



Universidad Autónoma de San Luis Potosí
Facultad de Ingeniería
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado

Medición experimental de temperatura en microfluidos usando pinzas ópticas

T E S I S

Que para obtener el grado de:
Maestría en Ingeniería Mecánica

Presenta:

Ing. Cecilia Romero González

Asesor:

Dr. Francisco Gerardo Pérez Gutiérrez

Co. Asesora:

Dra. Beatriz Morales Cruzado

San Luis Potosí, SLP

Septiembre 2022



Medición experimental de temperatura en microfluidos usando pinzas ópticas by Cecilia Romero González is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



FACULTAD DE
INGENIERÍA

21 de julio de 2022

**ING. CECILIA ROMERO GONZÁLEZ
P R E S E N T E.**

En atención a su solicitud de Temario, presentada por los **Dres. Francisco Gerardo Pérez Gutiérrez y Beatriz Morales Cruzado**, Asesor y Coasesora de la Tesis que desarrollará Usted, con el objeto de obtener el Grado de **Maestra en Ingeniería Mecánica**. Me es grato comunicarle que en la sesión del H. Consejo Técnico Consultivo celebrada el día 21 de julio del presente, fue aprobado el Temario propuesto:

TEMARIO:

“Medición experimental de temperatura en microfluidos usando pinzas ópticas”

Introducción.

1. Control y medición de temperatura a microescala
2. Pinzas ópticas como herramienta en el estudio de microfluidos
3. Modelado de microflujos convectivos
4. Termometría con pinzas ópticas en microcanales

Conclusiones.

Referencias.

“MODOS ET CUNCTARUM RERUM MENSURAS AUDEBO”

A T E N T A M E N T E



DR. EMILIO JORGE GONZÁLEZ GALVÁN

DIRECTOR DE SAN LUIS POTOSÍ,
FACULTAD DE INGENIERÍA
DIRECCIÓN



www.uaslp.mx

Copia. Archivo
*etn.

Av. Manuel Nava 8
Zona Universitaria • CP 78290
San Luis Potosí, S.L.P.
tel. (444) 826 2330 al39
fax (444) 826 2336

“Rumbo al centenario de la autonomía universitaria”

Agradecimientos

Agradezco a mi familia, especialmente a mi mamá, quien supo ser amiga, confidente y apoyo emocional durante estos últimos dos años, y a mi papá, quien no solo es mi ejemplo a seguir, sino que también fue mi profesor y contribuyó con la idea original de este trabajo.

A Diego, por todo el apoyo, ánimos, tutorías de programación y matemáticas, y la compañía en las noches en el laboratorio. Gracias por siempre creer en mí y no permitir que yo dejara de hacerlo.

Agradezco también a mis asesores, el Dr. Francisco Pérez y la Dra. Beatriz Morales, por brindarme su confianza y su tiempo, por su guía, y por todos los consejos que me dieron a lo largo del desarrollo de esta tesis, contribuyendo no solo en mi formación académica sino también personal.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología por el apoyo económico brindado, sin el cual este no hubiera sido posible, así como también a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en cuyas instalaciones fue desarrollado este proyecto. A todos mis profesores a lo largo de la maestría por contribuir en mi formación como científica.

Por último, un agradecimiento especial a mis mascotas Bagel, Toy y Ámbar, quienes fungieron como mis compañeras de clases en línea, acompañándome en las tardes de estudio y presentes en cada uno de mis avances.

Dedicatoria

Quiero dedicar este trabajo a mis padres, Ricardo y Elizabeth, gracias a quienes soy quien soy y he logrado llegar hasta donde estoy. A mis hermanos, Mariana y Ricky, quienes son una parte fundamental de mi vida y me inspiran a superarme.

A mi esposo, Diego, mi mejor amigo, compañero, y más grande apoyo, quien me ayudó a seguir adelante en los días de frustración y que, sin duda, sin él estos años hubieran sido mucho más difíciles.

Resumen

En muchas aplicaciones químicas, biológicas e ingenieriles, es de interés general poder monitorear la temperatura de un fluido al trabajar con pinzas ópticas, sin embargo, existe un número limitado de técnicas de medición de temperatura a microescala, y en particular no se ha reportado ninguna técnica utilizando atrapamiento óptico. En el presente trabajo se desarrolla una técnica de medición de temperatura local en un microfluido basada en el uso de pinzas ópticas, la cual consiste en medir el desplazamiento que experimenta una partícula atrapada debido a un flujo inducido en el microfluido. La técnica fue probada de manera experimental, validando los experimentos realizados con una simulación numérica realizada en COMSOL Multiphysics, y con mediciones de temperatura ambiente realizadas de manera convencional. Los resultados presentados muestran un buen ajuste entre mediciones experimentales y los valores reales esperados, y la técnica en general presenta un buen nivel de precisión.

Contenido

| | |
|---|-----|
| Agradecimientos | i |
| Dedicatoria | iii |
| Resumen..... | v |
| Introducción | 1 |
| Objetivos..... | 3 |
| Objetivo general..... | 3 |
| Objetivos específicos | 3 |
| Hipótesis | 3 |
| Capítulo 1. Control y medición de temperatura a microescala..... | 5 |
| 1.1 Técnicas de calentamiento y control de temperatura en microfluidos | 5 |
| 1.1.1 Calentamiento externo | 5 |
| 1.1.2 Calentamiento integrado | 6 |
| 1.1.3 Radiación electromagnética | 7 |
| 1.2 Técnicas de medición de temperatura en microfluidos..... | 7 |
| 1.2.1 Medición de temperatura por medio de fluorescencia..... | 7 |
| 1.2.2 Medición de temperatura por medio del movimiento Browniano de partículas.. | 9 |
| Capítulo 2. Pinzas ópticas como herramienta en el estudio de microfluidos..... | 13 |
| 2.1 Definición de la pinza óptica..... | 13 |
| 2.1.1 Fuerzas de atrapamiento | 13 |
| 2.1.2 Atrapamiento óptico..... | 15 |

| | | |
|---|--|----|
| 2.1.3 | La pinza óptica descrita por la ley de Hooke | 16 |
| 2.1.4 | Calibración de la pinza óptica..... | 16 |
| 2.2 | Velocimetría usando pinzas ópticas | 18 |
| 2.2.1. | Técnica alternativa: velocimetría por seguimiento de partículas..... | 20 |
| 2.3 | Medición conceptual de temperatura usando pinzas ópticas | 21 |
| Capítulo 3. Modelado de microflujos convectivos | | 23 |
| 3.1 | Parámetros de simulación..... | 23 |
| 3.1.1. | Geometría..... | 23 |
| 3.1.2. | Definición del haz láser | 24 |
| 3.1.3. | Materiales..... | 25 |
| 3.2 | Mallado..... | 27 |
| 3.3 | Condiciones de frontera | 27 |
| 3.4 | Ecuaciones resueltas..... | 28 |
| 3.5 | Resultados de simulación | 29 |
| 3.5.1 | Distribución de temperatura..... | 29 |
| 3.5.2 | Perfil de velocidad en el canal | 30 |
| 3.5.3 | Valores en el punto de estudio | 31 |
| Capítulo 4. Termometría con pinzas ópticas en microcanales..... | | 35 |
| 4.1 | Métodos y materiales | 35 |
| 4.1.1 | Arreglo experimental | 35 |
| 4.1.2 | Construcción de microcanales | 36 |

| | | |
|--------|---|----|
| 4.1.3 | Calentamiento del fluido..... | 37 |
| 4.2 | Metodología experimental..... | 38 |
| 4.3 | Implementación experimental | 39 |
| 4.3.1. | Condiciones experimentales | 39 |
| 4.3.2. | Medición de aumento de temperatura..... | 40 |
| 4.3.3. | Medición de temperatura ambiente..... | 43 |
| 4.4 | Factores de error..... | 44 |
| 4.4.1. | Vibraciones externas | 44 |
| 4.4.2. | Bacterias en el fluido | 46 |
| 4.4.3. | Profundidad de atrapamiento | 46 |
| 4.4.4. | Inclinación ocasionada por el gradiente de temperatura..... | 47 |
| 4.5 | Dificultades experimentales | 48 |
| 4.5.1. | Selección de partículas..... | 48 |
| 4.5.2. | Selección del método de calentamiento..... | 49 |
| | Conclusiones..... | 55 |
| | Trabajo a futuro..... | 56 |
| | Referencias..... | 57 |

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| Figura 1. Esquema del control de temperatura con chaquetas de cobre. Figura tomada y traducida de: Mao <i>et al.</i> [1]. | 5 |
| Figura 2. Espectro de excitación-emisión del europio en D ₂ O y H ₂ O a diversas temperaturas, obtenido por excitación de un láser de 405 nm de longitud de onda [11]. | 8 |
| Figura 3. Mapeo de temperature 3D. Figura tomada y traducida de [13]. | 10 |
| Figura 4. Reflexión y transmisión de un rayo incidente ri golpeando en una esfera. La nomenclatura rr, n y rt, n hace referencia al rayo n veces reflejado y n veces transmitido, respectivamente [18]. | 14 |
| Figura 5. Fuerzas de atrapamiento en una pinza óptica. (1) Fuerza de gradiente. (2) Fuerza de esparcimiento | 15 |
| Figura 6. Calibración de una pinza óptica usando el desplazamiento cuadrático medio. Figura tomada de [20]. | 18 |
| Figura 7. Esquema del desplazamiento promedio la partícula en dirección i debido a la presencia de un flujo. (a) Posición promedio de la partícula sin flujo. (b) Posición promedio de la partícula con flujo. Figura tomada de [21]. | 19 |
| Figura 8. Posición de una partícula libre en movimiento en distintos instantes de tiempo. Imagen tomada de [22]. | 20 |
| Figura 9. Fuerza de arrastre sobre la partícula en función de la temperatura del fluido. | 22 |
| Figura 10. Esquema acotado de la geometría. | 23 |
| Figura 11. Geometría en COMSOL Multiphysics. (a) Geometría completa. (b) Acercamiento al extremo izquierdo de la geometría. | 24 |
| Figura 12. Conductividad térmica del agua en función de la temperatura | 26 |
| Figura 13. Calor específico del agua en función de la temperatura | 26 |
| Figura 14. Viscosidad dinámica del agua en función de la temperatura | 26 |

| | |
|---|----|
| Figura 15. Geometría mallada..... | 27 |
| Figura 16. Esquema del microcanal con las condiciones de frontera indicadas..... | 27 |
| Figura 17. Distribución de temperatura en el canal | 29 |
| Figura 18. Distribución de temperatura en la zona de incidencia del láser infrarrojo y en la zona de atrapamiento..... | 30 |
| Figura 19. Perfil de velocidades dentro del canal. (a) Zona de entrada del fluido al canal. (b) Zona de atrapamiento..... | 31 |
| Figura 20. Temperatura en función del tiempo en la zona de atrapamiento..... | 32 |
| Figura 21. Velocidad en función del tiempo en la zona de atrapamiento..... | 32 |
| Figura 22. Temperatura en la zona de atrapamiento en función de la potencia del láser | 33 |
| Figura 23. Temperatura en la zona de atrapamiento en función de la potencia del láser para diferentes valores de la velocidad inicial del fluido..... | 34 |
| Figura 24. Esquema del arreglo experimental de pinzas ópticas | 35 |
| Figura 25. Esquema del microcanal..... | 36 |
| Figura 26. Coeficiente de absorción del grafito medido y calculado con diferentes métodos. Figura tomada de [23]...... | 37 |
| Figura 27. Comparación entre el aumento de temperatura medido experimentalmente para diferentes potencias del láser infrarrojo y el valor obtenido de la simulación numérica..... | 42 |
| Figura 28. Posición en x y y de una partícula atrapada inicialmente en condiciones de poco ruido, y bajo la presencia de una fuente de ruido (50 – 100 segundos)..... | 44 |
| Figura 29. FFT del desplazamiento cuadrático medio d una partícula atrapada (a) bajo condiciones de poco ruido, (b) en la presencia de una fuente de ruido | 45 |
| Figura 30. Partícula atrapada a) sin bacteria, b) con bacteria | 46 |
| Figura 31. Perfil de velocidades dentro del canal | 47 |

| | |
|---|----|
| Figura 32. Inclinación en el frente de onda de una imagen | 48 |
| Figura 33. Trayectoria de una partícula de poliestireno: (a) a temperatura ambiente, (b) después de incidir el láser infrarrojo y calentar el microfluido | 49 |
| Figura 34. Partícula bajo el efecto del láser de calentamiento incidiendo directamente sobre la zona de atrapamiento | 51 |
| Figura 35. Resultados experimentales y de simulación para calentamiento con tinta china ... | 52 |

Lista de tablas

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Parámetros asociados con el haz láser | 25 |
| Tabla 2. Condiciones de frontera en COMSOL Multiphysics..... | 28 |
| Tabla 3. Valores numéricos promedio de las variables asociadas con el coeficiente de absorción (mediciones experimentales) | 38 |
| Tabla 4. Parámetros de video utilizados en los experimentos | 40 |
| Tabla 5. Valor numérico del aumento de temperatura obtenido de manera experimental y por simulación numérica, para diferentes potencias del láser infrarrojo..... | 42 |
| Tabla 6. Comparación entre la temperatura medida en la muestra sin calentamiento y la temperatura ambiente medida en el laboratorio de manera convencional. | 43 |
| Tabla 7. Descripción de los experimentos realizados incidiendo el láser de calentamiento directamente sobre la zona de atrapamiento. | 50 |
| Tabla 8. Aumento de temperatura obtenido de manera experimental y valor aproximado por simulación numérica a partir de mediciones con la cámara termográfica. | 54 |

Introducción

La temperatura es una propiedad intensiva cuyo concepto se origina de la percepción de que tan caliente o frío se encuentra un objeto. Desde un punto de vista macroscópico, la temperatura es la propiedad física que determina si dos cuerpos se encuentran en equilibrio térmico, mientras que, a nivel microscópico, la temperatura se considera la medida de la energía cinética media de traslación de las moléculas del cuerpo.

Macroscópicamente, la temperatura se mide a partir de una sustancia termométrica, la cual es aquella que tiene al menos una propiedad mensurable que presenta cambios conforme la temperatura varía. El ejemplo más sencillo es el clásico termómetro de líquido en vidrio, el cual mide temperatura por cambio de volumen: consiste en un líquido atrapado dentro de un tubo capilar graduado que, al aumentar su temperatura, se expande y muestra el valor sobre la escala graduada.

Otras formas de medición de temperatura incluyen:

1. Cambio de resistividad eléctrica: el termómetro digital funciona a partir de un termistor cuya resistencia eléctrica cambia de manera predecible con la temperatura.
2. Cambio de potencial eléctrico: el termopar mide la temperatura por la fuerza electromotriz inducida entre dos metales diferentes.
3. Cambios ópticos: el pirómetro óptico compara la radiación de un cuerpo con aquella de una fuente de luz ajustable y calibrada

En diversas aplicaciones, es de interés general conocer la temperatura de un fluido. Cuando se trabaja a un nivel macroscópico, esto se convierte en una tarea cotidiana, gracias a instrumentos de medición de temperatura de fácil implementación como los ya mencionados. Sin embargo, ninguno de estos instrumentos resulta útil al cambiar a un enfoque microscópico.

La medición de temperatura en microfluidos resulta ser de gran importancia, ya que en muchos procesos se requiere monitorear y controlar la temperatura. Considérese como ejemplo aplicaciones biológicas, tal como la manipulación de células vivas, en donde generalmente se usan pinzas ópticas de haz infrarrojo. A diferencia de otras frecuencias dentro del espectro electromagnético, el infrarrojo puede llegar a calentar la muestra, lo cual puede provocar errores de medición en los experimentos, o incluso el daño permanente de la célula.

Otro ejemplo que evidencia la necesidad de medir y controlar temperatura a microescala está en el creciente interés por la manipulación de moléculas individuales. Diversos autores se han interesado en estudiar los efectos de la temperatura en proteínas y ADN, y para ello, requieren manipular la temperatura del sistema en cuestión. Sin embargo, controlar la temperatura para esta clase de estudios puede llegar a ser complicado, debido a que aún hay pocos métodos confiables y estables de control de temperatura en arreglos de pinzas ópticas [1].

En el presente trabajo se desarrolla una metodología para medir temperatura puntual a microescala por medio de partículas suspendidas en un fluido. La metodología propuesta es corroborada con implementación experimental y simulaciones numéricas. Dicha metodología consiste en determinar la viscosidad de un fluido a partir del desplazamiento que experimenta una partícula atrapada por una pinza óptica, debido a la fuerza de arrastre causada por un fluido en movimiento. Al conocer la viscosidad del fluido, así como la variación de la viscosidad con la temperatura, finalmente se puede calcular la temperatura del microfluido.

El trabajo se encuentra organizado de la manera siguiente:

- **CAPÍTULO 1. CONTROL Y MEDICIÓN DE TEMPERATURA A MICROESCALA**
Se describen técnicas para calentamiento y enfriamiento de microfluidos comúnmente utilizadas, así como antecedentes que se tienen de técnicas de medición de temperatura a microescala.
- **CAPÍTULO 2. PINZAS ÓPTICAS COMO HERRAMIENTA EN EL ESTUDIO DE MICROFLUIDOS**
Se presenta el principio físico del funcionamiento de una pinza óptica y sus modelos de estudio, así como avances relevantes en el uso de pinzas ópticas para estudio de microfluidos, incluyendo la medición conceptual de temperatura.
- **CAPÍTULO 3. MODELADO DE MICROFLUJOS CONVECTIVOS**
Se presenta una simulación numérica que permite analizar un fluido que fluye dentro de un microcanal y el cual es calentado usando un láser infrarrojo.
- **CAPÍTULO 4. TERMOMETRÍA CON PINZAS ÓPTICAS EN MICROCANALES**
Se describe la metodología experimental llevada a cabo para medición de temperatura local en un microcanal, los resultados obtenidos, y los factores que inducen errores en las mediciones. Adicionalmente, se exponen las dificultades experimentales que se encontraron en el marco de este trabajo.

Objetivos

Objetivo general

Desarrollar un método experimental de medición de temperatura en un microfluido utilizando pinzas ópticas.

Objetivos específicos

1. Diseñar un método para el calentamiento de la muestra sin afectar el funcionamiento de la pinza óptica.
2. Complementar el arreglo experimental de pinzas ópticas del laboratorio para el calentamiento de la muestra.
3. Desarrollar una metodología de procesamiento para los datos medidos que permita recuperar la temperatura del microfluido.

Hipótesis

Existe una relación entre la temperatura de un fluido en movimiento y la fuerza de arrastre que tiene sobre una partícula atrapada por una pinza óptica, por lo que, al estudiar el desplazamiento de la partícula debido al contacto con el fluido, se podrá medir la temperatura local de éste.

Capítulo 1. Control y medición de temperatura a microescala

Conforme crece el espectro de aplicaciones a microescala, surge la necesidad de desarrollar métodos para calentar o enfriar un microfluido, así como técnicas para medición de su temperatura. En este capítulo se busca hacer una sinopsis de las técnicas de control y medición de temperatura en microfluidos desarrolladas y empleadas regularmente en diferentes aplicaciones.

1.1 Técnicas de calentamiento y control de temperatura en microfluidos

1.1.1 Calentamiento externo

Las técnicas de calentamiento externo consisten en calentar el fluido antes de que entre al sistema, generalmente utilizando componentes comerciales, como lo son las celdas Peltier, las cuales permiten un fácil control de la temperatura del líquido fluyendo. Como ejemplo, tenemos el trabajo de Velve-Casquillas *et al.* [2], que propone un método de control de temperatura de un microfluido haciendo este fluir por dos celdas Peltier a través de un “canal de control”, usando para ello una bomba de infusión de jeringa. De esta forma, logran calentar y enfriar el sistema a una temperatura de 45°C y 5°C, respectivamente.

Otro ejemplo de calentamiento externo es el descrito por Mao *et al.* [1], un método de control de temperatura en un arreglo de pinzas ópticas de doble haz utilizando dos chaquetas de cobre montadas sobre cada uno de los objetivos del arreglo óptico (Figura 1), a través de las cuales hace circular un fluido que mantiene la cámara a una temperatura determinada. Con este método, se alcanzan temperaturas entre 4.5°C y 68°C.

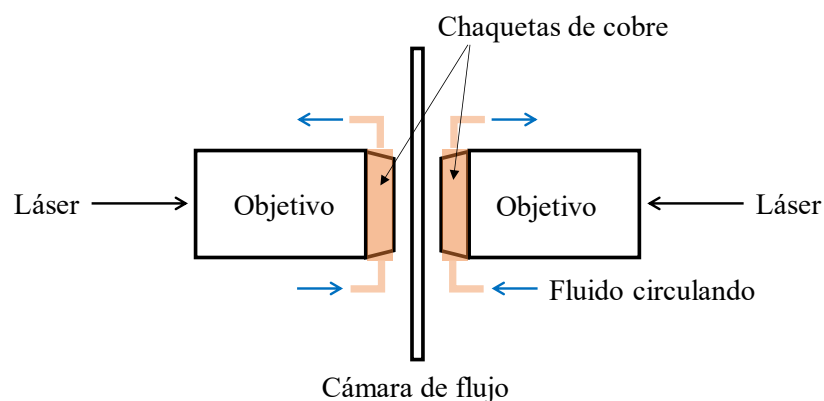


Figura 1. Esquema del control de temperatura con chaquetas de cobre. Figura tomada y traducida de: Mao *et al.* [1].

