



# TRABAJO FIN DE MÁSTER

Máster en Ingeniería Mecatrónica

**Microesferas magnéticas de polifluoruro de  
vinilideno para estimulación celular *in vitro*.**

**Determinación y control de los parámetros del  
proceso de fabricación**

**Autor:**

Sofía Chóliz Sanz

**Tutores:**

Jose Luís Gómez Ribelles

Roser Sabater i Serra

Septiembre 2017



## **Agradecimientos**

Quisiera agradecer la realización de este Trabajo fin de Máster a mis tutores José Luís Gómez Ribelles y Roser Sabater i Serra. A M<sup>a</sup>Noel Tamaño, por su paciencia e instrucciones en los primeros pasos de esta ciencia. En general, al personal investigador del Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular de la Universidad Politécnica de Valencia por todo el apoyo prestado, ya que sin su ayuda y experiencia no habría sido posible.

Agradecer a la Escuela Técnica Superior de Ingeniería del Diseño la ayuda del personal docente y el soporte técnico en calidad de materiales.

Por último agradecer a mi familia y mis amigos todo el apoyo incondicional y paciencia durante la realización de este proyecto.

## Resumen

El objetivo de este TFM es la producción de microesferas de polifluoruro de vinilideno (PVDF), con diámetros del orden de micras, que contengan nanopartículas ferromagnéticas. La principal característica de los materiales ferromagnéticos es su capacidad para cambiar su estructura y forma cuando se aplica un campo magnético. La combinación de partículas ferromagnéticas junto con un polímero electroactivo como el PVDF permitirá que las microesferas producidas se comporten como un material inteligente (*smart material*) con capacidad de transmitir estímulos eléctricos y mecánicos (en cultivos celulares *in vitro*) cuando se aplique un campo magnético externo. Para la producción de las mismas se ha fabricado una cabina de electrospray, adquiriendo así un entorno estanco y que cumple las especificaciones para obtener una producción de partículas reproducible.

## Motivación

Mediante los conocimientos adquiridos durante el periodo de realización del máster y gracias a las asignaturas cursadas del máster en Ingeniería Mecatrónica ha sido posible la realización de este Trabajo fin de Máster. A destacar entre las materias estudiadas, destacan las siguientes:

**Dinámica de Sistemas Mecánicos:** mediante esta asignatura se han obtenido los conocimientos para hacer posible un modelado en 3D del equipo en el programa Solidworks. Gracias a éste ha sido posible no solo el estudio en conjunto de todos los elementos unidos en el ensamblaje, sino también la obtención de los planos para el proyecto.

**Automatización Distribuida:** esencial para conocer las necesidades y cómo abordarlas mediante un microcontrolador que haga la puesta en marcha y control del equipo.

**Sistemas de Medición y Actuación:** esta asignatura ha servido para la comprensión, elección e implantación de los sensores y actuadores del equipo. Asimismo, las prácticas de esta asignatura han contribuido a desarrollar aptitudes en Visión Artificial, por lo que se ha podido emplear un software específico para este trabajo.

**Sistemas Embebidos:** la materia ha aportado los conocimientos necesarios para desarrollar un buen código de programa.

**Control de Sistemas Mecatrónicos:** ha sido necesaria para conocer el controlador PID de forma práctica para poder implementarlo en cualquier sistema.

**Instalaciones Eléctricas:** en esta asignatura se ha visto la teoría y cálculos necesarios para crear una red eléctrica de baja tensión segura. Además, ha servido para que el proyecto tenga la seguridad eléctrica necesaria para que cualquier individuo no especializado pueda hacer uso del equipo.

Además, la realización de este Trabajo fin de Máster ha permitido el aprendizaje de nuevos contenidos y aptitudes, necesarias para trabajar en el ámbito de la Ingeniería Tisular. Ha sido necesario el estudio de artículos científicos en inglés, análisis de materiales poliméricos, conocimiento sobre el comportamiento celular, técnicas empleadas en el laboratorio y en centros de microscopía y estadística para entender y analizar los resultados obtenidos mediante la caracterización de las muestras.

Todo esto ha contribuido a generar una serie de capacidades que, siendo que se encuentran fuera del ámbito estudiado los años anteriores, han servido para mejorar la polivalencia en materia de ingeniería. Cumpliendo así con los requisitos requeridos para obtener el título de ingeniera con Máster en Ingeniería Mecatrónica.

# Índice

<b>CAPÍTULO 1: Memoria .....</b>	<b>12</b>
1. Objeto del proyecto .....	2
2. Justificación del proyecto.....	3
3. Factores a considerar .....	4
3.1 Normativa.....	4
3.2 Condiciones del proyecto.....	5
4. Introducción. Ingeniería tisular y biomateriales .....	6
4.1 Definiciones e Hipótesis .....	6
4.2 PVDF como soporte de cultivos celulares. ....	9
4.3 Microesferas como soporte de cultivo celular.....	9
4.4 Técnicas de Electrohilado y Electrospray .....	10
4.4.1 Problemática del Electrospray .....	12
4.4.2 Condiciones internas.....	12
4.4.3 Condiciones del ensayo.....	13
4.4.4 Condiciones ambientales .....	16
4.4.5 Problemática durante los ensayos .....	17
4.5 Magnetización. Dominio magnético .....	18
4.6 Método Taguchi .....	20
5. Soluciones alternativas.....	22
5.1 Materiales .....	22
5.2 Procesado.....	25
5.3 Diseño de la cámara de electrospray .....	26
5.3.1 Disposición del colector .....	26
5.3.2 Disposición de la jeringuilla .....	26
5.3.3 Distancia aguja-colector:.....	26
5.3.4 Materiales de la cámara.....	27
5.3.5 Control de humedad: .....	27
5.3.6 Control de temperatura: .....	27
5.4 Procesado del PVDF.....	29
5.4.1 Disolvente.....	29
5.4.2 Diseño experimental .....	29

5.4.3	Parámetros y niveles en el diseño de Taguchi .....	30
5.4.4	Bases teóricas para la preparación de las soluciones .....	31
5.5	Justificación de la solución adoptada.....	32
6.	Diseño de la cabina de electrospray .....	33
6.1	Descripción.....	33
6.2	Elementos.....	34
6.3	Análisis del riesgo de ignición.....	36
6.4	Materiales utilizados en cada elemento .....	38
6.5	Seguridad eléctrica.....	38
6.6	Procedimiento para el uso de la cabina de electrospray .....	41
6.7	Manual .....	44
7.	Fabricación y caracterización de microsferas de PVDF con nanopartículas .....	45
7.1	Protocolo para preparar la suspensión de nanopartículas de ferrita de hierro en la disolución de PVDF en DMF .....	45
7.2	Técnicas de caracterización utilizadas.....	47
7.2.1	LINKSYS: captación de imagen del microscopio óptico.....	47
7.2.2	Microscopía FESEM .....	48
7.2.3	Microscopía combinada de electrones e iones focalizados de galio .....	54
7.2.4	Vibrating samples magnetometer VSM .....	56
7.3	Resultados obtenidos.....	58
7.3.1	Resultados de los ensayos de electrospray con variación de un solo parámetro de proceso.....	58
7.3.2	Gráficas y cálculo estadístico .....	64
7.3.3	Resultados de los ensayos por el diseño de Taguchi .....	67
7.3.4	Resultados análisis elemental .....	69
7.3.5	Resultados microscopía de iones focalizados FIB .....	71
7.3.6	Resultados Vibrating Sample Magnetometer (VSM) .....	75
8.	Estudio de mejoras.....	76
8.1	Automatización .....	76
8.1.1	Control de humedad automatizado .....	76
8.1.2	Control de temperatura PID.....	77
8.1.3	Microcontroladores y sensores.....	81
8.2	Variación de colector.....	82
9.	Conclusiones.....	82
10.	Bibliografía .....	83

<b><u>CAPÍTULO 2: Pliego de Condiciones</u></b> .....	<b>85</b>
1. Objeto del proyecto .....	86
2. Normas .....	87
2.1 Seguridad de la máquina y del individuo .....	87
2.2 Compatibilidad electromagnética .....	87
3. Materiales .....	88
3.1 Herramientas y equipos .....	88
3.2 Elementos líquidos .....	88
3.3 Componentes para la cabina.....	89
4. Ejecución .....	90
4.1 Cálculo y montaje de bastidor.....	90
4.2 Elementos modulares.....	91
4.3 Piezas en impresión 3D .....	93
4.4 Entrada/Salida de aire .....	94
4.5 Seguridad eléctrica, conexión de las masas a tierra .....	94
5. Visión artificial, procesamiento de imagen.....	96
5.1 Sherlock.....	96
5.2 Image J.....	102
5.3 Cálculo estadístico, Prism6.....	105
6. Pruebas.....	107
6.1 Prueba de fuga de corriente.....	107
<b><u>CAPÍTULO 3: Planos</u></b> .....	<b>109</b>
7. Reproducción de planos mecánicos.....	110
8. Planos eléctricos.....	125
<b><u>CAPÍTULO 4: Presupuesto</u></b> .....	<b>128</b>
1. Objeto del proyecto .....	129
2. Cuadro de precios elementales.....	130
3. Cuadro de precios de maquinaria y herramientas.....	133
4. Cuadro de precios descompuestos .....	134
5. Cuadro de precios unitarios .....	138
6. Valoración del presupuesto .....	139

<b>CAPÍTULO 5: Manual de usuario</b> .....	<b>141</b>
1. Introducción .....	142
2. Indicaciones de advertencia y seguridad .....	143
4. Descripción del aparato .....	144
5. Mantenimiento .....	145
6. Preparación para los ensayos.....	146
7. Solución de problemas.....	147
8. Listado de repuestos recomendados .....	148
<b>ANEXOS</b> .....	<b>150</b>
1. Gráficas y cálculos estadísticos .....	151
2. Cálculo del riesgo de ignición .....	156
3. Cálculos del esquema eléctrico .....	158
4. Programación sensor DH22.....	159
5. Código programación Arduino PID.....	160
6. Hojas de seguridad de reactivos .....	162
7. Datasheets.....	185

## Índice de tablas

Tabla 1 - Ejemplo arreglo L8 de Taguchi con configuración en base a los factores de diseño ...	20
Tabla 2 - Tabla modelo L18 de Taguchi .....	30
Tabla 3 - Efectos de la corriente eléctrica sobre el organismo .....	39
Tabla 4 - Resultados de Electro spray variando un parámetro .....	59
Tabla 5 - Valores para cada nivel según el método Taguchi .....	67
Tabla 6 - Resultados tabla de Taguchi.....	67
Tabla 7 - Resultados, rango e importancia de factores del método Taguchi.....	68
Tabla 8 - Tabla del porcentaje de porosidad de las micropartículas.....	74
Tabla 9 - Permeabilidad magnética en base a los puntos de saturación para muestras al 5%, 7% y 8% de PVDF y 10% de ferrita .....	75
Tabla 10 - Propiedades mecánicas del perfil estructural Tipo B de Motedis.....	90
Tabla 11 - Cálculo fraccionado de segmentos de perfil ranurado .....	91
Tabla 12 - Comparativa de características de materiales para la impresora 3D.....	93
Tabla 13 . Lista de elementos para el circuito eléctrico.....	125
Tabla 14 - Presupuesto Partida D1 Cabina.....	134
Tabla 15 - Presupuesto Partida D2 Cabina.....	135
Tabla 16 - Presupuesto Partida D3 Cabina.....	136
Tabla 17- Presupuesto Partida D4 Ensayos.....	137
Tabla 18 - Cuadro de precios unitarios de las partidas .....	138
Tabla 19 - Valoración total del presupuesto .....	139

## Índice de figuras

Figura 1 - Esquema Electro spray .....	10
Figura 2 - Film formado por microesferas visto desde el microscopio de barrido FESEM .....	16
Figura 3 - Dominios magnéticos del hierro .....	18
Figura 4 - Material ferromagnético tras aplicar una inducción magnética.....	18
Figura 5 - Ciclo de histéresis de los dominios de un material ferromagnético .....	19
Figura 6 - Cabina de Electro spray en funcionamiento .....	33
Figura 7 - Cabina de nanopartículas del Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular UPV .....	46
Figura 8 - Microscopio Óptico Nikon Model Eclipse E600 .....	47
Figura 9 - Microscopio electrónico de barrido FESEM .....	49
Figura 10 - Orden de muestras para microscopía FESEM .....	52
Figura 11 - Dibujo explicativo de las distintas columnas empleadas en el equipo FIB .....	54
Figura 12 - Tipos de sensores para microscopía .....	55
Figura 13 - Esquema de la configuración del VSM .....	57
Figura 14 - Topografía de microesferas, fotografía tomada por FESEM.....	61
Figura 15 - Fotografía FESEM variación de distancia .....	62
Figura 16 - Presencia de nanofibras, casos extremos .....	62
Figura 17 - Microesferas con nanopartículas de hierro lente IntensDuo .....	63
Figura 18 - Vista general nanopartículas sobre microesferas.....	63
Figura 19 - Adquisición de imagen Aztec con señalización de espectros .....	70

Figura 20 - Imágenes tomadas con el FESEM donde se muestran las diferencias de superficies entre partículas .....	71
Figura 21 - Fotografía de corte FIB sobre microesferas de superficie homogénea .....	72
Figura 22 - Fotografías de corte FIB sobre microesferas de superficie rugosa .....	72
Figura 23 - Respuesta de magnetización de las muestras ante el campo magnético aplicado ..	75
Figura 24 (a) Regulador de caudal numérico FLOWTRONIC, de Asconumatics; (b) Transductor electroneumático serie ITV de SMC .....	77
Figura 25 - Sistema de control en bucle lazo cerrado con control PID .....	78
Figura 26 - Representaciones gráficas de un control PID.....	79
Figura 27 – Controlador PID de temperatura de OMRON E5CN-Q2MT-500 .....	80
Figura 28 - Perfil de la estructura de la cabina.....	90
Figura 29 - Conectores para los perfiles M8 .....	91
Figura 30 - Bisagras de nylon.....	92
Figura 31 - Tuercas cabeza martillo.....	92
Figura 32 - Tornillos cabeza martillo .....	92
Figura 33 - Modelo en 3D del elemento a imprimir.....	93
Figura 34 - Modelo finalizado impreso en 3D .....	93
Figura 35 - Conjunto entrada de aire comprimido.....	94
Figura 36 - Vista general del programa Sherlock .....	96
Figura 37 - Características de preprocesado de imagen .....	97
Figura 38 - Pestaña de variables y arrays .....	97
Figura 39 - Características de los algoritmos .....	98
Figura 40 - Orden de funciones .....	99
Figura 41 - Parámetros de la función GetAtA .....	99
Figura 42 - Ejemplo de programa .....	100
Figura 43 - Ventana emergente para parámetros de PrintfNum .....	100
Figura 44 - Parámetros de la función Text .....	101
Figura 45 - Detalles función IF .....	101
Figura 46 - Código resumido del programa .....	101
Figura 47 - Pantalla principal software ImageJ .....	102
Figura 48 - Selección de escala.....	102
Figura 49 - Proceso Subtract background.....	103
Figura 50 - Ajustes Threshold .....	103
Figura 51 - Proceso binario Fill holes .....	104
Figura 52 - Analyze particles y resultados .....	104
Figura 53 - Pantalla principal software Prism6 .....	105
Figura 54 - Ventana emergente de parámetros para test de normalidad .....	106
Figura 55 - Two Way ANOVA, selección de tipo de comparación.....	106
Figura 56 - Ejemplo de histograma con ANOVA realizado .....	107
Figura 57 - Interfaz del programa Solidworks con el modelo terminado .....	110
Figura 58 - Cabina de Electrospray.....	111
Figura 59 - Conjunto toma de aire comprimido.....	111
Figura 60 - Interior de la cabina .....	111
Figura 61 - Bomba para jeringuillas NE1000 .....	111
Figura 62 - Fuente de alimentación Glassman FJ 120w, 230V / 0-30kV DC.....	111



# CAPÍTULO 1

---

## Memoria

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 1. Objeto del proyecto

En el siguiente documento se va a explicar el desarrollo del diseño e implementación de una cabina de electrohilado y **electrospray** que formará parte del equipamiento del Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular de la Universidad Politécnica de Valencia.

El objetivo del proyecto, es producir a escala de laboratorio cantidades del orden de gramos de microesferas de **polifluoruro de vinilideno, PVDF**, cargadas con ferrita de hierro. Estas microesferas se utilizarán para la creación de microambientes tridimensionales para la estimulación celular mediante la aplicación de un campo magnético externo. Específicamente, las microesferas desarrolladas en el presente trabajo fin de máster se utilizarán para aplicaciones de regeneración de tejido óseo.

El control de los parámetros del proceso de producción resulta crítico para asegurar la reproducibilidad de la microestructura de las microesferas. El proceso de fabricación requiere desarrollar un modelo de área de trabajo donde la producción se realice en condiciones ambientales reproducibles. La problemática de la estabilidad de las condiciones ambientales es común a la producción de microesferas y membranas, por lo que este equipo se utilizará para diversas aplicaciones del centro, además de para este Trabajo Fin de Master.

En este documento se detallan las etapas a desarrollar, tanto del método científico para la realización de los experimentos, como para el montaje mecánico del equipo. Asimismo, se incluyen los resultados de la caracterización de las microesferas obtenidas utilizando la cabina objeto del presente Trabajo Fin de Master.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 2. Justificación del proyecto

El objetivo de este proyecto es producir microesferas de polifluoruro de vinilideno (PVDF), con diámetros del orden de entre 1 y 10 micras que contengan nanopartículas de ferrita de hierro. La electroactividad del PVDF hará que estas microesferas sean un material óptimo para transmitir eléctrica y mecánicamente estímulos bajo la aplicación de un campo magnético externo.

La producción de estas microesferas se realizará mediante una técnica llamada electrospray. En estudios previos se han determinado los parámetros más adecuados para obtener una geometría concreta de microesferas de PVDF, sin presencia de fibras. También se ha demostrado que el PVDF obtenido se encuentra en fase electroactiva  $\beta$ .

Se espera encontrar diferentes resultados cuando se añadan las nanopartículas magnéticas, ya que en los experimentos anteriores se han realizado sin ferrita, por lo que parámetros como el flujo, campo eléctrico y concentración del polímero se deberán reajustar. También se considera necesario un control de humedad en la cabina de electrospray, ya que las condiciones ambientales son determinantes en la obtención de resultados reproducibles.

El fin del proyecto es la obtención de un soporte de cultivo tridimensional donde estimular las células mediante la aplicación de un campo magnético. Los cultivos celulares utilizando las microesferas cargadas con ferrita se realizará *in vitro*, no implantado en el organismo, ya que se trata de un material bioestable.

La realización de este trabajo trata de justificar las aptitudes y métodos desarrollados para la obtención del título de Máster.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 3. Factores a considerar

### 3.1 Normativa

El proyecto debe cumplir con las especificaciones determinadas en la legislación vigente en materia de maquinaria industrial y actividades realizadas en un laboratorio. Asimismo, también se han seguido las indicaciones de diversas notas técnicas de prevención (NTP) del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo:

- LEY 54/2003, de 12 de diciembre, sobre prevención de riesgos laborales. Mejora de las condiciones de trabajo, aumentando la protección de la salud y la seguridad de los trabajadores. Principios generales de obligaciones y responsabilidades preventivas.
- REAL DECRETO 614/2001, de 8 de junio, sobre disposiciones mínimas para la protección de la salud y seguridad de los trabajadores frente al riesgo eléctrico (BOE nº 148 de 21 de junio).
- REAL DECRETO 773/1997, de 30 de mayo, sobre disposiciones mínimas de seguridad y salud relativas a la utilización por los trabajadores de equipos de protección individual. BOE nº 140 12-06-1997.
- REAL DECRETO 374/2001, de 6 de abril, sobre la protección de la salud y seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo. Disposiciones mínimas.
- REAL DECRETO 822/1993, de 28 de mayo, por el que se establecen los principios de buenas prácticas de laboratorio y su aplicación en la realización de estudios no clínicos sobre sustancias y productos químicos.
- REAL DECRETO 379/2001, de 6 de abril, por el que se aprueba el Reglamento de almacenamiento de productos químicos y sus instrucciones técnicas complementarias.
- UNE EN 1127-1:2012, Atmósferas explosivas. Prevención y protección contra la explosión.
- NTP 9: Líquidos inflamables y combustibles. Almacenamiento en recipientes móviles.
- NTP 55: Túneles de secado de disolventes inflamables control del riesgo de explosión.

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## **3.2 Condiciones del proyecto**

El proyecto pretende obtener microesferas cargadas con nanopartículas ferrita de hierro con diámetros comprendidos entre 1 y 10 micras, con una distribución de diámetros lo más homogénea posible.

Para ello será necesario medir el grado de dispersión, realizar histogramas de tamaños y un estudio de la influencia de los parámetros de fabricación. Mediante el Método Taguchi se va a determinar cuáles de los parámetros del proceso tienen mayor influencia sobre el tamaño y la homogeneidad de las partículas, con el fin de optimizar la producción.

Como características mecánicas del proyecto, la cabina ha de estar totalmente aislada del exterior para evitar la influencia de parámetros ambientales sobre el proceso de fabricación. Para ello deberá estar hecha con los materiales adecuados para evitar la fuga del disolvente orgánico que se evapora durante el proceso. Por lo tanto deberá llevar una toma de escape de gases, así como una toma de aire comprimido de entrada. Esto último es con el fin de asegurar un ambiente seco y de humedad relativa estable, para que los ensayos sean reproducibles.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 4. Introducción. Ingeniería tisular y biomateriales

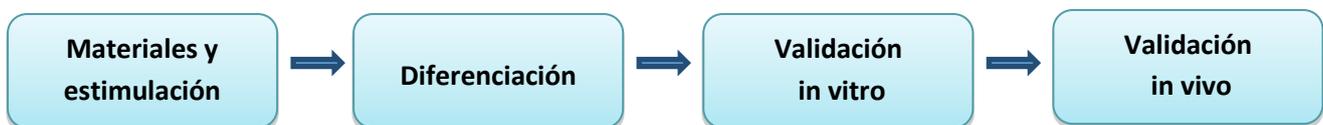
### 4.1 Definiciones e Hipótesis

*“La ingeniería tisular es un área multidisciplinar que aplica los principios de la ingeniería y de las ciencias de la salud para el desarrollo de estructuras biológicas, con el fin de generar tejidos que permitan restaurar, mantener o mejorar la función del tejido u órgano primitivo. Para lograr este fin, la ingeniería tisular debe combinar armoniosamente materiales y componentes celulares con el objeto de utilizarlos en tratamientos específicos que garanticen el éxito terapéutico”* (Orive, Hernández, & R. Garcón, 2003)

La ingeniería tisular es una rama de la biomedicina que integra diversas disciplinas y estrategias, ocupando como objetivo la regeneración de tejidos. Está formada por un conjunto de técnicas que busca la regeneración orgánica mediante células, materiales y procesos tecnológicos.

En estas aplicaciones se combina una fuente de células con capacidad para diferenciarse y adquirir el fenotipo adecuado al tejido que se va a regenerar, un biomaterial que actúe de soporte para facilitar la adhesión de las células, evitar su dispersión en el organismo y crear un entorno biomecánico favorable, y unas señales químicas y físicas inductoras de la diferenciación.

Este tipo de estudios se desglosa en cuatro etapas, con los consiguientes subprocesos:



En la primera etapa se persigue la **prediferenciación**. En ella se prepara el biomaterial a estudiar y el soporte celular (*scaffold*) donde en definitiva se realizará el cultivo celular.

La etapa que prosigue es la **diferenciación celular**, la transformación morfológica y fisiológica de las células de un tipo de linaje concreto a otro específico.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

En última instancia se realizan las **validaciones**. Primeramente, se comprueba *in vitro* que en los cultivos las células mantienen el fenotipo de las células madre; y por último se realiza la validación *in vivo*.

En la ciencia que nos ocupa, es interesante que los soportes sean biodegradables, ya que de esa forma es posible aunar los pasos de diferenciación y validación en scaffold.

Los scaffolds son estructuras tridimensionales que actúan como matriz extracelular artificial, permitiendo la migración y adhesión celular y facilitando la difusión de nutrientes y factores de crecimiento necesarias para el adecuado comportamiento celular.

## Células mesenquimales

Como fuente de células tienen gran interés las células madre mesenquimales, MSCs, obtenidas de la médula ósea (Lanza, Langer, & Vacanti, 2007), de la grasa o de otros tejidos. Estas células tienen la ventaja de poderse obtener del propio paciente, pueden diferenciarse en condiciones de laboratorio a una variedad de tejidos, en particular los tejidos musculoesqueléticos como el hueso, músculo y cartílago pero también se ha demostrado su capacidad de diferenciarse a células del sistema nervioso, hígado y otros. Por otra parte tienen una enorme capacidad de expansión manteniendo su multipotencialidad lo que resulta esencial para poder obtener en laboratorio el número de células necesario para el desarrollo de aplicaciones de regeneración tisular.

La diferenciación de las MSCs hacia un fenotipo u otro depende de las señales que la célula recibe del exterior, sea en un cultivo “*ex vivo*” o una vez implantadas en el lugar donde se ha producido el daño. Estos estímulos provienen de factores químicos como son los factores de crecimiento (proteínas solubles producidas por otras células presentes en el nicho “*in vivo*” o bien añadidos a los medios de cultivo), o las hormonas. Pero también es esencial la estimulación física mediada por la interacción con la matriz extracelular. Se ha demostrado que la diferenciación osteogénica viene inducida por un soporte rígido incluso en ausencia de factores químicos de señalización.

Este efecto está determinado por la capacidad de la célula de “sentir” la tensión mecánica que desde el exterior se ejerce sobre la membrana celular y de desencadenar una cascada de fenómenos en el interior de las células que acaba transmitiéndose al núcleo y traduciéndose en la expresión de determinados genes. Por tanto, la introducción de una matriz extracelular artificial (scaffold) con unas

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

determinadas características tendrá una influencia decisiva en la diferenciación celular de las células mesenquimales.

Existen dos tipos de estimulación celular:

- Estimulación directa: En este tipo de estimulación se aplica directamente sobre el soporte un esfuerzo, por ejemplo una fuerza de tracción o compresión. Esta fuerza hace que sobre el soporte (matriz extracelular artificial) las células perciban el esfuerzo y se comporten de determinada manera, por ejemplo, en determinados casos estimulando la diferenciación celular en una línea determinada (osteogénica, condrogénica, miogénica, etc.).
- Estimulación remota: Mediante esta técnica se introducen nanopartículas al cultivo con tal de que al aplicársele un agente externo, como un campo magnético, se produzca una excitación en las células.

La hipótesis de este trabajo es que mediante la aplicación a distancia de un programa de estimulación remota sobre los soportes celulares de MSCs puede favorecerse su diferenciación hacia determinado fenotipo. De esta forma, en el laboratorio podrían producirse cantidades elevadas de células con un fenotipo bien caracterizado y adaptado a las condiciones de regeneración del tejido deseado. Luego esas células se separarían del soporte en el que se han cultivado y se trasplantarían al lugar del daño en un vehículo (un material biodegradable) adecuado a cada tejido.

## **Biomateriales**

En cuestión del material a emplear, puede ser empleado como sustrato (matriz) o como portador (cápsula) celular, creciendo en la superficie o en el interior, respectivamente. El origen de los materiales puede ser natural o sintético, pero su función general será degradarse en el individuo una vez implementado. Requisito imprescindible es que dicho material ha de simular las condiciones de la matriz extracelular donde viven las células. Entre otras propiedades, debe de ser biocompatible, biodegradable, elástico y resistente, con tal de adaptarse tanto en forma como tamaño al espacio a regenerar. (Orive, Hernández, & R. Garcón, 2003)

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 4.2 PVDF como soporte de cultivos celulares.

El PVDF se caracteriza por tener 5 tipos de fases cristalinas:  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$ . En este proyecto, la fase  $\beta$  es el motivo de interés debido a que es la que mayor efecto piezoeléctrico posee, así como mayor resistencia a radiación y biocompatibilidad. La fracción relativa de la fase  $\beta$  viene determinada por la fórmula:

$$F(\beta) = \frac{A_{\beta}}{\left(\frac{K_{\beta}}{K_{\alpha}}\right)A_{\alpha} + A_{\beta}}$$

Donde F es la fase, A la absorbancia y K el coeficiente de absorción en la respectiva fase.

La fase  $\beta$  es la que presenta mejores propiedades para ser empleada en sensores, actuadores y transductores debido a su piro-, piezo- y ferromagnética propiedad. En estudios anteriores, esta fase se ha obtenido al cristalizar el polímero de una solución de N,N-Dimetilformamida (Vincenzini & De Rossi, 2008) a temperaturas inferiores a 100 °C.

En relación con el cultivo celular, se han publicado estudios donde se demuestra que el PVDF presenta propiedades óptimas para este fin, tales como la electroactividad de su fase  $\beta$  y su buena biocompatibilidad. Estos estudios se han realizado tanto en cultivos monocapa como sobre soportes porosos preparados con PVDF (Correia, y otros, 2014). (Haining, Chen, Wong, Hague, & Li, 2012)

## 4.3 Microesferas como soporte de cultivo celular.

El entorno tridimensional para la diferenciación de las MSCs es una técnica ampliamente probada experimentalmente. Desde hace años, diversos estudios han testado el cultivo celular con microesferas con resultados muy positivos (Workman, Tezera, Elkington, T., & Jayasinghe, 2014). El comportamiento de las células mediante el método clásico de cultivo celular sobre soportes celulares de dos dimensiones (soportes planos) da lugar en ocasiones a resultados engañosos, no fisiológicos. Esto es debido a que el comportamiento de las células en entornos 2D no imitan la biología celular *in vivo*. Las interacciones de célula-célula tienen lugar en tres dimensiones, y las interacciones célula-matriz regulan la supervivencia celular y vías de señalización. Además, las propiedades mecánicas de la matriz regulan la expresión génica celular.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Por estas razones es por lo que la creación de entornos celulares 2D a veces no sea representativo del comportamiento celular en condiciones *in vivo*. Sin embargo, la utilización de soportes tridimensionales como soporte celular ha demostrado que el comportamiento celular se asemeja mucho más a las condiciones reales *in vivo*.

La preparación de soportes celulares tridimensionales (3D) puede obtenerse mediante un gran abanico de materiales y técnicas. De esta forma, es posible obtener una morfología y porosidad a medida dependiendo del polímero empleado y la técnica utilizada para su fabricación.

Entre las técnicas utilizadas para la preparación de soportes celulares 3D, destaca la preparación de microesferas a partir de materiales biocompatibles. La utilización de microesferas que incorporan células y matriz extracelular para su uso en cultivos celulares ha sido empleado para el estudio de diversas enfermedades, permitiendo el avance de la investigación de la biología celular dentro de una matriz 3D, un entorno que mimetiza con mejor exactitud las condiciones del comportamiento celular *in vivo*.

## 4.4 Técnicas de Electrohilado y Electrospray

La técnica de electrohilado es un método de preparación de soportes 3D para aplicaciones de ingeniería tisular. Con esta técnica pueden obtenerse fibras y esferas de polímero de un tamaño del orden de micras. Esta metodología ha sido experimentalmente probada y testada para polímeros naturales y sintéticos, siendo así de carácter versátil. Dependiendo de los parámetros del ensayo, se obtienen microfibras o microesferas de polímero.

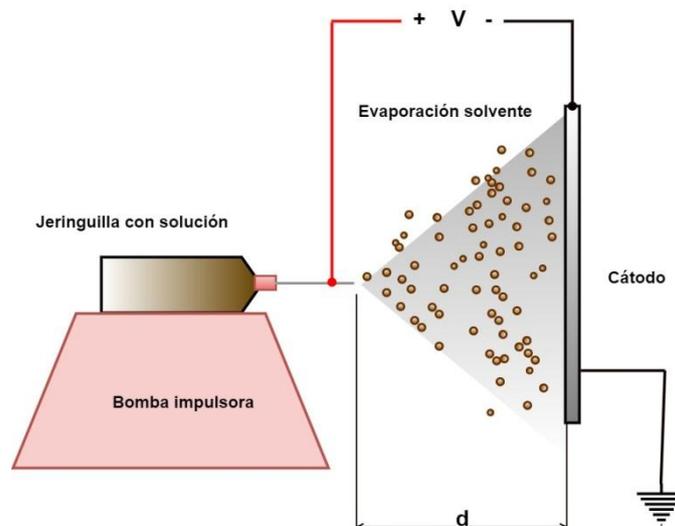


Figura 1 Esquema Electrospray

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

La técnica consiste en una jeringuilla donde se inyecta la disolución con el polímero. Ésta dispone de una aguja separada cierta distancia de una chapa de cobre cubierta de aluminio, que actúa como colector. Entre el colector (que actúa de polo negativo) y la aguja de la jeringuilla (polo positivo), se aplica un voltaje del orden de kilovoltios, haciendo que la disolución se proyecte sobre el cátodo en forma de spray (comúnmente llamado jet). Este proceso sucede al incidir una tensión superficial tan elevada en las gotas de la solución y toma el nombre de cono de Taylor.

En el trayecto hasta el colector, el solvente es evaporado, precipitando micropartículas de polímero en la superficie de éste. Dependiendo de los parámetros escogidos, las micropartículas tomarán forma de nanofibras o microesferas.

En estudios previos (Huijing, Qiaoling, & Chen, 2012) se ha comprobado que mediante la técnica de electrospray pueden obtenerse partículas (esferas) del orden de micro a nanómetros de diámetro, distribuyéndose de forma dispersa y sin aglomeraciones.

Asimismo, este método se ha empleado en las pasadas décadas para un amplio rango de aplicaciones, tales como recubrimiento de partículas o membranas, síntesis de materiales, medicamentos y encapsulación de nanopartículas.

Existen equipos comerciales de electrohilado tanto a escala de producción industrial como de laboratorio. Compañías como INOVENSO (<http://inovenso.com>), ElectrospinTech (<http://electrospintech.com>) y MTI (<http://www.mtixtl.com>) fabrican equipos especializados para un amplio rango de necesidades. En investigación, en muchos ámbitos se emplean equipos acondicionados por los mismos investigadores, dado que para cada línea de trabajo concreta no se requiere de muchas de las sofisticaciones implementadas por los equipos comerciales. Estas adaptaciones consiguen el mismo nivel de efectividad, a un coste económico muy inferior. (Correia, y otros, 2014) (Vellayappan, y otros, 2016)

Diversos estudios han demostrado (Workman, Tezera, Elkington, T., & Jayasinghe, 2014) que mediante la técnica electrospray es posible la producción de microesferas, sin tener efecto negativos sobre la viabilidad celular.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 4.4.1 Problemática del Electropray

Para la obtención de las microesferas, se han de tener en cuenta distintas limitaciones y problemas, ya que existen muchos parámetros y condiciones que afectarán a la producción de las mismas. Éstos se encuentran relacionados entre sí, de forma que el cambio de una condición afectará sobre otro parámetro y en definitiva, el resultado final. Añadiendo el matiz de que obviamente cada disolución (polímero-solvente) responderá a los cambios de los parámetros de forma diferente. Por tanto, el ajuste y el control de los parámetros necesarios en función del polímero-solvente utilizado es uno de los factores clave en la obtención de microesferas en condiciones de reproducibilidad.

## 4.4.2 Condiciones internas

### Concentración del polímero

Los estudios anteriores señalan que el porcentaje del polímero es uno de los factores más influyentes en la preparación de microesferas. La concentración de éste determinará resultados en forma de fibras o esferas.

### Solvente

La función del solvente es transportar en el jet al polímero escogido. Se ha de encontrar el solvente adecuado dado cuando mayor conductividad eléctrica posea, mayor es la probabilidad de la aparición de fibras. Se ha de valorar también la viscosidad del solvente, dado que de ser muy elevada puede dificultar la expulsión del jet. Sin embargo, el factor de mayor importancia es su capacidad de evaporación. En el caso de la técnica de electropray para producción de microesferas, éste ha de ser capaz de evaporarse totalmente antes de llegar al colector. La cantidad de solvente evaporado ha de estudiarse en cada caso según el entorno que ocupa, ya que una saturación de gas podría dar lugar a ambientes peligrosos e incluso explosivos (Ver el apartado

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

6.3 Análisis del riesgo de ignición).

## **Peso molecular**

El valor del peso molecular del polímero ha de ser suficiente como para contrarrestar la tensión superficial de las gotas y así formar el spray constante y uniforme durante el ensayo. Por lo tanto, el peso molecular del polímero está directamente relacionado con la concentración mínima que se precisa para realizar el electrospray.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 4.4.3 Condiciones del ensayo

### Factor campo

Uno de los parámetros a estudiar en el proceso del electrospray es la diferencia de tensión aplicada. Existe una relación entre el diámetro de las microesferas obtenidas y el voltaje, sin embargo este factor no se encuentra aislado y depende directamente de la distancia entre la aguja y el colector. El campo eléctrico se define como la diferencia de potencial dividida entre distancia, por lo que ambos parámetros (voltaje y distancia colector-aguja) están directamente relacionados con la variación del diámetro de las microesferas. Obviamente, otros parámetros, como la concentración de la solución polímero-solvente y condiciones ambientales tendrán también una gran influencia sobre el proceso de formación de las microesferas.

### Distancia

Se requiere una distancia mínima entre la aguja y el colector para que la solución se evapore, en caso contrario únicamente se deposita sobre el aluminio, entremezclando fibras con esferas y material polimérico heterogéneo. Dependiendo del tipo de aplicación, la distancia ha de encontrarse entre unos rangos determinados. Existen aplicaciones donde es motivo de interés que el solvente no se evapore del todo, formándose una capa continua de material sobre el colector, como un recubrimiento.

### Diámetro interno de la aguja

Un diámetro pequeño ayudará a obtener micropartículas de menor tamaño. Sin embargo, en el presente TFM se tendrá como inconveniente la continua obstrucción de la aguja debido a las nanopartículas de hierro añadidas a la disolución polímero-solvente.

### Flujo

La condición del caudal expulsado por la aguja determinará que el jet se propague convenientemente. Si el flujo es muy elevado se traducirá en una pérdida de la solución que no tomará forma de cono de Taylor.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## Tipo de colector

La configuración del equipo del electrospray atiende a diversas composiciones dependiendo del tipo de muestras que se buscan.

El colector es el elemento donde se depositan las micropartículas después de haberse formado el jet. Entre éste y la aguja hay una diferencia de tensión del orden de kilovoltios, por lo que por seguridad éste ha de estar conectado a una toma de tierra. La morfología del colector puede ser muy distinta dependiendo del tipo de partículas que se desee producir.

- Plano y estático: Se trata de una plancha de cobre cubierta de aluminio. Éste es el colector ideal para que se depositen las partículas en forma de esferas. Éste ha de estar perpendicular a la dirección de la aguja, por lo que la configuración del equipo puede darse de forma horizontal o vertical. Suele emplearse un montaje horizontal, dado que en el caso contrario el efecto de la gravedad puede influir en la deposición de gotas en los momentos de iniciar y detener el electrospray.
- Rejilla y estático: De características similares al plano, pero buscando que las muestras queden depositadas en forma de rejilla.
- Cilíndrico y dinámico: Para la obtención de fibras, este tipo de colector se ha estudiado que es la mejor opción. Se trata de un motor eléctrico sobre el que la jeringuilla deposita las partículas, alineándose en forma de fibras. La velocidad del rotor es fundamental para la caracterización de éstas, ya que a mayor velocidad se obtiene un incremento sustancial en la alineación.
- Disco y dinámico: Similar al plano pero con el añadido de encontrarse en continua rotación.

## Tipología de jeringuilla

La polivalencia del electrohilado y electrospray permite que para algunos ensayos se puedan emplear distintas configuraciones y número de jeringuillas. Dependiendo de las necesidades de la producción, en ocasiones se han empleado de 2 a 3 jeringuillas funcionando a la vez, entremezclando los jets (multi-jet electrospinning) hacia la misma dirección. La técnica coaxial emplea dos jeringuillas que alimentan a una aguja coaxial y es usualmente empleada para producir microtúbulos, donde la parte interna puede ser de un material y la capa externa de otro.

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Aplicando una diferencia de potencial suficiente (del orden de 15-20 kv) entre la aguja y el colector a la solución, se genera una tensión sobre la superficie de las gotas haciendo que éstas se rompan y se dividan en otras más pequeñas. Éstas son expulsadas de la aguja en forma de spray hasta el colector. La forma en la que la solución es expedita se denomina **cono de Taylor**, pudiendo regularlo ajustando los valores de diferencia de tensión.

Acorde con la formula indicada a continuación (Ganan-Calvo) puede obtenerse el valor del diámetro a partir del flujo de inyección de la solución polímero-solvente::

$$D = \alpha \left( \frac{F^3 \varepsilon \rho}{\pi^4 \sigma \gamma} \right)^{\frac{1}{6}}$$

Donde  $\alpha$  es una constante, F el flujo de inyección,  $\varepsilon$  la constante dieléctrica del material en vacío,  $\rho$  la densidad de la solución,  $\sigma$  la tensión superficial y  $\gamma$  la conductividad del líquido.

