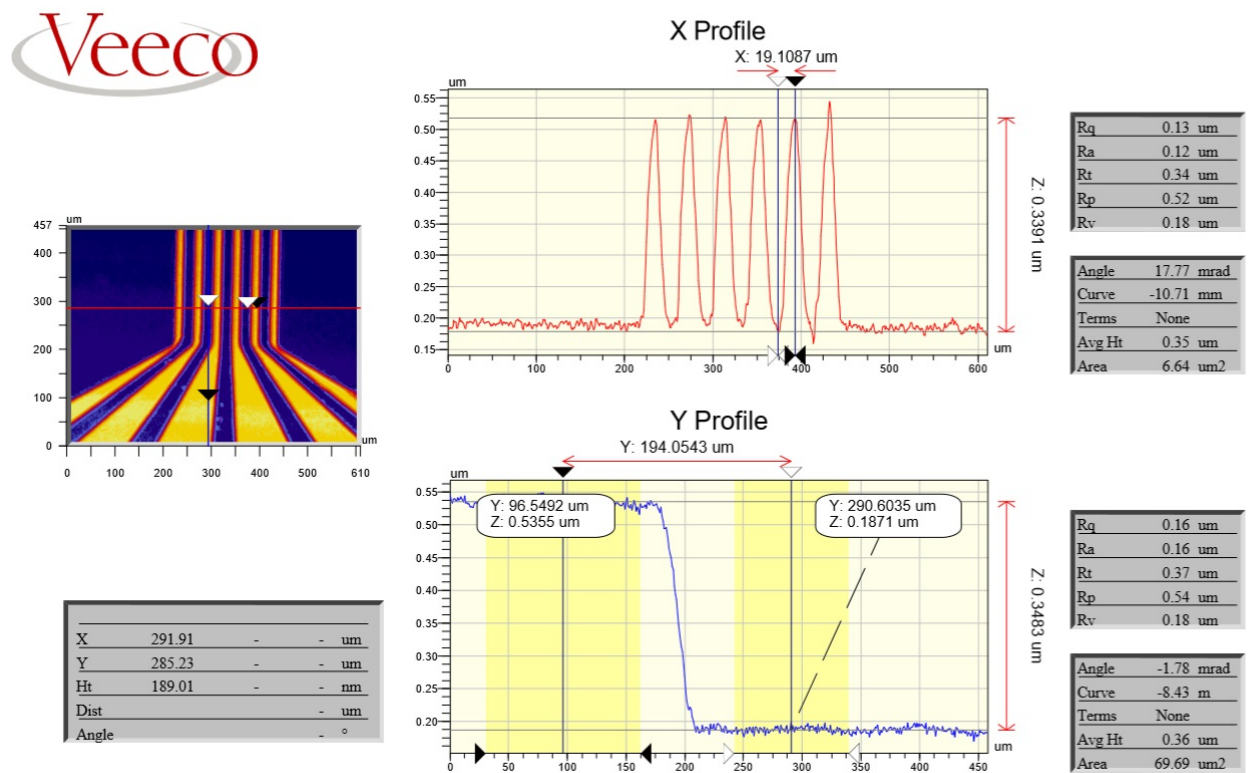


Figura 87: Estudio de la superficie del prototipo mediante perfilometría óptica.

Al igual que para los prototipos de meandros, se generaron curvas I-V mediante el analizador de frecuencia para determinar la resistencia efectiva de los conductores paralelos microfabricados. Dada la ecuación (4), es de esperar que estos dispositivos posean menor resistencia que los meandros ya que poseen una mayor área transversal. Esta observación se refleja en la figura 88, perteneciendo (a) a un meandro y (b) a un conductor paralelo. Se puede contemplar que la curva de la figura (b) presenta una mayor pendiente (de 0,036 A/V frente a 0,01 A/V en el caso del meandro) y, por lo tanto, una menor resistencia.

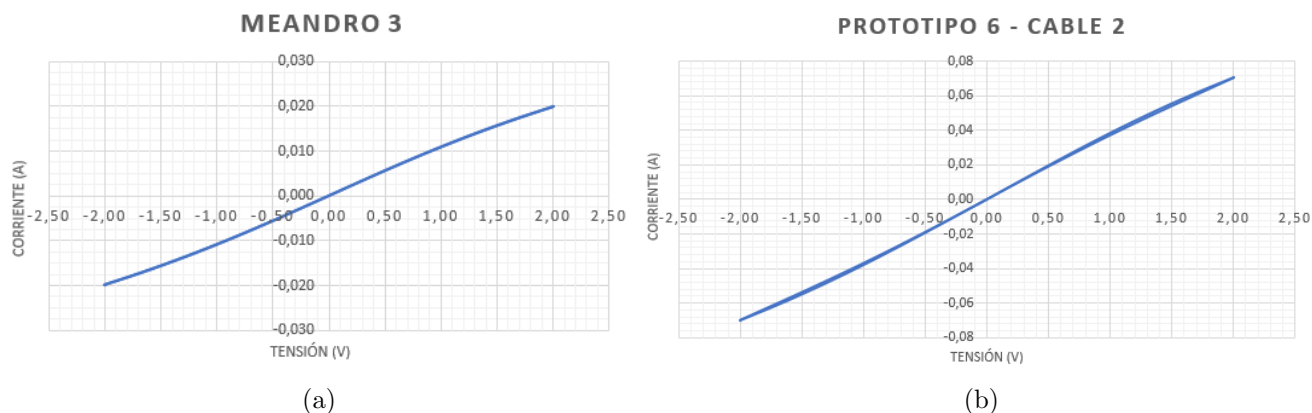


Figura 88: Gráficos obtenidos con el analizador, se observa la diferencia en las pendientes dado que (a) corresponde a un meandro de 10m y (b) a un conductor paralelo.

Se exponen en la figura 89 algunos ejemplos de las curvas obtenidas para los distintos conductores. Cabe destacar como aspecto positivo la uniformidad de los resultados obtenidos, ya que indica una buena reproducibilidad de la microfabricación. El corte abrupto que aparece en la gráfica (d) es debido a una saturación alcanzada por el valor de corriente seteado para ese caso (60 mA) y no está relacionado a una limitación del dispositivo evaluado. Observando los gráficos, se estableció un valor máximo de corriente de 55 mA a tener en cuenta para trabajar en las experimentaciones con un amplio margen de seguridad.

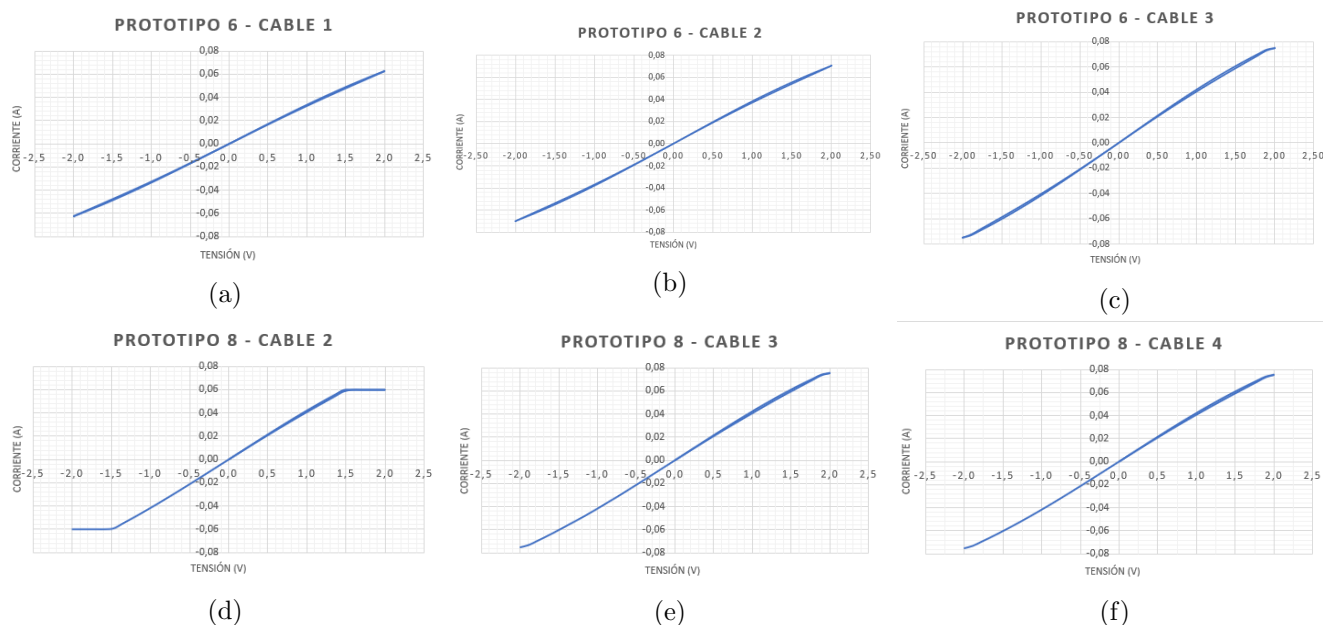


Figura 89: Gráficos obtenidos con el analizador al generar una diferencia de potencial variable entre -2V y 2V y detectando la corriente circulante por los mismos. Las figuras (a), (b) y (c) corresponden a distintos conductores del prototipo 6. Las figuras (d), (e) y (f) pertenecen al prototipo 8.



A continuación, se realizó un ensayo destructivo para comprobar efectivamente cuál era el punto de no retorno en los prototipos. Se aumentó paulatinamente tanto la diferencia de potencial generada, como la amplitud del intervalo de corriente permitido para evitar la saturación y no limitar la respuesta natural del dispositivo. En la figura 90 se observa el resultado de dicho ensayo. Aproximadamente a partir de la circulación de 70 mA causados por una diferencia de potencial de 2,7 V la pendiente comienza a disminuir pronunciadamente hasta que llega a un máximo de 126 mA, situación en la que la curva desciende abruptamente indicando la ruptura definitiva del conductor.

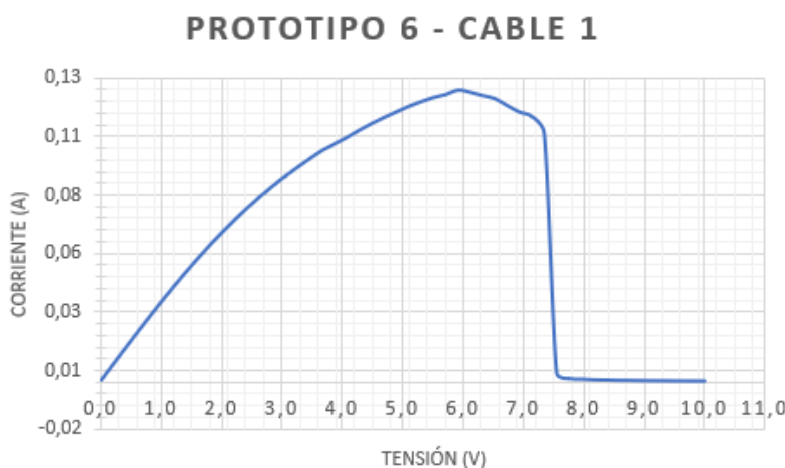


Figura 90: Gráfico obtenido con el analizador al realizar un ensayo destructivo para determinar el límite de resistencia a la corriente eléctrica de los dispositivos.

En la figura 91 se muestra la observación del prototipo a través de microscopio óptico una vez finalizado en el ensayo destructivo. El excesivo calor disipado por Efecto Joule afectó tanto a los conductores como al aislante y se manifiesta con manchas negras en formas de burbujas localizadas en el sector donde el conductor finalmente realizó cortocircuito y alrededor del mismo, cubriendo a los conductores adyacentes. Esto demuestra la importancia de mantener las variables de corriente y voltaje bajo control en todo momento durante su utilización, y de establecer previamente un intervalo de trabajo alejado de los límites que ponen en riesgo la integridad del dispositivo.

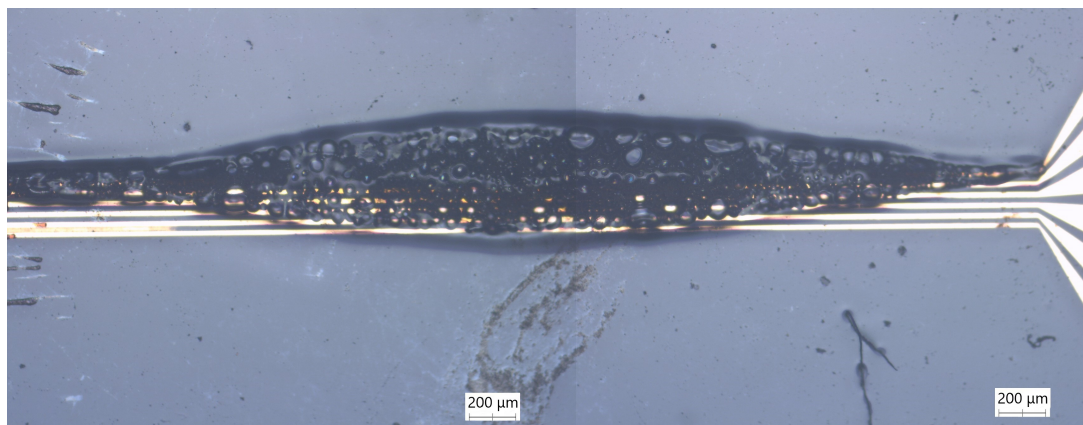


Figura 91: Imagen capturada con microscopio óptico del prototipo luego de realizar un ensayo destructivo con el analizador.

#### 4.3.6. Experimentación

Durante el período de experimentación con el prototipo de conductores paralelos, se desarrolló una técnica de iluminación que aumentó la calidad de la visualización de la experimentación. El microscopio Leica utilizado posee la posibilidad de iluminar la muestra desde arriba o desde abajo. Sin embargo, a medida que se fueron realizando más experimentos y acotando las variables a controlar, se arribó a la conclusión de que al iluminar desde abajo, se veía cómo las NPM se dirigían hacia los conductores pero no poder observar cómo se distribuían sobre el conductor producía una falta de información relevante para la investigación. Al cambiar e iluminar desde arriba, no se veía cómo las NPM se desplazaban hasta alcanzar alguno de los conductores.

En la figura 92, se incluyen dos imágenes tomadas del montaje de una linterna de luz azul. La linterna estaba sostenida por dos pinzas. La colocación de la misma era manual y se orientaba de forma directa hacia el prototipo. Cumplía el objetivo de permitir una visualización completa de las NPM en todo punto del campo de visión del microscopio. Debe tenerse en cuenta el hecho de que en esta investigación se busca demostrar que el dispositivo diseñado es capaz de transportar las NPM de forma controlada. En consecuencia, lo más importante de la experimentación era obtener información relevante sobre la posición de las NPM durante el curso de cada experimento. Una iluminación ligeramente despareja del fondo que no comprometa la visualización de las NPM es aceptable.

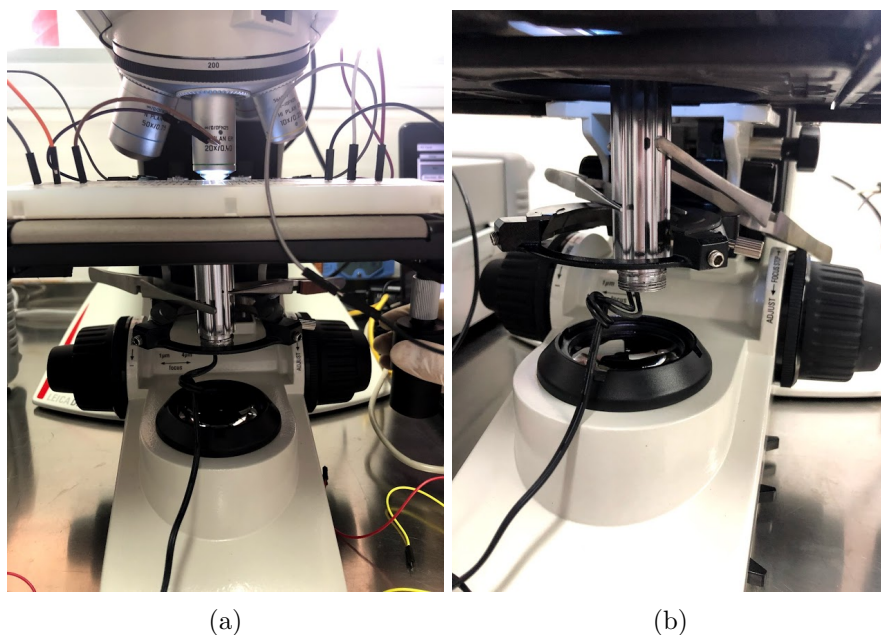


Figura 92: Técnica de iluminación bidireccional: (a) vista de frente y (b) vista desde abajo.