Por último, también tenemos el trabajo de Williams *et al.* [3], donde se presenta un control de temperatura colocando la muestra entre dos placas de cobre con orificios para dejar pasar el láser de la pinza óptica hacia la muestra. A su vez, estas placas se ponen en contacto con una celda Peltier, permitiendo incrementar o disminuir la temperatura de la muestra, la cual es monitoreada por medio de un termopar. Este método permite alcanzar temperaturas 40°C por encima de la temperatura inicial, sin embargo, también requiere de la posibilidad de crear espacio suficiente entre la cámara y los objetivos de microscopio para introducir la celda Peltier, lo cual no es posible cuando se utilizan objetivos de menor distancia de trabajo.

1.1.2 Calentamiento integrado

Las técnicas de calentamiento integrado tienen como característica que, como su nombre lo indica, el calor se difunde desde una fuente de calor que se encuentra dentro del sistema. El ejemplo más clásico de calentamiento integrado es la implementación de técnicas basadas en el efecto Joule. Dichas técnicas toman ventaja de la propiedad de conductividad eléctrica de algunos metales y líquidos, ya que se puede demostrar que existe una relación entre la corriente eléctrica que fluye por un material con resistencia eléctrica determinada, y el flujo de calor que este disipa.

Mello *et al.* [4] presenta un método de calentamiento integrado haciendo uso de un líquido iónico, el cual se hace fluir dentro de un microcanal en paralelo con el fluido que se busca calentar, y se puede calentar usando corriente alterna o directa. Se presentan experimentos usando hexafluorofosfato de 1-butil-3-metilimidazolio y 1-butil-3-metilimidazolio bis-(trifluorometilsulfonil)-imida ([BMIM][PF₆] y [BMIM][Tf₂N], respectivamente) como líquido iónico, y se comprueba que calentando [BMIM][Tf₂N] con corriente alterna, se logra calentar el microfluido hasta 100°C en aproximadamente 12 segundos, teniendo un control de temperatura de $\pm 2^\circ\text{C}$. La velocidad a la que se calienta el microfluido se puede controlar variando el voltaje aplicado en el líquido iónico.

Pitchaimani *et al.* [5] trabajó con calentamiento integrado usando metal. Sobre una película de plástico limpia, construyó resistencias de oro de 100 nm de espesor en forma de serpentina mediante grabado fotolitográfico. Subsecuentemente, la película de plástico con los microcalentadores se adhirió a la muestra conteniendo el microcanal. Como resultado, encontraron que dependiendo de la potencia que se alimenta a los microcalentadores, la temperatura del canal aumenta entre 10 y 20 °C.

Un segundo ejemplo de calentamiento integrado es el uso de reacciones químicas, teniendo como ventaja que este método también permite el enfriamiento del fluido. Algunos autores han hecho uso de procesos endotérmicos y exotérmicos para el control de temperatura en microfluidos, ya que estos absorben y liberan calor, respectivamente. Para este caso, se suelen construir dos microcanales de reactivos que se fusionan en uno solo que corre paralelo al microcanal que contiene el fluido de trabajo. Para enfriamiento de la muestra, se ha encontrado que se utiliza la evaporación de acetona en aire, mientras que para el calentamiento una disolución de 97% H₂SO₄ en agua, alcanzando con ellas temperaturas en el rango de -3°C a 76°C [6]. Cabe mencionar que, a pesar de lograrse el calentamiento y enfriamiento del fluido correctamente, este método es poco controlable y puede llegar a ser inestable.

1.1.3 Radiación electromagnética

En las secciones anteriores se describieron métodos de control de temperatura cuyo funcionamiento se basa en la difusión de calor desde una fuente, hacia el fluido de trabajo. Sin embargo, es también posible lograr calentamiento por radiación electromagnética, empleando microondas o láseres. Teniendo un especial interés en los métodos con láser, se ha encontrado una gran variedad de trabajos donde el calentamiento de un microfluido se logra incidiendo el láser directamente sobre este, la longitud de onda del láser utilizado siendo el adecuado para cada fluido de trabajo [1] [7] [8].

Se destaca el trabajo de Ohta *et al.* [9], donde, a diferencia de otros autores, se logra calentamiento incidiendo el láser sobre un sustrato absorbente y no sobre el fluido. En este caso, utilizó un láser con una potencia de 10 mW y longitud de onda de 635 nm, así como un portaobjetos recubierto de una capa de óxido de indio y estaño de 100 nm de espesor, seguido de una capa de 1 μm de espesor de silicio amorfo hidrogenado, esta última capa siendo la absorbente para longitudes de onda en el infrarrojo.

1.2 Técnicas de medición de temperatura en microfluidos

1.2.1 Medición de temperatura por medio de fluorescencia

La microscopía de fluorescencia es una técnica que se basa en el uso de fluoróforos, tales como tintes, anticuerpos o proteínas, los cuales son moléculas que emiten luz de una longitud de onda visible específica cuando se exponen a luz de una longitud de onda diferente. Dicha técnica ha ganado popularidad por su alta sensibilidad y precisión, especialmente en aplicaciones

biológicas, donde se ha convertido en una herramienta fundamental [10]. Sin embargo, autores han encontrado aplicaciones para esta técnica fuera del área biológica, tal es el caso de medición de temperatura a microescala, donde se logra la tarea estudiando la magnitud de la intensidad de fluorescencia.

Por un lado, Labrador-Páez *et al.* [11] presenta un método que permite la medición de temperatura de un microfluído a partir del metal europeo tripositivo Eu^{3+} , el cual es un complejo luminiscente que emite ondas en el rango visible como resultado de la excitación radiativa (Figura 2). En este trabajo, se controla la temperatura de una muestra de Eu^{3+} en agua mediante una plataforma de temperatura controlada, e incide un láser de diodo de 405 nm, el cual excita al metal. La luminiscencia se recolecta por medio de un objetivo de microscopio y es analizada usando un monocromador. Dicho experimento permitió leer temperaturas en un rango de 10 a 70 °C. Cabe mencionar que, en caso de trabajar con material biológico, el láser de longitud de onda de 405 nm resulta ser dañino para la muestra, lo que se presenta como una desventaja del método.

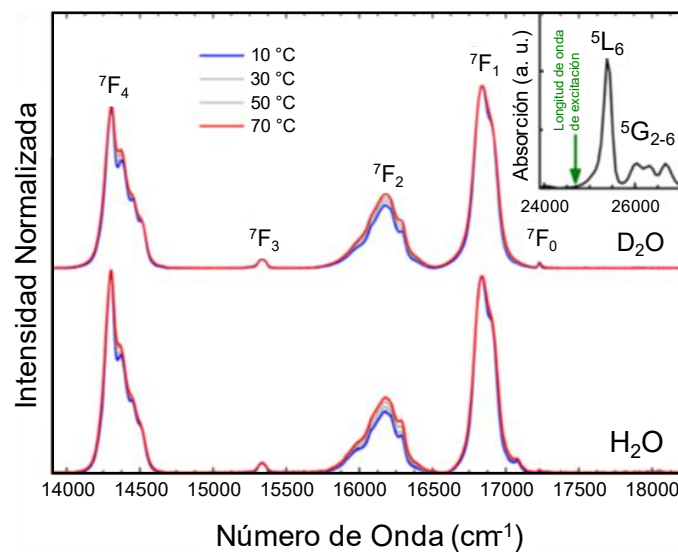


Figura 2. Espectro de excitación-emisión del europio en D_2O y H_2O a diversas temperaturas, obtenido por excitación de un láser de 405 nm de longitud de onda [11].

Por otro lado, tenemos a Bennet *et al.* [12], quien propone un método que combina la técnica FLIM (de sus siglas en inglés: Fluorescence Lifetime Imaging Microscopy) con el uso de pinzas ópticas. Los experimentos que realiza constan de encapsular Rodamina B en una microgota, la cual puede ser manipulada dentro del fluido por medio del atrapamiento óptico. Una vez atrapada la microgota, se mueve a la posición deseada dentro del fluido y se registra una serie de imágenes con control de tiempo para generar una imagen FLIM, a partir de la cual

se puede determinar la temperatura local del fluido. La temperatura del fluido se controla usando un método de calentamiento integrado.

Las técnicas de medición de temperatura por microscopía de fluorescencia han reportado resultados confiables, siendo una técnica especialmente útil en aplicaciones biológicas, donde los fluoróforos ya son utilizados para otros estudios. Sin embargo, cabe recalcar que, al ser una técnica invasiva, donde se debe introducir agentes extraños a un fluido, su uso se ve restringido a aplicaciones específicas.

1.2.2 *Medición de temperatura por medio del movimiento Browniano de partículas*

Al tener partículas coloidales suspendidas en un fluido, se observa que estas presentan movimiento aleatorio debido a la colisión de cada partícula con las moléculas del fluido. En partículas individuales, dicho movimiento aleatorio se le conoce como movimiento Browniano, y puede ser cuantificado a través del desplazamiento cuadrático medio (MSD). El MSD es una función del tiempo que proporciona una medida de la difusión de una partícula dentro de un medio. Para una dirección, tomando como ejemplo la dirección x , el MSD de un grupo de partículas coloidales se expresa

$$\text{MSD}_x(\tau) = \frac{\sum_{i=1}^n (x(\tau) - x(0))^2}{n} = 2D\tau, \quad (1.1)$$

donde $x(\tau)$ es la posición de la partícula en un instante de tiempo de interés y $x(0)$ es su posición de referencia, n es el número de partículas estudiadas, τ es el intervalo de tiempo de observación entre cada incremento de desplazamiento, y D el coeficiente de difusividad de la partícula, descrito por la ecuación de Stokes-Einstein

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta a}, \quad (1.2)$$

donde k_B es la constante de Boltzmann (1.38×10^{-23} J/K), T la temperatura absoluta del fluido, η la viscosidad dinámica del fluido, y a el radio de la partícula.

La ecuación 1.1 se puede expresar también para MSD bidimensional o tridimensional. El MSD en tres dimensiones se describe de la forma

$$\text{MSD}_{3D}(\tau) = 6D\tau. \quad (1.3)$$

Combinando las ecuaciones (1.2) y (1.3), se obtiene la expresión (1.4)

$$\text{MSD}_{3D} = \frac{k_B T}{\pi \eta a} \tau, \quad (1.4)$$

en la cual, si se mantienen todas las demás variables constantes, el MSD se vuelve dependiente únicamente de la relación T/η .

Varios autores han hecho uso de la teoría anteriormente descrita, para medición de temperatura:

1. Chung *et al.* [13] midió temperatura a partir del cálculo del MSD en dos dimensiones de nanopartículas de poliestireno modificado con carboxilato de 250 nm de diámetro, suspendidas en agua desionizada. La temperatura del fluido se controló usando un método de calentamiento externo. Los experimentos consistieron en videos de 10 segundos, grabados a 30 fps. Como resultado, midió temperatura en diferentes planos focales, logrando un mapeo de temperatura con un error menor a 1°C, a excepción de los puntos medidos en planos focales cercanos a la pared de la muestra, donde la diferencia entre el valor de temperatura medida y el esperado es mayor (Figura 3).

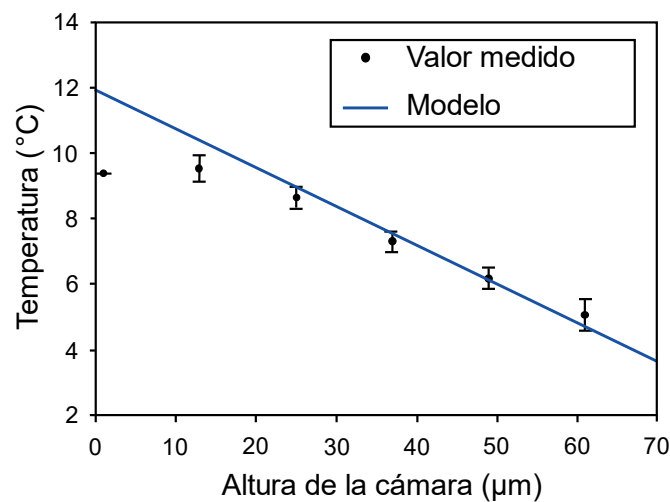


Figura 3. Mapeo de temperatura en 3D. Figura tomada y traducida de [13].

2. Park *et al.* [14] realizó el seguimiento de partículas libres en una, dos y tres dimensiones utilizando microscopía óptica de seccionamiento en serie, de manera que se midió temperatura para las tres dimensionalidades. Los experimentos consistieron en 7 videos de 1 segundo grabados a 30 fps para cada temperatura, y fueron realizados usando como fluido de trabajo una suspensión de partículas de poliestireno fluorescentes de 500 nm de diámetro

suspendidas en agua desionizada, cuya temperatura fue controlada colocando la muestra sobre un bloque de cobre con refrigerante circulando. Como resultado, Park *et al.* obtuvo un buen ajuste en las tres dimensionalidades.

3. Chamrathy *et al.* [15] midió simultáneamente la velocidad y temperatura de un fluido, a partir del pico de ampliación de la función de correlación cruzada debido al movimiento Browniano de la partícula. La correlación está definida de la forma $R(S) = \int I_1(X)I_2(X + s)dX$, e indica la posición de una partícula en un tiempo X y su posición en el tiempo $X + s$, donde s es un paso de tiempo. Se utilizó una suspensión de micropartículas de polímero fluorescente de $0.5 \mu\text{m}$ de diámetro, y la temperatura de la muestra se controla utilizando un baño térmico. Los experimentos consistieron en un conjunto de 500 imágenes para cada temperatura medida. Como resultados, obtuvo mediciones de temperatura ligeramente elevadas con respecto a la monitoreada por un termopar, por lo que se empleó un factor de corrección.

Sin embargo, existen factores que pueden alterar la dependencia de la temperatura del movimiento Browniano, por lo que la metodología anteriormente descrita no es infalible. Algunas consideraciones críticas son, por ejemplo, la sedimentación de partículas, la convección térmica, y la interacción entre partículas, ocasionando estas que la técnica sea óptima únicamente en determinadas aplicaciones. Para evitar que la sedimentación de partículas afecte en el movimiento Browniano, se debe trabajar con un número de Péclet menor a 1 (el número de Péclet se define como la relación entre la velocidad de sedimentación y la difusividad de las partículas). La convección natural dentro del fluido de trabajo se previene trabajando con números de Rayleigh menores a un valor crítico ($Ra < 1708$). Por último, para que las mediciones no se vean afectadas por las interacciones que existen entre partículas, se debe trabajar con suspensiones de baja concentración, en donde el espacio entre partículas sea de alrededor de cinco veces su diámetro [14].

De los autores citados, únicamente Park *et al.* reportó un estudio sobre el número de Péclet, el número de Rayleigh y la concentración de partículas en la suspensión, para justificar el uso del método. Ninguno de los autores realizó consideraciones para las partículas localizadas en un plano focal cercano a la pared, lo que se ve reflejado en los resultados de Chung *et al.* Por último, no se reportó estudios sobre las posibles vibraciones que los métodos de calentamiento externos pueden inducir al sistema y afectar en el movimiento Browniano de las partículas.

Capítulo 2. Pinzas ópticas como herramienta en el estudio de microfluidos

Una pinza óptica es una herramienta ampliamente utilizada, compuesta por un haz de luz altamente enfocado capaz de atrapar partículas microscópicas en tres dimensiones. Desde 1986, año en el que Arthur Ashkin reportó la primera pinza óptica, ésta se convirtió en un instrumento habitual en aplicaciones biológicas, ya que trabaja con fuerzas del orden del piconewton, ideales para la manipulación de células, moléculas y material biológico blando. Posteriormente, las pinzas ópticas demostraron ser útiles en otras áreas, como la física, química, y nanotecnologías, así como también en el área ingenieril [16]. En este capítulo se describirá brevemente qué es una pinza óptica, cómo se estudia, y cómo se ha adaptado para el estudio de microfluidos.

2.1 Definición de la pinza óptica

Una pinza óptica es el potencial producido por un haz láser altamente enfocado, capaz de atrapar partículas dieléctricas de diámetros en un rango de ~ 25 nm y 10 μ m. El atrapamiento ocurre gracias a fuerzas inducidas sobre la partícula debido al cambio de momentum en los fotones del haz, y únicamente se logra si el índice de refracción de la partícula es mayor que el del medio [17].

2.1.1 Fuerzas de atrapamiento

Las fuerzas que entran en juego en el atrapamiento óptico se estudian por medio de aproximaciones que dependen de la relación entre el tamaño de la partícula en cuestión y la longitud de onda del haz de luz. Considerando una partícula de radio a y un láser de atrapamiento de longitud de onda λ , se puede trabajar con tres enfoques.

2.1.1.1 Régimen de óptica de rayos ($a \gg \lambda$)

Cuando el tamaño de la partícula es mucho mayor a la longitud de onda del haz, las fuerzas de atrapamiento se pueden aproximar usando óptica geométrica. Dicha aproximación se basa en que, cuando un rayo de luz golpea una partícula dieléctrica, una pequeña cantidad de energía se refleja en la superficie de la partícula, mientras que el resto se transmite dentro de ella. Posteriormente, el rayo cruza la partícula hasta llegar a la superficie y, de manera contraria,

una pequeña cantidad de energía se refleja dentro de la partícula, y el resto se transmite fuera de ella. Este fenómeno continúa hasta que toda la luz se haya transmitido fuera de la partícula, como se muestra en la Figura 4.

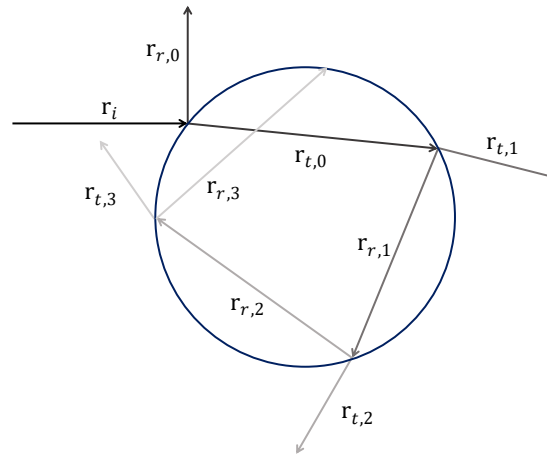


Figura 4. Reflexión y transmisión de un rayo incidente r_i golpeando en una esfera. La nomenclatura $r_{r,n}$ y $r_{t,n}$ hace referencia al rayo n veces reflejado y n veces transmitido, respectivamente [18].

Al transmitirse el rayo, éste se refractará, produciendo en cada refracción un cambio neto de dirección, y con esto, un cambio neto de momentum. Todos los rayos transmitidos y reflejados se encuentran contenidos en el plano de incidencia, por lo tanto, la fuerza del rayo tiene componentes únicamente en este plano. De esta manera, se puede dividir la fuerza del rayo incidente en una fuerza de gradiente, perpendicular al rayo, y una fuerza de esparcimiento, en dirección del rayo [18]. Cabe mencionar que la mayor contribución a las fuerzas ópticas se debe a los dos primeros eventos, es decir, la primer reflexión y transmisión del rayo incidente.

2.1.1.2. Régimen de Rayleigh ($a \ll \lambda$)

Cuando el tamaño de la partícula es pequeño con respecto a la longitud de onda del haz láser, se aproxima la partícula como un dipolo inducido que experimenta fuerzas electrostáticas debido a la interacción con un campo electromagnético externo. Realizando el análisis de momentum de la partícula como un dipolo oscilante, se determina que la fuerza ejercida sobre ésta se puede separar en tres términos: la fuerza de gradiente, la fuerza de esparcimiento, y la fuerza de *spin* [18].

- La fuerza de gradiente es la responsable del confinamiento en las pinzas ópticas. Ésta surge de la energía potencial de un dipolo en el campo eléctrico y, por lo tanto, es una fuerza conservativa.

- La fuerza de esparcimiento se debe a la transferencia de momentum del campo a la partícula como resultado de los procesos de esparcimiento y absorción. Esta fuerza no conservativa apunta en la dirección de propagación de la luz.
- La fuerza de *spin* es no conservativa, y surge de gradientes de polarización en el campo electromagnético. En el caso de una onda plana, la fuerza de *spin* tiene contribución nula.

2.1.1.3. Régimen intermedio ($a \sim \lambda$)

Cuando las dimensiones de la partícula son del orden de la longitud de onda del láser de atrapamiento, se utiliza la teoría de Mie. A diferencia de las aproximaciones descritas anteriormente, en las cuales se realizan simplificaciones importantes para el cálculo de la fuerza ejercida por la pinza óptica, la teoría de Mie es una solución completamente analítica para modelar la interacción de luz y partícula. La teoría de Mie resuelve el problema de esparcimiento de una onda plana linealmente polarizada por una esfera homogénea de determinado tamaño e índice de refracción [18].

2.1.2 Atrapamiento óptico

De manera general, la fuerza de gradiente es aquella responsable del atrapamiento, ya que tira de la partícula hacia el punto focal del rayo, mientras que la fuerza de esparcimiento empuja a la partícula en la dirección en la que incide la luz (Figura 5). El atrapamiento óptico estable se logra cuando la fuerza de gradiente es mayor a la fuerza de esparcimiento [19]. Una vez atraída la partícula al foco del haz de luz, ésta únicamente se desplaza ligeramente en su posición debido al movimiento browniano, un movimiento completamente aleatorio natural de la partícula.

