

# PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE ESCUELA DE INGENIERIA

# CARACTERIZACIÓN EXPERIMENTAL Y NUMÉRICA DE FLUJOS ELECTRO CINÉTICOS PARA EL MEZCLADO DE FLUJO POR INESTABILIDAD ELECTROCINETICA (EKI) Y DETECCIÓN DE PARTÍCULAS POR ISOTACOFORESIS (ITP)

### **DAMING CHEN**

Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias de la Ingeniería

**Profesor Supervisor:** 

**JORGE RAMOS GREZ** 

Santiago de Chile, (junio, 2022)

© 2022, Daming Chen



# PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DE CHILE ESCUELA DE INGENIERIA

# CARACTERIZACIÓN EXPERIMENTAL Y NUMÉRICA DE FLUJOS ELECTRO CINÉTICOS PARA EL MEZCLADO DE FLUJO POR INESTABILIDAD ELECTROCINETICA (EKI) Y DETECCIÓN DE PARTÍCULAS POR ISOTACOFORESIS (ITP)

### **DAMING CHEN**

Tesis presentada a la Comisión integrada por los profesores:

**JORGE RAMOS** 

FRANCISCO SUÁREZ

MARITZA PÁEZ

MARIA LUISA CORDERO

MIHIR SEN

JUAN DE DIOS ORTÚZAR

Para completar las exigencias del grado de

Doctor en Ciencias de la Ingeniería

Santiago de Chile, junio de 2022

A mis Padres, hermanos, amigos, familia y seres queridos que me apoyaron durante todo el tiempo.

A Gustavo Puga, compañero y amigo de doctorado en PUC, quien falleció durante 2020 debido al Covid-19. Q. E.P. D.

### **AGRADECIMIENTOS**

Quiero expresar mi profundo agradecimiento por aquellos que me apoyaron y estuvieron a mi lado en esta etapa de mi vida. Al profesor Amador Guzmán, quien me motivó e iluminó para la realización de este proyecto. A los compañeros y al grupo de investigación, por compartir todas las victorias y fracasos durante esta aventura. Al profesor Jorge Ramos, por brindarme todo el apoyo necesario durante el último tramo de esta travesía. También quiero agradecer al profesor Moran Bercovici y su grupo de investigadores y profesionales (Vesna, Evgeniy, Israel, Valeri y Ran) de Microfluidics Technologies Laboratory, Technion – Israel Institute of Technology, por su cariñosa y cálida acogida durante mi estadía en su laboratorio.

Agradecer también el apoyo por parte del cuerpo académico y funcionarios del departamento de Ingeniería Mecánica y Metalúrgica de la Pontificia Universidad Católica de Chile, por su apoyo y ayuda recibidos durante mi estadía de doctorado, por la cálida acogida por parte de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

Por último, agradecer el apoyo económico recibido a través de la Beca Doctorado Nacional ANID/exCONICYT N° 21171562.

### ÍNDICE GENERAL.

			Pág.
AGRA	DECIM	IENTOSi	ii
ÍNDICI	E GENE	ERALi	V
ÍNDICI	E DE FI	GURAv	ii
ÍNDICI	E DE TA	ABLAvi	ii
RESUN	ИЕN	i	X
ABSTR	RACT		X
NOME	ZCLAT	URA	ti
1.	INTRO 1.1 1.2 1.3	DDUCCIÓN ESTADO DEL ARTE	2 9 9 9
2.	MARC 2.1 2.2 2.3	FLUJO ELECTROCINÉTICO	2

3.	ESTU	JDIO Y CARACTERIZACIÓN DE INESTABILIDAD DE FLUJO15				
	3.1	ESTADO DEL ARTE EN EL ESTUDIO DE EKI15				
	3.2	HIPÓTESIS DEL CONTINUO PARA ESTUDIO Y CARATERIZACIÓN				
		DE LA MICROFLUÍDICA18				
	3.3	ECUACIÓN GOBERNANTE DE EKI19				
	3.4	VERIFICACIÓN DEL NÚMERO ADIMENSIONAL PROPUESTO22				
		3.4.1 Caracterización de los electrolitos				
	3.5	ENSAYO EXPERIMENTAL DE EKI29				
		3.5.1 Análisis de resultado experimental				
	3.6	SIMULACIÓN NUMÉRICA DE EKI34				
	3.7	RESULTADO NUMÉRICO37				
		3.7.1 Validación de la simulación				
		3.7.2 Diseño de micromezclador basado en el número γ				
		3.7.3 Análisis de resultados				
	3.8	CONCLUSIÓN PRELIMINAR51				
4.	ESTU	ESTUDIO Y CARATERIZACIÓN DE ISOTACOFORESIS52				
	4.1	ESTADO DEL ARTE52				
	4.2	ECUACIÓN GOBERNANTE DE ITP54				
	4.3	ESTUDIO DEL PROCESO DE SEPARACIÓN POR ITP55				
		4.3.1 Preparación de la solución a ensayar56				
		4.3.2 Caracterización de la solución a ensayar57				
	4.4	SIMULACIÓN NUMÉRICA DE ITP59				
		4.4.1 Validación de la solución numérica				
		4.4.2 Caracterización de ITP para separación y concentración64				
		4.4.3 Diseño de una metodología de detección por ITP67				
		4.4.4 Análisis de resultados, preconcentración y detección por ITP 69				
	4.5	CONCLUSIÓN PRELIMINAR72				
5.	CON	CLUSIÓN FINAL73				
٠.	2011					
6.	į į́NID	A DE TRABAJO E INVESTIGACIÓN FUTURA75				
υ.	LINE	A DE TRADAJO E INVESTIGACIÓN FUTURA/3				

REFERENCIAS	

### ÍNDICE DE FIGURA

Figura 2.1. Esquema de EDL para una densidad de carga superficial negativa	11
Figura 2.2. Esquema de flujos electroósmosis y electroforesis.	13
Figura 2.3. Esquema de perfil de velocidad para EOF.	14
Figura 3.1. Conductividad eléctrica a diferente temperatura.	24
Figura 3.2. Gráfico de esfuerzo de corte versus tasa de deformación	25
Figura 3.3. Gráfico de la viscosidad dinámica de los electrolitos	26
Figura 3.4. Resultados experimentales de potencial zeta	28
Figura 3.5. Esquema del microcanal X3550 y la ubicación de sus 4 reservorios.	29
Figura 3.6. Esquema experimental para la generación de EKI en el microcanal X3550	30
Figura 3.7. Resultados experimentales de diferentes patrones de flujos	31
Figura 3.8. Dominio computacional del microcanal modelo X3550 para el estudio de EKI	35
Figura 3.9 Simplificación de EDL en la simulación computacional.	36
Figura 3.10. Resultados numéricos del modelo propuesto para la predicción de EKI	39
Figura 3.11. Resultados numéricos estudio de condición de borde para EKI	40
<b>Figura 3.12.</b> Gráfico resumen comparación número $\gamma$ reportados por autores y propios	42
<b>Figura 3.13.</b> Gráfico comparación número γ versus relación con campo eléctrico	43
Figura 3.14. Dominio computacional del micromezclador propuesto.	45
Figura 3.15. Distribución de los puntos de muestreos para el estudio de la calidad de mezclado	o47
<b>Figura 3.16.</b> Evolución temporal de $\theta$ para diferentes $\gamma$ estudiados	47
Figura 3.17. Perfil de concentración normalizada en dirección Y.	49
Figura 4.1 Esquema ilustrativo del proceso de separación por ITP.	53
Figura 4.2 Soluciones de TiO <sub>2</sub> preparadas y caracterizadas para el estudio de ITP	56
Figura 4.3 Resultados experimentales de viscosidad dinámica de las muestras de NPF	57
Figura 4.4 Dominio computacional de un microcanal recto para estudio del proceso de ITP	59
Figura 4.5 Secuencia del proceso ITP separación de dos proteínas artificiales	62
Figura 4.6 Resultados numéricos y experimentales de ITP con el modelo propuesto	63
Figura 4.7 Resultados numéricos del estudio de parámetros para el diseño del proceso ITP	67
Figura 4.9. Resultados numéricos de la curva de conductividad eléctrica	69
Figura 4.10 Resultados numéricos del proceso de separación de TiO <sub>2</sub> .	70
Figura 4.11 Resultados numéricos de la conductividad eléctrica en zona electroforética	71

### ÍNDICE DE TABLA

Tabla 3.1. Cuadro de resumen, diferentes criterios para EKI reportados e investigados	17
Tabla 3.2. Modelo numérico de EKI adimensional.	20
Tabla 3.3. Condición de ocurrencia de EKI.	22
Tabla 3.4. Modelo de potencial zeta obtenido por ajuste de regresión.	28
<b>Tabla 3.5.</b> Valores de $\gamma$ experimentales para estudio de $\gamma$ umbral en microcanal $X3550$	32
<b>Tabla 3.6.</b> Comparación de número $\gamma$ estudios investigados y reportados previamente	33
Tabla 3.7. Condición de borde del dominio computacional para la simulación de EKI	35
Tabla 3.8. Error relativo para estudio de convergencia de los resultados.	38
<b>Tabla 3.9.</b> Comparación resultados experimentales y numéricos de número $\gamma$ .	41
<b>Tabla 3.10.</b> Comparación de resultados número γ, y <i>Rae</i>	44
<b>Tabla 3.11.</b> Resultados del estudio de escalamiento usando $\gamma$	44
<b>Tabla 3.12.</b> Dimensiones del micro – mezclador propuesto, resultado del escalamiento con $\gamma$ .	45
<b>Tabla 3.13.</b> Cuadro de resumen de índice de mezclado según el número γ.	49
Tabla 4.1. Movilidad electroforética de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> en solución de 1 wt%	58
Tabla 4.2. Movilidad electroforética de nanopartículas de TiO <sub>2</sub> en solución de 3 wt%	58
Tabla 4.3. Condición de borde del dominio computacional para la simulación de ITP	60
Tabla 4.4. Cuadro de resumen de los parámetros para cada especie usado en la simulación	61
Tabla 4.5. Error relativo para estudio de convergencia de los resultados.	62
Tabla 4.6. Cuadro de resumen de los parámetros para cada especie usado en la simulación	68

### RESUMEN

La tecnología de los procesos de análisis y detección químicos y bioquímicos se está impulsando diariamente hacia la micro y nano escala, motivada principalmente para obtener resultados más rápidos y con el menor costo posible, para un proceso de diagnóstico más eficiente. El flujo electro - osmótico con efectos electrocinéticos es el método principal de manipulación de fluidos en dispositivos de análisis a microescala (laboratorio en un chip). Estos dispositivos microelectrocinéticos logran una funcionalidad innovadora mediante la aplicación de campos eléctricos externos en diversas aplicaciones de microfluidos, como inyección, separación, mezcla, análisis químico y bioquímico y detección de muestras. Este proyecto de tesis se centra en el estudio y caracterización de dos fenómenos electrocinéticos, la inestabilidad del flujo electrocinético (EKI) y el flujo de isotacoforesis (ITP), con aplicación a microescala. En el estudio se resolvió un conjunto de ecuaciones de leyes de conservación que incluyen: especies, momento y conservación de la corriente eléctrica. Debido a la naturaleza altamente no lineal de los problemas de ITP y EKI, el conjunto de ecuaciones completamente acopladas se resolvió bajo el esquema de discretización de elementos finitos de alto orden en un dominio computacional bidimensional para comprender mejor el mecanismo primario y el comportamiento de la electrocinética.

Adicionalmente, se estudiaron y caracterizaron experimentalmente los fenómenos electrocinéticos para validar el modelo numérico y describir las propiedades fundamentales del fenómeno, como la viscosidad, el potencial zeta y la movilidad electroforética de la especie. Los resultados y aportes más destacados de este estudio son: se ha podido desarrollar y validar empleando resultados experimentales y numéricos el número gamma (γ), como parámetro para predecir la ocurrencia del EKI. Y en base a este número, fue posible diseñar un micro – mezclador, optimizando el proceso de mezclado obteniendo una mezcla que alcanza el 76% de homogeneidad en tan solo 5 segundos. Por otro lado, fue posible diseñar y simular un método para separar y detectar nanopartículas de TiO<sub>2</sub> utilizando un microcanal. Cuyo tiempo de respuesta es cercano a los 3 minutos, lo que significa una reducción del 20% en los procesos de separación capilar. Finalmente, como propuesta de investigación futura, se pretende ampliar una nueva línea de investigación basada en los resultados de la investigación actual para desarrollar un micro dispositivo para la detección de otro tipo de partículas metálicas o no metálicas.

Palabras Claves: Inestabilidad de flujo electrocinético, Isotacoforesis, Micro canal, Lab on a-chip, Potencial Zeta.

### **ABSTRACT**

The chemical and biochemical analysis and detection processes technology is being pushed daily towards the micro and nanoscale, mainly motivated to obtain results almost instantaneously and with the lowest possible cost. Electroosmotic flow with electrokinetic effects is the primary method of fluid manipulation in microscale analysis devices (Lab on a-chip). These micro electrokinetic devices achieve innovative functionality through applied external electric fields in various microfluidic applications, such as sample injection, separation, mixing, chemical and biochemical analysis, and detection. This thesis project focuses on studying and characterizing two electrokinetics phenomena, the electrokinetic flow instability (EKI) and isotachophoresis flow (ITP), with microscale application. A set of conservative law equations that include: the species, the momentum, and the electric current conservation were solved in the study. Due to the highly non-linear nature of the ITP and EKI problems, the set of fully coupled equations were solved under the high-order finite element discretization scheme into a two-dimensional computational domain to understand better the primary mechanism and behavior of the electrokinetic phenomena.

Additionally, the electrokinetic phenomena were studied and characterized experimentally to validate the numerical model and describe the phenomenon's fundamental properties, such as the viscosity, the Zeta potential, and the electrophoretic mobility of the species. This study's most outstanding results and contribution are: it has been possible to develop and validate employing experimental and numerical results the gamma number (γ), as a parameter to predict the occurrence of EKI. And based on this number, it was possible to design a micromixer, optimizing the mixing process obtaining a mix that reaches 76% homogeneity in 5 seconds. On the other hand, it was possible to design and simulate a method for separating and detecting TiO<sub>2</sub> nanoparticles utilizing a microchannel. Whose response time is close to 3 minutes, which means a reduction of 20% concerning capillary separation processes. Finally, as a future research proposal, it is intended to extend a new investigation line based on the current investigation results to develop a microdevice to detect other types of metallic or non-metallic particles.

Keywords: Electrokinetic Instability, Isotachophoresis, Micro-mixer, Microchannel, Lab on a-chip, Zeta potential.

### NOMEZCLATURA

$ ho_e$	Densidad de corriente, $Coulomb/m^2 \cdot s^{-1}$	Т	Temperatura, K.
ζ	Potencial zeta, mV.	ρ	Densidad del fluido, Kg/m <sup>3</sup> .
С	Concentración de la especie, mM.	p	Presión, Pa.
t	Tiempo, s.	$\mu_{\mathbf{f}}$	Viscosidad dinámica, Pa·s.
$D_{ m eff}$	Coeficiente de difusividad efectiva, $m^2/s$ .	$ ho_f$	Densidad de carga libre, C/m <sup>3</sup>
v	Velocidad de flujo, m/s	ф	Potencial eléctrico, V
$\eta_{ m elec}$	Movilidad electroforética, $m^2/V\cdot s^{-1}.$	J	Corriente eléctrica, A
φ	Potencial eléctrico Interno, V.	$\sigma_{H},$ $\sigma_{L}$	Conductividad eléctrica, μS/cm
E	Campo eléctrico, V/m.	$\epsilon_0$	Constante de permitividad del vacío, $\label{eq:constante} \text{C/V} \cdot \text{m}^{-1}$
z	Valencia	$\epsilon_{\rm r}$	Constante dieléctrica del medio
F	Constante de Faraday, Coulomb/mol	$u_{eof}$	Velocidad flujo electro-osmótico, m/s
R	Constante universal de los gases, $ \text{Joule/mol} \cdot \text{K}^{-1} $	u <sub>elec</sub>	Velocidad electroforética, m/s
L	Largo total del microcanal, m	Н	Ancho del microcanal, μm

### 1. INTRODUCCIÓN.

En la última década se ha intensificado el interés por el estudio y diseño de dispositivos a nano y microescala, cuyos tamaños se encuentran en el orden de magnitud  $10^{-6} \sim 10^{-9}$  m. Estos dispositivos pueden ser fabricados de diversos materiales como, por ejemplo, cerámicos, polímeros, metales, entre otros. Las micro y nanotecnologías han proporcionado las herramientas necesarias para llevar a cabo esta innovación, al permitir la fabricación e integración de micro/nanobiosensores, microcanales, micro actuadores en un mismo chip. Una interesante aplicación de estos elementos fabricados a nivel de microescala es en "ciencias de la vida", bajo el concepto de "lab on a chip" (laboratorio en un chip) (Stone, Stroock, and Ajdari 2004). Este concepto describe el desarrollo de plataformas integradas y miniaturizadas, en donde tienen lugar complejos procesos de laboratorio. Algunas de las características favorables de estos dispositivos son su alta relación área/volumen de trabajo; su uso permite la integración de múltiples procesos de laboratorio en un área mínima de trabajo, reduciendo el tiempo de análisis y volúmenes de muestras necesarias, con un alto grado de automatización y portabilidad, aumentando significativamente la eficiencia del proceso de análisis de muestra, disminuyendo el costo y el tiempo de análisis (Smejkal et al. 2013; Lee et al. 2011).

Los estudios y desarrollos de mayor interés en estos micro dispositivos se encuentran en el transporte, mezcla y separación de muestras que contienen partículas biológicas y orgánicas, tales como: bacterias, virus, moléculas y metales pesados para diversas áreas de la industria (Kvasnicka 2000) y en el área de la salud para la selección y purificación de ADN (Rogacs, Marshall, and Santiago 2014), entre muchas otras (Hjalmarsson and Everaerts 1981). Dada la complejidad por el tamaño del microcanal, una forma eficiente de impulsar el fluido dentro de ella es mediante la aplicación de un campo eléctrico por medio de un diferencial de potencial eléctrico, fenomenología conocida como flujo electrocinético (Hsu et al. 2016). Una ventaja de este modo de impulsión de líquido es que no se requiere de una bomba externa para la impulsión del fluido, evitando así la ruptura o falla del microcanal por una posible sobrepresión y/o esfuerzo sobre los materiales. Una de las

aplicaciones más interesantes y prometedoras de la electrocinética en microcanales es la detección temprana de muestras; en ella, la mayor dificultad radica en obtener una mezcla homogénea para mejorar la reacción, obtener una concentración mínima posible de detectar y/o la aislación del componente objetivo dentro de una muestra contaminada con presencia de múltiples especies, como suele ser el caso de fluidos biológicos o fluidos altamente contaminados.

### 1.1 ESTADO DEL ARTE.

"Lab on a chip" es la tecnología para el desarrollo de plataformas integradas y miniaturizadas, que se está constituyendo como una tecnología revolucionaria en el sector de la detección de partículas y de diagnóstico. Estos chips, compuestos de microcanales, constituyen un completo laboratorio que puede llevar a cabo complejos procesos que involucran reacciones químicas y biológicas, permitiendo así la fabricación de micro/nano sensores, micro actuadores y microcanales dentro de un mismo dispositivo. La ventaja que aportan estos tipos de dispositivos es la rapidez en la detección y análisis, un consumo reducido de muestra y recurso, lo que se traduce en un diagnóstico más rápido y a menor costo en reemplazo de los costosos y lentos análisis de laboratorio tradicionales.

En la última década, el interés en el estudio de flujo electrocinético en los dispositivos "lab on a chip", se ha perfilado como un área emergente y de gran interés. Una de las muchas aplicaciones es un micromezclador compuesto de un microcanal con dos o más entradas y una salida de líquidos (Chen et al. 2005), (Jain & Nandakumar 2013). Este micromezclador utiliza electrolitos como sustancia de trabajo y es impulsado a través del microcanal por un campo eléctrico. En sus estudios señalan que la calidad de la mezcla a la salida del microcanal se vio sustancialmente mejorada producto de unas inestabilidades de flujo producidas en las interfaces de los fluidos. El fenómeno particular, conocido como inestabilidad en flujo electrocinético (EKI de su sigla en inglés, Electro Kinetic Instability), ocurre cuando el sistema alcanza cierto valor crítico y como resultado produce una inestabilidad de flujo de tipo oscilatorio. En un sistema de micro fluido, cuyo flujo posee

números de Reynolds que difícilmente superan un valor de 100, debido a la ausencia de la turbulencia, el proceso de mezclado se basa únicamente en la difusión molecular (Graveson et al. 1993).

Dado el carácter laminar del flujo, diversas investigaciones proponen introducir de forma artificial patrones de flujo para ayudar a mejorar la eficiencia del mezclado. Existen diferentes métodos para inducir la mezcla a microescala. Una alternativa es la reestructuración de flujo mediante perturbaciones físicas dentro del canal, como por ejemplo, la modificación en la entrada o crear la rotación de flujo introduciendo división del canal (Lee et al. 2016). Otra forma es la introducción de perturbaciones en el flujo mediante una fuente externa de energía, como es el caso de la inestabilidad electrocinética (Oddy et al. 2001). Este fenómeno es propuesto ampliamente en investigaciones previas como mecanismo para mejorar el proceso de mezclado (Lee et al. 2011, 2016; X. Chen and Li 2017). Hasta la fecha, diversos estudios revelan que las perturbaciones o inestabilidades en el flujo producto de la electrocinética, logran mejorar la tasa del mezclado.