En el anexo (sección 7.4), se adjuntan vídeos de los experimentos más relevantes llevados a cabo con los prototipos de conductores paralelos. A continuación, se incluyen únicamente un par de figuras representativas para poder discutir los resultados obtenidos.

En la figura 93, se incluyen imágenes tomadas de un experimento en donde se comenzó haciendo circular 39 mA únicamente por la pista 4 (de arriba hacia abajo). Luego, se hacía circular dicha corriente por la pista 3 durante 2 minutos y medio y a continuación por la 2 durante 3 minutos y medio. Se puede observar cómo al cabo de unos pocos minutos, el desplazamiento de las NPM hacia donde se intencionaba es tal que se percibe a simple vista. Es importante destacar que el cuarto conductor que se encontraba cubierto por NPM en la figura 93 (a) se encuentra parcialmente descubierto en la figura 93 (c).

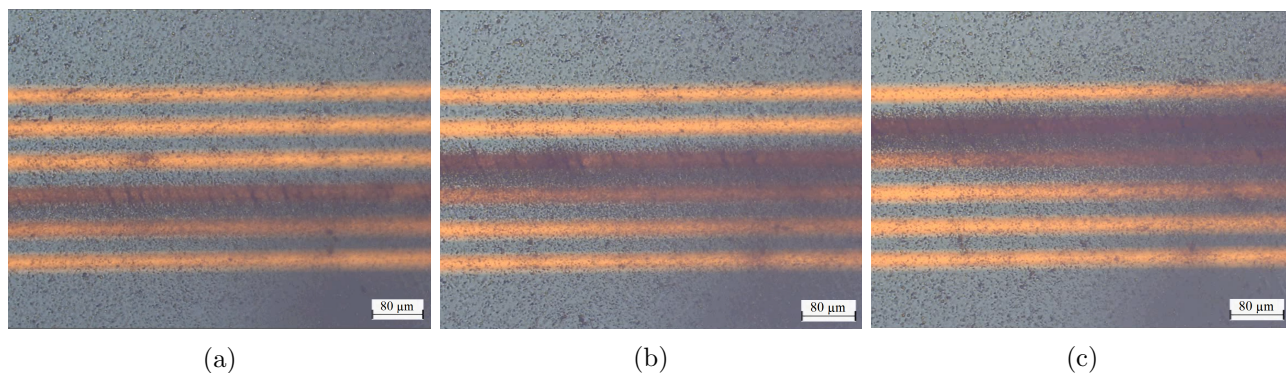


Figura 93: Imágenes de microscopía. (a) Con circulación de 39 mA por el cuarto conductor. (b) Luego de circular una corriente de 39 mA por el tercer conductor durante 2 minutos y medio. (c) Luego de circular una corriente de 39 mA por el segundo conductor durante 3 minutos y medio.



La figura 94 se incluye para ilustrar que con este prototipo, es posible transportar a las NPM en ambos sentidos de la dirección vertical. Primero, se observa un posicionamiento perceptible de las partículas sobre el segundo conductor. Luego, descienden al cuarto para por último volver a ascender hacia el tercero. Esto indica una versatilidad notable. Es importante comentar que las NPM provenían de un sector por debajo del campo de visión del microscopio. Es por esto que se observa que los conductores inferiores tienen un color ligeramente más oscuro que los conductores superiores. A su vez, el espacio por debajo de los conductores tiene una concentración mayor de NPM que el espacio superior, sobre todo en las imágenes (b), (c) y (d).

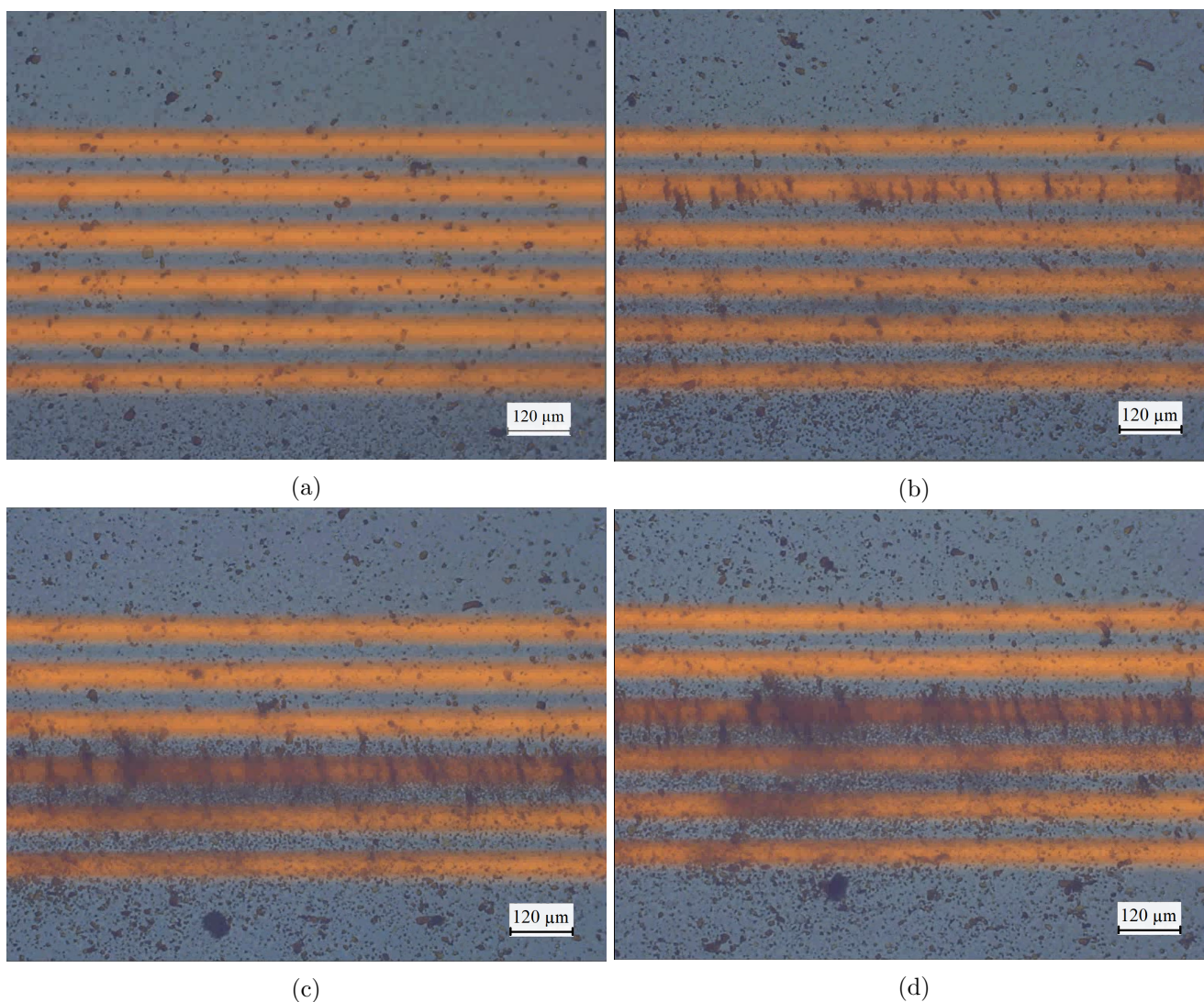


Figura 94: Imágenes de microscopía. (a) NPM en suspensión antes de la circulación de corriente. (b) Luego de circular una corriente de 44 mA por el segundo conductor durante 2 minutos y medio. (c) Luego de circular una corriente de 44 mA por el cuarto conductor durante 3 minutos. (d) Luego de circular una corriente de 44 mA por el tercer conductor durante 2 minutos y medio.

#### 4.3.7. Procesamiento de imágenes

La mejora en la iluminación durante la experimentación afectó de forma directa al procesamiento de los resultados. Los píxeles que corresponden a los conductores tienen una intensidad de gris superior a la que los caracterizaba en los resultados de la experimentación con el prototipo del meandro. De esta manera, es posible segmentar las NPM únicamente con el umbralizado de Otsu.

Debido a que en estos experimentos hay más de un conductor por el cual circula la corriente, se decidió tomar un conjunto de recuadros representativos del campo de visión del microscopio. A modo ilustrativo, se presenta el procesamiento de las imágenes de la figura 93. En este experimento, se hizo circular la corriente por el cuarto conductor (de arriba hacia abajo), luego por el tercero y por último por el segundo. Se escogieron los recuadros que se presentan en la figura 95. Los primeros se definieron para poder cuantificar la variación en el número de NPM sobre el segundo y el cuarto conductor buscando medir el transporte de las mismas del último hacia el primero. Por último, a modo de control se incluye el tercer recuadro que contiene píxeles que no deberían presentar una gran variación en el número de NPM.

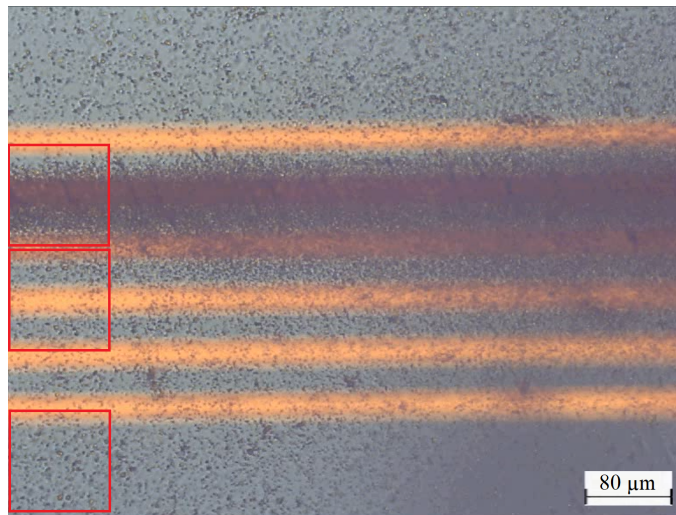


Figura 95: Posición de los recuadros utilizados para el procesamiento de las imágenes de la figura 93.

Al igual que para el procesamiento de los resultados obtenidos con el prototipo del meandro, se llevó a cabo el umbralizado de Otsu una única vez y se utilizaron aquellos umbrales para la binarización de todas las imágenes del experimento. En este caso, se llevó a cabo el umbralizado del recuadro medio de la figura 94 (c). Se escogió así debido a que comprendía tanto una porción del conductor como NPM en una concentración relativamente baja. De esta forma, se esperaba que Otsu pudiera asignar una capa a los conductores, otra al fondo y otra a las NPM.

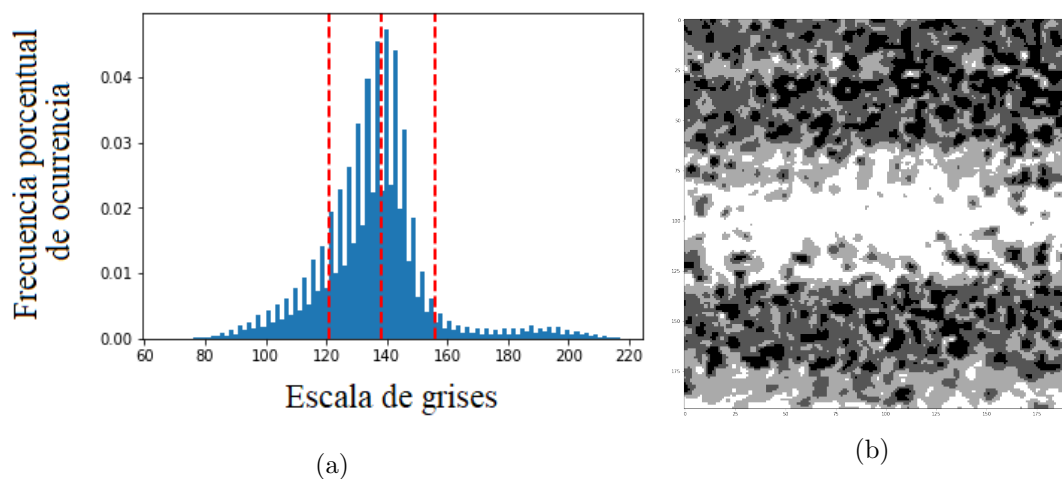


Figura 96: Resultado de la aplicación del umbralizado de Otsu de la imagen correspondiente al recuadro medio de la figura 95 (c). Por un lado, (a) el histograma que indica la frecuencia de ocurrencia (número de píxeles) porcentual de cada intensidad de gris en la imagen original. Por otro lado, (b) el renderizado de la imagen original representada en 4 tonos de gris, cada uno correspondiente a uno de los intervalos delimitados por los umbrales.

El umbralizado resultó en la asignación de dos capas al fondo de la imagen. Estas son las dos gamas intermedias de gris. El tono blanco corresponde al conductor y el negro a las NPM. En la figura 97, se incluye el procesamiento de las imágenes de la figura 93.

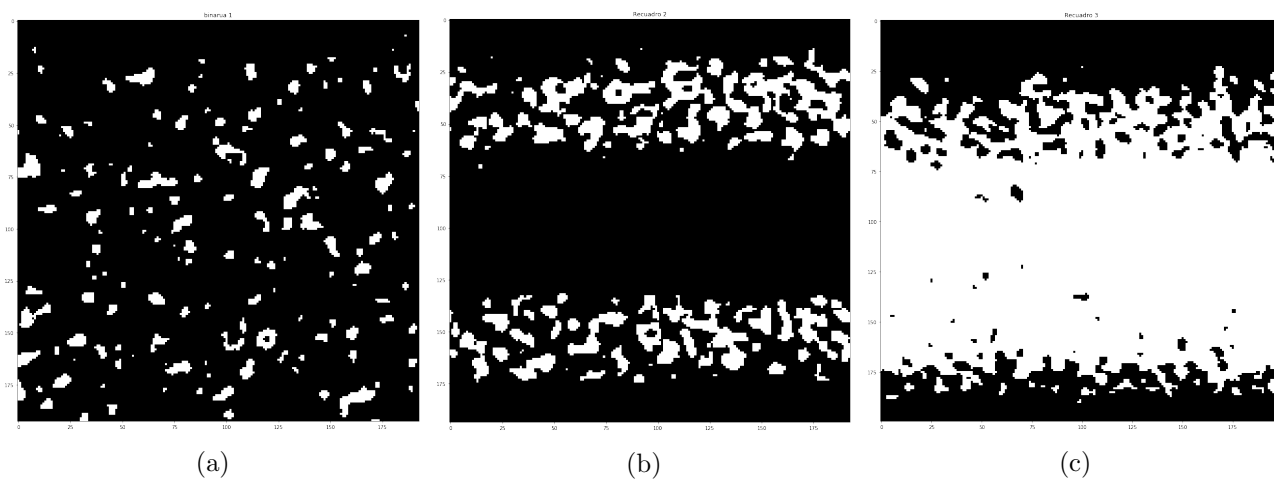


Figura 97: Binarización de los tres recuadros posicionados como se indica en la figura 95 sobre la figura 93 (c): (a) inferior, (b) medio y (c) superior.

Lo obtenido concuerda con lo esperado. El recuadro inferior, correspondiente a la figura 97 (a) es el que menor número de NPM posee a simple vista, seguido por el recuadro del medio. Cabe recordar que la figura 93 (c) fue tomada cuando la corriente circulaba por el segundo conductor, capturado por el recuadro superior (97 (c)).

Los resultados que se presentan a continuación corresponden a un campo de visión de  $630\ \mu m \times 470\ \mu m$  que se estudia en recuadros de  $90\ \mu m \times 90\ \mu m$ . En una primera instancia donde la corriente circulaba por el cuarto conductor, el recuadro inferior comprendía sólo un 4,699 % en relación al número de NPM del recuadro del medio. A su vez, el recuadro superior comprendía un 51,611 % de NPM del recuadro medio. Estos valores son coherentes ya que se espera que en todo momento el recuadro inferior contenga notablemente menos cantidad de NPM ya que se encuentra más lejos de los conductores por donde circula corriente.