Así pues, tiene sentido asegurar, que a mayor flujo de inyección, mayor será el diámetro de las microesferas. Así como a mayor tensión aplicada, menor será el diámetro de las microesferas obtenidas.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 4.4.4 Condiciones ambientales

A pesar de que las condiciones de la solución y del proceso sean óptimas, el resultado de la producción de micropartículas puede ser ineficaz si las condiciones ambientales no son las adecuadas. La principal problemática para la producción de microesferas es la alta influencia de los factores ambientales. Es por eso que se ha implementado un **sistema de aire comprimido** para la estabilización de la humedad. De esta forma se garantiza la **reproducibilidad** de los ensayos.

Para la corroboración de que la solución adoptada es conveniente, se han realizado ensayos de electrospray dentro y fuera de la cabina. De esta forma, se ha analizado como afecta a la fabricación de las microesferas las condiciones ambientales del laboratorio (humedad controlada y sin controlar).

Un factor importante dado su peligrosidad, es la atmósfera inflamable que puede haber en el interior de la cabina debido a la evaporación de los gases si éstos no han sido evacuados debidamente. Asimismo, cabrá tener en consideración que el ambiente también puede resultar saturado, evitando que continúe evaporándose más disolvente y quedando restos en el colector. Es por eso que se ha instalado una bomba de membrana para la extracción de los gases, reforzando así la seguridad de la cabina.

### Humedad relativa

Con una humedad mayor al 50% el solvente no es totalmente evaporado durante el jet debido a la presión parcial de agua en el ambiente. Esto origina que el polímero se deposite de forma amorfa y aglomerada. En previos ensayos se ha mostrado como también pueden adoptar forma de film; observándose con el microscopio de barrido una matriz de microesferas adheridas entre sí, debido a la evaporación incompleta del solvente.

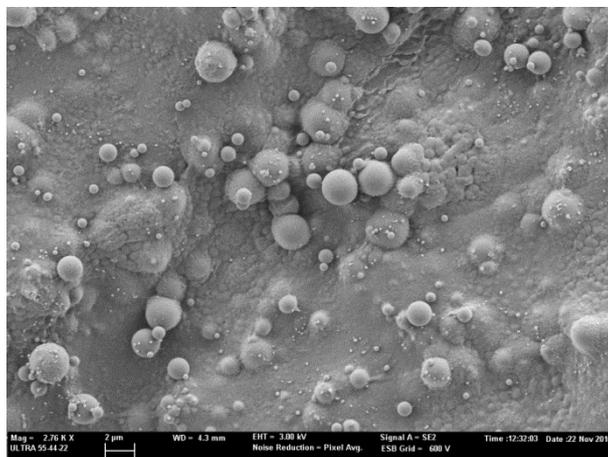


Figura 2 - Film formado por microesferas visto desde el microscopio de barrido FESEM

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## Temperatura

Uno de los factores importantes para el control del entorno. Para mantener una presión constante habría tener un control de temperatura para mantenerla en el valor deseado.

$$\rho = \frac{P}{K \cdot T}$$

Donde  $\rho$  es la densidad, P la presión, K la constante de los gases y T la temperatura.

De la misma forma, la temperatura también influye en la evaporación de los gases generados durante el electrohilado. Una mayor temperatura favorece a la velocidad de evaporación del solvente. Es por esta razón que de trabajar con temperaturas bajas se precisaría una distancia mayor del colector, con tal de que el solvente del jet tuviese tiempo para evaporarse. Añadir que una temperatura elevada influiría también sobre la viscosidad de la solución, disminuyéndola.

Cabe destacar que se ha de tener en cuenta los puntos de inflamación de los solventes. En el caso de este proyecto, el solvente empleado (Dimetilformamida) es inflamable a 57.5 °C por lo que se ha de prestar especial precaución en no exceder esta temperatura.

### 4.4.5 Problemática durante los ensayos

La obstrucción de la aguja debido a aglomeraciones de nanopartículas es un inconveniente común en este tipo de ensayos. Para solucionar este problema se recomienda llenar una jeringuilla limpia con el solvente empleado (DMF en este caso) y colocar la aguja. Limpiar el extremo con papel mojado con el solvente y con la ayuda de un hilo de cobre, tratar de liberar la salida de la aguja, presionando a su vez con la jeringuilla.

Para minimizar este problema se recomienda guardar la jeringuilla en contacto con el solvente, dentro de un recipiente cerrado.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 4.5 Magnetización. Dominio magnético

Los materiales magnéticos están compuestos por regiones que poseen magnetizaciones uniformes. A estas zonas se les asigna el nombre de dominio magnético, y se caracterizan por tener todos los dipolos alineados hacia una dirección y estar separadas unas de otras por una frontera llamada pared de Bloch.

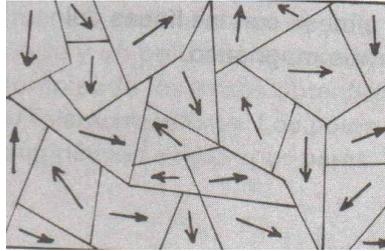


Figura 3 - Dominios magnéticos del hierro

Un átomo de hierro posee un campo magnético tan intenso que genera que las interacciones entre los adyacentes se alineen hacia la misma dirección, generando el grupo magnético o dominio.

En un material no magnetizado, los dominios se encuentran orientados aleatoriamente pero de tal forma que la suma de sus energías magnetoestáticas se compensan, siendo la magnetización externa del material inexistente.

Cuando se aplica un campo magnético externo los dominios con la orientación más similar a éste se alinean, modificando su forma y uniéndose entre ellos.

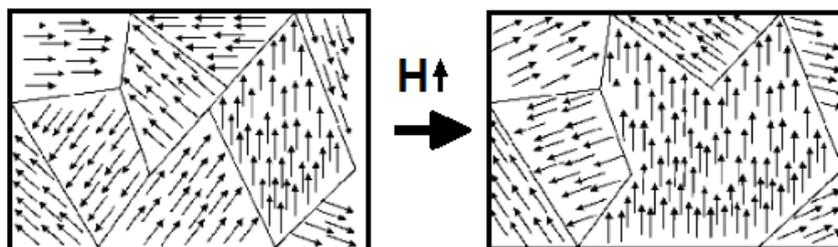


Figura 4 - Material ferromagnético tras aplicar una inducción magnética

Tras aplicar un campo magnético, los dominios del material se alinean hasta encontrar un punto de saturación máximo, donde todos los dipolos están orientados hacia la misma dirección.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

Al retirar el campo externo, los dominios vuelven a desordenarse pero no alcanzan la orientación inicial. Esto es debido a que conservan parte del campo magnético; fenómeno denominado magnetismo remanente. Para obtener de nuevo un valor nulo de magnetismo sería necesario aplicar un campo opuesto al inicial, denominado fuerza coercitiva. Si éste es aplicado hasta el límite de saturación, ocurrirá el mismo efecto con la magnetización remanente, produciéndose un ciclo de histéresis.

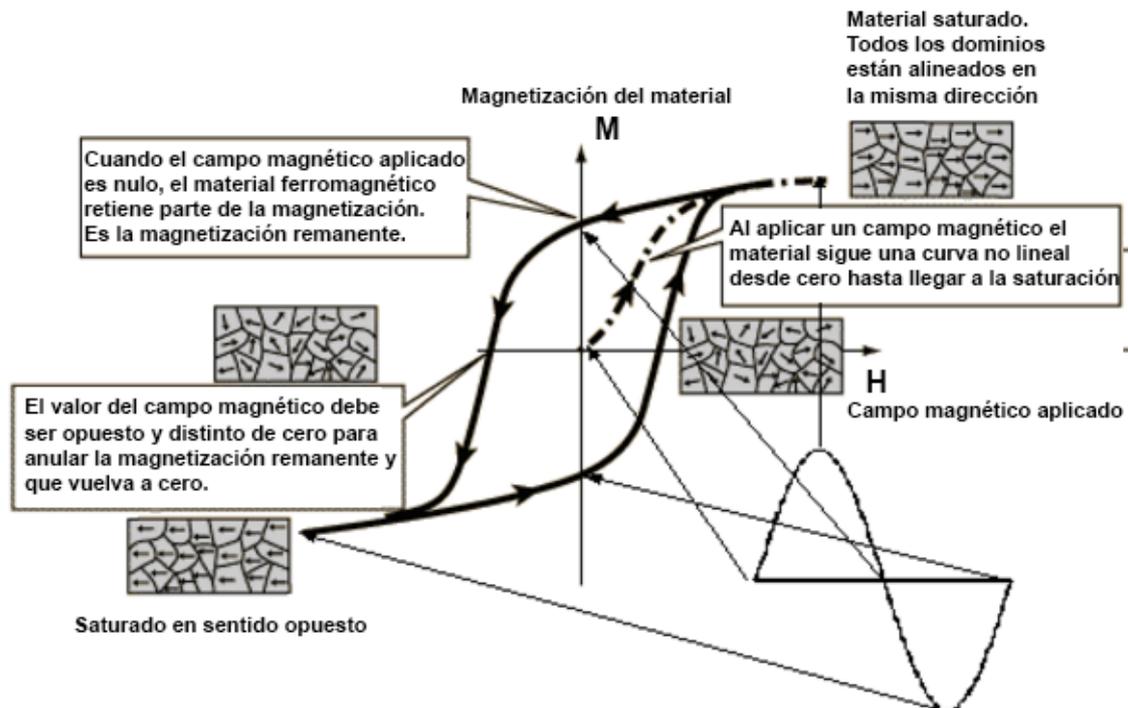


Figura 5 - Ciclo de histéresis de los dominios de un material ferromagnético

El **tamaño del dominio** viene determinado por tres factores: la energía de cambio del dominio, la energía de cambio de la pared y la magnetoestricción. Este último parámetro depende del tipo de elemento y se trata de un fenómeno por el cual al magnetizar el material las dimensiones cambian debido a las fuerzas magnéticas de atracción y repulsión interatómicas.

En el caso de la ferrita de hierro el material no es magnetostrictivo; a diferencia de la ferrita de cobalto, material sopesado para este proyecto (finalmente se descartó debido a su citotoxicidad).

Dado que las dimensiones de los dominios son del orden de  $10^{-9}$  y  $10^{-6}$  m, se puede afirmar que las microesferas producidas por el electrospray únicamente estarán formadas por un dominio. De esta forma, no existirá magnetización remanente y el paso por cero en el ciclo de histéresis ha de cumplirse para todos los ensayos.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 4.6 Método Taguchi

Uno de las metodologías que pueden utilizarse para evaluar qué parámetros tienen mayor influencia en el diámetro y desviación de las microesferas es el método Taguchi (Wysk, Niebel, Cohen, & and Simpson, 2000). Este diseño permite elegir un producto o proceso que funciona con mayor consistencia y efectividad en el entorno operativo necesario. Los diseños de Taguchi tratan de identificar factores controlables y aislarlos de los factores de ruido. Estos métodos emplean *arreglos ortogonales*, los cuales estiman los valores de los factores en base a la media de los resultados obtenidos y su varianza. (Gómez-Tejedor, Overberghe, Rico, & Gomez Ribelles, 2011)

El método Taguchi, también llamado diseño robusto, busca obtener un proceso insensible al ruido que no es posible controlar, o minimizar el mismo.

Los arreglos ortogonales son empleados para determinar la matriz de diseño que proporciona el número de ensayos a realizar para evaluar los factores controlables y los de ruido a sus niveles correspondientes. Existen distintos arreglos dependiendo del sistema a analizar, configurando matrices de determinadas medidas.

La Tabla 1 muestra el arreglo ortogonal  $L_8$  como ejemplo. Éste únicamente es válido para dos niveles por factor y se pueden configurar matrices que requieran hasta 7 factores distintos. De tratarse de un sistema en el que se precisan menos factores, el diseño de la matriz se configuraría según especifica la Tabla 1.

Serie	Factores						
	1	2	3	4	5	6	7
1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	2	2	2	2
3	1	2	2	1	1	2	2
4	1	2	2	2	2	1	1
5	2	1	2	1	2	1	2
6	2	1	2	1	2	1	2
7	2	2	1	1	2	2	1
8	2	2	1	2	1	1	2

2 factores: columnas 1, 2  
3 factores: columnas 1, 2, 4  
4 factores: columnas 1, 2, 4, 7  
5 factores: columnas 1, 2, 4, 7, 6  
6 factores: columnas 1, 2, 4, 7, 6, 5  
7 factores: todas las columnas

Tabla 1 - Ejemplo arreglo  $L_8$  de Taguchi con configuración de la matriz en base a los factores de diseño

El subíndice indica el número de series de la matriz. Entre los muchos arreglos ortogonales, los más comunes que se emplean son  $L_4$ ,  $L_8$ ,  $L_{12}$  y  $L_{16}$  para sistemas de dos niveles y  $L_9$  y  $L_{16}$  para tres.

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Tras la realización de los experimentos según las condiciones del diseño robusto, las muestras han de ser analizadas y caracterizadas para esclarecer resultados. En el caso de este proyecto los resultados que nos interesan son el diámetro de las microesferas y la desviación estándar. En base a estos resultados, se calculará el rango (valor mínimo restado al valor máximo) de cada factor respecto al diámetro y la dispersión.

En el apartado 5.4.3 Parámetros y niveles en el diseño de Taguchi se han descrito los parámetros elegidos para la aplicación del método de Taguchi para la aplicación específica del presente TFM. Los resultados obtenidos tras la aplicación del método se encuentran descritos en el apartado 7.3.3 Resultados de los ensayos por el diseño de Taguchi y finalmente los resultados del análisis elemental se han incluido en el apartado 7.3.4.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 5. Soluciones alternativas

En este apartado se procederá al estudio de diferentes opciones para abordar el proyecto.

### 5.1 Materiales

#### Polímeros

En las últimas décadas, el empleo de polímeros para la ciencia de los biomateriales se ha incrementado debido a la polivalencia para crear fibras y partículas. El uso de éstas se ha extendido para tanto el campo de la ingeniería tisular, como para medicamentos y biosensores, entre otros.

Los materiales magnetoeléctricos pueden ser polímeros o cerámicas. La razón por la que se escoge un polímero es que frente al componente cerámico no tiene tanta pérdida piezoeléctrica en las zonas de contacto. Así como que ofrecen diversos métodos de producción, proporcionando mayor flexibilidad en el proceso de fabricación.

Diversos polímeros empleados en la producción de microesferas son:

- PVDF: Es biocompatible, posee un coeficiente piezoeléctrico elevado, pero no es biodegradable.
- PLLA, PHB: Son biocompatibles, poseen un coeficiente piezoeléctrico menor y son biodegradables.

Para que el material funcione como transductor es necesario que sea piezoeléctrico (no confundir con magnetostrictivo). Esta es una de las razones por las que se ha escogido el **polifluoruro de vinilideno** (PVDF)  $-(C_2H_2F_2)_n-$  como polímero frente a otros como el PLLA y PHB. Su coeficiente piezoeléctrico es mayor, y pese a no ser biodegradable, se ha considerado idóneo para la aplicación (*in vitro*) en que se va a emplear, puesto que el la biodegradabilidad del material no es un requisito necesario.

Denotar que los materiales piezoeléctricos son ferroeléctricos, pero inversamente no ha de cumplirse siempre. En el caso del PVDF, que es el polímero a emplear en estos ensayos, es cuando se encuentra en fase- $\beta$ .

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Dependiendo del tipo de célula, ésta es afín a carga positiva o negativa. No obstante, la mayor diferencia se encuentra entre las células que se encuentran cargadas y las que no. Para añadirle carga a una célula hay que polarizarla. Para ello previamente se puede medir su polaridad mediante técnicas de fuerza de piezorespuesta (PFM).

Existen distintos grados de homopolímeros como copolímeros de PVDF. Entre las alternativas, se encuentran copolímeros de VDF con trifluoretileno P(VDF-co-TrFE). Este último tiene la ventaja de tener mayor facilidad en formar la fase beta electroactiva. La elección de trabajar con el PVDF está sustentada mayormente por la información de trabajos anteriores sobre el procesado en forma de microesferas. (Correia, y otros, 2014)

El peso molecular es importante ya que a mayor valor, se facilita el entrelazamiento de las cadenas de polímero y por consiguiente, la formación de nanofibras. En pesos moleculares bajos se facilita la formación de microesferas, siendo el peso molecular del PVDF Solvay 1010 de 153kDa. (Ana, Xua, Daia, Xuea, Hec, & Zhao, 2017)

## Nanopartículas

Como se ha comentado en apartados anteriores, se han de añadir nanopartículas de ferrita a las microesferas de PVDF de forma que, al aplicar un campo magnético, las microesferas tenga la capacidad de transmitir estímulos eléctricos y mecánicos a las células en cultivos celulares *in vitro*.

La variación eléctrica de polarización como respuesta ante un campo magnético aplicado se define como **efecto magnetoeléctrico**.

En lo que a este proyecto respecta, cabe diferenciar dos tipos de nanopartículas:

-**Magnetostrictivas:** son aquellas que modifican su forma al aplicársele un campo magnético, produciendo una diferencia de potencial. De esta forma, excitan y deforman las células. Este tipo de nanopartículas se emplea para las células mesenquimales.

-**Magnéticas:** al aplicarse un campo únicamente se desplazan, sin sufrir ningún tipo de deformación. Éstas aplican presión a las células pero de una forma más liviana. Dado a que su desplazamiento es puramente mecánico, éstas son empleadas para casos cerebrales.

Las **ferritas de cobalto** poseen un carácter de mayor imantación frente a las de hierro, pero son citotóxicas. En adición, se ha observado en previos experimentos cómo es

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

muy difícil su dispersión, ya que tienden a formar agregados. Sin embargo, la **ferrita de hierro** posee una capa de tratamiento que facilita la preparación de las muestras y además son magnéticas.

Tras la valoración entre los dos tipos de nanopartículas magnéticas, se ha optado como solución por la utilización de ferrita de hierro frente a la ferrita de cobalto, ya que en ensayos preliminares se ha comprobado que muestran una mejor dispersión, sin tendencia a formar agregados.

En previos estudios en los que se ha hecho uso de nanopartículas de hierro, se ha probado que es de especial utilidad para medicina genómica. Añadiendo material piezoeléctrico permite que las nanopartículas puedan actuar como nanosensores y actuadores para la estimulación tisular. (Gonçalves, y otros, 2015)

Las partículas magnéticas son clasificadas dependiendo de su respuesta ante un campo magnético externo aplicado. La orientación de los momentos magnéticos en la partícula ayuda a identificar los diferentes tipos de magnetismo observados en los materiales. La unidad de medida del componente magnético se mide con las unidades de emu/g y puede ser medida mediante un VSM (vibrating sample magnetometer,).

Existen distintos tipos de ferritas de hierro comerciales (en este proyecto se ha empleado EMG 1300 Ferrotec Ferrofluid). Para este proyecto se ha elegido este tipo de nanopartícula respecto a las otras debido a su recubrimiento de ácido oleico dispersante y detergente polimérico, lo cual facilita su dispersión en disolventes orgánicos. Esto es de vital importancia para el proceso de electrospray, ya que las nanopartículas pueden quedarse obturadas en la aguja de encontrarse muy aglomeradas. Otras nanopartículas comerciales, como HWNANO Materials, poseen también una gama de productos amplia en cuanto a óxidos de hierro, pero sin recubrimiento especificado.

La cantidad empleada es específica según la aplicación a desarrollar, en el caso que ocupa a este trabajo se puede consultar con detalle en el apartado 5.4.4 Bases teóricas para la preparación de las soluciones, donde se ha fijado un 10% de ferrita de hierro frente al polímero empleado.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 5.2 Procesado

### Técnicas de obtención de microesferas

Entre las diferentes opciones para la producción de micropartículas encontramos distintos tipos.

#### **Emulsión**

Consiste en un proceso de polimerización interfacial, seguido de un secado por atomización o vacío y evaporación de solvente.

Las microesferas producidas por emulsión tienen un diámetro del orden de 50 $\mu\text{m}$ , mucho mayor que el tamaño de interés que se está buscando. (Spiller, y otros, 2012)

#### **Electrospray**

Es la técnica escogida dado que es la que produce mayor cantidad de microesferas, y mejor se adapta a las características que se buscan de las mismas. Asimismo, estudios previos demuestran cómo mediante esta técnica se induce la formación de la fase electroactiva (Correia, y otros, 2014)

#### **Microfluídica**

Mediante esta técnica se produce una cantidad inferior de microesferas frente a los otros métodos, pero las microesferas se encuentran menos aglomeradas. Aun así, el diámetro de éstas supera el especificado por el proyecto, obteniéndose del orden de 50-100 $\mu\text{m}$  (Yu, Cheng, Zhou, & and Zheng, 2015)

La ventaja sobre el electrospray o la emulsión tradicional es que las partículas son monodispersas pero no está estudiado si el polímero se encontraría en la fase electroactiva  $\beta$ .

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## **5.3 Diseño de la cámara de electropray**

En el siguiente apartado se va a estudiar las condiciones, parámetros, materiales y solución elegida para el diseño de la cabina de Electropray.

### **5.3.1 Disposición del colector**

Se ha escogido un colector plano estático vertical. Es de tipo plano estático ya que se ha testado en estudios anteriores que es un método adecuado para la obtención de microesferas (Gómez-Tejedor, Overberghe, Rico, & Gomez Ribelles, 2011). Podría haberse dispuesto horizontalmente, con la bomba en vertical y la aguja perpendicular al colector igualmente, pero tiene el problema añadido que podrían caer gotas de la solución sobre la muestra durante el tiempo de parada y puesta en marcha.

Para la sujeción del colector se dispone de un soporte sobre el que se fija el colector cubierto de papel de aluminio, a la distancia determinada por el ensayo.

### **5.3.2 Disposición de la jeringuilla**

En este proyecto se ha empleado una única jeringuilla con la solución, en posición horizontal. Ha de asegurarse que la aguja que se coloca sobre ella se encuentra perpendicular a la chapa que hace de colector, y que a la hora de conectar el polo positivo de la tensión no se hace sobre el extremo de la aguja, ya que puede flectar y dañarse.

### **5.3.3 Distancia aguja-colector:**

La cabina ha de tener espacio suficiente para poder efectuar ensayos en un rango de distancias entre 10-30cm para el jet. Además cabe señalar que ha de tener espacio para el resto de elementos o posibles ampliaciones futuras. La separación entre la aguja y el colector ha de ser por encima de 10 cm para asegurar la evaporación del disolvente.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 5.3.4 Materiales de la cámara

Para una óptima obtención de las muestras, la cabina de electrohilado ha de ser robusta y estanca. Asimismo, también ha de resistir los gases de evaporación de los solventes.

### Frontales

A escoger entre los diferentes tipos de frontales para la cabina se precisa que sean de un material rígido y no poroso. A continuación se indican las distintas opciones que se han valorado y la solución adoptada:

El **poliestireno** y el **policloruro de vinilo (PVC)** son resinas sintéticas usualmente empleadas como aislantes térmicos y eléctricos, además de que se pueden encontrar usualmente en forma de chapa. La problemática de este tipo de plásticos es su baja resistencia a los gases de las disoluciones que se van a realizar.

El **polietileno** y el **polipropileno** son fibras sintéticas opacas. El polietileno es uno de los plásticos más comunes debido a su facilidad de producción y su precio (muy económico). Ambos materiales tienen una gran resistencia contra diversos solventes químicos, haciéndolos aptos para la aplicación del proyecto.

El **metacrilato** es uno de los plásticos más empleados debido a su resistencia a la intemperie, resistencia al rayado y transparencia. Debido a esta última característica es la razón por la que se ha decidido emplear este material para las puertas de la cabina.

## 5.3.5 Control de humedad:

No se ha considerado de momento un control de humedad automatizado (Ver Capítulo Pliego de Condiciones y apartado 8.1.1 Control de humedad). Sin embargo sí que se ha incorporado una toma de aire comprimido sintético seco, con tal de que al añadir un flujo constante de aire con una presión de hasta 8bar para mantener la humedad relativa estable. El aire comprimido es aportado desde un compresor situado en el CBIT.

## 5.3.6 Control de temperatura:

Entre las opciones de control de temperatura se han estudiado distintos métodos para estabilizar la temperatura de la cabina (Ver apartado 8.1.2 Control de temperatura PID). Calefactar la cabina mediante resistencias interiores dispuestas por la cámara es

## **TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

una opción sencilla pero costosa, además que la refrigeración forzada posterior sería necesaria ante la posibilidad de que se calienten los perfiles de aluminio demasiado. Sin embargo, termostatazando el flujo de aire comprimido de entrada sería una mejor opción, además añadiendo un sensor de temperatura a la salida y en el interior de la cabina podría realizarse un control PID, el método de control y automatización por excelencia en la ingeniería.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 5.4 Procesado del PVDF

### 5.4.1 Disolvente

En previos estudios se han empleado diversos disolventes para la producción de micropartículas de PVDF. Entre ellos destacan dimetilsulfóxido (DMSO), diclorometano ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ) y dimetilformamida (DMF). (Haining, Chen, Wong, Hague, & Li, 2012), (Gonçalves, y otros, 2015).

Se ha escogido dimetilformamida debido a que con este solvente se han obtenido microesferas de PVDF en fase electroactiva  $\beta$  (requisito requerido en la aplicación), produciéndolas mediante Electrospray. (Correia, y otros, 2014)

### 5.4.2 Diseño experimental

En este apartado se definirán los parámetros elegidos para las pruebas iniciales. Tal y como se ha hecho constancia a lo largo presente TFM, la fabricación de microesferas es extremadamente susceptible a cambios asociados a las condiciones ambientales. Con tal de obtener un estudio lo más riguroso posible, se han realizado los ensayos siguiendo dos criterios:

- Partiendo de parámetros iniciales, variación de un factor por ensayo.
- Método Taguchi.

Para ambos casos se realizará la caracterización de las muestras, analizando el diámetro medio y el grado de dispersión de las microesferas. Para ello se ha empleado el microscopio óptico y el microscopio de barrido de electrones (FESEM), siendo éste último el que ha resultado ser realmente eficaz para el estudio de microesferas tan pequeñas.

Las condiciones iniciales de estos ensayos son:

- Tensión: 20kV
- Distancia: 20cm
- Flujo: 2mL/h

Teniendo ésto en cuenta, se variarán los factores en base a tres niveles:

- Tensión: 18, 20 y 23kV
- Distancia: 15, 20 y 25cm
- Flujo: 1, 2 y 3mL

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 5.4.3 Parámetros y niveles en el diseño de Taguchi

El número de parámetros que influyen en el ensayo es importante y dependiendo del tipo de experimento se emplea una matriz con unas dimensiones determinadas. Para reducir el número de experimentos, el método estadístico de Taguchi escogido es el de L18, con el cual se puede seleccionar hasta cinco parámetros (factores) los cuales pueden tener tres valores diferentes (niveles). Los parámetros escogidos son:

- Tensión: 18, 20, 23 kV
- Distancia: 15, 20 y 25 cm
- Concentración del polímero: 5, 7, 8% PVDF
- Flujo: 1, 2, 3 mL/h

Mediante matemáticas básicas se puede comprender que con este número de parámetros se podrían obtener hasta  $3^5=243$  combinaciones diferentes. Sin embargo el método Taguchi justifica que se puede obtener la combinación idónea con únicamente 18 experimentos.

Por este método se obtendrán las condiciones idóneas para la producción de microesferas, revelando los parámetros que más influyen sobre el proceso.

Nº	Factor A	Factor B	Factor C	Factor D	Resultado1	Resultado2
1	N1	N1	N1	N3		
2	N1	N2	N2	N1		
3	N1	N3	N3	N2		
4	N2	N1	N1	N1		
5	N2	N2	N2	N2		
6	N2	N3	N3	N3		
7	N3	N1	N2	N3		
8	N3	N2	N3	N1		
9	N3	N3	N1	N2		
10	N1	N1	N3	N2		
11	N1	N2	N1	N3		
12	N1	N3	N2	N1		
13	N2	N1	N2	N2		
14	N2	N2	N3	N3		
15	N2	N3	N1	N1		
16	N3	N1	N3	N1		
17	N3	N2	N1	N2		
18	N3	N3	N2	N3		

Tabla 2 - Tabla modelo L18 de Taguchi

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Por cada ensayo se analizará el diámetro medio y la desviación típica, anotando los resultados en las columnas de la derecha (Resultado 1 y Resultado 2). La expresión que se va utilizar es la indicada a continuación:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$
$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

Siendo  $x$  el diámetro de las microesferas,  $\bar{x}$  el diámetro medio obtenido por ensayo,  $n$  el número de partículas y  $\sigma$  la desviación típica.

Una vez finalizado, ha de calcularse el rango de cada factor a sus distintos niveles. Analizando los valores se obtiene qué parámetro tiene más importancia y, por lo tanto, qué factores son los que más influyen en el diámetro de las microesferas. En el apartado 0 7.3.3 Resultados de los ensayos por el diseño de Taguchi se verá en detalle el análisis de los resultados obtenidos.

## 5.4.4 Bases teóricas para la preparación de las soluciones

Las disoluciones preparadas tienen una concentración del 5,7 y 8% de PVDF. Asimismo, se le ha añadido un 10% de nanopartículas de ferrita de hierro respecto al porcentaje del polímero. A continuación se indica la cantidad de PVDF y ferrita de hierro necesaria para la preparación de la solución utilizando 25mL de dimetilformamida como solvente:

$$\text{Caso 1: } 25\text{ml} \cdot \frac{5}{100} = 1.25\text{g PVDF} \rightarrow 1.25 \cdot \frac{10}{100} = 0.125\text{g ferrita de hierro}$$

$$\text{Caso 2: } 25\text{ml} \cdot \frac{7}{100} = 1.75\text{g PVDF} \rightarrow 1.75 \cdot \frac{10}{100} = 0.175\text{g ferrita de hierro}$$

$$\text{Caso 3: } 25\text{ml} \cdot \frac{8}{100} = 2\text{g PVDF} \rightarrow 2 \cdot \frac{10}{100} = 0.200\text{g ferrita de hierro}$$

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 5.5 Justificación de la solución adoptada

Varias de las ventajas de la elección del electrospray como técnica es su versatilidad, alta reproducibilidad y bajo coste. Añadiendo que solo mediante este método es posible obtener las microesferas con las características deseadas en cuanto a dimensiones y fase cristalina  $\beta$ .

Se ha elegido como soporte celular un entorno tridimensional en forma de micropartículas que permitirán al final del cultivo separar con facilidad células y material. Las microesferas contienen las nanopartículas de ferrita porque de esta forma, al aplicar un campo magnético desde el exterior se puede inducir su movimiento. Ésto se efectúa al aplicar un campo de tensiones mecánicas en el entorno de las células o directamente actuando sobre la membrana celular en el punto en el que la célula está adherida a la microesfera. El material elegido, el PVDF, es el polímero con mayor coeficiente piezoeléctrico frente a otros polímeros. Su biocompatibilidad está bien demostrada y se utiliza en soportes comerciales de cultivo celular. (Vincenzini & De Rossi, 2008) (Gonçalves, y otros, 2015) El hecho de ser un material piezoeléctrico permite general un estímulo eléctrico al deformarlo, lo que puede conseguirse mediante la inclusión en el interior de las microesferas de nanopartículas magnetostrictivas, que se deforman ellas mismas por aplicación de un campo magnético.

Se ha fijado un porcentaje del 10% de ferrita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ) frente al polímero. Esto es debido a que a mayor concentración, mayor será su toxicidad, así como su esfericidad será menor. Para impedir la oxidación de la ferrita, así como para facilitar su dispersión en la solución (la ferrita no se disuelve), es necesario una cobertura orgánica. Entre los recubrimientos usualmente empleados se encuentra el ácido oleico (OA), el cual facilita que las nanopartículas no se agreguen.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 6. Diseño de la cabina de electropray

### 6.1 Descripción

La cabina de electropray se ha diseñado para garantizar un ambiente idóneo para una producción reproducible de microesferas. La construcción de la cámara y todos sus elementos viene detallada en el Pliego de Condiciones y los Planos.

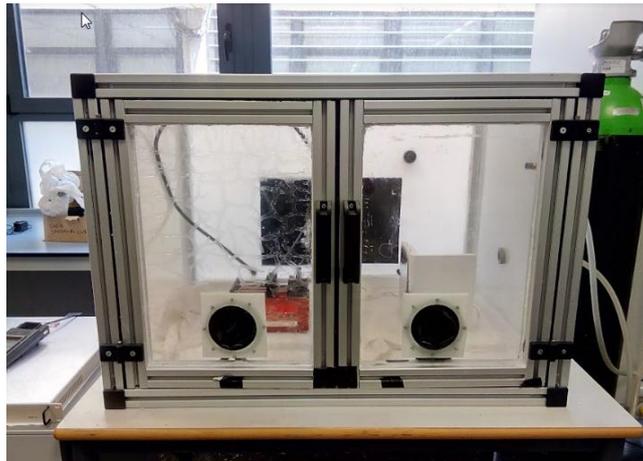


Figura 6 - Cabina de Electropray en funcionamiento

La cabina se ha construido con una estructura de perfiles de aluminio ranurados comercializados por Motedis, y ensamblados con elementos que dispone la propia casa comercial. La sección transversal del perfil y los elementos de ensamblaje pueden verse en el plano nº01 Plano de Montaje. Las paredes son de planchas de polímeros resistentes a los gases que se generan en el interior, concretamente polipropileno.

Dentro de la cámara se disponen los elementos y aparatos necesarios para el proceso de electropray. Concretamente, la bomba de jeringuillas, el colector y el sensor de humedad. La jeringuilla queda en posición horizontal sobre la bomba, mientras que el colector plano se sitúa vertical sobre un soporte que puede desplazarse para variar la distancia hasta la aguja. Esta distancia es uno de los parámetros fundamentales para que el disolvente se evapore formando las microgotas.

La fuente de alimentación es una fuente de tensión continua Glassman que puede generar una diferencia de potencial de hasta 30 kV, sus características técnicas de detallan en el Pliego de Condiciones. Dicha fuente se encuentra fuera de la cabina para su manipulación pero sobretodo como medida de seguridad, ya que dentro de la cabina se pueden generar cargas estáticas que podrían afectar al buen funcionamiento de la fuente de tensión.

El esquema eléctrico se muestra en el Capítulo de Planos y las medidas de seguridad eléctrica tomadas se analizan en el apartado 6.5 Seguridad eléctrica.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

La cámara dispone de una entrada de aire a presión con un manorreductor de hasta 12 bar y una salida de gases por una tubería que da a una bomba de extracción. Ésta es de la marca Vacuubrand y se trata de una bomba de membrana con resistencia química, idónea para este tipo de aplicaciones, ya que su salida se introduce dentro de una cabina de extracción de gases. Estos elementos se describen con más detalle en el apartado 6.2 y en el Pliego de Condiciones. No se ha considerado necesario incorporar el accionamiento de la bomba de jeringuilla y la fuente de alimentación en un único panel de control, ya que ambos elementos tienen sus propios controles y no es necesario colocarlos en un único panel para el adecuado funcionamiento.

No se ha considerado necesario un control automático de la humedad relativa del aire en la cabina porque el aire comprimido entra con una humedad constante, pero se incorpora un higrómetro como comprobación. Gracias a éste es posible la corrección de la presión de entrada de aire, regulándola manualmente mediante el manorreductor.

## 6.2 Elementos

En este apartado se estudia de forma global los elementos que componen cada uno de los módulos de la cabina. Para más información, ver Pliego de Condiciones

Estructura de la cabina	Entrada/Salida de aire y gases
Perfil de aluminio ranurado 45x45 Tipo-B Motedis	Adaptador manorreductor níquel/latón Racor latón níquelado ac macho cónico
Tornillos cabeza martillo R10 Tipo-B M8	R1/4 . R 3
Tuercas cabeza martillo R10 Tipo-B M8	Abrazadera SF 9mm
Tornillos M3	Manguito reducción 1"-3/8" INOX 316L
Tuerca cabeza martillo R10 M3	Machón doble INOX 316L
Tapa perfil 45x45 Tipo-B	Tuerca hexagonal 1" INOX 316L
Conectores rápidos M8	Manómetro Ø40 0-10bar 1/8"
Bisagra de plástico	Reg. Presión mini 1/4" 0-8 bar
Goma EPDM 30x5mm	Válvula corredera todo/nada
Goma EPDM 20x5	Machón 1/4"
Placa polietileno PEHD-300 4mm blanco 200x100	Pasamuro rosca hembra 1/8"
Placa metacrilato 4mm 200x150	Recto tubo Ø10 1/8" cilíndrico
Placa poliestireno 20mm 1x2m	Recto tubo Ø10 1/4" cilíndrico Manguito D32 Tubo poliuretano Ø6.5x10 25m

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Seguridad eléctrica	Elementos para cabina electrospray
Cable de tierra 2.5mm <sup>2</sup>	Higrómetro
Termorretractil	HANNA HI 91610C
Cable apantallado de datos	Resolución 0.1%
Envolvente caja de plástico	Fuente de tensión DC
	Glassman FJ 120 W
	0-30 kV
	0-4 mA
	Bomba programable para jeringuillas
	NE1000 New Era Pump Systems
	12 V DC, 0.75 A
	Bomba de extracción
	Vacuubrand MZ 2C
	Tipo membrana con resistencia química
	230 V 50/60 Hz 1.6 A
	9.0 mbar

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 6.3 Análisis del riesgo de ignición

La descarga electrostática puede resultar foco de ignición en una atmósfera inflamable. Debido a las condiciones intrínsecas de los ensayos se ha de evaluar el riesgo estudiando las concentraciones de la atmósfera inflamable en las condiciones de trabajo.

Mediante medidas correctoras las cargas electrostáticas generadas se pueden neutralizar para evitar daños, antes de que se alcance la generación de la chispa. Una de ellas es evitando espacios que superen la rigidez dieléctrica del medio.

Primeramente se deberá calcular el volumen máximo de disolvente evaporado. Para ello se han de conocer los límites superior (L.S.I.) e inferior (L.I.I.) de inflamabilidad. Éstos se definen como las concentraciones mínimas y máximas de gas en mezcla del aire donde no existe riesgo de llama, estando en contacto con una fuente de ignición. Es decir, el L.I.I. es la concentración mínima del gas en el aire por debajo de la cual el fuego no es posible y el L.S.I. es la concentración máxima de gas en el ambiente por encima de la cual la llama no es posible. Estos parámetros vienen recogidos en las hojas de seguridad de los disolventes empleados (situadas en Anexos Hojas de seguridad de reactivos).

En el caso que nos ocupa se dispone en la cámara de un volumen de  $0.49\text{m}^3$ , tal y como se muestra en el Anexo de Cálculo de Riesgo de Ignición, donde la extracción de gases va a ser constante en el momento de puesta en marcha del equipo. Así pues, únicamente cabe a estudio el límite inferior de inflamabilidad, ya que nunca se alcanzará el superior. Para el estudio exacto de cada ensayo es necesaria la consulta de la ficha técnica de cada disolvente a emplear

Siendo conocedores de estos datos, se calcula el volumen máximo de disolvente evaporado que se puede obtener sin riesgo de incendio. Basta con multiplicar el límite inferior por las dimensiones de la cabina de electropray:

$$V_{\text{límite}} = V_{\text{cabina}} \cdot L.I.I.$$

En los anexos se obtiene que el volumen máximo de disolvente evaporado ha de ser 10.78L para que no exista riesgo de ignición. Por lo que se puede concluir que es imposible que se llegue a este extremo, debido a que el volumen máximo de las jeringuillas empleadas ha de ser de 5mL (leer 6.6 Procedimiento para el uso de la cabina de electropray), por lo que nunca habrá tanto disolvente en forma de gas.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Sin embargo a continuación, para calcular la peligrosidad de los ensayos, se ha de estudiar el tiempo que tardaría en llegar al punto de inflamación de tratarse de un jet continuo sin especificación de volumen máxima debido a la jeringuilla. Ésto se realiza mediante la relación entre el volumen límite y el volumen de solvente evaporado durante los ensayos de electrospray.

$$\frac{V_{\text{límite}}}{V_{s.e.}}$$

Para el cálculo del volumen evaporado se emplea la fórmula general de los gases ideales. Donde P es la presión, en nuestro caso considerada ambiente (1 atmósfera); V es el volumen, el solvente evaporado a calcular; n es el número de moles; R es la constante universal de los gases ideales (0.082 atm·L/mol·K); T es la temperatura del gas, suponiendo una máxima de 35°C.

$$P \cdot V = n \cdot R \cdot T$$

Calculando el número de moles y aplicando la fórmula se obtiene el tiempo máximo de electrospray. Consultando la ficha técnica de seguridad para el peso molecular ( $M_{\text{solvente}}$ ) y la densidad ( $\rho_{\text{solvente}}$ )

$$n_{\text{solvente}} = \frac{\text{masa}_{\text{solvente}}}{M_{\text{solvente}}} = \frac{V_{\text{solvente}} \cdot \rho_{\text{solvente}}}{M_{\text{solvente}}}$$

El solvente evaporado se puede despejar de la ecuación, sabiendo la cantidad de solución que se inyecta en la jeringuilla:

$$V_{\text{solución}} = V_{\text{solvente}} + V_{\text{polímero}} + V_{\text{partículas}}$$

$$V_{\text{polímero}} = \frac{\text{masa}_{\text{polímero}}}{\rho_{\text{polímero}}}$$

En los cálculos se obtiene un total de 11363 horas hasta que se alcanza el límite de ignición. Por lo que se puede asegurar que la cabina cumple para riesgo de incendio con el disolvente empleado.