Lettieri et al. (2000) propusieron el uso del efecto electrocinético para perturbar el flujo en un micromezclador impulsado por presión. En ella, el flujo electro-osmótico oscilante dentro de la cámara de mezcla causado por un voltaje de corriente alterna (CA), se vuelve inestable, mejorando la calidad de la mezcla (Hessel, Löwe, and Schönfeld 2005). Tang et al. (2002) suministraron voltaje de forma intermitente (frecuencia entre 0.01 Hz y 1 Hz), logrando generar segmentos de flujo en el canal de mezcla. Este esquema de modulación de voltaje fue capaz de inyectar segmentos de flujo con fluctuaciones de forma intermitente dentro del microcanal, mejorando la tasa de mezclado. Dentro de los estudios investigados, existen diversas posturas o visiones para la caracterización de la ocurrencia de EKI. Luo (2009), Li, Delorme and Frankel (2016) y Yarn et al. (2009) emplearon el criterio del potencial o campo eléctrico aplicado como el parámetro de control del EKI. Por otra parte, Storey (2005) y Posner and Santiago (2006) postulan el concepto de número de Rayleigh eléctrico, en el cual, por medio de simplificaciones tales como valor de potencial zeta constante, electrolito monovalente y binario, describen el comportamiento de EKI para un

microcanal cruzado no simétrico. Sin embargo, a pesar de las diferencias de criterio, todos afirman que el control de EKI permite mejorar y acelerar el proceso de mezclado de soluciones dentro del microcanal.

Por otra parte, el proceso de isotacoforesis (ITP, de su sigla en inglés, Iso Tacho Phoresis) permite la separación y agrupación de múltiples especies presentes dentro de una muestra bajo diferentes estratos o zonas de igual velocidad, las cuales son clasificadas en función de la movilidad electroforética de cada especie, método desarrollado en la década de los 70s, principalmente por la NASA para su tercera misión de Skylab, el cual demostró ser un método mucho más efectivo que la separación por electrocapilaridad (CZE), dado que la muestra ensayada no sufrió un calentamiento por efecto Joule (Smejkal et al. 2013). El trabajo inicial con chips fabricados en polimetilmetacrilato (PMMA) capaces de ITP, fue publicado por Kaniansky et al. (2000). En su trabajo, los canales originales fueron optimizados por canales rectos para evitar el atrapamiento de burbujas formadas por electrólisis. Si bien con el nuevo diseño se logró con éxito la separación de ácidos orgánicos, el tiempo de análisis resultó más largo de lo esperado. Huang et al. (2005) desarrollaron un chip de vidrio con microcanal para la separación y detección de cuatros proteínas marcadas con fluorescencia, utilizando el proceso de ITP; en su estudio establecen que los microcanales debieron ser cubiertos con poliacrilamida para evitar el efecto de EOF.

Un año más tarde, Liu et al. (2006) realizaron un aporte crucial; con un chip similar lograron la genotipificación del virus de la hepatitis B mediante la técnica de ITP. Estos resultados se compararon favorablemente con los resultados obtenidos a partir del método convencional (Smejkal et al. 2013). Posteriormente, Jung et al. (2006) lograron pre concentrar una muestra de Alexa Fluor 488 en un chip de borosilicato con microcanal en forma de cruz, usando ITP hasta un factor de 2 × 10<sup>6</sup>. En ella, la muestra disuelta en TE se depositó en un extremo del microcanal mientras que, en los depósitos laterales, se introdujeron electrolitos LE. La zona de ITP fue controlada mediante una cámara CCD de alta resolución montada en un microscopio, introduciendo así una nueva técnica de control. Dentro de la misma línea de investigación se destacan los trabajos del grupo de

investigadores liderado por el profesor Juan Santiago de la Universidad de Stanford, quienes emplearon este proceso como un método para purificar, separar y extraer ácidos nucleicos de la sangre (Garcia-Schwarz et al. 2012; Rogacs, Marshall and Santiago 2014). Dentro de ellos, Persat, Marshall and Santiago (2009), mediante la técnica de ITP, lograron concentrar ácidos nucleicos dentro de una muestra de sangre. El chip utilizado para este trabajo fue de borosilicato, que contenía un microcanal de geometría cruzada, con profundidad 20 µm y ancho 90 µm (modelo NS12A, Caliper). Para reducir el efecto EOF en el microcanal se utilizó Triton X-100. La visualización y focalización del ADN separado se observó con un microscopio invertido empleando la técnica de epifluorescente usando SYBR green como biomarcador. El mismo proceso fue simplificado y aplicado por Rogacs et al. (2012), utilizando un microcanal recto para la concentración de 16srRNA bacteriano. Para ello, la muestra fue disuelta en la solución TE introducida en un extremo del microcanal, previamente llenada con la solución LE desde el otro extremo. Una vez terminado el proceso de ITP, los ácidos nucleicos concentrados son extraídos desde el reservorio para ser analizados.

Por otra parte, Cong et al. (2014), empleando la técnica de ITP, separaron y detectaron ochos lantánidos (tierras raras) dentro de un microcanal en forma de serpentín. Como resultado, reportaron que el tiempo necesario para la concentración y detección fue aproximadamente 6 minutos. Prest et al. (2004) emplearon el método de ITP para analizar la calidad del agua residual industrial; en ella se encontró la presencia de seis metales pesados disueltos, cuyo rango de límite de detección varía entre 0.5 a 1.0 mg por litro.

La microfluídica y, específicamente, los dispositivos "lab on a chip" han demostrado ser particularmente susceptibles a la simulación, proporcionando a menudo predicciones precisas del transporte de masa, momento y energía en procesos electroforéticos lineales y no lineales. A continuación, se discutirán las simulaciones de EKI e ITP y sus alcances en el diseño de microcanal. Para la predicción numérica de EKI, al igual que el parámetro de caracterización, también existen diversas posturas sobre el modelo numérico. Lin et al. (2004) desarrollaron el modelo óhmico derivado de las simplificaciones de las ecuaciones

de Nernst-Planck bajo los supuestos de electroneutralidad e iones monovalentes. Siguiendo la misma línea de investigación Li et al. (2016) llevaron a cabo un estudio numérico sistemático para investigar el efecto de los diferentes parámetros que involucra el EKI, lo que incluye la relación de conductividad, la intensidad del campo eléctrico y la profundidad del canal. De este estudio se muestra la capacidad del modelamiento numérico para capturar el valor umbral del campo eléctrico para la aparición de las inestabilidades y se ofrece una buena predicción de EKI.

Otra postura propone un modelo que combina la ecuación de Navier-Stokes modificada, tomando en cuenta el término de fuerza del cuerpo eléctrico, (Chen et al. 2005). Luo (2009) emplea este modelo para estudiar la condición de flujo estratificado cuando la intensidad del campo eléctrico de corriente continua (CC) aplicado está por debajo de un cierto valor umbral. Además, a medida que este valor aumenta su intensidad, se induce el fenómeno de EKI, que incluye una serie de recirculaciones del flujo. Al analizar los efectos del EKI en la mezcla de múltiples especies, se encuentra que el rendimiento del mezclado es mayor, afirmando que el EKI mejora el proceso de mezclado, logrando una mezcla mucho más homogénea a la salida.

Para el caso de ITP, los modelos numéricos más utilizados para modelar el sistema ITP microfluídicos son generalmente de carácter 1D. En estos modelos, junto con la simplificación que asumen (las reacciones ácido-base son instantáneas), facilita el cálculo de las concentraciones totales de las especies en lugar de los estados iónicos individuales. Si bien las simulaciones dinámicas 1D pueden proporcionar una idea de fenómenos electrocinéticos y una disminución en el tiempo de cálculo hasta 75 veces en comparación con el método convencional, por su naturaleza 1D, tienen limitaciones como, por ejemplo, no puede describir rigurosamente la pérdida y dispersión de muestras durante la migración electrocinética, efectos de concentración debido a irregularidades de las formas geométricas (Smejkal et al. 2013). Cui, Dutta and Ivory (2007) utilizaron un esquema 2D de elementos finitos para simular la dispersión y la pérdida de unas muestras de proteínas con ITP en un microcanal en forma de T. En base a sus resultados, se generó un nuevo diseño de microcanal

con la incorporación de microelectrodos para reducir la pérdida de muestra. Posteriormente, el nuevo diseño fue validado por ensayos experimentales. Tsai et al. (2006) estudiaron numéricamente la pérdida de muestra por el efecto de la geometría del microcanal, en particular, el ángulo de los canales laterales ramificados de las uniones en T, reportando que, para el microcanal T perpendicular, ocurren pérdidas de muestra cerca de 25%, mientras que solo ~4% de pérdidas de muestra ocurren en canales laterales con un ángulo de 30 grados, debido a las fuerzas de inercia producidas por la geometría del canal de inyección inclinada.

Diversas investigaciones han propuesto diferentes maneras para incrementar la efectividad en la concentración de la muestra por ITP. Paschkewitz et al. (2007) estudiaron numéricamente un canal 2D con forma de serpentín y la variación del radio de curvatura en función de la sección recta del canal para mejorar y recuperar el perfil de concentración en la muestra.

Otra alternativa para mejorar la efectividad en la concentración es la reducción del área de sección transversal del microcanal a lo largo del canal de ITP. Bottenus et al. (2011) indicaron que esta reducción en el área permite un aumento proporcional en la concentración de la muestra objetivo. Esta estrategia de preconcentración fue simulada, utilizando un modelo 3D con el método de elementos finitos. El resultado revela que las disminuciones en el área de la sección transversal, a lo largo de la longitud axial del canal, generan un aumento significativo en la concentración de la muestra, mejorando la sensibilidad durante la detección. Sin embargo, la simulación 3D tardó semanas en completarse.

Simular sistemas de ITP en más de una dimensión requiere un alto costo computacional y tiempo de cálculo. Las simulaciones numéricas 2D pueden llevar de horas a días, mientras que las simulaciones 3D pueden requerir de días a semanas o incluso más, dependiendo de la velocidad, la memoria y la potencia de cómputo (Smejkal et al. 2013). De los trabajos investigados, los autores afirman que ITP generalmente requiere un canal de separación muy largo para lograr una separación y concentración eficiente, y el principal desafío de este método es la selección correcta de los electrolitos líder y terminal (LE y TE). La correcta

selección de TE es fundamental para la exclusión de iones contaminantes para llevar a cabo una separación efectiva.

Tomando en cuenta los desafíos enumerados anteriormente tanto para EKI e ITP, es de interés en particular, para esta investigación, establecer un parámetro generalizado para el estudio y predicción de EKI, y una investigación para determinar un criterio en la selección de electrolito para poder aumentar la efectividad y pre concentrar partículas metálicas disueltas por ITP. Ambos estudios están enfocados en la caracterización de los procesos de mezclado por EKI y preconcentración de partículas por ITP, para avanzar hacia un futuro diseño y fabricación de un microcanal bajo el concepto de "lab on a chip" para la detección de micro o nano partículas. De este modo, dados los antecedentes investigados, es de interés en particular de esta investigación realizar ensayos experimentales y utilizar simulación numérica para llevar a cabo el estudio y caracterización de la ocurrencia de EKI e ITP, para posteriormente efectuar un diseño de un micromezclador y de un micro-separador basado en la inestabilidad electrocinética (EKI) e isotacoforesis (ITP).

Los antecedentes del problema, estado del arte, el marco teórico, la hipótesis del continuo y su posterior verificación de la correcta aplicación son presentados, respectivamente, en los capítulos 1, 2 y 3. El estudio experimental y numérico de predicción de EKI, que abarca la caracterización de las propiedades termo físicas de los electrolitos (conductividad eléctrica, viscosidad dinámica y pH), la determinación del potencial zeta y del parámetro característico de EKI, son descritos en el Capítulo 4. Para estos ensayos, se prepararon dos soluciones electrolíticas (KCl y NaCl), que fueron ensayadas en un microcanal en cruz para la visualización, caracterización y predicción del EKI. En el Capítulo 5 se presenta el estudio experimental y resultados numérico de ITP para el proceso de separación y preconcentración, abarcando el criterio para la selección de los electrolitos TE y LE, de acuerdo con la movilidad electroforética de las partículas de interés. Para ello, se prepararon nanofluidos con nanopartículas de óxido de titanio, estabilizados en solución electrolítica como agente de estudio.

### 1.2 HIPÓTESIS

La hipótesis general del trabajo está basada en la posibilidad de modelar y optimizar los procesos de mezclado, separación y preconcentración de muestras a nivel de microescala por medio de flujos electrocinéticos. Se puede suponer que el proceso de micro mezclado, cuantificado por un índice de mezcla, puede ser optimizado en tiempo y en calidad mediante la inestabilidad de flujo, producto de la contribución de dos fuerzas (fuerza externa asociada al campo eléctrico externo aplicado y fuerza electro-osmótica asociada al potencial zeta, producto de la interacción del sólido y electrolito). Por otra parte, se postula que una correcta selección de electrolito TE y LE, basada en la movilidad electroforética, permite la preconcentración y posterior detección de nanopartículas metálicas en microcanales mediante el proceso de ITP. Los alcances y limitaciones de las hipótesis precedentes serán objeto de validación experimental durante el transcurso de la presente tesis.

### 1.3 OBJETIVOS

### 1.3.1 Objetivo general

Desarrollar y realizar una metodología y un sistema experimental que conduzca a una solución tecnológica para la detección y cuantificación de partículas contaminantes presentes en una solución acuosa.

### 1.3.2 Objetivos específicos

Estudiar y caracterizar el transporte de un líquido, dentro de un microcanal, mediante el fenómeno de la electrocinética.

Estudiar y caracterizar experimentalmente la inestabilidad del flujo electro-osmótico como mecanismo de optimización del proceso de mezclado dentro de un microcanal.

Estudiar y caracterizar experimentalmente el proceso de isotacoforesis (ITP) para la detección, separación y medición de concentración de partículas dentro de una muestra en un microcanal.

Realizar simulaciones computacionales de las fenomenologías de inestabilidad e isotacoforesis, para proponer el diseño de un micromezclador y micro-separador (basado en un microcanal), que optimice los procesos de mezclado y separación de partículas.

### 1.4 APORTE DE LA TESIS

Un primer aporte de esta tesis consiste en determinar un parámetro capaz de caracterizar y predecir el efecto de la inestabilidad del flujo electrocinético (EKI) en un microcanal. Un segundo aporte radica en determinar el criterio de selección del electrolito para la separación y preconcentración de nanopartículas de metal por ITP. Ambos aportes, utilizando técnicas experimentales y simulación numérica, permiten escalar y predecir los fenómenos estudiados en diferentes tamaños de microcanal; además, determinar el potencial eléctrico necesario. Finalmente, estos aportes posibilitan el diseño de un micro dispositivo y un procedimiento para la detección de micro y nanopartículas.

### 2. MARCO TEÓRICO

La electrocinética, fenómeno mencionado anteriormente, es un fenómeno espontáneo que ocurre durante la interacción iónica entre un líquido en contacto con un sólido a nivel nanométrico muy próximo a la superficie del sólido. Su teoría fue establecida por primera vez por Gouy (1910) y Chapman (1913). En ella describe la formación de iones en solución, (p.ej.:  $K^+$ ,  $Cl^-$  por disolución de la molécula de cloruro de potasio) que, al entrar en contacto con un sólido, se induce en la superficie la formación de la densidad de carga superficial  $\rho_s$ , generalmente negativa. Esta densidad de carga  $\rho_s$  puede deberse a la ionización o a la desprotonización de la superficie. En consecuencia, en la zona muy cercana a la superficie del sólido, los iones de signo opuesto al  $\rho_s$  son atraídos para formar una capa inmóvil

conocida como *Stern layer*, y los iones con el mismo signo son repelidos, generando la capa difusa (también conocida como Gouy – Chapman layer o *Diffuse layer*). Esta estructura, ver **Figura 2.1**, conformada por capas de iones, es conocida como capa eléctrica doble (EDL, de su sigla en inglés *Electric Double Layer*) (Probstein 1994).

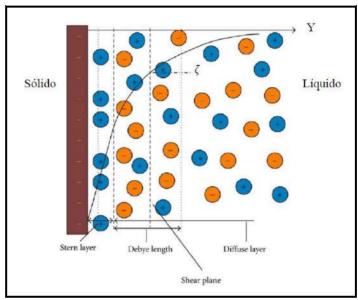


Figura 2.1. Esquema de EDL para una densidad de carga superficial negativa (Schoemaker et al. 2012).

La **Figura 2.1** muestra la composición de EDL, que está conformada por una capa inmóvil (Stern layer) en una zona muy próxima a la superficie del sólido y una capa difusa (diffuse layer), ubicada en el seno de la solución. La zona intermedia entre ambas capas es conocida como la longitud de Debye ( $\lambda_d$ ), cuyo espesor es del orden de micrones. En esta zona, los iones de mismo signo que  $\rho_s$  son definidos como iones libres ( $\rho_f$ ); y están distribuidos libremente dentro de la zona pero, a la vez, también están confinados debido a la presencia de  $\rho_s$  que los repele hacia el seno de la solución y desde allí son contenidos por la condición de electroneutralidad de la solución, dando lugar a un gradiente de concentraciones de iones, generando así una variación de potencial eléctrico interno  $\psi(y)$  que varía en el eje normal a la pared (eje Y) (Hunter 1981).

Este efecto en la EDL es representado por un parámetro característico del flujo denominado potencial zeta ( $\zeta$ ), que se mide en milivolt (mV). Este potencial cuantifica la relación de densidad de carga entre la pared y el electrolito, que depende de factores tales como el pH y/o la concentración electrolítica de la solución (Hunter 1981; Probstein 1994; Sze et al. 2003). El plano físico asociado a este potencial se conoce como el plano de deslizamiento o de cizalle (*Shear plane*). A partir de este plano se produce el movimiento relativo entre el sólido y el líquido, conocido como flujo electrocinético (Newman and Thomas-Alyea 2004).

### 2.1 FLUJO ELECTROCINÉTICO

El flujo electrocinético ocurre cuando se genera el movimiento relativo entre la capa Stern y la difusa por medio de la aplicación de un campo eléctrico externo **E**. El movimiento ocurre cuando el campo eléctrico externo ejerce una fuerza eléctrica sobre  $\rho_f$ , impulsándolo hacia una misma dirección que el campo eléctrico, y por medio de arrastre viscoso del fluido permite el flujo del líquido. Dependiendo del movimiento relativo, se puede clasificar en dos tipos de flujo: electroósmosis y electroforesis (Salager 1998). En el primer caso,  $\rho_s$  es generado en la pared del microcanal, por lo que el EDL es generado a lo largo de este. Así, el movimiento relativo producido es del fluido con respecto a la pared; como resultado se logra un flujo muy ordenado. En cambio, en el flujo de electroforesis tanto el  $\rho_s$  como EDL son ocasionados en la superficie de las partículas dentro de la solución, por lo que el movimiento relativo ocurre en el sólido con respecto al fluido. (**Figura 2.2**).

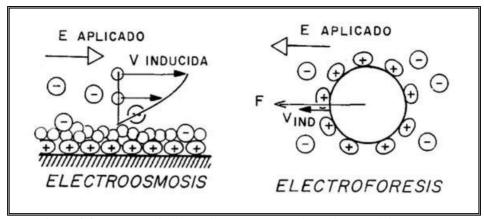


Figura 2.2. Esquema de flujos electroósmosis y electroforesis (Salager 1998).

### 2.2 FLUJO ELECTROÓSMOSIS

El flujo electroósmosis (EOF) es producido por un campo eléctrico que genera una fuerza eléctrica impulsora en el EDL, induciendo el movimiento de los iones libres dentro de la capa difusa que, por medio de la propagación viscosa del fluido, produce el flujo. Este flujo generalmente es de carácter laminar, con un número de Reynolds bajo (Salager 1998). La velocidad media,  $u_{eof}$  es determinada por la relación de Helmhotlz-Smoluchowski, Ecuación (2.1), (Storey 2005; Salager 1998). En ella,  $\varepsilon_r$  es la constante dieléctrica del medio,  $\varepsilon_0$  es la constante de permitividad del vacío,  $\zeta$  es el potencial zeta resultante de la interacción electrocinética de la pared con el fluido, E es la magnitud del campo eléctrico aplicado y  $\mu_f$  la viscosidad dinámica del fluido.

$$u_{\text{eof}} = -\frac{\varepsilon_r \varepsilon_0 \zeta}{\mu_f} E \tag{2.1}$$

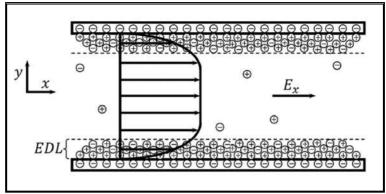


Figura 2.3. Esquema de perfil de velocidad para EOF (Salager 1998).

La **Figura 2.3** muestra el perfil de velocidad típico de EOF. El desplazamiento de líquido por sobre la superficie de deslizamiento generado por el campo eléctrico, crea un flujo muy ordenado, cuyo perfil de velocidad es típico de un flujo de tipo pistón. Esta forma de impulsar el fluido permite un control preciso de la cantidad y de la velocidad del flujo en procesos realizados con microcanales (Azari, Sadeghi and Chakraborty 2020). Este flujo tiene, además, una gran particularidad: cuando se introducen dos o más soluciones con diferentes concentraciones iónicas, es posible producir inestabilidad en el flujo (EKI de su sigla en inglés Electro Kinetic Instability). En la intersección de las soluciones se produce un acoplamiento entre el campo eléctrico en dirección perpendicular con el gradiente de concentraciones, que genera una fuerza de campo eléctrico variable en la dirección principal del flujo, el cual altera la naturaleza ordenada del flujo, dando origen a la inestabilidad (C.-H. Chen et al. 2005; Lin et al. 2004). Como resultado, a la salida se obtiene un flujo con patrón de velocidad variable en el tiempo y espacio.