Acto seguido, se hizo circular una corriente de 39 mA por el tercer conductor durante 2 minutos y medio. El número de NPM en el recuadro inferior aumentó en un 71,687 %, aunque aún resulta muy inferior al número de NPM detectadas en los otros dos recuadros ( $\sim 10\%$ ). Sin embargo, este aumento acompaña la idea de que la muestra va acumulando magnetización por lo que aumenta el número de NPM total en el campo de visión. El número de NPM en el recuadro medio cae en un 30,799 %. Esto es compatible con el hecho de que en la instancia anterior, la corriente circulaba por el conductor que encuadra. El número cae un 16,063 % para el primer recuadro, lo cual puede notarse a simple vista en las imágenes.

Por último, se hizo circular una corriente semejante por el segundo conductor durante 3 minutos y medio. El número vuelve a caer en el recuadro inferior en un 21,322 %. Las variaciones en este recuadro pueden atribuirse al movimiento browniano. Con respecto a los otros dos, el número de NPM en el recuadro del medio cayó a un 62,959 % del número de la primera estancia de esta experimentación y en el superior, el número aumentó en un 66,002 % respecto al inicio (97,769 % más que en la instancia anterior).

Estos resultados avalan el comportamiento del prototipo de conductores paralelos como un sistema de transporte controlado unidimensional. El recuadro de control no mostró variaciones significativas en el número de partículas que se detectaron a lo largo del experimento y en cuanto a las dos áreas de estudio restantes, quedó evidenciado el transporte efectivo de las NPM.

## 5. Discusión

### 5.1. Generalidades

Los objetivos del presente trabajo se mantuvieron como norte durante el desenvolvimiento del mismo. En todo momento en el cual fue necesaria la toma de decisiones de diseño, se tuvo en cuenta que el resultado al cual se quería llegar era un sistema de transporte controlado de NPM. Luego, se priorizó el tener la capacidad para predefinir la localización final de las NPM, en vez de simplemente desplazarlas sin tener injerencia con respecto a la ubicación.

De la misma manera, el sistema de transporte estaba siendo diseñado en el contexto del proyecto *μMAGLAB*. En reiteradas ocasiones, esto condicionó las hipótesis planteadas. Fue importante reconsiderar cuál sería el escenario en el cual estarían las NPM en una etapa posterior, incluso aunque ésta exceda los objetivos de la presente investigación, y poder discernir qué función debía cumplir el prototipo en el marco del proyecto.

Dicho esto, es prudente discutir cuán bien se mantuvieron estos objetivos. Lo primero que se destaca es que se consiguió diseñar, fabricar y caracterizar un dispositivo que permite transportar NPM hacia un destino predeterminado de forma eficiente. A su vez, se tiene un control bidireccional con una resolución de  $20\ \mu m$ .

La decisión de limitar la extensión del presente trabajo a la prueba de concepto del transporte controlado de NPM acompaña la realidad de que el proyecto que lo contiene se encuentra en sus etapas tempranas. Aún no fue consolidada la naturaleza del transporte de las NPM a lo largo del dispositivo final. Es posible que se determinen requerimientos diferentes para dicho transporte en los distintos sectores del sistema de diagnóstico como un control fino para distribuir a las NPM sobre la superficie funcionalizada del sensor junto a un control grueso para el transporte de la muestra hacia el sensor.

Sumado a esto, el dispositivo está caracterizado por una alta versatilidad en el transporte de las NPM ya que utilizándolo, es posible trasladarlas de un destino al otro las veces que sea necesario. Observando los resultados presentados, la adhesión a la superficie no es significativa y no debe considerarse como limitante. Luego, se concluye que la decisión de no priorizar la incorporación de la técnica de dielectroforesis al diseño del prototipo fue adecuada. Incluirla en el presente trabajo hubiese representado un costo económico elevado así como también mayor complejidad metodológica. El personal técnico de la SL-CAC no poseía experiencia en el abordaje de una microfabricación de esa naturaleza, por lo que hubiese implicado una capacitación tercerizada de alta carga horaria y la utilización de mayores recursos en el desarrollo de la técnica.

Para poder sacar conclusiones objetivas a partir de los experimentos realizados, fueron necesarias las medidas tomadas que permitieron clarificar cuáles eran las variables libres y cuáles las controladas del sistema. Pautar las actividades a llevar a cabo, tanto antes como durante cada experimentación, permitió otorgarle reproducibilidad para esta aplicación específica y a su vez, que lo aprendido al respecto de las buenas prácticas en la SL-CAC pueda ser utilizado para otras aplicaciones. Este es el fundamento de la ampliación del conocimiento científico: tener la posibilidad de construir sobre una base formada previamente,

eliminando una redundancia en la elaboración de los métodos.

El alcance de la investigación tuvo que ser reducido desde la instancia donde se plantearon los objetivos. Entre las decisiones tomadas, se optó por trabajar con NPM en lugar de con complejos AG-AC-NP partiendo desde la base de que los campos magnéticos generados actúan sobre las partículas magnéticas del complejo. En consecuencia, se discutió que de obtenerse resultados con NPM, estos podrían extenderse dado que el enlace al complejo AG-AC no debería afectar su magnetización. Esta simplificación fue hecha sin tener ninguna experiencia previa con complejos AG-AC-NP. Entonces, la consistencia de los resultados al generalizarlos, habiendo realizado dicha reducción, se apoya íntegramente en la bibliografía estudiada. Se encontró una amplia variedad de publicaciones donde los resultados obtenidos con dispositivos de sensado que utilizan NPM pueden asumirse equivalentes a utilizar complejos AG-AC-NP [3]-[8].

Por otro lado, se trabajó con soluciones muy concentradas de NPM, administradas en forma de gotas sobre la superficie de los prototipos. Este escenario difiere del que encuadra a la investigación ya que se espera que los complejos AG-AC-NP se encuentren sumergidos en un volumen más amplio y en concentraciones considerablemente inferiores. Aquí es importante considerar que cada NPM actúa como un elemento magnético con su propia magnetización, perceptible por otros elementos en su entorno. Es este fenómeno el que produce la aglomeración de las mismas. Al acumularse, aumentan su velocidad porque aumenta la magnetización total del conjunto. Lo más probable es que, una vez montado el sistema de diagnóstico del proyecto, la concentración de estos complejos no sea suficiente para que se produzcan estos aglomerados. Sin embargo, es presumible que aún individualizados, el resultado sea el mismo, con un aumento en el tiempo de transporte. En línea con esta cuestión, cabe discutir que los experimentos realizados implicaron una instancia de aclimatación de la muestra en donde se hacía circular corriente con la finalidad de que se generen dichos aglomerados magnéticos que permitían una visualización microscópica de su actividad. No fue determinado cuán necesaria sería esta etapa para cumplir con la funcionalidad del prototipo. Esto podría determinarse una vez que se integre a un sensor magnético que permita una medición cuantitativa de la posición de las NPM. Por lo tanto, las suposiciones de que la formación de los complejos y la efectividad del sensor no se verán afectadas por la concentración de la solución se sustenta en múltiples desarrollos que al utilizar esta tecnología no sólo poseen resultados exitosos sino que también son capaces de disminuir el límite inferior del rango de concentración necesario en la muestra para su detección [77]-[81].

La interpretación de estos resultados debe realizarse considerando que la investigación duró sólo un año y que estos procedimientos son muy costosos, como se discutirá en la sección 5.2.1. Estas dos limitaciones se tradujeron en un número reducido de diseños explorados. A su vez, no se profundizó en el alcance total de cada diseño. Por ejemplo, no sería prudente considerar la resolución obtenida como la resolución límite. Para determinarla, deberían microfabricarse prototipos con un ancho menor de conductores, así como también debería probarse hasta qué punto pueden distanciarse los conductores paralelos sin perder funcionalidad.

El procesamiento de las imágenes obtenidas en las experimentaciones superó lo planteado en los objetivos de la presente investigación. Fue posible desarrollar un método automatizado y efectivo para cuantificar el número de NPM presentes en el campo de visión de un microscopio. Esto permitió obtener



parámetros cuantitativos que aportan información valiosa sobre el sistema de transporte. Sin embargo, aún queda mucho por ahondar ya que es una herramienta muy poderosa y con gran alcance que brinda claridad sobre la funcionalidad real del dispositivo.

Una de las decisiones de diseño fue la de descartar la microfluídica como herramienta para controlar el transporte de las NPM. No se destacan efectos secundarios indeseados que puedan relacionarse al hecho de que las NPM se encuentran suspendidas en un medio acuoso. Luego, dentro del marco de la presente implementación, se puede concluir que ésta fue una decisión acertada.

## 5.2. Análisis de la inserción del prototipo en el mercado

### 5.2.1. Escalabilidad

Una gran limitación para la escalabilidad del sistema de transporte controlado de NPM es que la definición exacta del proceso de microfabricación es una etapa extensa que requiere de una gran retroalimentación y ajuste. Además, la microfabricación en cuestión no sólo es costosa sino que también requiere de profesionales especializados en el área. Los procesos involucrados, de no ser manuales, son semi-automáticos. Se requiere una visión entrenada para determinar algunos plazos de tiempo, como es el caso del *etching*. Incluso así, el prototipo es muy frágil por lo que sólo una pequeña proporción de los prototipos fabricados resulta funcional. Una vez que es puesto a punto el proceso por completo, es posible enviar a producir en serie en *foundries*, lo cual abarata de manera significativa los costos y permite masificar la producción de dispositivos.

Los costos que se presentan a continuación corresponden al mes de enero del año 2020. La hora hombre promedio de un técnico de laboratorio es de AR\$500 por hora. El uso de los equipos tiene un costo promedio de AR\$5.000, aunque varía de un equipo al otro. Como se mencionó anteriormente en la sección 4.2.2, el costo del uso del masterizador para realizar la máscara utilizada en la litografía es de unos AR\$20.000. Cada proceso de litografía cuesta AR\$10.000, incluyendo la oblea, el consumo de gases, los materiales depositados y los prototipos descartados por no alcanzar el estándar de calidad estipulado. Luego, un proceso de microfabricación de esta naturaleza ronda los AR\$50.000. Es importante tener en mente que este costo corresponde a la etapa de convergencia hacia un diseño definitivo del prototipo.

Sin embargo, a largo plazo, la tecnología LoC se encuentra en sintonía con la tendencia actual de que la medicina se oriente cada vez más hacia el paciente. La posibilidad de contar con sistemas de diagnóstico de tipo PoC rompe con la limitación al diagnóstico hospitalario e incluso abre la posibilidad de una prestación domiciliaria. El hecho de que el cuidado de la salud se haya convertido en un mercado que actualmente mueve grandes volúmenes de capital alienta a la comunidad científica a volcar su investigación llevándolo muy próximo a la frontera tecnológica. En el 2017, dicho mercado cotizaba US\$ 7,8 trillones según la OMS [82]. Este valor fue publicado en el 2019 y en octubre del 2020, aún no se ha hecho otra publicación oficial relacionada. Luego, esta tendencia promete una potencial reducción de los costos junto con una mejora tanto en la eficiencia como en la automatización de los equipos utilizados en una microfabricación de esta

naturaleza.

### 5.2.2. Reproducibilidad

Una vez más, la principal limitante es la naturaleza del proceso de microfabricación. Observando los resultados presentados en este trabajo, es fácil detectar la variabilidad que se tiene de un prototipo al otro, incluso cuando resultan del mismo proceso de fabricación (ver figura 52).

A pesar de esto, es notable el aumento de la calidad de los prototipos en la segunda microfabricación realizada en comparación a la primera. Más allá de que esto se atribuye en parte a una toma de decisiones de diseño más apropiadas, también se debe a que todos esos pasos ya habían sido realizados por el mismo grupo de personas anteriormente y la experiencia adquirida en la utilización de los equipos y desarrollo de los procesos influyó positivamente en la integridad de los mismos. Debe tenerse en cuenta que el desarrollo realizado integra un proceso de convergencia hacia un dispositivo. Es esperable cierta variabilidad mientras se ajustan los parámetros que lo componen. La evaluación definitiva de la reproducibilidad será realizada una vez que se tenga el diseño definitivo.

Más allá de la reproducibilidad de la calidad del prototipo, también debe discutirse aquella de los resultados que se obtienen con un mismo dispositivo. La generación de campos magnéticos es prácticamente independiente de las condiciones del entorno, salvo por situaciones extremas. Acorde a lo mencionado previamente en cuanto a la magnetización de la muestra y la formación de aglomerados, cabe destacar que no sería trivial recrear la velocidad y aceleración de una muestra de NPM incluso controlando todas las variables discutidas con los equipos disponibles. Debería evaluarse entonces qué margen de variabilidad es tolerado para los fines aplicativos de  $\mu\text{MAGLAB}$ .

### 5.2.3. Seguridad

El prototipo desarrollado no fue concebido para entrar en contacto directo con el cuerpo humano. Únicamente será accionado por un usuario. Por lo tanto, sólo corresponde abordar la seguridad eléctrica del dispositivo. Ésta dependerá parcialmente de cómo se alimente el dispositivo una vez que forme parte del sistema de diagnóstico de tipo PoC.

Para esto, cabe reiterar que el límite superior del intervalo de seguridad para la circulación de corriente sin comprometer al prototipo es de 55 mA y que la resistencia fue de 27,78  $\Omega$ . Luego, se tiene una potencia operativa máxima de 1,48 mJ y una tensión de 41,11 mV. Esta tensión cataloga como muy baja tensión al ser menor a 50 V según la sección 1.1.1 del capítulo 14 correspondiente a los arts. 95 a 102 de la reglamentación aprobada por decreto 351/79, publicado por el Ente Nacional Regulador de la Electricidad (ENRE) del gobierno nacional [83]. De llegar a utilizarse sin estar conectado a la alimentación eléctrica central, no comprometería la seguridad de las personas.

Incluso de estar conectado a una alimentación de mayor potencia, los conductores eléctricos se encuentran aislados para evitar cortocircuitos con el agua. Así como las personas involucradas en esta investigación



no corrieron ningún riesgo eléctrico, no se cree que presente riesgo alguno para el usuario.

La seguridad cobra un papel más relevante al abordar el proceso de microfabricación del producto. Los operarios deberán exponerse a productos químicos como el ácido fluorhídrico que son potencialmente dañinos. A pesar de que la SL-CAC cuenta con un protocolo de seguridad confiable, de escalar la producción será esencial la capacitación y concientización de los operarios de los riesgos a los que estarán expuestos y cómo deberán proceder ante cualquier eventualidad.

#### 5.2.4. Ética

Tanto el diseño como el desarrollo del prototipo no desafió la ética de los investigadores en ninguna instancia. No existen conflictos de intereses. Ninguno de los procesos involucrados requirió ni se conceptualiza la posibilidad de que pueda requerir en ninguna instancia pruebas en animales y mucho menos en humanos.

En cuanto al sistema de diagnóstico, serán requeridas muestras biológicas tanto positivas como negativas para el SUH. La tecnología para la exposición de las bacterias blanco a complejos AC-NP todavía no se ha definido, por lo que todavía no se conoce la naturaleza de la toma de dicha muestra biológica (orina, sangre o muestra fecal). Sin embargo, dada la naturaleza del sistema de diagnóstico, la recolección de las muestras no comprometerá la salud de los voluntarios. Se estima que debido a esto y en el contexto de la necesidad sanitaria a nivel nacional relacionada al SUH, la búsqueda de voluntarios que provean muestras biológicas no debería ser más dificultosa de lo habitual.

#### 5.2.5. Riesgo de contaminación

Lo primero que debería discutirse al abordar este tema es si el sistema de diagnóstico en cuestión será reutilizable. Es decir, que un mismo dispositivo pueda ser utilizado de forma confiable para diagnosticar a más de un paciente. La presencia de complejos correspondientes a pacientes anteriores podría generar falsos positivos y afectar la sensibilidad del dispositivo a la hora de llevar a cabo el diagnóstico del paciente en cuestión.

Esto depende también de la definición de los módulos restantes del proyecto de  $\mu MAGLAB$ . En cuanto al sistema de transporte, el desafío más grande que se presenta es la adhesión de complejos AG-AC-NP a la superficie. En el diseño actual, no se tiene ninguna fuerza de repulsión que actúe en oposición a las fuerzas que atraen al complejo hacia la superficie. Tampoco se presenta un método automatizado de limpieza de la superficie, como podría ser un flujo energético de agua. Por lo pronto, lo más probable es que después del sensado de la muestra se deba incluir una etapa de lavado que no comprometa la integridad del resto de los módulos, como son el sensor y la superficie funcionalizada del mismo.