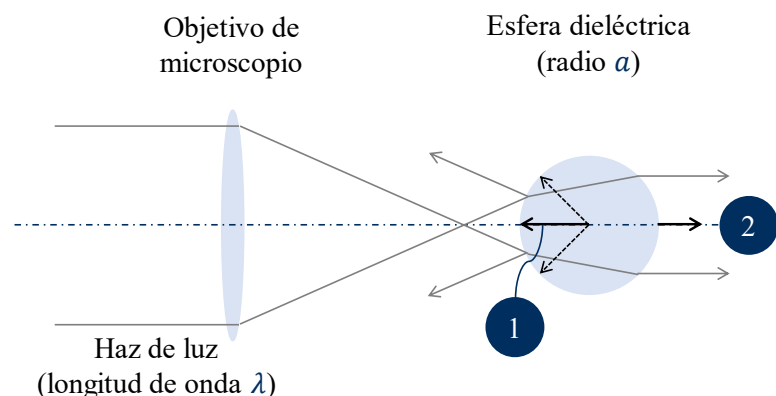


Figura 5. Fuerzas de atrapamiento en una pinza óptica. (1) Fuerza de gradiente. (2) Fuerza de esparcimiento

2.1.3 La pinza óptica descrita por la ley de Hooke

Al realizar el atrapamiento óptico, el haz láser enfocado actúa como un potencial que atrae a la partícula hacia su foco, por lo que la posición de equilibrio de la partícula se localiza cerca de éste. Cuando la partícula atrapada se desplaza de su posición de equilibrio, por ejemplo, al ejercer una fuerza externa sobre la partícula, experimenta una fuerza de atracción hacia el foco proporcional a su desplazamiento. Dicho esto, se puede aproximar una pinza óptica como un oscilador armónico [18].

Recordando que la pinza óptica atrapa a la partícula en tres dimensiones, la relación entre la fuerza de atracción hacia la posición de equilibrio y el desplazamiento de la partícula se puede escribir mediante la ley de Hooke, para cada dimensión

$$\begin{cases} F_x = -k_x(x - x_0) \\ F_y = -k_y(y - y_0) \\ F_z = -k_z(z - z_0) \end{cases}, \quad (2.1)$$

donde k_x , k_y y k_z son las constantes de rigidez de la pinza en la dirección x , y y z , respectivamente, y la coordenada (x_0, y_0, z_0) es la posición de equilibrio de la partícula.

2.1.4 Calibración de la pinza óptica

Para poder estudiar el atrapamiento óptico como un oscilador armónico, es necesario poder obtener el valor de la constante de rigidez de la pinza óptica. A continuación, se presentan dos de los métodos más relevantes de calibración de la pinza [20].

2.1.4.1. Teorema de equipartición

El teorema de equipartición se basa en que la energía cinética promedio $\langle E_k \rangle$ para cada grado de libertad de una partícula que presenta movimiento Browniano es igual a la energía potencial promedio $\langle E_p \rangle$ de la misma, debida a sus fluctuaciones. Tomando como ejemplo la calibración para la dirección x

$$\langle E_{k_x} \rangle = \frac{1}{2} k_B T, \quad (2.2)$$

$$\langle E_{P_x} \rangle = \frac{1}{2} k_x S^2, \quad (2.3)$$

donde k_B es la constante de Boltzmann ($k_B = 1.38 \times 10^{-23}$ J/K), T es la temperatura absoluta del fluido, S^2 es la varianza de la posición de la partícula, y k_x la rigidez de la pinza óptica, para el grado de libertad en estudio.

Igualando (2.2) y (2.3), se obtiene una expresión para la rigidez

$$k_x = \frac{k_B T}{S^2}, \quad (2.4)$$

tal que la constante de rigidez de la pinza se puede calcular si se conoce la varianza de la posición de la partícula y la temperatura del fluido, valores que se pueden obtener experimentalmente.

En la práctica, debido a que la distribución de probabilidad de la posición de las partículas es gaussiana, dada una serie de L muestras independientes adquiridas, la varianza de la posición de la partícula se puede estimar de la forma

$$S^2 = \frac{1}{L} \sum_{i=1}^L (x_i - x_p)^2, \quad (2.5)$$

donde x_p es la posición promedio de las muestras adquiridas.

Un estimado preciso de la constante de rigidez de la partícula se obtiene al repetir experimentos y promediar los resultados obtenidos. Con respecto a los datos muestreados, no es necesario que se adquieran con un paso de tiempo fijo, siempre que se tenga una cantidad suficiente de datos individuales. Es de importancia mencionar que al utilizar el teorema de equipartición es propenso a errores sistemáticos debido a la presencia de ruido [18].

2.1.4.1. Desplazamiento cuadrático medio

Una caracterización más precisa de la constante de rigidez de la pinza óptica [18] se puede obtener a partir de un análisis del desplazamiento cuadrático medio (MSD). Como se mencionó en la sección 1.1.2, el MSD es una función que permite cuantificar el movimiento Browniano de una partícula coloidal.

Para partículas libres, el $\text{MSD}_x(\tau)$ crece linealmente con el tiempo. Sin embargo, cuando la partícula está atrapada por una pinza óptica, su MSD no puede crecer de forma indefinida, y en cambio, crece hasta alcanzar un valor constante, tal que, cuanto más fuerte es el atrapamiento

óptico, cuanto antes se alcanza el valor constante (Figura 6). De tal forma, para una partícula atrapada se tiene un MSD con un comportamiento exponencial

$$\text{MSD}_x = \frac{2k_B T}{k_x} [1 - e^{-k_x \tau / \gamma}], \quad (2.6)$$

con coeficiente de fricción $\gamma = 6\pi\eta a$, donde η es la viscosidad dinámica del fluido y a el radio de la partícula.

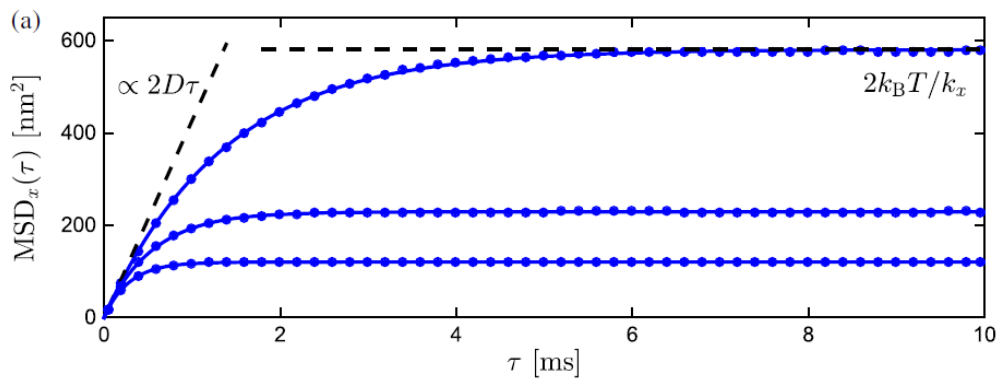


Figura 6. Calibración de una pinza óptica usando el desplazamiento cuadrático medio. Figura tomada de [20].

Por tanto, la constante de rigidez de la pinza óptica para cada grado de libertad se puede calcular a partir de (2.6) si se conoce el MSD en dicha dirección. En la práctica, para el cálculo del MSD de una partícula se necesita obtener una serie de datos correlacionados correspondientes a la posición de la partícula a intervalos de tiempo constantes [18]. Dada una serie de N datos obtenidos en un tiempo de muestreo $t_j = j\Delta t$, el MSD se puede calcular a partir de la trayectoria de la partícula en retardos de tiempo discretos $\tau_i = i\Delta t$ de la forma

$$\text{MSD}_{x,i} = \frac{1}{N-i} \sum_{j=1}^{N-i} [x_{j+i} - x_j]^2. \quad (2.7)$$

2.2 Velocimetría usando pinzas ópticas

En esta sección, se describirá el trabajo de Almendarez *et al.* [21], en el que se propuso una metodología para la medición experimental de velocidad en microfluidos usando una pinza óptica, y la cual será posteriormente utilizada para lograr medición de temperatura.

Cuando una partícula atrapada por una pinza óptica es expuesta a un fluido con velocidad, la fuerza de arrastre inducida en dirección del flujo alrededor de la partícula se describe de acuerdo con la ley de Stokes

$$F_{d_i} = 6\pi\eta a\beta u_i, \quad (2.8)$$

donde F_{d_i} es la fuerza de arrastre en dirección i , η es la viscosidad dinámica del fluido, a es el radio de la partícula, u_i la velocidad del fluido, y β un factor de corrección del coeficiente de arrastre debido a la influencia de la pared.

Combinando la ecuación (2.8) con un caso generalizado de las ecuaciones (2.1) para la dirección i , se obtiene una expresión que permite determinar la velocidad del fluido en dirección i , a partir de la posición de la partícula

$$u_i = \frac{k_i \Delta_i}{6\pi\eta a\beta}, \quad (2.9)$$

donde la constante de rigidez de la pinza en dirección i se puede calcular usando la ecuación (2.4). Para determinar el factor de corrección, se utiliza la ley de Faxen:

$$\beta = \frac{1}{1 - \frac{9}{16}\left(\frac{a}{h}\right) + \frac{1}{8}\left(\frac{a}{h}\right)^3 - \frac{45}{256}\left(\frac{a}{h}\right)^4 - \frac{1}{16}\left(\frac{a}{h}\right)^5} \cdot \frac{1}{1 - \frac{9}{16}\left(\frac{a}{t-h}\right) + \frac{1}{8}\left(\frac{a}{t-h}\right)^3 - \frac{45}{256}\left(\frac{a}{t-h}\right)^4 - \frac{1}{16}\left(\frac{a}{t-h}\right)^5}, \quad (2.10)$$

donde h es la distancia a la superficie más cercana y t la altura del canal.

Para poder hacer uso de la ecuación (2.9), se debe medir experimentalmente el desplazamiento de la partícula en la dirección de interés. Para ello, se debe encontrar la diferencia entre la posición promedio de la partícula antes y después de inducir el flujo, como se muestra en la Figura 7.

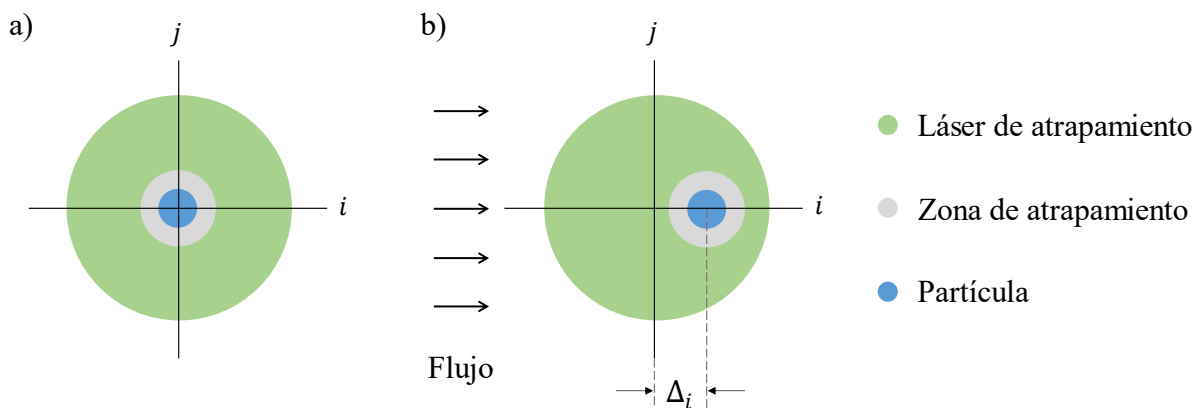


Figura 7. Esquema del desplazamiento promedio la partícula en dirección i debido a la presencia de un flujo. (a) Posición promedio de la partícula sin flujo. (b) Posición promedio de la partícula con flujo. Figura tomada de [21].

2.2.1. Técnica alternativa: velocimetría por seguimiento de partículas

La velocimetría por seguimiento de partículas, también conocida como velocimetría por imágenes de partículas de baja densidad numérica, es una técnica que rastrea la trayectoria de una partícula individual suspendida en un fluido en movimiento y determina la velocidad de éste a partir del desplazamiento de la partícula en un intervalo de tiempo prescrito. En la Figura 8 se observa cómo, para diferentes instantes en el tiempo, la partícula estudiada se encuentra en una posición diferente dentro del plano de imagen.

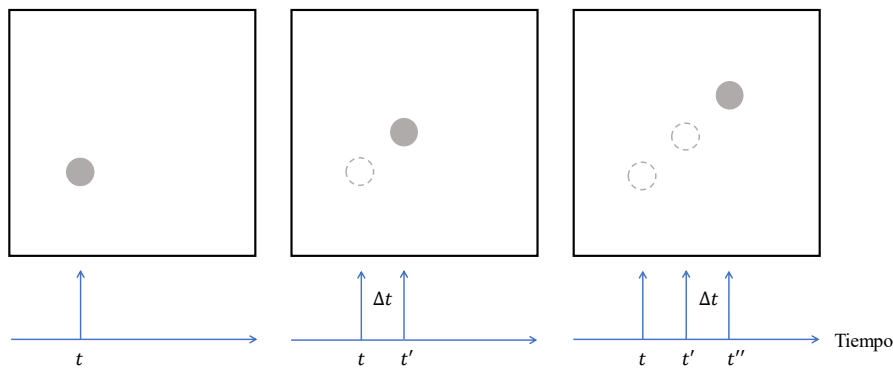


Figura 8. Posición de una partícula libre en movimiento en distintos instantes de tiempo. Imagen tomada de [22].

El método se basa en la definición de velocidad (Ecuación 2.11)

$$u = \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{\Delta s}{\Delta t}, \quad (2.11)$$

donde u es la velocidad del fluido, Δs el desplazamiento de la partícula, y Δt el intervalo de tiempo [23]. El intervalo de tiempo Δt es pequeño pero finito, generalmente dado en la práctica por la frecuencia de imagen. Para circunstancias en las que la frecuencia de imagen de la cámara sea limitada, la velocimetría por seguimiento de partículas se restringe a fluidos de baja velocidad.

El procesamiento de imágenes en velocimetría por seguimiento de partículas se divide en tres fases: detección de las partículas, localización de sus centroides, y vinculación de las partículas entre dos imágenes consecutivas, siendo esta última la esencia de la técnica, ya que determinará la correcta estimación del desplazamiento de cada partícula [21]. Este método puede ser empleado también en microfluidos, sin embargo, se deben tomar precauciones referentes a la influencia del movimiento Browniano de la partícula con respecto a su posición [24].

2.3 Medición conceptual de temperatura usando pinzas ópticas

De la ley de Stokes (Ecuación 2.8) se observa que, para un flujo con velocidad constante, la fuerza de arrastre que ejerce el fluido sobre la partícula atrapada es directamente proporcional a la viscosidad del fluido. Recordando que la viscosidad de un fluido es función de su temperatura, se puede decir que la fuerza de arrastre F_{d_i} es también una función de la temperatura del fluido

$$F_{d_i} = f(T) . \quad (2.12)$$

Para el caso particular de un líquido, la viscosidad de éste disminuye conforme aumenta su temperatura. Tal fenómeno se expresa de la forma

$$\eta = A \times 10^{\frac{B}{T-c}} , \quad (2.13)$$

donde A , B y C son constantes determinadas para cada líquido. Para el agua, A , B , y C toman los valores de $2.414 \times 10^{-5} \text{ kg}/(\text{m} \cdot \text{s})$, 247.8 K , y 140 K , respectivamente. Combinando las ecuaciones (2.8) y (2.13), se obtiene la ecuación a continuación

$$F_{d_i} = 6\pi a\beta u_i \left[A \times 10^{\frac{B}{T-c}} \right] . \quad (2.14)$$

Considerando agua como líquido de trabajo y una partícula de radio $a = 1 \mu\text{m}$, el comportamiento de la fuerza de arrastre para flujos con diferentes velocidades se muestra en la Figura 9. Se observa que, conforme aumenta la temperatura del fluido, la fuerza de arrastre sobre la partícula disminuye.

Igualando el caso general de la ecuación (2.1) y la ecuación (2.14), obtenemos

$$-k_i \Delta_i = 6\pi a\beta u_i \left[A \times 10^{\frac{B}{T-c}} \right] , \quad (2.15)$$

de donde se puede deducir que, al igual que la fuerza de arrastre, el desplazamiento que el fluido en movimiento provoca sobre la partícula atrapada será menor conforme la temperatura del fluido aumente.

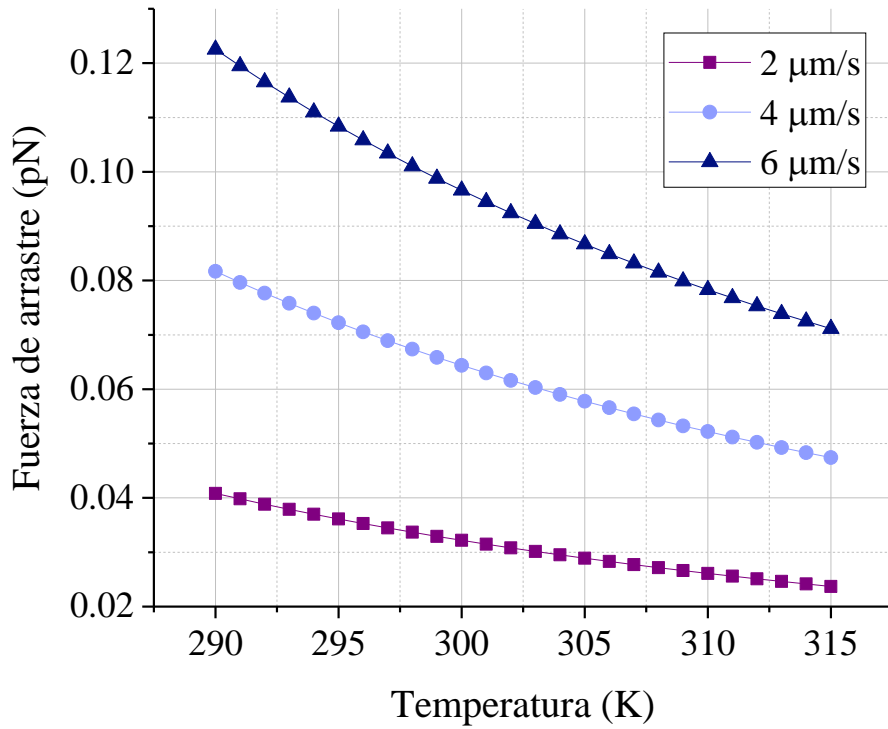


Figura 9. Fuerza de arrastre sobre la partícula en función de la temperatura del fluido

Resolviendo (2.15) para la temperatura del fluido, se obtiene finalmente una expresión que permite encontrar la temperatura de un fluido a partir del desplazamiento de una partícula atrapada

$$T = C + \frac{B \ln(10)}{\ln(k_i \Delta_i / 6 \pi a \beta u_i A)}, \quad (2.16)$$

donde se observa que es necesario conocer la constante de rigidez de la pinza óptica y la velocidad del fluido. Para ello, ambos parámetros se pueden encontrar utilizando las ecuaciones (2.4) y (2.9), respectivamente.

Capítulo 3. Modelado de microflujos convectivos

En este capítulo se presenta la simulación de los microflujos convectivos realizada en el software COMSOL Multiphysics, para analizar los resultados experimentales que se presentan más adelante. Se muestran los parámetros de la simulación, condiciones de frontera, mallado, ecuaciones resueltas y los resultados de simulación. Para mayor entendimiento del experimento, referirse a CAPÍTULO 4. TERMOMETRÍA CON PINZAS ÓPTICAS EN MICROCANALES.

3.1 Parámetros de simulación

3.1.1. Geometría

El modelo con el que se trabajó es una representación en dos dimensiones de un microcanal por el que fluye una mezcla de agua con micropartículas, el fluido sufre calentamiento debido a la incidencia de un láser infrarrojo sobre una cinta de grafito adherida a la parte superior del microcanal. En la Figura 10 se muestra un esquema acotado del microcanal, cuya geometría y dimensiones están basadas en microcanales construidos, modificando únicamente la forma de la entrada y salida del fluido, para mayor simplicidad (referirse a la Figura 24 para la representación real).