### 2.3 FLUJO ELECTROFORESIS

La electroforesis es un fenómeno similar a la electroósmosis. La diferencia radica en que el flujo generado es de las partículas o iones presentes con respecto a la solución iónica que lo contiene. Para esto, es necesario inhibir la formación de la EDL en la superficie del microcanal para que estas capas se generen en la superficie de las partículas, y no en la superficie del microcanal. O, en su defecto, atenuando el efecto de la EDL de la pared del

microcanal por debajo de la que se encuentra en la superficie de la partícula, permitiéndose así que las partículas sean impulsadas por medio del campo eléctrico externo provocando, de esta manera, el flujo. Si el radio de la partícula "r" es mucho más grande que  $\lambda_{\rm d}$  ( $\rm r >> \lambda_{\rm d}$ ), en este caso, se puede aproximar la partícula como una superficie plana para la estimación de su velocidad, por lo que la velocidad electroforética  $\rm u_{\rm elf} = -u_{\rm eof}$  es negativa, dado que la carga neta de la partícula es de signo contrario al de la zona difusa. Un modelo más completo para la velocidad  $\rm u_{\rm elf}$  fue descrito por Huckel-Henry, ver Ecuación (2.2) (Salager 1998). En ella, f es un factor correctivo dado por la expresión de Ohshima, Ecuación (2.3). k es el parámetro de Debye – Huckel, cuando  $\rm f = 3/2$  caso ( $\rm r >> \lambda_{\rm d}$ ), se llega al modelo de Helmhotlz-Smoluchowski. Por otra parte, si  $\rm f = 1$  para ( $\rm r << \lambda_{\rm d}$ ), la ecuación es conocida como el modelo de Huckel (Storey 2005; Salager 1998).

$$u_{elf} = \frac{2 \, \varepsilon_r \varepsilon_0 \, \zeta \, E}{3 \, \mu_f} \, f \tag{2.2}$$

$$f = 1 + \frac{1}{2\left[1 + \frac{2.5}{k \cdot r\{1 + 2e^{-k \cdot r}\}}\right]^3}$$
 (2.3)

### 3. ESTUDIO Y CARACTERIZACIÓN DE INESTABILIDAD DE FLUJO

### 3.1 ESTADO DEL ARTE EN EL ESTUDIO DE EKI.

El interés por el estudio de EKI ha cobrado fuerza entre las investigaciones del área de la microfluídica dado que, por medio de este mecanismo, es posible constituir un micromezclador compuesto por microcanales basándose en el concepto de "lab on a chip" (Shamloo, Madadelahi and Abdorahimzadeh 2017; Lee et al. 2016), cuyo principal objetivo es optimizar los procesos de detección y diagnóstico en el área médica y biológica mediante la reducción del tamaño de los dispositivos a la escala de micrones para reducir el tiempo necesario de detección. Una de las estrategias para la optimización del mezclado de soluciones en microcanal es introducir artificialmente alteraciones en el patrón de flujo por el efecto de la inestabilidad electrocinética (EKI). Dentro de esta área, se destacan las

investigaciones experimentales realizadas por el grupo de investigadores liderado por el profesor Juan Santiago. En sus trabajos han determinado que es posible generar y controlar el EKI mediante la variación del campo eléctrico externo aplicado y proponen el número de Rayleigh eléctrico como parámetro característico (Posner and Santiago 2006; Oddy and Santiago 2005).

Particularmente, Posner and Santiago (2006), en sus investigaciones, reportaron resultados de inestabilidad de flujo ensayados en un microcanal cruzado no simétrico y aplicando dos campos eléctricos de diferentes magnitudes con una tasa de variación β, que fluctúa desde 0.84 hasta 1.58; plantean que la existencia de la inestabilidad está caracterizada por el número de Rayleigh eléctrico local, una modificación de la propuesta original reportada por Storey et al. (2005), señalando que la ocurrencia de EKI es gatillada por el espesor de la interfase de electrolito con el máximo gradiente de la conductividad eléctrica δ, localizada aguas abajo desde la boquilla de mezcla. En cambio, Shin, Kang and Cho (2005), en su investigación de EKI con electrolito de NaCl y dos tipos de potencial eléctrico DC y AC, plantean que el potencial eléctrico o, en su efecto, el campo eléctrico es el parámetro característico para la generación de EKI, y que, para el caso de una fuente AC, el potencial eléctrico necesario o umbral es menor al de una fuente DC, debido a la influencia de la frecuencia de la fuente AC ( $V_{DC} = 650 \text{ V y } V_{AC} = 50 \text{ V}$ , respectivamente). Por otra parte, otros autores como: Yarn et al. (2009), Luo (2009) y Li, Delorme and Frankel (2016) mediante estudios numéricos de EKI con diferentes formas y tamaños de microcanales, postulan que la ocurrencia de EKI es producida únicamente por el campo eléctrico impuesto en los electrolitos.

**Tabla 3.1.** Cuadro de resumen, diferentes criterios para EKI reportados e investigados.

Parámetro característico	Referencia	Valor crítico
DC Voltaje	(Luo 2009)	357 V
Campo eléctrico	(Li, Delorme, and Frankel 2016)	260 V/cm
Campo eléctrico	(Yarn et al. 2009)	357 V/cm
		650 V (DC)
Voltaje	(Shin, Kang, and Cho 2005)	О
		10 Hz y 50 V
$Ra_e = \frac{\epsilon E^2 d^2}{D\mu}$	(Storey et al. 2005)	400
$Ra_e = \frac{\epsilon E^2 d^2}{D\mu} \frac{\gamma - 1}{\gamma} \nabla^* \sigma^*  _{max}$ $\gamma = \frac{\sigma_W}{\sigma_S} \text{ Relación de conductividad}$	(Posner and Santiago 2006)	205
- 5		
eléctrica de los electrolitos involucrados.		

La **Tabla 3.1** muestra un cuadro resumen de los diferentes criterios o postulados reportados por diversos grupos de investigación para la predicción y/o caracterización de EKI.

Si bien no existe un criterio bien definido para la caracterización y predicción de la ocurrencia de EKI, en todas las investigaciones presentadas afirman que EKI logra mejorar el proceso de mezclado de solución dentro del microcanal, obteniendo una mezcla mucho más homogénea en la salida, dado que, al no existir un criterio común para la caracterización de EKI, es de interés en particular para esta investigación establecer un parámetro para el estudio y predicción de EKI. Finalmente, mediante su uso, junto con el de simulación numérica, se podrá realizar un diseño de micromezclador basado en un microcanal.

## 3.2 HIPÓTESIS DEL CONTINUO PARA ESTUDIO Y CARATERIZACIÓN DE LA MICROFLUÍDICA

Previo al desarrollo y análisis numérico de un modelo predictivo de EKI es necesario realizar una verificación del cumplimiento con la hipótesis del medio continúo puesto que, las leyes de conservación involucradas en los modelos numéricos desarrollas para este trabajo únicamente tiene válides y son representativas cuando el dominio o espacio físico de estudio satisface y cumple con las condiciones establecidas por la hipótesis mencionada. Dado que, el estudio de la microfluídica, cuyo sistema involucra pequeñas cantidades de líquido que van entre 10<sup>-9</sup> y 10<sup>-18</sup> litros y dimensiones características que van desde 1 um hasta 1 mm (Gad-el-Hak 2006), es necesario verificar de que todas las formulaciones planteadas para el estudio de los flujos, bajo esta escala, deban satisfacer la teoría del continuo, en que todas las variables de interés como la densidad, viscosidad, velocidad, presión, concentración u otras, pueden definirse en cualquier punto del espacio dentro del sistema a través de una función continua y que su variación también debe ser continua (Nguyen, Wereley and House 2002). Es decir, todas las propiedades y/o cantidades son debidamente definidas con las leyes de conservación y dentro del sistema no deben existir discontinuidades o vacíos. Su justificación viene del análisis del número adimensional de Knudsen (K<sub>n</sub>), que relaciona la trayectoria libre media (Λ, mean free path) de interacción entre moléculas, y la longitud característica (L<sub>c</sub>) del sistema que se analiza, como se muestra en la Ecuación (3.1) (Morgan and Green 2003). A es la trayectoria libre media (distancia media recorrida por las moléculas entre dos colisiones seguidas); para el caso de un líquido, este valor corresponde a  $\Lambda = 2.5 \times 10^{-4} \, \mu m$  (Morgan and Green 2003) y L<sub>c</sub> es la longitud característica del sistema.

$$K_{n} = \frac{\Lambda}{L_{c}} \tag{3.1}$$

A partir del análisis del número de Knudsen, se puede establecer lo siguiente:

 $K_n < 10^{-3}$ : para este rango el flujo es continuo y puede ser modelado adecuadamente por la ecuación de Navier-Stokes con condición de borde de no deslizamiento.

 $10^{-3} < K_n < 10^{-1}$ : el flujo es deslizante y las ecuaciones de Navier-Stokes siguen siendo aplicables, pero con condición de borde de velocidad de deslizamiento en las paredes del sistema.

 $10^{-1}$  <  $K_n$  < 10: el régimen es transicional y el modelamiento del flujo mediante la ecuación de Navier-Stokes ya no es válido. Las colisiones intermoleculares son significativas y deben ser tomadas en cuenta. Se debe utilizar la ecuación de transporte de Boltzmann para el modelamiento matemático.

 $K_n > 10$ : el régimen es considerado como de moléculas libres, donde las colisiones intermoleculares son insignificantes en comparación con las colisiones entre las moléculas de gas y las paredes del sistema. Bajo este régimen se debe utilizar el método de la Dinámica Molecular y/o el modelamiento por método de Monte Carlo.

### 3.3 ECUACIÓN GOBERNANTE DE EKI

En esta sección se presenta el modelo numérico desarrollado en base a leyes conservativas. Cabe mencionar que el estudio numérico de EKI está basado en un chip comercial con microcanal cruzado, modelo X3550 (H = 50 μm) que, para verificar el cumplimiento de la teoría del continuo, se considera un valor de K<sub>n</sub> = 10<sup>-4</sup>, obteniendo como resultado un largo característico mínimo de 2.5 μm, valor muy inferior a la longitud característica del microcanal, validando de esta forma la teoría del continuo. El modelo numérico propuesto para predecir y caracterizar EKI consta de un sistema de ecuaciones diferenciales compuesto por cuatro leyes de conservación: conservación de especies iónicas, Ecuación (3.2) considerando la simplificación del término electro migratorio, cuya razón se explicará más adelante; conservación de momentum lineal en su forma particular para un fluido newtoniano, Ecuación (3.3); conservación de masa para fluido incompresible y newtoniano conocido como ecuación de continuidad, Ecuación (3.4), y conservación de corriente eléctrica, Ecuación (3.5), considerando un fluido newtoniano e incompresible,

soluciones electrolíticas completamente homogéneas y uniformes, que no experimentan reacciones químicas y, además, un proceso isotérmico, ya que el tiempo de duración del proceso es relativamente corto (no mayor que 5 min.), por lo que no se genera un intercambio de energía significativo como para producir una modificación de la temperatura del sistema.

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \mathbf{V} \cdot (\nabla C) = \nabla \cdot (D_{\text{eff}} \nabla C) \tag{3.2}$$

$$\rho \left( \frac{\partial \mathbf{V}}{\partial t} + \mathbf{V} \cdot (\nabla \mathbf{V}) \right) = -\nabla p + \mu_f \nabla^2 \mathbf{V} + \rho_f \mathbf{E}$$
(3.3)

$$\nabla \cdot \mathbf{V} = 0 \tag{3.4}$$

$$\frac{\partial \rho_{e}}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{J} = 0 \tag{3.5}$$

Por medio de un análisis adimensional y de escalamiento, se logran identificar los siguientes números adimensionales característicos dentro del modelo propuesto: número de Peclet, definido como Pe =  $U_o$  H/D<sub>eff</sub> en la ecuación de conservación de especies iónicas, y el número de Reynolds, Re =  $\rho$  U<sub>o</sub> H/ $\mu$ <sub>f</sub> (**Tabla 3.2**).

Tabla 3.2. Modelo numérico de EKI adimensional.

Sistema de ecuación adimensional del modelo propuesto		
$\frac{\partial C_i^*}{\partial t^*} + V^* \cdot (\nabla C_i^*) = \frac{1}{Pe} (\nabla^2 C_i^*)$	(3.6)	
$\frac{\partial \mathbf{V}^*}{\partial t^*} + \mathbf{V}^* \cdot (\nabla \mathbf{V}^*) = -\nabla p^* + \frac{1}{Re} \nabla^2 \mathbf{V}^* + \frac{1}{Re} \frac{\varphi}{\zeta} \mathbf{E}^* (\nabla \cdot \mathbf{E}^*)$	(3.7)	
$\nabla \cdot \mathbf{V}^* = 0$	(3.8)	
$\frac{\partial \rho_e^*}{\partial t^*} + \nabla \cdot (\mathbf{J}^*) = 0$	(3.9)	

D<sub>eff</sub> es la difusividad efectiva de la solución que relaciona el coeficiente de difusión del ion positivo y negativo dado por la Expresión (3.10) (Lide 2005).

$$D_{\text{eff}} = \frac{2 D_{+} + D_{-}}{D_{+} + D_{-}} \tag{3.10}$$

En la ecuación de conservación de momentum lineal se logran identificar dos parámetros característicos:  $1/Re\ y\ \varphi/\zeta$ , donde  $\varphi$  es el potencial eléctrico externo  $y\ \zeta$  es el potencial zeta resultado de la interacción electrocinética entre la pared y el medio acuoso. Multiplicando por  $Re^2$  la Expresión (3.7) y expresando los potenciales eléctricos en término del campo eléctrico que es afectado por la variación de la conductividad eléctrica del medio, manifestado por el gradiente de conductividad  $\sigma_H/\sigma_L$ . Se obtiene un término adimensional  $\gamma$ , ver la Expresión (3.11). Cabe destacar que este número adimensional propuesto  $\gamma$  está conformado por una serie de parámetros, tales como:  $\sigma_H/\sigma_L$ , relación de conductividad eléctrica de los fluidos involucrados; h/L, relación de aspecto geométrico del microcanal;  $\zeta$ , potencial característico que involucra aspecto de químico del fluido (pH y concentración), y  $\varphi$ , potencial eléctrico aplicado necesario para la ocurrencia de EKI; donde h=H/2 es la mitad del ancho de la sección transversal del microcanal, L es la longitud total del microcanal,  $\sigma_H$  y  $\sigma_L$  son las conductividades eléctricas de la solución con alta y baja concentración iónica, respectivamente.

$$\gamma = \text{Re} \frac{\Phi}{\zeta} \frac{h}{L} \frac{\sigma_H}{\sigma_L} \to \text{Re} \frac{E_{\text{ext}} \sigma_H}{E_{\text{eof}} \sigma_L}$$
(3.11)

En base a lo anterior, se postula que existen dos magnitudes de fuerzas interactuando mutuamente durante el proceso: una es la magnitud de la fuerza externa asociada al campo eléctrico externo  $E_{\rm ext} = \varphi/L$ , y otra  $E_{\rm eof} = \zeta/h$  producida por potencial zeta, lo que se asocia a la fuerza para mantener el flujo ordenado correspondiendo a la de un EOF, por lo que la manifestación de EKI ocurre cuando el equilibrio entre estas dos fuerzas se ve alterado.

Tabla 3.3. Condición de ocurrencia de EKI.		
Escenario	EKI	
$Re \frac{E_{ext}}{E_{eof}} \frac{\sigma_H}{\sigma_L} < \gamma_{crítico}$	Flujo uniforme	
$Re \frac{E_{ext}}{E_{eof}} \frac{\sigma_H}{\sigma_L} > \gamma_{crítico}$	Flujo con EKI	

La **Tabla 3.3** muestra la condición necesaria para la ocurrencia de EKI, lo cual se manifiesta cuando el parámetro  $Re \frac{E_{ext}}{E_{eof}} \frac{\sigma_H}{\sigma_L}$  supera un valor crítico. Significa que cuando la magnitud de la fuerza asociada al  $E_{ext}$  es propagada por el efecto inercial, sobrepasa la fuerza asociada al  $E_{eof}$  propagada por el efecto viscoso, por lo que el patrón del flujo ordenado pasa a convertirse al patrón de EKI. Por el contrario, si el término  $E_{eof}$  es dominante,  $Re \frac{E_{ext}}{E_{eof}} \frac{\sigma_H}{\sigma_L}$  al no superar el valor crítico, el flujo resultante será de un flujo uniforme y ordenado, típico de un EOF.

### 3.4 VERIFICACIÓN DEL NÚMERO ADIMENSIONAL PROPUESTO

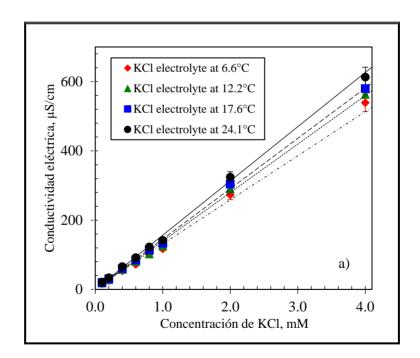
Para la validación del parámetro propuesto se ha llevado a cabo la realización de ensayos experimentales y simulaciones numéricas; en ella se registró el patrón de flujo obtenido bajo diferentes valores de γ.

### 3.4.1 Caracterización de los electrolitos.

Para llevar a cabo los ensayos experimentales de EKI, se prepararon y caracterizaron dos tipos de soluciones electrolíticas (cloruro de sodio, NaCl, y cloruro de potasio, KCl), ambas en ochos diferentes concentraciones. Las soluciones se prepararon con agua desionizada  $(2.2 \pm 2\% \ \mu\text{S/cm}; \text{pH}=6.8 \pm 0.2)$ , y a partir de una solución base de 100 M de KCl y 100 mM de NaCl, respectivamente. Se realizaron mediciones de pH, conductividad eléctrica y viscosidad cinemática bajo temperatura controlada por medio un sistema de refrigeración (Lauda Alpha, modelo Ra 8).

### a) Conductividad eléctrica

La conductividad eléctrica de ambas soluciones, en cuatro diferentes temperaturas controladas, fue medida por un conductímetro (HANNA INSTRUMENTS, modelo EC 215), con un error instrumental inferior al 2% del valor medido. Con este se mide la capacidad de una solución de conducir una corriente eléctrica entre dos electrodos. Por lo tanto, una gran concentración de iones en la solución dará lugar a valores más altos de conductividad comúnmente medido en micro siemens, o µS/cm. Para el presente trabajo, las soluciones son introducidas dentro de un recipiente de vidrio de doble pared conectado al sistema de refrigeración para mantener la temperatura controlada. El procedimiento de medición se repitió 5 veces para estimar el promedio y su desviación estándar.



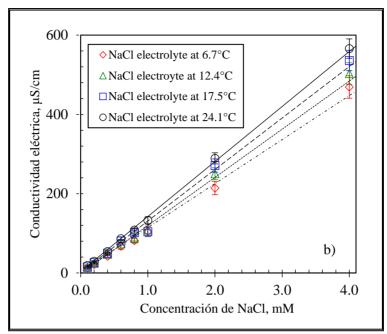


Figura 3.1. Conductividad eléctrica a diferente temperatura. Imagen a) electrolito de KCl e imagen b) electrolito de NaCl.

La **Figura 3.1** imágenes a) y b), muestra en el eje vertical el comportamiento de la conductividad eléctrica versus concentraciones de iones al interior de ambas soluciones ensayadas. En ellas, se muestra un comportamiento lineal de la conductividad eléctrica indicada en µS/cm y en función de la concentración de iones adicionada, donde la tendencia de todos los valores presenta una tendencia lineal y están dentro del rango del error estimado. Además, se observa que, para una misma concentración, existe un pequeño aumento de la conductividad eléctrica a medida que la temperatura aumenta, lo que puede deberse a una mayor actividad molecular asociada a la temperatura.

### b) Viscosidad dinámica

La viscosidad dinámica  $\mu_f$  es un parámetro fundamental para la caracterización del flujo electrocinético, puesto que es el aspecto físico del fluido que afecta a la velocidad de EOF. Su medición se realizó por medio de un viscosímetro (BROOKFIELD, modelo DV2TVLVTJ0). Para la visualización de la naturaleza newtoniana del fluido, se optó por registrar el esfuerzo cortante versus la tasa de deformación que experimentan ambas soluciones, cuya desviación estándar promedio del esfuerzo de corte no supera el 5% del valor registrado.

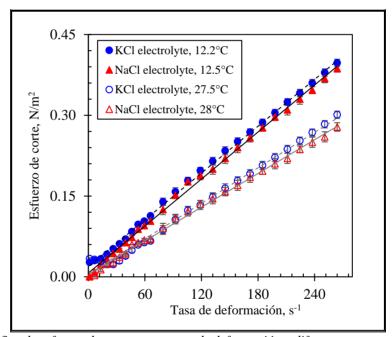
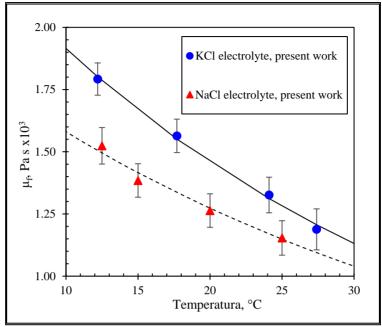


Figura 3.2. Gráfico de esfuerzo de corte versus tasa de deformación a diferentes temperaturas ensayadas. Símbolos rellenos son para ensayos a 12.2°C y símbolos vacíos son medidas a 27.5°C.