#### 5.2.6. Reglamentación

Es fundamental tener en cuenta la reglamentación vigente en relación al diseño, fabricación y comercialización de productos médicos desde la etapa de concepción del diseño hasta su trazabilidad cuando ya

se encuentra disponible en el mercado. Inicialmente, se debe considerar la regulación a nivel nacional y luego también a nivel global si se proyecta escalar y exportar el dispositivo. Las regulaciones determinan los estándares de calidad necesarios para la habilitación de la producción y comercialización del mismo. Esto implica que un producto médico pase de ser únicamente un desarrollo científico a generar un impacto real y positivo en el sistema de salud y la calidad de vida de los pacientes alcanzados por el mismo. La reglamentación se centra principalmente en minimizar lo más posible el riesgo para la población ya que su salud y seguridad son una prioridad intransigible. Además, evalúa y respalda su efectividad, brindando así confiabilidad en los productos presentes en el mercado.

En Argentina, la ANMAT es el ente regulador nacional facultado en este ámbito. Por medio de la disposición N° 2318/02 se incorporó al ordenamiento jurídico nacional el “Reglamento Técnico Mercosur de Registro de Productos Médicos” aprobado por MERCOSUR/GMC/RES. N° 40/00, el cual establece las normas generales que conciernen al registro de productos médicos.

Según esta normativa, el prototipo desarrollado en el presente trabajo forma parte de lo que sería un producto PoC, que se define como *“cualquier producto no destinado al autodiagnóstico, sino para realizar las pruebas fuera del laboratorio, generalmente a la cabecera del paciente”* [84]. Al analizar el Anexo II de la disposición 2318, se determina que  $\mu MAGLAB$  será un producto médico de Clase I por ser no invasivo, siendo incluido en la clasificación de menor riesgo. En lo que compete a este trabajo, se destaca que estos aspectos fueron tenidos en cuenta durante la totalidad del diseño y desarrollo del sistema de transporte controlado de NPM como módulo que se integrará luego a un dispositivo de diagnóstico. Como se mencionó anteriormente, es un diseño seguro y eficaz que se encuentra alineado con las regulaciones vigentes y no compromete la eventual aprobación de  $\mu MAGLAB$ .

### 5.3. Propuestas a futuro

En el presente trabajo se comprobó de manera exitosa el concepto de que la utilización de microconductores es un mecanismo adecuado para el transporte de NPM. Entonces, se infiere que el siguiente paso a realizar debería ser la integración de esta herramienta al resto del proyecto  $\mu MAGLAB$ . Para llevar a cabo dicho proceso, es necesario que se hayan definido previamente los diseños finales de cada módulo. Asumiendo esto, deberá organizarse cómo se acoplarán la superficie funcionalizada, el sensor y el sistema de transporte controlado, entre otros. Una característica deseable del dispositivo es que sea portable, por lo que debe tenerse en cuenta a la hora de dotarlo de alimentación eléctrica, por lo pronto para el sensor y para el sistema de transporte. Dado que la potencia requerida es considerablemente baja, este aspecto no debería ser limitante al desarrollo del equipo.

Aún queda sin resolver la cuestión de cómo controlar la generación de las corrientes. En esta primera implementación, los conductores eran alimentados con fuentes de corriente de forma manual. A medida que el proyecto madure y sea posible formular requerimientos específicos para el sistema de transporte, será necesario desarrollar un control automatizado de la generación de corrientes que permita diseñar perfiles de campos magnéticos variables en el tiempo y en el espacio. De esta manera, se podrían diseñar las velocidades

y la dirección que caracterizarían al movimiento de las NPM en cada punto del LoC. Para esto, se sugiere el uso de un microcontrolador y un puente H.

En cuanto al procesamiento de las imágenes de microscopía, se presenta una mera aproximación al beneficio que puede sacarse del método presentado. Para potenciar la información que se puede obtener, podrían definirse más recuadros representativos que capturen áreas de interés del campo de visión y aumentarse el número de instancias de procesamiento de cada experimento. Sin grandes modificaciones, cabría estudiarse la variación de número de NPM en cada recuadro en el intervalo de análisis. Esto permitiría no solo obtener parámetros de tiempo y velocidad que caractericen al sistema de transporte, sino que al contar con gráficas de distintas áreas de interés se abre la posibilidad de contrastarlas. Por ejemplo, hasta esta instancia, no se presenta ningún método para cuantificar la magnetización media de la muestra que, como se menciona en reiteradas ocasiones, es relevante para su dinámica. La información de las partículas presentes de la misma muestra en distintas áreas de trabajo puede elaborarse para identificar patrones de los cuales se estimen valores de magnetización media, entre otros.

Uno de los caminos que podría resultar interesante seguir sería el de combinar la microfluídica con la herramienta generada de transporte controlado por campos magnéticos. Para esto, podría fabricarse un prototipo que utilice microcanales dispuestos encima de los conductores paralelos de manera longitudinal. A modo ilustrativo, un diseño posible es una bifurcación de un microcanal. Se le inyectaría por medio de una bomba de infusión la solución que contenga el complejo AG-AC-NP entre otros componentes biológicos de la muestra del paciente, generando un flujo constante en una sola dirección hacia la división del canal. Sin circulación de corriente, si los ramales son simétricos es razonable suponer que habrá igual concentración de complejos AG-AC-NP en ambas salidas. Ahora bien, si se generara un campo magnético asimétrico que produzca fuerzas magnéticas en dirección a una de estas ramificaciones, las NPM tenderían a dirigirse hacia el lado favorecido. De este modo, podría generarse una salida diferencial, separando el contenido inicial en dos soluciones, una de ellas con gran concentración del complejo AG-AC-NP.

Otro modo de aplicar la combinación de microfluídica con el magnetismo sería colocar un microcanal simple y recto sobre los microconductores de manera perpendicular a estos. En una primera instancia podrían concentrarse las NPM sobre la superficie funcionalizada, utilizando la fuerza magnética para atraerlas desde el orificio de entrada. Una vez allí, aquellas NPM enlazadas al complejo AG-AC, generarían también un enlace a la superficie. Si se apaga el campo magnético y se aplica un flujo a través del microcanal, las NPM no enlazadas se desplazarán por acción de la fuerza de arrastre, limpiando de este modo la superficie del sensor y disminuyendo la probabilidad de aparición de falsos positivos.

Una vez finalizada la etapa de diseño e implementación del dispositivo se debería definir la población en la cual este dispositivo podría generar un mayor impacto clínico. A pesar de que hay un mayor número de casos de SUH en el centro del país, la tasa de incidencias por cantidad de habitantes es notablemente mayor en el interior del país, principalmente en las provincias del sur y de la región de Cuyo. La propuesta sería instalarlo en estos sectores del país dado que propone una solución para el desafío que implican tanto el menor grado de urbanización como las dimensiones geográficas de estas provincias respecto a la capital. Estos son

sectores rurales y de menores recursos en comparación a los grandes centros urbanos del país. De este modo, se descentralizaría el diagnóstico, acortando los tiempos al minimizar los traslados. Un análisis extensivo de las estadísticas y las prestaciones médicas en los distintos centros de salud del país permitiría establecer con conciencia la prioridad en la escala nacional para la distribución inicial del producto. La asignación racional de los primeros dispositivos es de suma importancia dado que promete mejorar notablemente la prestación médica pero lo más probable es que no resulte en un producto asequible por lo que no sería prudente esperar suplir la totalidad de las necesidades nacionales de una mejora en el diagnóstico de esta enfermedad.

Si se extiende el concepto de funcionamiento de este método de diagnóstico, en teoría es aplicable a cualquier enfermedad a la que se le haya identificado un antígeno y un anticuerpo correspondientes. Esto convierte a los LoC en una herramienta altamente poderosa que tiene la potencialidad de simplificar el proceso de diagnóstico. También podría considerarse realizar un panel de enfermedades a partir de una sola muestra con distintas superficies funcionalizadas en diferentes sectores del chip. Una ventaja que presenta un sistema que permita el diagnóstico de múltiples enfermedades es la disminución de la cantidad de muestras que se requiere tomar del paciente, aumentando de este modo la calidad de atención médica brindada.

## 6. Conclusiones

En líneas generales, se alcanzaron los objetivos de la investigación. El prototipo desarrollado permite un control micrométrico de la posición de las NPM que promete cumplir la función a partir de la cual se conceptualizó con una resolución de  $20\text{ }\mu\text{m}$ .

El prototipo consiste en seis conductores paralelos que representan una capa de una matriz. Los resultados obtenidos demuestran un control unidimensional y bidireccional de la posición de las NPM en el espacio ya que fue posible transportarlas en una dirección y luego redireccionarlas en sentido contrario. Alcanzar un transporte unidimensional con éxito sugiere que la disposición transversal de una capa semejante, aislada de la primera, permitiría potenciar la capacidad del sistema de transporte para controlar la posición de las NPM en el espacio de forma bidimensional y en todas las direcciones del plano.

La implementación tiene sus limitaciones. Entre ellas se destaca el hecho de que los experimentos fueron llevados a cabo con NPM en lugar de complejos AG-AC-NP y que éstas se encontraban en grandes concentraciones. Sin embargo, hay sustento científico apoyando que el enlace del complejo AG-AC a las NPM no debería influir en su actividad magnética. A su vez, la observación de un comportamiento micrométrico sugiere uno semejante en la escala nanométrica y al desconocerse los detalles de qué concentración de NPM se utilizará en la implementación final, tampoco se conoce cuán desviados son los resultados.

El proyecto  *$\mu$ MAGLAB* está desarrollando un sistema de diagnóstico que busca responder a la necesidad sanitaria nacional de una mejora en los métodos de detección de la STEC, causante de la forma más frecuente del SUH en Argentina. Promete una reducción considerable del tiempo y de los recursos necesarios para alcanzar un diagnóstico clínico de esta enfermedad que afecta principalmente a niños de entre 6 meses y 5 años, siendo la causa principal de insuficiencia renal aguda pediátrica a nivel mundial. El proyecto luego responde a una de las necesidades más relevantes del sistema de salud argentino.

## 7. Anexo

### 7.1. Diseños posibles de conductores

#### 7.1.1. Espiras

El primer diseño que se estudió es el de conductores formando espiras. Con esta disposición, se producen máximos locales de campo magnético en el centro de cada espira. Luego, se dice que cada espira es un *atrapador de NPM*.

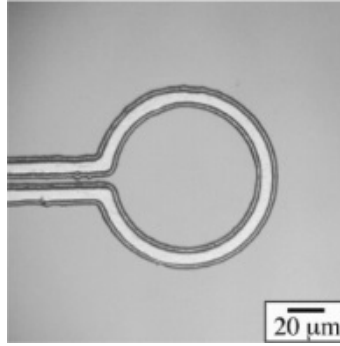


Figura 98: Imagen microscópica de un prototipo de una única espira. Figura tomada de la referencia [75].

Un diseño como el de la figura 99 (a), puede servir para concentrar a las NPM sobre una superficie en particular de forma relativamente repartida. En la referencia [74], se relata cómo se microfabricó un prototipo como el de la figura 99 (b). Haciendo circular corriente por uno de los conductores, se concentran las partículas en las espiras de ese conductor. Luego, al cortar esa corriente y hacer circular una por el otro conductor, se trasladan los máximos locales y las partículas se desplazan a las otras espiras. Se demostró que esto se cumple con distancias de hasta  $20\ \mu m$  entre los centros de las espiras. Luego, representa un diseño apto para transportar NPM.

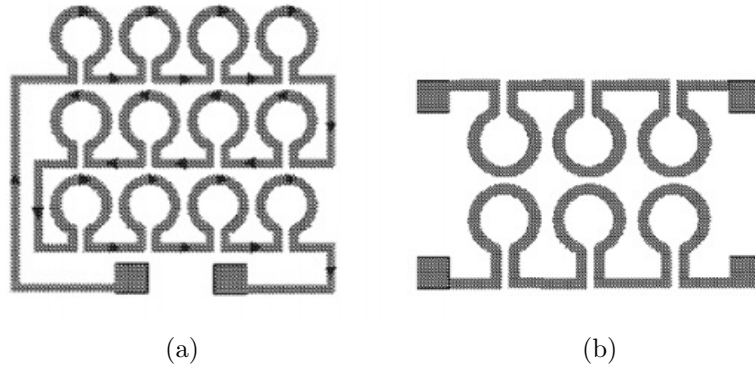


Figura 99: Esquemas de espiras: (a) doce espiras en serie, dispuestas en tres filas de cuatro unidades y (b) dos grupos independientes de tres espiras en serie cada uno. Figuras tomadas de la referencia [74].

Este diseño tiene una fuerte desventaja que es la limitación espacial. El desplazamiento de las NPM se ve acotado a donde se posicionen las espiras. Sin embargo, la idea de cortar la corriente en un conductor y encenderla en otro resulta práctica y realizable, sumado a que representa una alternativa a trasladar mecánicamente estructuras de conductores para trasladar los máximos locales.

### 7.1.2. Meandros

La disposición de conductores en forma de meandros es una de las geometrías más exploradas en la literatura. Los dispositivos como el de la figura 100 (a) son atrapadores de partículas al igual que las espiras. Sin embargo, se tiene mayor densidad de corriente en la dirección longitudinal, por lo que con la misma corriente circulante, se generan campos magnéticos más fuertes con los máximos localizados entre las ramas ascendentes y descendentes del meandro.

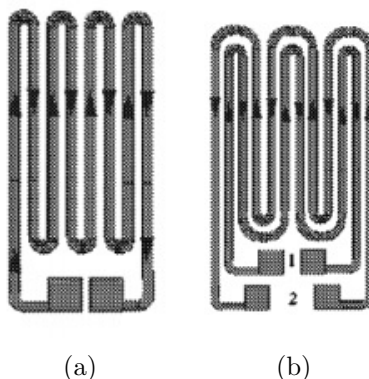


Figura 100: Esquemas de meandros: (a) un solo conductor (b) dos conductores independientes. Figuras tomadas de la referencia [74].

Luego, disposiciones como la de la figura 100 (b) permiten una manipulación de la magnitud y dirección del gradiente del campo magnético mediante el control de la intensidad y la dirección de la corriente que circula por los conductores independientes (que podrían ser más de dos). Cuando la corriente circula en el mismo sentido por ambas, el perfil del campo magnético es el doble que en caso de corrientes anti-paralelas.

En el trabajo realizado por Liu et al. [1], se presenta una disposición alternativa de meandros conductores. En este caso, los meandros son microfabricados en dos capas y de visualizarse desde arriba, se ven superpuestos de forma intercalada. Notar en cambio que los meandros de la figura 100 (b) no se superponen en ningún momento, por lo que conforman una única capa.



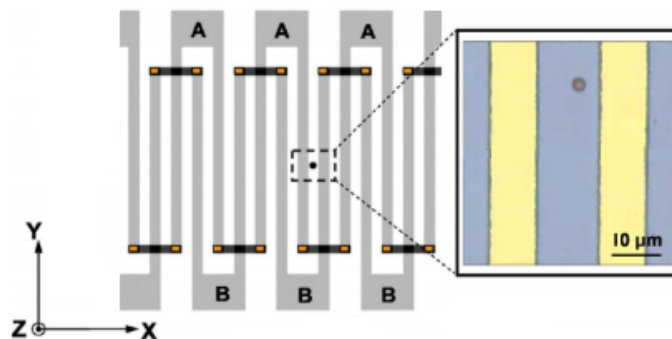


Figura 101: Esquema de dos meandros superpuestos, eléctricamente independientes. Figura modificada, tomada de la referencia [1].

Esta decisión de diseño permite que al hacer circular corriente por uno de los conductores, las NPM se concentren entre las ramas ascendente y descendente de uno de los meandros. Si después se hace circular corriente por el otro conductor, el máximo local se trasladará entre las ramas ascendente y descendente del otro conductor, por lo que las NPM se trasladarán en esa dirección. Si esto se repite alternadamente, pueden trasladarse las NPM en dirección transversal a los conductores, a lo ancho del dispositivo. Se tiene un sistema de transporte unidireccional.

Como se observa en la referencia dimensional de la figura 101, el ancho de los conductores es de  $10\ \mu m$  y el espaciado entre las ramas superpuestas es de la misma dimensión. Luego, el dispositivo propuesto por Liu y colaboradores tiene un ancho total de  $270\ \mu m$ , más de 13 veces mayor a la distancia a través de la cual se podían trasladar utilizando la disposición de la figura 99 (b). En ese trabajo, no se menciona si el diseño se encuentra o no en el límite dimensional funcional.

### 7.1.3. Matriz

De tenerse una matriz de conductores como la de la figura 102, cada conductor por el cual circule una corriente generará un campo magnético diferente sobre cada punto del espacio. Un estudio de dos dimensiones de cada punto sobre la matriz devuelve una distribución de los campos magnéticos que sugiere la posibilidad de generar diferentes fuerzas magnéticas sobre las NPM en diferentes posiciones. Al tener múltiples conductores independientes, se tienen más variables a controlar pero a su vez, se tiene un control más fino de la posición de las NPM.