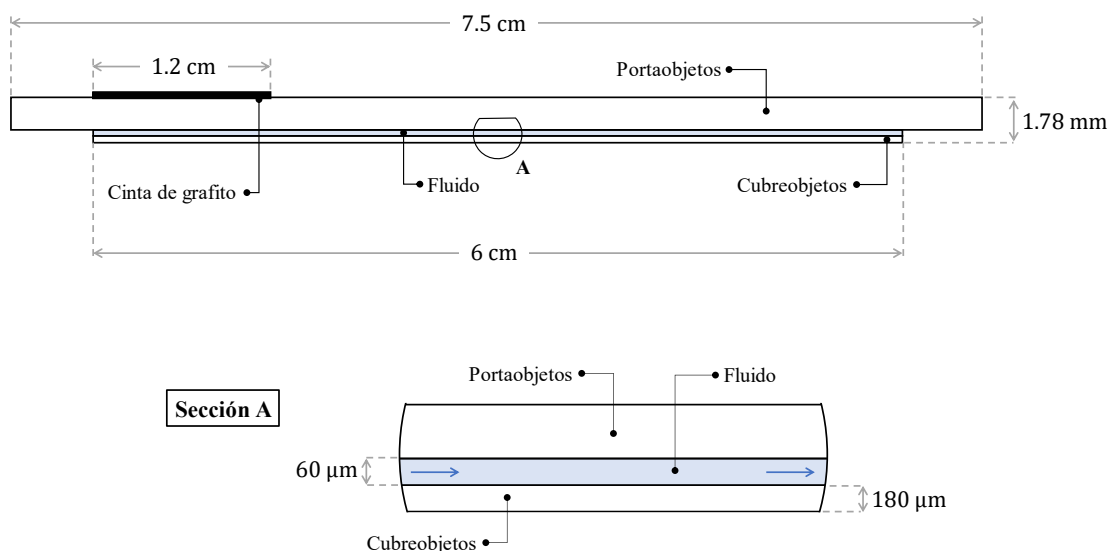


Figura 10. Esquema acotado de la geometría.

El modelo de la geometría completa en COMSOL Multiphysics se muestra en la Figura 11a donde, debido a las proporciones del microcanal, no se pueden observar correctamente todas las partes de éste. Por lo tanto, en la Figura 11b se hace el acercamiento necesario para poder distinguir las áreas correspondientes al fluido y cubreobjetos.

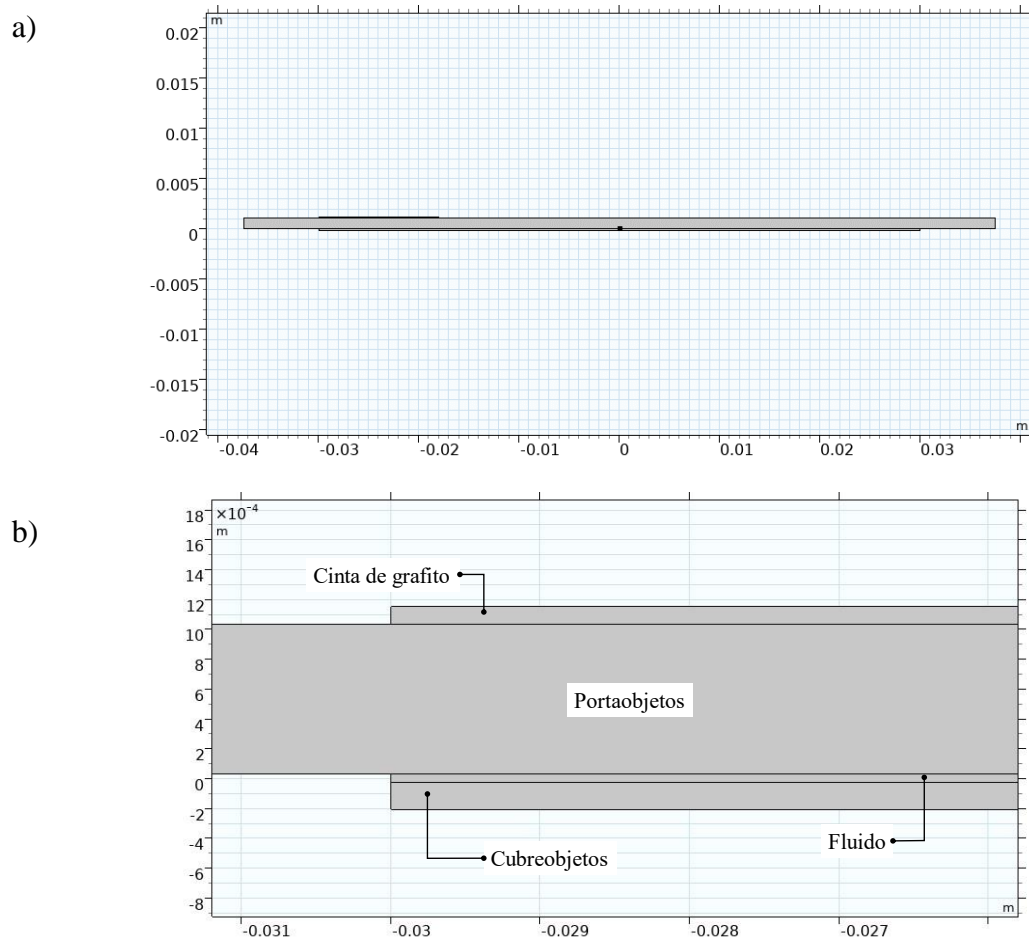


Figura 11. Geometría en COMSOL Multiphysics. (a) Geometría completa. (b) Acercamiento al extremo izquierdo de la geometría.

3.1.2. Definición del haz láser

Como se mencionará más adelante en el capítulo 4, sobre la cinta de grafito adherida en el microcanal (Figura 9) se incide un láser infrarrojo para calentar el fluido. Dicho láser tiene una forma gaussiana, descrita por la ecuación

$$I = \frac{2P}{\pi R^2} \exp\left(-\frac{2(x_L - x_{L0})^2}{R^2}\right), \quad (3.1)$$

donde I es la irradiación del láser, P la potencia del láser, R el radio del haz láser, y x_0 su centro. Los valores utilizados en la simulación para cada uno de los parámetros previamente mencionados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Parámetros asociados con el haz láser

| Parámetro | Valor numérico |
|-----------------------------|--|
| R | Radio del láser de 0.655 mm |
| x_{L_0} | Centro del punto láser en -2.4 cm |
| P | Conjunto de 10 simulaciones, para cada simulación se utilizó una potencia distinta del láser, tomando los siguientes valores: 2.52, 3.53, 4.30, 5.09, 5.90, 6.74, 7.60, 8.47, 9.37 mW |

3.1.3. Materiales

De la Figura 10 se observa que la geometría está compuesta por cuatro áreas diferentes: el fluido, el cubreobjetos, el portaobjetos, y la cinta de grafito. El fluido de trabajo es una suspensión de microesferas de sílica en agua Milli Q, la cual tiene propiedades térmicas y ópticas del agua en condiciones ambientales. Con respecto al material del portaobjetos y cubreobjetos, ambos están fabricados de vidrio borosilicatado, comúnmente utilizado para fabricar material de laboratorio.

Las propiedades de cada material fueron definidas como se describe a continuación:

Vidrio borosilicatado. Todas las propiedades del vidrio borosilicatado se consideraron constantes, tomando los valores correspondientes para temperatura ambiente

- Conductividad térmica $k = 1.15 \text{ W}/(\text{m} \cdot \text{K})$
- Calor específico $C_p = 830 \text{ J}/(\text{kg} \cdot \text{K})$
- Densidad $\rho = 2700 \text{ kg}/\text{m}^3$

Cinta de grafito. Las propiedades del grafito fueron tomadas de la biblioteca de materiales de COMSOL Multiphysics, por lo que las propiedades son funciones dependientes de la temperatura.

Agua. Algunas propiedades del agua se consideraron constantes, mientras que otras se definieron como funciones de la temperatura del fluido. Se mantuvo constante la relación de

calores específicos y la densidad, con un valor $\rho = 1000 \text{ kg/m}^3$, mientras que la conductividad térmica, capacidad térmica y viscosidad dinámica se definieron como funciones de interpolación, como se muestra en las Figuras 12-14.

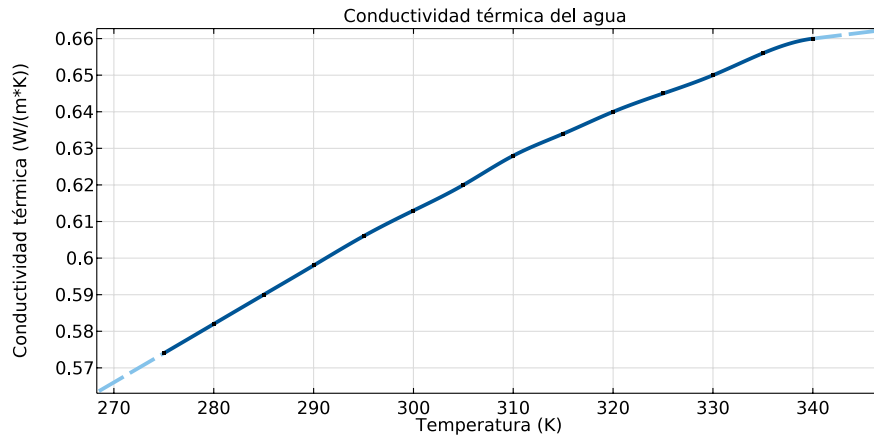


Figura 12. Conductividad térmica del agua en función de la temperatura

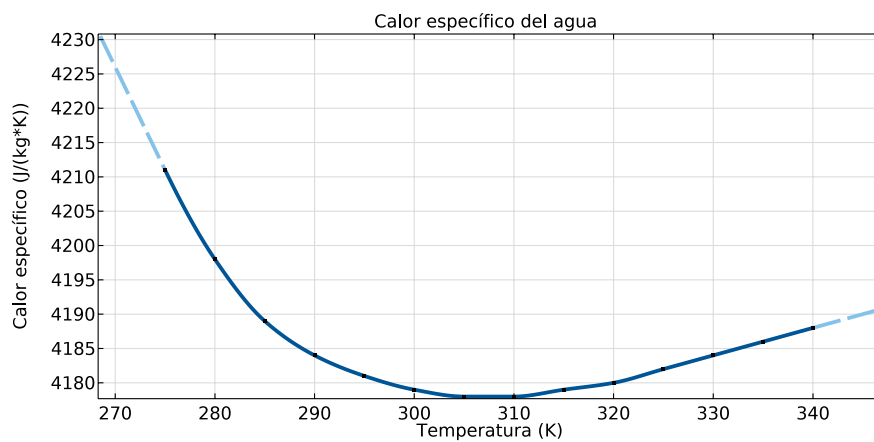


Figura 13. Calor específico del agua en función de la temperatura

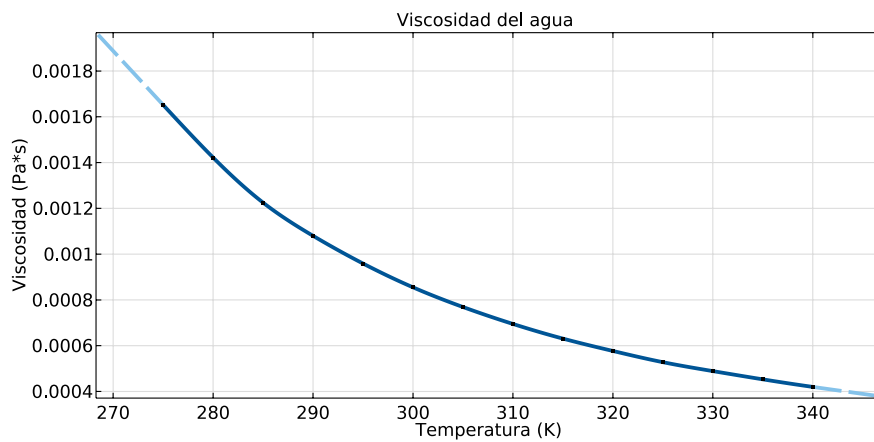


Figura 14. Viscosidad dinámica del agua en función de la temperatura

3.2 Mallado

La malla se construyó a partir de 35,626 elementos triangulares lineales. En la Figura 15 se muestra una sección del dominio mallado en el software COMSOL Multiphysics, donde se puede observar que en la parte superior de la geometría se encuentra la cinta de grafito, la cual tiene un mallado refinado, así como la del fluido, para obtener mejores resultados.

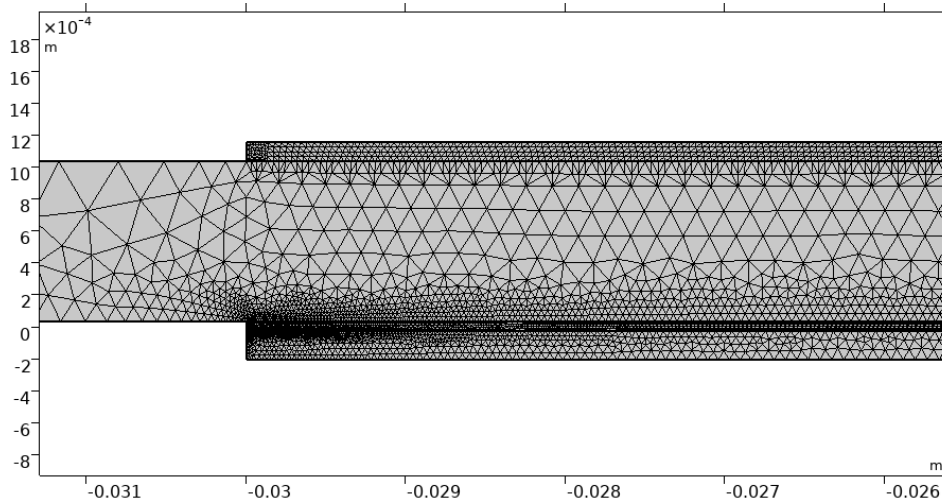


Figura 15. Geometría mallada

3.3 Condiciones de frontera

Las condiciones de frontera, numeradas del 1 al 8, se muestran en la Figura 16 y se describen en la Tabla 2.

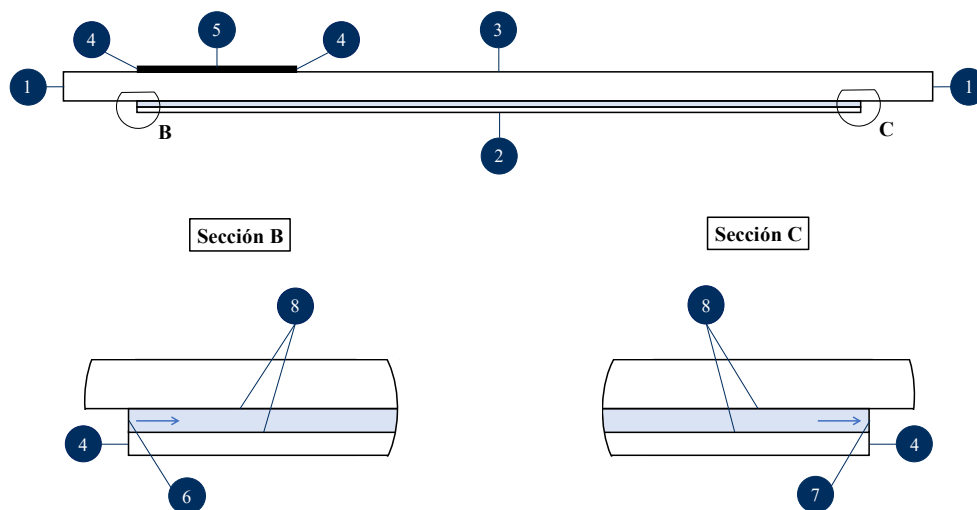


Figura 16. Esquema del microcanal con las condiciones de frontera indicadas

Tabla 2. Condiciones de frontera en COMSOL Multiphysics

| | Condición de frontera |
|----------|--|
| 1 | Temperatura prescrita |
| 2 | Convección natural externa. Placa horizontal, superficie inferior |
| 3 | Convección natural externa. Placa horizontal, superficie superior |
| 4 | Aislamiento térmico |
| 5 | Fuente de calor volumétrica |
| 6 | Entrada del fluido |
| 7 | Salida del fluido |
| 8 | No deslizamiento |

3.4 Ecuaciones resueltas

El software se implementó para resolver la ecuación de balance de energía en sólidos y fluidos (3.2) y, para flujo laminar, las ecuaciones de Navier-Stokes para la conservación de la cantidad de movimiento (3.3) y la ecuación de continuidad para la conservación de la masa (3.4), en un dominio bidimensional

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} + \rho C_p \mathbf{u} \cdot \nabla T + \nabla \cdot (-k \nabla T) = Q , \quad (3.2)$$

$$\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \rho (\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} = \nabla \cdot [-p \mathbf{I} + \nabla (\mu \mathbf{u})] + \mathbf{F} , \quad (3.3)$$

$$\rho \nabla \cdot \mathbf{u} = 0 , \quad (3.4)$$

donde ρ , k y C_p son la densidad, conductividad térmica y calor específico de cada material, respectivamente, \mathbf{u} es la velocidad del fluido, Q las fuentes de calor adicionales, μ la viscosidad dinámica del fluido y \mathbf{F} las fuerzas externas aplicadas sobre el fluido.

El láser infrarrojo incidiendo sobre la cinta se simuló resolviendo la ecuación (3.5) en un dominio muy delgado, posicionado sobre el portaobjetos, a la altura de la entrada del fluido

$$\frac{dI}{dy} = -\mu_a I , \quad (3.5)$$

donde I es la irradiación del láser infrarrojo descrita por (3.1), y μ_a es el coeficiente de absorción de la cinta de grafito para la longitud de onda del láser. Para una longitud de onda de 1046 nm, corresponde un coeficiente $\mu_a = 36.1 \text{ mm}^{-1}$.

3.5 Resultados de simulación

Como resultado de la simulación numérica se obtuvo la distribución de temperatura en el microcanal al llegar al estado estacionario, así como el perfil de velocidades. Además, dado que es de interés conocer las condiciones del fluido en la zona de atrapamiento de la pinza óptica, se determinó la temperatura y velocidad en estado estacionario sobre un punto de estudio. A continuación, se muestran dichos resultados de manera gráfica.

3.5.1 Distribución de temperatura

En las Figuras 17 y 18 se muestra la distribución de temperatura en estado estacionario dentro del canal, tomando como ejemplo el láser infrarrojo incidiendo sobre la muestra con una potencia de 2.5 mW y el fluido entrando al canal con una velocidad de $20 \text{ }\mu\text{m/s}$, considerando una temperatura inicial ambiente de 20°C . Se observa que la temperatura máxima se alcanza en la zona de incidencia del láser y se distribuye hacia el resto de la geometría.