**Figura 3.3.** Gráfico de la viscosidad dinámica de los electrolitos para el rango de temperatura ensayada. ● *KCl y ▲ NaCl.* 

La **Figura 3.2** muestra un comportamiento lineal del esfuerzo cortante  $(N/m^2)$  en relación con la tasa de deformación  $(s^{-1})$ , lo que significa que ambos electrolitos presentan comportamiento de un fluido newtoniano para el intervalo de temperatura ensayada. La pendiente de la recta representa el  $\mu_f$  del electrolito. La **Figura 3.3** muestra la tendencia decreciente de  $\mu_f$  en función del aumento de la temperatura, cuya tendencia obedece a una función exponencial de tipo,  $\mu_f(T) = A e^{B/(T)}$ , típico para una solución acuosa en base de agua (Viswanath and Natarajan 2007). Donde T es la temperatura en grados Kelvin, A y B son constantes en el ajuste de curva.

Adicionalmente, se efectuó un análisis de la acidez (pH) de las soluciones, que se realizó por medio de un pH Meter (HANNA INSTRUMENT, modelo pH 21), compuesto por un electrodo de vidrio y una celda galvánica sensible al potencial eléctrico debido a la presencia del ion de hidrógeno responsable del aumento o disminución de la acidez de la solución. Al igual que en las mediciones anteriores, estas fueron realizadas en un recipiente de vidrio de doble pared conectado al sistema de refrigeración para mantener la temperatura controlada. El procedimiento de medición se repitió 3 veces para estimar la desviación estándar del valor

de tendencia. De los resultados se observa que la adición de NaCl y KCl no influyó en el valor del pH de la solución, puesto que estas sales son de carácter neutro; el pH resultante de la solución es conservado en el mismo rango del fluido base, 6.6±0.2 y 6.8±0.3 para los casos de KCl y NaCl, respectivamente.

#### c) Potencial zeta

Como el origen del movimiento del fluido ocurre por el efecto electrocinético que tiene lugar entre la pared del microcanal en contacto con el electrolito, para el microcanal ensayado (X3550), fabricado de borosilicato, este material al entrar en contacto con un electrolito adquiere una densidad de carga negativa. En consecuencia, el potencial zeta ( $\zeta$ ) generado es también negativo; en la mayoría de las investigaciones, este valor es considerado constante por simplicidad para el estudio del EKI (Storey 2005; Li, Delorme and Frankel 2016; Shamloo, Madadelahi and Abdorahimzadeh 2017; Nazari, Rashidi and Esfahani 2019). A pesar de lo anterior, existen trabajos donde evidencian que  $\zeta$  puede presentar variación con respecto a factores tales como pH y concentración de iones (Sze et al. 2003; Venditti, Xuan and Li 2006; Almutairi et al. 2009; Gu and Li 2000). Para una representación más fidedigna del  $\zeta$ , en esta sección se busca determinar experimentalmente el comportamiento del  $\zeta$  en electrolito con diferentes concentraciones.

La medición de  $\zeta$  se realizó usando un Zeta-Meter (modelo ZM 4.0), cuya operación está basada en el principio de la micro electroforesis (Ravina and Inc. 1993). Se aplicó un campo eléctrico constante (E = 600 V/m) sobre las partículas de borosilicato en formato de polvo, produciendo de esta forma su movimiento y posterior determinación del  $\zeta$  por medio de la Expresión (3.12), en donde el radio de la partícula es mayor que la longitud de Debye (r >>  $\lambda_d$ ) (Ravina and Inc. 1993). En ella,  $u_{elec}$  es la velocidad electroforética de la partícula,  $\epsilon_r$ = 78.5 y  $\epsilon_0$ = 8.85 × 10<sup>-12</sup> C/V · m<sup>-1</sup>, corresponde a la constante dieléctrica del medio y  $\epsilon_0$  es la constante de permitividad del vacío, y  $\mu_f$  la viscosidad dinámica del fluido.



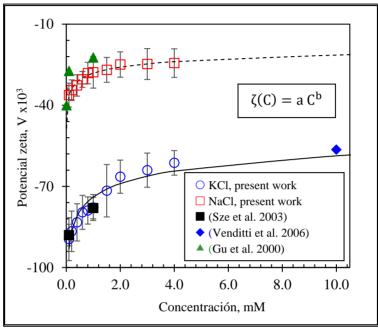


Figura 3.4. Resultados experimentales de potencial zeta para diferente electrolito en contacto con borosilicato.

La **Figura 3.4** muestra la tendencia de  $\zeta$  en función de las concentraciones de iones presentes dentro de la solución. Los resultados obtenidos muestran una buena correlación con respecto a valores reportados en otros estudios. La tendencia de  $\zeta$  obedece a una función potencial de tipo  $\zeta(C) = a C^b$ , descrita teóricamente por (Probstein 1994). Con C la concentración de los iones a y b corresponden a constantes de ajuste por regresión.

Tabla 3.4. Modelo de potencial zeta obtenido por ajuste de regresión.

Solución	Modelo	
KCl	$\zeta(C) = -73.95  C^{-0.1003}$	(3.13)
NaCl	$\zeta(C) = -28.14  C^{-0.1182}$	(3.14)

La **Tabla 3.4** muestra el modelo que caracteriza el comportamiento de  $\zeta$  respuesta de la regresión, cuyo coeficiente de correlación mínima alcanzado es de 0.96, a partir del cual se

puede afirmar que los resultados de ζ y del modelo obtenidos son representativos del fenómeno estudiado y serán considerados para el posterior análisis de EKI. Cabe notar que el valor de la constante de ajuste a para el K es casi 2,6 veces mayor que la del Na, lo cual se fundamentaría en el mayor peso atómico del ion de K (39.09 u) con respecto al del ion de Na (22.99 u).

#### 3.5 ENSAYO EXPERIMENTAL DE EKI.

Una serie de experimentos para evaluar  $\gamma$  como parámetro predictor de EKI fueron realizados en un microcanal en cruz, modelo X3550 (L1 = 5000  $\mu$ m, distancia medida desde el cruce hacia los reservorios 1, 3 y 4. L2 = 35000  $\mu$ m, distancia hacia el reservorio 2, ancho microcanal H = 50  $\mu$ m, y profundidad microcanal = 20  $\mu$ m) (**Figura 3.5**).

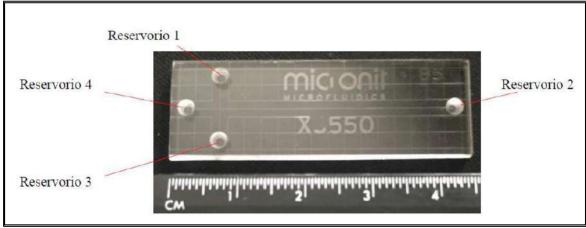


Figura 3.5. Esquema del microcanal X3550 y la ubicación de sus 4 reservorios.

El procedimiento experimental comienza con el llenado previo del microcanal con electrolito de conductividad eléctrica baja ( $\sigma_L$ ), con el fin de inducir el efecto de EDL en la superficie del microcanal. Luego, se introducen cuatro microlitros de electrolito con  $\sigma_L$  en los reservorios 1, 2 y 3. Y en el reservorio 4, se introducen cuatro microlitros de electrolito de conductividad alta ( $\sigma_H$ ) con una concentración de 0.5 mM de rodamina B de pH y conductividad eléctrica neutra previamente disuelta; la rodamina B solo actúa como agente de fluorescencia para revelar la presencia del electrolito  $\sigma_H$  (Schrum et al. 2000).

Posteriormente, se introduce un electrodo de platino en cada reservorio en donde se aplica un potencial eléctrico DC ( $\phi$ ) de igual magnitud en los reservorios 1, 3 y 4 ( $\phi_1 = \phi_3 = \phi_4$ ), mientras en el reservorio 2 el potencial eléctrico es mantenido como conexión a tierra ( $\phi_2 = 0$ ). De esta manera, el flujo de electrolito producido se dirigirá desde los reservorios 1, 3 y 4 hacia el reservorio 2 (**Figura 3.6**).

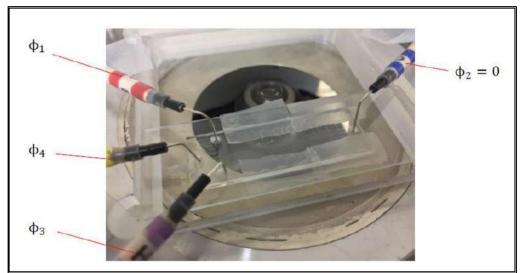


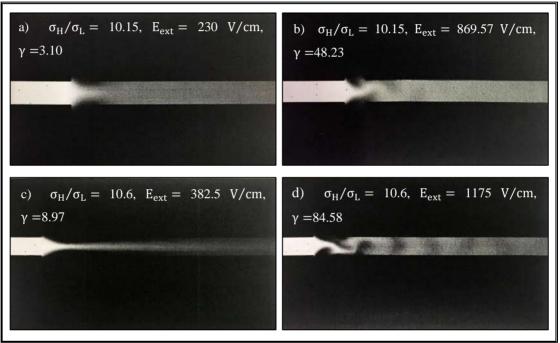
Figura 3.6. Esquema del proceso experimental para la generación de EKI en el microcanal X3550.

El equipo utilizado para suministrar el potencial eléctrico es un generador de alto voltaje, LabSmith, modelo HVS448, cuyo voltaje máximo de salida es +3000 Volts y un máximo diferencial de voltaje de 6000 Volts, cuya resolución de control y máxima variación no supera el 2% del voltaje suministrado. Las imágenes de los resultados experimentales fueron capturadas con un objetivo de aumento de 20×, montado en un microscopio invertido (Olympus modelo IX71) y una cámara CCD de alta resolución (Vision Research Inc., Phantom modelo PCC 2.14).

### 3.5.1 Análisis de resultado experimental

En esta sección se presentan y analizan los resultados experimentales de flujos obtenidos en el microcanal X3550, usando diferentes combinaciones de parámetros que componen el número γ, (relación de conductividad eléctrica, ζ con diferentes electrolitos y potencial

eléctrico aplicado  $\phi$ ), manteniendo constante la relación de aspecto geométrico h/L = 6.25  $\times$  10<sup>-4</sup>, debido a la geometría del microcanal. El valor del potencial zeta experimental se asume como el promedio aritmético de ambos electrolitos, sugerido por K. H. Kang et al. (2006). La **Figura 3.7** muestra los diferentes patrones de flujos obtenidos experimentales con diferentes combinaciones de parámetros.



**Figura 3.7.** Resultados experimentales de diferentes patrones de flujos. a) NaCl flujo uniforme, b) NaCl flujo EKI, c) KCl flujo uniforme y d) KCl flujo EKI.

La **Figura 3.7**, imágenes a) y b), corresponde a flujos usando electrolito NaCl e imágenes c) y d) corresponden para electrolito KCl. En ellas se muestran los distintos tipos de flujos obtenidos experimentalmente, utilizando diferentes parámetros de ensayo, por ejemplo, el tipo de electrolito (lo que modifica el  $\zeta$ ) y campo eléctrico  $\mathbf{E}_{ext}$ , destacándose las imágenes b) y d); en ellas se observa el efecto de EKI en los flujos, y que el valor del número  $\gamma$  presenta un orden superior en comparación con los flujos uniformes, imágenes a) y c), donde se muestra un flujo con un patrón uniforme representado con un valor de  $\gamma$  inferior a los casos mencionados anteriormente. En base a los resultados presentados se observa que el fenómeno de EKI se hace presente con  $\gamma$  de orden superior y es independiente del tipo de electrolito ensayado.

**Tabla 3.5.** Valores de  $\gamma$  experimentales para estudio de  $\gamma$  umbral en microcanal X3550 con KCl y relación de conductividad  $\sigma_H/\sigma_I=10.6$ .

the container reached of the following the container reached of the con					
E <sub>ext</sub> V/cm	γ	Tipo de Flujo			
382	8.97	Uniforme			
384.6	9.06	Uniforme			
615.3	23.19	EKI			
1175	84.58	EKI			

La **Tabla 3.5** muestra un resumen de valores de  $\gamma$  obtenidos experimentalmente usando KCl como solución de ensayo. El propósito de este ensayo es determinar la validez de  $\gamma$  para predecir el comportamiento del flujo. Cabe destacar que no estaba contemplada la obtención del valor umbral de  $\gamma$  para la transición de flujo uniforme a EKI. Por simplificación, solo se modificó el campo eléctrico aplicado, dejando el resto de los parámetros sin variación. De los resultados, se verifica que a menor  $\gamma$  el flujo permanece estable y uniforme. De la misma forma, se extendió este análisis del número  $\gamma$  para evaluar su fidelidad para predicción de EKI con resultados y datos experimentales y/o numéricos previamente reportados por otros autores en la literatura (**Tabla 3.6**).

Autor	Número y	Tipo de flujo
(Luo 2009)	$6.87 @ E = 357 V \cdot cm^{-1}$	
(experimental)	$\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L}=3.5$	
	$\zeta = -75 \text{ mV}$	Uniforme
	$H = 60 \mu m$	
	$32.63 @ E = 778 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$	
	$\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L}=3.5$	
	$\zeta = -75 \text{ mV}$	EKI
	$H = 60 \mu m$	
(Posner and Santiago 2006)*	7.68 @ E = 333 V · cm <sup>-1</sup>	
(experimental)	$\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L}=8.0$	
	$\zeta = (\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L})^{0.3} \cdot \zeta_{\rm ref}; \zeta_{\rm ref} = -1.0 \text{ mV}$	Uniforme
	$H = 50 \mu m$	
	$30.75 @ E = 666 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$	
	$\sigma_{\mathrm{H}}/\sigma_{\mathrm{L}} = 8.0$	
	$\zeta = (\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L})^{0.3} \cdot \zeta_{\rm ref}; \zeta_{\rm ref} = -1.0 \text{ mV}$	EKI
	$H = 50 \mu m$	
	323.5 @ E = 611 V · cm <sup>-1</sup>	
	$\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L}=100.0$	
	$\zeta = (\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L})^{0.3} \cdot \zeta_{\rm ref}; \zeta_{\rm ref} = -1.0 \text{ mV}$	EKI
	$H = 50 \mu m$	
(Shin, Kang, and Cho 2005)**	$41.65 @ E = 216.66 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$	
(experimental)	$\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L}=10.0$	
	$\zeta = -72 \text{ mV}$	EKI
	$H = 160 \mu m$	
(Li, Delorme, and Frankel 2016)	$9.76 @ E = 650 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$	
(numérico)	$\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L}=1.5$	
	$\zeta = -75 \text{ mV}$	Uniforme
	$H = 60 \mu m$	
	$35.8 @ E = 650 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$	
	$\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L} = 5.5$	
	$\zeta = -75 \text{ mV}$	EKI
	$H = 60 \mu m$	
(K. H. Kang et al. 2006)	96.37 @ E = $411.76 \mathrm{V}\cdot\mathrm{cm}^{-1}$	
(numérico)	$\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L}=10$	
•	$\zeta = -44.7 \text{ mV}$	EKI
	$H = 150 \mu m$	
(Yarn et al. 2009)	$5.56 @ E = 357 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$	
(numérico)	$\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L}=3.5$	
	$\zeta = -75 \text{ mV}$	Uniforme
	$H = 60 \mu m$	
	$24.56 @ E = 750 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$	
	$\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L}=3.5$	$_{\mathcal{L}\mathcal{V}I}$
	$\zeta = -75 \text{ mV}$	EKI
	$H = 60 \mu m$	

<sup>\*</sup>Se consideró solamente los casos experimentales donde la razón de campo eléctrico  $\beta = 1.01$ .
\*\*Se consideró únicamente el estudio con potencial eléctrico de tipo DC.

La **Tabla 3.6** muestra el valor  $\gamma$  evaluado a partir de los datos experimentales reportados en la literatura; en ella se observa que el número  $\gamma$  propuesto como predictor del tipo de flujo presenta buena correlación con respecto a los resultados encontrados en la literatura. Dentro de ella se destacan los casos experimentales de Posner and Santiago (2006). En este caso particular, en la evaluación de  $\gamma$  solo se consideraron casos cuya tasa de variación del campo eléctrico  $\beta=1.01$ , por considerarse caso más próximo a la hipótesis planteada de la investigación. Similar observación se realiza para los resultados de Shin, Kang and Cho (2005) con electrolito de NaCl y potencial eléctrico suministrado por una fuente DC. Como resultado de la evaluación se observa que, en todos los casos analizados, el flujo resultante permanece en un estado uniforme cuando el número  $\gamma$  permanece bajo (orden de magnitud  $\sim 1$  a 9.76). Por otra parte, en los casos de flujo que presenta inestabilidad, el valor  $\gamma$  presenta un orden superior a 20. En base al análisis efectuado se postula que la magnitud del número  $\gamma$  guarda relación con respecto a la ocurrencia de EKI, abriendo así la posibilidad de implementar este número para la realización de un diseño de microcanal, empleando la técnica de la simulación numérica, aspecto que se detallará en la siguiente sección.

# 3.6 SIMULACIÓN NUMÉRICA DE EKI

En esta sección, se presenta el estudio numérico en la determinación del rango de γ para la predicción de la ocurrencia de EKI, empleando el sistema de ecuaciones conservativas señalada anteriormente en la **Tabla 3.2**. El motivo del uso de la simulación numérica en el estudio de EKI es debido a su simpleza y versatilidad para la investigación del fenómeno, permitiendo abarcar aspectos no estudiados en los ensayos experimentales, por ejemplo, geometría del microcanal, diferentes concentraciones de iones y rango de potencial eléctrico por sobre la capacidad del equipo. Para el estudio numérico de EKI se opta por una simulación numérica 2D dependiente del tiempo, en que la dimensión característica corresponde al ancho (H = 2h) del microcanal, despreciando el efecto de la profundidad (profundidad << H) y que el fenómeno físico de EKI, visto durante el experimento, manifiesta variación únicamente en el plano XY.

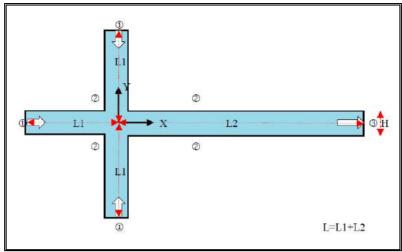


Figura 3.8. Dominio computacional del microcanal modelo X3550 para el estudio de EKI.

Tabla 3.7. Condición de borde adoptada en el dominio computacional para la simulación de EKI.

Ecuación	Condición de borde y condición inicial
	$C(x,y) _{t=0} = 0$
Conservación de especie	$\odot$ C = entrada
iónica	$\Im C = \text{salida}$
	$②$ no flujo, $\mathbf{n} \cdot \nabla C = 0$
Conservación de momentum y ecuación de continuidad	$\begin{aligned} p(x,y) _{t=0} &= 0, \textbf{V}(x,y) _{t=0} &= 0\\ & & \textcircled{1} \ y \ \textcircled{3} \ p = p_0 \end{aligned}$ $ \textcircled{2} \ U_{eof} \ velocidad \ de \ deslizamiento \ definido \ por \ \zeta(C) $
Conservación de corriente	$\begin{aligned} \phi(x,y) _{t=0} &= 0 \\ & \oplus \phi = \phi_{ext} \\ & \oplus \phi = 0 \end{aligned}$
eléctrica	
	⊕ distaction electrica, <b>II</b> · <b>J</b> = 0

La **Figura 3.8** muestra el dominio computacional del microcanal de sección cruzada empleado para el proceso de validación de  $\gamma$ . El origen del eje x-y está ubicado en el centro del microcanal. Los bordes del dominio están enumerados de acuerdo con el sentido horario, correspondiendo ① y ③ como salida y entrada del microcanal, respectivamente, mientras ② es considerado como muro. Las condiciones de bordes adoptadas para la simulación de EKI están resumidas en la **Tabla 3.7**. En ella, **n** indica dirección normal al muro. Además, se considera un proceso isotérmico y la presión del sistema como presión atmosférica constante

 $(\Delta p = 0)$ ; el movimiento del fluido es inducido solo por el campo eléctrico aplicado y no por el gradiente de presión.

Para considerar el modelamiento del EDL en la superficie del microcanal se requiere concentrar un mallado sumamente denso en la zona cercana a la pared, incrementando el costo computacional de cómputo (Park and Lee 2008). Una forma efectiva de simplificar el modelamiento de EDL sin perjudicar su efecto en la simulación, fue propuesta por Patankar and Hu (1998), en la cual plantean introducir en la pared del microcanal una condición de velocidad de deslizamiento con la ecuación de Helmholtz-Smoluchowski (ueof) en reemplazo de la condición de no deslizamiento, (**Figura 3.9**). De esta forma, es posible simplificar dentro de la ecuación de la conservación de especie iónica el término de electromigración sin alterar la velocidad del flujo EOF.

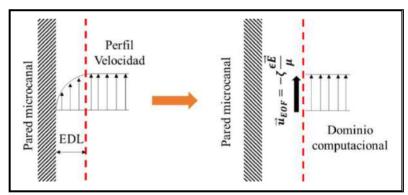


Figura 3.9 Simplificación de EDL en la simulación computacional.