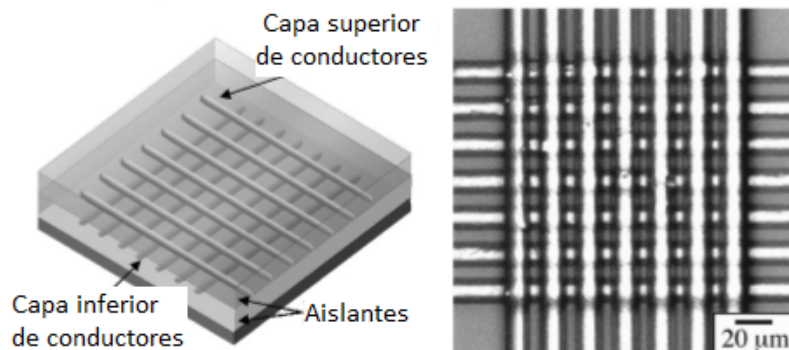


Figura 102: Figura tomada de la referencia [75]. A la izquierda, esquema representando la porción del prototipo que contiene a la matriz. Quedan representadas las dos capas de material aislante. A la derecha, imagen microscópica del prototipo resultante.

El trabajo de Lee et al. [76] muestra un dispositivo con la disposición de conductores en matriz. En la figura 103, se incluyen imágenes de microscópicas del mismo. La referencia dimensional de la figura de la derecha indica que el ancho de los conductores, así como el del espacio entre ellos, es de  $5 \mu\text{m}$ , la mitad que los meandros fabricados por el mismo equipo. Luego, la matriz tiene  $95 \mu\text{m}$  de ancho, casi un tercio que el dispositivo de los meandros. Sin embargo, es importante destacar que con la fabricación de estos dos dispositivos se buscó probar hipótesis distintas. En el caso de la disposición matricial, se buscaba un diseño que permita tener un control más fino sobre la posición de las NPM.

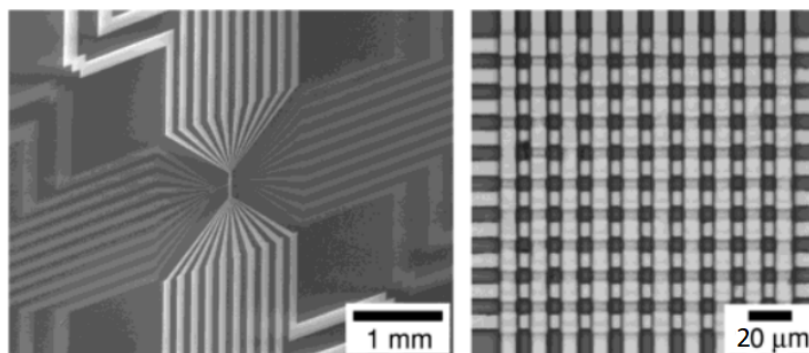


Figura 103: Figura tomada de la referencia [76]. Ambas imágenes fueron tomadas al mismo prototipo mediante microscopía, con diferentes objetivos. A la izquierda, se muestra cómo el equipo diseñó el aumento progresivo del diámetro de los conductores para facilitar la conexión a una circulación de corriente. A la derecha, se muestra una ampliación de la región central. Notar que el aumento mediante el cual se obtuvo la izquierda es 5 órdenes de magnitud mayor que el de la derecha.

Se incluye la figura 104 para ilustrar cómo se transportan las NPM como aglomeraciones. Nótese que en las tres imágenes, la aglomeración se encuentra sobre el máximo local, entre los conductores (entre dos horizontales y entre dos verticales).

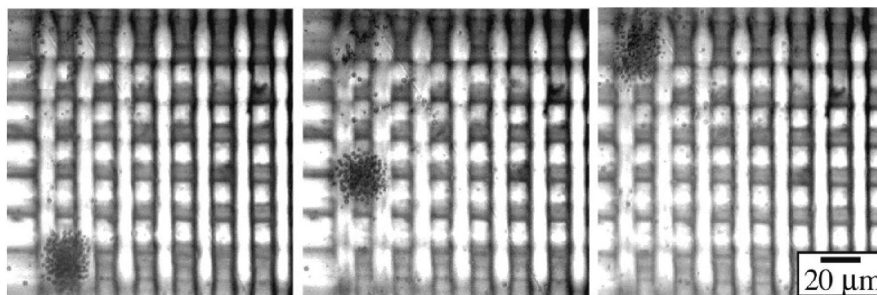


Figura 104: Figura tomada de la referencia [75]. Las tres imágenes fueron tomadas durante el mismo experimento mediante microscopía. Demuestran cómo el dispositivo puede ser utilizado para transportar NPM de forma controlada en el plano horizontal.

## 7.2. Primeros experimentos

### 7.2.1. Microcanales en forma de T

Esta primera experiencia tuvo por objetivo familiarizarse con las NPM suspendidas en solución. Se llevó a cabo con una disposición de canales en forma de T de dimensión micrométrica de PDMS sobre vidrio. Se utilizó una bomba de infusión para hacer circular la solución diluida de NPM. No se trabajó con campos magnéticos de ningún tipo. En el anexo (sección 7.4), se encuentra referenciado un vídeo de la experiencia.

En la figura 105, la forma de identificar el agua es notando la suspensión de NPM como puntos oscuros. En contraposición, el aire posee un color homogéneo y más oscuro, con ausencia de partículas. Nótese la delimitación de cada medio y cómo se produce vacío en donde éstas se encuentran con la pared del canal. A la izquierda, se tiene una aglomeración de NPM adheridas a la superficie. Si se consulta la imagen de vídeo, podrá notarse que se detuvo la circulación de agua por el canal descendente. En este canal, debajo de la aglomeración mencionada se observa una burbuja de aire estática.



Figura 105: Imagen tomada mediante cámara externa a través de la lente del microscopio.

Se observó que las NPM se aglomeraban y se adherían a la superficie de los canales. Esta adhesión

alteraba el flujo dentro del canal. El diámetro efectivo del canal por el que era posible la circulación de fluidos variaba constantemente debido a estas aglomeraciones. A causa de esto, se generaban diferencias de presión y se observó en ocasiones un cambio de sentido en el flujo del microcanal durante unos breves instantes.

A partir de lo observado, se discutió la necesidad de hacer circular a las NPM de nuestro biosensor por canales de 1mm de ancho. El objetivo de esta investigación es transportar las NPM desde la muestra del paciente donde se forma el complejo AG-AC-NP hacia la superficie de sensado, de dimensiones aún inciertas pero de escala milimétrica como límite inferior. Luego, ninguna de las etapas principales requieren ser confinadas a un volumen tan reducido como el de los microcanales. De aquí en más, la única superficie a la cual se hará referencia será la cara inferior de los prototipos (suelo) ya que las NPM se encuentran suspendidas en un volumen amplio en relación a sus dimensiones en todo momento.

De esta conclusión se deriva que las fuerzas relacionadas a la fluídica no variarán a lo largo de la trayectoria de la NPM. No se estrechará el canal lo suficiente como para afectar su dinámica ni experimentará un cambio de medio. Luego, la única fuerza variable que se tiene es la fuerza magnética. Es ésta la que se procedió a simular.

### 7.2.2. Espiras con cables de bobina

El primer prototipo con un conductor eléctrico fue una simple espira, semejante a la que se muestra en la figura 98. El segundo prototipo consistía de un único conductor (cable de bobina de 100  $\mu\text{m}$  de espesor) con el que se generó una disposición de espiras que iban aumentando en radio de forma concéntrica.

Este conjunto de experiencias fueron las primeras en donde se vislumbró el carácter magnético de las partículas. Al circular corriente por el conductor, se notó una respuesta por parte de las partículas. También, se disponía de un imán, con el cual se buscó modificar el campo al cual se exponían las NPM. Para la experimentación, se utilizó una iluminación inferior. Por ende, el cable conductor se ve opaco. El fondo de la imagen tiene este color amarillento debido a la aislación con cinta adhesiva. En la figura 106 (a), se observa un conjunto de objetos sin forma junto a los cables, también opacos. Éstos son aglomeraciones de NPM de dimensiones prácticamente milimétricas comparables al ancho del cable de bobina del prototipo.

Nótese en la figura 106 (b) cómo el movimiento de estas aglomeraciones no se contenía en el centro del prototipo. Con esta disposición del cable conductor, no fue posible concentrar a las NPM en un sector reducido del espacio. A su vez, las dimensiones del prototipo eran demasiado grandes como para observar la totalidad de lo que estaba ocurriendo. Sin embargo, se destaca que las aglomeraciones podían observarse a lo largo de todo el prototipo aunque particularmente cerca de los conductores.

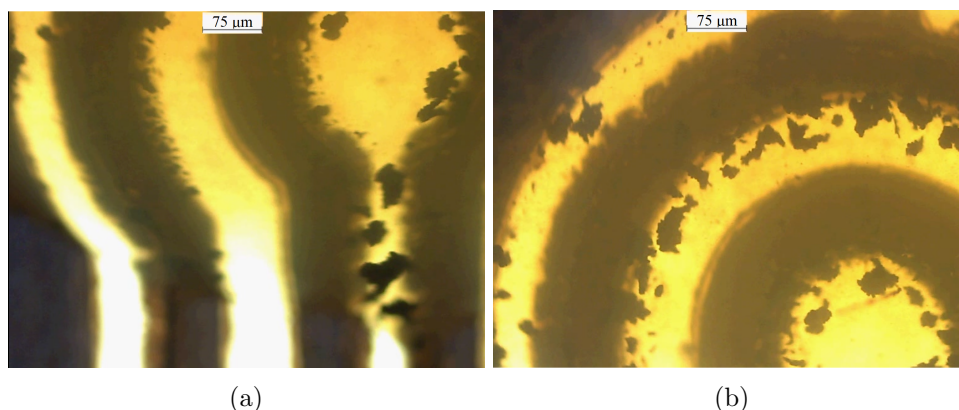


Figura 106: Aglomeraciones de partículas de dimensiones comparables al ancho del conductor. Dicho ancho de es  $100\ \mu\text{m}$ .

### 7.2.3. Meandros de cables de bobina

Se construyeron un conjunto de prototipos con una disposición en forma de meandros, también hechos con cable de bobina de espesor de  $100\ \mu\text{m}$ . Los resultados obtenidos inicialmente con este diseño se asemejaron a los obtenidos con el diseño de espira. Sin embargo, se los fue haciendo progresivamente más pequeños, es decir con una menor distancia entre las porciones paralelas de éste. Se comenzó a notar que las NPM ahora se disponían como hileras sobre o junto a los conductores, pero con dicha forma determinada. Estos fueron los primeros indicios obtenidos empíricamente de que podía llegar a controlarse la forma en la cual se disponían en el espacio.

En la figura 107, se puede notar la presencia de microorganismos en suspensión. Éste provino del eppendorf donde se almacenan las NPM. Ésta es la razón por la cual es tan relevante mantener dicho eppendorf refrigerado. La presencia de esos microorganismos dificulta la experimentación y la toma de datos. Previo a esta experimentación, se había dejado el eppendorf fuera del refrigerador por error durante un lapso de 72 horas. Una vez que se observó que se habían desarrollado estos microorganismos, se descartó la solución de NPM en su conjunto.

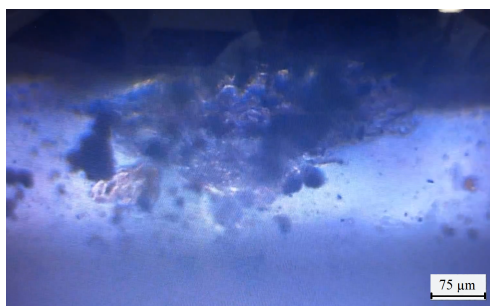


Figura 107: Microorganismos suspendidos junto al conductor. Imagen tomada mediante cámara externa a través de la lente del microscopio.

#### 7.2.4. Matriz de cables de bobina

La primera matriz que se fabricó estaba compuesta por cables de bobina esmaltados de  $300\ \mu m$  de espesor. Constaba de 5 cables verticales, 3 cables horizontales y 2 cables que cruzaban diagonalmente de una esquina de la matriz a la otra. Se presenta un esquema del diseño en la figura 110. Los cables diagonales se colocaron para aumentar la atracción de NPM hacia el punto de interés (el centro del dispositivo). Éstas se ven atraídas por la magnitud del gradiente del campo magnético, el cual decae con el cuadrado del radio. Luego, el gradiente del campo magnético que hará que las NPM se dirijan hacia donde se pretende, aumentará cuanto más cerca estén del conductor. Al agregar estos dos cables diagonales, se atraerían más NPM.

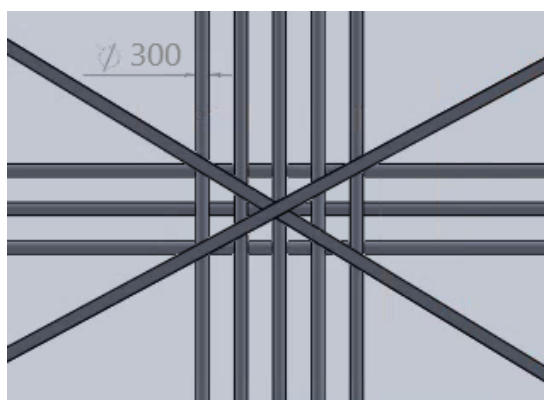


Figura 108: Esquema realizado en SolidWorks de la primer matriz de cable de bobina de  $300\ \mu m$  construida.

En primer lugar, se realizó una serie de experiencias en el laboratorio en busca de nuevas conclusiones que orienten el proceso de diseño del sistema de transporte. La resistencia de los cables horizontales rondaba los  $0,6\ \Omega$ . Los cables diagonales estaban soldados de modo que formaban un circuito eléctrico de conductores en paralelo (compartiendo la conexión en sus extremos) y su resistencia conjunta era de  $1\ \Omega$ . Para obtener la imagen de la figura 109, se hizo circular una corriente de  $2,5\ A$  por uno de los cables horizontales. Nótese cómo las NPM se disponen en forma transversal al conductor.

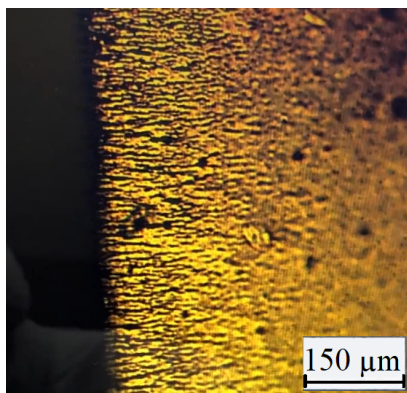


Figura 109: Imagen tomada mediante cámara externa a través de la lente del microscopio.

A diferencia de las experiencias anteriores, éstas fueron las primeras en donde el parámetro de tiempo fue un factor a tener en cuenta. Entre las observaciones realizadas, se destaca que:

- Al aproximarse al conductor, las NPM se aceleran hacia él y tienden a adherirse a su superficie mientras circule corriente a través del mismo.
- En las proximidades del conductor, las NPM se aglomeran y magnetizan alineándose de forma perpendicular al conductor, en la dirección en la que varía el gradiente del campo magnético. Esto significa que sus dipolos se encuentran orientados.
- Los fenómenos observados son independientes del sentido de circulación de la corriente.
- Los fenómenos no fueron instantáneos. Fue necesario un período de aclimatación.

Las observaciones coinciden con la teoría y por lo tanto, con lo esperado. A partir de estos resultados, se concluyó que era necesario realizar mediciones cuantitativas y aumentar la resolución en la visualización de los experimentos. Para esto, se discutió cuáles eran las variables a controlar y cuáles las variables a medir. Se arribó al armado de un documento llamado *Protocolo de experimentación y toma de datos*, compuesto por una serie de pasos a seguir antes, durante y después del experimento para darle contexto y estandarización a las mediciones llevadas a cabo. Puede accederse al documento en la sección 7.4 de este anexo.