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## **6.4 Materiales utilizados en cada elemento**

Se ha empleado polipropileno para las paredes de la estructura, ya que se trata de un material resistente a los vapores de los gases que se van a tratar. Las puertas son de metacrilato para una buena visualización del interior de la cámara. El interior de la cabina se encuentra aislado con planchas de poliestireno. Todos los elementos metálicos de la entrada y salida de aire y gases son de acero inoxidable.

## **6.5 Seguridad eléctrica**

La tecnología aplicada al estudio en el laboratorio ha supuesto una mejora debido a las etapas de seguridad dispuestas para el usuario y el propio equipo. Dichos sistemas de instrumentación y aislamiento se encuentran normalizados, con tal de minimizar los riesgos eléctricos de fuga y otros problemas que puedan suponer peligro para el entorno. Así pues, la seguridad de la máquina ha de ser de completa fiabilidad y ha de presentar unos requisitos fundamentales para la realización de los ensayos, sin que resulte problemas para el usuario. Sin embargo, para que todo esto funcione correctamente se ha de tener especial cuidado en el uso de los equipos. A pesar de que éstos se encuentren en perfectas condiciones, en ocasiones se producen daños debido a su uso inadecuado. Las precauciones han de ser extremas y no se debe permitir el empleo de estas técnicas a personal ajeno a la normativa de uso. En este capítulo se van a destacar los efectos perjudiciales de la corriente eléctrica en los equipos biomédicos, con tal de explicar posteriormente la solución que se adopta.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## Efectos fisiológicos

Para que se produzcan efectos perjudiciales sobre el usuario la causa es que ha habido una derivación de la corriente eléctrica, esto normalmente es debido a que se ha producido una conexión por dos puntos entre el organismo y una fuente de tensión. El ejemplo que se tratará posteriormente es el de fuga de corriente con polaridad inversa y tierra y neutro abierto. El daño dependerá de la magnitud de la corriente, es decir, la diferencia de potencial entre ambas conexiones. Debido a la baja resistencia eléctrica del cuerpo humano, se ha de tener especial cuidado ya que el usuario puede resultar dañado de forma grave. Las características que definen el grado de severidad son: intensidad de la corriente, tiempo de exposición, frecuencia y tipo de superficie afectada.

Posibles **tipos de fuga**:

- Corriente de fuga de usuario: corriente que circula a tierra, usando como conductor el organismo.
- Corriente de fuga a tierra: corriente que se libera de la red y que circula por la etapa de aislamiento, llegando al punto de tierra.
- Corriente de fuga de la envolvente: corriente que se desplaza desde la envolvente o carcasa a tierra.

Efectos de la corriente sobre el cuerpo humano			
Intensidad de CA 50Hz (mA)	Intensidad de CC (mA)	Efectos	Consecuencias
0-2	0-5	-Ninguna sensación	-Umbral de percepción
2-10	5-75	-Cosquilleo	-Movimientos inesperados
10-25	75-90	-Entumecimiento -Calambres musculares -Presión sanguínea aumentada	-No poder soltarse -Respiración paralizada -Pérdida del conocimiento eventual
25-80	90-200	-Convulsiones estomacales -Calambres fuertes -Fibrilación ventricular al cabo de un tiempo	-Náuseas -Fractura de huesos por contracciones -Falta de oxígeno transcurridos 4 min y muerte de células cerebrales. -Fallo circulación sanguínea
80-1000	200-1300	-Fibrilación ventricular a los 0,1s	-Paro cardíaco y muerte
>1000	>1300	-Quemaduras graves, paro cardíaco	-Muerte por quemaduras al cabo de días o semanas

Tabla 3 - Efectos de la corriente eléctrica sobre el organismo

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## Solución adoptada

Con el objetivo de evitar una fuga de corriente, se ha dispuesto un conector de puesta a tierra en la envolvente del bastidor. La conexión del equipo a la toma de tierra se realizará mediante el conductor de protección PE de la propia instalación del laboratorio. Además, dado que el proceso está sometido a grandes diferencias de potencial (hasta 30kV) se conectará la carcasa de la bomba de jeringuillas al conector de puesta a tierra situado en el bastidor de la cabina con objeto de evitar accidentes por la carga estática que pueda adquirir durante el ensayo. Asimismo, se ha apantallado el cable de conexión de la bomba a la red eléctrica.

## Protección eléctrica, aislamientos

La continuación de la parte eléctrica del proyecto es la implementación de un sistema de protección para línea de Baja Tensión. El plano eléctrico puede encontrarse en el apartado Planos. Así como los cálculos para la realización del esquema eléctrico se encuentran en Anexos Cálculos del esquema eléctrico. Se ha implementado un magnetotérmico para la protección de 2x2A, ya que como se muestra en los cálculos la intensidad de corriente nominal es 1.6A. Existen magnetotérmicos especiales de 2A pero son más caros que los de 6A y 10A. Como solución alternativa se propone la implementación de un fusible de 2A, ya que considerada la intensidad requerida, las prestaciones y el precio, cumpliría para la protección del circuito. En el plano se muestra una seta de emergencia que realiza el corte de la corriente de alimentación que se suministra a todos los elementos. Se situará en la parte posterior de lateral de la cabina, al alcance del individuo en caso de emergencia. Las secciones de los conductores de fase, neutro y protección serán de 1.5 mm<sup>2</sup>, adecuados para los valores de corriente de los dispositivos eléctricos situados en el interior de la cabina. Los conductores de conexión de las carcasas a al conector de puesta tierra (situado en el bastidor de la cabina) serán también de 1.5 mm<sup>2</sup>.

La conexión eléctrica de la aguja no es fija debido a que ésta deberá conectarse y desconectarse para cambiar la aguja o quitarla para eliminar la posible obstrucción. Es por eso que justifica el uso de cables con conexión pinza cocodrilo.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 6.6 Procedimiento para el uso de la cabina de electrospray

### Condiciones iniciales Electrospray:

Campo eléctrico: 20kV

Flujo: 2mL/h

Distancia: 20 cm

1. Lo primero que se ha de comprobar es que el cable de alimentación de la cabina se encuentra conectado a la red eléctrica. El cable está situado en la parte posterior de la cabina. El cable de alimentación es un cable tripolar formado por la fase, el neutro y el conductor de protección (garantizando la conexión a tierra de todos los componentes de la cabina).
2. Las partículas son procesadas en disoluciones individuales, con un máximo de 5mL por ensayo, dado que en caso contrario podría formarse grandes aglomerados, dificultando la obtención de las partículas. Después de cargar la disolución, colocamos la aguja, comprobando previamente que no se encuentra obstruida. Se coloca la jeringuilla sobre la bomba. Para estos ensayos se han empleado agujas de 0.25mm de diámetro.
3. El colector, que es una plancha de cobre (178x138mm), ha de estar cubierto de papel de aluminio, procurando que la superficie resulte lo menos rugosa posible. Una vez hecho esto, se fija sobre el soporte, perpendicular a la dirección de la aguja y comprobando que dista de ella la distancia establecida en las condiciones del ensayo.
4. Se ha de prestar atención a los conectores tipo pinza cocodrilo de la fuente de alimentación. Ésta va a funcionar a tensiones elevadas por norma general, por lo que se aconseja precaución. El polo positivo (rojo) de la fuente ha de conectarse a la punta de la aguja, mientras que los dos cocodrilos del polo negativo (negro) y la referencia a tierra (verde y amarillo) han de estar conectados al cátodo forrado de aluminio.

### **ADVERTENCIA**

La alimentación debe estar desconectada hasta que se han puesto todas las conexiones.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

5. Conexión y configuración de la bomba según los parámetros. Para asegurarse de que la jeringuilla se ha llenado por completo, se puede aumentar el caudal de la bomba hasta que se aprecie una gota en el extremo. Detener la bomba, limpiar la aguja y restablecer la configuración inicial. Únicamente ha de configurarse, no ponerla en marcha.

## EJEMPLO PARÁMETROS DE LA BOMBA

**Rate:** 2mL

**Volume:** Off → Para que salga toda la disolución de la jeringuilla

**Diameter:** 12.3 → Diámetro interno en cm de la jeringuilla

Leds encendidos

- $\mu\text{L}$
- Dispensed
- Pumping

Leds apagados

- Withdraw (aspiración)



6. Se han de comprobar las conexiones y dejar la bomba configurada previamente a cerrar las puertas. De esta forma una vez regulada la humedad (Pasos 7 y 8), el accionamiento de la bomba puede hacerse con la cámara cerrada mediante los guantes atornillados. Cerrar la puerta de la cabina.
7. Previamente a poner el equipo en marcha, es conveniente visualizar la humedad relativa en el higrómetro. Para ello, basta con pulsar el botón RANGE dos veces hasta que aparece por pantalla el valor. Es recomendable que la humedad no supere el 40% dado que en caso contrario la evaporación del solvente no se realizará en su totalidad.
8. Para estabilizar la humedad relativa se ha dispuesto una toma de aire comprimido gobernada por un manorreductor. Abriendo el caudal conseguimos estabilizar la humedad con un flujo de aire seco. Mantener a una presión media primeramente, y una vez alcanzado el nivel de humedad deseado puede bajarse la presión y dejar que el aire entre constante a la cabina. Dejando circular el aire comprimido un tiempo suficiente consigue arrastrar el aire del interior de la cámara, estabilizando la humedad.
9. Encender la bomba de vacío para que los gases del disolvente sean expulsados de la cabina, sin abrir las puertas.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

10. Poner en marcha la bomba de jeringuilla con los guantes.
11. Fijar la tensión especificada en la fuente de alimentación y conectarla.
12. Una vez formada una capa de microesferas sobre el colector se puede proceder de dos modos:
  - a. Recoger las microesferas, de la hoja de aluminio con etanol y la ayuda de una espátula. Se recoge la muestra haciendo presión y raspando sobre el aluminio. Se aconseja que las partículas se depositen en un Eppendorf con un poco de etanol y colocarlas en un baño de ultrasonidos para que evitar que se agreguen, durante un tiempo estimado de 1 hora. De esta forma, las microesferas se encontrarán separadas e individuales. Después, sacar el Eppendorf del baño de ultrasonidos y dejar evaporar el etanol por completo.
  - b. Sin embargo para la caracterización de la morfología y estudiar la superficie es preferible mantenerlas adheridas sobre el papel de aluminio del colector. Con un tiempo aproximado de 15 minutos de electro spray ya es posible el estudio de microscopía sobre las esferas depositadas en el papel de aluminio.

## NOTAS

- Es posible que la aguja se obstruya, siendo necesario la comprobación cada ciertos intervalos de tiempo. En ese caso, detener la fuente en primer lugar y después limpiar la aguja. Se puede emplear un poco del mismo disolvente que se está utilizando en el electro spray en una jeringuilla limpia, cargarla y vaciarla hasta que ya no esté obstruida la aguja. Si fuese necesario, emplear un hilo de cobre para liberar la obstrucción.
- Asegurarse de que está accionada la extracción de la cabina de gases don de se inserta el conducto de salida de la cabina de electro spray durante todo el ensayo y mantenerla al menos 50 minutos al terminar el ensayo, ya que los vapores formados son en muchos casos tóxicos, en particular es así en el caso de la DMF.
- Para evitar derivaciones, se ha conectado a tierra tanto la cabina como la bomba y el colector (utilizando el conductor de protección PE). El cable del adaptador de la bomba se ha apantallado también para mayor seguridad.

**IMPORTANTE:** La fuente de alimentación ha de ser lo último a encender cuando se vaya a hacer el ensayo, y lo primero a apagar cuando éste haya terminado. En definitiva, **no tocar nada cuando la fuente esté encendida**, apagar antes de manipular.

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## **6.7 Manual**

Para la utilización de la cabina de electropray ha de tenerse en cuenta las consideraciones de uso, por lo que es imprescindible la lectura y consulta del Manual de usuario para su buen funcionamiento.

En él se detallan los pasos a seguir para el buen uso de la cámara con todos sus elementos, así como advertencias de seguridad y un apartado de solución de problemas.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 7. Fabricación y caracterización de microesferas de PVDF con nanopartículas magnéticas

### 7.1 Protocolo para preparar la suspensión de nanopartículas de ferrita de hierro en la disolución de PVDF en DMF

#### MATERIALES

**Solvente:** N, N-Dimetilformamida (DMF) 99%; DI1061 Sigma Aldrich CAS 68-12-2.

**Polímero:** Polifluoruro de vinilideno (PVDF); 1010 granulado Solef Solvay 153kDa.

**Nanopartículas:** Ferrita de hierro ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) 10g; EMG1300 Ferrotec Ferrofluid CAS 1309-38-2.

1. Se disuelve el PVDF en DMF en un agitador magnético. Se han empleado distintas concentraciones de polímero. Las proporciones de estos ensayos se detallan en los cálculos del apartado 0.
2. Dejar en el agitador a temperatura de 60°C hasta que el PVDF se haya disuelto. Aproximadamente 4 horas.
3. Se procede a añadir la ferrita de hierro. Para ello se ha de realizar en una cabina especializada para nanopartículas, se seguirá estrictamente el protocolo para manejo de nanopartículas del Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular. Las nanopartículas de ferrita de hierro dispersas en el aire pueden presentar problemas de translocación (proceso mediante el cual las nanopartículas atraviesan barreras biológicas), además de ser cancerígenas, por lo que se aconseja seguir las siguientes indicaciones, brevemente:
  - a. Recubrimos la superficie de la cabina con papel de filtro y humedecemos la cabina con agua utilizando un spray de mano. De esta forma las nanopartículas que pudieran perderse durante la manipulación quedan atrapadas en las superficies húmedas y se evita que se dispersen en el aire de la cabina.
  - b. Fijar desde fuera los guantes con bridas y darles la vuelta para poder emplearlos dentro de la cavidad.
  - c. Introducir los elementos necesarios para la medición de las nanopartículas y posterior limpieza dentro de la cabina: papel para limpiar, espátula pequeña, spray de manos con agua, bolsa de zip abierta, disolución y ferrita. Medir la cantidad de nanopartículas de ferrita requeridas y posteriormente limpiarlo todo con el spray con agua y papel.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

- d. Una vez acabado el trabajo y antes de abrir la cabina se humedece de nuevo todas las superficies y se limpian con papel. Se introduce todo el papel utilizado en una bolsa zip.
- e. Se abre la cabina, se limpia nuevamente y los desechos han guardarse en una bolsa zip y tirarse a un contenedor con etiqueta de GRUPO 13 (Residuos desconocidos o altamente peligrosos).



Figura 7 - Cabina de nanopartículas del Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular UPV

4. Dejar la disolución en baño de ultrasonidos entre 1 y 3 horas. Las nanopartículas de ferrita no se dispersan bien y acaban posándose al fondo del recipiente, por lo que es aconsejable emplear el baño antes hasta que se deshagan los aglomerados.
5. Se llena la jeringuilla (hasta 5mL) y se procede al electrospray, siguiendo el protocolo descrito en el apartado 6.6 Procedimiento para el uso de la cabina de electro

## **ADVERTENCIA DE USO DE LA FERRITA**

**Evítese el contacto con los ojos y la piel. Evitar la inhalación de vapor o neblina.**

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 7.2 Técnicas de caracterización utilizadas

### 7.2.1 LINKSYS: captación de imagen del microscopio óptico

Mediante el microscopio óptico es posible la visualización de las muestras producidas. Sin embargo, su magnificación no es suficiente como para valorar calidad y cantidad de microesferas más pequeñas de 10 $\mu$ m. Puede emplearse, sin embargo, para conocer cuan aglomeradas se encuentran las partículas y para determinar si es necesario repetir la producción. Se trata del paso previo a la caracterización mediante el microscopio de barrido.

Se ha utilizado un Microscopio Óptico Nikon modelo Eclipse E600, con cámara integrada para la captación de la imagen en el ordenador



Figura 8 - Microscopio Óptico Nikon Model Eclipse E600

### Protocolo microscopio óptico

1. Para la visualización de las muestras mediante el microscopio óptico es necesario extender las microesferas en un portaobjetos. Para ello se coloca muy poca cantidad, procurando esparcir bien la muestra. En el caso de tener las muestras sobre aluminio, basta con obtener un poco, raspando con una espátula y colocándolo sobre el portaobjetos. Si las muestras se encuentran en el Eppendorf ha de comprobarse que el disolvente ya ha sido evaporado en su totalidad.
2. Se enciende la cámara que del microscopio Nikon.
3. Se abre el programa LINKSYS y se presiona sobre Video → ShowWindow. En esta ventana hemos de escoger el enfoque del microscopio. En este caso "10x".

## **TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

4. Con la ruleta de la cámara Nikon se enfoca la parte superior, de la misma forma que la de la base del microscopio es para enfocar la zona de abajo. Se ha de buscar una zona donde las muestras se encuentren aisladas y lo más definidas posible
5. Una vez escogida la zona a hacer la foto, extraemos del lateral derecho del microscopio el vástago "BINOPHOTO". Ésto lleva la imagen al ordenador.
6. Se presiona sobre el icono de foto y colocamos una escala sobre nuestra foto para conocer el orden de magnitud de las microesferas.
7. Se enciende la cámara Nikon.
8. Se abre el programa LINKSYS y se presiona sobre Video → ShowWindow. En esta ventana hemos de escoger el enfoque del microscopio. En este caso "10x".
9. Con la ruleta de la cámara Nikon se enfoca la parte superior, de la misma forma que la de la base del microscopio es para enfocar la zona de abajo. Se ha de buscar una zona donde las muestras se encuentren aisladas y lo más definidas posible
10. Una vez escogida la zona a hacer la foto, extraemos del lateral derecho del microscopio el vástago "BINOPHOTO". Ésto lleva la imagen al ordenador.
11. Se presiona sobre el icono de foto y colocamos una escala sobre nuestra foto para conocer el orden de magnitud de las microesferas.

### **7.2.2 Microscopía FESEM**

Para el análisis cualitativo y cuantitativo de la cantidad y grado de dispersión de las microesferas es necesario una visualización completa y detallada de las muestras. Dado que el microscopio óptico únicamente es de utilidad para el primer filtro debido a su escaso detalle, es necesario el empleo de un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo (FESEM), con el que es posible obtener grados de magnificación y resolución mucho mayores.

Su funcionamiento radica en un haz de electrones que barre la superficie de la muestra y en unos detectores que visualizan en un monitor la información que se desea. El FESEM consta de un sistema de generación de electrones mediante un cañón de emisión de campo de electrones de alta y baja energía muy focalizado, permitiendo trabajar a bajo potencial (0.02 - 5 kV) y con una resolución espacial óptima. La ventaja de ésto es la disminución de carga en muestras no conductoras.

Para la obtención de un rendimiento óptimo los detectores empleados se encuentran dentro de la lente (in Lens), a diferencia de otros sistemas de microscopía como el SEM.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

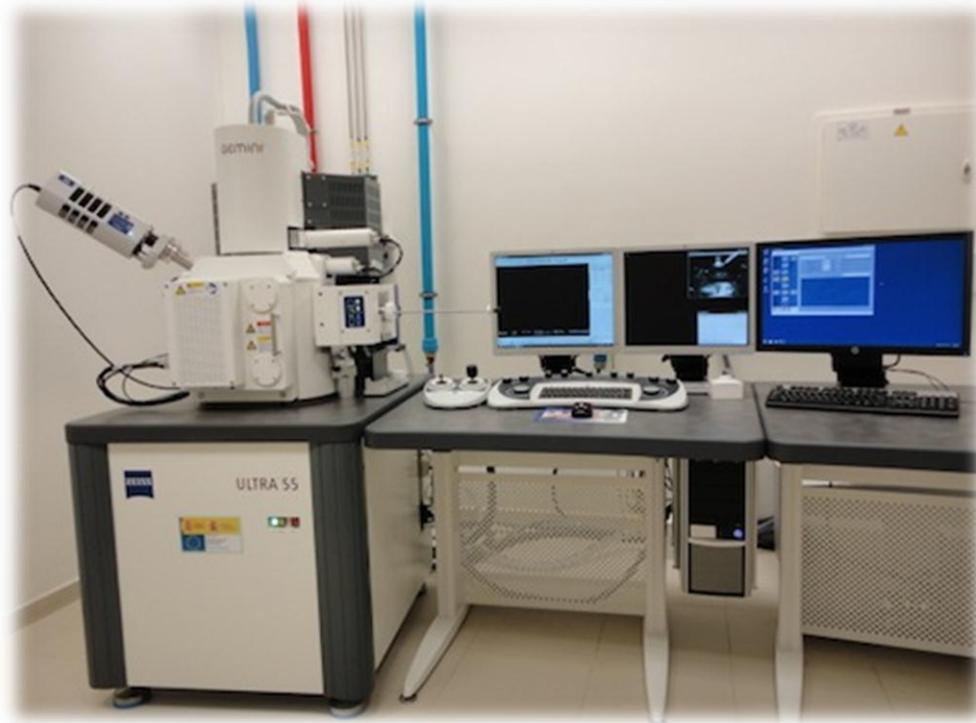


Figura 9 Microscopio electrónico de barrido FESEM

## Tipos de detectores

**Detector de electrones secundarios SE2 :** se trata de la imagen SEM (scanning electron microscopy) típica de la topografía de la superficie de la muestra con una gran profundidad de campo. Es el más adecuado para navegar por la muestra para encontrar puntos de interés ya que es el que se emplea con potenciales de aceleración altos para resoluciones medias.

**Detector de electrones secundarios *in lens*:** este detector ofrece las imágenes de mayor resolución. Las características superficiales de la muestra son visualizadas de forma contrastada, siendo especialmente adecuado para la caracterización superficial de cualquier material. Funciona a bajos potenciales de aceleración, del orden de < 5 kV, siendo recomendable para muestras sensibles al haz electrónico y para minimizar el efecto de carga.

**Detector de electrones retrodispersados AsB:** esta lente es sensible al número atómico de los elementos de la muestra, por lo que se emplea para analizar la composición química del espécimen. Además cuenta de cuadrantes que permiten seleccionar entre distintos tipos de imagen con contraste. Esta lente funciona a mayores voltajes que el detector EsB.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

**Detector de electrones retrodispersados *in lens* EsB:** proporciona más contraste en profundidad Z que ningún otro detector de retrodispersados. Al igual que el detector de *in lens* secundario, trabaja a muy bajo voltaje, siendo idóneo para muestras sensibles. Este filtro ilumina los elementos con moléculas de material pesado, pudiendo emplearse como un método de análisis elemental simplificado.

**Detector de energía dispersiva de Rayos X, EDS:** la técnica empleada por este detector es conocida como Microanálisis por EDS. La lente recibe los Rayos X de las áreas de superficie que recorre el haz de electrones. Dado que la energía dispersada es característica de cada elemento químico, proporciona información analítica cualitativa y cuantitativa de los puntos seleccionados de la muestra en la superficie de la muestra.

## Características técnicas del equipo

ZEISS ULTRA 55	
<b>Resolución</b>	1.0 nm @ 15kV 1.7 nm @ 1kV 4.0 nm @ 0.1kV
<b>Aumento</b>	12-900.000x con modo SE 100-900.000x con detector EsB
<b>Potencial de aceleración</b>	0.1 – 30kV
<b>Emisor</b>	Tipo de emisión de campo térmico Estabilidad > 0.2%/h
<b>Corriente de sonda</b>	Configuración 1: 4pA – 20nA Configuración 2: 12pA – 100nA
<b>Detectores</b>	Detector EsB detector con red de filtro (0 – 1500V), Alta eficacia con el detector <i>in lens</i> SE, Cabina Everhart-Thornley, Detector AsB
<b>Cabina</b>	330mm (∅) x 270mm (h), 3 puertos EDS 35° TOA, Cámara CCD con iluminación infrarrojos
<b>Ejes</b>	5 ejes excéntricos motorizados X = 130mm, Y = 130mm, Z = 50mm, T = -3 a 70°, R = 360° (continuo)
<b>Procesamiento de imagen</b>	Resolución hasta 3072x2304pixel, Reducción de ruido por siete modos de integración y promedio

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## Protocolo manejo FESEM: Preparación de muestras

### Materiales:

- Portamuestras de aluminio (chapas)
- Porta-aluminios
- Cinta de carbono
- Portamuestras de carbono (chapas)
- Tijeras
- Espátula
- Puente de carbono (Colloidal graphite)
- Muestras

### Procedimiento:

1. Se coloca la cinta adhesiva de doble cara sobre cada chapa. En caso de querer visualizar las imágenes las chapas han de ser de aluminio; en caso de querer realizar un análisis elemental han de ser de carbono. Se numeran con rotulador permanente tanto en la parte superior como en la inferior.
2. Se añaden las microesferas secas, adhiriéndolas a la cinta. Hay que procurar colocar **muy poca cantidad y extenderla bien**, ya que un exceso producirá aglomeraciones y no se apreciará bien el estudio.
3. Con una pistola de aire comprimido se eliminan los excesos que no hayan quedado adheridos a la muestra. No conviene soplar dado que hay riesgo de contaminación por saliva.
4. Para mejorar la conductividad, se ha de hacer un puente de carbono. Para ello con la ayuda de un palillo se extiende una fina línea de una solución con carbono entre la cinta de la muestra y la chapa de aluminio del soporte.
5. El recubrimiento de las muestras depende del estudio que se vaya a realizar
  - Topografía: Platino estándar durante 15 segundos
  - Análisis elemental: CarbonoEn el caso que nos ocupa, es posible observar las microesferas sin recubrimiento, y de esta forma apreciar las nanopartículas sobre la superficie.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

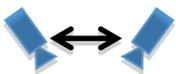
## Protocolo de fotografía

1. Se colocan las chapas en orden y se atornillan para fijarlas. Cabe destacar que el orden es importante, ya que en el software se numerarán según la figura adjunta:



Figura 10 Orden de muestras para microscopía FESEM

2. Han de establecerse las condiciones para el barrido. Para una buena visualización de las microesferas las **condiciones** son **1.5kV y distancia de 3 a 4mm**.
3. Una vez el equipo ha sido calibrado se hace click derecho en Save as → “usuarios\_fesem\_fecha”.
4. Se nombra la muestra, indicando el número por el que van a empezar las fotos. Filename: muestra1 – Next01
5. El proceso para hacer la captura de imágenes es repetitivo, y se emplean los siguientes botones en bucle:
  - Botón (2) : Pasar de muestra
  - Botón (4) : Captura de foto.
  - Botón (5) : Freeze, esta opción ha finalizado cuando la barra que recorre la imagen cambia de color naranja a azul.
  - Save TIFF/ Export Dialog : Para guardar. Se ha empleado una resolución de 1024x768 píxels, ya que se obtiene una calidad de imagen óptima y el procesado de la fotografía no es tan lento como a máxima resolución.



Botón de cambio de lente. Para el caso que nos ocupa, basta con emplear dos tipos de lentes del equipo. El detector “SE2” se utiliza para las fotografías normales, mientras que la lente “In-lens” es especialmente útil para el conteo de microesferas, ya que contrasta la imagen y resalta los volúmenes. Para esta lente es necesario subir el brillo de la imagen.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Para recorrer la muestra se emplea el joystick derecho colocado al lado del teclado. Importante no tocar el izquierdo, ya que es el que gobierna el eje Z y podría colisionar con las muestras, estropeando la lente. Para aumentar la imagen, haciendo efecto zoom se emplea la ruleta de la izquierda, mientras que para enfocar se hace con la derecha.

Para visualizar las microesferas con una resolución óptima, conviene acercarse a la imagen lo máximo posible y enfocar cualquier punto o arruga. De esta forma al alejarse de la imagen, el resto de elementos más grandes que éste se observarán con sumo detalle.

Han de utilizarse para cada muestra siempre los mismos aumentos, solo así podrán evaluarse de forma objetiva las similitudes y diferencias entre ensayos.

**Zooms empleados:** 1000 – 5000 – 10000 – 15000 – 25000

Tanto en el caso de 1000x y 25000x se han empleado para hacer las fotos los dos tipos de lentes.

## Análisis elemental (Aztec)

El análisis elemental es una técnica que proporciona el contenido de compuestos básicos presentes en un espécimen. Para ello se emplean los filtros AsB para altos potenciales y EsB para bajos. A mayor voltaje, mayor será la penetración de los electrones. Previamente al análisis, hay que contabilizar el recubrimiento que se ha efectuado en las muestras, para que no induzca a error.

1. En primer lugar se ha de definir como Coating element Platinum, 5nm (thickness). Esto es para que no interfiera el recubrimiento.
2. Elementos predefinidos → Clear all
3. Scan Image → START
4. Acquire Spectra → Para seleccionar  $1\mu\text{m}^2$  
5. Scan Image → New Site → START Para desplazarse y buscar otro punto de interés.
6. New Specimen → Para pasar a la siguiente muestra.

Para hacer el reporte en un documento de Excel:

- Tools → Preferences → Image + Spectrum.
- Append, para añadir hojas nuevas al excel.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 7.2.3 Microscopía combinada de electrones e iones focalizados de galio

El equipo empleado guarda similitud con el empleado para obtener la topografía de las imágenes (FESEM), con la diferencia de que se compone de a la vez de un cañón oblicuo integrado para el corte de las muestras. El haz de iones de Ga<sup>+</sup> empleados son 130.000 veces más pesados que los electrones, produciendo la rotura de los enlaces químicos y la ionización de las muestras. Dado que el corte es dirigible, se obtienen secciones de nanómetros de precisión. Combinando ambos microscopios se obtiene la ventaja de poder hacer el corte con el FIB y visualizar o tomar fotografía con el SEM.

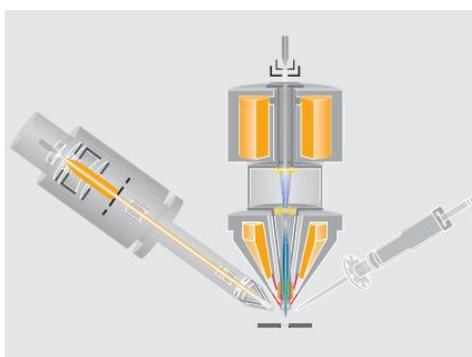


Figura 11 - Dibujo explicativo de las distintas columnas empleadas en el equipo FIB

### Características técnicas del equipo

ZEISS AURIGA		
	SEM	FIB
<b>Resolución</b>	Columna GEMINI	Columna Cobra
	1.0 nm @ 15kV	<2.5nm @ 30kV
	1.7 nm @ 1kV	Columna cañón:
	4.0 nm @ 0.1kV	<7nm@30kV
<b>Aumento</b>	12 x-1000k x	300 x – 500k x
<b>Potencial de aceleración</b>	0.1 – 30kV	<1.0 – 30kV
<b>Emisor</b>	Emisor campo Schottky	(LMIS) Ga líquido, fuente de iones de metal
<b>Corriente de sonda</b>	4pA – 20nA	1pA – 50nA
<b>Detectores</b>	InLens con detector SE	InLens con detector EsB para red de filtro (0 – 1500V),
	Cabina Everhart-Thornley ,	Cabina: BSD multimodo detector DF STEM
<b>Cabina</b>	330mm (∅) x 266mm (h), puertos EDS, 4QBSD	520mm (∅) x 307mm (h), Cámara CCD con iluminación infrarrojos
<b>Ejes</b>	6 ejes excéntricos motorizados	X, Y = 100mm, Z = 50mm, Z'=10mm T = -10 a 60°, R = 360° (continuo)

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

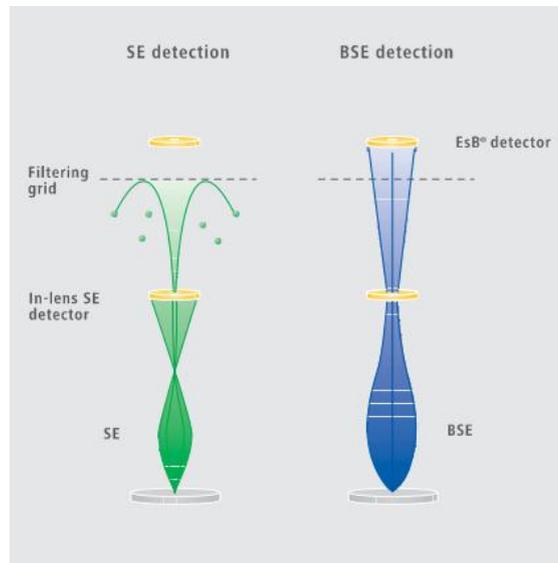


Figura 12 - Tipos de sensores para microscopía

La columna integrada del FIB llamada GEMINI permite mediante el detector EsB obtener la imagen de la composición de la muestra, filtrando la información que no se desea de la superficie. Esto se consigue bloqueando los electrones secundarios mediante la tecnología de filtro de rejilla, obteniendo un mayor contraste de información de los sustratos.

Gracias a la tecnología mixta empleada es posible ajustar el filtro para regular la fuerza del detector EsB y, a su vez, emplear simultáneamente con el otro microscopio la lente InLens para electrones secundarios

Esta técnica es perfecta para adquisición de imágenes con las que es preciso emplear distintas profundidades de la muestra, y por lo tanto se debe calibrar a distintas tensiones.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 7.2.4 Vibrating samples magnetometer VSM

Para el estudio de los materiales ferromagnéticos es imprescindible cuantificar sus propiedades magnéticas. Para ello necesitamos la respuesta imantación-excitación, es decir, la magnetización del material ante un determinado campo magnético para la obtención de la permeabilidad magnética del material.

Ésta se obtiene registrando los valores en cada punto del ciclo mediante la siguiente ecuación:

$$\mu = \frac{M}{H}$$

Donde  $\mu$  es la permeabilidad magnética, M la magnetización o flujo magnético y H la intensidad del campo magnético aplicado.

Para ello, precisaremos de un equipo instrumental específico denominado Vibrating Sample Magnetometer (VSM).

El VSM es un instrumento científico empleado para medir las propiedades magnéticas de los materiales. Fue inventado en 1955 por Simon Foner (Foner, 1959). Funciona midiendo el momento magnético de una muestra cuando ésta es vibrada perpendicularmente respecto a un campo magnético aplicado. Mediante este instrumento es posible captar medidas del orden de  $10^{-5}$  a  $10^{-6}$  emu, alcanzando estabilidad hasta  $10^4$  emu. Con el objetivo de obtener una medida apropiada, este instrumento elimina o minimiza muchas fuentes de error encontradas en otros métodos. Es simple, más económico y versátil, ya que permite obtener los momentos magnéticos de forma precisa en función del campo de magnetización, la temperatura y la orientación cristalográfica.

Su funcionamiento radica en la aplicación de un campo magnético a la muestra. Éste vibra de forma sinusoidal empleando materiales piezoeléctricos. En los inicios estos sistemas se desarrollaron utilizando altavoces modificados, aunque esta técnica se redujo debido a las interferencias del ruido magnético en fase, ya que el flujo magnético a través de la bobina próxima varía senoidalmente.

La tensión inducida en la bobina es proporcional al momento magnético de la muestra, pero no depende del campo magnético aplicado. En una configuración típica la tensión aplicada se mide con un amplificador de bloqueo, utilizando la señal piezoeléctrica como una referencia de frecuencia. Para el estudio del registro completo, es necesario hacer un barrido de campo para obtener la curva de histéresis.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## Modo de funcionamiento

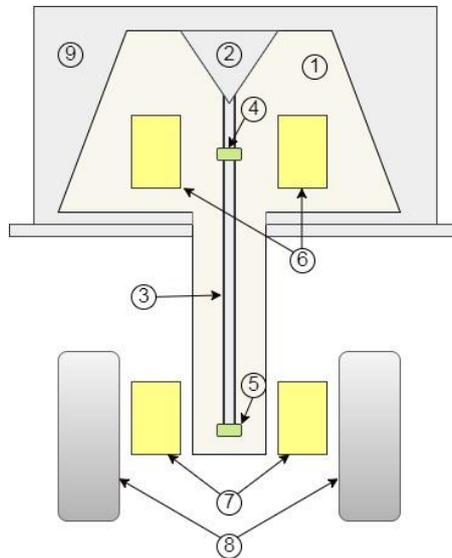


Figura 13 - Esquema de la configuración del VSM

(1) transductor/altavoz, (2) soporte cónico de papel, (3) varilla hueca, (4) muestra de referencia, (5) muestra, (6) bobinas de referencia, (7) bobinas de muestra, (8) imanes, polos, (9) carcasa metálica

La muestra (5) es vibrada perpendicularmente al campo magnético aplicado mediante el conjunto del altavoz (1), el soporte (2) y la varilla (4). La oscilación del campo magnético de la muestra vibrada induce una tensión en las bobinas de detección (7). Midiendo la tensión en este punto es posible deducir las propiedades magnéticas de la muestra. Un segundo voltaje se induce en las bobinas de referencia (6) con la respectiva muestra de referencia (4), la cual suele ser un imán o electroimán. Dado que la muestra y la referencia se encuentran relacionadas y sujetas por el mismo elemento (la varilla), las fases y amplitudes obtenidas están directamente relacionadas. La tensión inducida en las bobinas de referencia respecto la tensión de las bobinas de la muestra es proporcional al momento magnético del material objeto de estudio. (Foner, 1959)

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 7.3 Resultados obtenidos

### 7.3.1 Resultados de los ensayos de electrospray con variación de un solo parámetro de proceso

En el siguiente método de análisis se ha partido de las condiciones iniciales (7%PVDF, 20kV de tensión, 20cm de distancia y 2mL/h de flujo) y se ha cambiado un parámetro, manteniendo el resto constantes. Ejemplificando un caso: para la concentración del 5% de polímero se han comparado los resultados de los ensayos 1, 6 y 7 donde se analiza la influencia del flujo de disolución sobre el tamaño de partícula obtenido, manteniendo constante la concentración, el voltaje de 20kV y, la distancia entre la aguja y colector en 20cm.

Para las condiciones iniciales se ha partido de los resultados obtenidos del artículo "Electrosprayed polyvinylidene fluoride microparticles for tissue engineering applications" (Correia, y otros, 2014), donde se han realizado los mismos ensayos y condiciones, a diferencia de que no se le ha añadido nanopartículas de ferrita.

Los ensayos se han realizado durante un tiempo dependiente del flujo del jet. A 1mL/h la duración ha sido de 30 minutos, 2mL/h a 15 minutos y 3mL/h a 10 minutos. Se ha realizado de esta forma para que se expida la misma cantidad de disolución y se pueda valorar equitativamente la cantidad de microesferas, su diámetro y dispersión.

Se ha controlado la humedad relativa por debajo del 35% en todos los ensayos para obtener unos resultados reproducibles y garantizar la evaporación del solvente en su totalidad.

Las microesferas han sido observadas con el microscopio electrónico de barrido (FESEM) sin retirarlas del colector con el aluminio. Se ha escogido para la caracterización fotografías a 5000x aumentos, midiendo el diámetro de todas las partículas presentes.

Los resultados de diámetro medio, desviación, señal de error y número de muestras se muestran en la Tabla 4 - Resultados de Electrospray variando un parámetro, para cada una de las condiciones de los ensayos:

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

	Nº	Tensión (kV)	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Diametro medio $\bar{x}$ ( $\mu\text{m}$ )	Desviación $\sigma$ ( $\mu\text{m}$ )	SN	Nº muestras
5%PVDF 10% Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	1	20	20	2	1,13	0,46	7,90	124
	2	18	20	2	1,13	0,39	9,10	86
	3	23	20	2	1,09	0,49	6,91	80
	4	20	15	2	1,05	0,37	8,99	90
	5	20	25	2	0,99	0,45	6,83	77
	6	20	20	1	1,05	0,37	8,97	159
	7	20	20	3	0,89	0,41	6,74	72
7%PVDF 10% Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	1	20	20	2	1,29	0,71	5,22	119
	2	18	20	2	1,26	0,61	6,27	70
	3	23	20	2	1,40	0,71	5,88	108
	4	20	15	2	1,30	0,58	7,01	98
	5	20	25	2	1,11	0,64	4,73	89
	6	20	20	1	1,04	0,55	5,64	145
	7	20	20	3	1,21	0,52	7,33	80
8%PVDF 10% Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	1	20	20	2	1,37	0,81	4,54	75
	2	18	20	2	1,27	0,79	4,03	52
	3	23	20	2	1,64	0,77	6,61	68
	4	20	15	2	0,89	0,49	5,25	101
	5	20	25	2	0,91	0,43	6,57	84
	6	20	20	1	0,68	0,28	7,90	158
	7	20	20	3	1,27	0,78	4,23	75

Tabla 4 - Resultados de Electro spray variando un parámetro

Se ha añadido la columna de relación señal / ruido (SN), otra salida que relaciona los diámetros medios y la desviación. La razón señal/ruido se calcula según la característica de la respuesta. En este caso en particular no se busca que adquiera un valor máximo o mínimo, dado que el diámetro ha de ser lo más grande posible para esta aplicación mientras que la desviación será mínima. Esto es debido a que se ha observado que el diámetro medio de las microesferas en diversos ensayos es más pequeño que  $1\mu\text{m}^2$ , por lo que según las especificaciones del proyecto se buscarán diámetros más grandes. Es por eso por lo que la ecuación escogida mostrará un valor nominal, siendo ambos valores de las variables (diámetro y desviación) positivos:

$$SN_j = 10\log\left(\frac{\bar{x}_j^2}{\sigma_j^2}\right)$$

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Se observa que las microesferas con mayor diámetro medio tienen un valor de 1.643 $\mu$ m. Corresponden al ensayo con las condiciones 8%PVDF, 23kV tensión aplicada, 20cm de distancia al colector y 2m/h de flujo. Confirma la premisa de que a mayor porcentaje de polímero en la disolución, mayor es el diámetro de las microesferas obtenidas. (Lanza, Langer, & Vacanti, 2007)

Analizando la desviación estándar se observa que el valor mínimo obtenido entre todos los ensayos es de 0.275 $\mu$ m. Los parámetros de dicho ensayo son 8% de PVDF, 20kV de tensión aplicada, 20cm de distancia y 1mL/h de flujo del jet.