Precisamente como  $u_{eof}$  está en función del  $\zeta$  y del campo eléctrico externo aplicado  $\mathbf{E}_{ext}$ , en vista de lo anterior se justifica la introducción del potencial zeta variable en función de la concentración  $\zeta(C)$ , puesto que constituye un parámetro fundamental dentro del número  $\gamma$  para la predicción de EKI. Durante el ensayo de EKI se ha observado que, a la raíz de la inestabilidad de flujo, un proceso de mezclado es producido dentro del microcanal. Como resultado, el flujo a la salida presenta una variación de la conductividad eléctrica  $\sigma$ . Basado en los resultados experimentales del comportamiento lineal de  $\sigma$  en función de C, se introduce la Expresión (3.14) para cuantificar la variación de la conductividad eléctrica dentro del dominio computacional.

$$\sigma(C') = \sigma_{H} \left( \frac{C'}{C_{ref}} \right) + \sigma_{L} \left( 1 - \frac{C'}{C_{ref}} \right)$$
(3.15)

En la Expresión (3.15),  $\sigma_H$  y  $\sigma_L$  son las conductividades eléctricas (determinada experimentalmente) de los electrolitos con alta y baja concentraciones de iones, respectivamente. C' es la concentración normalizada entre 1 y 0, con C' = 1 para la zona de alta concentración y C' = 0 para la zona con baja concentración. Se fija  $C_{ref} = 1$ . Así, para el caso de un microcanal completamente lleno con electrolito de alta concentración (C' = 1), la conductividad resultante será de conductividad alta  $\sigma(C') = \sigma_H$ . Por el contrario, cuando C' = 0, entonces dentro del microcanal solo tendría conductividad baja  $\sigma(C') = \sigma_L$ . Finalmente, para un caso intermedio resultante del proceso de mezclado 0 < C' < 1, la conductividad resultante también estaría entre un valor intermedio de  $\sigma_L < \sigma(C') < \sigma_H$ .

Como resultado, el modelo numérico propuesto corresponde a un modelo semi-empírico altamente no lineal, que permite el modelamiento de EKI que, a su vez, logra capturar también la variación de los parámetros que caracteriza el fenómeno, tales como la conductividad eléctrica y potencial zeta.

### 3.7 RESULTADO NUMÉRICO

La simulación fue realizada y resuelta usando el método de elementos finitos por medio de un software comercial, COMSOL Multiphysics ® versión 5.4. Como esquema de revolvedor se optó por uno de acoplamiento completo de las ecuaciones, debido al carácter altamente no lineal del modelo. El tiempo de simulación t se estableció de acuerdo con la escala de la velocidad como  $t=2L/u_{eof}$  para asegurar un flujo completamente desarrollado y estabilizado. Adicionalmente, se realizó un estudio de tamaño del mallado para asegurar que los resultados obtenidos fuesen independientes de la discretización; como resultado se optó por una malla de elementos triangulares de 5  $\mu$ m (> 2.5  $\mu$ m, satisfaciendo la condición

de continuo entre los elementos discretizado) (Tabla 3.8).

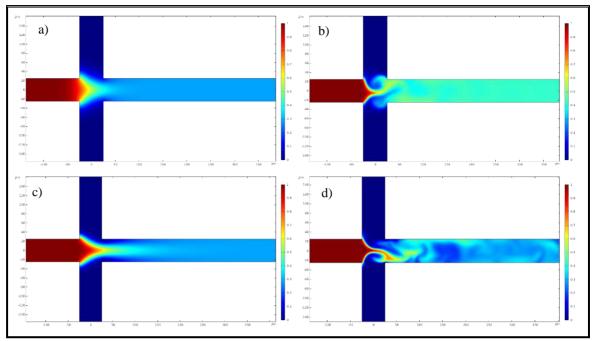
Tabla 3.8. Error relativo para estudio de convergencia de los resultados.

Tamaño del elemento	Velocidad electro- cinético promedio,	Error relativo	
ciemento	cm/s		
25um	139.30		
20um	139.84	0.38%	
10um	140.07	0.16%	
5um	140.17	0.07%	

La **Tabla 3.8** muestra el resultado del estudio independencia de malla; en ella se observa que, para una malla compuesta por elementos triangulares de tamaño de 5 μm, la velocidad media del flujo electrocinético presenta una convergencia en los resultados, obteniendo un error relativo de orden de 0.07% concluyendo, de esta manera, la correcta convergencia del resultado obtenido.

### 3.7.1 Validación de la simulación

En esta sección se presenta el método de validación del modelo numérico propuesto; para ello se realiza una simulación introduciendo los mismos parámetros y geometría del microcanal utilizado en el ensayo experimental.



**Figura 3.10.** Resultados numéricos del modelo propuesto para la predicción de EKI. Imagen a) caso NaCl,  $E_{\rm ext} = 230 \, {\rm V/cm}$ . Imagen b) caso NaCl,  $E_{\rm ext} = 869.57 \, {\rm V/cm}$ . Imagen c) caso KCl,  $E_{\rm ext} = 382.5 \, {\rm V/cm}$ . Imagen d) caso KCl,  $E_{\rm ext} = 1175 \, {\rm V/cm}$ . Barra de color lateral indica la concentración adimensional.

La **Figura 3.10** muestra los resultados de esta simulación. Las imágenes a) y b) corresponden a los casos de flujo simulados con soluciones de NaCl y campos eléctricos de 230 V/cm y 869.57 V/cm, respectivamente. Las imágenes c) y d) corresponden a casos con KCl con campos eléctricos aplicados de 382.5 V/cm y 1175 V/cm, respectivamente. En todas ellas, los parámetros de simulación introducidos corresponden a los mismos utilizados en los ensayos experimentales correspondientes. En ellas, se observan que los patrones de flujos presentan buena correlación con respecto a los resultados experimentales, donde el flujo de patrón uniforme y ordenado ocurre para campos eléctricos bajos (230 V/cm y 382.5 V/cm). Y el patrón de flujo inestable es producido a campos eléctricos altos (869.57 V/cm y 1175 V/cm). Ambos efectos son independientes del tipo de electrolitos al igual que los observados durante el experimento.

Además, en esas imágenes se observan que, a la salida del microcanal, se produce una variación de la conductividad eléctrica debido al proceso de mezclado; dicho efecto es mucho más notorio para el segundo escenario en donde se produjo EKI. De los trabajos previos revisados, la condición de potencial zeta constante es ampliamente asumida y adoptada para la simulación de EKI (Li, Delorme and Frankel 2016; Luo 2009; Yarn et al. 2009; Shin, Kang and Cho 2005; K. H. Kang et al. 2006). Dada la evidencia experimental mostrada en la variación de potencial zeta, y siendo este un parámetro fundamental para la predicción de EKI, se realizó un estudio numérico adicional para estudiar su influencia dentro del modelo predictivo. Para ello se consideraron dos simulaciones: la primera usando potencial zeta variable y en la segunda se aplicó un potencial zeta constante; el resto de las variables se mantuvo constante ( $\sigma_{\rm H}/\sigma_{\rm L}=10.6$ , y  ${\bf E}_{\rm ext}=338~{\rm V/cm}$ ) (**Figura 3.11**).

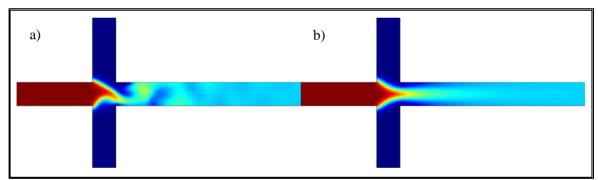


Figura 3.11. Resultados numéricos estudio de condición de borde para EKI. Imagen a) resultado con potencial zeta constante  $\zeta = -73.95 \text{mV}$ . Imagen b) resultado considerando potencial zeta variable según la concentración  $\zeta(C)$ . Para ambos casos se mantuvieron constante la relación de conductividad  $\sigma_H/\sigma_L=10.6$  y un campo eléctrico  $E_{ext}=338 \text{ V/cm}$ .

Los resultados de estas simulaciones se muestran en la **Figura 3.11**. Para ambos casos, evaluando el valor  $\gamma$  usando la Expresión (3.16), considerando una variación espacial y temporal de  $\zeta = \zeta(x,t)$ , dado que el proceso del mezclado de ambos electrolitos es dinámico. Como resultado, se tiene un valor de  $\gamma = 7.27$  para ambos casos. En la figura a), al considerar el potencial zeta constante resulta un flujo inestable a bajo potencial eléctrico; dicho patrón de flujo es contradictorio con las evidencias experimentales presentadas. A diferencia de la figura b), en ella se muestra un patrón de flujo uniforme correspondiente a un valor de  $\gamma$  bajo, presentando una mayor correlación con respecto a los resultados experimentales. En

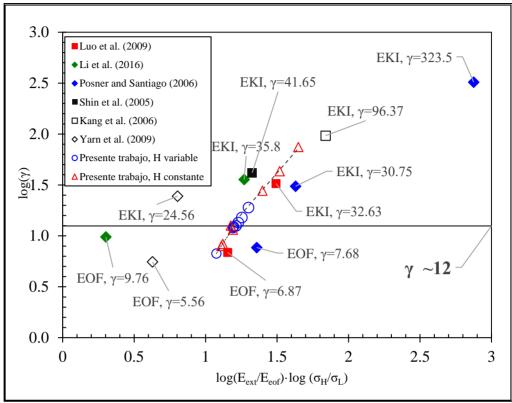
base a este resultado, se establece que, para la simulación y caracterización del flujo inestable (EKI), no es recomendable considerar un valor de zeta potencial constante dado que, bajo este escenario, se estaría subestimando el efecto electroosmótico del potencial zeta, entregando como resultado un flujo poco representativo con respecto a la física experimentada.

$$\gamma_{\text{num\'erico}} = \text{Re} \frac{\mathbf{E}_{\text{ext}} \, \mathbf{h}}{\zeta(\mathbf{x}, t)} \frac{\sigma_{\text{H}}}{\sigma_{\text{L}}}$$
 (3.16)

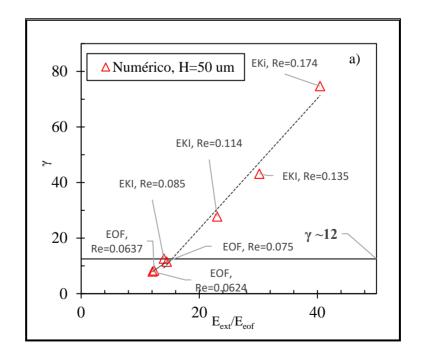
Tabla 3.9. Comparación resultados experimentales y numéricos de número γ.

	ζ, mV	γ	ζ, mV	γ	
Escenario	Numérico	Numérico	Experimental	Experimental	Diferencia
	promedio	promedio			
a)	-35.34	3.01	-31.57	3.10	2.9%
b)	-28.02	49.98	-31.57	48.23	3.63%
c)	-86.97	7.88	-80.55	8.97	12.12%
d)	-78.37	75.52	-80.55	84.61	10.74%

La **Tabla 3.9** muestra un resumen de la evaluación del  $\gamma$  para los escenarios a), b), c) y d), considerando una variación espacial y temporal del potencial zeta. En comparación con respecto al  $\gamma$  estimado experimentalmente, se observa una diferencia máxima aproximadamente de 12% entre los casos analizados, que se asocia principalmente a la variación dinámica de  $\zeta$  durante el proceso de mezclado. Además, al considerar un potencial zeta constante como el promedio aritmético entre los dos electrolitos entrantes, sugerido inicialmente por K. H. Kang, se estaría subestimando el efecto de la fuerza electroosmótica. A partir de estos resultados, se concluye que el modelo propuesto es válido para simular un flujo electroosmótico uniforme y con inestabilidad electrocinética (EKI).



**Figura 3.12.** Gráfico resumen comparación número γ resultados reportados por autores de la literatura y resultados propios del presente trabajo. Círculo y triángulo vacío corresponden a estudio numérico con microcanal con H variable y constante, respectivamente.



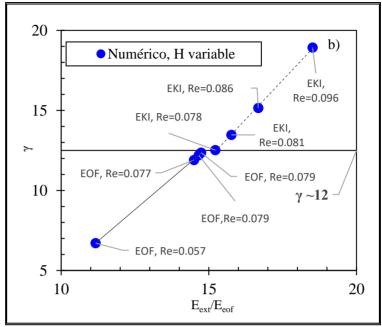


Figura 3.13. Gráfico comparación número  $\gamma$  versus relación de campo eléctrico. Imagen a) corresponde a estudio numérico con microcanal con H constante (H = 50 um). b) corresponde a estudio número con H variable, en ambos estudios  $\frac{\sigma_H}{\sigma_L}$  =10.62.

La **Figura 3.12** muestra una gráfica resumen con los números  $\gamma$  y sus respectivos flujos, en ella se observa que tanto los resultados reportados como los propios presentan un comportamientos y tendencias similares, donde la mayoría de los resultados están agrupados en torno a una misma tendencia en donde, el flujo uniforme de tipo EOF ocurre cuando el número  $\gamma$  es inferior al umbral cercano a ~12. En cambio, cuando  $\gamma$  es superior al valor umbral el flujo resultante es de carácter inestable EKI. Un análisis más detallado de este fenómeno se muestra en la **Figura 3.13** imágenes a) y b), en ellas se observan que cercano a  $\gamma$  ~12 existe una discontinuidad en la tendencia de  $\gamma$ , Por lo que, se puede suponer que dicho valor umbral guarda relación con la ocurrencia de EKI.

Además, a modo de comparación con estudios previos de EKI, se evaluó a partir de los resultados numéricos, el número de Rayleigh eléctrico  $Ra_e$ , criterio previamente utilizado por Posner y Santiago en su trabajo experimental para la caracterización y predicción de EKI, proponiendo como valor umbral a  $Ra_{e,c} = 205$  (Posner and Santiago 2006).

**Tabla 3.10.** Comparación de resultados número  $\gamma$ , y  $R\alpha_{\rho}$ .

	γ	$Ra_e$	Pa
Flujo	Numérico	Presente	$Ra_{e,c}$
	promedio	estudio	(Posner and Santiago 2006)
Uniforme	7.88	196	205
EKI	12.63	258	203

La **Tabla 3.10** muestra el resultado de esta comparación; en ella se observa que los casos ensayados y simulados de flujo uniforme y flujo con EKI y junto con el número  $\gamma$ , presentan buena concordancia con la teoría propuesta por Posner y Santiago. Se observa para el caso de un flujo uniforme  $\gamma = 7.88$ , correspondiendo a un valor de  $Ra_e = 196 < 205$ . De la misma manera, para el caso de flujo con EKI  $\gamma = 12.63$ , y un número  $Ra_e = 258 > 205$ . Ambos escenarios satisfacen la teoría propuesta por Posner y Santiago. A partir de estos resultados, se concluye que la magnitud del número  $\gamma$  guarda relación con respecto a la ocurrencia de EKI, validando así el uso de  $\gamma$  como un criterio para la caracterización de EKI y, posteriormente, para el diseño de un micromezclador compuesto con microcanales.

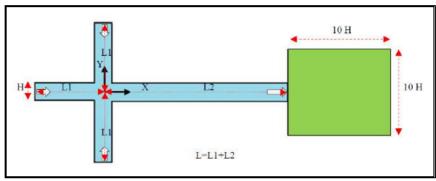
#### 3.7.2 Diseño de micromezclador basado en el número y

En esta sección se presentan los resultados del estudio del diseño de un micromezclador basado en el número adimensional  $\gamma$ , realizando un estudio de escalamiento de los parámetros de funcionamiento según  $\gamma$ , con el objetivo de optimizar el diseño del micromezclador.

*Tabla 3.11.* Resultados del estudio de escalamiento usando γ.

Grupo	h/L	E <sub>ext</sub> , V/cm	Potencial eléctrico, V	$\sigma_{H}/\sigma_{L}$	γ	Diferencia
Control	6.25×10 <sup>-4</sup>	1175	4700	10.60	75.52	
1)	0.010	1175	293.75	10.60	74.86	0.87%
2)	0.019	1175	154.6	10.60	70.26	6.96%
3)	0.019	1457	191.71	6.89	70.64	6.46%
4)	0.025	2411	241.1	2.52	70.09	7.19%

La **Tabla 3.11** muestra los resultados numéricos del estudio de escalamiento, tomando como control el caso experimental. Con ella, se pudo obtener y simular usando diferentes combinaciones de los parámetros que forman el número  $\gamma$ , entre ellos, el tamaño del microcanal y la relación de conductividad. Como resultado, fue posible simular el flujo inestable bajo un mismo orden de magnitud de  $\gamma$  (diferencia < 7%), demostrando así la posibilidad de un escalamiento en la geometría del microcanal para el diseño del micromezclador.



**Figura 3.14.** Dominio computacional del micromezclador propuesto, diseño basado en la geometría original del microcanal X3550.

**Tabla 3.12.** Dimensiones del micromezclador propuesto, resultado del escalamiento con  $\gamma$ .

Н	L1	L	H	L1	L	,
propuesto,	propuesto,	propuesto,	X3550,	X3550,	X3550,	Reducción
μm	μm	μm	μm	μm	μm	
50	311	2500	50	5000	40000	93.75%

La **Figura 3.14** muestra el diseño del micromezclador realizado; en ella se propone una reducción de 93.75% del largo del microcanal con respecto al largo original ensayado (microcanal X3550). Para esta nueva propuesta, se incorpora una cámara de mezclado en la parte final del microcanal (señalizado con color verde), simulando ser un reservorio para contener la muestra final, donde se realizará el análisis del estado de la muestra una vez finalizado el proceso de mezclado. La **Tabla 3.12** muestra un cuadro resumen de las principales dimensiones del diseño propuesto y la tasa de reducción con respecto a la geometría original (microcanal X3550).

#### 3.7.3 Análisis de resultados

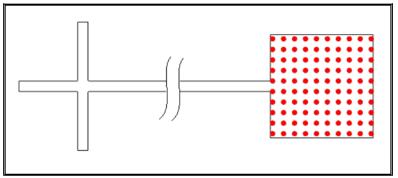
Se realizaron simulaciones numéricas con diferentes patrones de flujo determinado por distintos valores de  $\gamma$  para evaluar la efectividad del micromezclador propuesto. Las condiciones de contornos introducidas en el microcanal corresponden idénticamente a las utilizados para la validación del modelo. Salvo el dominio computacional de la cámara de mezclado (color verde), en ella se emplea una condición de borde de no deslizamiento ( $\mathbf{V} = 0$ ), y pared impenetrable ( $\mathbf{n} \cdot \nabla C = 0$ ) para la ecuación de conservación de momentum, y conservación de especies, respectivamente. El campo de velocidad y de concentración en su interior se obtiene a partir de la salida del microcanal. Para evaluar la efectividad del mezclado en el dominio 2D, se empleó el concepto de varianza de homogeneidad de la mezcla introducido por Suh Y. K. (2006) y ratificado por J. Kang, Heo and Suh (2008) en su forma de término absoluto, Ecuación (3.17).

$$CV = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i, j}^{N} \left(1 - \frac{C(i, j)}{\overline{C}}\right)^2}$$
 (3.17)

La Ecuación (3.17) es la expresión original para cuantificar la calidad de la mezcla que se interpreta como: un menor CV indica una mayor uniformidad en la mezcla (menor varianza). Tomando en cuenta que la concentración, además de presentar una variación espacial, también presenta una variación temporal, se realizó una modificación a la expresión original, incorporando el término temporal en su evaluación y, para una mayor claridad de entendimiento, se define el concepto de índice de mezclado  $\theta(i, j, t)$  en porcentaje, como el valor complementario de la varianza, Ecuación (3.18).

$$\theta = \left\{ 1 - \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i, j}^{N} \left( 1 - \frac{C(i, j, t)}{\overline{C}} \right)^{2}} \right\} \times 100\%$$
 (3.18)

En la expresión (3.18),  $\theta$  es el índice de mezclado expresado en porcentaje, con C(i,j,t) a la concentración dentro del dominio de interés. En este caso, i, j y t corresponden a las coordenadas en x e y de los puntos de muestreo dentro del dominio o región de interés y el instante a evaluar, respectivamente. N es la cantidad de puntos de muestreo dado como  $N = i \times j$ .  $\overline{C}$  es el valor de la concentración de referencia para una mezcla perfecta ( $\overline{C} = 0.5$ ) (J. Kang, Heo and Suh 2008; Yarn et al. 2009). Para este estudio se establece una distribución uniforme de 100 puntos de muestreos, N = 100 (**Figura 3.15**).



**Figura 3.15.** Distribución de los puntos de muestreos (puntos rojos) para el estudio de la calidad de mezclado en el micromezclador propuesto.

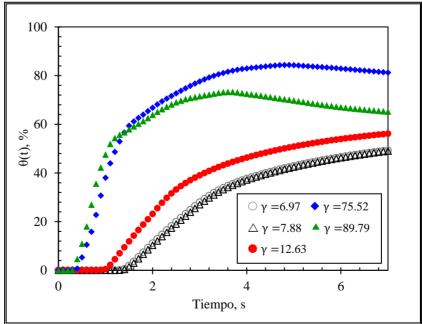
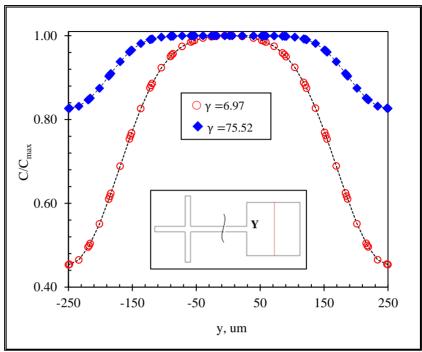


Figura 3.16. Evolución temporal de  $\theta$  para diferentes  $\gamma$  estudiados. Los símbolos  $\bigcirc$  y  $\triangle$  corresponden a casos con flujo uniforme. Los símbolos rellenos ( $\bullet$ ,  $\diamond$  y  $\blacktriangle$ ) corresponden a casos de flujo con EKI desarrollado.