El objetivo principal del documento es la subdivisión en eventos para poder registrar parámetros de tiempo. Se agruparon los eventos en tres actividades. La primera consistía en las mediciones y predicciones afuera de la sala limpia, previas a la experimentación. Se registraban las dimensiones del dispositivo utilizado para la generación del campo magnético y sus conductores. Se medía la resistencia de los mismos tanto con circulación de corriente como sin. Esto se debe a que la resistencia varía con la temperatura y la circulación de corriente por una resistencia emite calor. Así, se tomaba al menos un valor de resistencia que se asemeje más a la resistencia que ejercen los conductores a la circulación de corriente durante los experimentos. A partir de estas mediciones, se hipotetizaba sobre qué se esperaba encontrar con la experimentación.



La segunda actividad se desenvolvía ya dentro de la sala limpia e implicaba la preparación de la experimentación. Por ejemplo, incluía sonicar la solución de NPM y fijar el dispositivo para evitar que su movimiento altere los resultados. Disponer de la secuencia de pasos ayudaba a no olvidar ninguno y a respetar su cronología.

La tercera actividad era la toma de valores. Cada evento, desde la colocación de la gota de solución de NPM hasta el nombre del archivo de grabación, tenía su especificación. Esto permitió ordenar cómo tomar nota y de qué. También, al mantener un orden cronológico de los experimentos, resulta fácil saber cuánto tiempo llevaba circulando la corriente en el momento en que se tomaron los valores y por lo tanto, la magnetización de las partículas. A su vez, permitió recolectar más información ya que en las primeras experiencias, una vez terminado el experimento surgían dudas de cómo se había dado alguna secuencia o del por qué de ciertos vídeos.

Para fabricar la segunda matriz, se utilizaron conductores extraídos de cables de red. La matriz consistía de 3 cables horizontales y 3 verticales. Se montó sobre una lámina de vidrio y se la cubrió con un portaobjetos para tener una superficie plana para la experimentación. Previo a realizarla, se procedió a medir la resistencia efectiva de los cables circulando una corriente conocida y se midió la diferencia de potencial que caía entre los extremos del cable. Las corrientes eran de 1,5 A. Las resistencias de los cables horizontales eran de  $0,8 \Omega$ ,  $0,9 \Omega$  y  $0,7 \Omega$ . Las resistencias de los cables verticales eran de  $0,8 \Omega$ ,  $0,7 \Omega$  y  $0,6 \Omega$ .

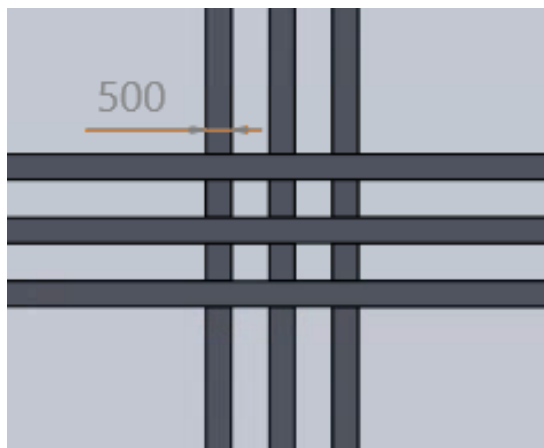


Figura 110: Esquema realizado en SolidWorks de la segunda matriz construida con cables de red.

Luego, para obtener las imágenes de la figura 111, se hicieron circular 0,6 A por uno de los cables horizontales. La diferencia temporal entre una imagen y la otra fue de 2 minutos. Aquí puede notarse que las partículas no se magnetizan de forma instantánea sino que precisan de un período de aclimatación lo cual indica que no tienen un comportamiento superparamagnético ideal.

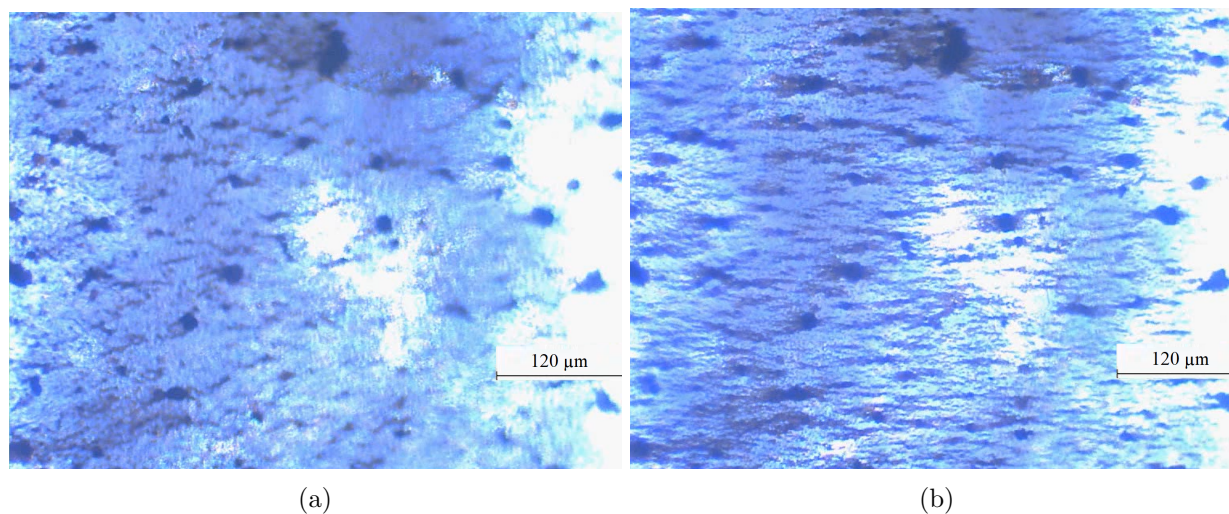


Figura 111: NPM en suspensión: (a) antes y (b) después de la circulación de 0,6 A de corriente.

### 7.3. Caracterización de NPM

#### 7.3.1. SEM (procesado con ImageJ)

Área (píxeles)	Diámetro (nm)	Frecuencia	% acumulado
0	0	0	0
20	252,31	429	43,42 %
40	356,82	110	54,55 %
60	437,02	54	60,02 %
80	504,63	24	62,45 %
100	564,19	18	64,27 %
120	618,04	17	65,99 %
140	667,56	15	67,51 %
160	713,65	17	69,23 %
180	756,94	14	70,65 %
200	797,88	12	71,86 %
220	836,83	13	73,18 %
240	874,04	18	75, %
260	909,73	9	75,91 %
280	944,07	4	76,32 %
300	977,21	4	76,72 %
320	1.009,25	7	77,43 %
Continúa en la siguiente página			

Cuadro 1 – continuación de la página anterior

Área (píxeles)	Diámetro (nm)	Frecuencia	% acumulado
340	1.040,31	6	78,04 %
360	1.070,47	9	78,95 %
380	1.099,81	13	80,26 %
400	1.128,38	12	81,48 %
420	1.156,24	8	82,29 %
440	1.183,45	7	83, %
460	1.210,05	3	83,3 %
480	1.236,08	3	83,6 %
500	1.261,57	7	84,31 %
520	1.286,55	4	84,72 %
540	1.311,06	3	85,02 %
560	1.335,12	3	85,32 %
580	1.358,75	0	85,32 %
600	1.381,98	2	85,53 %
620	1.404,82	2	85,73 %
640	1.427,3	3	86,03 %
660	1.449,43	3	86,34 %
680	1.471,23	2	86,54 %
700	1.492,71	5	87,04 %
720	1.513,88	1	87,15 %
740	1.534,76	4	87,55 %
760	1.555,36	1	87,65 %
780	1.575,7	6	88,26 %
800	1.595,77	5	88,77 %
820	1.615,59	0	88,77 %
840	1.635,18	0	88,77 %
860	1.654,53	2	88,97 %
880	1.673,66	2	89,17 %
900	1.692,57	1	89,27 %
920	1.711,27	0	89,27 %
940	1.729,77	0	89,27 %
960	1.748,08	1	89,37 %
980	1.766,19	1	89,47 %
Continúa en la siguiente página			

**Cuadro 1 – continuación de la página anterior**

<b>Área (píxeles)</b>	<b>Diámetro (nm)</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>% acumulado</b>
1000	1.784,12	2	89,68 %
Mayor a 1000	Mayor a 1784,12	102	100 %

Cuadro 1: Resultado del análisis de las imágenes de SEM de las NPM con ImageJ. Distribución de frecuencias del área de las NPM.

## 7.3.2. DLS

N° de muestra	Diámetro efectivo (nm)	Polidispersidad	Índice de referencia	Tasa de conteo (kcps)	Data recolectada (%)	Coefficiente de difusión ( $cm^2/s$ )
1	240,19	0,177	5,5	209,5	93,64	0,00002043
2	263,49	0,230	0,0	211,9	96,98	0,00001863
3	248,76	0,226	0,0	196,0	100,00	0,00001973
4	248,64	0,202	0,0	190,5	99,88	0,00001974
5	247,36	0,211	3,0	193,5	100,00	0,00001984
<i>Mean:</i>	249,69	0,209	1,7	200,3	98,10	0,00001967
<i>Std Err:</i>	3,80	0,010	1,1	4,3	1,26	0,0000002923
<i>Std Dev:</i>	8,49	0,021	2,5	9,7	2,81	0,0000006536

Cuadro 2: Resultados del estudio de las dimensiones de las NPM de la primera muestra mediante la técnica de DLS.

N° de muestra	Diámetro efectivo (nm)	Polidispersidad	Índice de referencia	Tasa de conteo (kcps)	Data recolectada (%)	Coefficiente de difusión ( $cm^2/s$ )
1	249,28	0,187	4,8	63,0	100,00	0,00001969
2	258,96	0,189	0,0	64,2	98,36	0,00001895
3	248,68	0,181	0,0	63,2	100,00	0,00001973
4	240,16	0,192	3,0	59,2	98,27	0,00002043
5	252,03	0,175	5,6	63,3	100,00	0,00001947
<i>Mean:</i>	249,82	0,185	2,7	62,6	99,33	0,00001966
<i>Std Err:</i>	3,03	0,003	1,2	0,9	0,41	0,0000002391
<i>Std Dev:</i>	6,77	0,007	2,6	1,9	0,92	0,0000005347

Cuadro 3: Resultados del estudio de las dimensiones de las NPM de la segunda muestra mediante la técnica de DLS.

## 7.4. Experimentos

Dado el número de experimentos realizados y las diferencias entre ellos sumado a los múltiples equipos utilizados que resultan específicos de este campo, se optó por recurrir a un repositorio digital. La plataforma utilizada fue Google Drive. Es posible acceder al mismo mediante el siguiente enlace, sin necesidad de contar con una cuenta de Google:

---

[https://drive.google.com/drive/folders/1rSGVws2364lz80ID2JRsUui\\_6t5aS88E?usp=sharing](https://drive.google.com/drive/folders/1rSGVws2364lz80ID2JRsUui_6t5aS88E?usp=sharing)

---

Al acceder al repositorio mediante el enlace, se visualiza un conjunto de ocho carpetas. Se agrupó el contenido de forma semejante a cómo se lo agrupa en el desarrollo de este trabajo.

- 1) Simulaciones
- 2) Microcanales en forma de T
- 3) Matriz de cables de bobina
- 4) Microfabricación
- 5) Meandros microfabricados
- 6) Caracterización meandros
- 7) Conductores paralelos
- 8) Caracterización del prototipo de conductores paralelos

En las carpetas 1) y 5), se tienen archivos sueltos que corresponden a imágenes de las simulaciones realizadas en la etapa inicial del trabajo para comprender la generación de los perfiles de campo magnético y a los equipos utilizados en el proceso de microfabricación. Las carpetas 2), 3), 4) 6) y 7) corresponden a experimentos realizados. Por esto, dentro de ellos hay subcarpetas que agrupan el contenido según en qué día se realizó el experimento que dio los resultados que contiene. La carpeta 8) tiene una carpeta por cada método utilizado para la caracterización del prototipo final.

**7.5. Índice de cuadros**

1. Resultado del análisis de las imágenes de SEM de las NPM con ImageJ. Distribución de frecuencias del área de las NPM. . . . . 131
2. Resultados del estudio de las dimensiones de las NPM de la primera muestra mediante la técnica de DLS. . . . . 132
3. Resultados del estudio de las dimensiones de las NPM de la segunda muestra mediante la técnica de DLS. . . . . 132

**7.6. Índice de figuras**

1. Casos y tasas notificados de SUH en la Argentina desde el 2014 hasta el 2019 inclusive en base a datos del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud. De enero a octubre del 2020, no se publicaron valores oficiales relacionados al SUH en el Boletín Integrado de Vigilancia. Tomado de la referencia [16]. . . . . 13
2. Distribución de los casos de SUH en Argentina según el rango etario de los pacientes en el 2019. Tomado de la referencia [16]. . . . . 13
3. Estructura típica de una inmunoglobulina (IgG) cortesía del banco de datos de proteínas (ID=1IGT). Tomado de la referencia [43]. . . . . 16
4. Diagrama del funcionamiento del sistema de diagnóstico de  $\mu MAGLAB$ . El primer recuadro simboliza la muestra del paciente. Los círculos rojos representan al analito de interés. El siguiente recuadro contiene la solución de NPM funcionalizadas con anticuerpos capaces de unirse al antígeno (complejo AC-NP). En el tercer recuadro, figura lo que se obtiene al incubar ambas soluciones juntas. La mayoría de los complejos AC-NP hallaron al antígeno (AG-AC-NP) pero se observan tanto complejos AC-NP como antígenos libres. . . . . 17
5. (a) Superficie funcionalizada con anticuerpos capaces de unirse a la bacteria STEC. A la izquierda, diagrama representando dicha superficie. A la derecha, imagen tomada de una superficie de esta naturaleza en la vida real. (b) Diagrama del funcionamiento del sistema de diagnóstico de  $\mu MAGLAB$ . Se muestra la superficie funcionalizada con los complejos AG-AC-NP unidos a ella luego del lavado. . . . . 18
6. Diagrama del funcionamiento del sensor del sistema de diagnóstico de  $\mu MAGLAB$ . El primer símbolo en forma de Y de color amarillo representa al anticuerpo unido a la superficie. Para diferenciarlo, el anticuerpo unido a la NPM está invertido y es de color rosado. El rombo representa a la bacteria. El círculo representa a la NPM. . . . . 19
7. Trayectorias de electrones o fotones en una capa de material conductor: (a) relativamente ancha y (b) una relativamente fina, con presencia de efecto borde. Tomado de la referencia [40]. 22



8.	Esquema de la variación de la magnetización en función del campo magnético aplicado a diferentes materiales magnéticos: ferromagnético (FM), superparamagnético (SPM), diamagnético (DM) y paramagnético (PM). Tomado de la referencia [29]. . . . .	23
9.	Esquema comparativo del momento magnético $\mu$ de los materiales multidominio (izquierda) y monodominio (derecha). Las flechas simbolizan la orientación del momento magnético de cada dominio. $D$ : diámetro del material. $D_C$ : diámetro crítico. Tomado de la referencia [30]. .	24
10.	Fuerzas actuantes sobre la NPM en el modelo presentado. . . . .	25
11.	Cable de Red RJ-45 Jetlan 6+ categoría 6 con malla FTP. . . . .	29
12.	Imagen tomada de la entrada a la SL-CAC. La única puerta es la de la izquierda que lleva a la antesala. Se observa a un técnico dentro de la antesala dirigiéndose hacia la puerta que lleva a la SL-CAC. Tomada de la referencia [60]. . . . .	34
13.	Diagrama representativo de la diferencia entre una fotoresina positiva y una negativa y cómo se transfiere el patrón de la máscara. . . . .	35
14.	Imagen tomada del alineador de máscaras EVG620 del CAC. . . . .	36
15.	Imágenes tomadas dentro de la SL-CAC del equipo de sputtering. Consta de (a) una cámara de UHV donde se coloca la muestra y (b) un panel de control accionado por el usuario. . . .	38
16.	Imagen tomada de la impresora 3D utilizada. . . . .	40
17.	Imagen tomada del perfilómetro óptico utilizado, Veeco Wyko NT1100. . . . .	41
18.	Imágenes tomadas dentro de la SL-CAC: (a) el microscopio Leica y (b) el microscopio MITUTOYO de la sala de litografía. . . . .	42
19.	Imagen tomada del microscopio SEM utilizado. Cuenta con un sistema de litografía NPGS v9.0 y un nanomanipulador Zyvek. . . . .	43
20.	Esquemas ilustrativos de: (a) La técnica de dispersión dinámica de luz. Se relaciona el tamaño de las partículas y su cantidad con el resultado obtenido mediante un equipo de DLS; y (b) Las partes del dispositivo. De izquierda a derecha: el láser emisor, el lente focalizador, el correlacionador que procesa la detección, la muestra, el segundo lente focalizador y el detector de fotones. . . . .	44
21.	Imagen tomada del equipo de DLS del CAC. . . . .	44
22.	Imagen tomada de la estación de sonda en el laboratorio de electrónica del CAC. . . . .	45
23.	Gráfico representativo del método de umbralizado de Otsu. Tomado de la referencia [70]. . . .	47
24.	Esquema de la aplicación de morfología matemática a una imagen. El elemento estructurante o ventana es la matriz azul que se superpone sobre la imagen, representante por la matriz gris. La ventana de borde azul es el punto de partida, y luego se mueve en ambos sentidos: hacia la derecha, ocupando la posición de la matriz de borde rojo y después aquella de amarillo y hacia abajo, ocupando la de borde verde y luego la de violeta. Tomado de la referencia [72]. .	48