Para ambos casos coincide el porcentaje del polímero y la distancia al colector. Para comparar si la relación de campo eléctrico entre ambos ensayos es similar se prosigue:

$$\text{Campo eléctrico}_{\uparrow\bar{x}} = \frac{\text{Tensión}}{\text{Distancia}} = \frac{23}{20} = 1.15 \text{ kV/cm};$$

$$\text{Campo eléctrico}_{\downarrow\sigma} = \frac{\text{Tensión}}{\text{Distancia}} = \frac{20}{20} = 1 \text{ kV/cm}$$

Siendo la relación similar, por lo que se concluye que los parámetros dados resultan óptimos para la obtención de microesferas de mayor diámetro, con una desviación típica mínima.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## Variación de la concentración

Para el estudio de los resultados obtenidos se ha empleado el microscopio de barrido de electrones FESEM, del centro de Microscopía de la Universidad Politécnica de Valencia. El siguiente conjunto de figuras muestra las fotografías de los ensayos cambiando un parámetro y manteniendo el resto constantes.

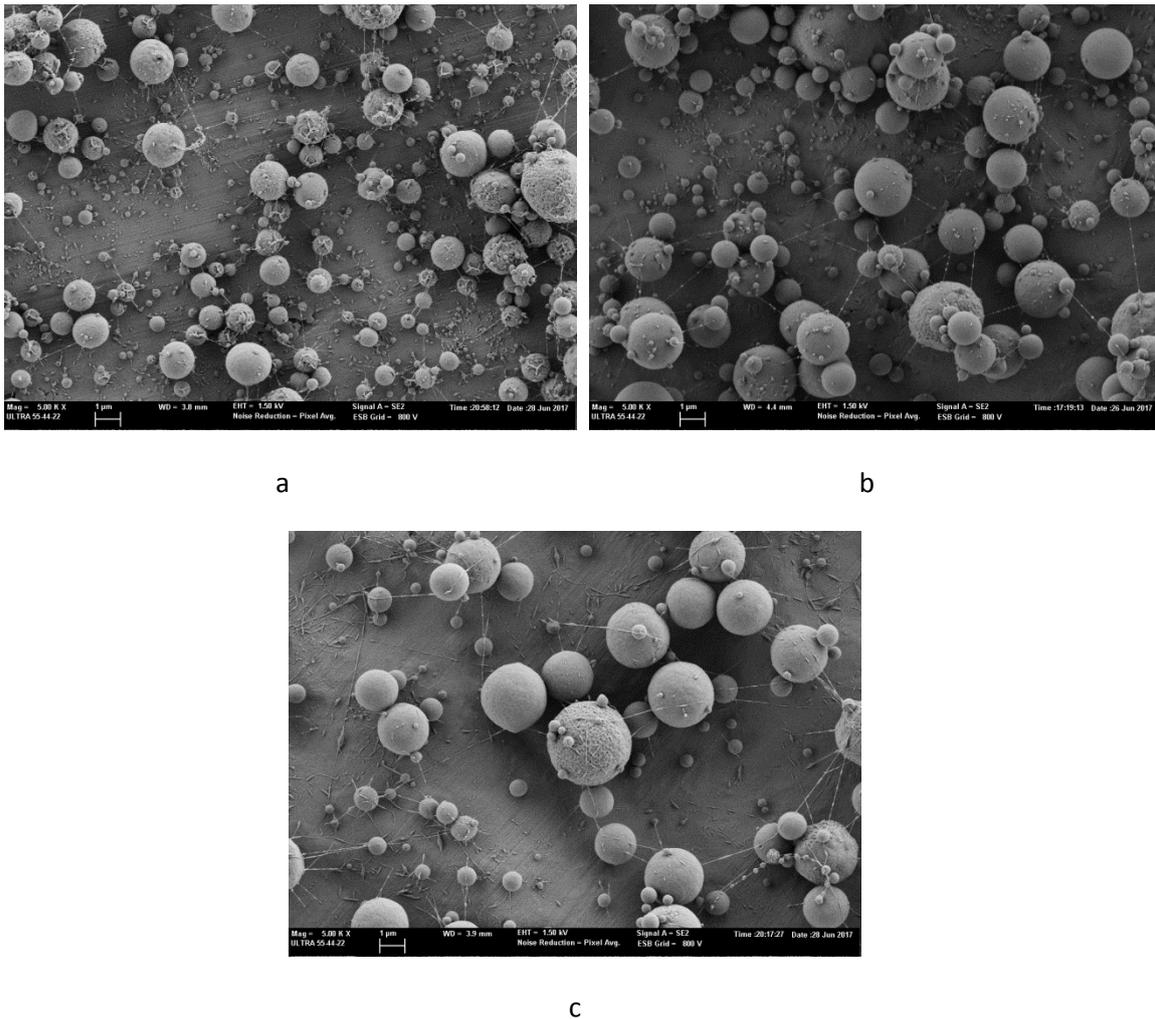


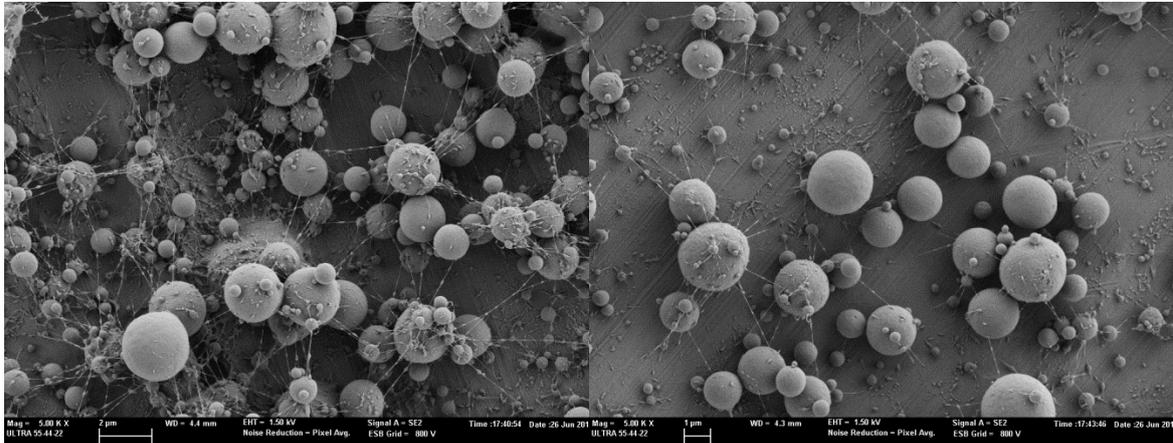
Figura 14 - Topografía de microsferas, fotografía tomada por FESEM Ensayos realizados a 20kV, 20cm y 2mL/h (a) 5%PVDF, (b) 7%, (c) 8%

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## Influencia del campo eléctrico

Cabe señalar la importancia del campo eléctrico para la presencia de fibras, dado que a mayor valor, mayor es la presencia de éstas.



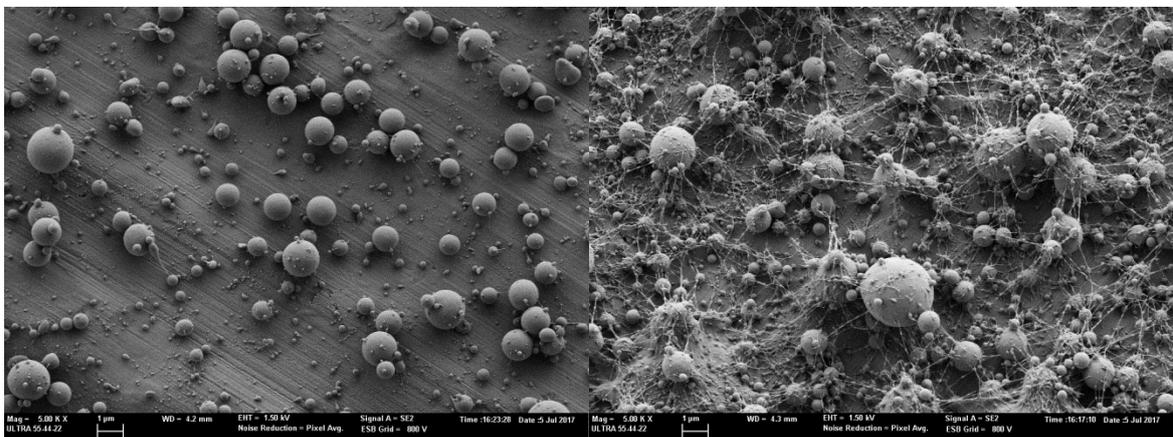
a

b

Figura 15 - Fotografía FESEM variación de distancia

(a) 7%PVDF, 20kV tensión, 15cm distancia, 2mL/h; (b) 7%PVDF, 20kV tensión, 25cm distancia, 2ml/h

En la Figura 15 se muestra cómo con (a) relación de campo mayor de valor 1.33kV/cm la aparición de nanofibras es mayor que con (b) un campo eléctrico de valor 0.8kV/cm.



a

b

Figura 16 - Presencia de nanofibras, casos extremos

(a) 5%PVDF, 18kV tensión, 25cm distancia, 2mL/h flujo; (b) 7%PVDF 23kV tensión, 15cm distancia; 1mL/h flujo

En la Figura 16 se muestran los casos más extremos. En la (a) no se ha encontrado presencia de fibras, mientras que en la (b) apenas se distinguen las microesferas de la cantidad de hilos (fibras) entremezclados en la muestra. Las relaciones de campo eléctrico son 0.72kV/cm y 1.53kV/cm, respectivamente.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

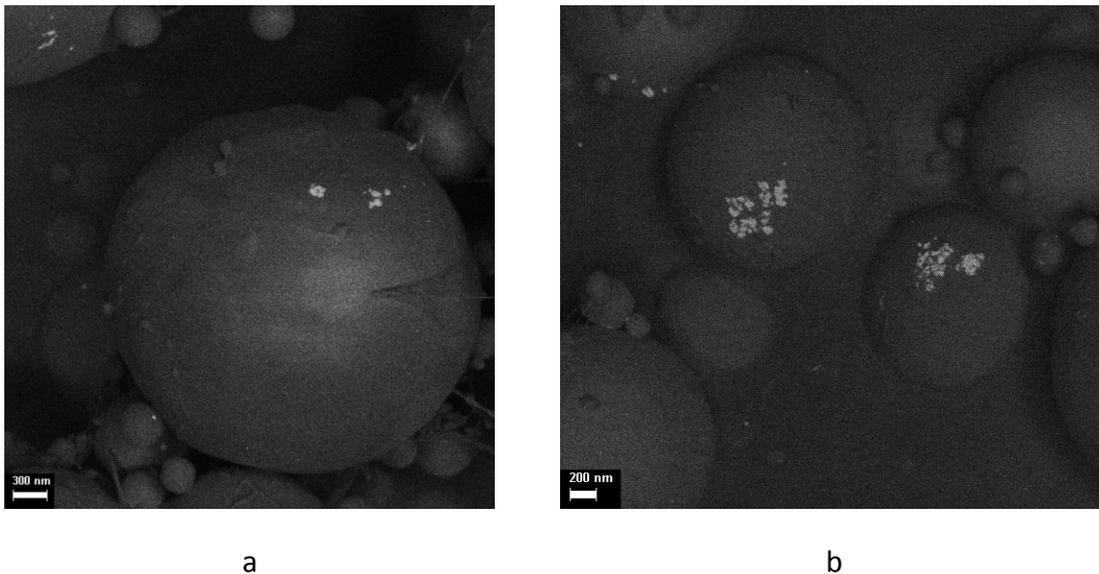


Figura 17 - Microesferas con nanopartículas de hierro lente IntensDuo  
(a) 8% PVDF, 20kV tensión; 20cm distancia; 2mL/h flujo; (b) 5% PVDF, 20kV tensión, 20cm distancia, 2mL/h flujo.

En la Figura 17 se pueden apreciar la ferrita de hierro sobre la superficie de las microesferas. A diferencia de en las anteriores fotografías, como en la Figura 14, se ha tenido que emplear una lente con la que no se aprecia tanto la diferencia con el fondo de la muestra, ya que de no ser así sería imposible distinguir las nanopartículas de hierro de pequeños conglomerados de polímero.

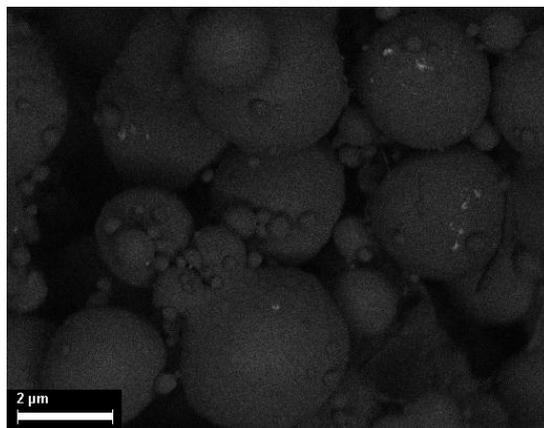


Figura 18 - Vista general nanopartículas sobre microesferas. Condiciones 8% PVDF, 20kV tensión, 20cm distancia, 2mL/h flujo

Para un apropiado estudio es necesario comprobar en qué medida se presentan las nanopartículas de hierro. Si únicamente están depositadas en la superficie de la muestra, o si además de la superficie, en el interior de la microesfera hay presencia de nanopartículas. En los apartados siguientes se estudiará el grado de magnetización de las muestras y la distribución de las nanopartículas en el interior de las microesferas.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

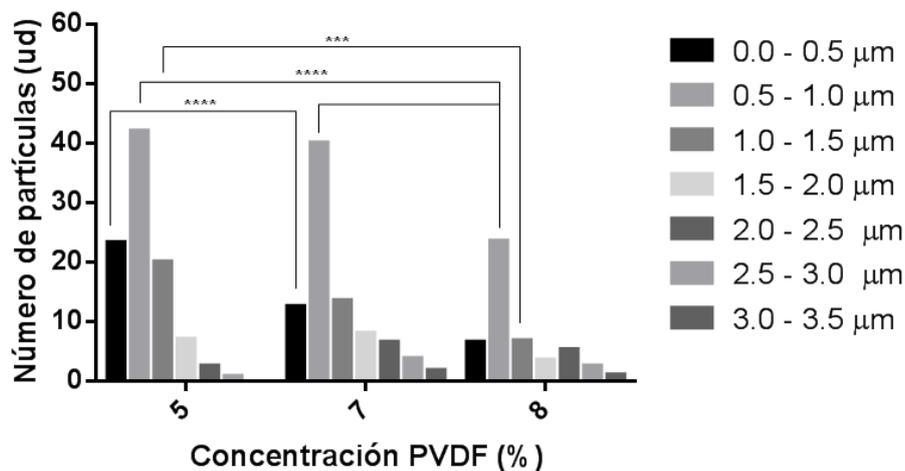
Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 7.3.2 Gráficas y cálculo estadístico

Con tal de visualizar de forma gráfica los resultados obtenidos se ha realizado un cálculo estadístico de análisis de varianza (ANOVA). Se ha empleado el software Prism6 tanto para los test de normalidad como para las comparaciones del ANOVA e impresión de las gráficas. (Ferrán, 1996)

Una vez introducidos los datos de los ensayos se ha procedido a hacer los test de normalidad. Se han empleado 3 métodos para contrastar la normalidad del conjunto de datos: D'Agostino&Pearson, Shapiro-Wilk y Kolmogorov-Smirnov. (Anguera, Arnau, & Alto, 1995)

Para todos los test el resultado no cumple normalidad. Esto es porque el número de observaciones no cumple:  $n \geq 10$ . Por lo tanto, el análisis de varianza ha de ser **no paramétrico**. Se ha considerado como diferencia significativa el nivel de confianza al 99% ( $p < 0.01$ ). Observando las diferencias entre cada intervalo de diámetros para cada concentración, se obtiene la siguiente gráfica:



Gráfica 1 - Histograma del número de partículas según la concentración de PVDF. Condiciones idénticas de ensayo: 20kV tensión, 20cm distancia, 2mL/h flujo

Donde los asteriscos (\*\*\*) muestras con diferencia significativa ( $p < 0.01$ ).

La cantidad de microesferas de tamaños por debajo de  $1\mu\text{m}$  es notable a medida que la concentración de polímero es menor. Asimismo, la aparición de partículas mayores a  $2.5\mu\text{m}$  únicamente se ha observado en los ensayos con 7 y 8% de PVDF.

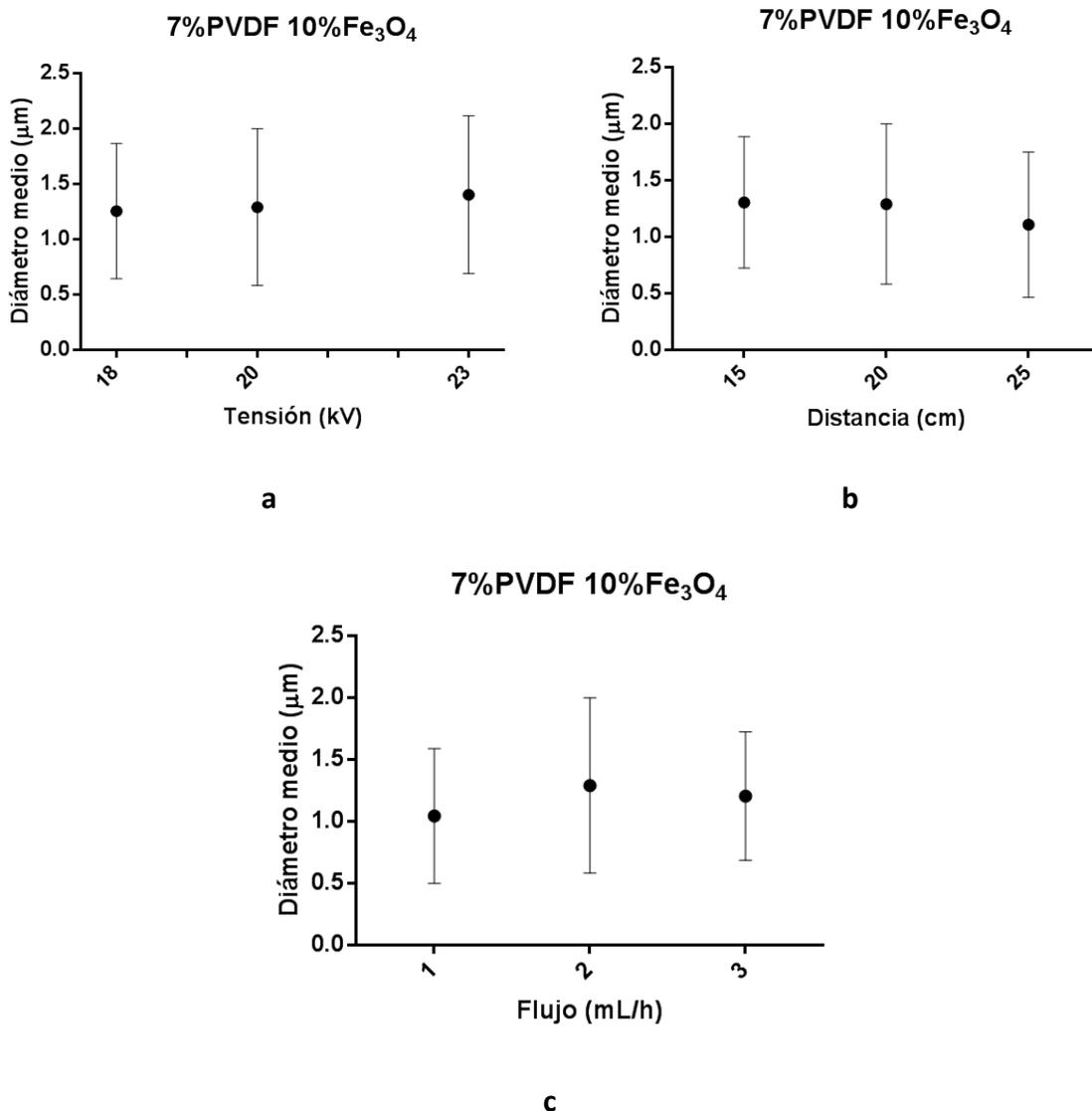
Mediante el cálculo estadístico ANOVA se observan grandes diferencias en el número de muestras de pequeñas partículas entre los porcentajes máximo y mínimo del polímero.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

Con tal de corroborar las conclusiones extraídas en base a los ensayos, se procede a ilustrar mediante gráficas de representación de media y desviación la influencia del cambio de parámetros. En el siguiente apartado figuran los experimentos realizados al 7% de PVDF, variando un parámetro a estudiar y fijando el resto. Las condiciones iniciales son las mismas que se ha previsto en el resto de la Memoria y son: 20kV de tensión, 20cm de distancia al colector y 2mL/h de flujo.

El resto de gráficas para las concentraciones de PVDF al 5 y 8% se encuentran en el apartado de Anexos.



Gráfica 2- Conjunto de gráficas de la influencia del cambio de parámetros sobre el diámetro medio para una concentración del 7%PVDF y 10%Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

En la gráfica (a) se han realizado ensayos variando la tensión aplicada entre la aguja y el colector. Se aprecia un pequeño incremento en el punto del diámetro medio cuando la tensión es de 23kV, siendo máxima en este caso. Las desviaciones típicas son similares en los tres casos

En la gráfica (b) el parámetro a modificar es la distancia. En este caso se aprecia una menor desviación a 15 cm del colector. Dato que coincide con el experimental mediante el método Taguchi como se indica en el apartado 0 7.3.3 Resultados de los ensayos por el diseño de Taguchi.

En la gráfica (c) se observa la influencia de la variación del flujo del jet. Coincidiendo con el estudio en las tablas de los ensayos cambiando un parámetro, se observa que el mayor diámetro medio se produce a 2mL/h de flujo. Mientras que la menor dispersión ocurre cuando el jet es de 1mL/h, corroborado con el método Taguchi en el susodicho apartado 7.3.3 Resultados de los ensayos por el diseño de Taguchi.

En los Anexos Gráficas y cálculos estadísticos se encuentra el desglose de tablas excel empleadas paralelamente para hacer los cálculos estadísticos precisos y corroborar los resultados del Prism 6. Se ha estudiado el valor de  $\chi^2$  para población y se ha tomado como diferencias significativas  $p < 0.01$

Se ha realizado un ANOVA comparativo del diámetro medio de todas las microesferas según la concentración 5, 7 y 8% y se ha concluido que entre las muestras al 5 y 8% y entre 7 y 8% sí que existen diferencias significativas en la media, mientras que entre el 5% y el 7% no existen diferencias significativas.

Tras la realización de un análisis porcentual para observar la tendencia para cada una de las concentraciones, se concluye que:

- En disoluciones de polímero al 7% existe más cantidad de micropartículas que en disoluciones al 8% pero la distribución en tamaño, medias y  $\chi^2$  es la misma.
- Al 5% se obtiene una cantidad similar de microesferas que al 7%, pero de tamaño de partículas menor y distribución diferente.
- Al 8% se obtienen micropartículas de tamaño mayor que al 5%, pero en menor cantidad.

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## **7.3.3 Resultados de los ensayos por el diseño de Taguchi**

Se han realizado 18 ensayos con distintas condiciones de electrospray para completar la matriz de Taguchi. Acorde al apartado

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

5.4.3 Parámetros y niveles en el diseño de Taguchi se ha formado la matriz de taguchi L18 con los siguientes parámetros y niveles:

	Concentración PVDF (%)	Tensión (kV)	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)
Nivel 1	5	15	15	1
Nivel 2	7	20	20	2
Nivel 3	8	23	23	3

Tabla 5 - Valores para cada nivel según el método Taguchi

Para unos resultados reproducibles, se ha controlado el flujo de aire comprimido para que se encontrase a 35% de humedad relativa. Al igual que en los ensayos del apartado 7.3.1 Resultados de los ensayos de electrospray con variación de un solo parámetro de proceso, el tiempo de duración de cada electrospray viene determinado por el flujo del jet. Siendo para 1mL/h 30 minutos, 2mL/h 15 minutos y 3mL/h 10 minutos, comparando la misma cantidad de disolución expedida. Tras el estudio de las partículas mediante el software ImageJ se han obtenido los siguientes resultados:

Nº	Concentración PVDF (%)	Tensión (kV)	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	$\bar{x}$ ( $\mu\text{m}$ )	$\sigma$ ( $\mu\text{m}$ )	SN
1	5	18	15	3	0,961	0,313	9,761
2	5	20	20	1	1,046	0,372	8,978
3	5	23	25	2	0,986	0,290	10,638
4	7	18	15	1	1,404	0,461	9,680
5	7	20	20	2	1,290	0,708	5,216
6	7	23	25	3	1,488	0,718	6,331
7	8	18	20	3	1,240	0,837	3,416
8	8	20	25	1	0,736	0,400	5,296
9	8	23	15	2	1,341	0,658	6,181
10	5	18	25	2	0,946	0,357	8,457
11	5	20	15	3	1,041	0,333	9,915
12	5	23	20	1	1,083	0,287	11,525
13	7	18	20	2	1,255	0,610	6,266
14	7	20	25	3	1,207	0,633	5,613
15	7	23	15	1	1,128	0,567	5,979
16	8	18	25	1	1,121	0,854	2,364
17	8	20	15	2	0,893	0,488	5,249
18	8	23	20	3	1,057	0,697	3,611

Tabla 6 - Resultados tabla de Taguchi

A continuación se ha de calcular el rango de cada parámetro a sus distintos niveles (3 niveles). Para ello basta con restar el valor mínimo al valor máximo de cada nivel, obteniendo la siguiente tabla de resultados:

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

		Concentración PVDF (%)	Tensión (kV)	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)
SN	Nivel 1	9,88	6,66	7,79	7,30
	Nivel 2	6,51	6,71	6,50	7,00
	Nivel 3	4,35	7,38	6,45	6,44
	Rango	5,53	0,72	1,34	0,86
	Importancia	1	4	2	3
$\bar{x}$ ( $\mu\text{m}$ )	Nivel 1	1,01	1,16	1,13	1,09
	Nivel 2	1,29	1,04	1,16	1,12
	Nivel 3	1,07	1,18	1,08	1,17
	Rango	0,29	0,15	0,08	0,08
	Importancia	1	4	2	3
	Mejor nivel	<b>7%</b>	<b>23kV</b>	<b>20cm</b>	<b>3mL/h</b>
$\sigma$ ( $\mu\text{m}$ )	Nivel 1	0,33	0,57	0,47	0,49
	Nivel 2	0,62	0,49	0,59	0,52
	Nivel 3	0,66	0,54	0,54	0,59
	Rango	0,33	0,08	0,12	0,10
	Importancia	1	4	2	3
	Mejor nivel	<b>5%</b>	<b>20kV</b>	<b>15cm</b>	<b>1mL/h</b>

Tabla 7 - Resultados, rango e importancia de factores del método Taguchi

Se ha realizado la media para cada parámetro y nivel de cada uno de los ensayos obtenidos.

Se observa que para los tres resultados a estudiar (señal de ruido, diámetro y desviación) se han obtenido el mismo orden de importancia para cada parámetro. Esto se ha determinado ordenando de mayor a menor el valor del rango de cada factor. El rango es calculado restando el valor máximo menos el valor mínimo de la media de cada nivel.

Analizando los resultados se concluye que el factor más influyente para el diámetro medio y la desviación de las microesferas es la concentración de PVDF. Seguidamente se encuentra el factor distancia, que como se ha explicado anteriormente se encuentra directamente relacionada con la tensión y el campo eléctrico, por lo que los resultados obtenidos corroboran las premisas.

Analizando el diámetro medio de los ensayos realizados se observan escasas diferencias. Dado que las microesferas obtenidas son más pequeñas de lo esperado, el mejor nivel escogido es con el cual se obtienen los diámetros medios de mayor amplitud.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Observando las diferencias en las dimensiones de las microesferas, se considera que la desviación entre muestras ha de ser lo más pequeña posible. Eligiendo por lo tanto como mejor nivel con el cual se ha obtenido la menor dispersión posible.

## 7.3.4 Resultados análisis elemental

El análisis elemental es una técnica mediante la cual es posible la cuantificación del contenido de los diferentes elementos en una misma muestra. Con tal de valorar la forma en la que se presentan las nanopartículas de hierro en los ensayos, para este estudio se han empleado los sensores SE2 para topografía e IntensDuo para la mejor visualización de los metales pesados, consiguiendo así que el análisis sea lo más coherente posible.

Tal y como muestra la Figura 19 se han tomado 3 referencias para el análisis elemental. Los espectros 1 y 2 son puntuales y abarcan  $1\mu\text{m}^2$ , que es la máxima resolución. Se han escogido dos microesferas diferentes sobre las que se ha apreciado mediante el cambio de lente la presencia y no presencia de ferrita de hierro. Para observar un análisis general sobre una zona que carecía de hierro, se muestra el espectro 3.

Dado que para el análisis elemental es imprescindible que los portamuestras sean de carbono, éste se ha visto reflejado en los histogramas del estudio, y se ha desestimado en las tablas de cálculo de peso atómico. Así pues, se puede concluir que tal y como se esperaba, las nanopartículas se encuentran dispersas por toda la muestra, aglomeradas en ciertas zonas. De tal forma que existen microesferas de PVDF que carecen de hierro en la superficie, aunque pueden encontrarse en su interior.

Dado que la fórmula del polifluoruro de vinilideno es  $-(\text{C}_2\text{H}_2\text{F}_2)_n-$  no es motivo de sorpresa observar la presencia de flúor. El hidrógeno no es posible cuantificarlo en este tipo de análisis así como el carbono, que como ya se ha comentado el valor obtenido no sería real ya que el análisis elemental tiene una profundidad incidente hasta el portamuestras de carbono, donde se apoyan las muestras.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

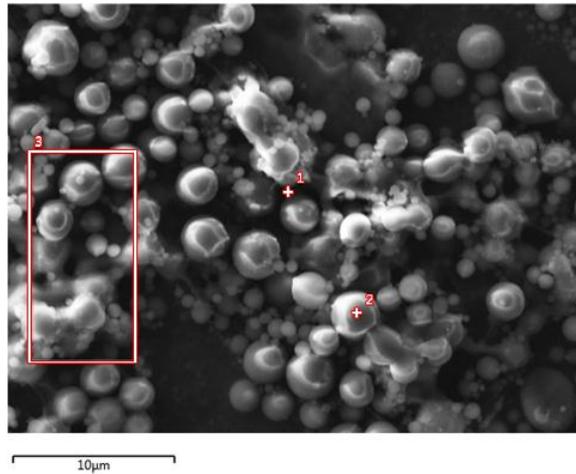
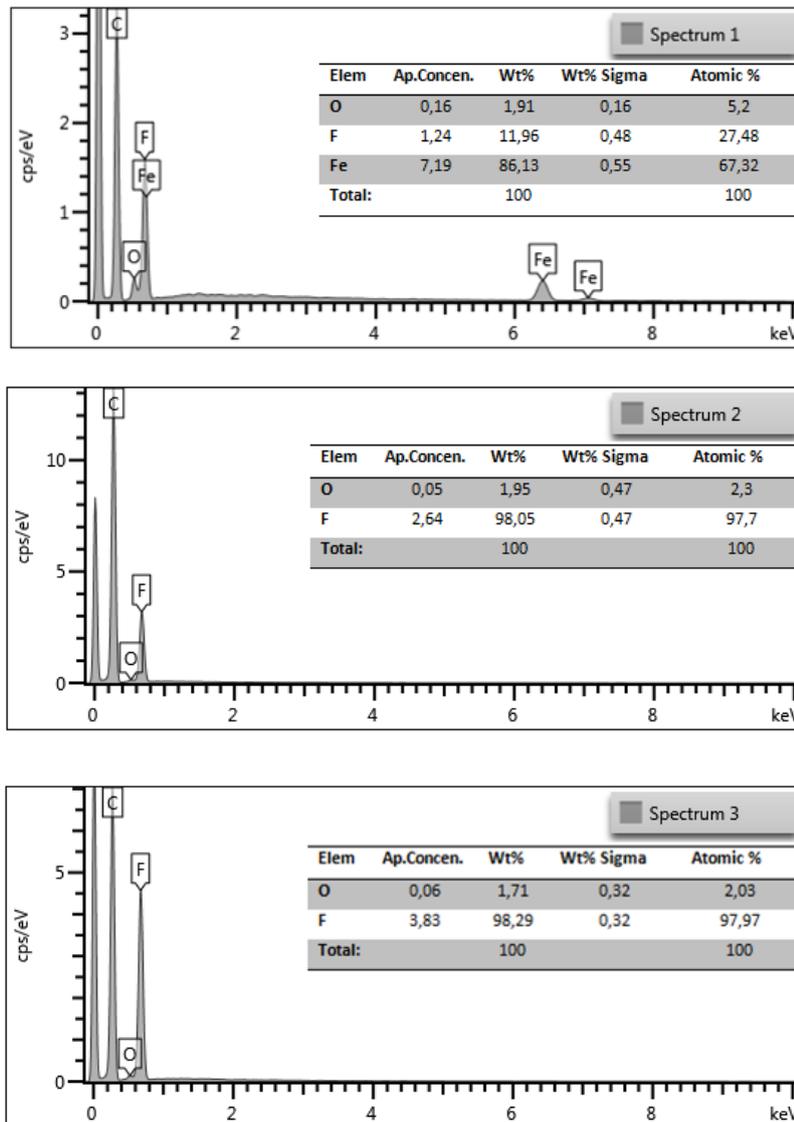


Figura 19 - Adquisición de imagen Aztec con señalización de espectros



Gráfica 3 - Análisis elemental de los espectros de la imagen adquirida

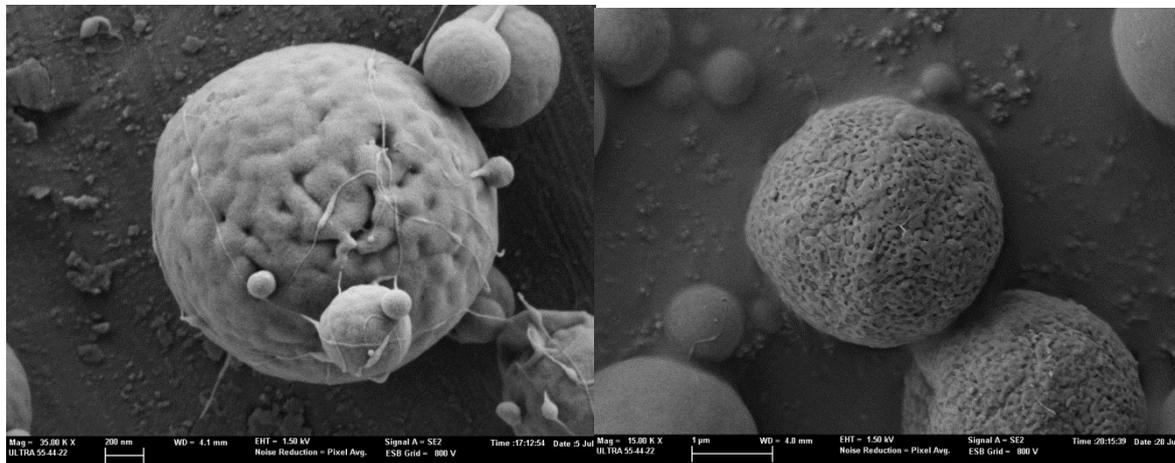
# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 7.3.5 Resultados microscopía de iones focalizados FIB

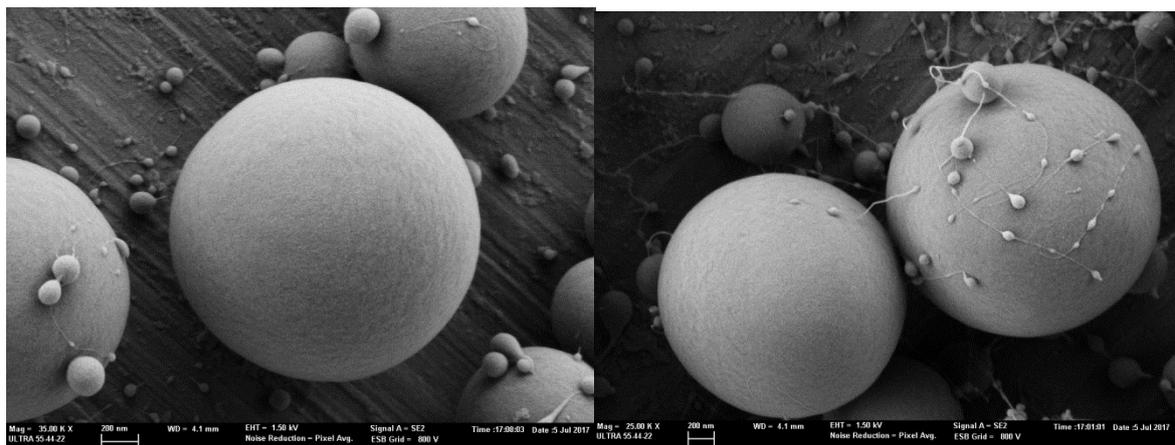
### Problemática planteada

Con tal de incidir sobre el estudio de la composición interior de las microesferas se ha procedido a hacer sobre varias de las muestras un corte transversal. Para ello se ha empleado un equipo de Microscopía de la UPV que combina la técnica de microscopio electrónico de barrido de electrones (FESEM) con un microscopio de iones de galio focalizados (FIB). Las partículas con hoyuelos y superficie desigual se presentan en baja cantidad en la mayoría de los ensayos. El objetivo de esta prueba es analizar la diferencia entre las microesferas que presentan una superficie rugosa frente a las que son totalmente homogéneas.



a

b



c

d

Figura 20 - Imágenes tomadas con el FESEM donde se muestran las diferencias de superficies entre partículas (a) 5%PVDF, 23kV tensión, 20cm distancia y 2mL/h flujo; (b) 8%PVDF, 20kV tensión, 20cm distancia, 2mL/h flujo; (c) 5%PVDF; 18kV tensión, 15cm distancia y 3mL/h flujo; (d) 7%PVDF, 23kV tensión, 20cm distancia, 2mL/h flujo.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## Resultados obtenidos

Para visualizar la influencia de la ferrita de hierro sobre éstas, se han escogido dos ensayos con diferentes porcentajes de PVDF.

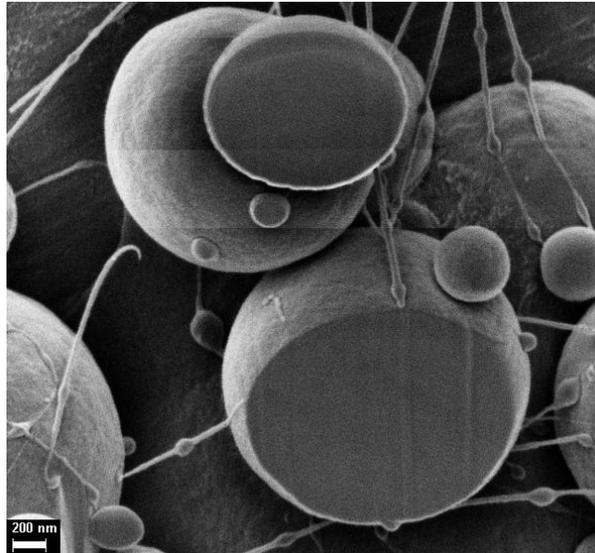


Figura 21 - Fotografía de corte FIB sobre microesferas de superficie homogénea. Condiciones de ensayo 7%PVDF, 20kV tensión, 20cm distancia y 2mL/h flujo

La fotografía tomada en la Figura 21 muestra el interior de varias microesferas de superficie homogénea. En ellas no se aprecia la presencia de nanopartículas de ferrita en el interior, quedándose éstas posadas sobre la superficie de las muestras.