Como resultado se espera que el proceso de mezclado al interior de la cámara sea optimizado por el efecto de EKI, alcanzando una mezcla homogénea en un corto tiempo. La **Figura 3.16** muestra la evolución temporal de  $\theta$  bajo diferentes regímenes de flujo en función del número característico  $\gamma$ . Se observa que, mientras el flujo introducido es de tipo uniforme y ordenado (bajo número  $\gamma$ ), el proceso de mezclado asociado a este tipo de flujo esté limitado a un bajo valor de  $\theta$ . En la misma gráfica se advierte que el tiempo necesario para que la muestra alcance una mezcla cercana a  $\theta$  =33%, con un flujo uniforme, es de 4 segundos. En cambio, para un mismo instante de 4 segundos, con  $\gamma$  = 12.63, 75.52 y 89.79, la mezcla logra alcanzar una calidad de  $\theta$  = 46%, 82% y 72%, respectivamente, lo que significa una optimización en tiempo de mezcla entre un 38% y 148%.

En la misma gráfica, llama la atención que existe un cruce de comportamiento de  $\theta$  para  $\gamma = 75.52$  y  $\gamma = 89.79$ . Ottino (1989) describe que el mecanismo de mezclado está compuesto por dos acciones: estiramiento (Stretching) y doblamiento (Folding) del fluido que, para el caso de un flujo con alta inercia rotacional, el mecanismo de doblamiento puede verse afectado, disminuyéndose así la calidad de la mezcla (Ottino 1989). Este efecto se observa en el último caso en que, producto de la alta velocidad e inercia del flujo, una porción de solución estaría confinada dentro de una línea de corriente, restringiendo su interacción con el resto de la solución, disminuyendo así la calidad de la mezcla.



**Figura 3.17.** Perfil de concentración normalizada en dirección Y desde el centro de la cámara de mezclado. Símbolo  $\bigcirc$  es para  $\gamma = 6.97$  y  $\diamondsuit$   $\gamma = 75.52$ , ambos para t = 5 seg.

Tabla 3.13. Cuadro de resumen de índice de mezclado según el número γ.

Egganavia	γ	θ	Tina da fluia
Escenario	Numérico	Promedio, %	Tipo de flujo
a)	6.97	33.19	Uniforme
b)	7.88	32.60	Uniforme
c)	12.63	41.04	EKI
d)	75.52	76.95	EKI
e)	89.79	66.33	EKI

Analizando la calidad de la mezcla mediante la utilización del perfil de la distribución de especie normalizada con el valor máximo para los dos regímenes de flujos producidos (flujo uniforme y flujo inestable), en la **Figura 3.17** se aprecia que, con  $\gamma$  =6.97 y 7.88 producto del flujo uniforme y unidireccional, la distribución espacial de especies es muy poco homogénea; la mayoría está concentrada en el centro de la cámara,  $\frac{C}{C_{max}}$  =1.0, mientras que en los extremos solo alcanza un factor un poco mayor que 0.4. En cambio, para  $\gamma$  alto, el flujo producido es de carácter inestable (EKI); este flujo presenta variaciones en las direcciones x e y, dentro del microcanal, logrando así una mejor distribución espacial de las

especies, con un factor  $\frac{C}{C_{max}}$  =0.8 en los extremos de la cámara, mejorando casi el doble la homogenización de la muestra dentro de la cámara de mezclado. Finalmente, en la **Tabla 3.13** se muestra el resumen de  $\theta$  promedio temporal, clasificado según el número adimensional  $\gamma$ . El  $\theta$  promedio muestra la tendencia de la calidad de la mezcla que puede alcanzar al final del proceso. Se observa que, para un flujo estable, la mezcla alcanza una calidad entre 32% y 33%. Mientras que para flujo con EKI, la mezcla presenta una calidad entre 41% a 76%, lo que significa una mejoría de 28% y 130%, respectivamente.

### 3.8 CONCLUSIÓN PRELIMINAR.

Se logró determinar y verificar, por medio del ensayo experimental y estudio numérico, un término adimensional ( $\gamma$ ) para la caracterización del fenómeno de la inestabilidad de flujo electrocinético (EKI). El número adimensional  $\gamma$  desarrollado involucra aspectos de relación geométrica (h/L), relación de propiedad física (conductividad eléctrica ( $\sigma_H/\sigma_L$ ), el potencial zeta  $\zeta$  y el potencial eléctrico  $\varphi$  aplicado. El número  $\gamma$  propuesto y el modelo numérico fueron validados con una serie de ensayos experimentales propios y, posteriormente, se extendió con resultados reportados en la literatura. Como resultado, se comprueba la validez del parámetro propuesto para la caracterización y predicción de EKI para todos los casos reportados, tanto por método numérico como experimental.

Además, con el parámetro γ se logró realizar un estudio de escalamiento geométrico del microcanal, reproduciendo el mismo tipo de patrón de flujo en una geometría de microcanal de menor tamaño con respecto al original (una reducción cercana a 94%). Finalmente, con la reducción del microcanal, se pudo plantear una propuesta de diseño de micromezclador para el estudio de diferentes niveles de mezclado en función del parámetro γ, estableciendo diferentes niveles de mezclado acorde a la intensidad de EKI según el parámetro γ, llegando a obtener en la salida del microcanal una mezcla con 76.9% de homogeneidad con flujo EKI versus un 33.19% con flujo uniforme, comprobando y cumpliendo los objetivos planteados del presente trabajo de demostrar que es posible optimizar el proceso de mezclado y de manera controlada por medio de un flujo inestable (EKI).

# 4. ESTUDIO Y CARATERIZACIÓN DE ISOTACOFORESIS.

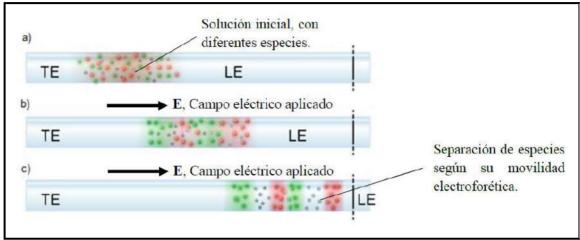
#### 4.1 ESTADO DEL ARTE

Isotacoforesis (ITP en su siglas en ingles Iso Tacho Phoresis) es un método electroforético eficaz para la preconcentración, separación y posterior análisis de compuestos, comúnmente usado para la detección de partículas orgánicas, péptidos de tamaño mediano y macromoléculas como proteínas (Liu and Ivory 2013). Es una técnica de separación, preconcentración para posterior extracción de una muestra simple y robusta; no requiere del uso de reactivos químicos o biológicos (Cui, Dutta and Ivory 2007; Jung, Bharadwaj and Santiago 2006). Su uso en la detección de proteína en tubos capilares ha sido extensivamente explorado por más de veinte años (Cui, Dutta and Ivory 2007). Utiliza un sistema de electrolitos discontinuo en el que las movilidades electroforéticas de las partículas objetivo son más bajas que las del ion principal o líder (LE del inglés, f) y más altas que las del ion terminal (TE Terminal Electrolyte). Estas partículas de interés pueden estar disueltas entre los electrolitos LE o TE y/o simplemente estar disueltas en ambas (Liu and Ivory 2013). Su principio de aplicación está basado en la movilidad electroforética efectiva de las partículas o iones,  $\eta_{elec}$ , definido como la constante de proporcionalidad entre el campo eléctrico aplicado, E y la velocidad de desplazamiento de los iones, Uelf (Salager 1998; Persat, Chambers and Santiago 2009), definida en la Expresión (4.1).

$$\eta_{elec} = \frac{U_{elf}}{E} \tag{4.1}$$

El proceso de separación por ITP constituye un proceso que limita el movimiento de los iones de carga similar bajo un mismo espectro de velocidad, caracterizado por el  $\eta_{elec}$  (Smejkal et al. 2013). Esta técnica de separación necesita utilizar dos soluciones de electrolitos, una de alta y otra de baja movilidad, LE y TE, respectivamente. Este conjunto de soluciones, una vez sometido bajo un campo eléctrico, establece un gradiente de campo eléctrico entre LE y TE, limitando el movimiento de las partículas o iones de interés dentro

de ella, logrando así su separación en función de cada  $\eta_{elec}$ . Este proceso se puede realizar en capilares de reducido tamaño, en microcanales o en dispositivo "lab on a chip" (Smejkal et al. 2013; Garcia-Schwarz et al. 2012).



**Figura 4.1** Esquema ilustrativo del proceso de separación por ITP. a) Solución inicial, b) Inicio del proceso y c) Separación de las especies por estrato de igual velocidad.

Fuente: http://microfluidics.stanford.edu/Projects/Archive/MobilityMarkers.html.

El esquema de la **Figura 4.1** muestra la secuencia de separación y preconcentración de partículas de interés mediante el proceso de ITP. La mayoría de los estudios o investigaciones sobre ITP están focalizado en la detección de sustancias orgánicas y biológicas, tales como proteínas y ácido nucleico, por citar algunos. Huang et al. (2005) desarrollaron un chip de vidrio con microcanal para la separación y detección de cuatro proteínas marcadas con fluorescencia, utilizando el proceso de ITP. Liu et al. (2006), con un chip similar, lograron la genotipificación del virus de la hepatitis B mediante la técnica de ITP. Persat, Marshall and Santiago (2009), mediante la técnica de ITP, concentraron ácidos nucleicos dentro de una muestra de sangre para su posterior análisis con PCR. Por otra parte, Prest y Baldock (1999) introdujeron el concepto de detección de partículas no biológicas, usando un chip de PDMS de un solo canal en forma de T con un electrodo de platino-iridio integrado y voltaje constante ente los reservorios (1 kV), con lo que lograron separar una mezcla de sodio y potasio disuelto.

En 2002 se utilizó el mismo enfoque de ITP para la separación de cationes metálicos, requiriendo de la mitad del tiempo usado en un sistema capilar; se colocó un electrodo de detección de la conductividad en un extremo del canal, la muestra se inyectó desde el cruce y aplicando voltaje constante para generar el proceso de ITP. Como resultado, se detectó la migración de cationes metálicos (Na<sup>+</sup>, Li<sup>+</sup>) hacia el reservorio del cátodo. El interés del presente trabajo es seguir esta última línea investigativa de realizar un estudio para pre concentrar y detectar la presencia de partículas metálicas dentro de una muestra, debido a que la efectividad del proceso de ITP depende fuertemente de la correcta selección de los electrolitos líder y terminal (LE y TE). Como objetivo del trabajo es plantear un estudio empleando simulación numérica con método de elementos finitos y en combinación con trabajo experimental para establecer un criterio de selección de LE y TE para el proceso de preconcentración y detección por ITP.

### 4.2 ECUACIÓN GOBERNANTE DE ITP

El modelo numérico propuesto para la simulación del proceso de IPT consta de un sistema de ecuaciones diferenciales compuesto por cuatros leyes de conservación: conservación de especies iónicas, Ecuación (4.2). En este caso, la ecuación conserva íntegramente el término electro migratorio, donde, η<sub>eleci</sub> es la movilidad electroforética efectiva de la especie i. Conservación de momentum lineal, Ecuación (4.3), conservación de masa para fluido incompresible y newtoniano conocido como ecuación de continuidad, Ecuación (4.4) y conservación de corriente eléctrica, ecuación (4.5), considerando un fluido newtoniano e incompresible, soluciones electrolíticas completamente homogéneas y uniformes, que no experimentan reacciones químicas y, además, un proceso isotérmico, en que no se genera un intercambio de energía significante en que logre modificar la temperatura de la muestra. En este caso particular, la corriente eléctrica J contempla los efectos conductivo, convectivo y difusivo de los iones, dados por la expresión (4.6).

$$\frac{\partial C_{i}}{\partial t} + \mathbf{V} \cdot (\nabla C_{i}) = -\eta_{\text{elec}_{i}} \nabla \cdot (C_{i} \nabla \varphi) + \nabla \cdot (D_{i} \nabla C_{i})$$
(4.2)

$$\rho \left( \frac{\partial \mathbf{V}}{\partial t} + \mathbf{V} \cdot (\nabla \mathbf{V}) \right) = -\nabla p + \mu_f \nabla^2 \mathbf{V} + \rho_f \mathbf{E}$$
(4.3)

$$\nabla \cdot \mathbf{V} = 0 \tag{4.4}$$

$$\frac{\partial \rho_{e}}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{J} = 0 \tag{4.5}$$

$$\mathbf{J} = \mathbf{F} \left[ \mathbf{E} \sum_{i} \mathbf{z}_{i} \, \eta_{\text{elec}_{i}} \, \mathbf{C}_{i} + \mathbf{V} \sum_{i} \mathbf{z}_{i} \, \mathbf{C}_{i} - \sum_{i} \mathbf{z}_{i} \, \mathbf{D}_{i} \, \nabla \, \mathbf{C}_{i} \right]$$

$$(4.6)$$

Además, se considera la relación de Nernst-Einstein para cuantificar el coeficiente de difusión de la especie  $D_i$  por medio de la movilidad electroforética  $\eta_{elec_i}$ , Expresión (4.7), donde R es la constante universal de los gases, T es la temperatura en grados Kelvin,  $z_i$  es la valencia del ion y F es la constante de Faraday.

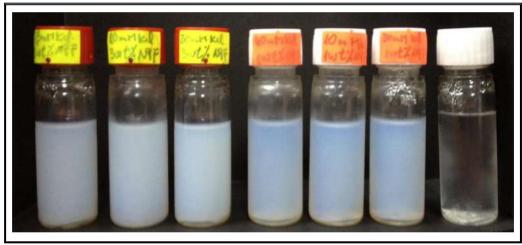
$$D_{i} = \frac{\eta_{\text{elec}_{i}} R T}{F z_{i}}$$
(4.7)

# 4.3 ESTUDIO DEL PROCESO DE SEPARACIÓN POR ITP

Para llevar a cabo el estudio de separación por ITP, se efectuó una serie de ensayos experimentales para la preparación y caracterización de las muestras bajo condiciones de temperatura controlada. En conjunto con la realización de simulaciones numéricas, se evaluarán y estudiarán los parámetros más significativos del proceso. Estos resultados serán presentados en las secciones subsiguientes.

### 4.3.1 Preparación de la solución a ensayar

Una serie de soluciones (NPF), compuesta por nanopartículas de óxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) y electrolito de KCl, fue preparada y caracterizada para realizar ensayo de ITP. En total, se prepararon diez muestras de soluciones con 1 wt% y 3 wt% (fracción de peso) de concentración de TiO<sub>2</sub> con diferentes concentraciones de KCl para evaluar diferente grado de estabilidad y de movilidad electroforética. El uso de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> es debido a su gran nivel de estabilidad en suspensión lograda por más de treinta días después de haber sido preparada. Como resultado, se obtiene una solución de color blanca, en que su intensidad depende directamente de la concentración de TiO<sub>2</sub> agregada.

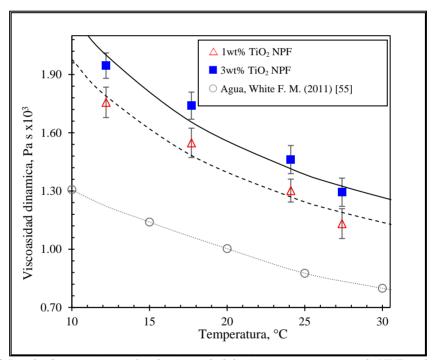


**Figura 4.2** Soluciones de TiO<sub>2</sub> preparadas y caracterizadas para el estudio de ITP. Imagen tomada 30 días posterior de la preparación.

En la **Figura 4.2** se observa que, luego de treinta días, las soluciones no presentan evidencia de sedimentación y/o aglomeración de partículas en el fondo de la botella, por lo que se concluye que las nanopartículas están estabilizadas, lo que hace ser un buen candidato para el ensayo de separación por ITP.

### 4.3.2 Caracterización de la solución a ensayar

Posteriormente, una vez lograda la estabilidad de la solución para la caracterización de la solución se realizaron mediciones de pH, potencial zeta, movilidad electroforética y viscosidad dinámica bajo control de la temperatura. La preparación y resultados de la medición están publicadas en el trabajo "Experimental investigation of viscosity, enhanced thermal conductivity and zeta potential of a TiO<sub>2</sub> electrolyte – based nanofluid". (D. Chen et al. 2020). De los resultados de la caracterización, se observó que la viscosidad dinámica de las soluciones preparadas con 1 wt% y 3wt% de TiO<sub>2</sub>, respectivamente, aumentaron en un 47.75% y 56.32% en comparación con agua pura a la misma temperatura (White 2011).



*Figura 4.3* Resultados experimentales de viscosidad dinámica para muestras de NPF en función de la temperatura. △ es para NPF con 1wt% TiO<sub>2</sub>; □ es para NPF con 3wt% TiO<sub>2</sub> y ○ es agua pura.

La **Figura 4.3** muestra el efecto de la concentración de nanopartículas agregadas al fluido base y la temperatura, sobre la viscosidad dinámica de los NPF. Se observa un comportamiento decreciente típico de la viscosidad dinámica en función de la temperatura. Además, también muestra que se obtuvo una viscosidad dinámica más alta para la muestra

con concentración de nanopartículas de 3%. Fenomenológicamente, el aumento de la viscosidad dinámica de los NPF fue una consecuencia directa de las nanopartículas agregadas al fluido base, debido a que la mayor concentración provocó una mayor resistencia al deslizamiento del fluido (D. Chen et al. 2020).

Por otra parte, la adición de nanopartículas de  $TiO_2$  causó una disminución del pH en la solución de  $2.4 \pm 0.2$  y  $1.6 \pm 0.2$  para soluciones de 1 wt% y 3 wt% de  $TiO_2$ , respectivamente. Esto es debido a que la reacción de partículas de óxido de metal en su mayoría genera soluciones ácidas, en donde el ion extra de hidrógeno se combina con el radical libre en la superficie de las partículas, produciendo una carga neta positiva y, en consecuencia, crea un potencial zeta positivo (Pak and Cho 1998), produciendo una movilidad electroforética de signo positivo.

Tabla 4.1. Movilidad electroforética de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> en solución de 1 wt%.

Movilidad electroforética n<sub>elec</sub> ×10<sup>8</sup>. m<sup>2</sup>

s V		
KCl mM	1 wt% de TiO <sub>2</sub>	
0.1	3.783	
1.0	3.956	
4.0	4.146	
10.0	4.378	
30.0	4.928	

Tabla 4.2. Movilidad electroforética de nanopartículas de Ti $O_2$  en solución de 3 wt%. Movilidad electroforética  $\eta_{elec} \times 10^8, \frac{m^2}{s\,V}$ 

3 wt% de TiO2
3.583
3.812
4.323
4.642
5.118

La **Tabla 4.1** y la **Tabla 4.2** muestran la movilidad electroforética de las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> registrada durante el ensayo. Valores que están directamente ligado al potencial zeta generado en la superficie de las nanopartículas.

# 4.4 SIMULACIÓN NUMÉRICA DE ITP

En esta sección, se presenta el estudio numérico de la ITP. En la sección 3.3 del presente trabajo se verificó el largo características mínimo que debe tener el dominio físico para satisfacer la teoría del medio continuo, (2.5 μm). Así, se propone que las dimensiones características del dominio computacional para describir el problema son: ancho (H =300 μm) y largo (L =0.02 m), dado que la zona de interés de estudio está ubicada en el seno de la solución, fuera de la EDL en el muro del microcanal. Así, para reducir el costo computacional en el modelamiento de ITP, se introduce como condición de borde la velocidad u<sub>elf</sub> como una condición de velocidad de deslizamiento en el muro, en reemplazo de la EDL. La simulación numérica efectuada es de carácter 2D dependiente en tiempo.

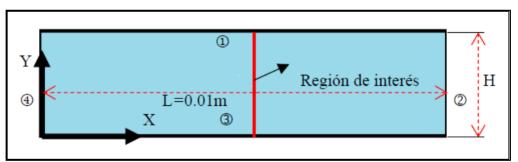


Figura 4.4 Dominio computacional de un microcanal recto para estudio del proceso de ITP.

Ecuación	Condición de borde y condición inicial
	$C(x,y) _{t=0} = C_{LE}$
Conservación de especie	$\oplus$ C = Entrada
iónica	② C = Salida
	① y ③ no hay flujo, $\mathbf{n} \cdot \nabla C = 0$
Conservación de momentum y ecuación de continuidad	$p(x,y) _{t=0} = 0, \mathbf{V}(x,y) _{t=0} = 0$ ① y ③ p = p <sub>0</sub>
	② $U_{eof}$ velocidad de deslizamiento definido por $\zeta(C) = 0$
	$\phi(x,y) _{t=0}=0$
Conservación de corriente	

eléctrica

 $\Im \varphi = 0$ 

② aislación electrica,  $\mathbf{n} \cdot \mathbf{J} = 0$ 

La Figura 4.4 muestra el dominio computacional del microcanal de sección constante empleado para el estudio del proceso de ITP. El origen del eje x-y está ubicado en la esquina inferior del microcanal. Los bordes del dominio computacional están enumerados de acuerdo con el sentido horario correspondiendo a: ① y ③ como muro, mientras ② y ④ son la salida y entrada, respectivamente. Las condiciones adoptadas para la simulación de ITP están resumidas en la **Tabla 4.3**. En ella, **n** indica dirección normal al muro. Además, se considera la presión del sistema como presión atmosférica constante (p = 0) y proceso isotérmico, por lo que el movimiento es inducido solo por el campo eléctrico aplicado y no por el gradiente de presión.

El modelo numérico propuesto presenta las siguientes simplificaciones: valencia constante para cada especie, no existen reacciones químicas entre las especies involucradas, por lo que no hay generación de especies o de calor; el efecto de EOF es eliminado debido a que el movimiento relativo es producido entre las partículas iónicas dentro de la muestra.