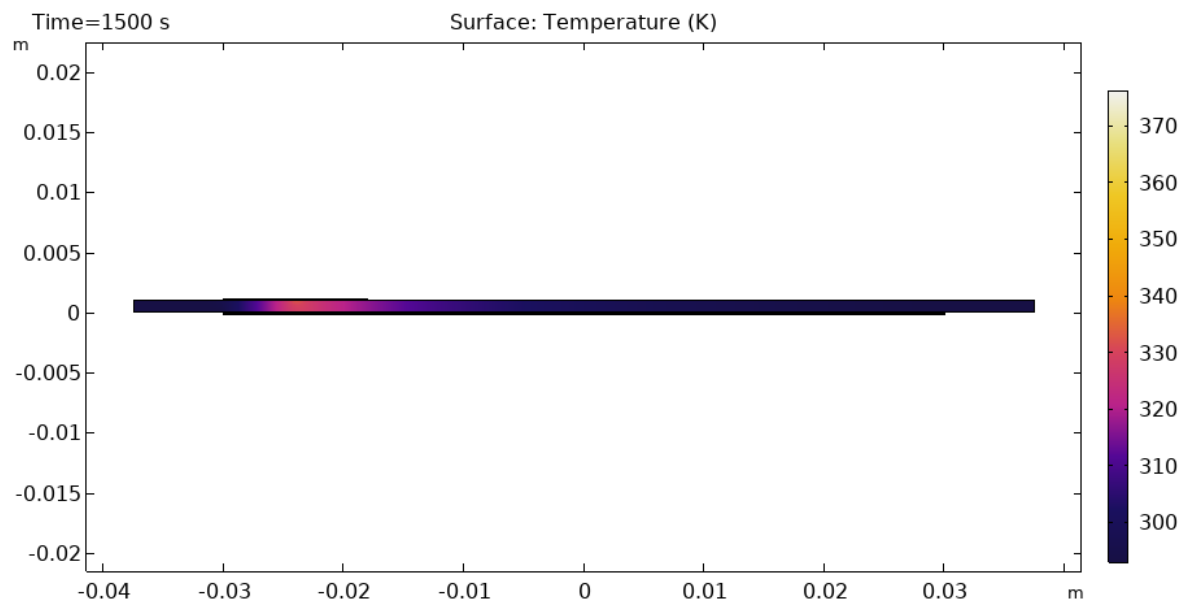


Figura 17. Distribución de temperatura en el canal

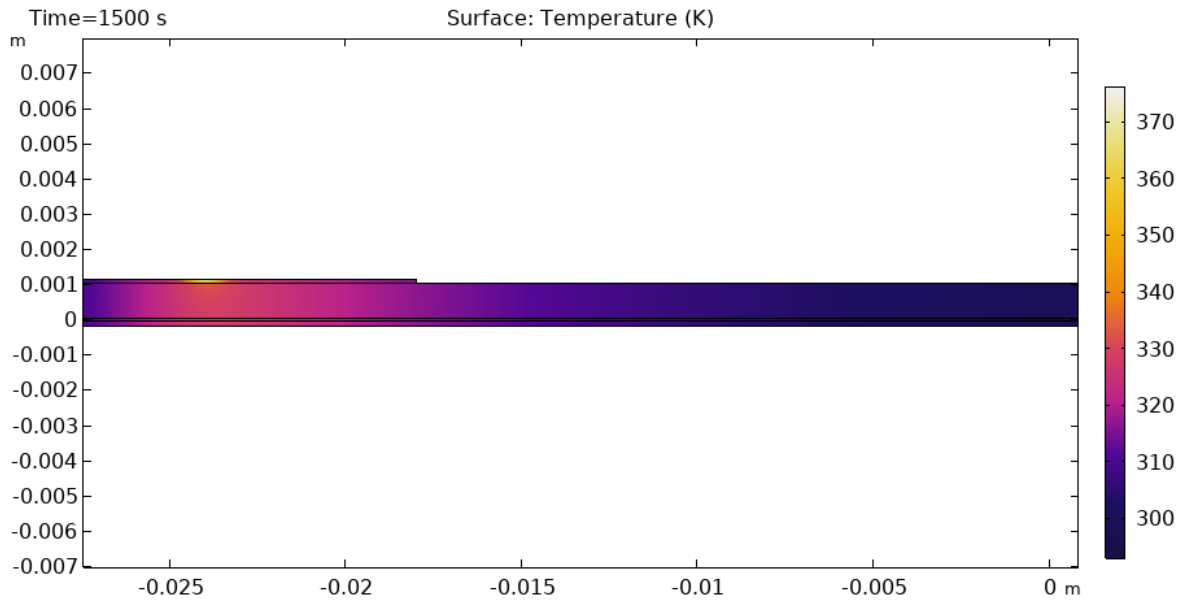
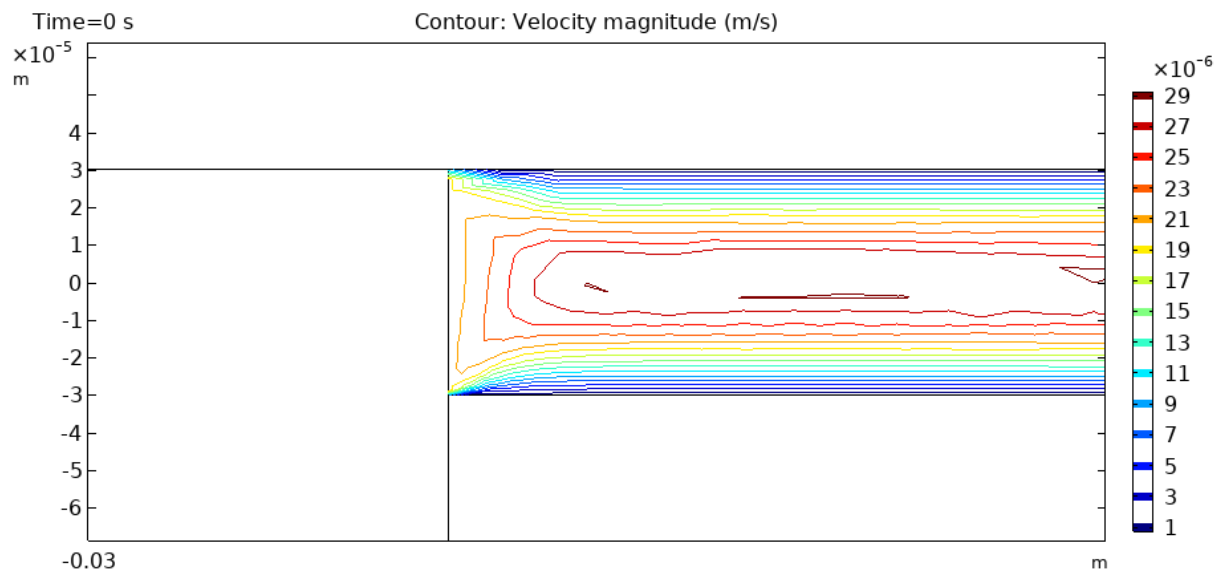


Figura 18. Distribución de temperatura en la zona de incidencia del láser infrarrojo y en la zona de atrapamiento.

3.5.2 Perfil de velocidad en el canal

En la Figura 19 se muestra el perfil de velocidades dentro del canal al alcanzar el estado estacionario, bajo las mismas condiciones descritas anteriormente, en la sección 3.5.1. En la Figura 18a se muestra la zona de entrada del fluido al canal, y se observa que se forma un perfil de velocidades parabólico debido a la condición de no desplazamiento en las paredes del canal. En la zona de atrapamiento de la pinza óptica (Figura 18b), el perfil de velocidades está completamente desarrollado, y se observa que se alcanza una velocidad máxima de $29 \mu\text{m/s}$ en el centro del canal.



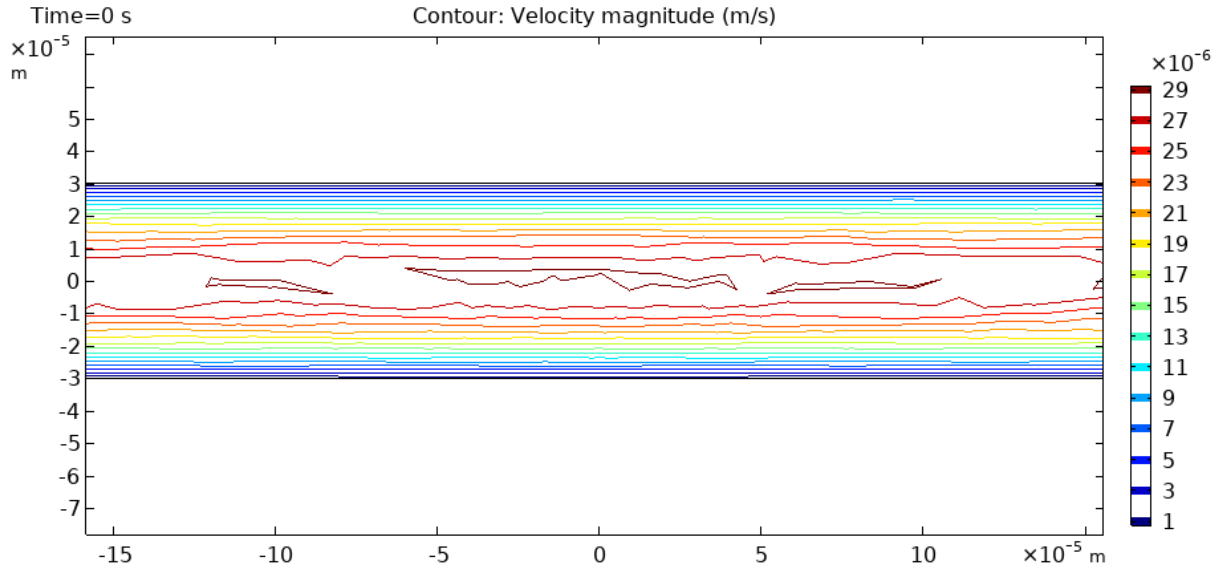


Figura 19. Perfil de velocidades dentro del canal. (a) Zona de entrada del fluido al canal. (b) Zona de atrapamiento

3.5.3 Valores en el punto de estudio

Como se mencionó anteriormente, es de gran importancia conocer la temperatura y velocidad del fluido en la zona de atrapamiento de la pinza óptica. Para ello, se creó un punto de estudio, o *probe point*, el cual permite monitorear las variables de interés en una coordenada específica dentro de la geometría. Dicho punto de estudio se localizó en el lugar teóricamente óptimo para realizar el atrapamiento óptico (para partículas de $2\ \mu\text{m}$ de diámetro se encuentra a una distancia de $5\ \mu\text{m}$ del cubreobjetos) correspondiente a la coordenada $(x, y) = (0, -25)\ \mu\text{m}$.

Como resultado se generaron las gráficas de las Figuras 20 y 21, las cuales muestran el valor de la temperatura y la velocidad del fluido, respectivamente, ambas en función del tiempo y en la coordenada especificada, para el láser infrarrojo incidiendo sobre la muestra con una potencia de $2.5\ \text{mW}$ y el fluido entrando al canal con una velocidad de $20\ \mu\text{m/s}$. Por un lado, de la Figura 20 se observa que tras incidir el láser durante aproximadamente 15 minutos la temperatura de la muestra tiene variaciones mínimas, alcanzando el estado estacionario, y de la curva se puede obtener el valor de temperatura que se alcanza. Por otro lado, en la Figura 21 se aprecia que la velocidad se mantiene en un valor prácticamente constante, ajeno a la variación de temperatura en el punto de prueba.

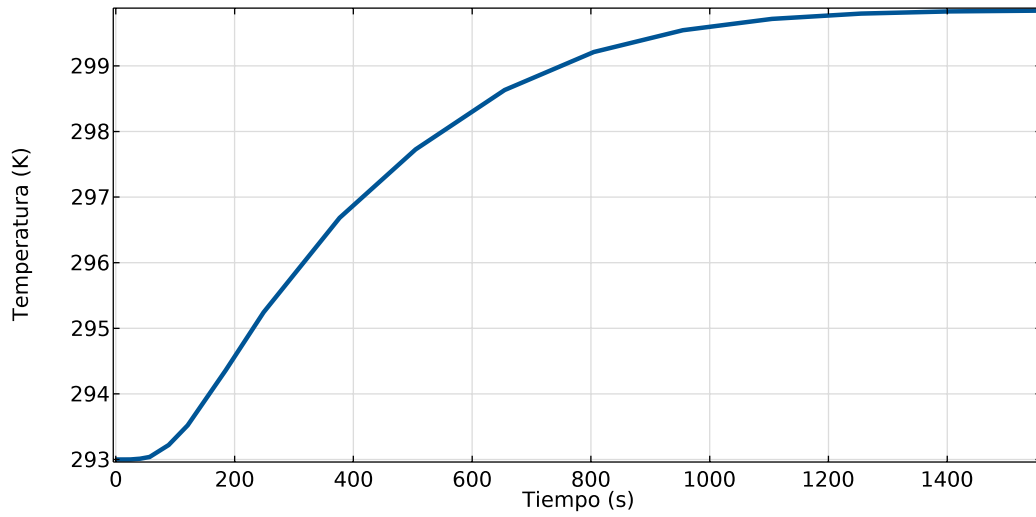


Figura 20. Temperatura en función del tiempo en la zona de atrapamiento

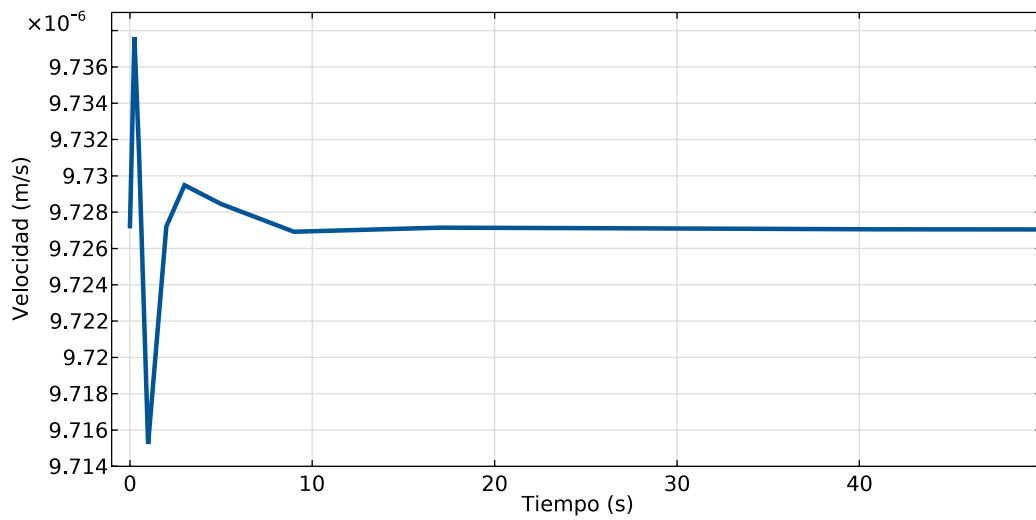
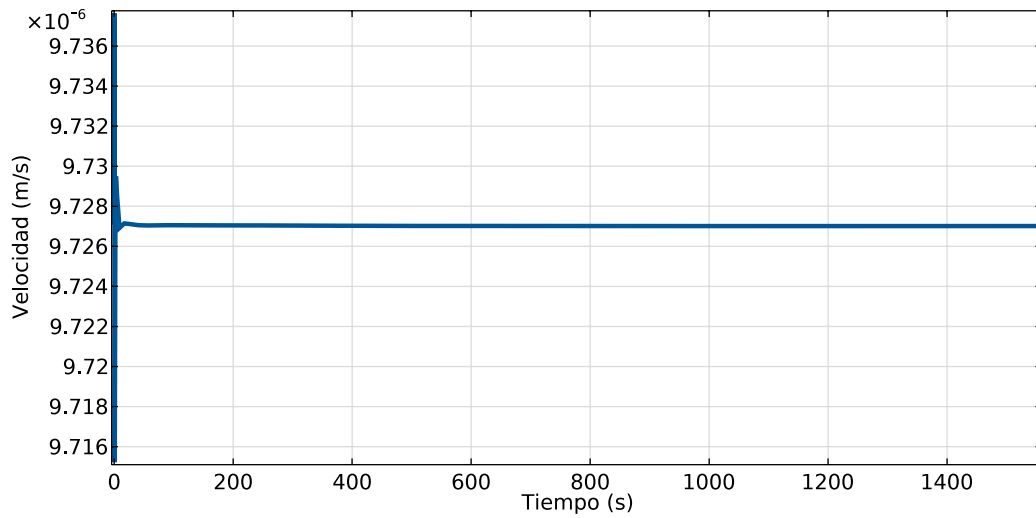


Figura 21. Velocidad en función del tiempo en la zona de atrapamiento

Se realizó la simulación para diferentes potencias del láser de calentamiento (Tabla 1) para una temperatura inicial de 20°C y flujo con velocidad inicial de 0 $\mu\text{m/s}$, capturando la temperatura de estado estacionario correspondiente para cada iteración. Se construyó la gráfica de la Figura 22, en la que se observa que la temperatura es una función lineal de la potencia del láser infrarrojo. A partir de esta gráfica se puede aproximar la temperatura de calentamiento de estado estacionario para potencias distintas a las probadas por simulación.

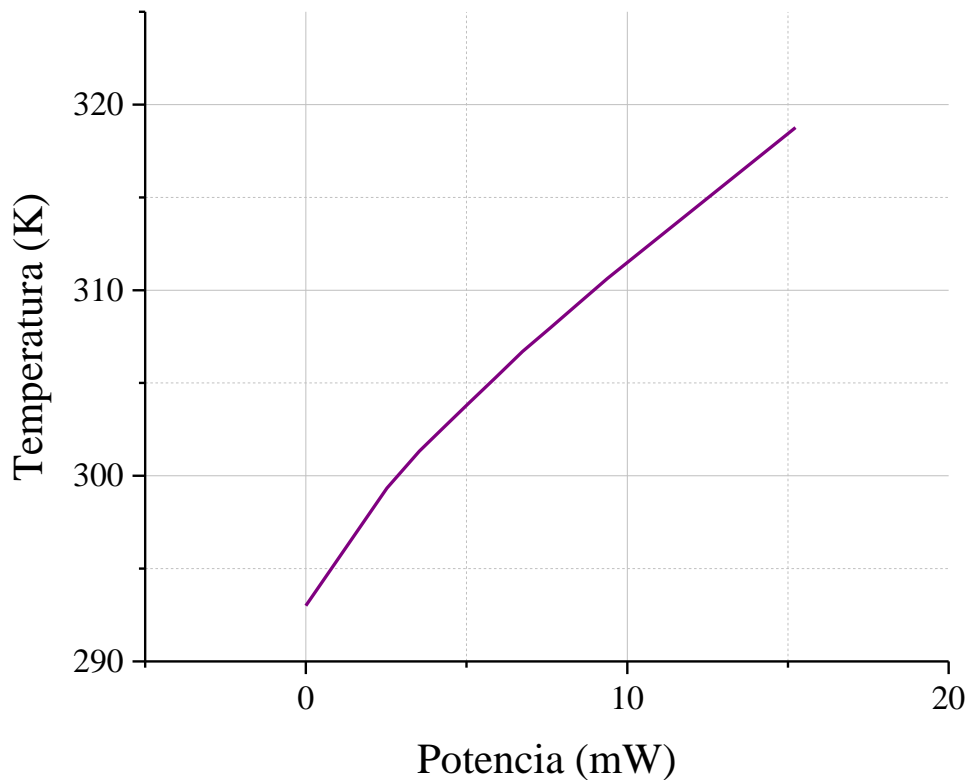


Figura 22. Temperatura en la zona de atrapamiento en función de la potencia del láser

Adicionalmente, se realizó el mismo procedimiento descrito para la gráfica en la Figura 22, variando también la velocidad inicial del fluido, tomando los valores de 20 $\mu\text{m/s}$, 10 $\mu\text{m/s}$, y fluido inmóvil (0 $\mu\text{m/s}$). Los resultados de simulación se muestran en la Figura 23, donde se observa que, para el rango de velocidades con el que se trabaja en los experimentos, la diferencia entre el valor máximo de temperatura que se alcanza en la zona de atrapamiento para diferentes velocidades es despreciables. Las mismas simulaciones también mostraron que para las diferentes velocidades probadas, el tiempo de incidencia del láser requerido para alcanzar el estado estacionario se mantiene en aproximadamente 15 minutos.

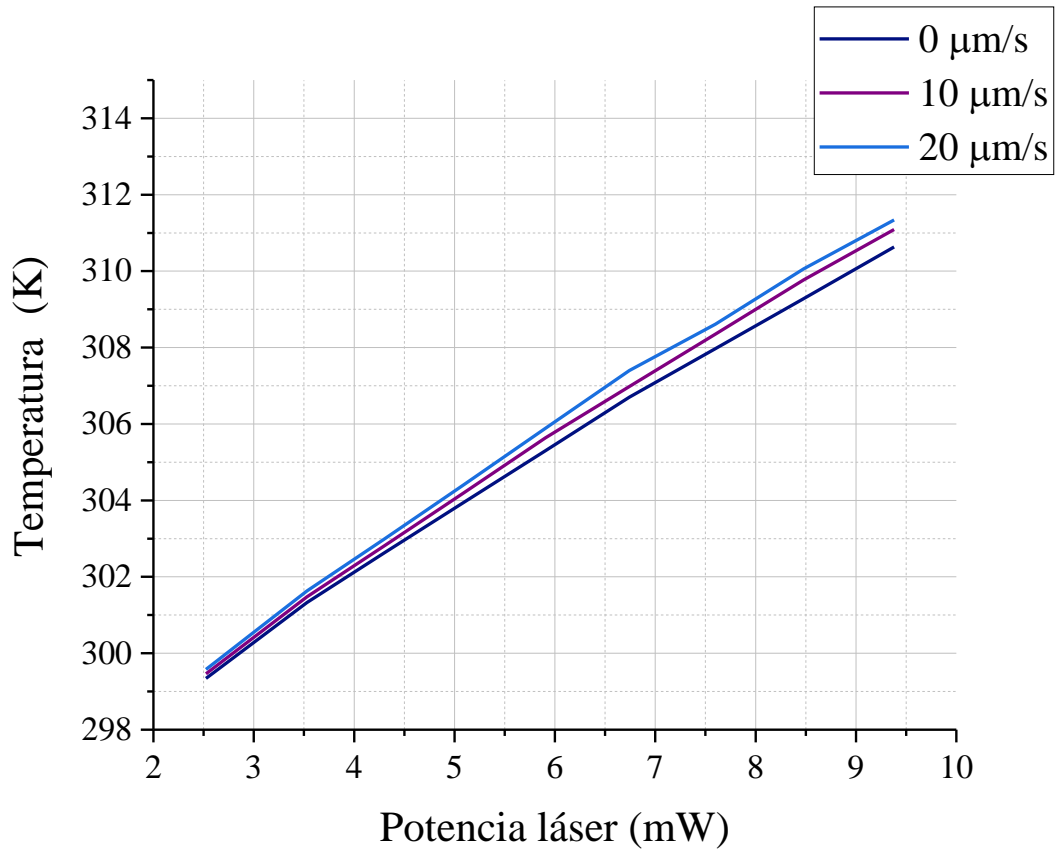


Figura 23. Temperatura en la zona de atrapamiento en función de la potencia del láser para diferentes valores de la velocidad inicial del fluido

Capítulo 4. Termometría con pinzas ópticas en microcanales

En este capítulo se describe todo lo que conlleva la implementación experimental, abarcando la descripción del arreglo experimental, la construcción de microcanales, la metodología empleada para llevar a cabo los experimentos, factores de error, y mediciones de temperatura realizadas. Las mediciones experimentales se presentan de manera gráfica, comparando los valores con aquellos obtenidos por medio de simulación numérica.

4.1 Métodos y materiales

4.1.1 Arreglo experimental

Los experimentos se realizaron en un arreglo de pinzas ópticas casero (Figura 24), basado en el trabajo de Pesce *et al.* [20]. Para el atrapamiento óptico se utilizó un láser de longitud de onda de 532 nm (Opus532, Laser Quantum). Dos telescopios se componen de los lentes 1 y 2, 3 y 4, con distancias focales de 35 mm, 150 mm, 100 mm y 150 mm, respectivamente, para una pinza eficiente. El haz se lleva a un objetivo de microscopio de inmersión en aceite de 100x (E Plan 100x/1,25, Nikon) mediante un espejo dicróico con una longitud de onda de corte de 605 nm (DMLP605, Thorlabs).