---

25.	Aplicación de los operadores morfológicos de dilatación y erosión. (a) Imagen original, (b) aplicación del operador de dilatación a la imagen original y (c) aplicación del operador de erosión a la imagen original. Las imágenes fueron tomadas de la referencia [69]. . . . .	48
26.	Aplicación del operador morfológico de apertura. (a) Imagen original e (b) imagen resultante. Tomado de la referencia [69]. . . . .	49
27.	Imagen microscópica de barrido (SEM) de las NPM tomada en el CAB. . . . .	51
28.	Diseño de meandros superpuestos, intercalados con un aislante entre ellos, realizado en Ansys: (a) geometría y (b) nodos para el cálculo con elementos finitos. . . . .	52
29.	Captura de pantalla del módulo Thermal Electric, donde se visualizan los valores de corriente y fenómenos térmicos simulados. . . . .	53
30.	Captura de pantalla de KLayout de la máscara diseñada para la microfabricación de los meandros. . . . .	54
31.	Acercamiento a dos meandros dentro de la máscara, a la izquierda de 5 $\mu m$ de ancho y a la derecha de 10 $\mu m$ . . . . .	55
32.	Captura de pantalla de KLayout de la superposición de los meandros, en el diseño de 10 $\mu m$ de ancho. . . . .	55
33.	Diagrama ilustrativo de una forma de llevar acabo el proceso de transmisión del patrón de diseño a un prototipo. . . . .	57
34.	Imágenes tomadas dentro de la sala limpia de: (a) el envase de la fotoresina AZ 2070 y (b) la colocación de la misma a un portaobjetos colocado en el spinner. . . . .	58
35.	Esquemas ilustrativos de: (a) fotoresina con perfil negativo y (b) fotoresina con perfil positivo. En ambos casos el sustrato de vidrio es color gris claro, la fotoresina marrón anaranjada y el metal depositado encima gris oscuro. . . . .	59
36.	Imagen tomada dentro de la sala limpia durante el precocido de dos prototipos. . . . .	59
37.	Imágenes tomadas dentro de la sala limpia del equipo de exposición a luz ultravioleta en las que se observa: (a) la dificultad agregada en la colocación, (b) el proceso de alineación con microscopio óptico y (c) en funcionamiento . . . . .	60
38.	Imagen obtenida del microscopio óptico donde se observa la doble línea generada por el perfil negativo de la fotoresina. . . . .	61
39.	Imágenes tomadas dentro de la sala limpia del proceso de remoción de la fotoresina: (a) lift-off con acetona y (b) utilización del equipo ultrasónico. . . . .	62
40.	Imagen obtenida del microscopio óptico donde se observa el prototipo luego de realizar el lift off. . . . .	62
41.	Imágenes tomadas dentro de la sala limpia de: (a) el envase de la fotoresina AZ 9260 y (b) la colocación de la misma a un portaobjetos colocado en el spinner. . . . .	63
42.	Imagen tomada dentro de la sala limpia del proceso de revelado de la fotoresina AZ 9260 con el revelador AZ 400. . . . .	63

---

43.	Imágenes tomadas del proceso de electroplating: (a) preparación y (b) ejecución. . . . .	64
44.	Imágenes tomadas por el microscopio óptico Leica de dos prototipos luego del electroplating. Se observa la presencia de burbujas en las esquinas de los contactos. . . . .	64
45.	Imágenes tomadas dentro de la sala limpia de la protección contra el HF: (a) Elementos de protección personal y (b) crema para quemaduras por contacto con HF. . . . .	65
46.	Imágenes tomadas de: (a) el envase de elastómero de silicona y (b) el envase del agente curador. . . . .	66
47.	Imágenes tomadas de la preparación de PDMS, utilizando la microbalanza. . . . .	66
48.	Imágenes tomadas de: (a) el proceso para soldar los cables a los conductores mediante el uso de la lupa y (b) las soldaduras con pasta de estaño. . . . .	67
49.	Imagen tomada dentro de la sala limpia del prototipo en el perfilómetro óptico. . . . .	68
50.	Estudio de la superficie del prototipo mediante perfilometría óptica. . . . .	69
51.	Estudio de la superficie del prototipo mediante perfilometría óptica. . . . .	69
52.	Imágenes de microscopía donde se observan los resultados de la microfabricación de los meandros y las diferencias de calidad resultante entre los dispositivos de distintas dimensiones: (a) portaobjetos 1, meandro de $5\mu\text{m}$ , (b) portaobjetos 2, meandro de $5\mu\text{m}$ (c) portaobjetos 1, meandro de $10\mu\text{m}$ y (d) portaobjetos 2, meandro de $10\mu\text{m}$ . Se observa el efecto positivo en la calidad de los mismos al aumentar las dimensiones de los . . . . .	71
53.	Imágenes de microscopía donde se observa claramente las dimensiones efectivas de un meandro del portaobjetos 2. . . . .	72
54.	Gráficos obtenidos con el analizador, se observa la diferencia en las pendientes dado que (a) corresponde a un meandro de $10\mu\text{m}$ y (b) uno de $5\mu\text{m}$ . . . . .	73
55.	Gráfico obtenido con el analizador de un meandro de $5\mu\text{m}$ de ancho, se observa como comienza a perder al linealidad. . . . .	73
56.	Imágenes de microscopía. NPM en suspensión (a) al iniciar el experimento, (b) luego de la circulación de 10 mA de corriente durante 2 minutos y medio y (c) luego de 4 minutos. . . . .	74
57.	Resultado de la aplicación del umbralizado de Otsu a la imagen de la figura 56 (a). Por un lado, (a) el histograma que indica la frecuencia de ocurrencia (número de píxeles) porcentual de cada intensidad de gris en la imagen original. Por el otro, (b) el renderizado de la imagen original representada en 4 tonos de gris, cada uno correspondiente a uno de los intervalos delimitados por los umbrales. . . . .	75
58.	Binarización de las tres imágenes presentadas en la figura 56. . . . .	75
59.	Resultado de la apertura de la imagen binaria de la figura 58 (a). . . . .	76
60.	Imágenes resultantes de restar la imagen presentada en la figura 59 a las imágenes binarias de la figura 58. . . . .	76
61.	Prototipo final. . . . .	78
62.	Modelado del diseño final de la distribución de conductores: (a) diseño completo y (b) acercamiento al modelo en el sector de transición hacia los contactos. . . . .	79

---

63.	Captura de pantalla del modelado de la magnitud del campo magnético al circular 20 mA por cada conductor, todos en el mismo sentido. . . . .	80
64.	Captura de pantalla del modelado de la magnitud y dirección del vector campo magnético. A la izquierda, se indica la codificación del color del vector con la intensidad de campo que representa. . . . .	81
65.	Gráfico de la magnitud del campo magnético, con circulación de 10mA en todos los conductores en la misma dirección (violeta) y 30mA sólo en un conductor (rojo). . . . .	81
66.	Gráfico de la magnitud del campo magnético a 10 $\mu m$ sobre la superficie de los conductores. Circulación de 10mA en todas las pistas, en el mismo sentido (azul), sin circulación de corriente en la pista 4 numerando de izquierda a derecha (violeta) y circulación de 10mA en sentido opuesto en la pista 4 (rojo). . . . .	82
67.	Gráfico del gradiente de campo magnético. Circulación de 10mA en todas las pistas, en el mismo sentido (azul), con circulación de 30mA en la pista 4 numerando de izquierda a derecha (violeta) y circulación de 30mA en las pistas 3 y 4 en sentidos opuestos (rojo). . . . .	83
68.	Captura de pantalla del programa KLayout del diseño de la máscara. . . . .	85
69.	Observación en el microscopio de la máscara: (a) medición de los conductores y (b) medición de la distancia entre conductores. . . . .	85
70.	Imagen tomada de la máscara fabricada con el patrón diseñado. . . . .	86
71.	Primer diseño del porta-prototipo. Todas las dimensiones se expresan en milímetros. . . . .	87
72.	Fallas del primer porta-prototipo. (a) Vista superior. Se incluye una imagen tomada con cables colocados para que sea más fácil observar las fallas. (b) Vista inferior. Soporte del prototipo. . . . .	88
73.	Quinto diseño del porta-prototipo. Todas las dimensiones se expresan en milímetros. . . . .	89
74.	Diagrama ilustrativo de la forma de llevar acabo el proceso de transmisión del patrón de diseño a la oblea 1. . . . .	90
75.	Diagrama ilustrativo de la forma de llevar acabo el proceso de transmisión del patrón de diseño a la oblea 2. . . . .	90
76.	Imágenes tomadas dentro de la sala limpia del proceso de sputtering: (a) antes y (b) después. . . . .	91
77.	Imágenes tomadas dentro de la sala limpia de: (a) el envase de la fotoresina AZ 125nXT y (b) la colocación de la misma a una media oblea colocada en el spinner. . . . .	92
78.	Imágenes tomadas dentro de la sala limpia donde se observa la formación de burbujas desde el inicio con la utilización de la resina AZ 125nXT: (a) durante el proceso de spin coating y (b) durante el precocido en el hot plate. . . . .	92
79.	Imagen tomada dentro de la sala limpia durante la colocación de AZ 9260 sobre la seed layer. . . . .	93
80.	Imagen tomada dentro de la sala limpia del proceso de ataque químico a los metales. . . . .	94
81.	Imágenes tomadas por el microscopio óptico donde se observa el deterioro del prototipo 5: (a) zona superior y (b) zona inferior. . . . .	95
82.	Imagen tomada de los prototipos luego del ataque químico y remoción de la fotoresina. . . . .	96

---

83.	Imagen tomada donde se observa el levantamiento absoluto de los conductores luego del electroplating. . . . .	97
84.	Imágenes tomadas de: (a) el dicer en funcionamiento (b) oblea luego de ser cortada, aún con la capa adhesiva colocada. . . . .	98
85.	Ajuste de la intensidad de la fuente de luz para el estudio de interferometría con el perfilómetro óptico. El equipo consta con un software de visualización para facilitar este ajuste. En la imagen (a), se observa cómo la curva horizontal detecta los cambios de relieve que se busca estudiar. En la imagen (b), se muestra un ejemplo de cuando la intensidad de la luz es demasiado alta para realizar el estudio. . . . .	99
86.	Estudio de la superficie del prototipo mediante perfilometría óptica. . . . .	100
87.	Estudio de la superficie del prototipo mediante perfilometría óptica. . . . .	101
88.	Gráficos obtenidos con el analizador, se observa la diferencia en las pendientes dado que (a) corresponde a un meandro de 10m y (b) a un conductor paralelo. . . . .	102
89.	Gráficos obtenidos con el analizador al generar una diferencia de potencial variable entre -2V y 2V y detectando la corriente circulante por los mismos. Las figuras (a), (b) y (c) corresponden a distintos conductores del prototipo 6. Las figuras (d), (e) y (f) pertenecen al prototipo 8. . . . .	102
90.	Gráfico obtenido con el analizador al realizar un ensayo destructivo para determinar el límite de resistencia a la corriente eléctrica de los dispositivos. . . . .	103
91.	Imagen capturada con microscopio óptico del prototipo luego de realizar un ensayo destructivo con el analizador. . . . .	104
92.	Técnica de iluminación bidireccional: (a) vista de frente y (b) vista desde abajo. . . . .	105
93.	Imágenes de microscopía. (a) Con circulación de 39 mA por el cuarto conductor. (b) Luego de circular una corriente de 39 mA por el tercer conductor durante 2 minutos y medio. (c) Luego de circular una corriente de 39 mA por el segundo conductor durante 3 minutos y medio. . . . .	105
94.	Imágenes de microscopía. (a) NPM en suspensión antes de la circulación de corriente. (b) Luego de circular una corriente de 44 mA por el segundo conductor durante 2 minutos y medio. (c) Luego de circular una corriente de 44 mA por el cuarto conductor durante 3 minutos. (d) Luego de circular una corriente de 44 mA por el tercer conductor durante 2 minutos y medio. . . . .	106
95.	Posición de los recuadros utilizados para el procesamiento de las imágenes de la figura 93. . . . .	107
96.	Resultado de la aplicación del umbralizado de Otsu de la imagen correspondiente al recuadro medio de la figura 95 (c). Por un lado, (a) el histograma que indica la frecuencia de ocurrencia (número de píxeles) porcentual de cada intensidad de gris en la imagen original. Por otro lado, (b) el renderizado de la imagen original representada en 4 tonos de gris, cada uno correspondiente a uno de los intervalos delimitados por los umbrales. . . . .	108
97.	Binarización de los tres recuadros posicionados como se indica en la figura 95 sobre la figura 93 (c): (a) inferior, (b) medio y (c) superior. . . . .	108

---

98.	Imagen microscópica de un prototipo de una única espira. Figura tomada de la referencia [75].	119
99.	Esquemas de espiras: (a) doce espiras en serie, dispuestas en tres filas de cuatro unidades y (b) dos grupos independientes de tres espiras en serie cada uno. Figuras tomadas de la referencia [74]. . . . .	119
100.	Esquemas de meandros: (a) un solo conductor (b) dos conductores independientes. Figuras tomadas de la referencia [74]. . . . .	120
101.	Esquema de dos meandros superpuestos, eléctricamente independientes. Figura modificada, tomada de la referencia [1]. . . . .	121
102.	Figura tomada de la referencia [75]. A la izquierda, esquema representando la porción del prototipo que contiene a la matriz. Quedan representadas las dos capas de material aislante. A la derecha, imagen microscópica del prototipo resultante. . . . .	122
103.	Figura tomada de la referencia [76]. Ambas imágenes fueron tomadas al mismo prototipo mediante microscopía, con diferentes objetivos. A la izquierda, se muestra cómo el equipo diseñó el aumento progresivo del diámetro de los conductores para facilitar la conexión a una circulación de corriente. A la derecha, se muestra una ampliación de la región central. Notar que el aumento mediante el cual se obtuvo la izquierda es 5 órdenes de magnitud mayor que el de la derecha. . . . .	122
104.	Figura tomada de la referencia [75]. Las tres imágenes fueron tomadas durante el mismo experimento mediante microscopía. Demuestran cómo el dispositivo puede ser utilizado para transportar NPM de forma controlada en el plano horizontal. . . . .	123
105.	Imagen tomada mediante cámara externa a través de la lente del microscopio. . . . .	123
106.	Aglomeraciones de partículas de dimensiones comparables al ancho del conductor. Dicho ancho de es $100\ \mu\text{m}$ . . . . .	125
107.	Microorganismos suspendidos junto al conductor. Imagen tomada mediante cámara externa a través de la lente del microscopio. . . . .	125
108.	Esquema realizado en SolidWorks de la primer matriz de cable de bobina de $300\ \mu\text{m}$ construida.	126
109.	Imagen tomada mediante cámara externa a través de la lente del microscopio. . . . .	127
110.	Esquema realizado en SolidWorks de la segunda matriz construida con cables de red. . . . .	128
111.	NPM en suspensión: (a) antes y (b) después de la circulación de $0,6\ \text{A}$ de corriente. . . . .	129

## 8. Referencias

- [1] Liu C., Lagae L., Borghs H. *Manipulation of magnetic particles on chip by magnetophoretic actuation and dielectrophoretic levitation*. Applied Physics Letters 90, 184109 (2007).
- [2] Ehresmann A., Koch I., Holzinger D. *Manipulation of Superparamagnetic Beads on Patterned Exchange-Bias Layer Systems for Biosensing Applications*. Sensors 15, 28854-28888, 2015.
- [3] Kim K. S, Park J. et al. *Magnetic force-based multiplexed immunoassay using superparamagnetic nanoparticles in microfluidic channel*. The Royal Society of Chemistry, Lab Chip, 5, 657–664, 2005.
- [4] Yeonjeong H., Kim I., Huang Y. et al. *Recent Advances Incorporating Superparamagnetic Nanoparticles into Immunoassays*. ACS Applied Nano Materials. 1(2): 512–521, 2018.
- [5] Fereshteh S., Zarnani A. H., Ghods R. et al. *Conjugation of Monoclonal Antibodies to Super Paramagnetic Iron Oxide Nanoparticles for Detection of her2/neu Antigen on Breast Cancer Cell Lines*. Avicenna Journal of Medical Biotechnology, 27-31. 04, 2009.
- [6] Rocha-Santos T. A. *Sensors and biosensors based on magnetic nanoparticles*. Department of Chemistry & CESAM, University of Aveiro, Campus de Santiago, Aveiro 3810-193, Portugal, 2014.
- [7] Moyano A., Serrano-Pertierra E., Martínez-García J. et al. *Carbon-Coated Superparamagnetic Nanoflowers for Biosensors Based on Lateral Flow Immunoassays*. Biosensors, 10 (8), 80, 2020.
- [8] Yassine Slimani Y., Hannachi E. et al. *Magnetic nanosensors and their potential applications*. Nanosensors for Smart Cities, 143–155, 2020.
- [9] Gianantonio C., et. al. *The hemolytic-uremic syndrome*. The Journal of Pediatrics, 64(4), 478–491.j, 1964.
- [10] Gianantonio C. A. et al. *Acute renal failure in infancy and childhood*. The Journal of Pediatrics, 61(5), 660–678, 1962.
- [11] *Enfermedades transmitidas por alimentos. Ficha técnica N° 8: Síndrome urémico hemolítico*. Red Nacional de Protección de Alimentos y la ANMAT.
- [12] *Fact sheets: Escherichia Coli*. Organización Mundial de la Salud, 2018.
- [13] Monteverde M. *Guía de Atención Pediátrica 2014: Manejo del Síndrome Urémico Hemolítico*. Hospital de Pediatría Garrahan, 2014.
- [14] *Síndrome urémico hemolítico*. Inmunova, 2019.
- [15] Comité de Nefrología. *Día Nacional de la Lucha contra el Síndrome Urémico Hemolítico*. Sociedad Argentina de Pediatría, 2019.