#### 4.4.1 Validación de la solución numérica

La simulación fue realizada por medio del método de elementos finitos usando el software comercial, COMSOL Multiphysics ® versión 5.4. Como se presentó en la sección anterior, el sistema gobernante a resolver está compuesto por un sistema de ecuaciones en derivadas parciales altamente no lineales. El tiempo de simulación t se estableció de acuerdo con la escala de la velocidad típica de la movilidad electroforética como:  $t = L/\eta_{elec} \cdot E^{-1}$ . Para la validación del modelo numérico propuesto se efectuaron varias simulaciones aplicando el mismo esquema de configuración y parámetros reportados por Cui, Dutta and Ivory (2007), en donde se estudia la separación y preconcentración de dos proteínas artificiales, identificada por los autores como proteína 1 y 2, respectivamente por medio de un campo eléctrico constante (E =5000 V/m).

Tabla 4.4. Cuadro de resumen de los parámetros para cada especie usado en la simulación.

	LE ion, Cl	Proteína 1	Proteína 2	TE ion, EACA
Concentración, mM	10	$5 \times 10^{-4}$	5× 10 <sup>-4</sup>	60
$\eta_{elec} \times 10^8$ , m <sup>2</sup> /V· s <sup>-1</sup>	7.91	5.5	1.8	0.47

La **Tabla 4.4** muestra los parámetros de movilidad electroforética y la concentración inicial de las proteínas mencionadas, que son utilizadas para la validación del modelo propuesto. La viscosidad y densidad de la solución se asumen constante y similar a la del agua a una temperatura de 25°C.

Además, se realizó un estudio del tamaño de la malla para asegurar que los resultados sean independientes del mallado del dominio computacional. De este estudio se muestra que, para una malla compuesta por elementos triangulares con tamaño promedio de 36 μm (> 2.5 μm), además de satisfacer la hipótesis del continuo, los resultados también presentan una convergencia en los resultados (concentración de la especie 1 a los 150 segundos), obteniendo un error relativo del orden de 0.31%, (**Tabla 4.5**).

Tabla 4.5. Error relativo para estudio de convergencia de los resultados.

Tamaño del elemento	Concentración	Error
Tamano dei elemento	especie 1, mM	relativo
80um	0.0316	
67um	0.0318	0.63%
50um	0.0319	0.31%
36um	0.0320	0.31%

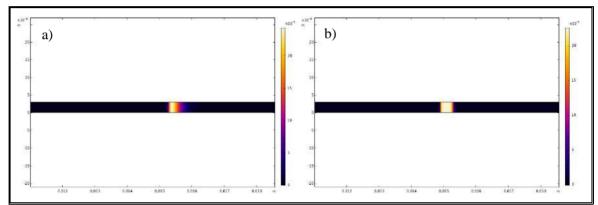


Figura 4.5 Secuencia del proceso ITP Para la separación y concentración de dos proteínas artificiales. Barra de color indica la concentración de la especie respectiva en mM. Imágenes a) y b) muestra las proteínas 1 y 2 respectivamente concentradas en una zona dentro del minicanal limitada por su movilidad electroforética.

La **Figura 4.5**, imágenes a) y b), muestra el resultado numérico del proceso de ITP para la separación y preconcentración de las proteínas artificiales 1 y 2 (resultado para 290 segundos). En ellas se observan que la separación y preconcentración de las proteínas artificiales 1 y 2, están claramente definidas y limitadas por los diferentes valores de la movilidad electroforética.

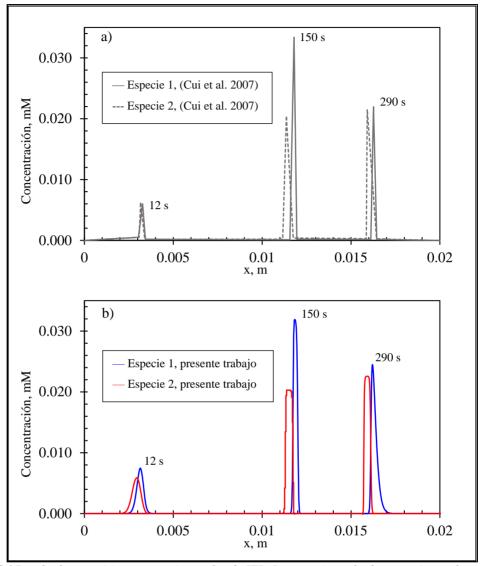


Figura 4.6 Resultados numéricos y experimentales de ITP. Imagen a) resultados experimentales reportados por (Cui, Dutta, and Ivory 2007) para la separación y concentración de dos proteínas artificiales. Imagen b) resultados de la simulación de separación y concentración por ITP con el modelo numérico propuesto con los parámetros de la Tabla 5.4.

La **Figura 4.6**, imágenes a) y b), presenta la comparación de los resultados numéricos obtenidos con el modelo propuesto con los reportados por Cui, Dutta and Ivory (2007). De acuerdo con los resultados obtenidos, dicho proceso comienza aproximadamente en los primeros 12 segundos, alcanzando la estabilidad en el segundo 290, donde la concentración alcanzada es de 0.024 mM y 0.022 mM para las proteínas artificiales 1 y 2, respectivamente. El error relativo máximo entre los resultados numéricos con respecto a los resultados reportados, no supera el 9.09%. En consecuencia, se verifica que el modelo numérico

propuesto es válido para simular con buena exactitud el fenómeno de ITP.

# 4.4.2 Caracterización de ITP para separación y concentración

En esta sección, se describen y se analizan los parámetros a considerar para que el proceso de separación y concentración vía el método de ITP pueda ser llevado a cabo de forma efectiva. Los resultados obtenidos en este estudio de caracterización serán utilizados en la propuesta y en el diseño de un método de detección de partículas metálicas basado en ITP de microcanal. Dentro de los parámetros analizados se encuentran el largo del microcanal L, el campo eléctrico E y la movilidad electroforética,  $\eta_{elec}$  del ion terminal TE, y del ion líder LE; las literaturas investigadas en su mayoría sugieren el uso del ion de cloruro, debido a que su  $\eta_{elec}$  es la más alta en comparación con otros aniones (Cui, Dutta and Ivory 2007). En cuanto a la relación del largo de microcanal L y el campo eléctrico E, ambos están asociados al potencial eléctrico aplicado mediante la relación  $E = -\nabla \phi$  (Halliday and Resnick 2011), donde φ corresponde al potencial eléctrico aplicado; cualquier cambio en uno de estos dos parámetros únicamente modificará el campo eléctrico E dentro del microcanal, en consecuencia, la velocidad electroforética de las partículas. Por otra parte, una modificación de TE implicaría un cambio de  $\eta_{elec}$  terminal, lo que afectaría directamente a la eficacia del proceso de ITP para pre concentrar y separar las partículas de interés del resto. Así, la correcta selección de TE es fundamental. De los resultados de este estudio se observa que una menor movilidad  $\eta_{elec}$  efectiva de TE conduce a una velocidad de enfoque de la especie objetivo de interés más rápida. Las imágenes a), b), c) y d) de la Figura 4.7 muestran los resultados numéricos del estudio de la caracterización del proceso de ITP para la separación de dos especies artificiales. Las imágenes a) y b) muestran los resultados de la distribución de las especies artificiales 1 y 2 bajo diferentes campos eléctricos aplicados, y el resto de los otros parámetros permanece sin modificación, a) E =2500 V/m y b) E =25000 V/m. Las imágenes c) y d) señalan los resultados de la distribución de las especies artificiales 1 y 2 bajo diferente condición de movilidad electroforética  $\eta_{elec_i}$ ; el campo eléctrico para este caso se mantuvo constante, E = 5000 V/m,

c)  $\eta_{TE} \ll \eta_{especie\; 2} < \eta_{especie\; 1}, \, y \; d) \; \eta_{especie\; 2} < \; \eta_{TE} \; \approx \eta_{especie\; 1}.$ 

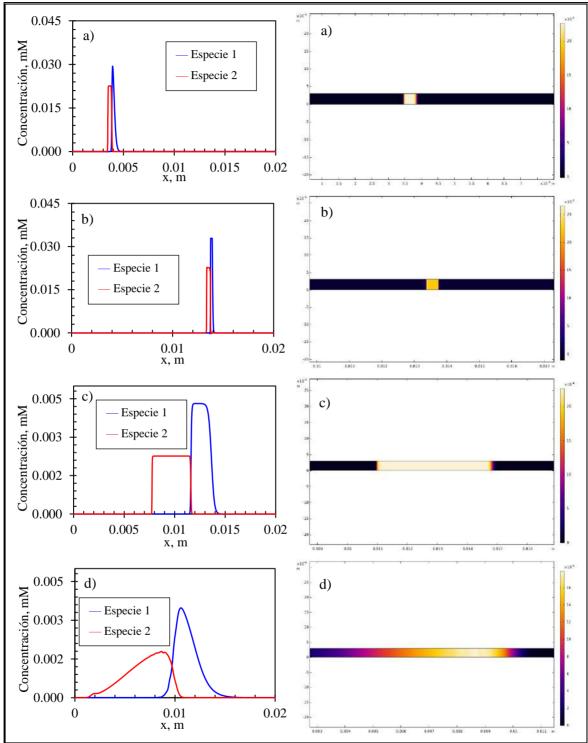


Figura 4.7 Resultados numéricos del estudio de parámetros para el diseño del proceso ITP. Imágenes a) y b) muestran los resultados de la distribución de las especies para un tiempo de 50 segundos bajo diferente campo eléctrico,  $E = 2500 \, \text{V/m}$  y  $E = 25000 \, \text{V/m}$ , respectivamente. Imágenes c) y d) muestran los resultados de la distribución de las especies para un tiempo de 40 segundos bajo diferente condición de  $\eta_{elec_i}$ : c)  $\eta_{TE} \ll \eta_{especie 2} < \eta_{especie 1}$ , y d)  $\eta_{especie 2} < \eta_{TE} \approx \eta_{especie 1}$ .

A continuación, se analizan con mayor detalle los resultados mostrados en la **Figura 4.7**. Primero, del estudio del campo eléctrico E, imágenes a) y b), en ellas se muestran los casos simulados con un campo eléctrico E =2500 V/m y E =25000 V/m, respectivamente; se puede observar que, para ambos casos simulados, el proceso de separación de las especies involucradas ocurre simultáneamente y que estas están contenidas y separadas en zona bien definida por la η<sub>elec</sub> de cada especie. La diferencia radica en la velocidad de desplazamiento de las especies dentro del microcanal, en que, para el caso con el menor campo eléctrico, imagen a), las especies 1 y 2 luego de 40 segundos de haber iniciado el proceso, ambos se encuentran aproximadamente a 1/3 desde el origen del microcanal. En cambio, para el caso con un campo eléctrico mayor, para el mismo instante de 40 segundos, imagen b), las especies 1 y 2 ya se encuentran a 3/4 desde el origen del microcanal. Lo anterior se debe a que la velocidad electroforética definida por la expresión (5.1) es directamente proporcional al campo eléctrico aplicado (Salager 1998); en base a estos resultados se establece que un mayor campo eléctrico modifica únicamente la velocidad electroforética de las especies.

Por otra parte, las imágenes c) y d) muestran los resultados para casos con diferentes valores de  $\eta_{elec}$  del ion TE y campo eléctrico constante, E =5000 V/m. La imagen c) corresponde para el escenario con:  $\eta_{TE} = 4.685 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}^{-1} < \eta_{esp2} = 1.799 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}^{-1} < \eta_{esp1} = 5.478 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$ . Si bien en este caso se observa una separación de las especies 1 y 2 en función de  $\eta_{elec}$ , ellas permanecen prácticamente distribuidas en un volumen de solución idéntico al inicio del proceso, por lo que no se observa una correcta concentración de las especies.

Para el caso de la imagen d) con:  $\eta_{esp2} = 1.799 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}^{-1} < \eta_{TE} = 4.685 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}^{-1} \approx \eta_{esp1} = 5.478 \times 10^{-8} \text{ m}^2/\text{V} \cdot \text{s}^{-1}$ . En esta situación, como  $\eta_{TE}$  es muy similar a  $\eta_{esp1}$ , no se produce el efecto de contención por parte del ion terminal, por lo que las especies se ven disueltas dentro de la muestra por el efecto de la difusión y convección a medida que estas viajan dentro del microcanal; este último escenario también es desfavorable para el proceso de separación y concentración de especie por ITP, puesto que

la concentración tendería a estar debajo del umbral detectable.

# 4.4.3 Diseño de una metodología de detección por ITP.

En esta sección se presenta el estudio para el diseño de un micro-separador basado en ITP, con el objetivo de separar y detectar partículas de TiO<sub>2</sub> completamente homogeneizadas dentro de la muestra acuosa. El micro-separador propuesto está compuesto de un microcanal de ancho H =300 μm, cuenta con tres reservorios, de un largo total de 100 mm con una ramificación de 3 mm en un extremo para la inyección de muestra y, en el extremo opuesto, se ubica un electrodo para la medición de la conductividad eléctrica (demarcado con color rojo); en la **Figura 4.8** se muestra el esquema del micro-separador propuesto.

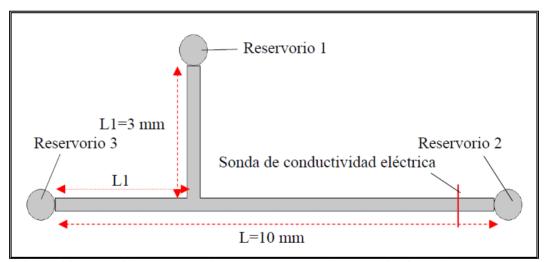


Figura 4.8 Diseño del microseparador propuesto, verificado por medio de simulación numérica.

El procedimiento para realizar el proceso de separación y detección consta de una serie de pasos o secuencias que están basada en el trabajo experimental reportado por Prest et al. (2004; 2005), y que será detallada a continuación. Desde el reservorio 2 y dejando abierto solamente el reservorio 1, se procede al llenado del microcanal con el electrolito LE. Posteriormente, desde el reservorio 3, y dejando solamente el reservorio 2 abierto, se introduce el electrolito TE. Finalmente, desde el reservorio 1 y manteniendo el reservorio 2 abierto, se inyecta la muestra con las partículas de TiO<sub>2</sub>. Luego, con el reservorio 1 cerrado, se aplica una diferencia de potencial eléctrico entre los reservorios 3 y 2, dando el origen al

desplazamiento de las partículas hacia el reservorio 2. En base a la literatura investigada y experimentada en el laboratorio, se comprobó que la adición de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> puede generar modificación de las propiedades termo físicas de una solución, tales como el aumento de la conductividad térmica de la solución base dada su alta relación de área de contacto y alta carga superficial (D. Chen et al. 2020). Por otra parte, la adición de nanopartículas de TiO<sub>2</sub> también modifica la conductividad eléctrica de la solución base (Parizad et al. 2019). En base a estos resultados investigados y reportados, se propone como método de detección de las nanopartículas de TiO<sub>2</sub> la medición de la conductividad eléctrica. Así, la presencia de las partículas de TiO<sub>2</sub> una vez concentrada será detectada por el cambio instantáneo de la conductividad eléctrica y, según la magnitud de este valor, será posible discernir la concentración a través de una curva de conductividad.

Para el procedimiento de separación y detección propuesto, debido a que la carga superficial generada en la superficie de los iones metálicos es generalmente positiva, según lo reportado por Pak and Cho (1998) y posteriormente verificado experimentalmente en un trabajo propio (D. Chen et al. 2019), se propone utilizar potasio como ion LE, dado que su  $\eta_{elec}$  presenta un orden de magnitud muy similar con respecto a la del ion de cloro; por su movilidad electroforética relativamente alta es utilizado por la mayoría de los trabajos investigados (Cui, Dutta and Ivory 2007), y como TE se emplea el ion TBA (Tetrabutylammonium, un amonio cuaternario) por poseer un  $\eta_{elec}$  relativamente bajo, como lo sugiere en investigación previa Prest et al. (2004).

Tabla 4.6. Cuadro de resumen de los parámetros para cada especie usado en la simulación.

			Simulación 1	Simulación 2
	LE ion,	TE ion,	TiO <sub>2</sub>	TiO <sub>2</sub>
	$\mathbf{K}^{+}$	TBA <sup>+</sup>	1102	1102
Concentración, mM	30	30	126.5	387.2
$\eta_{\text{elec}}\times 10^8,\text{m}^2/\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$	7.633	0.584	4.928	5.118

En la **Tabla 4.6** se detallan los parámetros de cada especie introducidos en la simulación numérica para el proceso de preconcentración y detección de TiO<sub>2</sub> por ITP. El campo eléctrico aplicado para este estudio es un campo constante de 5000 V/m.

### 4.4.4 Análisis de resultados, preconcentración y detección por ITP

En esta sección se presentan los resultados obtenidos de las simulaciones del proceso de ITP para la detección de partículas de  $TiO_2$ . Para la detección y determinación de la concentración de las nanopartículas de  $TiO_2$ , se emplea el valor de conductividad eléctrica  $\sigma$  local de la muestra, cuya magnitud está asociada directamente con la concentración de las partículas metálicas (**Figura 4.9**).

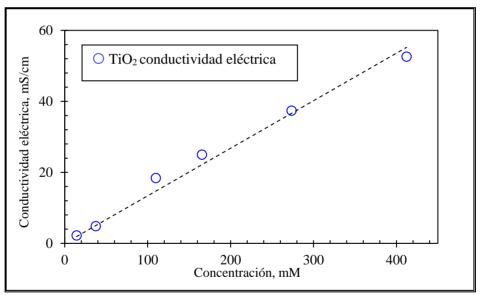


Figura 4.9. Resultados numéricos de la curva de conductividad eléctrica en función de la concentración.

La **Figura 4.9**. muestra la relación de la conductividad eléctrica con respecto a la concentración de TiO<sub>2</sub>. En ella se observa un comportamiento lineal cuyo coeficiente de correlación R<sup>2</sup> presenta un valor de 0.98. Como resultado, se obtiene una curva de conductividad eléctrica representativa del fenómeno físico, que puede ser usada como patrón para la detección. Así, una vez medida la conductividad eléctrica y por medio del cruce de

información con esta curva, se puede determinar la concentración presente en la solución por medio de la relación lineal, conformándose de esta manera una metodología relativamente rápida para la cuantificación de la concentración de las partículas metálicas.

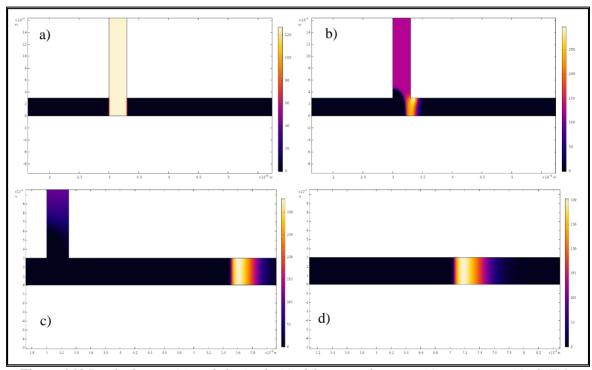


Figura 4.10 Resultados numéricos de la simulación del proceso de separación y concentración de TiO<sub>2</sub>. Secuencia de resultados, imagen a) inicio del proceso t =0 s, concentración inicial 126.5 mM. Imágenes b), c) y d) partículas de TiO<sub>2</sub> separada y concentrada según la movilidad electroforética, resultados para 2 s, 60 s y 120 s, respectivamente.

La **Figura 4.10** muestra el resultado numérico de la secuencia del proceso de ITP. La imagen a) señala el comienzo del proceso con la inyección de la muestra desde el reservorio 1. Las imágenes b), c) y d) muestran el proceso de ITP en que las partículas de interés son concentradas y confinadas en una zona según la movilidad electroforética dentro del microcanal.

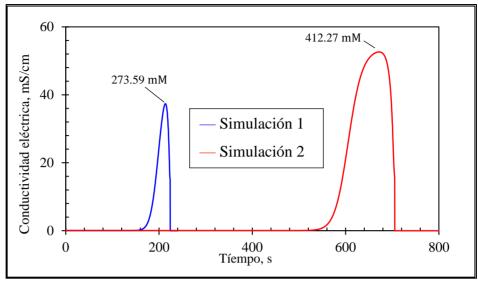


Figura 4.11 Resultados numéricos de la conductividad eléctrica registrado en zona electroforética.

La Figura 4.11 presenta la variación temporal de la conductividad eléctrica de la muestra calculada en la zona de interés dentro del dominio computacional (zona del electrodo). La cumbre de la señal indica el momento exacto en que la muestra con la mayor concentración de TiO<sub>2</sub> alcanza al electrodo. En la misma figura también se observa que, al comparar la conductividad obtenida con la gráfica de la Figura 4.9, es posible estimar que la concentración final de la muestra luego de 200 segundos (cerca de 3 minutos), es aproximadamente de 273.59 mM y 412.27 mM para las simulaciones 1 y 2, respectivamente; estos valores permanecen invariables hasta los 600 segundos (10 minutos). De este resultado se observa que el tiempo total necesario para el proceso de concentración y posterior detección es de aproximadamente 200 segundos (alrededor de 3 minutos), tiempo en el cual las partículas de TiO<sub>2</sub> se encuentran totalmente concentradas y estabilizadas en su zona electroforética, generando una zona de máxima concentración para facilitar su detección, demostrando que el método propuesto es factible para ser utilizado para la detección de nanopartículas metálicas (TiO<sub>2</sub>) que, para las futuras investigaciones, se proyecta extender su uso para otros tipos de partículas metálicas o no metálicas.

## 4.5 CONCLUSIÓN PRELIMINAR

En el presente trabajo se logró caracterizar y diseñar un método para la detección de partículas metálicas empleando la técnica de isotacoforesis (ITP). Se pudo simular un proceso de preconcentración y detección de TiO<sub>2</sub>, empleando parámetros obtenidos en forma experimental. De los resultados de este estudio se concluye que la correcta selección del sistema de electrolito, líder LE y terminal TE, es fundamental para una preconcentración efectiva. Para el presente estudio, en particular, se emplearon iones positivos como electrolito LE y TE, dado que la carga eléctrica generada en la superficie de las partículas metálicas (TiO<sub>2</sub>) es positiva. El método estudiado presenta una mejora notable en el tiempo necesario para la separación y preconcentración en comparación con el proceso de separación por capilaridad (4 minutos versus 20 a 60 minutos).