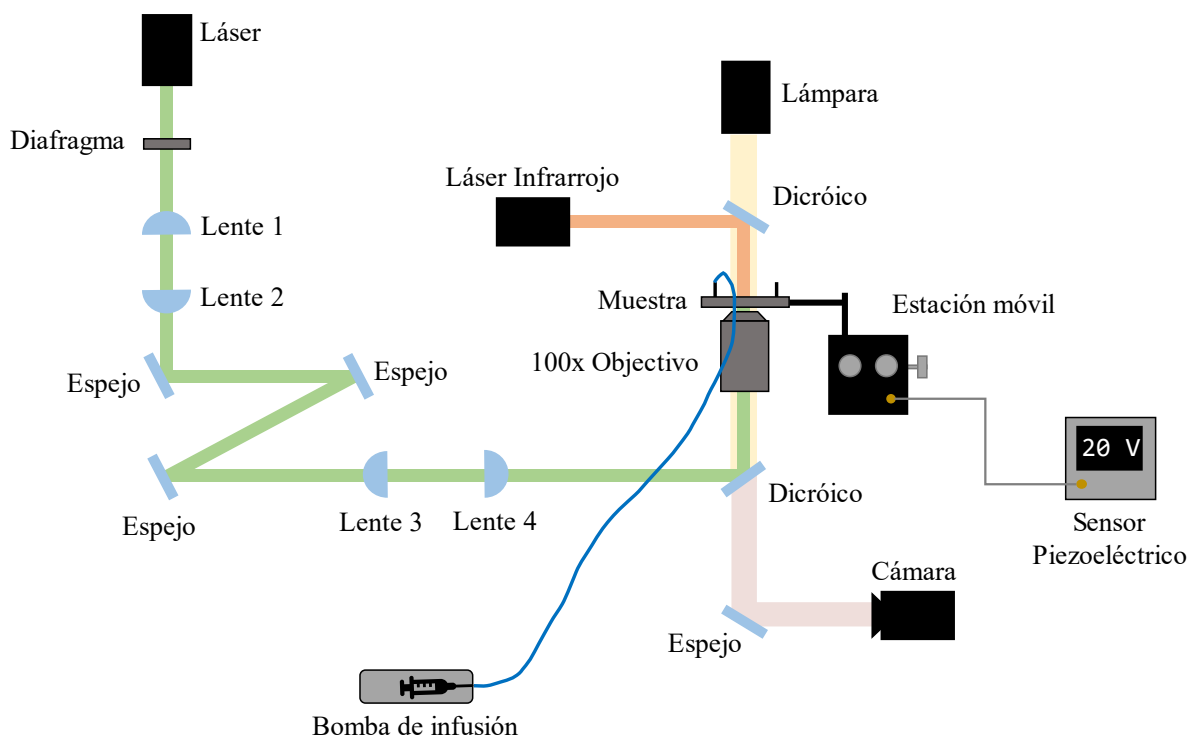


Figura 24. Esquema del arreglo experimental de pinzas ópticas

Se colocó un láser infrarrojo (opus, Laser Quantum) de longitud de onda 1064 nm, dirigido hacia la muestra por otro espejo dicróico, con longitud de corte de 805 nm (DMSP805, Thorlabs). El sistema de iluminación y grabación está compuesto por una lámpara de Tungsteno-Halógeno (QTH10, Thorlabs), siendo captada la imagen por una cámara CMOS (PL-B776F, Pixelink).

Adicionalmente, la muestra se coloca sobre una estación móvil con un sensor de posición (MAX311D, Thorlabs), que es accionado por un controlador piezoeléctrico (TPZ001, Thorlabs). La posición de la muestra se controla en la dirección z, para medir la profundidad de la partícula atrapada con referencia a la pared del microcanal. Para inducir el flujo en el microcanal se utiliza una bomba de infusión (KDS100, KDSscientific), en la cual se coloca una jeringa conteniendo al fluido de trabajo.

4.1.2 Construcción de microcanales

Los experimentos se llevaron a cabo en un microcanal rectangular que consta de un portaobjetos de vidrio y un cubreobjetos separados por una cinta adhesiva de doble cara, con dos orificios perforados en el portaobjetos de vidrio sirviendo como entrada y salida del fluido (Figura 25). El microfluído utilizado es una solución acuosa de microesferas de sílica de 2 μm de diámetro (81108-5ml-f, Sigma Aldrich) en agua Milli-Q, teniendo la suspensión las mismas propiedades térmicas que el agua.

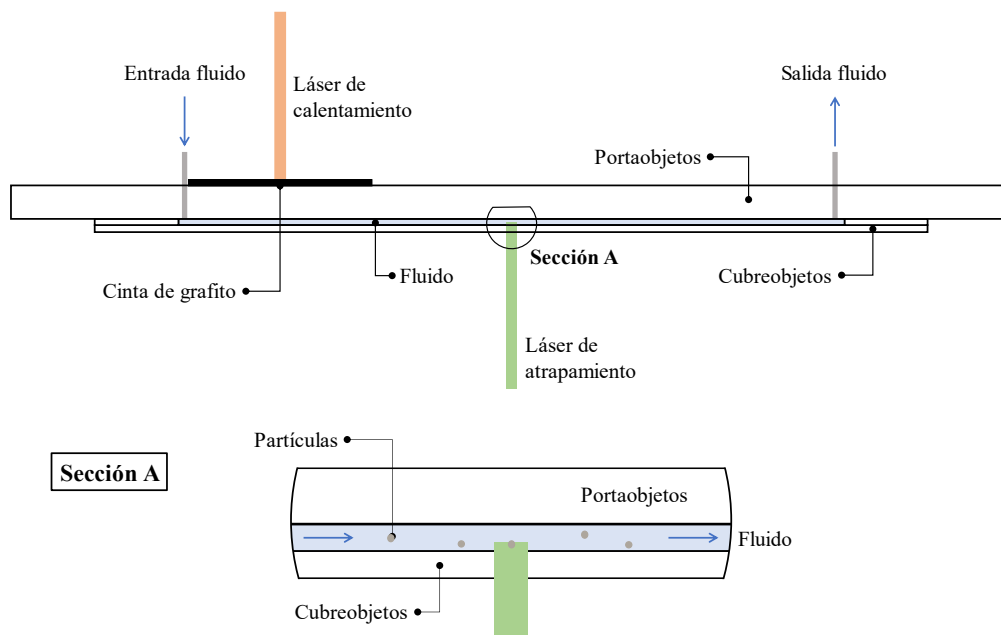


Figura 25. Esquema del microcanal

4.1.3 Calentamiento del fluido

El método de calentamiento utilizado fue inspirado en los trabajos realizados por Mao *et al.* [1] y Ohta *et al.* [9], en los que se describen métodos de calentamiento utilizando láser. Se utilizó un láser infrarrojo con longitud de onda de 1064 nm incidiendo sobre una cinta de grafito, material que se ha reportado como absorbente para longitudes de onda visibles y cercanas al infrarrojo [25] (Figura 26).

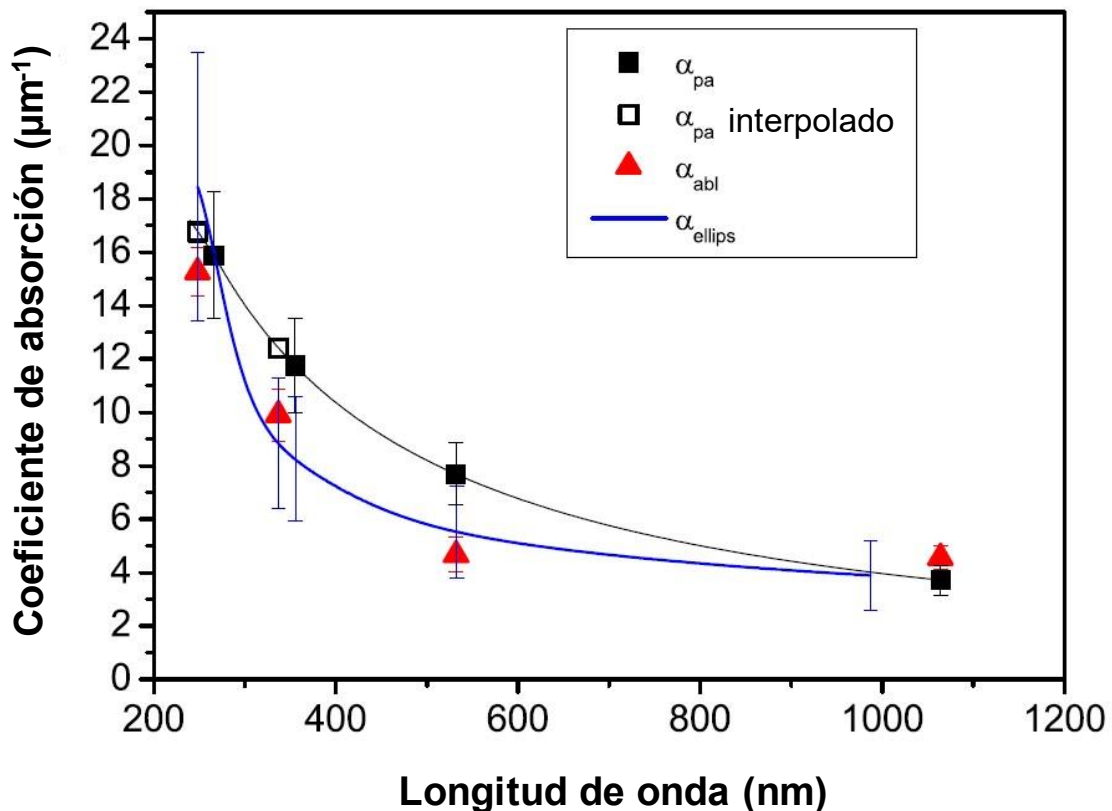


Figura 26. Coeficiente de absorción del grafito medido y calculado con diferentes métodos. Figura tomada de [23].

Como se muestra en la Figura 25, se colocó la cinta de grafito en el extremo del microcanal correspondiente a la entrada de fluido, y el láser infrarrojo se posicionó de modo que incida sobre la cinta. De tal forma, el fluido se calienta al entrar al microcanal, y llega a la zona de atrapamiento a una temperatura determinada.

Determinación experimental del coeficiente de absorción de la cinta de grafito

A pesar de que se conoce el coeficiente de absorción del grafito, al no trabajar con grafito puro, se debe determinar el coeficiente relacionado específicamente a la cinta de grafito utilizada en

la construcción de los microcanales. Para ello, se hizo incidir el láser infrarrojo sobre la cinta de grafito y utilizando un medidor de potencia se determinó la cantidad de energía que se transmite. Midiendo también la potencia que se transmite a través del vidrio del microcanal, se puede calcular el coeficiente de absorción de la cinta de grafito usando la ecuación (4.1), proveniente de la ecuación (3.5)

$$\mu_a = -\frac{\ln(I/I_0)}{\epsilon}, \quad (4.1)$$

donde I_0 es la potencia del láser infrarrojo, I es la potencia del láser que se transmite a través de la cinta de grafito, ϵ es el espesor de la cinta y μ_a el coeficiente de absorción.

En la Tabla 3 se listan los valores medidos experimentalmente para cada variable de la ecuación (4.1), así como el valor calculado para el coeficiente de absorción. Este valor es el utilizado en las simulaciones numéricas descritas en la sección CAPÍTULO 3. MODELADO DE MICROFLUJOS CONVECTIVOS.

Tabla 3. Valores numéricos promedio de las variables asociadas con el coeficiente de absorción (mediciones experimentales)

| Variable | Valor medido |
|------------|-----------------------|
| I | 3.81 mW |
| I_0 | 297 mW |
| ϵ | 0.12 mm |
| μ_a | 36.3 mm ⁻¹ |

4.2 Metodología experimental

El procedimiento para llevar a cabo los experimentos es el siguiente:

1. Se inyecta la suspensión en el microcanal y se coloca en el arreglo experimental. Adicionalmente, la jeringa que contiene al fluido se posiciona en la bomba de infusión.
2. Se graban videos a temperatura ambiente de la partícula atrapada en el fluido sin movimiento y sin calentamiento. Estos videos se utilizan para encontrar la posición promedio de la partícula atrapada, así como para obtener la constante de rigidez de la pinza óptica utilizando (2.4).

3. Se induce flujo en el microcanal y se graban videos de la partícula atrapada en el fluido en movimiento, manteniéndolo aún a temperatura ambiente. Estos videos son procesados para encontrar la posición promedio de la partícula, y calcular la velocidad del fluido a partir de ella, empleando (2.9).
4. Se calienta la muestra manteniendo el láser infrarrojo incidiendo sobre la cinta de grafito durante el tiempo necesario para que alcance el estado estable (aproximadamente 15 minutos, según simulaciones numéricas), de forma que no existan variaciones de temperatura durante el experimento.
5. Terminado el calentamiento, se graban videos de la partícula atrapada en el fluido con y sin movimiento, tal que, al procesar los videos, se encuentra la posición promedio de la partícula antes y después de inducir flujo. A partir del desplazamiento medido, se calcula la temperatura local del fluido usando (2.16).
6. Si se desea utilizar velocimetría por seguimiento de partículas, soltar la partícula atrapada y grabar como esta comienza a moverse junto con el fluido.
7. Se repiten los puntos 4 y 5 para trabajar con distintas potencias del láser de calentamiento. En caso de utilizar velocimetría por seguimiento de partículas, no se puede realizar más de una medición de temperatura por experimento.

4.3 Implementación experimental

A continuación, se presentan los resultados obtenidos a partir de una serie de experimentos realizados en el marco de este proyecto. Primeramente, se describen las condiciones y parámetros bajo los cuales fueron llevados a cabo cada uno de los experimentos, para posteriormente sintetizar los resultados de manera gráfica, comparando estos con los valores obtenidos en la simulación numérica.

4.3.1. Condiciones experimentales

Cada experimento fue realizado de manera individual, buscando que éstos se llevaran a cabo bajo condiciones similares, las cuales deben cumplir con lo siguiente:

- Temperatura ambiente constante durante el transcurso del experimento.
- Condiciones de poco ruido (explicación más detallada en la sección 4.4.1).
- Atrapamiento óptico realizado a una profundidad de 5 μm con respecto a la pared del microcanal.

Así mismo, cada experimento consistió en dos conjuntos de 20 videos, donde 10 videos corresponden a la partícula atrapada en el fluido sin movimiento, y los 10 restantes para el fluido con velocidad. Los videos del primer conjunto se grabaron a temperatura ambiente, mientras que los del segundo conjunto se grabaron después de realizar el calentamiento. Todos los videos fueron grabados con los mismos parámetros de video los cuales se encuentran enlistados en la Tabla 4.

Tabla 4. Parámetros de video utilizados en los experimentos

| Parámetros | Valor |
|----------------------|----------------|
| Tamaño del cuadro | 128x128 px |
| Número de cuadros | 30,000 cuadros |
| Duración del video | 120 s |
| Cuadros por segundo | 500 fps |
| Tiempo de exposición | 2 ms |
| Ganancia | 20 dB |

4.3.2. Medición de aumento de temperatura

Los resultados obtenidos de la serie de experimentos previamente descritos se enlistan en la Tabla 5 y se muestran de manera gráfica en la Figura 27. Los valores experimentales y de simulación se expresan en función del aumento de temperatura obtenido con respecto a la temperatura ambiente correspondiente a cada experimento, tal que estos puedan ser mostrados en una sola gráfica. El rango de temperaturas presentado está definido por las limitaciones del método de calentamiento empleado (Sección 4.5.2.4)

Se observa que los incrementos de temperatura medidos con la metodología propuesta apenas difieren de los valores obtenidos en simulaciones, teniendo barras de error de 0.70°C , en promedio. Las diferencias entre los valores experimentales y simulados observadas en la Figura 27 se pueden deber a:

1. Método de solución de la simulación numérica.

El proceso de discretización utilizado en una simulación numérica invariablemente introduce un error, a menos que la solución exacta subyacente tenga una forma analítica muy elemental. El error introducido puede hacer diferir los resultados de simulación con respecto a los valores exactos.

2. Incertidumbres en las propiedades físicas de los materiales.

Hablando particularmente de la cinta de grafito, realmente no se conocen sus propiedades térmicas. La simulación numérica se realizó utilizando las propiedades físicas del grafito puro, sin embargo, no se puede asegurar que éstas sean las mismas para la cinta de grafito. Los resultados de la simulación dependen de las propiedades de cada material y, por lo tanto, pueden diferir de la realidad.

3. Parámetros no considerados en simulación numérica.

El sistema tiene un gran número de parámetros que no pueden ser estimados y que, por lo tanto, no se incluyen en la simulación numérica. Por ejemplo, en la simulación se consideró que existe un contacto perfecto entre las superficies que componen al microcanal, i.e. en la interfaz cinta de grafito – vidrio, a pesar de que se sabe que de manera experimental esto no se cumple necesariamente.

4. Poco control de la posición

A pesar de que se intenta que todos los experimentos se realicen en el mismo punto del microcanal (coordenada $(x, y) = (0,0)$ de la simulación), no se tiene un control real de la posición en x en la cual se atrapa la partícula. De la simulación se encontró que se tiene un gradiente de temperatura importante en esta dirección (referirse a las Figuras 17 y 18), por lo que el valor de temperatura medido puede variar según la posición en x del atrapamiento óptico.

Adicionalmente, se realizó un ajuste de las mediciones experimentales, encontrando una ecuación con la forma $y = B_0 + B_1x + B_2x^2$, donde $B_0 = 0.158$, $B_1 = 2.333$, $B_2 = -0.032$. Dicho ajuste presenta un porcentaje de variación R^2 ajustado de 0.901. El error encontrado en las mediciones experimentales puede deberse a factores externos presentes durante los experimentos, tales como el ruido y las vibraciones, así como pequeñas variaciones en la

velocidad del fluido o en la profundidad de la partícula atrapada. En la sección 4.4 se explica más a detalle los diversos factores de error presentes en los experimentos.

Tabla 5. Valor numérico del aumento de temperatura obtenido de manera experimental y por simulación numérica, para diferentes potencias del láser infrarrojo.

| Potencia láser infrarrojo (mW) | ΔT experimental (°C) | ΔT simulación (°C) |
|--------------------------------|------------------------------|----------------------------|
| 0 | 0.29 ± 0.43 | 0 |
| 2.52 | 6.12 ± 0.19 | 6.58 |
| 3.53 | 5.29 ± 0.35 | 8.33 |
| 4.30 | 12.03 ± 0.41 | 9.99 |
| 5.90 | 11.14 ± 0.92 | 12.89 |
| 7.60 | 16.55 ± 0.51 | 15.61 |
| 9.37 | 19.15 ± 1.72 | 18.34 |
| 15.23 | 28.03 ± 0.84 | 25.76 |

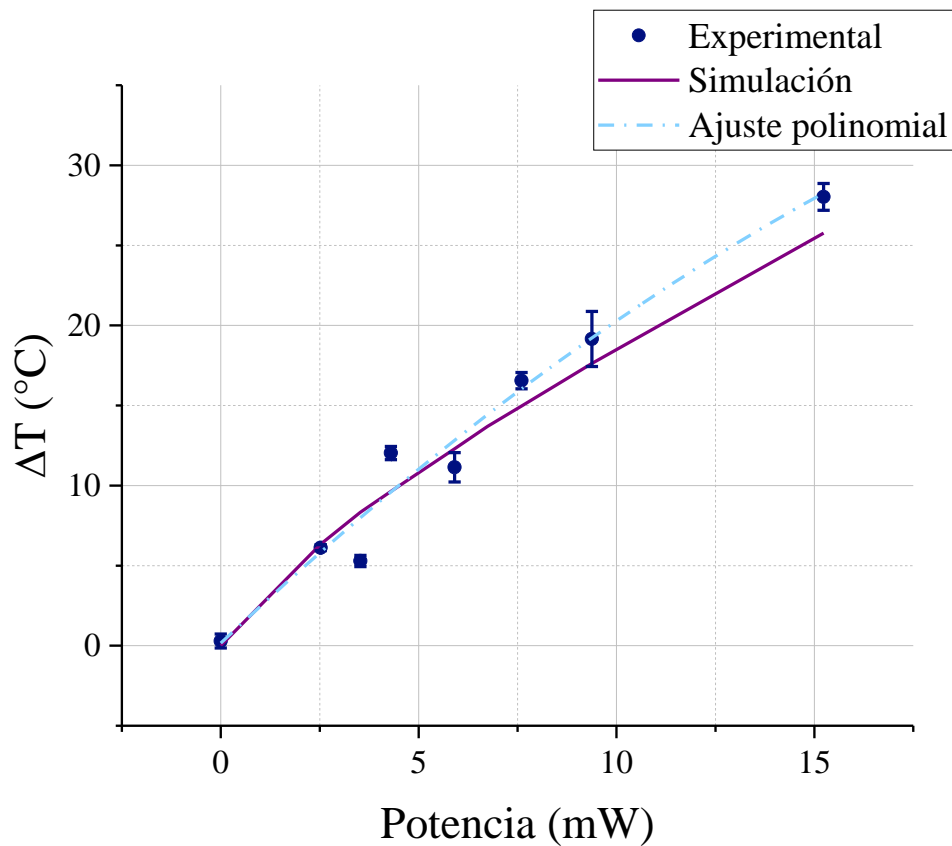


Figura 27. Comparación entre el aumento de temperatura medido experimentalmente para diferentes potencias del láser infrarrojo y el valor obtenido de la simulación numérica.