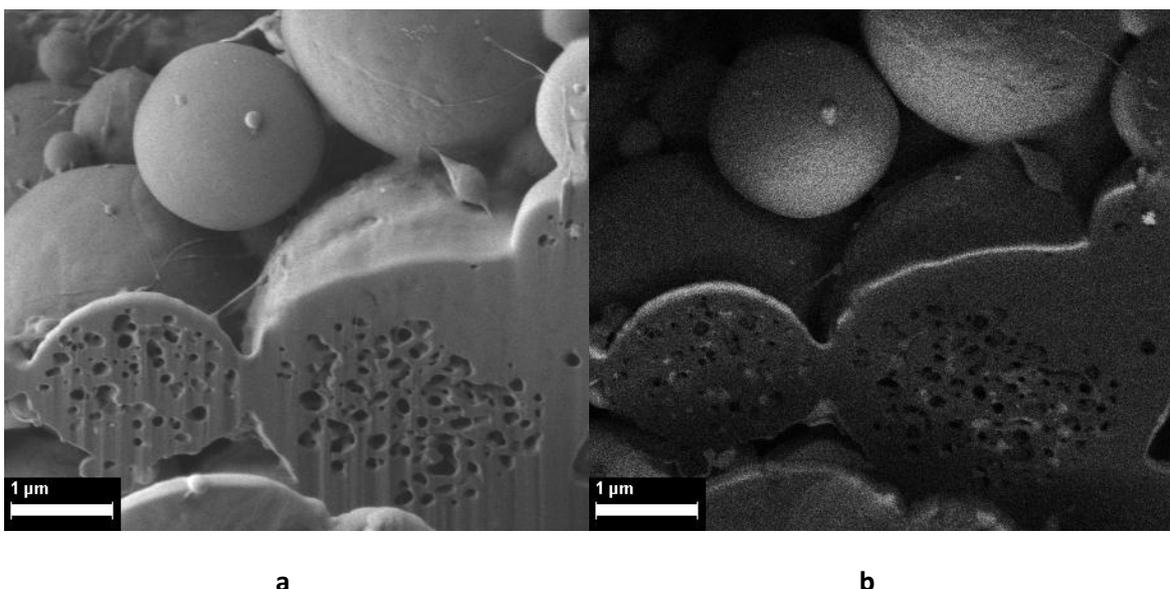


Figura 22 - Fotografías de corte FIB sobre microesferas de superficie rugosa. Lentes del microscopio diferentes sobre la misma muestra. Condiciones de ensayo 8%PVDF, 20kV tensión, 20cm distancia, 2mL/h flujo

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

El conjunto de fotografías de la Figura 22 se han realizado sobre la misma muestra empleando diferentes lentes para extraer conclusiones visualizando las diferencias. En primer lugar se observa como la superficie rugosa sí que afecta al interior de las microesferas, ya que se denota una característica de **porosidad en el interior** de las mismas. La superficie rugosa se ha observado tanto en ensayos realizados con nanopartículas de ferrita de hierro, tanto como en ensayos en las que exclusivamente se ha empleado el polímero sin nanopartículas.

En segundo lugar se observa como la rugosidad sí que influye en el posicionamiento de las nanopartículas de hierro. Siendo que en el caso de las microesferas homogéneas la ferrita se posa sobre el exterior, mientras **que en las microesferas porosas las nanopartículas están localizadas en el interior**, además de poder encontrarse en la superficie. Esto se puede estudiar de forma clara comparando las imágenes de la Figura 22, donde en (a) se ha empleado la lente de electrones secundarios SE2 (únicamente visualiza topografía) mientras que en la (b) se ha empleado la lente IntensDuo. En la segunda imagen se pueden apreciar las nanopartículas de hierro brillando de forma intensa en el interior de las esferas, ya que mediante esta lente se distinguen por brillo los compuestos de mayor peso molecular.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## Tendencia de porosidad

Se ha analizado el porcentaje de partículas rugosas respecto el número de microesferas para cada ensayo. Los resultados muestran que la cantidad de microesferas porosas es mayor con los ensayos realizados con un 5% de PVDF. Para esta concentración en cada uno de los ensayos con diferentes parámetros se ha observado la presencia de porosidad en las partículas, mientras que en las disoluciones con 7% y 8% de PVDF el porcentaje de muestras porosas disminuye de forma significativa.

	Nº	Tensión (kV)	Distancia (cm)	Flujo (mL/h)	Nº muestras	Nº muestras porosas	Muestras porosas (%)
5%PVDF 10% Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	1	20	20	2	124	21	8.72%
	2	18	20	2	86	10	
	3	23	20	2	80	9	
	4	20	15	2	90	6	
	5	20	25	2	77	6	
	6	20	20	1	159	3	
	7	20	20	3	72	5	
7%PVDF 10% Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	1	20	20	2	119	4	3.24%
	2	18	20	2	70	16	
	3	23	20	2	108	0	
	4	20	15	2	98	1	
	5	20	25	2	89	1	
	6	20	20	1	145	0	
	7	20	20	3	80	1	
8%PVDF 10% Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	1	20	20	2	75	4	2.12%
	2	18	20	2	52	1	
	3	23	20	2	68	7	
	4	20	15	2	101		
	5	20	25	2	84	1	
	6	20	20	1	158		
	7	20	20	3	75	0	

Tabla 8 - Tabla del porcentaje de porosidad de las micropartículas

Por lo que se concluye que a menor porcentaje de PVDF mayor es la obtención de micropartículas de morfología porosa. Sin embargo, los porcentajes de la presencia de estas microesferas son muy bajos, por lo que cabría estudiar si este fenómeno, además de estar relacionado con la concentración de polímero, está influenciado con una cristalización diferente del polímero u otras causas.

Se desestima que la causa sea el porcentaje de nanopartículas de ferrita ya que en ensayos realizados sin la adición de éstas, también se presentaban microesferas porosas.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 7.3.6 Resultados Vibrating Sample Magnetometer (VSM)

Se han realizado medidas mediante el VSM a muestras con diferente porcentaje de polímero PVDF, añadiendo un 10% de ferrita de hierro a cada una de ellas, obteniendo los siguientes resultados:

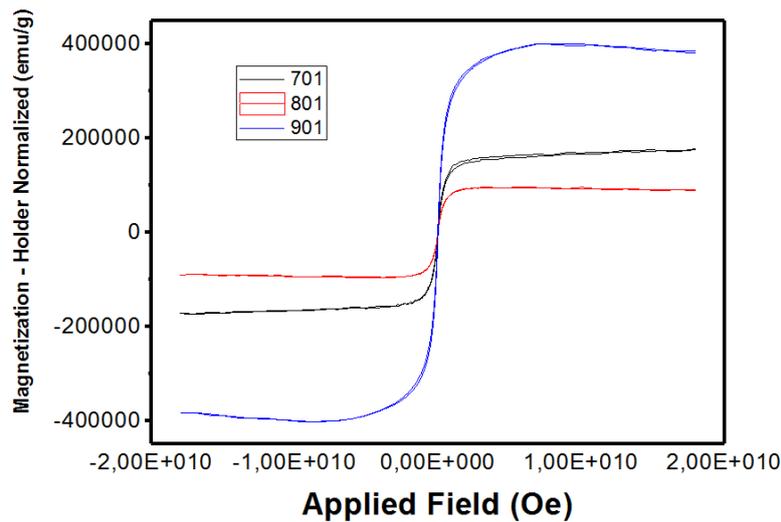


Figura 23 - Respuesta de magnetización de las muestras ante el campo magnético aplicado mediante el VSM

Se puede observar cómo las muestras responden ante el campo magnético aplicado y que no existe ciclo de histéresis para ninguna de las muestras. Esto se traduce en que en todos los ejemplos existe un paso por cero y no se aprecia magnetización remanente. Es decir, las muestras efectivamente son magnéticas y están compuestas únicamente por un dominio.

Se ha calculado la permeabilidad magnética de las muestras en sus puntos de saturación positiva y negativa Tabla 9:

	Campo aplicado (Oe)	Valor Magnetización H normalizada (emu/g)	Permeabilidad ( $\mu$ )
5%PVDF	1,8E+10	177740,05	9,87E-06
10%Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	-1,7E+10	-174574,75	1,03E-05
7%PVDF	6E+09	96379,93	1,61E-05
10% Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	-3E+09	-96282,91	3,21E-05
8%PVDF	8E+09	401647	5,02E-05
10% Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub>	-9E+09	-401449,19	4,46E-05

Tabla 9 - Permeabilidad magnética en base a los puntos de saturación para muestras al 5%, 7% y 8% de PVDF y 10% de ferrita

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 8. Estudio de mejoras

### 8.1 Automatización

En este proyecto se ha implementado una serie de recursos de puesta en marcha de los aparatos, protección eléctrica y regulación de la humedad relativa de la cabina, pero para todos los elementos se trata de un funcionamiento manual. Con tal de mejorar la eficiencia del equipo se proponen las medidas de automatización que prosiguen.

#### 8.1.1 Control de humedad automatizado

El equipo dispone de una entrada de aire comprimido gobernado por un manorreductor, y una salida de extracción de gases. Con esto se consigue estabilizar la humedad para obtener un ambiente reproducible. En primera instancia es necesario reducir la humedad aumentando la presión de entrada de aire hasta encontrarse en un valor válido para la realización de los ensayos (menor al 35%). Este proceso ha de realizarse de forma manual, pero podría automatizarse de contar con los elementos necesarios.

El higrómetro empleado HANNA HI 91610C dispone de un puerto RS232 para la transferencia de datos del dispositivo al ordenador. El higrómetro se puede programar para que tome los valores de humedad y temperatura con tiempos de muestreo de 1, 2, 5, 10, 15, 30, 60, 120 y 180 minutos. Los formatos de exportación de datos pueden ser tanto en hojas de cálculo Excel como en Lotus.

El sensor de humedad que incorpora el higrómetro tiene una resolución del 0.1%, suficiente para hacer un control preciso. Una vez adquiridos y almacenados los datos, pueden volcarse en un microcontrolador para realizar el control. Se pueden encontrar en Anexos Programación de sensor DH22 el ejemplo de programación a aplicar.

Como actuador se precisará una electroválvula, una válvula proporcional hidráulica de presión o una válvula servo hidráulica. Este tipo de elementos ofrecen un caudal de salida dependiendo de la tensión eléctrica de entrada. Las válvulas proporcionales son más económicas pero presentan una banda muerta de paso por cero de menos del 3% del recorrido del carrete. Para aplicaciones específicas y críticas se emplean las de tipo servo, por su precisión y rapidez. La empresa Asconumatics ofrece válvulas económicas de este tipo que también integran un pequeño circuitaje de control adicional.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Otra de las casas especializadas en este campo y de óptima calidad es SMC, quienes disponen de unos transductores electroneumáticos idóneos para la regulación de caudal.

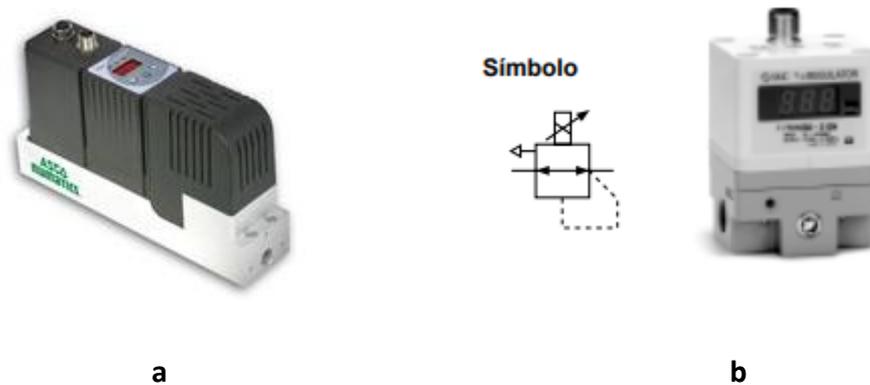


Figura 24 (a) Regulador de caudal numérico FLOWTRONIC, de Asconomatics; (b) Transductor electroneumático serie ITV de SMC

Estos transductores aplican un control continuo de la presión, proporcional a una señal eléctrica, siendo ésta escogida dependiendo de la humedad relativa que se haya captado en el ambiente con el sensor HANNA.

Sin embargo, por razones económicas, la mejor opción es una válvula proporcional. Ya que con las prestaciones que ofrece, es suficiente para satisfacer las necesidades del proyecto.

## 8.1.2 Control de temperatura PID

Como solución para obtener un control de temperatura de la cavidad se propone termostatar el aire de entrada a la cabina. Para ello es necesario calentar mediante resistencias el flujo de aire de entrada, siendo la opción más sencilla y económica. Otra solución es la implementación de baterías y equipos para calentamiento de aire en conductos (empresa Lessoler), pero queda desestimado debido a la complejidad y coste innecesario que se añadiría al proyecto.

La temperatura de entrada del aire es controlada en base a la lectura que hacen dos sensores, uno dispuesto a la entrada del flujo y el segundo a la salida sobre la extracción de gases de la cabina. Para realizar esto, es necesario un sistema de regulación, siendo el escogido el PID.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

El controlador PID es el regulador empleado por excelencia para sistemas de control industrial. Se trata de un regulador que calcula el error entre un valor medido y el deseado mediante una realimentación del sistema.

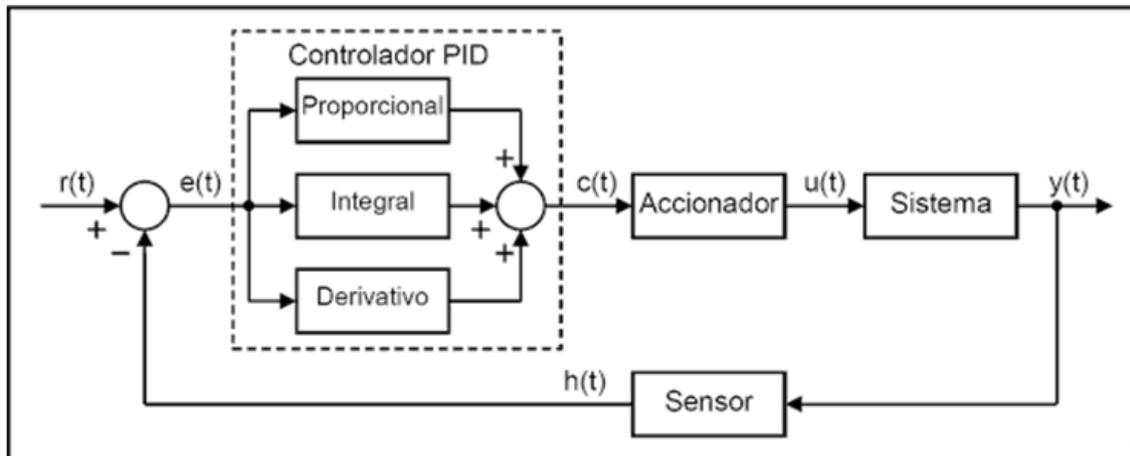


Figura 25 - Sistema de control en bucle lazo cerrado con control PID

Para realizar este tipo de control es necesario obtener la función de transferencia del sistema. Esto es, el conjunto de ecuaciones diferenciales que rigen el comportamiento del sistema físico.

Entre algunas de las características del servosistema se encuentran la precisión estática y el error en régimen permanente. La precisión es la capacidad del servosistema para seguir la entrada de referencia, y el error en régimen permanente (o error estacionario) se define como la diferencia entre la referencia aplicada y la realimentación de la salida.

El algoritmo que caracteriza el PID viene dado por tres parámetros, que varían en función del diseño del sistema y las especificaciones. Se trata de tres acciones de control distintas, aportando cada una de ellas ciertas ventajas para la modificación del servosistema para ajustarlo a ciertas especificaciones de funcionamiento.

- Acción proporcional (P): recibe este nombre porque la acción de control es proporcional a la señal de error. El diseño del control proporcional consiste en determinar el valor de la ganancia por la que es multiplicada el error para dar la acción aplicada al proceso. Esto significa que cuando la variable de interés se encuentra lejos del valor deseado el controlador actúa con intensidad, y a medida que la variable de interés se acerca a la referencia, la acción de control disminuye. El valor de la acción proporcional viene determinado por el parámetro  $K_p$ .

- Acción integral (I): podría definirse como "control de pasado", ya que es una acción proporcional a la integral de la señal de error. El error acumulado es el que determina

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

esta acción, siendo un error reciente menos grave que un error mantenido en el tiempo. Las acciones fuertes son dadas por los errores que la acción proporcional no es capaz de corregir. El control integral tiene como objetivo mejorar el comportamiento en **régimen permanente**, es la precisión del sistema. El valor de la acción integral viene determinado por el parámetro  $K_i$ .

- Acción derivada (D): sería el “control del futuro”, ya que se trata de una acción proporcional a la derivada de la señal de error. Controla la tendencia del error, la predicción del error que va a suceder es la que determina la intensidad de la acción derivada. De esta forma, esta acción permite corregir errores antes de que se den lugar, aportando **amortiguamiento** al sistema. Una vez estabilizado el sistema la acción derivada pierde efecto al hacerse el error constante, por lo que no tiene influencia en la precisión del sistema. El objetivo de esta acción es mejorar el comportamiento en **régimen transitorio**, es decir, en la estabilidad del sistema. El valor de la acción proporcional viene determinado por el parámetro  $K_d$ .

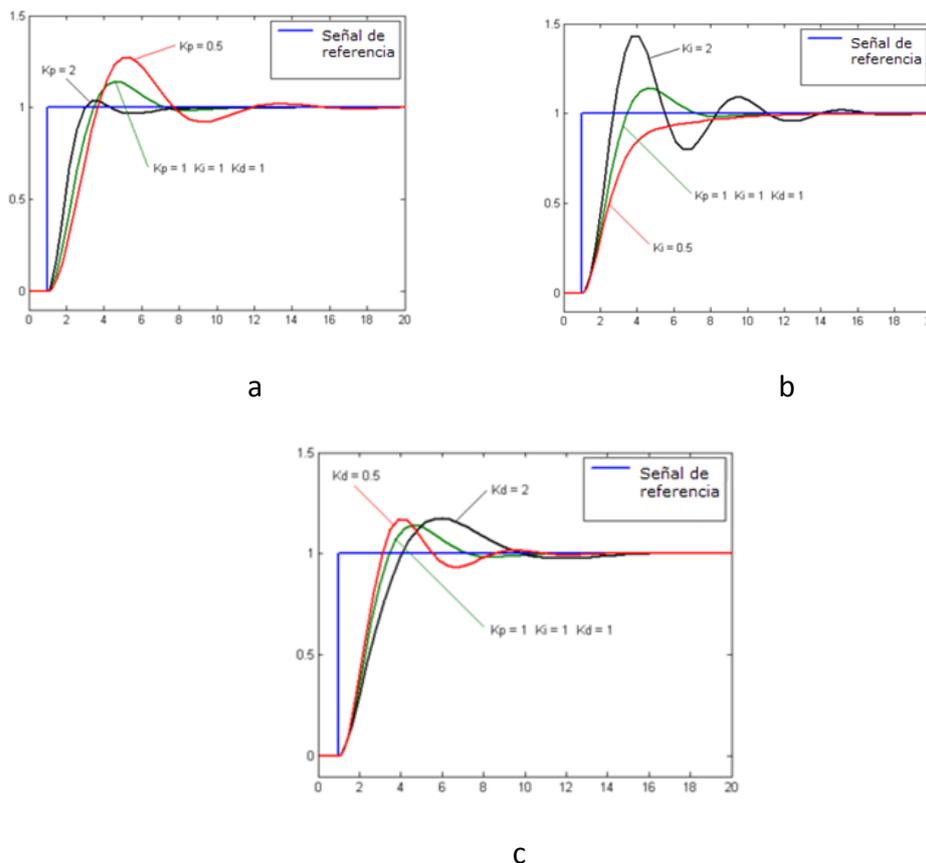


Figura 26 - Representaciones gráficas de un control PID (a) Variación del parámetro proporcional  $K_p$ ; (b) Variación del parámetro integral  $K_i$ ; (c) Variación del parámetro derivada  $K_v$

En la Figura 26 se muestra la influencia de las tres acciones de control, donde se varían los valores de  $K_p$ ,  $K_i$  y  $K_v$  del PID para seguir la referencia del sistema.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Los PIDs pueden implementarse de distintas formas:

## Opciones comerciales

Existen aparatos comerciales que con opciones de Autotuning son capaces de estimar los parámetros del PID e implementarlos en un sistema real.



Figura 27 – Controlador PID de temperatura de OMRON E5CN-Q2MT-500

Empresas como OMRON y SIEMENS disponen de controladores PID comerciales. Sin embargo éstos suelen ser excesivamente costosos en comparación con el coste y dedicación que le puede suponer a un individuo con conocimientos de automatización e ingeniería en general.

## Componentes electrónicos y programación:

Una forma de implementar un regulador PID es combinando electrónica y código de programación. Un controlador se resume en una función que consigue estabilizar la salida de un sistema en un valor de referencia. Así pues, un controlador PID es un algoritmo que se puede escribir en forma de código, montar con componentes electrónicos, o combinar ambos métodos.

Con Arduino obtenemos un entorno de programación para programar la secuencia de instrucciones que ejecuta el microcontrolador. Se puede encontrar un ejemplo de código PI en Anexos Código programación Arduino PID.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Otra posibilidad es el software Matlab. Se trata de un potente programa que combinado con tarjetas de adquisición es posible realizar todo tipo de instrucciones. Además, Matlab posee un entorno de bloques, para los usuarios que prefieran este tipo de programación a la textual. El inconveniente de emplear este software es que requiere de un ordenador para su implementación y continuo uso, mientras que con un microcontrolador independiente o un PLC no sería necesario.

## 8.1.3 Microcontroladores y sensores

Para gobernar ambos tipos de controles se ha propuesto emplear un microcontrolador Arduino, ya que además de ser polivalente es muy económico. Debido a que el procesador que se requiere no ha de ser especialmente potente se ha desestimado otro tipo de microcontroladores como los de Texas Instruments, algunos PIC o el uso de un PLC.

Arduino dispone de una amplia gama de productos con diferentes especificaciones. En el caso que nos ocupa no se va a requerir un gran número de entradas y salidas. Uno de los posibles modelos es el Arduino Duemilanove. Es una placa con microcontrolador basada en el ATmega168 o ATmega328., Tiene 14 pines con entradas/salidas digitales (6 de las cuales pueden ser usadas como salidas PWM), 6 entradas analógicas, un cristal oscilador a 16Mhz, conexión USB, entrada de alimentación, una cabecera ISCP, y un botón de reset.

En el caso de preferir una implementación diferente de sensores de la que dispone el higrómetro HANNA, utilizado en la cabina, se encuentra el sensor DHT22. Se trata de un modelo muy económico que combina la medición de temperatura y humedad. Sus características son aceptables para proyectos de monitorización o registro que requieran una precisión media. El sensor envía un total de 40 bits en 4ms, correspondiendo 2 bytes para la medición de humedad, 2 bytes para la temperatura y 1 byte de comprobación de errores (8bit integral RH data + 8bit decimal RH data + 8bit integral T data + 8bit decimal T data + 8bit check sum). En Anexos se puede encontrar un ejemplo para la programación de dicho sensor en el Arduino.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 8.2 Variación de colector

El colector seleccionado es una placa plana estática sobre la que se depositan las microesferas. Para la optimización de la producción de éstas podrían adoptarse las siguientes medidas:

- Soporte del colector: se trata de un soporte en forma de "L" sobre el que se adhiere el colector y se posiciona a la distancia que requiere el ensayo. Una posible mejora sería la fabricación de un carrito o perfil deslizante sobre el que colocar el colector y donde se pueda deslizar y fijar a la posición deseada. Unas guías fijas que determinen el recorrido podría ser una solución, pero se desestimó esta opción por la razón de que la cabina puede ser empleada para otros propósitos y aplicaciones que requieran ese espacio.

- Colector tipo rotor: con tal de aumentar la producción de microesferas, se plantea emplear un colector rotativo. Así, se aumentaría la superficie sobre la que se proyectarían las partículas, pero habría que estudiar si las microesferas mantienen la morfología que adquieren con los colectores de tipo plano estático.

## 9. Conclusiones

Mediante los ensayos realizados se han caracterizado las muestras para obtener por dos métodos distintos los parámetros más influyentes para la producción de microesferas cargadas con nanopartículas de ferrita de hierro. Tanto utilizando el método Taguchi como variando un parámetro por experimento y manteniendo el resto constantes, se ha obtenido que el factor más influyente sobre el diámetro medio de las partículas es la concentración del polímero PVDF en la disolución en DMF, seguido de la relación tensión-distancia, que influye directamente en el campo eléctrico aplicado. A mayor campo eléctrico, la aparición de fibras es más notable. A menores porcentajes de polímero se produce una gran cantidad de microesferas por debajo de  $1\mu\text{m}$  de diámetro y la desviación estándar es más pequeña.

Por lo tanto se puede afirmar que cabina diseñada cumple las especificaciones buscadas en el proyecto, los resultados obtenidos son reproducibles y esto es debido al control de los parámetros ambientales

A nivel personal, mediante este trabajo he obtenido las habilidades para aprender a emplear técnicas de caracterización de muestras, así como ampliado el conocimiento sobre la Ingeniería Tisular, aplicando la normativa y el modo de trabajo en un laboratorio de investigación.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 10. Bibliografía

### Libros y artículos científicos

- Ana, Z., Xua, R., Daia, F., Xuea, G., Hec, X., & Zhao, Y. a. (2017). PVDF/PVDF-g-PACMO blend hollow fiber membranes for hemodialysis: preparation, characterization, and performance. *Royal Society of Chemistry*, 26593-26600.
- Anguera, M. T., Arnau, J., & Alto, M. (1995). *Métodos de Investigación. Metodología de las ciencias del comportamiento*. Madrid: Síntesis psicológica.
- Correia, D., Goncalves, R., Ribeiro, C., Senecadas, V., Botelho, G., Gomez Ribelles, J., y otros. (2014). Electrospayed poly(vinylidene fluoride) microparticles for tissue engineering applications. *RSC Advances*.
- Ferrán, M. (1996). *SPSS para Windows. Programación y análisis estadístico*. Madrid: Mc Graw Hill.
- Foner, S. (1959). *Versatile and Sensitive Vibrating-Sample Magnetometer*. Massachusetts: Review of Scientific Instruments, Volume 30, Issue 7, p.548-557.
- Gómez-Tejedor, J. A., Overberghe, N. V., Rico, P., & Gomez Ribelles, J. L. (2011). Assessment of the parameters influencing the fiber characteristics of electrospun poly(ethyl methacrylate) membranes. *ELSEVIER*, 119-129.
- Gonçalves, R., Martins, P., Correia, D. M., Sencadas, V., Vilas, J. L., Leon, L. M., y otros. (2015). Development of magnetoelectric CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/poly(vinylidene fluoride) microspheres. *RSC Advances*, 35852-35857.
- Haining, N., Chen, P., Wong, S.-C., Hague, S., & Li, Q. (2012). Fabrication of PVDF/PVA microtubules by coaxial electrospinning. *ELSEVIER*, 2736-2743.
- Huijing, F., Qiaoling, L., & Chen, D.-R. (2012). Performance study of a twin-head electrospay system. *ELSEVIER*, 33-44.
- Lanza, R., Langer, R., & Vacanti, J. (2007). *Principles of Tissue Engineering*. Elsevier.
- Orive, G., Hernández, R., & R. Garcón, A. (2003). Ingeniería tisular: retos y realidades. *VITAE*, 46-51.
- Spiller, K. L., Liu, Y., Holloway, J. L., A.Maher, S., Cao, Y., Liu, W., y otros. (2012). A novel method for the direct fabrication of growth factor-loaded microspheres within

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Memoria

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

porous nondegradable hydrogels: Controlled release for cartilage tissue engineering. *ELSEVIER*, 39-45.

Vellayappan, M., Venugopal, J., Ramakrishna, S., Ray, S., Ismail, A., Mandal, M., y otros. (2016). Electrospinning applications from diagnosis to. *RSC Advances*, 6, 83638.

Vincenzini, P., & De Rossi, D. (2008). *Advances in Science and Technology : Biomedical Applications of Smart Materials : CIMTEC*. Trans Tech Publishers.

Workman, V. L., Tezera, L. B., Elkington, T., P., & Jayasinghe, S. N. (2014). Controlled Generation of Microspheres Incorporating Extracellular Matrix Fibrils for Three-Dimensional Cell Culture. *Advanced Functional Materials*, 2648-2658.

Wysk, R. A., Niebel, B. W., Cohen, P. H., & and Simpson, T. W. (2000). *Manufacturing Processes: Integrated Product and Process Design*. New York: McGraw Hill.

Yu, X., Cheng, G., Zhou, M.-D., & and Zheng, S.-Y. (2015). On-Demand One-Step Synthesis of Monodisperse Functional Polymeric Microspheres with Droplet Microfluidics. *ACS*, 3982–3992.

## Documentación Máster Ingeniería Mecatrónica

Diapositivas y prácticas de la asignatura Automatización Distribuida, José Luis Poza Luján.

Diapositivas y prácticas de la asignatura Control de Sistemas Mecatrónicos, profesor Vicente Fermín Casanova Calvo.

Diapositivas y prácticas de la asignatura Dinámica de Sistemas Mecánicos, Francisco José Rubio Montoya.

Diapositivas de la asignatura Instalaciones Eléctricas, profesor Vicente Donderis Quiles.

Diapositivas de la asignatura Sistemas Embebidos, profesor Juan José Serrano Martín.

Diapositivas y prácticas de la asignatura Sistemas de Medición y Actuación, profesor Carlos Ricolfe Viala.



# CAPÍTULO 2

---

## Pliego de Condiciones

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## **1. Objeto del proyecto**

Este documento recoge el pliego de condiciones del trabajo final de grado “Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*”.

Establece la forma de ejecutarlo teniendo en cuenta los condicionantes de tipo técnico que le afectan, asegurando con ello un correcto funcionamiento del sistema proyectado.

En este documento se detalla tanto las instrucciones para el montaje de la cabina de electrohilado, como los protocolos de software empleados para el procesamiento de los resultados obtenidos en la caracterización de las muestras.

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## **2. Normas**

### **2.1 Seguridad de la máquina y del individuo**

- NFPA 99. Health Care Facilities Code
- EN60204-1. Equipo eléctrico de las máquinas.
- EN61000-3-2. Armónicos de corriente.

### **2.2 Compatibilidad electromagnética**

- EN50082-2 Inmunidad.
- EN61000-4-3. Campos electromagnéticos radiados en radiofrecuencia
- EN61000-4-2. Descargas electrostáticas.
- EN61000-4-4. Transitorios rápidos y ráfagas.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 3. Materiales

### 3.1 Herramientas y equipos

- Higrómetro
  - HANNA HI 91610C
  - Resolución 0.1%
- Fuente de tensión DC
  - Glassman FJ 120w
  - 0-30kV
  - 0-4mA
- Bomba programable para jeringuillas
  - NE1000 New Era Pump Systems
  - 12v DC 0.75A
- Pistola de silicona
- Baño de ultrasonidos
  - 10L con calefacción
  - Disamed
- Pistola de pegamento termofundente
- Bomba de extracción
  - Vacuubrand MZ 2C
  - Tipo membrana con resistencia química
  - 230V 50/60Hz 1.6A
  - 9.0 mbar
- Impresora 3D M200
  - Área de trabajo 200x200x180 mm
  - Resolución 400 $\mu$ m
- Microscopio Nikon Model Eclipse E600
  - Cámara integrada
  - 230V; 1.2<sup>a</sup>

### 3.2 Elementos líquidos

- Dimetilformamida
  - DMF, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-N-CHO.
  - 99%; DI1061 Sigma Aldrich CAS 68-12-2
- Polifluoruro de vinilideno
  - PVDF, -(C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>F<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

- 1010 granulado Solef Solvay 153kDa
- Ferrita de hierro
  - Nanopartículas Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>
  - Surfactant Polymer
  - EMG 1300 Ferrotec Ferrofluid CAS 1309-38-2
- Etanol
  - CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-OH
- Agua destilada
  - H<sub>2</sub>O

## 3.3 Componentes para la cabina

- Perfil de aluminio ranurado 45x45 Tipo-B Motedis
- Tornillos cabeza martillo R10 Tipo-B M8
- Tuerca cabeza martillo R10 Tipo-B M8
- Tornillos M3
- Tuerca cabeza martillo R10 M3
- Tapa perfil 45x45 Tipo-B
- Conectores rápidos M8
- Bisagra de plástico
- Adaptador manorreductor níquel/latón
- Racor latón níquelado ac macho cónico R1/4 . R 3
- Abrazadera SF 9mm
- Manguito reducción 1"-3/8" INOX 316L
- Machón doble INOX 316L
- Tuerca hexagonal 1" INOX 316L
- Manómetro Ø40 0-10bar 1/8"
- Reg. Presión mini 1/4" 0-8 bar
- Válvula corredera todo/nada
- Machón 1/4"
- Pasamuro rosca hembra 1/8"
- Recto tubo Ø10 1/8" cilíndrico
- Recto tubo Ø10 1/4" cilíndrico
- Manguito D32
- Tubo poliuretano Ø6.5x10 25m
- Placa poliestireno 20mm 1x2m
- Goma EPDM 30x5mm

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

- Goma EPDM 20x5
- Placa polietileno PEHD-300 4mm blanco 200x100
- Placa metacrilato 4mm 200x150
- Cable de tierra 2.5mm<sup>2</sup>
- Termorretractil
- Cable apantallado de datos
- Envoltente caja de plástico

## 4. Ejecución

### 4.1 Cálculo y montaje de bastidor

En primer lugar, se ha de estimar el espacio de trabajo necesario para el interior de la cabina. Dado que este equipo se va a emplear para distintos procesos de Electrohilado se ha calculado que con un volumen interior de 910x700x610 será suficiente.

Se ha escogido perfil ranurado de aluminio como estructura de la cabina. Con este tipo de perfiles obtenemos un prototipo modular, facilitando el montaje gracias a las ranuras de las barras. Concretamente, es el perfil 45x45 tipo B de Motedis

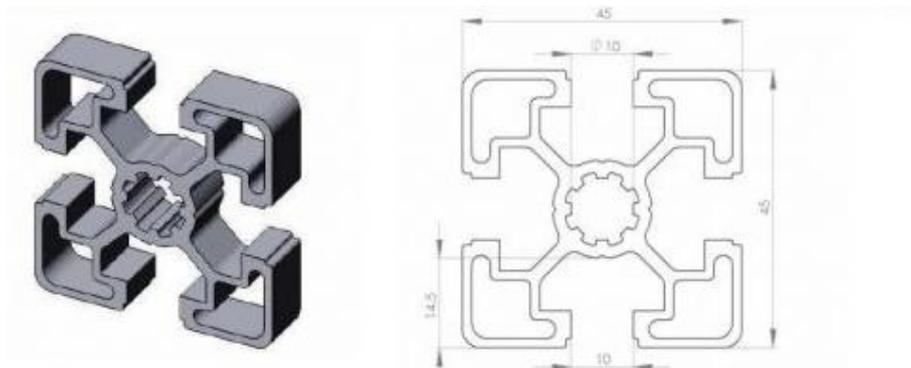


Figura 28 - Perfil de la estructura de la cabina

Propiedades del perfil			
<b>Ranura</b>		10	mm
<b>Masa</b>	m	1.50	kg/m
<b>Momento de inercia</b>	lx	11.00	cm <sup>4</sup>
	ly	11.00	cm <sup>4</sup>
<b>Momento resistente</b>	Wx	4.80	cm <sup>3</sup>
	Wy	4.80	cm <sup>3</sup>

Tabla 10 - Propiedades mecánicas del perfil estructural Tipo B de Motedis

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

En base al plano nº2 *Bastidor*, se puede calcular fácilmente las cantidades y longitudes de cada uno de los tramos. Debido a que las barras son de 3 y 6m ha sido necesaria la compra de 2 barras de 6m y una de 3m.

	Longitud (mm)	Cantidad (ud)
Estructura externa	910	4
	700	4
	610	4
Puertas	600	4
	355	4

Tabla 11 - Cálculo fraccionado de segmentos de perfil ranurado



Figura 29 - Conectores para los perfiles M8

Los conectores especiales M8 permiten la unión de los tramos del bastidor. Éstos se colocan en los extremos de las ranuras para dar la forma a la estructura tal y como se ilustra en los planos.

## 4.2 Elementos modulares

Se procede al montaje de la cabina tal y como se especifica en el Capítulo Planos, donde detalla el plano de montaje con las indicaciones a tener en cuenta para la estructura metálica y la composición con los elementos modulares.

Las bisagras son de nylon reforzadas con fibra de vidrio y eje de acero inoxidable. La fijación se realiza a través de la cara superior, mediante tornillos avellanados de M3. Se han escogido este tipo de elementos modular para que el montaje sea más sencillo y con posibilidad de modificaciones.

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---



Figura 30 - Bisagras de nylon



Figura 31 - Tuercas cabeza martillo



Figura 32 - Tornillos cabeza martillo

Las tapas de 45x45 se colocan como embellecedores en los 8 extremos de la estructura.

Una vez la cabina se encuentra finalizada, se pega a los perfiles de las puertas goma EPDM para crear estanqueidad entre los huecos.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 4.3 Piezas en impresión 3D

Debido a que no ha sido posible la compra de todos los elementos comerciales precisos, algunos se han tenido que fabricar mediante impresión en 3D de plástico.

Es el caso concreto de las dos asas de las puertas de la cabina. Ha sido preciso el diseño de éstas en solidworks y posteriormente se han exportado en archivo .stl

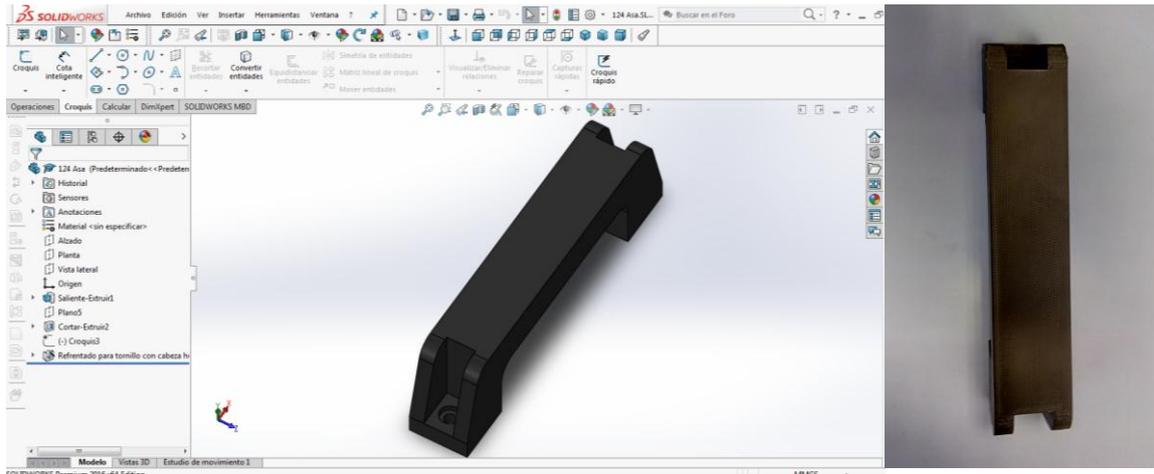


Figura 33 - Modelo en 3D del elemento a imprimir

Figura 34 - Modelo finalizado impreso en 3D

La impresora 3D empleada es modelo Zortrax M200, propiedad de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería del Diseño (ETSID).

Debido a emplear la tecnología de cama caliente, se ha podido hacer uso de un plástico de mayor calidad que las bobinas de PLA, características de las impresoras de cama fría. En la siguiente tabla se muestran las propiedades de los posibles materiales a emplear con en este modelo de impresora, destacando el empleado Z-HIPS

	Superficie	Dureza	Elasticidad	Resistencia al impacto	Resistencia a la tracción	Deformación
Z-ABS	Mate	Media	Media	Media	Baja	Media
Z-ULTRAT	Semi-Mate	Alta	Alta	Media	Baja	Baja
<b>Z-HIPS</b>	<b>Mate</b>	<b>Baja</b>	<b>Media</b>	<b>Alta</b>	<b>Alta</b>	<b>Muy baja</b>
Z-GLASS	Brillo	Media	Alta	Media	Alta	Muy baja
Z-PETG	Brillo	Media	Alta	Media	Alta	Muy baja

Tabla 12 - Comparativa de características de materiales para la impresora 3D

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 4.4 Entrada/Salida de aire

Se ha escogido para la expulsión de los gases de la cabina una bomba de membrana modelo MZ 2C de Vacuubrand con resistencia química. Éstas son especialmente empleadas para vapores y gases corrosivos, proporcionando alta capacidad de aspiración a vacío bajo.

La entrada se ha implementado en el mismo lateral que la salida dado que es el lugar idóneo para que no interfiera el flujo de aire directamente sobre el jet del electrospray. La entrada dispone de un macho donde se conecta mediante tubo de poliuretano la toma de aire desde el compresor, o una bala de aire comprimido sintético.