- [16] Giovacchini C., Varela T., Buyayisqui M. P. et al. *Boletín Integrado de Vigilancia Ampliado*. Dirección Nacional de Epidemiología y Análisis de la Situación de Salud, Ministerio de Salud y Desarrollo Social, Presidencia de la Nación, N°477, SE 50/2019.
- [17] Agencia de Noticias de Ciencia y Tecnología (CyTA). *Los países desarrollados modernos basan su competitividad económica en el conocimiento*. Instituto Leloir, 2019.
- [18] Notario P. R., Fain B. J. C., Prado J. V. et al. *Prevalencia de Escherichia coli enterohemorrágico en una zona ganadera de Argentina. Caracterización genotípica de las cepas de origen animal* Revista Médica de Chile 128:1335-41, 2000.
- [19] Lopardo H. A. *Manual de microbiología clínica de la Asociación Argentina de Microbiología*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Asociación Argentina de Microbiología, Vol. 1, 2016.
- [20] Moloo A. *Neglected Tropical Diseases*, World Health Organization. Disponible en: [https://www.who.int/neglected\\_diseases/diseases/en/](https://www.who.int/neglected_diseases/diseases/en/) [Accedido 15 septiembre 2020]
- [21] Checcacci E. *Síndrome urémico hemolítico en la niñez*. The Canadian Journal of Pediatrics, 2(4): 347-352, 2003.
- [22] Martínez Montemayor S. *Materiales magnéticos puros, compuestos e híbridos* Centro de Investigación en Química Aplicada, Distrito Federal, México, 2006.
- [23] Zalich M. A. *Physical properties of magnetic macromolecule-metal and macromolecule-metal oxide nanoparticle complexes* Virginia Polytechnic Institute and State University, Virginia, U.S.A., 2005.
- [24] Brescia F., Mehlman S., Pellegrini F. C. et al. *Química* Ed. Interamericana, Distrito Federal, México, 1977.
- [25] Jiles D. *Introduction to Magnetism and Magnetic Materials* 2nd Edition. Ed. Chapman Hill, Iowa, U.S.A., 1998.
- [26] Toro Sánchez J. A. *Propiedades magnéticas tipo vidrio de espín en materiales aleados mecánicamente*. Departamento de Física Aplicada, Universidad de Castilla, La Mancha, 2001.
- [27] Gubin S. P. *Magnetic Nanoparticles*, Wiley-VCH, 1<sup>st</sup> edition, chapter 6, 2009.
- [28] Benítez P. *Materiales superparamagnéticos*. Universidad de Fermín Toro. Facultad de Ingeniería, 2019.
- [29] Lavorato G. C. *Nanopartículas magnéticas multicomponentes: Diseño, fabricación y propiedades*. Tesis de Carrera de Doctorado en Ingeniería, Instituto Balseiro, CNEA, 2016.
- [30] Márquez G. J. *Hipertermia mediante nanopartículas magnéticas*. Jornadas del Postgrado en Física de la Materia Condensada, 2015.

- [31] Stoner E. C., Wohlfarth E. *A mechanism of magnetic hysteresis in heterogeneous alloys*. Philosophical Transactions of the Royal Society A, 240 (826), 599-642, 1948.
- [32] Koo N. K., Ismail A. F., Othman M. H. D., et. al. *Preparation and characterization of superparamagnetic magnetite ( $Fe_3O_4$ ) nanoparticles: A short review*. Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences, 15(1), 23-31, 2019.
- [33] Balamurugan B. *Prospects for nanoparticle-based permanent magnets*. Scr. Mater., 67 (6), 542-547, 2012.
- [34] Pankhurst Q., Thanh N., Jones S. et al. *Progress in applications of magnetic nanoparticles in biomedicine*. Journal of Physics D: Applied Physics, 42 (22), 224001, 2009.
- [35] Zhang J. L., Srivastava R. S., Misra R. D. K. *Core-shell magnetite nanoparticles surface encapsulated with smart stimuli-responsive polymer: Synthesis, characterization, and test of viable drug-targeting delivery system*. Langmuir, 23(11), 6342-6351, 2007.
- [36] Laurent S., Dutz S., Hafeli U. O. et al. *Magnetic fluid hyperthermia: Focus on superparamagnetic iron oxide nanoparticles*. Advances in Colloid and Interface Science, 166(1-2), 8-23, 2011.
- [37] Tietze R., Lyer S., Duerr S. et al. *Nanoparticles for cancer therapy using magnetic forces*. Nanomedicine, 7(3), 447-457, 2012.
- [38] Charinpanitkul T., Faungnawakij K. *Review of Recent Research on Nanoparticle Production in Thailand*. Advanced Powder Technology, 19(5), 443-457, 2008.
- [39] Serway R. A., Jewett J. W. J. *Física: Electricidad y Magnetismo*. CENGAGE Learning, novena edición, Capítulo 8: Fuentes del campo magnético, 2016.
- [40] Incropera F. P., Dewitt D. P., Bergman T. L et al. *Fundamentals of heat and mass transfer*. John Wiley & Sons, sexta edición, Capítulo 2: Introducción a la conducción, 2007.
- [41] Kim S. T., Saha K., Kim C. et al. *The Role of Surface Functionality in Determining Nanoparticle Cytotoxicity*. Accounts of Chemical Research, 46(3), 681-691, 2013.
- [42] Tsekenis G., Vanikioti V., Kordatos K. et al. *Apta- and Immuno-Sensors Performance Optimization: A Comparative Study of Surface Functionalization Techniques*. Proceedings, vol. 2, 847, 2018.
- [43] Tan Y. K. et. al. *A Nanoengineering Approach for Investigation and Regulation of Protein Immobilization*.
- [44] Lomonte B. *Bases moleculares del reconocimiento de los antígenos*. Acta pediátrica costarricense. Vol. 3, n. 2, 1999.

- [45] Sotnikov D. V., ZherdevOrcID A. V., Dzantiev B. B. *Development and Application of a Label-Free Fluorescence Method for Determining the Composition of Gold Nanoparticle-Protein Conjugates*. International Journal of Molecular Sciences, 16(1), 907-923, 2015.
- [46] Saha B., Evers T. H., Prins M. *How Antibody Surface Coverage on Nanoparticles Determines the Activity and Kinetics of Antigen Capturing for Biosensing*. Analytical Chemistry, 86(16), 2014.
- [47] Gupta S., Ramesh K., Ahmed S. et al. *Lab-on-Chip Technology: A Review on Design Trends and Future Scope in Biomedical Applications*. International Journal of Bio-Science and Bio-Technology, 8(5), 311-322, 2016.
- [48] Daw R., Finkelstein J. *Nature Insight: Lab on a Chip*. Nature, Vol 442, Issue no. 7101, 2006.
- [49] Whitesides G. M. *The origins and the future of microfluidics*. Nature, 442, p. 368-373, 2006.
- [50] Janasek D., Franzke J., Manz A. *Scaling and the design of miniaturized chemical-analysis systems*. Nature 442, p. 374-380, 2006.
- [51] Liu Y., Jiang X. *Why microfluidics? Merits and trends in chemical synthesis*. Lab on a Chip, 17(23), 3960-3978, 2017.
- [52] Cui P., Wang S. *Applications of microfluidic chip technology in pharmaceutical analysis: A review*. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2018.
- [53] Jung W., Han J., Choi J.-W. et al. *Point-of-care testing (POCT) diagnostic systems using microfluidic lab-on-a-chip technologies*, Microelectronic Engineering Journal, Vol. 132, p. 46-57, 2015.
- [54] Clark T.J., McPherson P. H., Buechler K. F. *The Triage Cardiac Panel*, Point of Care, vol. 1, p. 42-46, 2002.
- [55] *Introduction to a finite element analysis program: ANSYS*. KTH Solid Mechanics, Suecia, 2015.
- [56] *Lecture 9: Best practice guidelines for ANSYS*. KTH Solid Mechanics, Suecia, 2015.
- [57] Köfferlein M. *KLayout: Free Open Source Software for HW design*. KLayout Organization, 2018.
- [58] *Clasificación de las salas limpias*. SHIELD Scientific: Compliance, Comfort, Protection. 2020.
- [59] Giraldo Ramírez R. J. *Diseño, construcción y certificación de salas limpias en la industria farmacéutica*. Korval Products & Services.
- [60] Fasciszewski A. *Microfabricación: Facilidades experimentales en el Centro Atómico Constituyentes*. Departamento de Micro y Nanotecnología, CAC, CNEA.

- [61] Fascieszewski A., Pierpauli K. *Alineador de Máscaras EVG 620*. Departamento de Micro y Nanotecnología, CAC, CNEA.
- [62] Prusa Research by Josef Prusa, 2020. *Material Guide* [Online]. Disponible: <https://www.prusa3d.com/material-guides/> [Accedido 24 octubre 2020].
- [63] Center of Micronanotechnology, 2010. *Interferometry Basics* [Online]. Disponible: [https://cmi.epfl.ch/metrology/files/Wyko/Interferometry\\_Basics.pdf](https://cmi.epfl.ch/metrology/files/Wyko/Interferometry_Basics.pdf) [Accedido 21 octubre 2020].
- [64] Center of Micronanotechnology, 2010. *Manual para el perfilómetro óptico Veeco Wyko NT1100* [Online]. Disponible: [https://cmi.epfl.ch/metrology/Wyko\\_NT1100.php](https://cmi.epfl.ch/metrology/Wyko_NT1100.php) [Accedido 18 enero 2020].
- [65] Leica Microsystems, 2020. *Upright Materials Microscope Leica DM2700 M* [Online]. Disponible: <https://www.leica-microsystems.com/products/light-microscopes/p/leica-dm2700-m/> [Accedido 18 octubre 2020].
- [66] Welsch U., Sobotta J. *Histología*. Editorial Médica Panamericana. ISBN 9788498351781, 2018.
- [67] Solartron, 1987. *1260 Impedance/Gain-Phase Operations Manual* [Online]. Disponible: <http://bee.mif.pg.gda.pl/ciasteczkowypotwor/Solartron/SOLARTRON%201260%20operations%20Manual.pdf> [Accedido 24 octubre 2020].
- [68] Gonzalez R. C., Woods R. E. *Thresholding*. In *Digital Image Processing*. Pearson Education. ISBN 81-7808-629-8, 2002.
- [69] Dougherty G. *Digital Image Processing for Medical Applications*. California State University, Channel Islands. Cambridge University Press. ISBN 978-0-521-86085-7, 2009.
- [70] Umbaugh S. E. *Digital Image Processing and Analysis*. CRC Press. ISBN 978-1-4987-6602-9, pp 93–96, 2018.
- [71] Banon G. J. F., Barrera J., Braga-Neto U. M. *Mathematical Morphology and its Applications to Signal and Image Processing*. Proceedings of the 8th international symposium on mathematical morphology (ISMM'07). ISBN 978-85-17-00032-4, 2007.
- [72] Yang P., et. al. *GSWO: A programming model for GPU-enabled parallelization of sliding window operations in image processing*. Signal Processing: Image Communication. Vol. 47, p. 332-345, 2016.
- [73] Grob D., Wise N., Oduwole O. et al. *Magnetic Susceptibility Characterisation of Superparamagnetic Microspheres*. Journal of Magnetism and Magnetic Materials 452, 134-140, 2018.
- [74] Ramadan Q., Samper V., Poenar D. et al. *Evaluation of current-carrying wires for manipulation of magnetic micro/nanoparticles for biomedical applications* International Journal of Nanoscience. Vol. 4, No. 4, 489-499, 2005.

- [75] Lee C. S., Lee H., Westervelt R. M. *Microelectromagnets for the control of magnetic nanoparticles*. Applied Physics Letters 79, 3308, 2001.
- [76] Lee H., Purdon A. M., Chu V. et al. *Controlled Assembly of Magnetic Nanoparticles from Magnetotactic Bacteria using Microelectromagnets Arrays*. Nanoletters Vol 4 No 5, 2004.
- [77] Krishnan S., Mani V., Wasalathanthri D. et al. *Attomolar Detection of a Cancer Biomarker Protein in Serum by Surface Plasmon Resonance Using Superparamagnetic Particle Labels*. Angew. Chem. Int. Ed. 50, 1175–1178, 2011.
- [78] Wang J., Zanzan Z., Munir A. et al. *Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles-enhanced SPR sensing for ultrasensitive sandwich bio-assay*. Talanta, Volume 84, Issue 3, 783-788, 2011.
- [79] Mak A. C., Osterfeld S., Yu H. et al. *Sensitive giant magnetoresistive-based immunoassay for multiplex mycotoxin detection*. Biosensors and Bioelectronics, Volume 25, Issue 7, 1635-1639, 2010.
- [80] Kim D., Marchetti F., Chen Z. et al. *Nanosensor dosimetry of mouse blood proteins after exposure to ionizing radiation*. Scientific Reports volume 3, Article number: 2234, 2013.
- [81] Wang Y., Dostalek J., Knoll W. et al. *Magnetic Nanoparticle-Enhanced Biosensor Based on Grating-Coupled Surface Plasmon Resonance*. Anal. Chem. 2011, 83, 16, 6202–6207, 2011.
- [82] Xu K. et al. *Global Spending on Health: A World in Transition*. World Health Organization, 2019.
- [83] *Capítulo 14: Instalaciones Eléctricas*, anexo VI correspondiente a los arts. 95 a 102 de la reglamentación aprobada por decreto 351/79. Publicado por el Ente Nacional Regulador de la Electricidad (ENRE) del gobierno argentino. Disponible en: <https://www.enre.gov.ar/web/bibliotd.nsf/58d19f48e1cdebd503256759004e862f/fb674409a000bfa1032569a6006f264b?OpenDocument> [Accedido 25 octubre 2020].
- [84] MERCOSUR/GMC/RES. N° 40/00. *Reglamento Técnico Mercosur de Registro de Productos Médicos*. Disponible: [http://www.anmat.gov.ar/webanmat/mercosur/ACTA01-14/AGREGADO\\_XV/UNIO3\\_ES\\_DT\\_%E2%80%9CReglamento\\_T%C3%A9cnico\\_Mercosur\\_de\\_registro\\_de\\_Productos\\_M%C3%A9dicos.pdf](http://www.anmat.gov.ar/webanmat/mercosur/ACTA01-14/AGREGADO_XV/UNIO3_ES_DT_%E2%80%9CReglamento_T%C3%A9cnico_Mercosur_de_registro_de_Productos_M%C3%A9dicos.pdf) [Accedido 20 octubre 2020].