4.3.3. Medición de temperatura ambiente

Durante un periodo del proceso de experimentación, se tuvo una falla en la fibra óptica del láser infrarrojo usado para calentamiento que no fue detectada a tiempo. Como resultado, no se estaba logrando el calentamiento de la muestra. Sin embargo, dicha falla permitió observar cómo el método de medición de temperatura recupera correctamente y con buena precisión la temperatura del fluido, que en este caso se supone igual a la temperatura ambiente. En la Tabla 6 se muestran los resultados de una serie de 10 experimentos realizados donde no se logró el calentamiento.

Tabla 6. Comparación entre la temperatura medida en la muestra sin calentamiento y la temperatura ambiente medida en el laboratorio de manera convencional.

| Temperatura ambiente medida convencionalmente (°C) | Temperatura ambiente medida experimentalmente (°C) | % Error |
|--|--|---------|
| 25.90 | 26.09 ± 1.56 | 0.74% |
| 26.16 | 27.37 ± 0.91 | 4.63% |
| 28.25 | 28.06 ± 1.25 | 0.67% |
| 27.90 | 26.06 ± 1.03 | 4.65% |
| 28.16 | 28.06 ± 1.16 | 0.35% |
| 26.16 | 24.81 ± 0.89 | 5.15% |
| 27.89 | 28.94 ± 1.12 | 3.76% |
| 26.50 | 27.09 ± 0.84 | 2.24% |
| 27.50 | 27.24 ± 0.99 | 0.92% |
| 27.00 | 27.75 ± 1.38 | 2.78% |

Se observa que el valor de temperatura medido experimentalmente para cada día es muy cercano a la temperatura ambiente medida de manera convencional (termómetro), teniendo un error promedio de 2.5% con respecto a esta última, que en este caso podría ser considerado como la temperatura real del sistema. Estos resultados muestran que el método de medición de temperatura propuesto tiene un nivel de precisión comparable a aquel mostrado en Chung *et al.* [13], e incluso mayor a los presentados en Park *et al.* [14] y Chamrathy *et al.* [15], siendo estos trabajos donde se mide temperatura a partir de partículas suspendidas en el fluido.

4.4 Factores de error

4.4.1. Vibraciones externas

Al trabajar en microescala con un método basado en la medición del desplazamiento y movimiento Browniano de una partícula suspendida, los experimentos realizados se vuelven altamente sensibles a vibraciones y ruido provenientes de máquinas o personas externas al sistema estudiado. En la Figura 28 se muestra la trayectoria de una partícula atrapada inicialmente en condiciones de bajo ruido. Posteriormente una máquina es encendida cerca del arreglo experimental durante la grabación, de tal manera que ésta incida *ruido*. Se observa que la posición de la partícula en las direcciones x y y tiene un cambio brusco entre 50 y 100 segundos, lapso para el cual la máquina permaneció encendida, mostrando así el efecto que pueden tener vibraciones externas sobre la partícula atrapada.

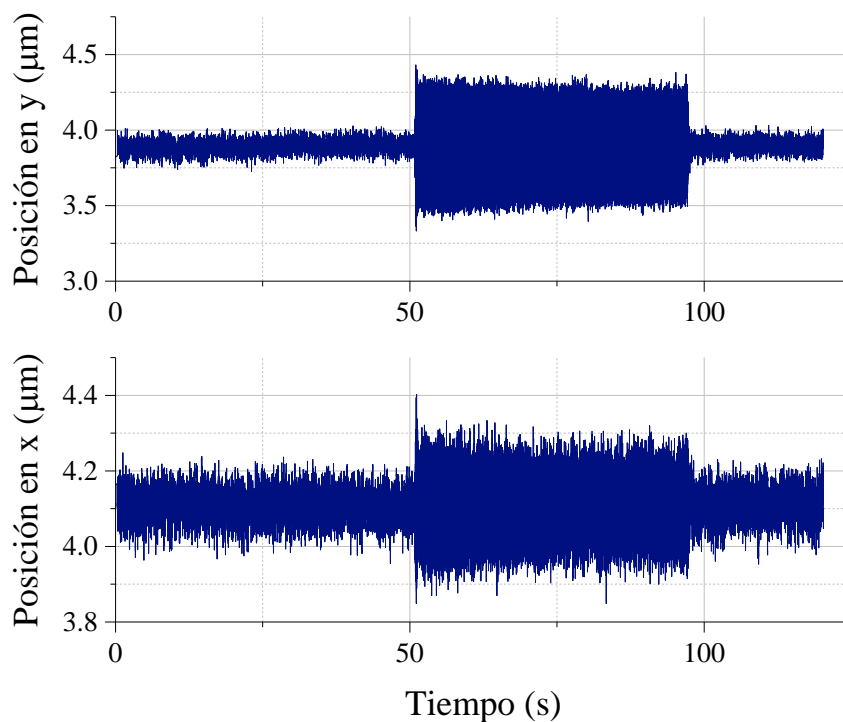


Figura 28. Posición en x y y de una partícula atrapada inicialmente en condiciones de poco ruido, y bajo la presencia de una fuente de ruido (50 – 100 segundos)

Adicionalmente, se puede utilizar la transformada rápida de Fourier, FFT por sus siglas en inglés (Fast Fourier Transform), del desplazamiento cuadrático medio de la partícula atrapada para determinar la frecuencia del ruido afectando a esta. Esta técnica es de gran utilidad ya que permite detectar ruido que no se puede apreciar directamente sobre la trayectoria de la partícula

pero que sí afecta en los resultados de los experimentos, como es el caso de maquinaria o movimiento de personas alejadas al arreglo de pinzas ópticas. A continuación, se muestra la FFT del desplazamiento cuadrático medio de una partícula atrapada en condiciones de bajo ruido (Figura 29a) y para el caso de la partícula de la Figura 27 (Figura 29b).

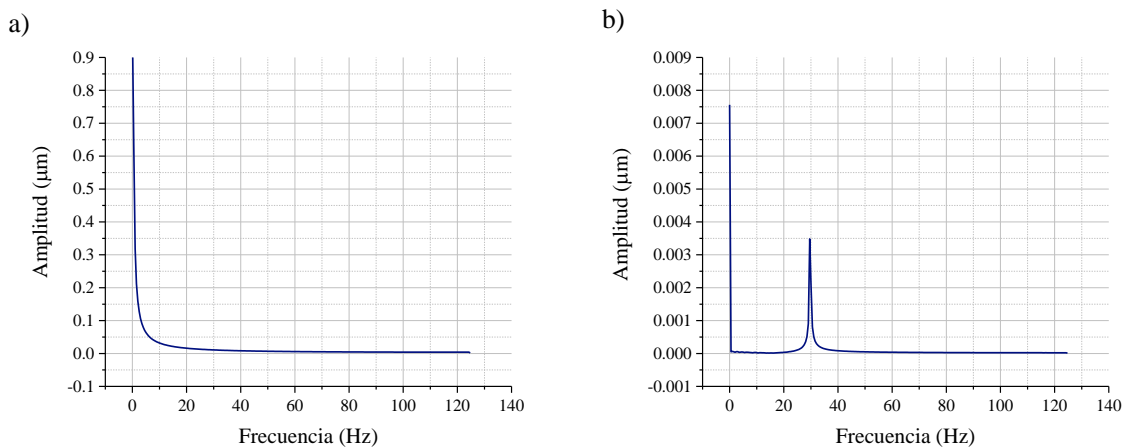


Figura 29. FFT del desplazamiento cuadrático medio d una partícula atrapada (a) bajo condiciones de poco ruido, (b) en la presencia de una fuente de ruido

Por un lado, para el caso de la partícula sin presencia de ruido se observa que la FFT tiene forma de exponencial negativa, donde las únicas frecuencias con amplitud considerable son aquellas cercanas a los 0 Hz, las cuales representan el movimiento Browniano de la partícula. Por otro lado, en el caso de la partícula en condiciones de ruido se observa que la FFT tiene un valor pico en 30 Hz, además del esperado en frecuencias cercanas a 0 Hz, representando la frecuencia de la vibración que la máquina encendida inyecta en el sistema.

A manera de evitar que el ruido y vibraciones externas afecten en el proceso de experimentación, se utiliza una mesa óptica, la cual está equipada con un sistema de amortiguamiento neumático que actúa como un filtro pasa-bajas y ayuda a mantener los elementos ópticos del arreglo experimental estables en presencia de la mayoría de las fuentes de ruido presentes en el laboratorio, como lo son las vibraciones propias al equipo como los láseres. Para ello, la mesa óptica se mantiene a una presión y altura óptimas de 35 psi y 2 cm, respectivamente. Sin embargo, es importante mencionar que la mesa óptica no filtra toda vibración, por lo que aún pueden existir errores de medición debido a perturbaciones. Adicionalmente, buscando trabajar en las condiciones de menor ruido posible, se recomienda que los experimentos se realicen en momentos poco concurridos dentro de la universidad, tal como fines de semana, días feriados y en horario nocturno.

4.4.2. Bacterias en el fluido

En ocasiones, al trabajar con muestras abiertas, el microcanal y fluido se contaminan fácilmente con bacterias, las cuales pueden llegar a ser atrapadas junto con la partícula por la pinza óptica (Figura 30). La presencia de una bacteria adherida a la partícula ocasiona que la posición promedio de ésta se vea afectada según el movimiento de la bacteria, por lo que no se puede medir correctamente el desplazamiento Δx de la partícula debido al fluido en movimiento. De aquí, se determina que se debe tener cuidado con la presencia de bacterias en la muestra, y en el caso de que una de éstas sea atrapada por la pinza óptica junto con la partícula, descartar los videos, ya que no se obtendrán resultados confiables.

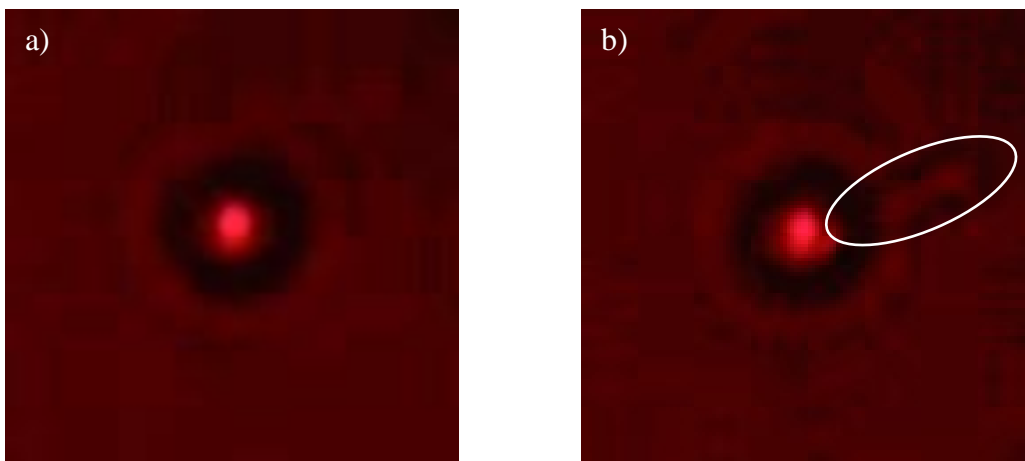


Figura 30. Partícula atrapada a) sin bacteria, b) con bacteria

A manera de prevenir la contaminación de la muestra, se pueden hacer limpiezas periódicas de del microcanal y del fluido, de la forma:

- Microcanal: inyectar y hacer fluir dentro del canal acetona.
- Fluido: centrifugar la suspensión de microesferas en agua de forma que se asienten las partículas y se pueda retirar el agua sucia de la muestra, para posteriormente remplazar con agua limpia.

4.4.3. Profundidad de atrapamiento

Frecuentemente se dan cambios pequeños en la profundidad de la partícula atrapada, ya que la plataforma sobre la cual se coloca la muestra dentro del arreglo experimental está ligeramente inclinada, y puede haber cambios en la posición de la muestra imperceptibles al ojo, que a microescala tienen mayor impacto. Dicho esto, la metodología para medición de temperatura

propuesta requiere que la velocidad del fluido se mantenga constante durante el proceso de grabado de videos. Debido al perfil de velocidad que se forma dentro de un canal (Figura 31), al cambiar la profundidad de atrapamiento, también cambia la magnitud de la velocidad y, por lo tanto, se obtiene una medición errónea.

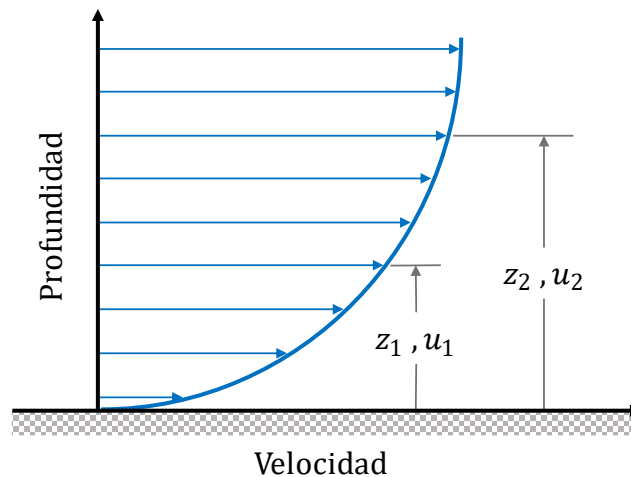


Figura 31. Perfil de velocidades dentro del canal

Por ello, es necesario monitorear la profundidad de la partícula atrapada durante el transcurso de cada experimento realizando. Se utiliza una estación móvil con sensor de posición, que es accionada por un sensor piezoeléctrico. La posición de la muestra se coloca en la dirección z para medir la profundidad de la partícula, usando como referencia el cubreobjetos del microcanal.

En el caso en el que se mide la velocidad del fluido utilizando velocimetría por seguimiento de partícula, la problemática ocasionada por el cambio de profundidad se reduce considerablemente. Sin embargo, igual es recomendado el monitoreo de la profundidad de atrapamiento durante todo el experimento debido a que la constante de rigidez de la pinza óptica también presenta variaciones en función a la profundidad de atrapamiento.

4.4.4. *Inclinación ocasionada por el gradiente de temperatura*

Las variaciones de temperatura ocasionan cambios en el índice de refracción del medio rodeando a la muestra y esto, a su vez, puede tener efectos sobre la imagen que se forma y se captura por la cámara. Se realizaron pruebas experimentales para determinar qué efectos se tienen en la imagen y se encontró que no se presentan aberraciones ópticas, pero si existe una inclinación ocasionada por el aumento de temperatura.

Una inclinación en un frente de onda es una desviación en la dirección en que se propaga un haz de luz, y afecta a la imagen provocando un desplazamiento de su centro (Figura 32). Ya que la inclinación no es una aberración óptica, si ésta se resta de un frente de onda, que de otro modo sería perfecto, se formará una imagen perfecta.

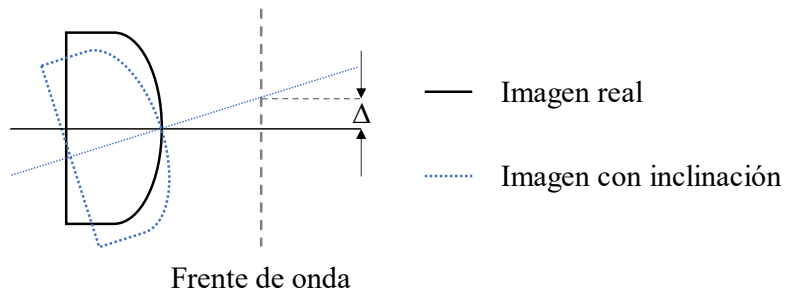


Figura 32. Inclinación en el frente de onda de una imagen

La presencia de la inclinación puede afectar en los resultados obtenidos con la metodología propuesta porque ocasiona que la posición promedio de la partícula se desplace conforme aumenta la temperatura de la muestra. Recordando que el desplazamiento de la partícula ocasionado por la presencia del fluido en movimiento se calcula a partir de la diferencia entre la posición promedio de la partícula en fluido estático y en movimiento, si no se considera la inclinación y se utiliza la posición promedio inicial (a temperatura ambiente) de la partícula para los cálculos, se obtienen entonces mediciones del desplazamiento de la partícula erróneas.

Es por ello por lo que en la metodología experimental se estipula que, tras realizar el calentamiento, se deben grabar videos de la partícula atrapada en el fluido estático, tal que se pueda conocer la magnitud de la desviación en la posición promedio de la partícula atrapada con respecto a la inicial, y sea posible corregir la desviación en la imagen.

4.5 Dificultades experimentales

4.5.1. Selección de partículas

Al cambiar la temperatura del fluido de trabajo, se debe tener cuidado con que las propiedades de éste no sufran cambios suficientemente importantes para que afecten en los resultados obtenidos del experimento. Para el caso de la partícula atrapada, se debe utilizar micropartículas de un material que no se vea afectado por las variaciones de temperatura. Como ejemplo se muestra el caso de las partículas de poliestireno, con las que se encontró que, al

incidir el láser infrarrojo y calentar la muestra, la partícula atrapada comenzaba a presentar un comportamiento anormal, donde su trayectoria se tornaba alargada y desplazada de su origen (Figura 33).

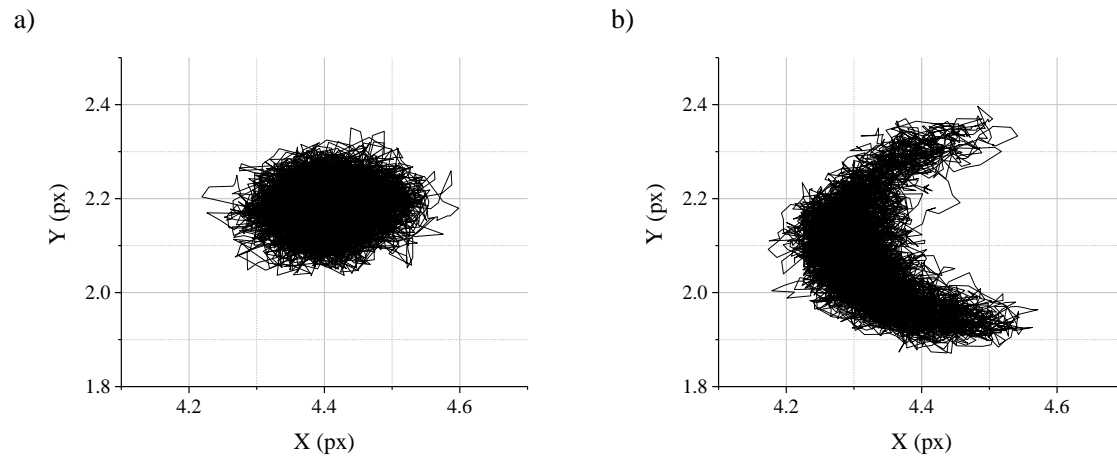


Figura 33. Trayectoria de una partícula de poliestireno: (a) a temperatura ambiente, (b) después de incidir el láser infrarrojo y calentar el microfluido

Experimentos realizados observando la partícula en el transcurso del calentamiento del fluido mostraron que la partícula cambia considerablemente de plano de atrapamiento conforme aumenta la temperatura del medio, a pesar de no ser manipulada. Una hipótesis sobre por qué sucede esto es que la partícula sufre cambios por la temperatura, y que estos se ven reflejados en el atrapamiento.

El poliestireno tiene un coeficiente de expansión térmica relativamente alto para temperaturas menores a 80°C, en comparación a otros materiales utilizados en microesferas, tal que la partícula se hace más pequeña conforme aumenta la temperatura [26]. A su vez, el índice de refracción de la partícula varía con su diámetro, lo que podría afectar en el atrapamiento de ésta. Por ello, los experimentos se realizaron con microesferas de sílica, con las cuales se corrigió la problemática descrita en la Figura 32.

4.5.2. Selección del método de calentamiento

Para numerosos autores trabajando con pinzas ópticas, encontrar un método de calentamiento estable para microfluidos ha resultado una tarea difícil, ya que los elementos tradicionales utilizados para control de temperatura a menudo son difíciles de incorporar en el espacio de trabajo limitado de un arreglo de pinzas ópticas. Incluso una vez encontrado un método de calentamiento, frecuentemente se presentan dificultades adicionales, como la necesidad de

trabajar en ambientes aislados, rango de calentamiento limitado, periodos largos para alcanzar el equilibrio térmico, e incluso se puede desalinear el arreglo óptico debido a esfuerzos térmicos, imposibilitando o dificultado llevar a cabo experimentos [1].

Por razones similares, la selección del método de calentamiento correcto fue una dificultad presente durante el desarrollo de este trabajo. Se encontró que este puede tener impactos significativos en el sistema estudiado (partícula atrapada) y que, por lo tanto, el método puede entregar mediciones importantemente erróneas. A continuación, se describen las técnicas de calentamiento exploradas en el marco de este proyecto, junto con sus ventajas y desventajas.

4.5.2.1. Baño térmico

Inicialmente se consideró utilizar una técnica de calentamiento externo tal como la descrita en [1], tal que la temperatura de la muestra se pudiera controlar haciendo circular un fluido a determinada temperatura alrededor del canal, teniendo como ventaja la posibilidad de no solo aumentar la temperatura del sistema, sino también disminuirla utilizando un fluido frío. Sin embargo, esta técnica fue rápidamente descartada ya que para hacer circular el fluido era necesario utilizar una bomba que insertaba vibraciones y ruido a la partícula atrapada que la mesa óptica no podía filtrar.