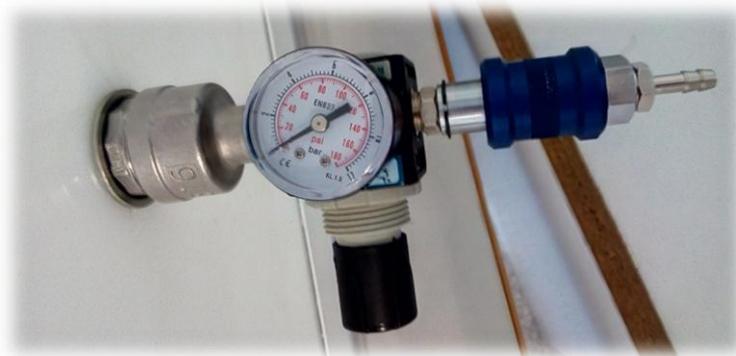


Figura 35 - Conjunto entrada de aire comprimido

## 4.5 Seguridad eléctrica, conexión de las masas a tierra

Debido a las diferencias de potencial exigidas por el proyecto, debe encontrarse totalmente aislada. La superficie de trabajo está cubierta de polietileno PEHD para evitar las descargas, pero ésto también favorece la aparición de cargas estáticas.

Con tal de evitar derivaciones, se ha instalado una regleta especial para la conexión de las masas en la parte trasera de la cabina (conector de puesta a tierra). Esta regleta se conectara al conductor de protección (PE) de la instalación eléctrica del laboratorio. El conductor de protección está conectado a la puesta a tierra de la instalación eléctrica del CBIT, facilitando de esta forma la derivación a tierra de posibles corrientes de defecto (en caso de avería de los elementos eléctricos). A esta regleta estarán conectadas la carcasa de la bomba para jeringuillas, la pinza eléctrica de conexión del colector y una conexión dispuesta en uno de los tornillos de la estructura ranurada.

## **TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

También estará conectada a esta regleta el apantallamiento del adaptador de la bomba de jeringuillas. Para ello se ha modificado el cable, añadiéndole la malla para la protección de posibles derivaciones a la red. Por último, el conector de puesta a tierra se conectará al conductor de protección de la red, junto con la conexión de los conductores fase-neutro.

El código de colores para los conductores es negro para la fase, azul para el neutro y verde-amarillo para los conectores de puesta a tierra.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 5. Visión artificial, procesamiento de imagen

Una vez finalizada la cabina, tras la realización de los ensayos, es necesario el procesamiento de imagen de las muestras mediante visión artificial.

Se han empleado dos software específicos para este fin: Sherlock e ImageJ

### 5.1 Sherlock

El Sherlock es un programa de Visión Artificial que aúna los siguientes procesos de obtención:

- Preprocesado de imagen: son las operaciones que mejoran la calidad de la imagen.
- Segmentación: Divide la imagen en los diferentes objetos de estudio.
- Descripción: Obtiene las características de dichos objetos.
- Reconocimiento: Identificación de objetos.
- Interpretación: Asocia significados y características a objetos.

Los citados pasos son los necesarios para cualquier programa de visión artificial. El Sherlock facilita estos procesos de una forma intuitiva, pero también existe la posibilidad de realizar el programa mediante código. Los scripts son opcionales y se pueden emplear para apoyo del programa o realizarlo puramente como programación. En este caso, se ha decidido por facilidad hacer un programa mixto.

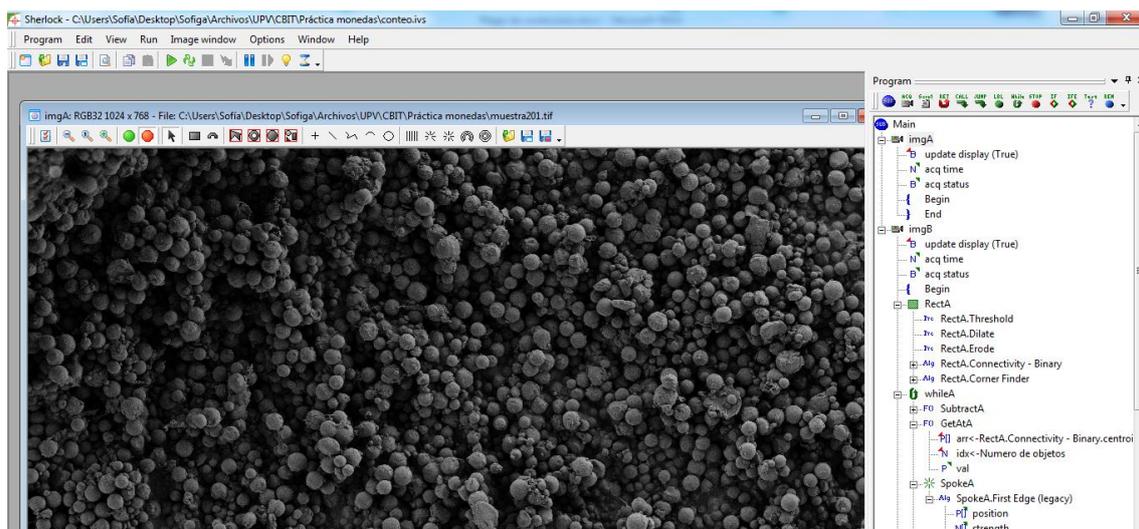


Figura 36 - Vista general del programa Sherlock

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

1. En primer lugar, hemos de **preprocesar** la imagen. Para ello, hemos de editar el rectángulo que hemos identificado como área de trabajo. Se han de añadir los siguientes preprocesos

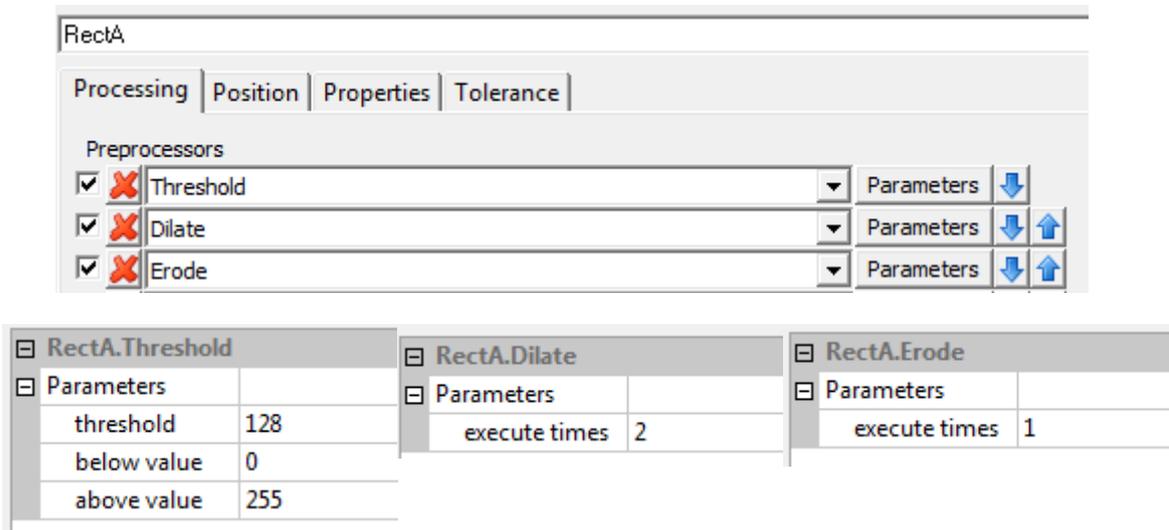


Figura 37 - Características de preprocesado de imagen

El objetivo del efecto threshold es contrastar la imagen de tal forma que solo queden siluetas en blanco y negro. Dilatar y erosionar sirve para expandir o contraer los pixels de la imagen, definiendo mejor los bordes.

2. En la parte inferior de a edición del rectángulo, se pueden observar los “algorithms”. Para el uso de éstos, hemos de definir las variables a tratar. Existen diferentes tipos de variables. Para declararlas hay que presionar sobre la inicial del tipo que se desea y renombrarla como se desee.

N: number; S: string; B:boolean; P: point; L: line; N[]: number array; S[]: string array; B[]:boolean array; P[]: point array; L[]: line array



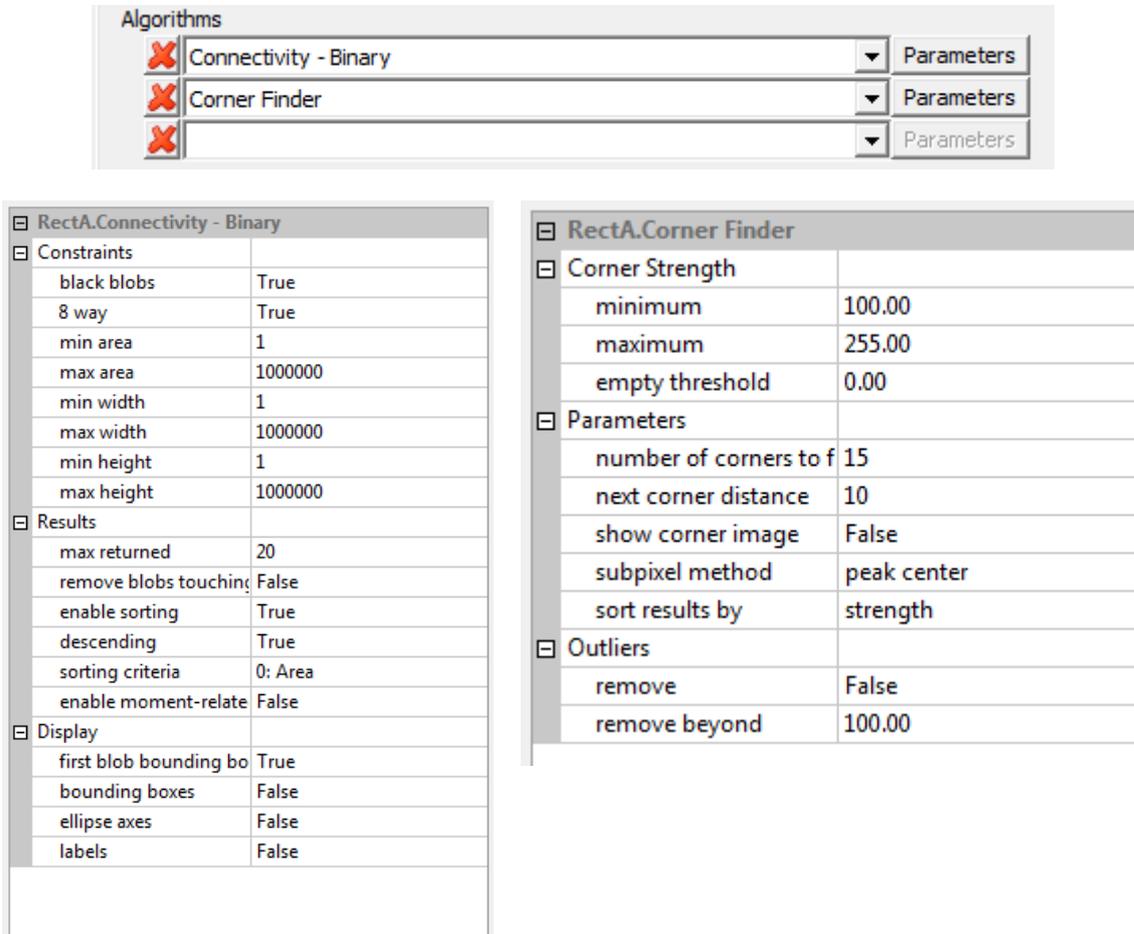
Figura 38 - Pestaña de variables y arrays

Definimos como N las variables “Número de objetos” y “Número de esquinas”; y N[] “Distancia esquinas”.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

Estas variables formarán parte de los parámetros de los algoritmos que definamos. Añadimos los siguientes:



The image shows a software interface for configuring algorithms. At the top, there is a list of algorithms under the heading 'Algorithms'. Three algorithms are listed: 'Connectivity - Binary', 'Corner Finder', and an empty row. Each has a red 'X' icon and a 'Parameters' button. Below this, two detailed parameter tables are shown for 'RectA.Connectivity - Binary' and 'RectA.Corner Finder'.

RectA.Connectivity - Binary	
Constraints	
black blobs	True
8 way	True
min area	1
max area	1000000
min width	1
max width	1000000
min height	1
max height	1000000
Results	
max returned	20
remove blobs touching	False
enable sorting	True
descending	True
sorting criteria	0: Area
enable moment-relate	False
Display	
first blob bounding bo	True
bounding boxes	False
ellipse axes	False
labels	False

RectA.Corner Finder	
Corner Strength	
minimum	100.00
maximum	255.00
empty threshold	0.00
Parameters	
number of corners to f	15
next corner distance	10
show corner image	False
subpixel method	peak center
sort results by	strength
Outliers	
remove	False
remove beyond	100.00

Figura 39 - Características de los algoritmos

Connectivity – Binary se encargará del conteo de las microesferas mediante el área. Para ello hemos de definir un área mínima y máxima, así como las cantidades límite de microesferas que suponemos encontrar. El Corner Finder definirá los contornos. Para poder operar con esos valores hemos de arrastrar las variables que hemos creado al parámetro que sea del mismo tipo para cada algoritmo:

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

3. Haciendo click derecho sobre “img B” del programa se abre el menú de operaciones. Éstas están organizadas según su funcionalidad.

Click derecho sobre imgB y General → while, para crear el bucle del programa.

*Subtract* lo que hace es, partiendo del número de objetos que encuentre, ir restando una cantidad (en este caso, 1) para analizar las áreas por separado.

Asignamos la variable N “Numero de objetos” a number y en [add input] aparece una ventana emergente al clicar sobre “Connect constant”

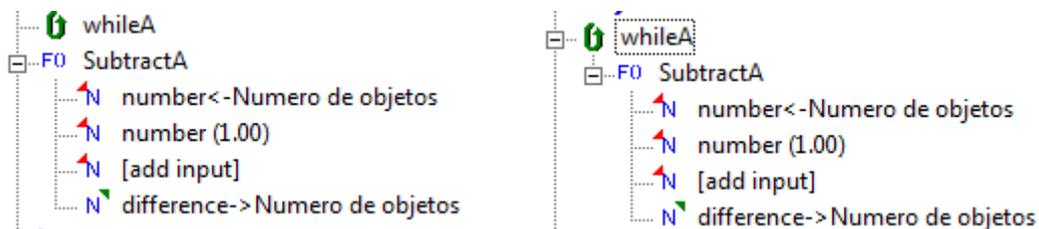


Figura 40 - Orden de funciones

Es importante cómo estén colocadas las funciones en el árbol del programa. Si una función queda fuera del While, hay que arrastrarla dentro de él.

A continuación añadimos la función GetAt, ésta asigna las características de área y centro para definir las µesferas que estamos buscando.

Para almacenar los centros, click derecho: Array:Point -> GetAt. Dentro de la función podemos observar como uno de los parámetros que está esperando es un Point array (P[]).

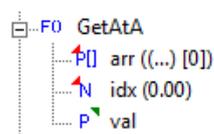


Figura 41 - Parámetros de la función GetAtA

Hemos de arrastrar de la función anterior ConnectivityBinary el array que guarda los centros de las µesferas ( P array[] ) y llevarla al GetAtA. En el parámetro idx (N) se indica el número de veces que se desea realizar la función. En el caso que nos ocupa, deberemos arrastrar a ese parámetro la variable “Numero de objetos” (N).

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

Para el área nos interesa una función que recoja en vez de un array de puntos, un array de números. Para ello clickamos sobre Array:Number -> GetAt, y arrastramos el parámetro array de números del ConnectivityBinary ( N area[] ). Añadimos de nuevo la variable “Numero de objetos” a N idx. El resultado ha de ser el siguiente:

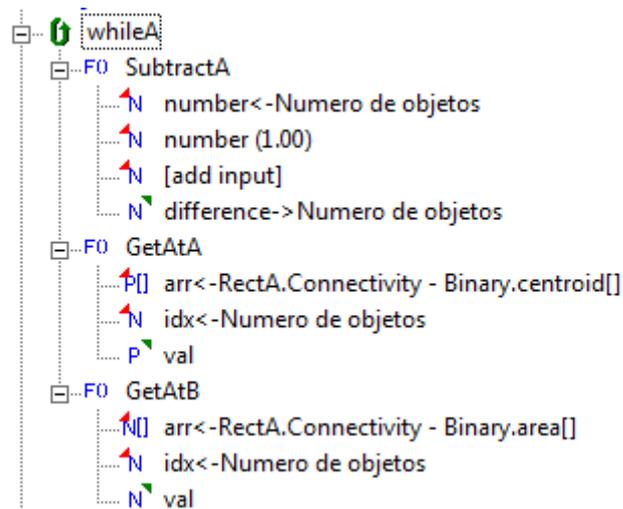


Figura 42 - Ejemplo de programa

En el menú de operaciones encontramos String-> PrintfNum. Esta función se emplea para asociar el área al objeto en cuestión.

Generamos una variable string (S) y la llamamos Area. La asociamos a PrintfNum presionando sobre formatting y rellenando el cuadro emergente como se muestra en la figura. Ésto indica que redondeará el valor del área con dos decimales.

Arrastramos el parámetro val (N) del GetAt del área al number (N) del PrintfNum.

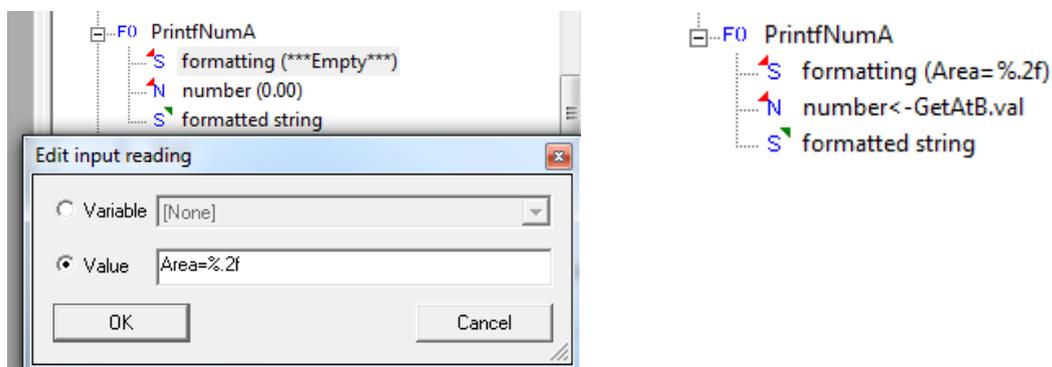


Figura 43 - Ventana emergente para parámetros de PrintfNum

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

Para que aparezca el área escrita sobre los objetos hemos de ir a IO: Annotations -> Text. Lo que queremos es que aparezca en el centro de la esfera, por lo que arrastramos a location el valor "val (P)" de la función GetAt que busca los centros.

Para que aparezca la cifra en la etiqueta arrastramos a label (S) el string del PrintfNum.

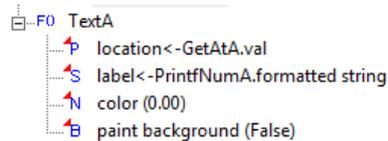


Figura 44 - Parámetros de la función Text

4. El siguiente paso es clasificar en el bucle las microesferas según su tamaño. Para ello se han creado una serie de comandos "if", tantos como tamaños interesa registrar. Dependiendo del zoom empleado en la imagen habrá que emplear un área mayor o menor.

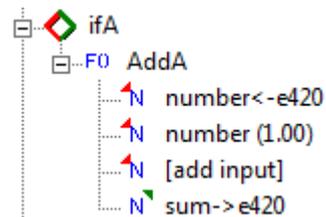
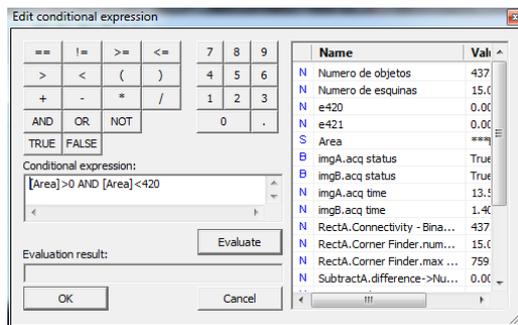


Figura 45 - Detalles función IF

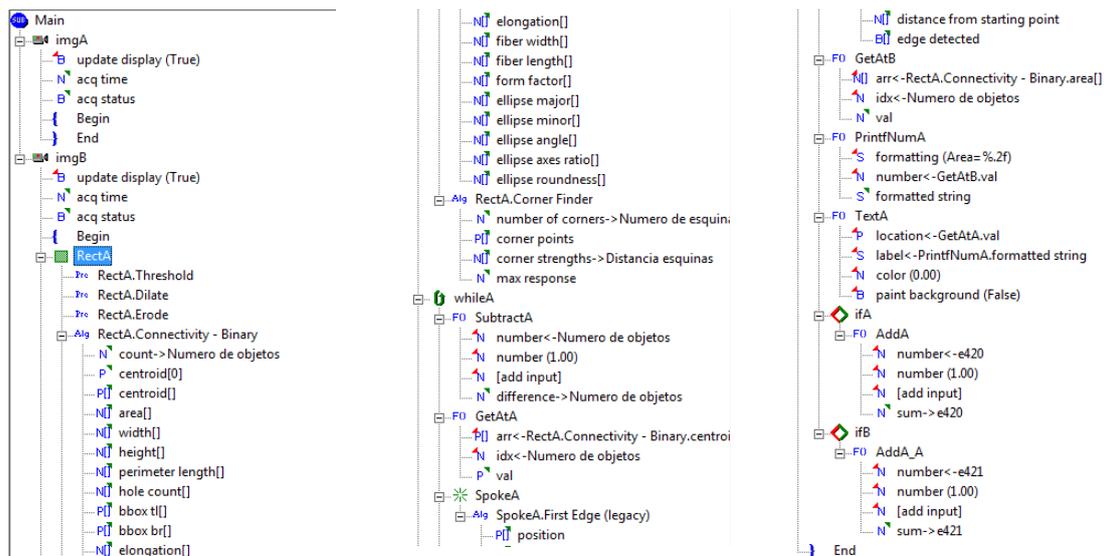


Figura 46 - Código resumido del programa

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 5.2 Image J

El Image Fiji es un software empleado para procesamiento de imágenes científicas. No es tan completo ni se encuentra tan desarrollado como el Sherlock, pero ciertamente para el fin que ocupa este proyecto es la mejor opción. Su inconveniente es que las imágenes deben de encontrarse casi completamente preprocesadas para una caracterización óptima, y que las partículas no deben encontrarse solapadas.

Al tratarse de imágenes de alta definición realizadas con el microscopio de barrido FESEM, las sombras de las partículas complicarán la buena adquisición. Así pues, se procede a explicar cómo realizar la medición de diámetros mediante una imagen tomada con la lente InLens, en la cual se encuentran los bordes diferenciados.

En primer lugar hay que fijar la escala de la imagen. Para ello clickando sobre la herramienta línea seleccionamos el segmento de escala de la imagen que queremos procesar (para que la línea se mantenga horizontal, pulsar botón Mayus).

Una vez hecha la selección, Analyze → Set Scale. Aparecerá en “Distance in pixels” la longitud de la recta amarilla que hemos seleccionado. Rellenar el resto de casillas según la escala que se ha escogido tal y como muestra la figura:

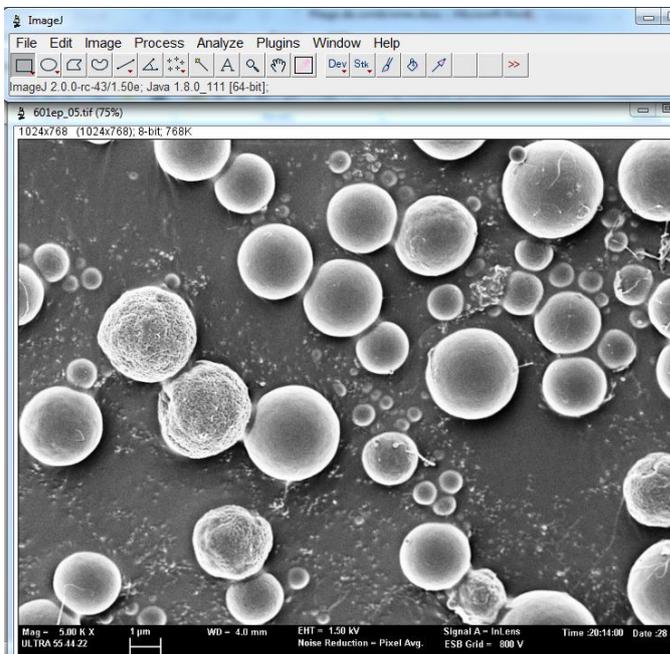


Figura 47 - Pantalla principal software ImageJ

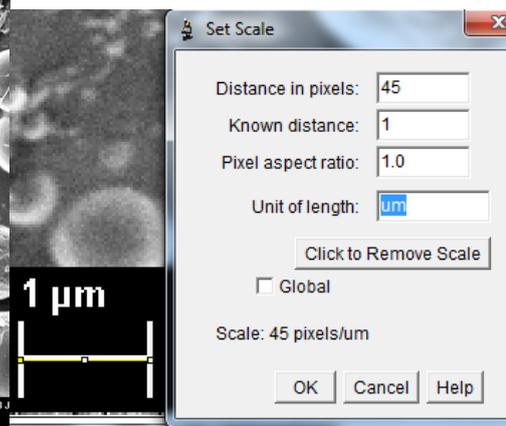


Figura 48 - Selección de escala

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

A continuación, Process → Subtract Background. Esto hará que se diferencie el fondo de las partículas a analizar. Hay que procurar que la casilla Light Background no esté seleccionada.



Figura 49 - Proceso Subtract background

Con Image → Adjust → Threshold ajustamos la selección de grises antes de binarizar. Dependiendo de la imagen será necesario ajustar manualmente la barra de Threshold para que abarque a más o menos partículas, la selección se queda en color rojo.

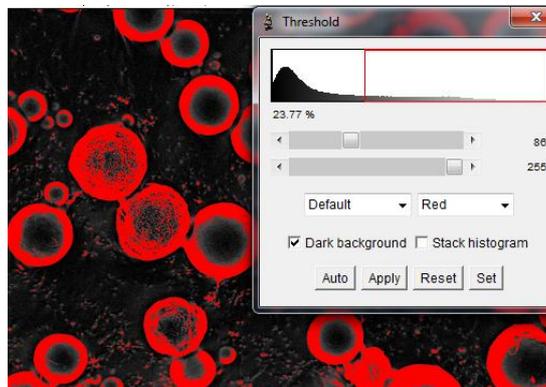


Figura 50 - Ajustes Threshold

A continuación con Process → Binary → Make Binary la imagen elimina la escala de grises, convirtiendo la imagen únicamente a blanco y negro. Pevio al paso siguiente conviene emplear las herramientas de pincel o pintar para acabar de cerrar las circunferencias que el programa no ha completado. Una vez hecho esto Process → Binary → Fill Holes

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

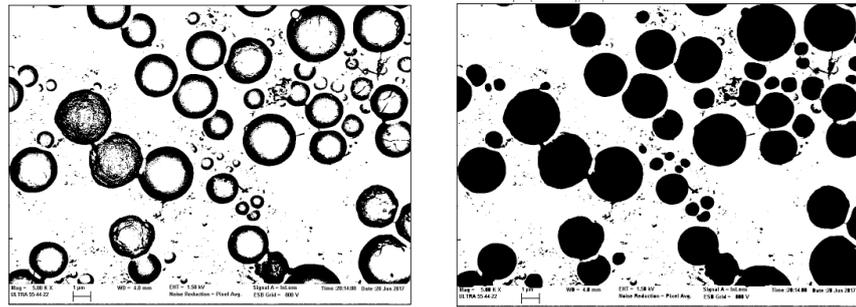


Figura 51 - Proceso binario Fill holes

Una vez hecho esto, Analyze → Analyze particles. En esta ventana se puede seleccionar el grado de circularidad mínimo esperado, así como los límites del tamaño.

The 'Analyze Particles' dialog box is shown with the following settings:

- Size ( $\mu\text{m}^2$ ): 1-Infinity
- Pixel units
- Circularity: 0.00-1.00
- Show: Masks
- Display results
- Exclude on edges
- Clear results
- Include holes
- Summarize
- Record starts
- Add to Manager
- In situ Show

The 'Results' window displays the following table:

File	Edit	Font	Results			
	Area	Feret	FeretX	FeretY	FeretAngle	MinF
1	0.434	0.855	9.978	0.756	8.973	0.75
2	4.202	2.418	10.178	1.911	143.973	2.30
3	5.424	2.840	12.156	3.400	14.036	2.52
4	0.487	0.876	10.022	2.800	35.707	0.77

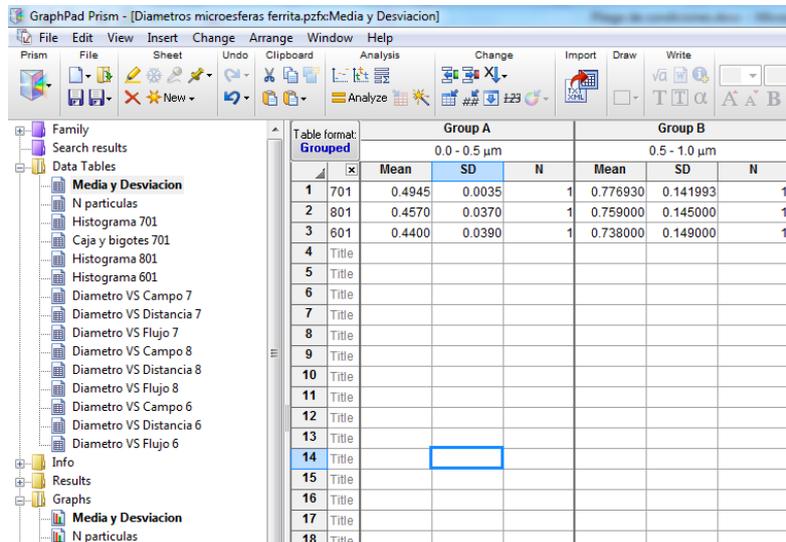
Figura 52 - Analyze particles y resultados

Empleando el Roi Manager es posible seleccionar y deseleccionar elementos para que se tome la medida de las partículas a escoger. Por último, File → Save as para exportar los resultados a una Hoja de Excel y tratar los datos para el análisis de diámetros, desviación y otros.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 5.3 Cálculo estadístico, Prism6



The screenshot shows the GraphPad Prism software interface. The main window displays a data table with the following structure:

		Group A			Group B		
		0.0 - 0.5 $\mu\text{m}$			0.5 - 1.0 $\mu\text{m}$		
		Mean	SD	N	Mean	SD	N
1	701	0.4945	0.0035	1	0.776930	0.141993	1
2	801	0.4570	0.0370	1	0.759000	0.145000	1
3	601	0.4400	0.0390	1	0.738000	0.149000	1
4	Title						
5	Title						
6	Title						
7	Title						
8	Title						
9	Title						
10	Title						
11	Title						
12	Title						
13	Title						
14	Title						
15	Title						
16	Title						
17	Title						
18	Title						

Figura 53 - Pantalla principal software Prism6

El Prism6 es un software que realiza cálculos estadísticos y gráficas de forma sencilla e intuitiva. Para realizar un análisis de varianza (ANOVA) en primer lugar se deben introducir los datos a analizar en un Data Table tal y como se muestra en la Figura 53. Este fichero es de donde se extraerán las referencias para crear las gráficas.

Seleccionado el fichero de datos creado, ha de clickarse sobre *Analyze* 

Primeramente ha de realizarse un **test de normalidad**. Para ello, Column analyses  $\rightarrow$  Column statistics. En la ventana emergente han de seleccionarse todas las casillas de los test, tal y como muestra la Figura 54.

Cabe destacar que para realizar un ANOVA por lo menos el número de ensayos realizados para cada población de datos (N) ha de ser  $\geq 4$ . En caso contrario, no se podrá realizar un análisis de varianza.

En el nuevo fichero creado automáticamente se muestran los resultados de los test de normalidad D'Agostino&Pearson, Shapiro-Wilk y KS. En el caso en el que el resultado aparezca "Yes" ha de realizarse un **ANOVA** paramétrico, y en el caso de "N too small" ha de ser **no paramétrico**.

Para realizar uno u otro se ha de volver a seleccionar el Data table y pulsar sobre Analyze.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

-Analizar distintas poblaciones a la vez: Grouped Analyses → Two-way ANOVA

-Analizar una población cada vez: Column Analyses → One way ANOVA

De la ventana emergente ha de seleccionarse la pestaña “Multiple Comparisons” y una vez ahí, con el desplegable seleccionar la opción que más se amolde. En el caso de este proyecto es, tal y como muestra la Figura 55, “Within each column, compare rows (simple effects within columns)”.

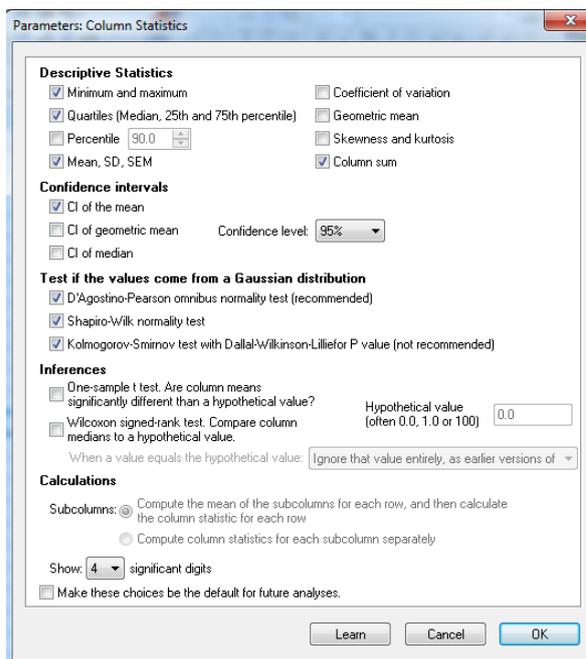


Figura 54 - Ventana emergente de parámetros para test de normalidad

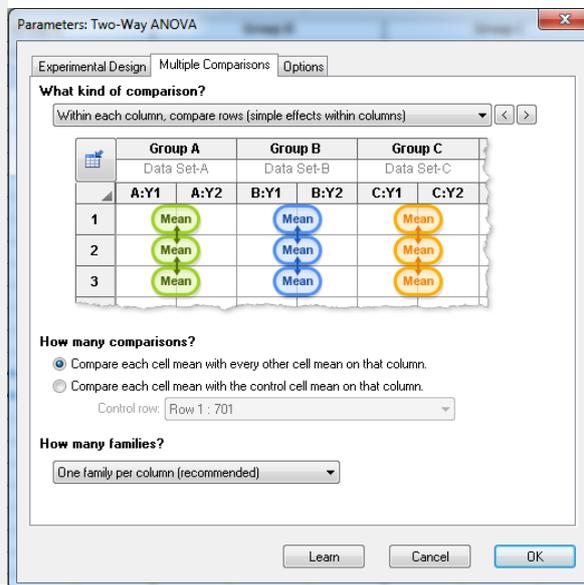


Figura 55 - Two Way ANOVA, selección de tipo de comparación

Se creará un fichero nuevo llamado Multiple comparisons dentro de 2way ANOVA de \*nombre de la tabla de datos\*. Al abrirlo se puede comprobar cómo se ha comparado dato a dato el grado de diferencia o error entre columnas. Los asteriscos (\*) muestran el grado de diferencia significativa, considerándose a partir de tres \*\*\* que la comparación ha de señalarse ( $p > 0.01$ ). A menos de tres o si aparece “ns” (not significant) no se considerará diferencia, en cuyo caso no tendrá que señalarse en el histograma a realizar.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Pliego de Condiciones

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Para crear una **gráfica** sobre el actual fichero de datos: Insert → New Graph of Existing Data. Pulsando dos veces sobre la gráfica generada es posible la edición de colores, ejes y títulos. Teniendo en cuenta el análisis anteriormente realizado, conviene señalar entre las columnas las diferencias significativas para  $p > 0.01$ .

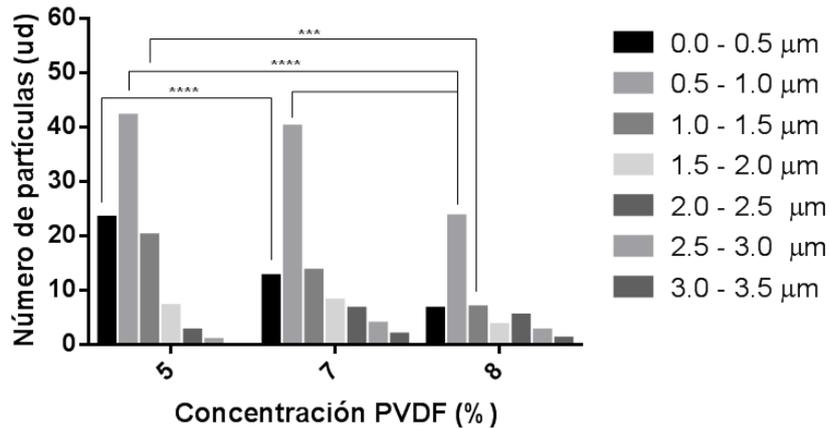


Figura 56 - Ejemplo de histograma con ANOVA realizado

## 6. Pruebas

### 6.1 Prueba de fuga de corriente

Para verificar que el equipo de electro spray esté regulado conforme las normas de seguridad se le aplicará la prueba de fuga de corriente con polaridad inversa, con tierra y neutro abiertos.

#### Condiciones ambientales

Para un proceso de medida eficiente, han de reunirse ciertas condiciones de ambiente para que no se vea afectado el equipo. La temperatura ha de ser entre  $[10,35]^{\circ}\text{C}$  y la humedad relativa debe estar entre 10% y 90%

En primer lugar deberá ser analizado mediante un equipo o analizador de seguridad eléctrica. Un posible analizador de corriente eléctrica es el FLUKE BIOMEDICAL 505 PRO, el cual es específico para el ámbito de laboratorio y cumple con la normativa NFPA 99 y la AAMI ES1. Deberá ser capaz de realizar las pruebas de seguridad sobre el equipo de laboratorio y determinar si existe corriente de fuga, el voltaje de la red de alimentación, comprobar su polaridad y la resistencia del conductor a tierra.



# CAPÍTULO 3

---

## Planos

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Planos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 7. Reproducción de planos mecánicos

En el siguiente capítulo se encuentran los planos detallados de la cabina de electrospray. Se ha realizado un plano de montaje donde se detalla la posición de los elementos, tanto comerciales como mecanizados. Posteriormente se encuentran los planos de los componentes mecanizados y los impresos en 3D.

Para el diseño de la cabina se ha empleado el programa SOLIDWORKS 2016 en versión de Estudiante, facilitado por la Universidad Politécnica de Valencia.

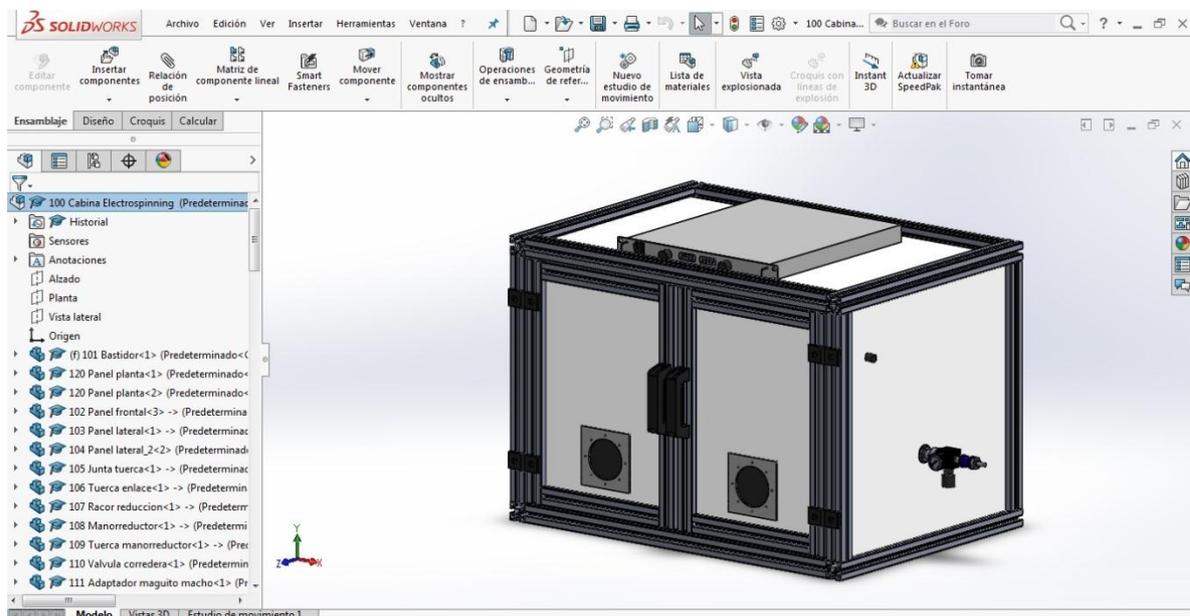


Figura 57 - Interfaz del programa Solidworks con el modelo terminado

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Planos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

En el siguiente conjunto de figuras se puede apreciar con detalle el ensamblaje simulado.