Este tiempo de preconcentración se debe al uso del ion de potasio como LE, dada su movilidad electroforética relativamente alta, y que el proceso simulado es de poca complejidad al presentar solamente una especie. Sin embargo, para un proceso más complejo que requiera previamente separar varias especies en forma simultánea, es recomendable el uso de un LE con movilidad electroforética más baja, con el fin de dar mayor tiempo para el ordenamiento y acomodamiento de las diferentes especies. Por otra parte, la elección de TE es fundamental para la exclusión de iones contaminantes; una menor movilidad efectiva de TE conduce a una velocidad de enfoque más rápida de las especies de interés. Finalmente, cabe destacar que el método investigado resulta útil para analizar muestras cuya concentración de la especie de interés está por debajo del rango mínimo de detección por los métodos tradicionales.

## 5. CONCLUSIÓN FINAL

En el presente trabajo se lograron abordar de forma exitosa los objetivos planteados al comienzo de este, de los cuales se destacan:

Se estudió y caracterizó el fenómeno de inestabilidad de flujo electrocinético por medio del parámetro adimensional  $\gamma$  desarrollado. El número  $\gamma$  fue validado y verificado con resultados tantos experimentales y numéricos propios como reportados en investigaciones previas; de esta forma se obtiene un término que logra caracterizar la ocurrencia de EKI para una amplia gama de casos estudiados. Se observó que, para el caso con un valor de  $\gamma$  bajo (~1), el régimen de flujo permanece de forma uniforme y homogéneo. En cambio, para un valor de  $\gamma$  alto (~10, el menor valor simulado es de  $\gamma$  =12.63), el régimen de flujo obtenido para este caso es de tipo inestable.

De forma exitosa se verificó que la inestabilidad de flujo generada de forma controlada (por medio del número γ desarrollado) permite optimizar el proceso de mezclado de dos soluciones electrolíticas; se acortó el tiempo de mezclado y mejorando la calidad de la mezcla, en la cual, al cabo de solo 5 segundos, la homogeneidad o uniformidad de la mezcla es cercana a un 76% (caso con EKI). Por el contrario, para el caso con flujo uniforme y para un mismo instante de tiempo, la homogeneidad solo bordea el 33%.

Utilizando un modelo numérico de isotacoforesis (ITP) propuesto, se reprodujeron exitosamente los resultados experimentales en la separación de dos proteínas artificiales disueltas dentro de una muestra, concentrando cada especie en una zona electroforética específica, limitando de esta manera su difusión y facilitando su detección. De este resultado, también se caracterizó el proceso de separación por ITP, logrando establecer un criterio para la selección de electrolito líder (LE) y terminal (TE) para el proceso de detección de partículas metálicas. Para ella, se redujo el tiempo de detección cercano a 20% con respecto a los procesos de separación por capilaridad.

Por último, se concluye que el método electrocinético propuesto y estudiado en un microcanal presenta ventajas de tamaño y velocidad en obtención de respuesta, logrando optimizar tanto los procesos de mezclado como la detección de especies, cumpliendo de esta forma la hipótesis planteada al comienzo del trabajo.

# 6. LÍNEA DE TRABAJO E INVESTIGACIÓN FUTURA

Se plantean las siguientes posibles líneas de investigación futuras:

- ➤ Extender la investigación hacia otras geometrías de microcanales como, por ejemplo, microcanal con múltiples entradas (más de tres), para favorecer una mezcla de múltiples especies.
- ➤ Estudiar la influencia del efecto Joule por el proceso electrotérmico causado por el generador del potencial eléctrico, debido al nivel de potencial eléctrico requerido en este estudio (~3000 V) para la generación de EKI.
- ➤ Atendiendo a la actual contingencia sanitaria mundial, extender una investigación de preconcentración y detección por ITP para microorganismos, tales como bacterias y virus, especialmente para desarrollar una metodología de detección rápida, por ejemplo, para el coronavirus SARS CoV 2 u otro patógeno, ya que, a partir de los resultados experimentales y numéricos, reportados e investigados en el presente trabajo, se ha demostrado que es posible realizar separaciones y preconcentraciones de acuerdo con la movilidad electroforética de diferentes tipos de proteínas utilizando ITP.
- ➤ Evaluar el uso de materiales y técnicas de fabricación de microcanal para reducir el costo de insumos del microcanal, por ejemplo, impresión 3D y microcanal de papel (Rosenfeld and Bercovici 2014); precisamente, esto último llevó al autor del presente a realizar su pasantía internacional en el Technion | Israel Institute of Technology, bajo la supervisión del profesor Moran Bercovici.
- ➤ Construir un prototipo portátil para analizar muestras líquidas, incluyendo microcanal, batería y un circuito eléctrico para la detección de partículas.

#### 7. REFERENCIAS

- Almutairi, Zeyad A., Tomasz Glawdel, Carolyn L. Ren, and David A. Johnson. 2009. "A Y-Channel Design for Improving Zeta Potential and Surface Conductivity Measurements Using the Current Monitoring Method." *Microfluidics and Nanofluidics* 6 (2): 241–51. https://doi.org/10.1007/s10404-008-0320-6.
- Azari, Milad, Arman Sadeghi, and Suman Chakraborty. 2020. "Electroosmotic Flow and Heat Transfer in a Heterogeneous Circular Microchannel." *Applied Mathematical Modelling* 87: 640–54. https://doi.org/10.1016/j.apm.2020.06.022.
- Bottenus, Danny, Talukder Zaki Jubery, Prashanta Dutta, and Cornelius F. Ivory. 2011. "10000-Fold Concentration Increase in Proteins in a Cascade Microchip Using Anionic ITP by a 3-D Numerical Simulation with Experimental Results." *Electrophoresis*. https://doi.org/10.1002/elps.201000510.
- Chen, Chuan-Hua, Hao Lin, Sanjiva K. Lele, and Juan G. Santiago. 2005. "Convective and Absolute Electrokinetic Instability with Conductivity Gradients." *Journal of Fluid Mechanics* 524: 263–303. https://doi.org/10.1017/S0022112004002381.
- Chen, Daming, Víctor A Martínez, Diego A Vasco, and Amador M Guzmán. 2020. "Experimental Investigation of Viscosity, Enhanced Thermal Conductivity and Zeta Potential of a TiO2 Electrolyte Based Nanofluid." *International Communications in Heat and Mass Transfer* 118: 104840. https://doi.org/10.1016/j.icheatmasstransfer.2020.104840.
- Chen, Daming, Diego A. Vasco, Mario H. Di Capua, and Amador M. Guzmán. 2019. "Electrorepulsion in Nanofluids: Experimental Characterization for a Stable Behavior." *ASME* 2019 6th International Conference on Micro/Nanoscale Heat and Mass Transfer, MNHMT 2019, 1–5. https://doi.org/10.1115/MNHMT2019-3980.
- Chen, Xueye, and Tiechuan Li. 2017. "A Novel Passive Micromixer Designed by Applying an Optimization Algorithm to the Zigzag Microchannel." *Chemical Engineering Journal* 313: 1406–14. https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.11.052.

- Cong, Yongzheng, Danny Bottenus, Bingwen Liu, Sue B. Clark, and Cornelius F. Ivory. 2014. "ITP of Lanthanides in Microfluidic PMMA Chip." *Electrophoresis* 35 (5): 646–53. https://doi.org/10.1002/elps.201300382.
- Cui, Huanchun, Prashanta Dutta, and Cornelius F. Ivory. 2007. "Isotachophoresis of Proteins in a Networked Microfluidic Chip: Experiment and 2-D Simulation." *Electrophoresis* 28 (7): 1138–45. https://doi.org/10.1002/elps.200600525.
- Gad-el-Hak, M. 2006. *The MEMS Handbook*. Second Edi. Vol. 3. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Garcia-Schwarz, Giancarlo, Anita Rogacs, Supreet S. Bahga, and Juan G. Santiago. 2012. "On-Chip Isotachophoresis for Separation of Ions and Purification of Nucleic Acids." *Journal of Visualized Experiments*, no. 61: 1–8. https://doi.org/10.3791/3890.
- Gu, Yongan, and Dongqing Li. 2000. "The Zeta-Potential of Glass Surface in Contact with Aqueous Solutions." *Journal of Colloid and Interface Science* 226 (2): 328–39. https://doi.org/10.1006/jcis.2000.6827.
- Halliday, and Resnick. 2011. Fundamentals of Physics. 9th ed. USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Hessel, Volker, Holger Löwe, and Friedhelm Schönfeld. 2005. "Micromixers A Review on Passive and Active Mixing Principles." *Chemical Engineering Science* 60 (8-9 SPEC. ISS.): 2479–2501. https://doi.org/10.1016/j.ces.2004.11.033.
- Hjalmarsson, Sven-Göran, and F.M. Everaerts. 1981. "Capillary Isotachophoresis." *C R C Critical Reviews in Analytical Chemistry* 11 (4): 261–352. https://doi.org/10.1080/10408348108542743.
- Hsu, Wei-Lun, Hirofumi Daiguji, David E. Dunstan, Malcolm R. Davidson, and Dalton J.E. Harvie. 2016. "Electrokinetics of the Silica and Aqueous Electrolyte Solution Interface: Viscoelectric Effects." *Advances in Colloid and Interface Science* 234 (August): 108–31. https://doi.org/10.1016/j.cis.2016.05.001.
- Hunter, Robert J. 1981. Zeta Potential in Colloid Science: Principles and Applications. Colloid Science CN QD549 .H95 1981. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-361961-7.50004-3.

- Jung, Byoungsok, Rajiv Bharadwaj, and Juan G. Santiago. 2006. "On-Chip Millionfold Sample Stacking Using Transient Isotachophoresis." *Analytical Chemistry* 78 (7): 2319–27. https://doi.org/10.1021/ac051659w.
- Kang, Jinfen, Hyeung Seok Heo, and Yong Kweon Suh. 2008. "LBM Simulation on Mixing Enhancement by the Effect of Heterogeneous Zeta-Potential in a Microchannel." *Journal of Mechanical Science and Technology* 22 (6): 1181–91. https://doi.org/10.1007/s12206-008-0301-4.
- Kang, Kwan Hyoung, Jaewan Park, In Seok Kang, and Kang Y. Huh. 2006. "Initial Growth of Electrohydrodynamic Instability of Two-Layered Miscible Fluids in T-Shaped Microchannels." *International Journal of Heat and Mass Transfer* 49 (23–24): 4577–83. https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2006.04.026.
- Kvasnicka, Frantisek. 2000. "Application of Isotachophoresis in Food Analysis." *Electrophoresis* 21 (14): 2780–87. https://doi.org/10.1002/1522-2683(20000801)21:14<2780::AID-ELPS2780>3.0.CO:2-W.
- Lee, Chia Yen, Chin Lung Chang, Yao Nan Wang, and Lung Ming Fu. 2011. "Microfluidic Mixing: A Review." *International Journal of Molecular Sciences* 12 (5): 3263–87. https://doi.org/10.3390/ijms12053263.
- Lee, Chia Yen, Wen Teng Wang, Chan Chiung Liu, and Lung Ming Fu. 2016. "Passive Mixers in Microfluidic Systems: A Review." *Chemical Engineering Journal* 288: 146–60. https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.122.
- Li, Qian, Yann Delorme, and Steven H. Frankel. 2016. "Parametric Numerical Study of Electrokinetic Instability in Cross-Shaped Microchannels." *Microfluidics and Nanofluidics* 20 (2): 1–12. https://doi.org/10.1007/s10404-015-1666-1.
- Lide, David R. 2005. "Hardness of Minerals and Ceramics." *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 2313–14. https://doi.org/10.1021/ja041017a.
- Lin, Hao, Brian D. Storey, Michael H. Oddy, Chuan Hua Chen, and Juan G. Santiago. 2004. "Instability of Electrokinetic Microchannel Flows with Conductivity Gradients." *Physics of Fluids* 16 (6): 1922–35. https://doi.org/10.1063/1.1710898.

- Liu, Bingwen, and Cornelius F. Ivory. 2013. "Isotachophoresis with Counterflow in an Open Capillary: Computer Simulation and Experimental Validation." *Journal of Separation Science* 36 (12): 1986–95. https://doi.org/10.1002/jssc.201300066.
- Luo, Win J. 2009. "Effect of Ionic Concentration on Electrokinetic Instability in a Cross-Shaped Microchannel." *Microfluidics and Nanofluidics* 6 (2): 189–202. https://doi.org/10.1007/s10404-008-0316-2.
- Morgan, Hywel, and Nicolas G. Green. 2003. *AC Electrokinetics: Colloids and Nanoparticles*. Baldock, Hertfordshire, England: RESEARCH STUDIES PRESS LTD.
- Nazari, Morteza, Saman Rashidi, and Javad Abolfazli Esfahani. 2019. "Mixing Process and Mass Transfer in a Novel Design of Induced-Charge Electrokinetic Micromixer with a Conductive Mixing-Chamber." *International Communications in Heat and Mass Transfer* 108: 104293. https://doi.org/10.1016/j.icheatmasstransfer.2019.104293.
- Newman, John, and Karen E. Thomas-Alyea. 2004. *Electrochemical Systems*. Thrid Edit. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Nguyen, Nam-Trung, Steven T Wereley, and Artech House. 2002. Fundamentals and Applications of Microfluidics Second Edition.

  http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.466.4414&rep=rep1&type=pdf.
- Oddy, Michael H., and Juan G. Santiago. 2005. "Multiple-Species Model for Electrokinetic Instability." *Physics of Fluids* 17 (6): 1–17. https://doi.org/10.1063/1.1931727.
- Ottino, J. M. 1989. "The Kinematics of Mixing: Stretching, Chaos, and Transport."
- Pak, Bock Choon, and Young I. Cho. 1998. "Hydrodynamic and Heat Transfer Study of Dispersed Fluids with Submicron Metallic Oxide Particles." *Experimental Heat Transfer* 11 (2): 151–70. https://doi.org/10.1080/08916159808946559.
- Parizad, Amirhossein, Ali Khorram Ghahfarokhi, Khalil Shahbazi, Amin Daryasafar, Tofigh Sayahi, and Mahdi Kalantari Meybodi. 2019. "Experimental Investigation of the Effect of TiO 2 Nanofluid and KCl Salt on Polymeric Water-Based Drilling Fluid Properties." *Oil and Gas Science and Technology* 74. https://doi.org/10.2516/ogst/2018088.

- Park, H. M., and W. M. Lee. 2008. "Helmholtz-Smoluchowski Velocity for Viscoelastic Electroosmotic Flows." *Journal of Colloid and Interface Science* 317 (2): 631–36. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.09.027.
- Patankar, N a, and H Hu. 1998. "Numerical Simulation of Electroosmotic Flow." *Analytical Chemistry* 70 (9): 1870–81. https://doi.org/10.1021/ac970846u.
- Persat, Alexandre, Robert D Chambers, and Juan G Santiago. 2009. "Basic Principles of Electrolyte Chemistry for Microfluidic Electrokinetics. Part I: Acid-Base Equilibria and PH Buffers RID A-5084-2009." *Lab on a Chip* 9 (17): 2437–53. https://doi.org/10.1039/b906465f.
- Persat, Alexandre, Lewis A. Marshall, and Juan G. Santiago. 2009. "Purification of Nucleic Acids from Whole Blood Using Isotachophoresis." *Analytical Chemistry* 81 (22): 9507–11. https://doi.org/10.1021/ac901965v.
- Posner, Jonathan D, and Juan G Santiago. 2006. "Convective Instability of Electrokinetic Flows in a Cross-Shaped Microchannel." *Journal of Fluid Mechanics* 555: 1. https://doi.org/10.1017/S0022112005008542.
- Prest, Jeff E., Sara J. Baldock, Peter R. Fielden, Nicholas J. Goddard, Kristallia Kalimeri, Bernard J. Treves Brown, and Michele Zgraggen. 2004. "Use of Miniaturised Isotachophoresis on a Planar Polymer Chip to Analyse Transition Metal Ions in Solutions from Metal Processing Plants."

  \*\*Journal of Chromatography A 1047 (2): 289–98. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.07.008.
- Prest, Jeff E., Sara J. Baldock, Peter R. Fielden, Nicholas J. Goddard, and Bernard J. Treves Brown. 2005. "Inorganic Arsenic and Selenium Determination Using Miniaturised Isotachophoresis." *Microchimica Acta* 151 (3–4): 223–30. https://doi.org/10.1007/s00604-005-0403-y.
- Probstein, R. F. 1994. *Physicochemical Hydrodynamics*. Second Edi. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Ravina, Louis, and (Zeta Meter Inc.). 1993. "Everything You Want to Know about Coagulation & Flocculation." Staunton, Virginia. www.zeta-meter.com.

- Rogacs, Anita, Lewis A. Marshall, and Juan G. Santiago. 2014. "Purification of Nucleic Acids Using Isotachophoresis." *Journal of Chromatography A* 1335: 105–20. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.12.027.
- Rosenfeld, Tally, and Moran Bercovici. 2014. "1000-Fold Sample Focusing on Paper-Based Microfluidic Devices." *Lab on a Chip* 14 (23): 4465–74. https://doi.org/10.1039/c4lc00734d.
- Salager, Jean-Louis. 1998. Fenomenos Electrocineticos. Cuadernos FIRP. Mérida-Venezuela: Universidad de los Andes.
- Schoemaker, F. C., N. Grobbe, M. D. Schakel, S. A. L. de Ridder, E. C. Slob, and D. M. J. Smeulders. 2012. "Experimental Validation of the Electrokinetic Theory and Development of Seismoelectric Interferometry by Cross-Correlation." *International Journal of Geophysics* 2012 (January 2014): 1–23. https://doi.org/10.1155/2012/514242.
- Schrum, Kimberley F., Joseph M. Lancaster, Stephen E. Johnston, and S. Douglass Gilman. 2000. "Monitoring Electroosmotic Flow by Periodic Photobleaching of a Dilute, Neutral Fluorophore." *Analytical Chemistry* 72 (18): 4317–21. https://doi.org/10.1021/ac0005114.
- Shamloo, Amir, Masoud Madadelahi, and Seyedamirhosein Abdorahimzadeh. 2017. "Three-Dimensional Numerical Simulation of a Novel Electroosmotic Micromixer." *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification* 119 (March): 25–33. https://doi.org/10.1016/j.cep.2017.05.005.
- Shin, S M, I S Kang, and Y-K Cho. 2005. "Mixing Enhancement by Using Electrokinetic Instability under Time-Periodic Electric Field." *Journal of Micromechanics and Microengineering* 15 (3): 455–62. https://doi.org/10.1088/0960-1317/15/3/005.
- Smejkal, Petr, Danny Bottenus, Michael C. Breadmore, Rosanne M. Guijt, Cornelius F. Ivory, František Foret, and Mirek Macka. 2013. "Microfluidic Isotachophoresis: A Review." *Electrophoresis* 34 (11): 1493–1509. https://doi.org/10.1002/elps.201300021.
- Stone, H.A., A.D. Stroock, and A. Ajdari. 2004. "Engineering Flows in Small Devices." *Annual Review of Fluid Mechanics* 36 (1): 381–411. https://doi.org/10.1146/annurev.fluid.36.050802.122124.

- Storey, Brian D. 2005. "Direct Numerical Simulation of Electrohydrodynamic Flow Instabilities in Microchannels." *Physica D: Nonlinear Phenomena* 211 (1–2): 151–67. https://doi.org/10.1016/j.physd.2005.08.010.
- Storey, Brian D., Burt S. Tilley, Hao Lin, and Juan G. Santiago. 2005. "Electrokinetic Instabilities in Thin Microchannels." *Physics of Fluids* 17 (1). https://doi.org/10.1063/1.1823911.
- Sze, Alice, David Erickson, Liqing Ren, and Dongqing Li. 2003. "Zeta-Potential Measurement Using the Smoluchowski Equation and the Slope of the Current-Time Relationship in Electroosmotic Flow." *Journal of Colloid and Interface Science* 261 (2): 402–10. https://doi.org/10.1016/S0021-9797(03)00142-5.
- Tsai, Chien Hsiung, Yao Nan Wang, Chiu Feng Lin, Ruey Jen Yang, and Lung Ming Fu. 2006. "Experimental and Numerical Investigation into Leakage Effect in Injectors of Microfluidic Devices." *Electrophoresis* 27 (24): 4991–98. https://doi.org/10.1002/elps.200500913.
- Venditti, Roberto, Xiangchun Xuan, and Dongqing Li. 2006. "Experimental Characterization of the Temperature Dependence of Zeta Potential and Its Effect on Electroosmotic Flow Velocity in Microchannels." *Microfluidics and Nanofluidics* 2 (6): 493–99. https://doi.org/10.1007/s10404-006-0100-0.
- Viswanath, D. S., and G. Natarajan. 2007. *Viscosity of Liquids Theory, Estimation, Experiment, and Data*. Dordrecht: Springer.
- White, Frank M. 2011. *Fluid Mechanics*. Edited by Jack P Holman and John R. Lloyd. 7th ed. New York: Mc Graw Hill.
- Yarn, KaoFeng, ShouPing Hsu, WinJet Luo, and HongJun Ye. 2009. "Microfluidic Mixing Enhancement Using Electrokinetic Instability under Electric Field Perturbations in a Double T-Shaped Microchannel." *Science in China Series G: Physics, Mechanics and Astronomy* 52 (4): 602–12. https://doi.org/10.1007/s11433-009-0076-3.