4.5.2.2. Incidencia directa del láser de calentamiento

La primera técnica que se exploró consistía en incidir el láser de calentamiento directamente sobre la zona de atrapamiento de la pinza óptica. Se realizaron una serie de experimentos usando la misma técnica, pero variando el fluido de trabajo, el láser de atrapamiento, y el láser de calentamiento, de forma que estos fueran los adecuados para cada fluido. En la Tabla 7 se describen los experimentos realizados.

Tabla 7. Descripción de los experimentos realizados incidiendo el láser de calentamiento directamente sobre la zona de atrapamiento.

| Fluido de trabajo | λ láser de atrapamiento | λ láser de calentamiento |
|---------------------------|---|--|
| Agua | 532 nm | 976 nm |
| Direct Red en agua | 1064 nm | 532 nm |
| Agua con nitrato de cobre | 532 nm | 976 nm |

Dicha técnica mostró como principal problemática la interacción entre el láser de calentamiento y la partícula atrapada. Para los tres casos probados se encontró que al incidir el láser la partícula sufría cambios importantes en el plano de atrapamiento. En la Figura 34 se muestra la imagen de la partícula tras incidir el láser infrarrojo durante un lapso determinado, y se observa que la partícula se desenfoca completamente, indicando así un cambio en su posición.

La hipótesis de porqué se ocasiona este fenómeno es que el láser de calentamiento, a pesar de no estar altamente enfocado, también ejerce fuerzas sobre la partícula atrapada, enviándola hacia el fondo de la muestra, es decir, la fuerza se ejerce en la dirección de propagación del haz. Como ya fue mencionado, el método de medición propuesto requiere que la profundidad de atrapamiento se mantenga constante durante todo el proceso, por lo que se descartó este método de calentamiento.

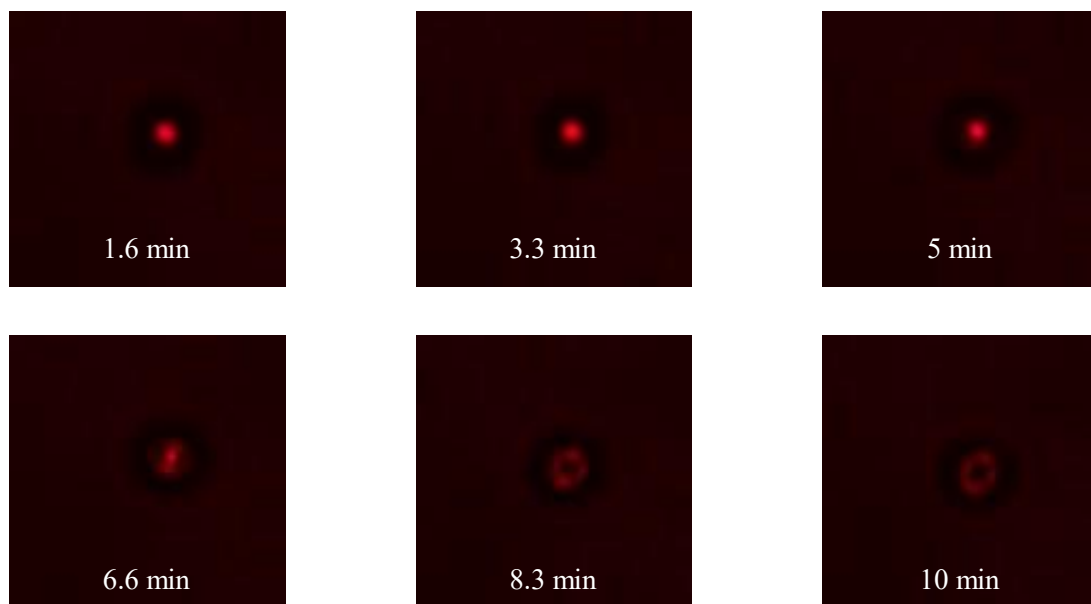


Figura 34. Partícula bajo el efecto del láser de calentamiento incidiendo directamente sobre la zona de atrapamiento

4.5.2.3. *Sustrato absorbente: tinta china*

Tras encontrar que incidir un láser directamente sobre la zona de atrapamiento ocasiona problemas en la trayectoria de la partícula atrapada, se exploraron alternativas que permitieran hacer uso de un láser de calentamiento, pero calentando el fluido de manera indirecta. De esta manera se decidió trabajar con un sustrato absorbente, siendo el primero que se probó tinta china, la cual se ha reportado que es absorbente para longitudes de onda visibles e infrarrojas [27].

El procedimiento para calentar es el mismo que se describió anteriormente para la cinta de grafito, pero en este caso el microcanal fue pintado manualmente en un extremo con tinta china. Los experimentos realizados ayudaron a probar el funcionamiento de la metodología propuesta, ya que se encontró un buen ajuste entre los valores medidos experimentalmente y los obtenidos en una simulación realizada para la tinta china (Figura 35). Sin embargo, esta técnica de calentamiento resultó ser muy inestable, ya que no se puede garantizar un espesor uniforme de la capa de tinta china en el microcanal, además la absorción de la tinta china llega a variar con el tiempo [27]. Como resultado de esto, las mediciones realizadas presentan barras de error muy amplias y el proceso de experimentación en general se vuelve más complicado, ya que no se puede dar una estimación precisa de la temperatura de calentamiento.

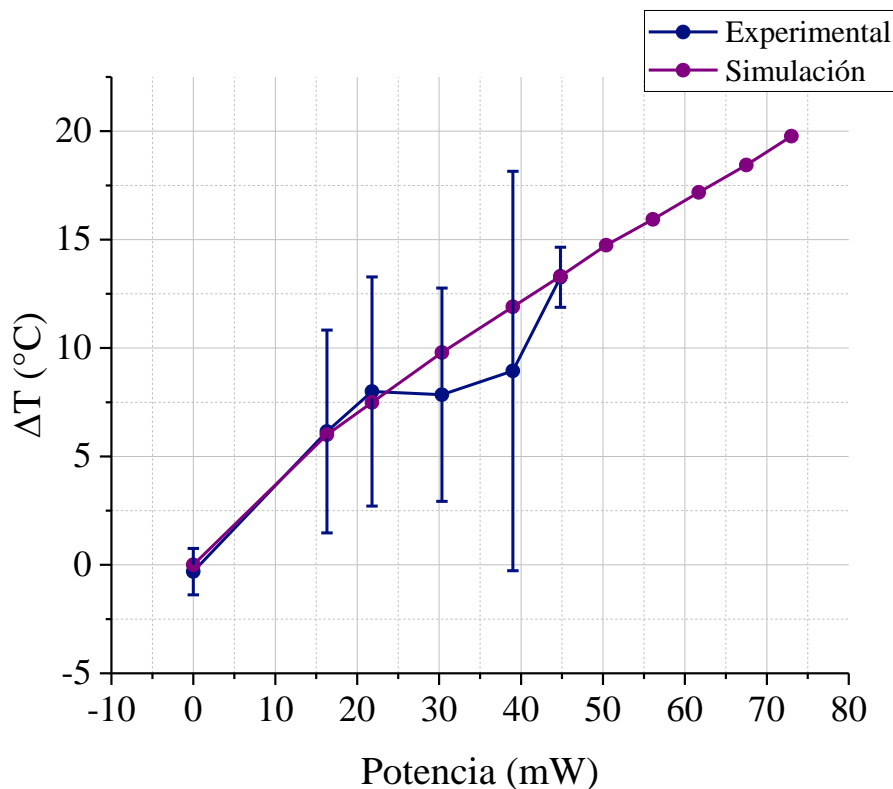


Figura 35. Resultados experimentales y de simulación para calentamiento con tinta china

4.5.2.4. Sustrato absorbente: cinta de grafito

El método finalmente presentado, que consiste en incidir el láser infrarrojo sobre cinta de grafito, mostró como principal ventaja un calentamiento más estable y confiable con respecto a la tinta china, debido a la uniformidad del material fungiendo como sustrato absorbente. Sin embargo, también presenta limitantes importantes, principalmente:

- Rango de temperatura de operación: la cinta de grafito puede operar hasta una temperatura de 120°C. Pasando esta temperatura es posible que se dañe el material y sus propiedades ópticas cambien.
- Limitantes del láser infrarrojo usado para calentamiento: el láser infrarrojo utilizado en el laboratorio permite alcanzar potencias de hasta 500 mW, sin embargo, no se puede mantener en operación a estas potencias durante periodos largo porque comienza a sobrecalentarse. De esta manera, al trabajar con potencias de ~50 mW en adelante, el láser regula su temperatura apagándose momentáneamente, no permitiendo un calentamiento estable.

Principalmente el rango de temperatura de operación obliga a que el método se pueda probar únicamente para aumentos de temperatura relativamente pequeños, debido a que es muy sencillo que la temperatura en la zona de incidencia sobrepase los 120°C, ya que es ahí donde se alcanza la temperatura máxima.

Un método utilizado para buscar aumentos de temperatura mayores fue dejar incidir el láser infrarrojo a potencias mayores a las debidas, dejando así que se dañe la cinta, y monitoreando la temperatura de esta con una cámara termográfica FLIR T400 (Figura 36). A partir de la temperatura superficial promedio de la cinta de grafito se realizaron simulaciones que permitieran estimar la temperatura que se estaría alcanzando en la zona de atrapamiento. Es importante resaltar que este método ofrece una aproximación muy burda de la temperatura, ya que los parámetros dados a la simulación no son exactos.

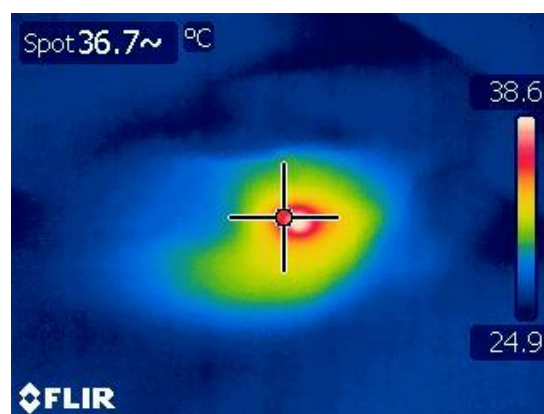


Figura 36. Ejemplo de fotografía de la cinta de grafito caliente tomada con la cámara termográfica.

En la Tabla 8 se muestran algunos resultados obtenidos al medir temperatura utilizando esta técnica. Se observa que nuevamente se obtienen temperaturas acorde a los valores de

simulación, y que en general las mediciones presentan un comportamiento lógico, donde la temperatura del fluido medida aumenta junto con la temperatura superficial de la cinta de grafito. Sin embargo, el rango de calentamiento encontrado se mantuvo limitado, y no permitió probar la metodología propuesta para temperaturas mayores.

Tabla 8. Aumento de temperatura obtenido de manera experimental y valor aproximado por simulación numérica a partir de mediciones con la cámara termográfica.

| Temperatura superficial de la cinta (°C) | Potencia del láser infrarrojo (mW) | ΔT experimental (°C) | ΔT simulación (°C) |
|--|------------------------------------|------------------------------|----------------------------|
| 29 | 15.23 | 5.60 ± 0.84 | 4.21 |
| 33 | 37.46 | 5.82 ± 0.54 | 5.69 |
| 40 | 48.00 | 6.13 ± 0.69 | 6.81 |

Conclusiones

En este trabajo se desarrolló una metodología para medición experimental de la temperatura local de un microfluido utilizando pinzas ópticas. La metodología consiste en calcular la temperatura del fluido a partir del desplazamiento que experimenta una partícula atrapada debido al arrastre de un flujo. Si bien la técnica parece sencilla, llevar a cabo el trabajo experimental mostró una dificultad considerable, misma que se ha presentado en trabajos similares donde se desarrollan técnicas con pinzas ópticas. Se encontró que el método es muy sensible a vibraciones y ruido externo al sistema estudiado, y que requiere de experimentos sumamente controlados para poder obtener resultados confiables. Esto tiene como consecuencia que incluso el método de calentamiento empleado para probar la metodología pueda interferir con las mediciones.

A pesar de las dificultades mencionadas, se logró demostrar que el método de medición de temperatura da resultados precisos por medio de experimentos a temperatura ambiente y calentando el fluido utilizando un láser infrarrojo incidiendo sobre un sustrato absorbente. Las mediciones de temperatura obtenidas para experimentos con calentamiento fueron comparadas con valores obtenidos por medio de una simulación numérica realizada en COMSOL Multiphysics, considerando que éstas representan únicamente una aproximación a las temperaturas reales, mientras que los experimentos sin calentamiento se validaron con la temperatura ambiente medida en el laboratorio. Los resultados obtenidos muestran que el método presenta errores promedio menores a 1°C , correspondiente a un porcentaje de error promedio de 2.5%, y un buen ajuste entre las temperaturas medidas.

Con esto, el trabajo se puede posicionar entre otras metodologías presentadas para medición de temperatura de un microfluido utilizando partículas suspendidas en éste, e incluso superando la precisión de algunas de ellas. La metodología presentada se destaca de entre las demás de la misma índole porque, al realizarse la medición a partir de una partícula atrapada, el valor de temperatura obtenido es puntual. Esto se considera como una ventaja en aplicaciones donde se presentan gradientes de temperatura, y se desean conocer temperaturas más allá de la promedio.

Trabajo a futuro

Existen múltiples aplicaciones en las cuales es necesario poder hacer mediciones puntuales de temperatura a microescala, sin embargo, se tienen algunas problemáticas que deben ser resueltas, entre las cuales se destacan:

1. Mejoras en el método de calentamiento, de forma que éste sea más estable y adecuado a aplicaciones de pinzas ópticas. Una idea que se está comenzando a explorar es el aislar el ambiente donde se encuentra el microcanal e introducir una lámpara de tungsteno para calentar, tal que la temperatura del fluido se equilibre con la del ambiente aislado y pueda ser monitoreada por medio de un termopar. Al aislar el sistema, se pretende eliminar errores ocasionados por los efectos del aumento de temperatura en los componentes ópticos.
2. De la mano con explorar nuevos métodos de calentamiento, buscar acceder a un rango de temperaturas más amplio para probar la metodología en aumentos de temperatura mayores.
3. Medir gradientes de temperatura, ya sea por medio de una serie de mediciones individuales realizadas en posiciones controladas, o utilizando pinzas ópticas holográficas que permitan más de una medición puntual de manera simultánea. De esta manera, se pueden recuperar perfiles de temperatura o, si se realizan las mediciones en más de una dimensión, mapas de temperatura.

Referencias

- [1] H. Mao, J. R. Arias-Gonzalez, S. B. Smith, I. Tinoco Jr and C. Bustamante, “Temperature control methods in a laser tweezers system,” *Biophysical Journal*, vol. 89, no. 2, pp. 1308-1316, 2005.
- [2] G. Velve-Casquillas, C. Fu, M. L. Berre, J. Cramer, S. Meance, A. Plecis, D. Baigl, J.-J. Greffet, Y. Chen, M. Piel and P. T. Tran, “A fast microfluidic temperature control device for studying microtubule dynamics in fission yeast,” *Methods in cell biology*, vol. 97, pp. 185-201, 2010.
- [3] M. C. Williams, J. R. Wenner, I. Rouzina and V. A. Bloomfield, “Entropy and heat capacity of DNA melting from temperature dependence of single molecule stretching,” *Biophysical Journal*, vol. 80, no. 4, pp. 1932-1939, 2001.
- [4] A. J. de Mello, M. Habgood and N. Llewellyn, “Precise temperature control in microfluidic devices using Joule,” *Lab on a Chip*, vol. 4, pp. 417-419, 2004.
- [5] K. Pitchaimani, B. C. Sapp, A. Winter, A. Gispanski, T. Nishida and Z. H. Fan, “Manufacturable plastic microfluidic valves using thermal actuation,” *Lab on a Chip*, vol. 9, p. 3082–3087, 2009.
- [6] R. M. Guijt, A. Dodge, G. W. K. van Dedem, N. F. de Rooij and E. Verpoorte, “Chemical and physical processes for integrated temperature,” *Lab on a Chip*, vol. 3, pp. 1-4, 2003.
- [7] M. Robert de Saint Vincent, R. Wunenburger and J.-P. Delville, “Laser switching and sorting for high speed digital microfluidics,” *Applied Physics Letters*, vol. 92, 2008.
- [8] J. Wu, W. Wen, D. C. Chang and P. Sheng, “Polydimethylsiloxane microfluidic chip with integrated microheater and thermal sensor,” *Biomicrofluidics*, vol. 3, 2009.
- [9] A. T. Ohta, A. Jamshidi, J. K. Valley, H.-Y. Hsu and M. C. Wu, “Optically actuated thermocapillary movement of gas bubbles on an absorbing substrate,” *Applied Physics Letters*, vol. 91, 2007.
- [10] R. Datta, T. M. Heaster, J. T. Sharick, A. A. Gillette and M. C. Skala, “Fluorescence lifetime imaging microscopy: fundamentals and advances in instrumentation, analysis, and applications.,” *Journal of biomedical optics*, vol. 25, no. 7, 2020.
- [11] L. Labrador-Páez, E. Montes, M. Pedroni, P. Haro-González, M. Bettinelli, D. Jaque, J. García-Solé and F. Jaque, “Effect of H₂O and D₂O thermal anomalies on the

- luminescence of Eu^{3+} aqueous complexes,” *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 122, pp. 14838-14845, 2018.
- [12] M. A. Bennet, P. R. Richardson, J. Arlt, A. McCarthy, G. S. Buller and A. C. Jones, “Optically trapped microsensors for a microfluidic temperature measurement by fluorescence lifetime imaging microscopy,” *Lab on a Chip*, vol. 11, pp. 3821-3828, 2011.
- [13] K. Chung, J. K. Cho, E. S. Park, V. Breedveld and H. Lu, “Three-dimensional in situ temperature measurement in microsystems using Brownian motion of nanoparticles,” *Analytical Chemistry*, vol. 81, pp. 991-999, 2009.
- [14] J. S. Park, C. K. Choi and K. D. Kihm, “Temperature measurement for a nanoparticle suspension by detecting the Brownian motion using optical serial sectioning microscopy (OSSM),” *Measurement Science and Technology*, vol. 16, no. 7, pp. 1418-1429, 2005.
- [15] P. Chamarchy, S. T. Werely and S. V. Garimella, “Simultaneous measurement of temperature and velocity using uPIV,” in *ASME International Mechanical Engineering Congress and Exposition*, Chicago, Illinois, USA, 2006.
- [16] M. J. Padgett, J. Molloy and D. McGloin, *Optical Tweezers: methods and applications*, CRC Press, 2010.
- [17] A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm and S. Chu, “Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles,” *Opt. Lett.*, vol. 11, pp. 288-290, 1986.
- [18] P. H. Jones, O. M. Marago and G. Volpe, *Optical tweezers: principles and applications*, Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2015.
- [19] A. Ashkin, “Forces of a single-beam gradient,” *Biophysical journal*, vol. 61, pp. 569-582, 1992.
- [20] G. Pesce, G. Volpe, O. M. Maragó, P. H. Jones, S. Gigan, A. Sasso and G. Volpe, “Step-by-step guide to the realization of advanced optical tweezers,” *Journal of the Optical Society of America B*, vol. 32, no. 5, pp. B84-B98, 2015.
- [21] P. Almendarez-Rangel, B. Morales-Cruzado, E. Sarmiento-Gómez, R. Romero-Méndez and F. G. Pérez-Gutiérrez, “A microflow velocity measurement system based on optical tweezers: A comparison using particle tracking velocimetry,” *European Journal of Mechanics / B Fluids*, vol. 72, pp. 561-566, 2018.
- [22] R. Markus, C. Willert and J. Kompenhans, *Particle Image Velocimetry. A practical guide*, Springer, 2007.

- [23] T. Dracos, "Particle tracking velocimetry (PTV) - basic concepts," in *Three-Dimensional Velocity and Vorticity Measuring and Image Analysis*, Dordrecht, Kluwer Academic Publishers., 1996, pp. 155-160.
- [24] Y. Sato, S. Inaba, K. Hishida and M. Maeda, "Spatially averaged time-resolved particle-tracking velocimetry in microspace considering Brownian motion of submicron fluorescent particles," *Experiments in Fluids*, vol. 35, no. 2, pp. 167-177, 2003.
- [25] T. Smausz, B. Kondász, T. Gera, T. Ajtai, N. Utry, M. Pintér, G. Kiss-Albert, J. Budai, Z. Bozóki, G. Szabó and B. Hopp, "Determination of UV–visible–NIR absorption coefficient of graphite bulk using direct and indirect methods," *Applied Physics A*, vol. 123, no. 10, pp. 1-7, 2017.
- [26] H. Chen, T. Xie , J. Feng, X. Zhang and W. Wang, "A Miniature Fiber Tip Polystyrene Microsphere Temperature Sensor with High Sensitivity," *Photonic Sensors*, vol. 12, no. 1, pp. 84-90, 2022.
- [27] P. Di Ninni, M. Fabrizio and Z. Giovanni, "The use of India ink in tissue-simulating phantoms," *Optics express*, vol. 18, no. 26, pp. 26854-26865, 2010.