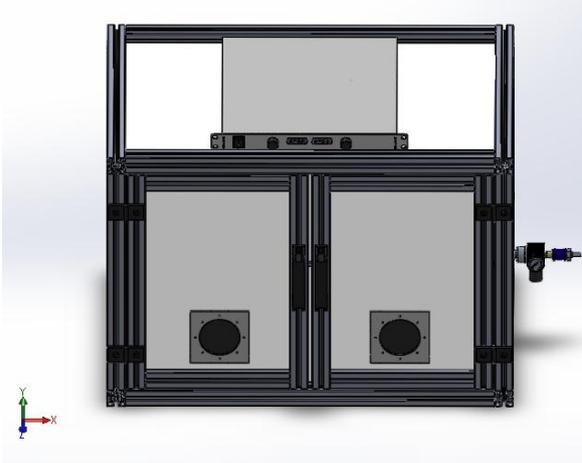


Figura 58 - Cabina de Electropray

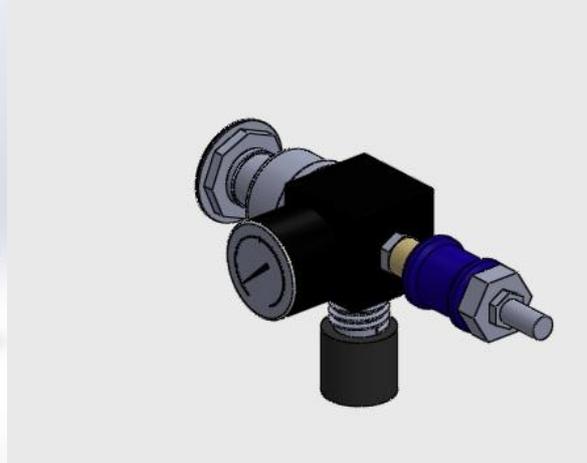


Figura 59 - Conjunto toma de aire comprimido

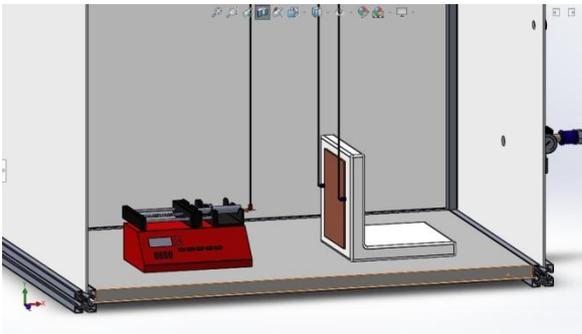


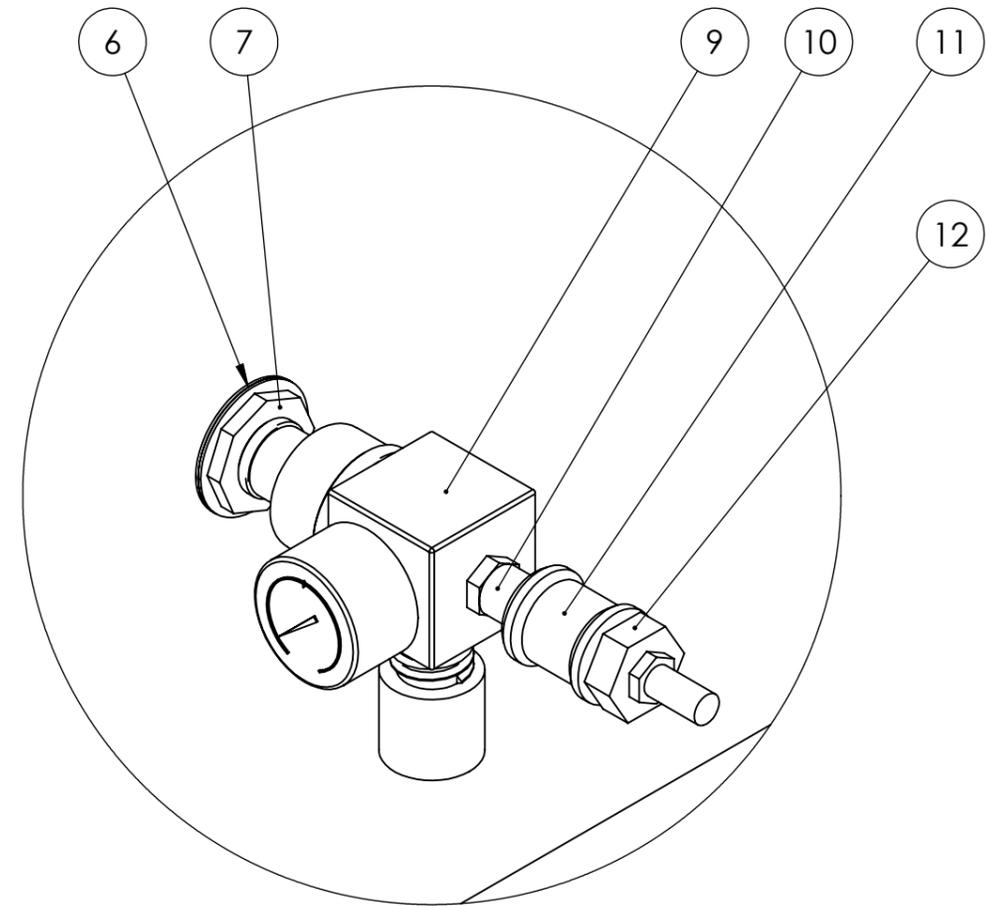
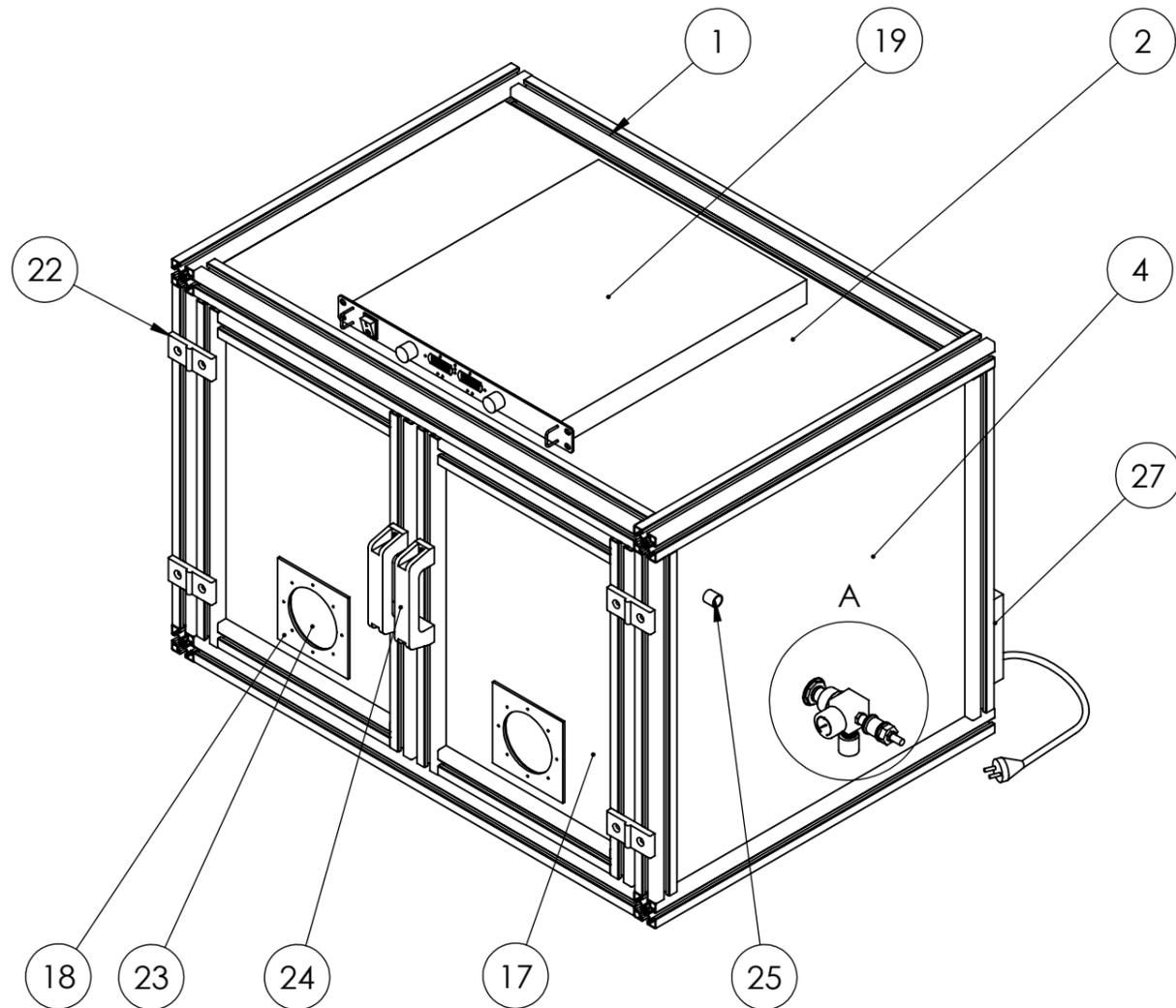
Figura 60 - Interior de la cabina



Figura 61 - Bomba para jeringuillas NE1000



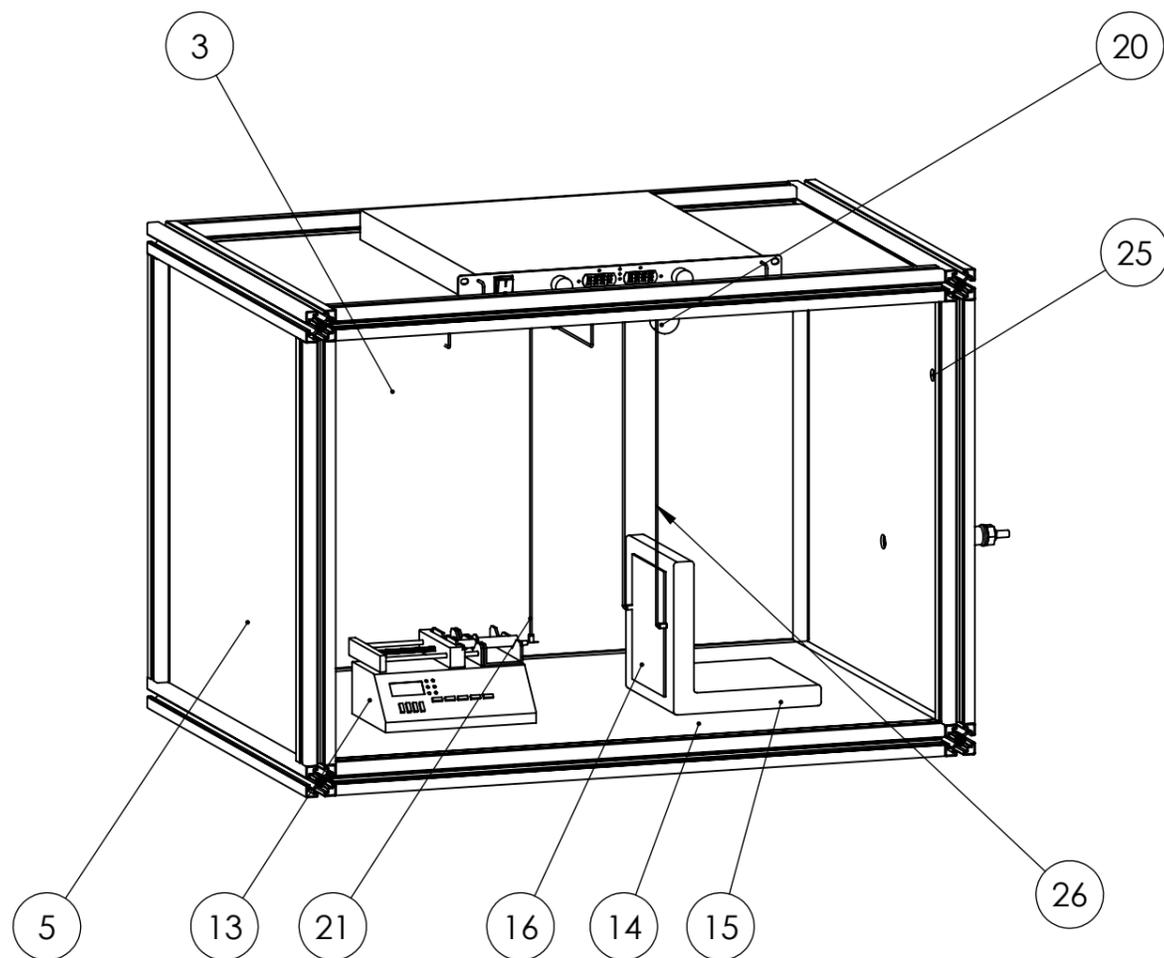
Figura 62 - Fuente de alimentación Glassman FJ 120w, 230V / 0-30kV DC



DETALLE A  
ESCALA 1 : 2

Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.

HOJA 1 DE 3	Formato hoja: A-3	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:10	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 11/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7188 MEDIANA (clarang. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN <b>PLANO DE MONTAJE</b>				PLANO N° <b>1</b>
MATERIAL -		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		

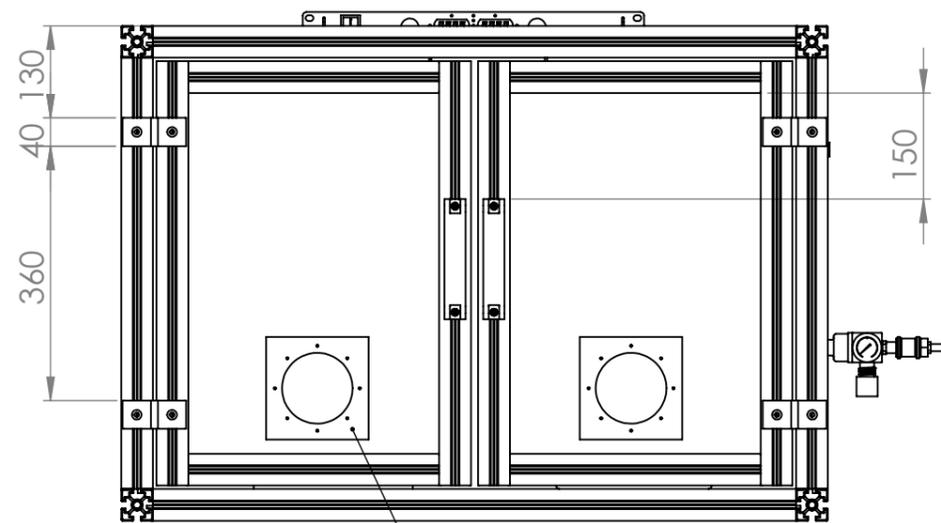
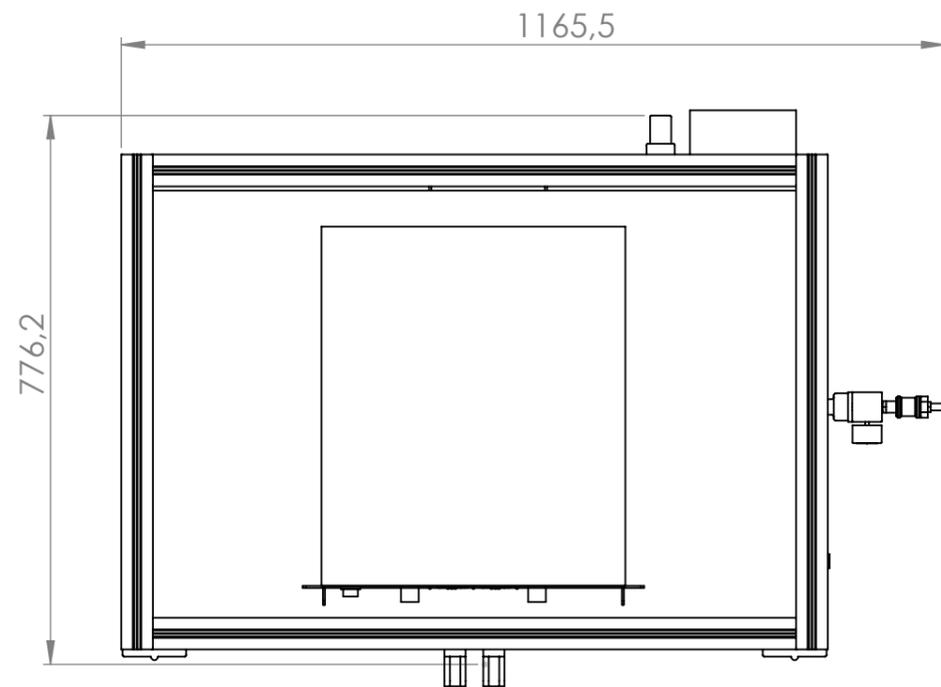


\*Vista interior sin puertas

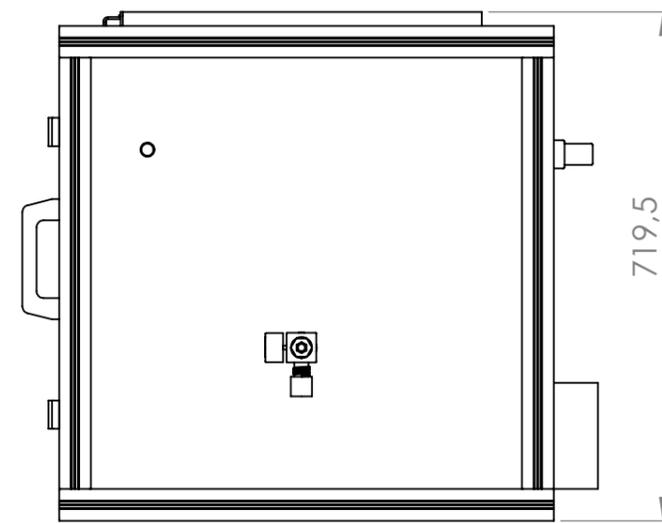
Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.

N.º DE ELEMENTO	DENOMINACIÓN	MATERIAL	CANTIDAD
1	Bastidor	Aluminio	1
2	Panel planta	Polipropileno	2
3	Panel frontal	Polipropileno	1
4	Panel lateral 1	Polipropileno	1
5	Panel lateral 2	Polipropileno	1
6	Junta tuerca	INOX y goma	1
7	Tuerca enlace hexagonal 1"	INOX 316L	1
8	Manguito reducción	INOX 316L	1
9	Manómetro D40 1/8"	-	1
10	Tuerca manorreductor	INOX 316L	1
11	Válvula corredera	INOX 316L	1
12	Adaptador manguito macho	INOX 316L	1
13	Bomba de jeringuillas	-	1
14	Chapa corcho superficie	Poliestireno	1
15	Soporte colector	Poliestireno	1
16	Colector	Cobre	1
17	Cristal puerta	Metacrilato	2
18	Marco guantes	PTFE	2
19	Fuente de alimentación	-	1
20	Higrómetro	-	1
21	Conectores pinzas	-	1
22	Bisagra	Nylon reforzado con fibra de vidrio. Eje de inox	4
23	Guantes dieléctricos	Caucho	2
24	Asa	Plástico Z-HIPS	2
25	Racor salida aire	AISI 316L	1
26	Conectores pinza colector	-	1
27	Envolvente eléctrica	-	1

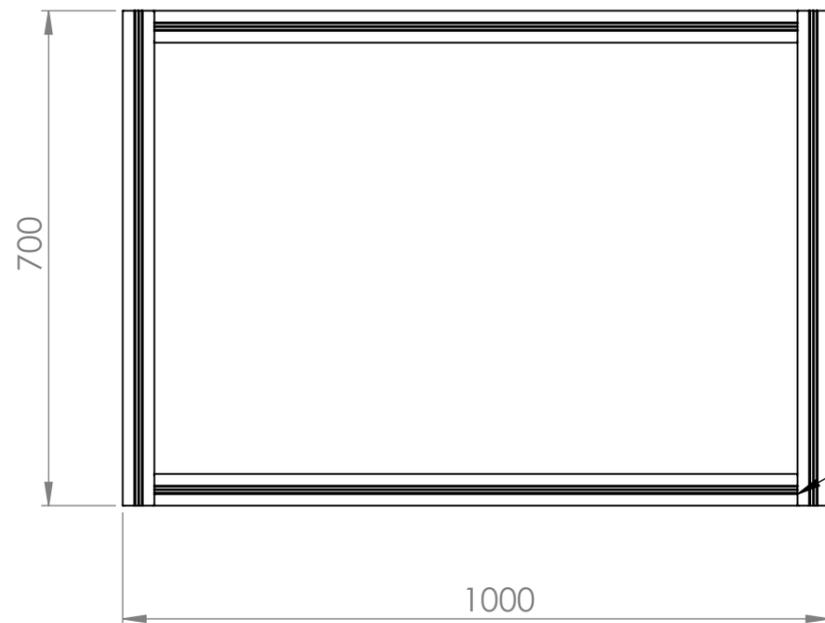
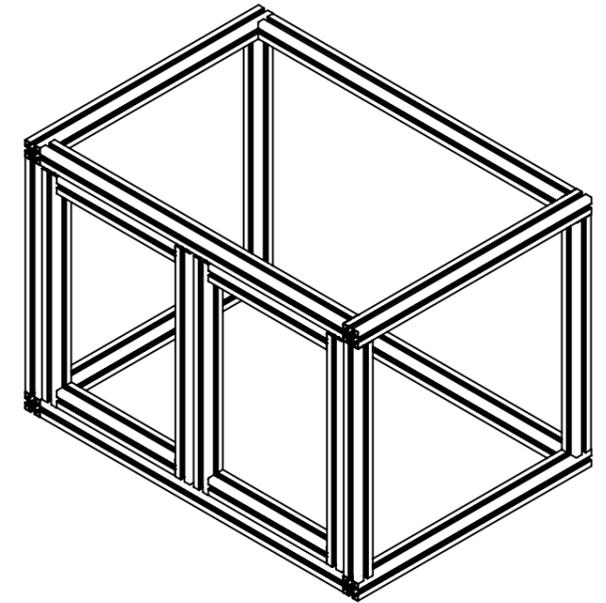
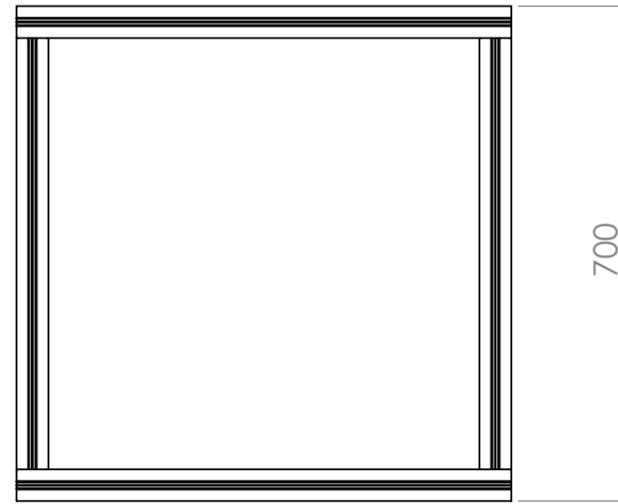
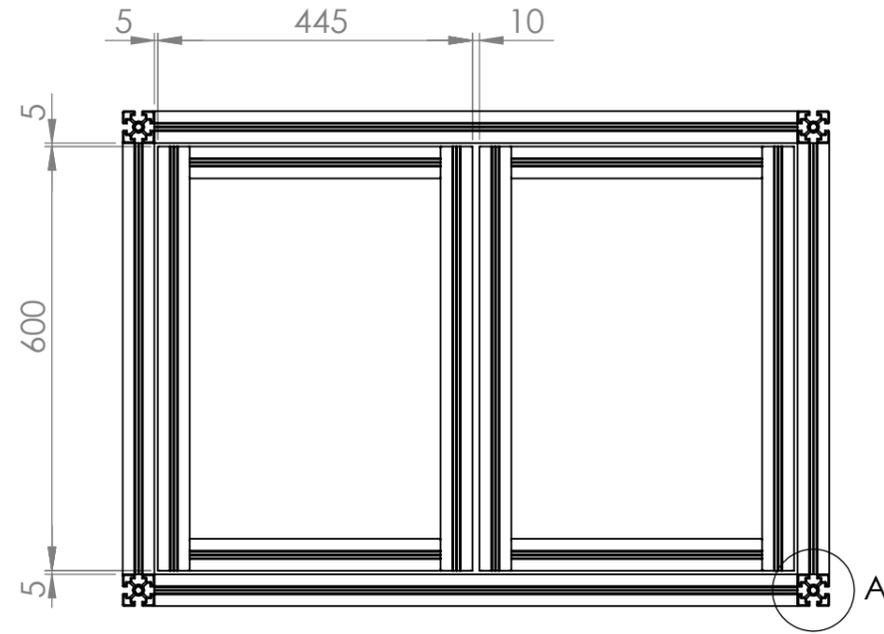
HOJA 2 DE 3	Formato hoja: A-3	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:10	<b>Universidad Politécnica de Valencia</b> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 11/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7188 MEDIANA (clarang. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN <b>PLANO DE MONTAJE</b>				PLANO N° <b>1</b>
MATERIAL -		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		



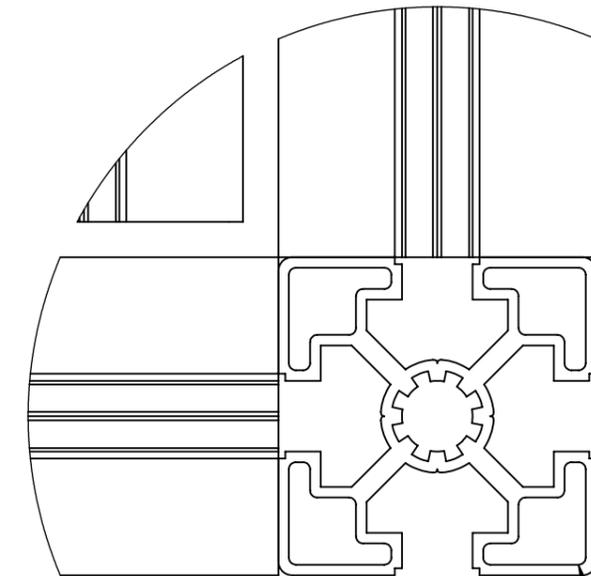
Los marcos se atornillan a M3 a los guantes y las puertas



HOJA 3 DE 3	Formato hoja: A-3	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:10	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 11/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7188 MEDIANA (clarang. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN <b>PLANO DE MONTAJE</b>				PLANO N° <b>1</b>
MATERIAL -		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		



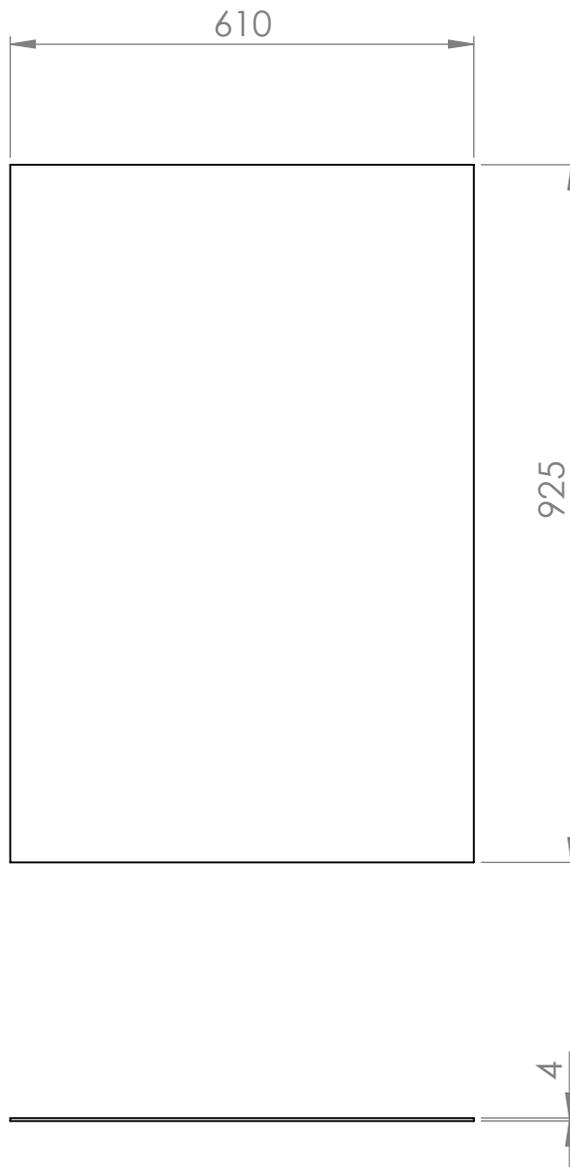
Conectores de unión rápidos Motedis M8



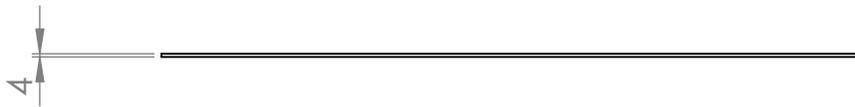
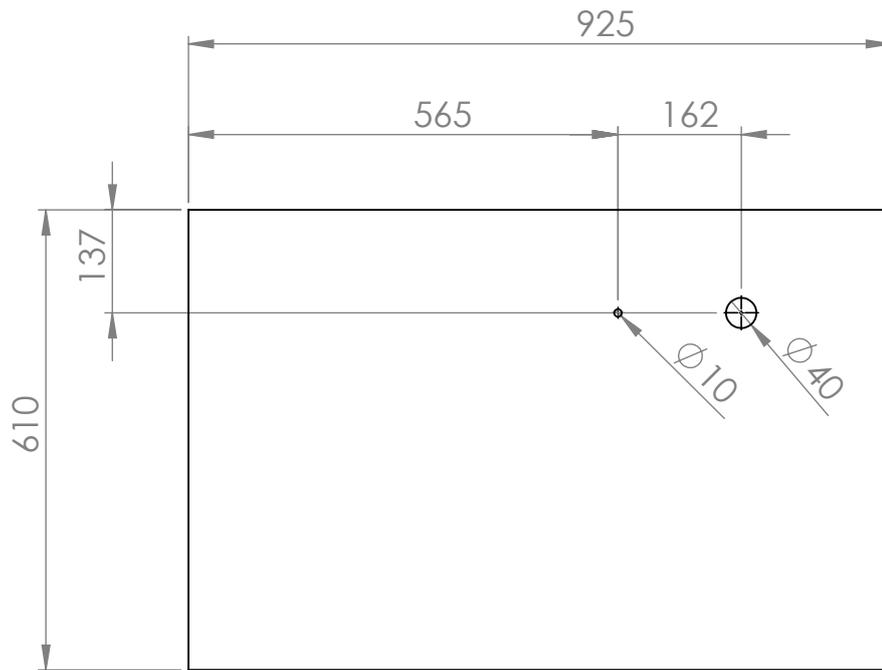
DETALLE A  
ESCALA 1 : 1

Perfil 45x45  
Tipo B Motedis

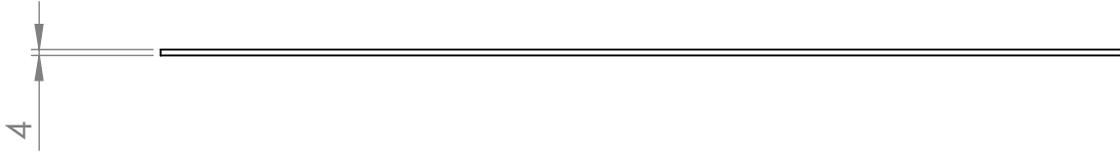
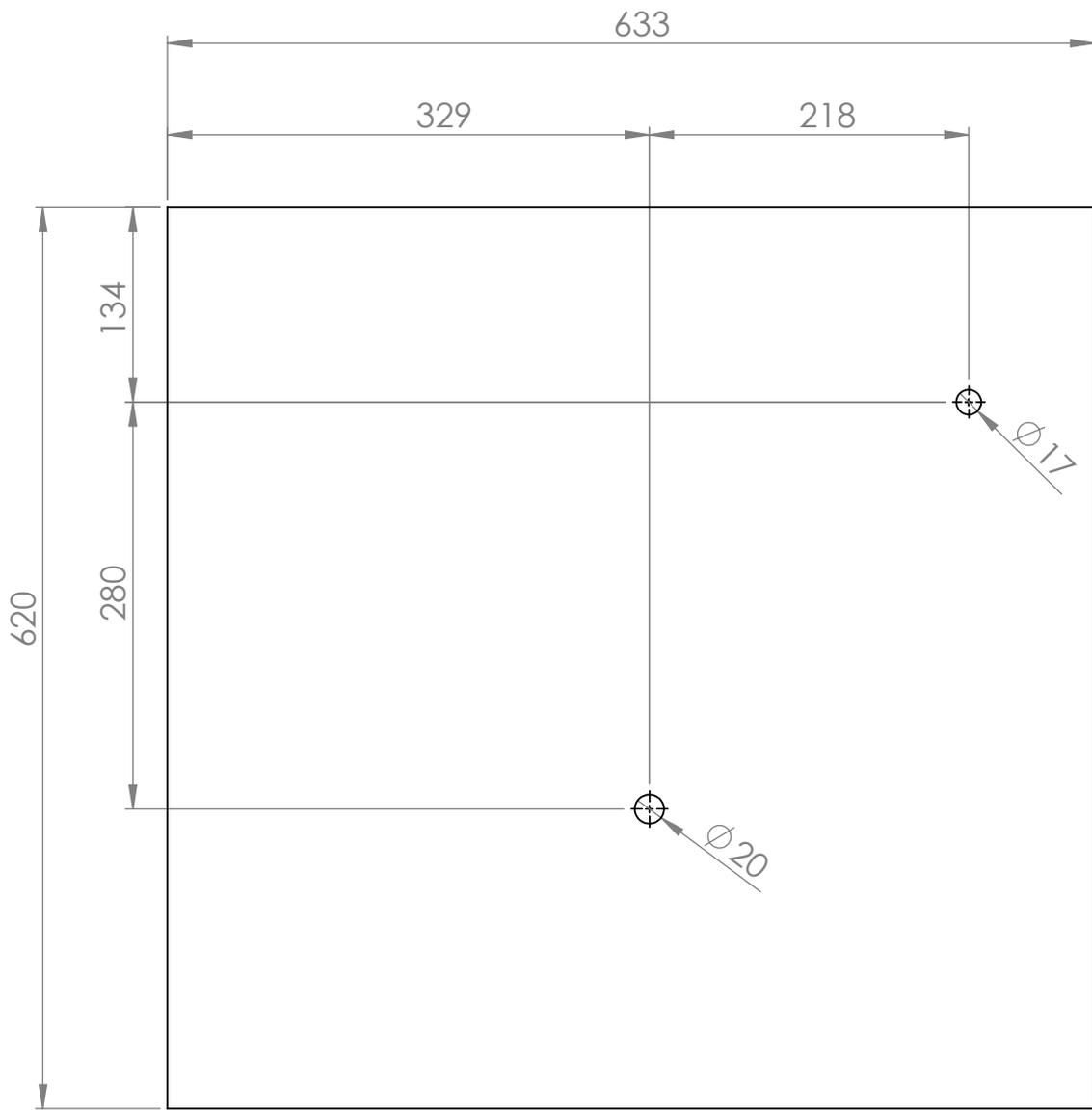
HOJA 1 DE 1	Formato hoja: A-3	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:10	<b>Universidad Politécnica de Valencia</b> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 08/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7188 MEDIANA (clarang. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN <b>Bastidor</b>				PLANO Nº <b>2</b>
MATERIAL Aluminio		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		



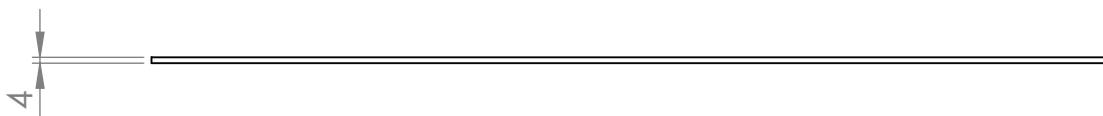
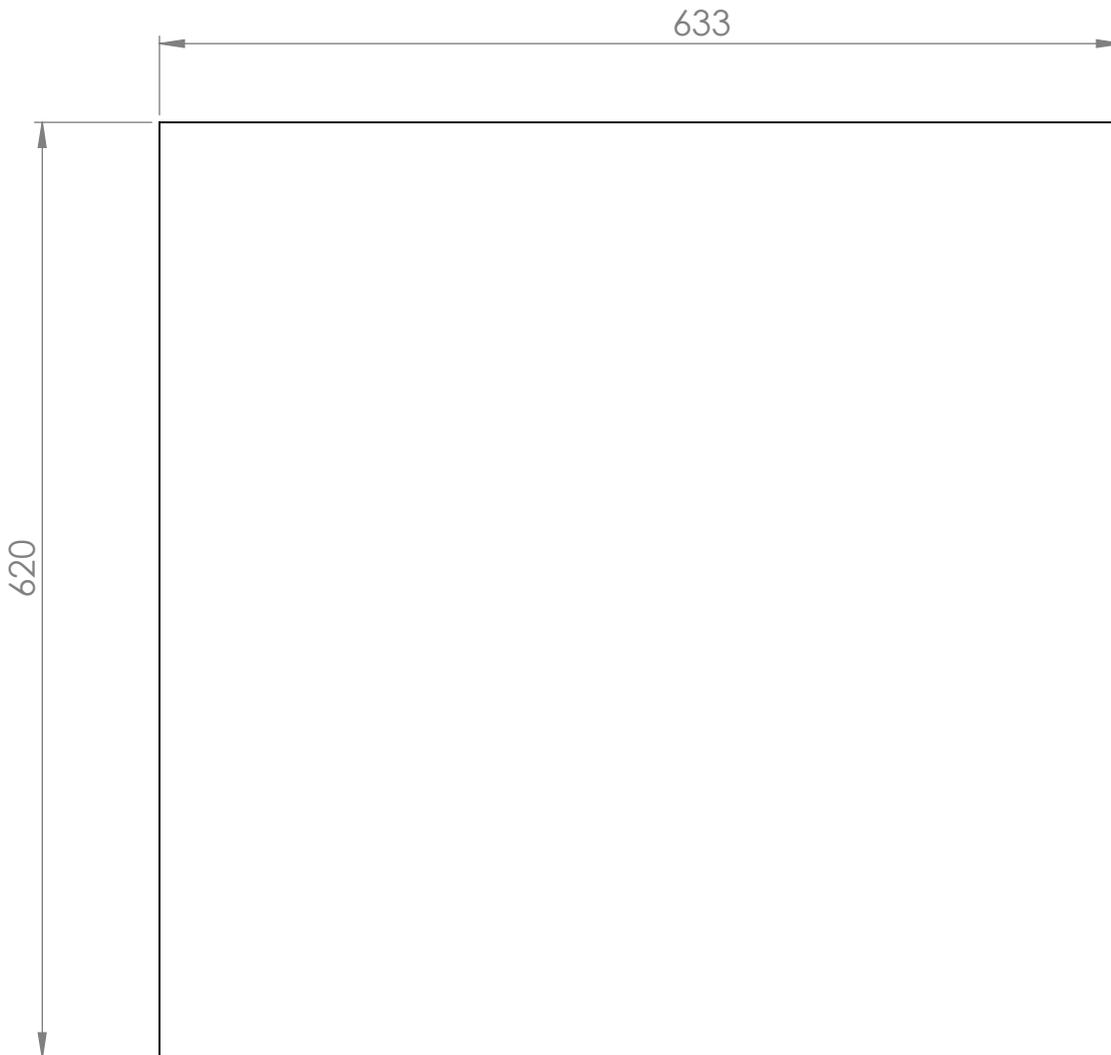
HOJA 1 DE 1	Formato hoja: A-4	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:10	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 08/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7168 MEDIANA (clarranq, virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN				PLANO Nº
<b>Panel planta</b> Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.				<b>3</b>
MATERIAL Polipropileno		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		



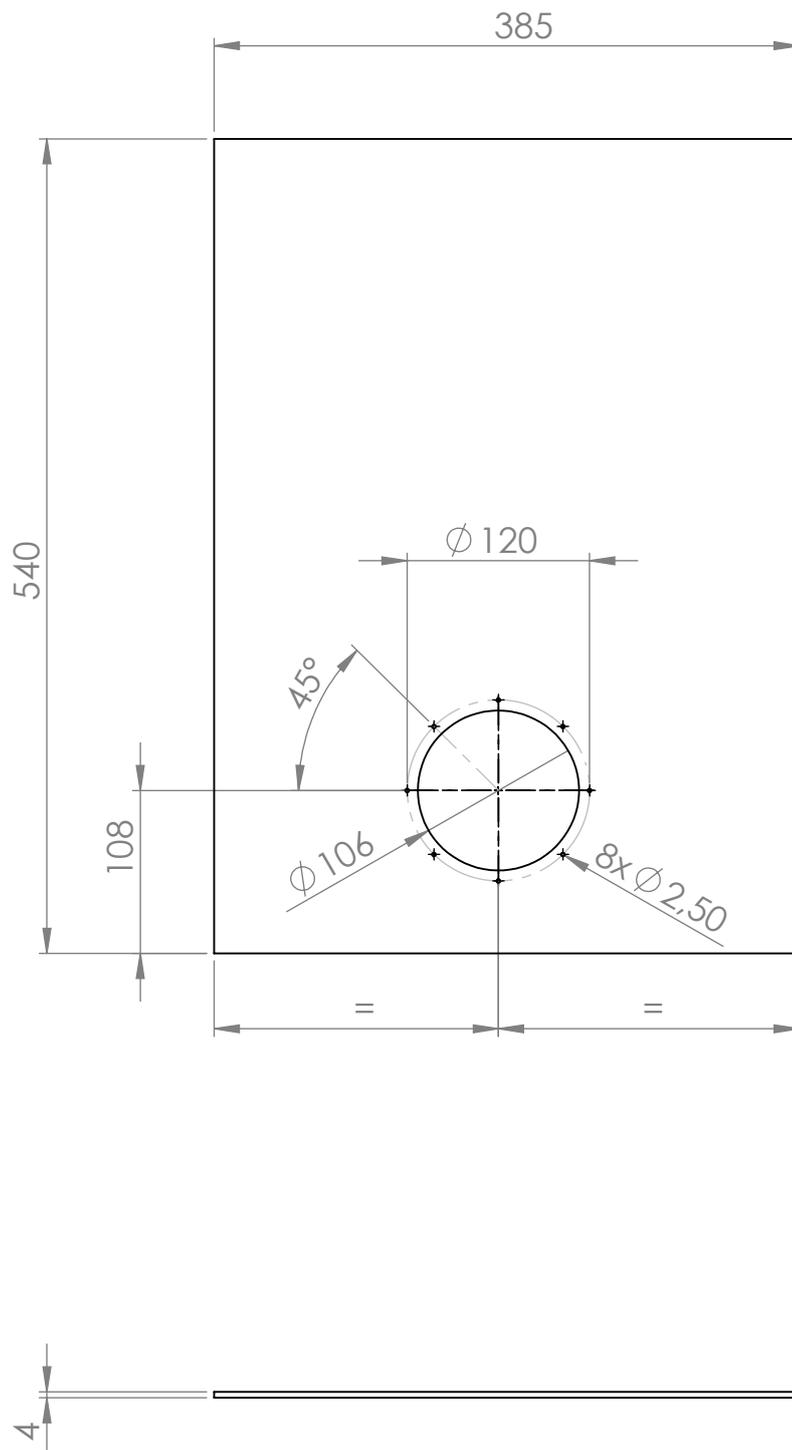
HOJA 1 DE 1	Formato hoja: A-4	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:10	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 08/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7168 MEDIANA (clarraq. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN <b>Panel frontal</b> Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.				PLANO N° <b>4</b>
MATERIAL Polipropileno		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		



HOJA 1 DE 1	Formato hoja: A-4	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:5	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 08/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7168 MEDIANA (clarraq. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN <b>Panel lateral 1</b> Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.				PLANO N° <b>5</b>
MATERIAL Polipropileno		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		

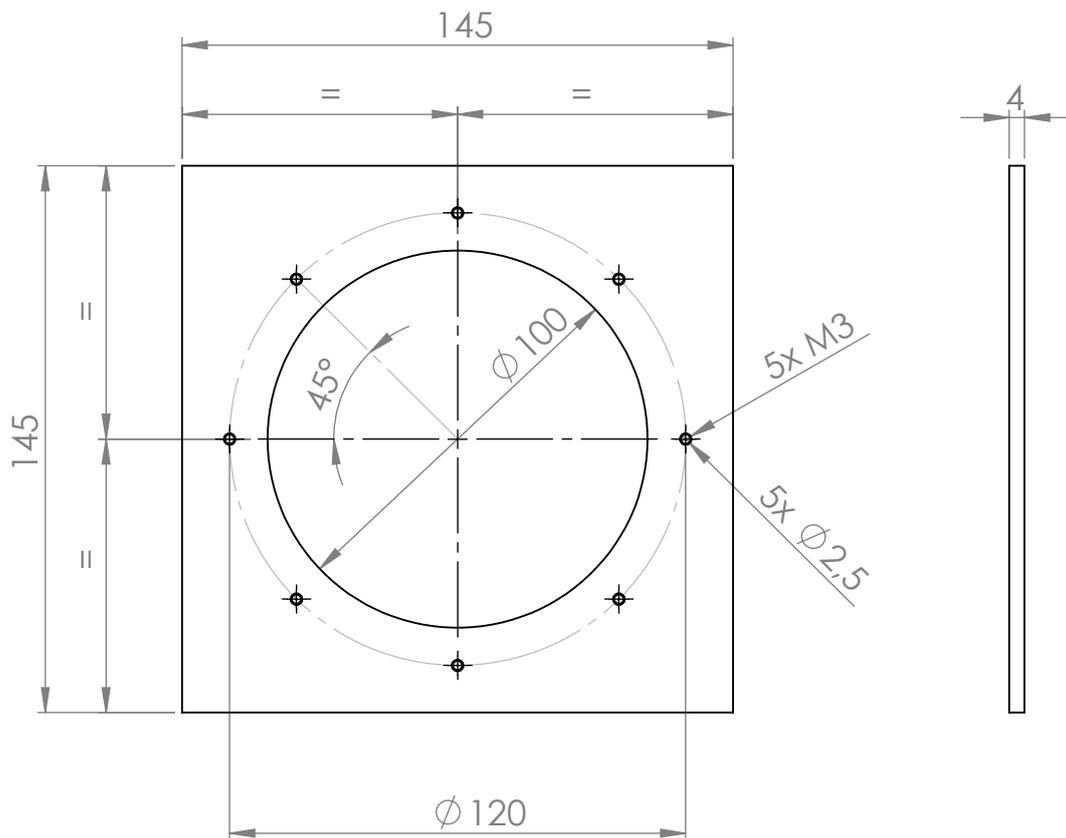


HOJA 1 DE 1	Formato hoja: A-4	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:5	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 08/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7168 MEDIANA (clarranq. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN <b>Panel lateral 2</b> Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.				PLANO N° <b>6</b>
MATERIAL Polipropileno		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		



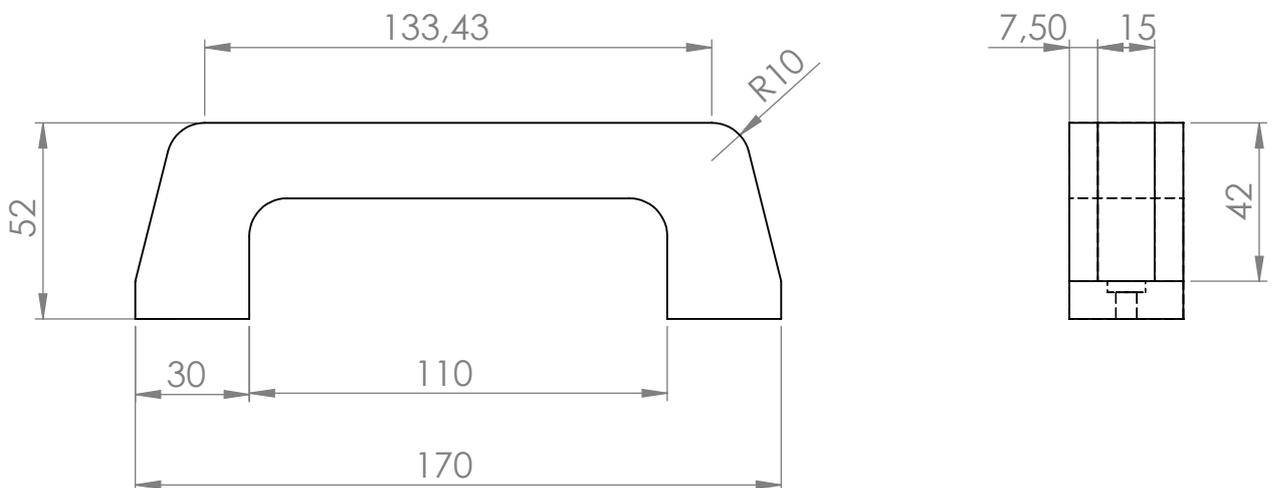
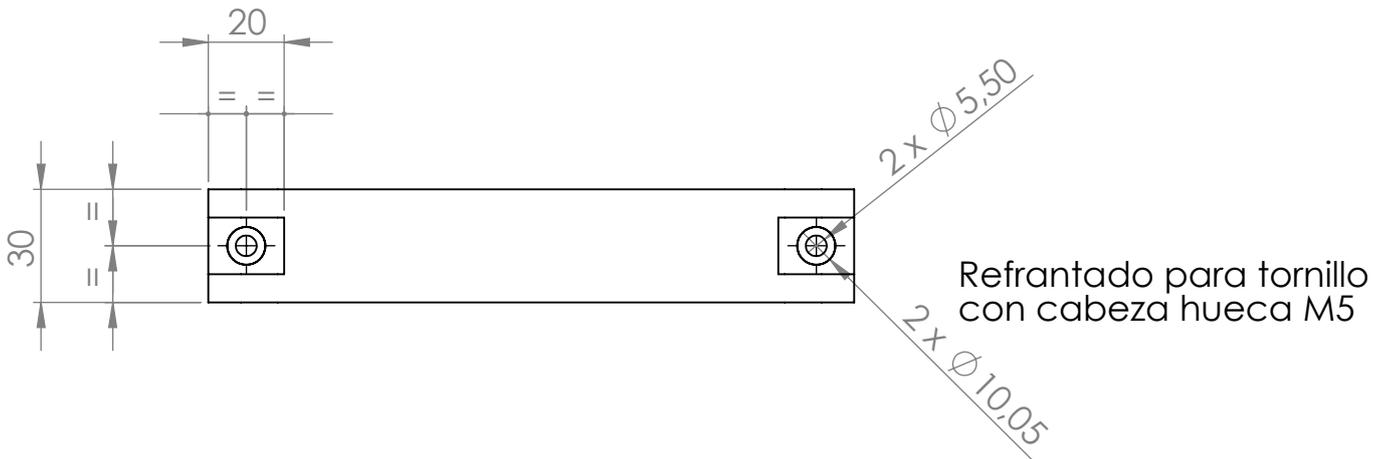
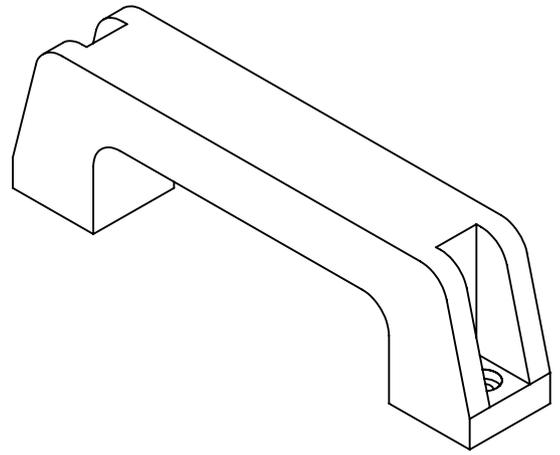
Las perforaciones para tornillo M3 se encuentran equidistantes y a 45°

HOJA 1 DE 1	Formato hoja: A-4	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:5	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 08/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7168 MEDIANA (clarraq. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN				PLANO N°
<b>Cristal puerta</b> Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.				<b>7</b>
MATERIAL Metacrilato		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		

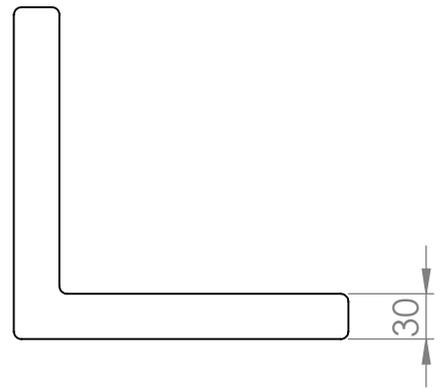
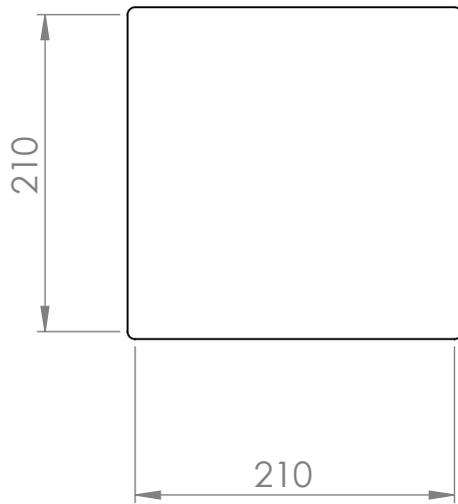
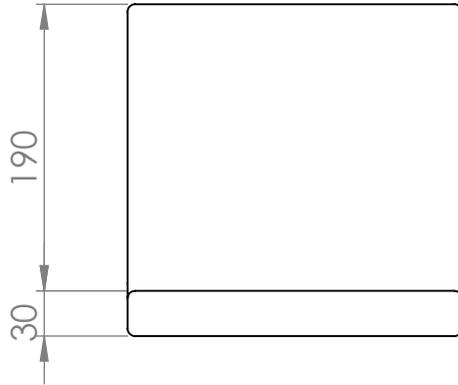


HOJA 1 DE 1	Formato hoja: A-4	DIBUJADO Sofia Chóliz	ESCALA 1:2	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 08/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7168 MEDIANA (clarranq. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN				PLANO N°
<b>Marco guantes</b> Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.				<b>8</b>
MATERIAL PTFE		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		

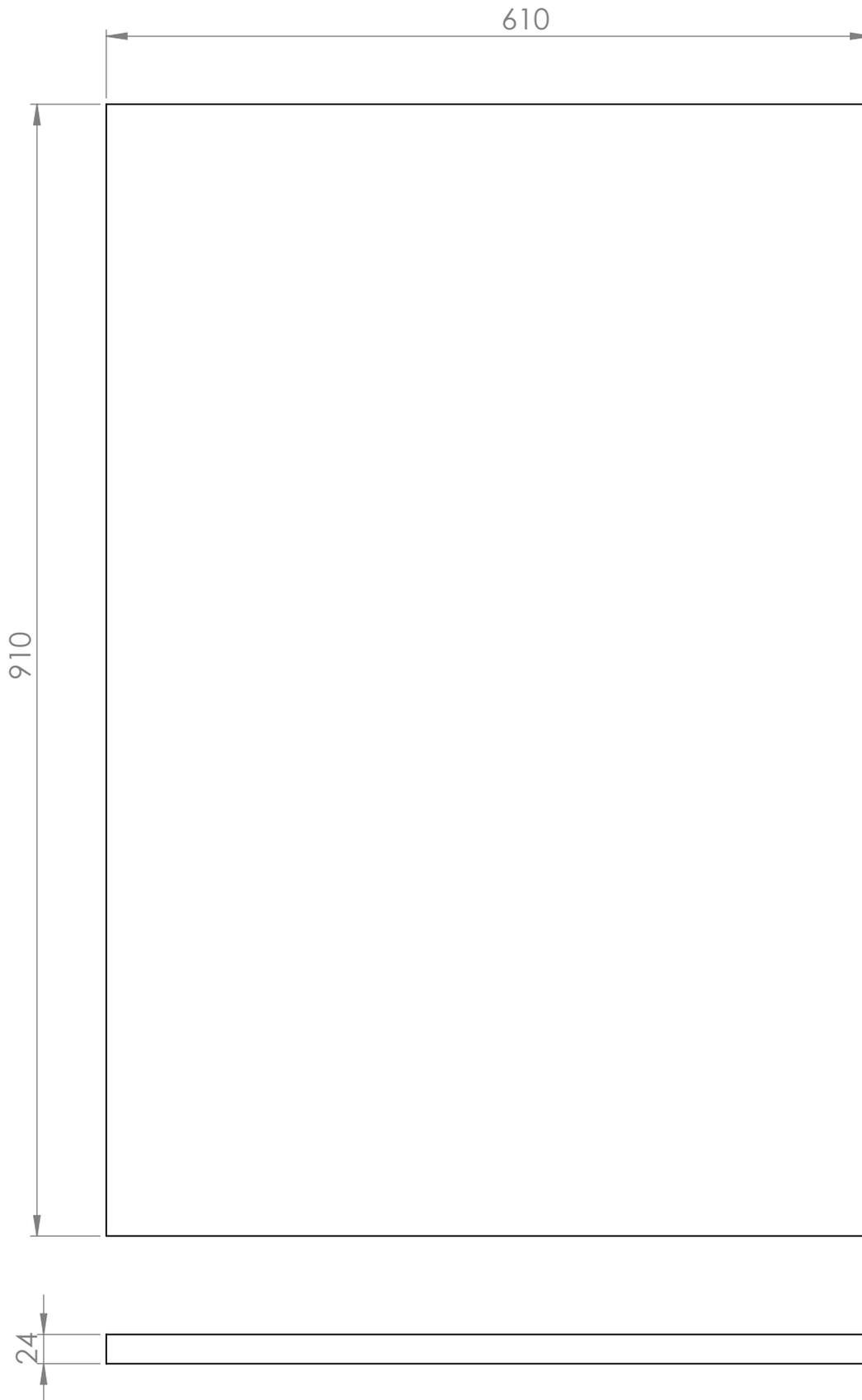
Pieza producida con impresora 3D



HOJA 1 DE 1	Formato hoja: A-4	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:2	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 08/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7168 MEDIANA (clarranq. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN <b>Asa</b> Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.				PLANO N° <b>9</b>
MATERIAL Plástico Z-HIPS		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		



HOJA 1 DE 1	Formato hoja: A-4	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:5	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 08/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7168 MEDIANA (clarraq. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN <b>Soporte colector</b> Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.				PLANO N° <b>10</b>
MATERIAL Poliestireno		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		



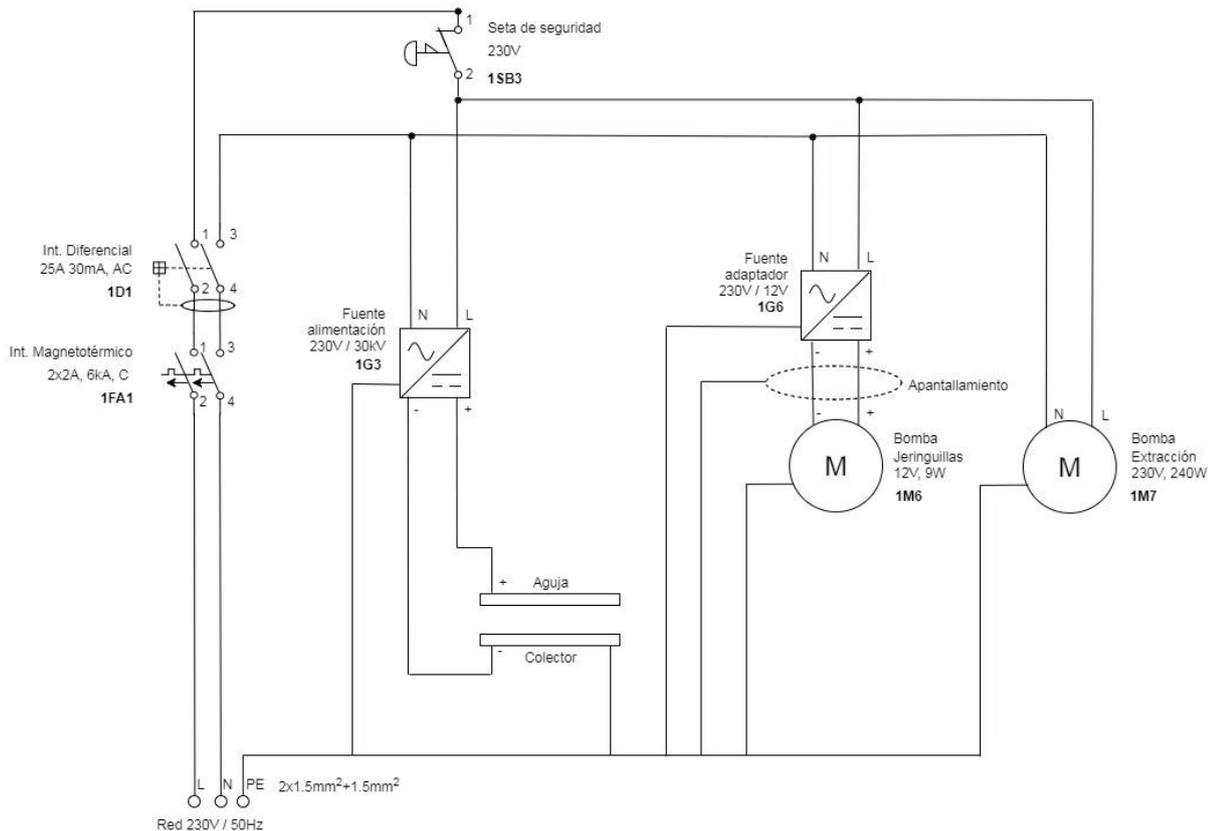
HOJA 1 DE 1	Formato hoja: A-4	DIBUJADO Sofía Chóliz	ESCALA 1:5	<i>Universidad Politécnica de Valencia</i> Camí de Vera, s/n, 46022 Valencia, ESPAÑA
Trabajo fin de máster	FECHA ACTUALIZ. 08/09/2017	TOLERANCIAS GENERAL COTAS DIN 7168 MEDIANA (clarranq. virut. + ang.) BASTA (sin virut.) cotas en mm		
DENOMINACIÓN <b>Chapa corcho superficie</b> Producto SOLIDWORKS Educational. Solo para uso en la enseñanza.				PLANO N° <b>11</b>
MATERIAL Poliestireno		PROYECTO CABINA DE ELECTROSPRAY		

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Planos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 8. Planos eléctricos

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---



Cuadro eléctrico cabina de electrohilado	Dibujado por: Sofía Chóliz Sanz	Fecha: 20/08/17	Nº Plano: 01
--	---------------------------------	-----------------	--------------

### Lista de componentes

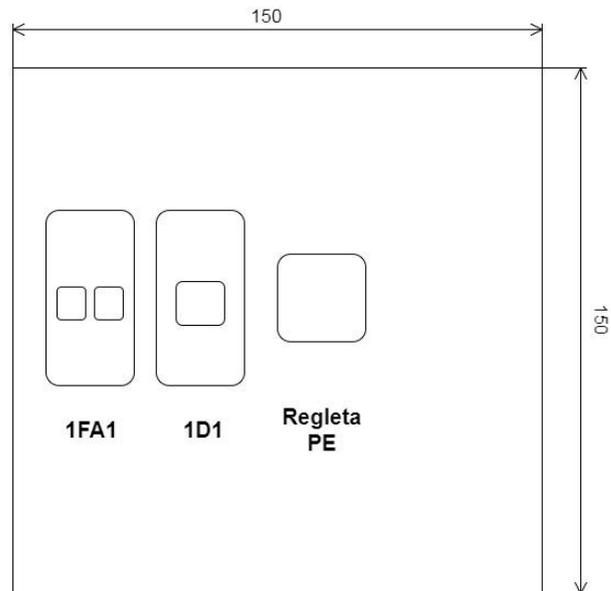
Referencia	Definición
1FA1	Interruptor magnetotérmico 2x2A, pdc 6kA, curva C
1D1	Interruptor diferencial 25A, 30mA, tipo AC
1SB3	Seta de seguridad 230V, corte 1 fase
1G3	Fuente de alimentación 230V / 30kV DC
1G6	Fuente adaptador 230V / 12V DC
1M6	Bomba de Jeringuillas 12V, 0.75 A, 9W
1M7	Bomba de Extracción 230V, 240W

Tabla 13 . Lista de elementos para el circuito eléctrico

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Planos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
---	---	---	---	---	---	---	---	---	---



Cuadro eléctrico cabina de electrohilado	Dibujado por: Sofía Chóliz Sanz	Fecha: 20/08/17	Nº Plano: <b>02</b>
--	---------------------------------	-----------------	---------------------

Como envolvente del circuito se ha escogido el cuadro eléctrico Spacial SBM NSYSBM15158, de Schneider Electric. Tiene una capacidad de 8 polos y sus dimensiones son 150x150x80. Cumple con la IP66, ofreciendo protección contra polvo y agua.

Se han dispuesto los elementos en el cuadro eléctrico para una visualización general para el cuadrista. El cuadro estará dispuesto en la parte posterior de la cabina, mientras que la seta de seguridad deberá implementarse en la parte lateral, a una distancia visible y accesible para el usuario.



# CAPÍTULO 4

---

## Presupuesto

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## **1. Objeto del proyecto**

El objeto del presente documento es establecer el presupuesto de una cabina de electrohilado para la producción de microesferas magnéticas.

En lo referente a los precios de los materiales han sido proporcionados por la empresa Farnell, TOVSI, Leroy Merlin, Motedis y la tienda Céspedes.

El precio de la mano de obra empleada han sido extraídos de la Base de Datos de la Comunitat Valenciana y del Convenio del metal 2013/2015 (Valencia).

En el apartado “medios auxiliares” se han tenido en cuenta todos los gastos referentes a herramientas, equipos y demás utensilios. Éstos van desde un conjunto de llaves allen, componentes eléctricos...

No se tendrán en cuenta los beneficios de la empresa debido a que es un prototipo.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 2. Cuadro de precios elementales

Para este proyecto ha sido necesario comprar materiales y componentes específicos. Para ello, se ha tenido que visitar tiendas especializadas y hacer encargos vía internet.

En la tabla "Materiales" se engloban los componentes neumáticos empleados, los líquidos y compuestos utilizados para los ensayos el y material empleado para la fabricación de la cabina.

En la tabla "Elementos de protección individual" se encuentran los elementos personales de laboratorio para la protección del individuo y las muestras.

En la tabla "Mano de obra" se detalla el precio por horas del personal necesario para la realización del proyecto. Se ha considerado necesario un ingeniero y un especialista en técnicas de laboratorio y procesos.

La tabla "Alquiler de equipos" se compone de recursos tales como el empleo de un microscopio electrónico de barrido y una impresora 3D.

### MATERIALES

Ref	Ud	Descripción	Precio
M1	ud	Adaptador manorreductor níquel/latón	0,51 €
M2	ud	Racor latón níquelado ac macho cónico R1/4 . R 3	0,68 €
M3	ud	Abrazadera SF 9mm	0,59 €
M4	ud	Manguito reducción 1"-3/8" INOX 316L	4,63 €
M5	ud	Machón doble INOX 316L	3,82 €
M6	ud	Tuerca hexagonal 1" INOX 316L	2,62 €
M7	ud	Manómetro Ø40 0-10bar 1/8"	9,78 €
M8	ud	Reg. Presión mini 1/4" 0-8 bar	21,42 €
M9	ud	Válvula corredera todo/nada	9,88 €
M10	ud	Machón 1/4"	0,58 €
M11	ud	Pasamuro rosca hembra 1/8"	1,22 €
M12	ud	Recto tubo Ø10 1/8" cilíndrico	1,22 €
M13	ud	Recto tubo Ø10 1/4" cilíndrico	2,64 €
M14	ud	Manguito D32	0,45 €
M15	ud	Tubo poliuretano Ø6.5x10 25m	47,60 €
M16	ud	Placa poliestireno 20mm 1x2m	2,31 €
M17	m	Goma EPDM 30x5mm	3,50 €
M18	ud	Placa polietileno PEHD-300 4mm blanco 200x100	87,40 €

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

M19	ud	Placa metacrilato 4mm 200x150	26,12 €
M20	m	Goma EPDM 20x5	1,25 €
M21	ud	Barra perfil de aluminio 45x45 Tipo B Motedis 6m	51,66 €
M22	ud	Barra perfil de aluminio 45x45 Tipo B Motedis 3m	25,83 €
M23	ud	Bisagra de plástico	2,23 €
M24	ud	Bolsa (100ud) tornillos cabeza martillo R10 Tipo-B M8	20,57 €
M25	ud	Bolsa (100ud) tuercas cabeza martillo R10 Tipo-B M8	14,52 €
M26	ud	Tapa perfil 45x45 Tipo-B	0,55 €
M27	ud	Bolsa (10ud) conectores rápidos M8	12,61 €
M28	ud	Tornillo M3	0,10 €
M29	ud	Tuerca cabeza martillo R10 M3	0,55 €
M30	m	Cable de tierra 2.5mm	0,80 €
M31	m	Termorretractil	0,55 €
M32	m	Cable apantallado de datos	1,50 €
M33	ud	Regleta toma de tierra	0,50 €
M34	ud	Envolvente caja de plástico	1,00 €
M35	ud	Placa de cobre	5,00 €
M36	ud	Rollo papel de aluminio	3,00 €
M37	ud	Aguja de precisión 0.25mm diámetro interno	0,40 €
M38	ud	Bomba para jeringuillas NE1000 New Era Pump Systems	820,00 €
M39	ud	Fuente de tensión Glassman	1.540,00€
M40	ud	Bomba membrana MZ 2C Vacuubrand	1.300,00€
M41	ud	Higrómetro HI 91610C HANNA	93,80 €
M42	ud	Jeringuilla de 5mL	0,52 €
M43	ud	Guantes de latex	0,05 €
M49	ud	Botella 1L Dimetilformamida	17,85 €
M50	ud	Botella 25L Etanol	84,90 €

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## MANO DE OBRA

Ref	Ud	Descripción	Precio
H1	h	Graduado en ingeniería	11,50 €
H2	h	Especialista técnico	15,50 €

## ALQUILER DE EQUIPOS

Ref	Ud	Descripción	Precio
E1	h	Microscopía FESEM	25,00 €
E2	h	Microscopía SEM	13,00 €
E3	h	Microscopía FIB	35,00 €
E4	h	Impresora 3D M200	5,00 €

## ELEMENTOS DE PROTECCIÓN INDIVIDUAL

Ref	Ud	Descripción	Precio
EPI1	ud	Bata de laboratorio	14,80 €
EPI2	ud	Gafas de protección	5,20 €
EPI3	ud	Máscara de gases tipo V	29,90 €

## MEDIOS AUXILIARES

Ud	Descripción	Precio
%	Medios auxiliares sobre costes directos	10%

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

### 3. Cuadro de precios de maquinaria y herramientas

Es de suponer que para un proyecto de estas características el usuario ya dispone de maquinaria y equipos para realizarlo. De no ser así, el precio desglosado de la maquinaria necesaria es el siguiente:

#### MAQUINARIA Y HERRAMIENTAS

Ref	Ud	Descripción	Precio
M44	ud	Ordenador portatil	525,00 €
M45	ud	Soldador y bobina de estaño	34,56 €
M46	ud	Pistola de pegamento termofundente	31,58 €
M47	ud	Taladro de mesa con juego de brocas	74,95 €
M48	ud	Baño de ultrasonidos	249,90 €
M51	ud	Vaso de precipitados 50mL	1,80 €
M52	ud	Espátula	1,00 €
<b>Total precio de material</b>			<b>918.79€</b>

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 4. Cuadro de precios descompuestos

Se han dividido en diferentes partidas las etapas de la cabina y los ensayos que engloban este proyecto. Las tres primeras partidas D1, D2 y D3 engloban los costes de la construcción de la cabina, mientras que la partida D4 indica el coste de los ensayos realizados en el laboratorio. En este apartado no se han considerado las herramientas, ni los materiales tipo conectores para los equipos, ya que no ha sido necesario comprarlos en cada partida.

D1 Entrada/Salida Aire comprimido					
Ref	Ud	Descripción	Precio	Cantidad	Parcial
<b>MATERIALES</b>					
M1	ud	Adaptador manorreductor níquel/latón	0,51 €	1	0,51 €
M2	ud	Racor latón níquelado ac macho cónico R1/4 . R 3	0,68 €	1	0,68 €
M3	ud	Abrazadera SF 9mm	0,59 €	1	0,59 €
M4	ud	Manguito reducción 1"-3/8" INOX 316L	4,63 €	1	4,63 €
M5	ud	Machón doble INOX 316L	3,82 €	1	3,82 €
M6	ud	Tuerca hexagonal 1" INOX 316L	2,62 €	1	2,62 €
M7	ud	Manómetro Ø40 0-10bar 1/8"	9,78 €	1	9,78 €
M8	ud	Reg. Presión mini 1/4" 0-8 bar	21,42 €	1	21,42 €
M9	ud	Válvula corredera todo/nada	9,88 €	1	9,88 €
M10	ud	Machón 1/4"	0,58 €	1	0,58 €
M11	ud	Pasamuro rosca hembra 1/8"	1,22 €	1	1,22 €
M12	ud	Recto tubo Ø10 1/8" cilíndrico	1,22 €	2	2,44 €
M13	ud	Recto tubo Ø10 1/4" cilíndrico	2,64 €	2	5,28 €
M14	ud	Manguito D32	0,45 €	1	0,45 €
M15	ud	Tubo poliuretano Ø6.5x10 25m	47,60 €	1	47,60 €
<b>MANO DE OBRA</b>					
H1	h	Graduado en ingeniería	11,50 €	10	230,00 €
<b>MEDIOS AUXILIARES</b>					
	%	Medios aux sobre costes directos	0,10 €		34,15 €
<b>Total precio de ejecución de material</b>					<b>375,65 €</b>

Tabla 14 - Presupuesto Partida D1 Cabina

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

D2 Estructura cabina electrohilado					
Ref	Ud	Descripción	Precio	Cantidad	Parcial
<b>MATERIALES</b>					
<b>M16</b>	ud	Placa poliestireno 20mm 1x2m	2,31 €	3	6,93 €
<b>M17</b>	m	Goma EPDM 30x5mm	3,50 €	3	10,50 €
<b>M18</b>	ud	Placa polietileno PEHD-300 4mm blanco 200x100	87,40 €	2	174,81 €
<b>M19</b>	ud	Placa metacrilato 4mm 200x150	26,12 €	1	26,12 €
<b>M20</b>	m	Goma EPDM 20x5	1,25 €	4	5,00 €
<b>M21</b>	ud	Barra perfil de aluminio 45x45 Tipo B Motedis 6m	51,66 €	2	103,32 €
<b>M22</b>	ud	Barra perfil de aluminio 45x45 Tipo B Motedis 3m	25,83 €	1	25,83 €
<b>M23</b>	ud	Bisagra de plástico	2,23 €	4	8,92 €
<b>M24</b>	ud	Bolsa (100ud) tornillos cabeza martillo R10 Tipo-B M8	20,57 €	1	20,57 €
<b>M25</b>	ud	Bolsa (100ud) tuercas cabeza martillo R10 Tipo-B M8	14,52 €	1	14,52 €
<b>M26</b>	ud	Tapa perfil 45x45 Tipo-B	0,55 €	8	4,40 €
<b>M27</b>	ud	Bolsa (10ud) conectores rápidos M8	12,61 €	3	37,83 €
<b>M28</b>	ud	Tornillo M3	0,10 €	10	1,00 €
<b>M29</b>	ud	Tuerca cabeza martillo R10 M3	0,55 €	10	5,50 €
<b>MANO DE OBRA</b>					
<b>H1</b>	h	Graduado en ingeniería	11,50 €	40	460,00 €
<b>ALQUILER DE EQUIPOS</b>					
<b>E4</b>	h	Impresora 3D M200	5,00 €	14	70,00 €
<b>MEDIOS AUXILIARES</b>					
	%	Medios aux sobre costes directos	0,10 €		97,52 €
<b>Total precio de ejecución de material</b>					<b>1.072,77 €</b>

Tabla 15 - Presupuesto Partida D2 Cabina

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

D3 Conjunto eléctrico					
Ref	Ud	Descripción	Precio	Cantidad	Parcial
<b>MATERIALES</b>					
M30	m	Cable de tierra 2.5mm	0,80 €	3	2,40 €
M31	m	Termorretractil	0,55 €	1	0,55 €
M32	m	Cable apantallado de datos	1,50 €	3	4,50 €
M33	ud	Regleta toma de tierra	0,50 €	1	0,50 €
M34	ud	Envolvente caja de plástico	1,00 €	1	1,00 €
M39	ud	Fuente de tensión Glassman	1.540,00 €	1	1.540,00 €
M40	ud	Bomba membrana MZ 2C	1.300,00 €	1	1.300,00 €
M41	ud	Higrómetro HI 91610C HANNA	93,80 €	1	93,80 €
<b>MANO DE OBRA</b>					
H1	h	Graduado en ingeniería	11,50 €	20	230,00 €
<b>MEDIOS AUXILIARES</b>					
	%	Medios aux sobre costes directos	0,10 €		317,28 €
<b>Total precio de ejecución de material</b>					<b>3.490,03 €</b>

Tabla 16 - Presupuesto Partida D3 Cabina

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

D4 Ensayos					
Ref	Ud	Descripción	Precio	Cantidad	Parcial
<b>MATERIALES</b>					
M35	ud	Placa de cobre	5,00 €	1	5,00 €
M36	ud	Rollo papel de aluminio	3,00 €	1	3,00 €
M37	ud	Aguja de precisión 0.25mm diam int	0,40 €	5	2,00 €
M42	ud	Jeringuilla de 5mL	0,52 €	20	10,40 €
M43	ud	Guantes de latex	0,05 €	100	5,00 €
M49	ud	Botella 1L Dimetilformamida	17,85 €	1	17,85 €
M50	ud	Botella 25L Etanol	84,90 €	1	84,90 €
<b>ALQUILER DE EQUIPOS</b>					
E1	h	Microscopía FESEM	25,00 €	5	125,00 €
E2	h	Microscopía SEM	13,00 €	2	26,00 €
E3	h	Microscopía FIB	35,00 €	3	105,00 €
<b>ELEMENTOS PROTECCIÓN INDIVIDUAL</b>					
EPI1	ud	Bata de laboratorio	14,80 €	1	14,80 €
EPI2	ud	Gafas de protección	5,20 €	1	5,20 €
EPI3	ud	Máscara de gases tipo V	29,90 €	1	29,90 €
<b>MANO DE OBRA</b>					
H1	h	Graduado en ingeniería	11,50 €	70	805,00 €
H2	h	Especialista técnico	15,50 €	10	155,00 €
<b>MEDIOS AUXILIARES</b>					
	%	Medios aux sobre costes directos	0,10 €		139,41 €
<b>Total precio de ejecución de material</b>					<b>1.533,46 €</b>

Tabla 17- Presupuesto Partida D4 Ensayos

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 5. Cuadro de precios unitarios

Ref	Ud	Descripción	Precio
<b>D1</b>	ud	Entrada/Salida Aire comprimido	375,65 €
<b>D2</b>	ud	Estructura cabina electrohilado	1.072,77 €
<b>D3</b>	ud	Conjunto eléctrico	3.490,03 €
<b>D4</b>	ud	Ensayos	1.533,46 €

Tabla 18 - Cuadro de precios unitarios de las partidas

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Presupuesto

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

### 6. Valoración del presupuesto

Presupuesto total de la construcción y puesta en marcha de la cabina y validación de la metodología de producción de las microesferas.

Ref	Ud	Descripción	Precio	Cantidad	Parcial
D1	ud	Entrada/Salida Aire comprimido	375,65 €	1	375,65 €
D2	ud	Estructura cabina electrohilado	1.072,77 €	1	1.072,77 €
D3	ud	Conjunto eléctrico	3.490,03 €	1	3.490,03 €
D4	ud	Ensayos	1.533,46 €	1	1.533,46 €
Total de presupuesto ejecución material					6.471,90 €
IVA (21%)					1.359,10 €
<b>Total Presupuesto</b>					<b>7.831,00 €</b>

Tabla 19 - Valoración total del presupuesto



# CAPÍTULO 5

---

## Manual de usuario

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Manual de Usuario**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## **1. Introducción**

La presente cabina de electrospray es un equipo de ensayos para los laboratorios del Centro de Biomateriales e Ingeniería Tisular de la Universitat Politècnica de València que permite producir micropartículas y fibras para su utilización en cultivos celulares. Mediante este equipo es posible obtener un control de humedad y temperatura ambiente para una producción reproducible de microesferas, membranas o fibras. Se trata de una forma segura de unificar el estudio de este tipo de muestras en un único aparato, además de poder emplearse la cabina para fines no tan específicos asegurando permeabilidad frente el escape de gases, un amplio espacio de trabajo y un control ambiental. Para el buen uso de esta tecnología se recomienda leer y seguir encarecidamente las recomendaciones de este Manual de Usuario, ya que la calidad de los ensayos y la seguridad del individuo dependen de la puesta a punto del equipo y un modo de funcionamiento adecuado.

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Manual de Usuario**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

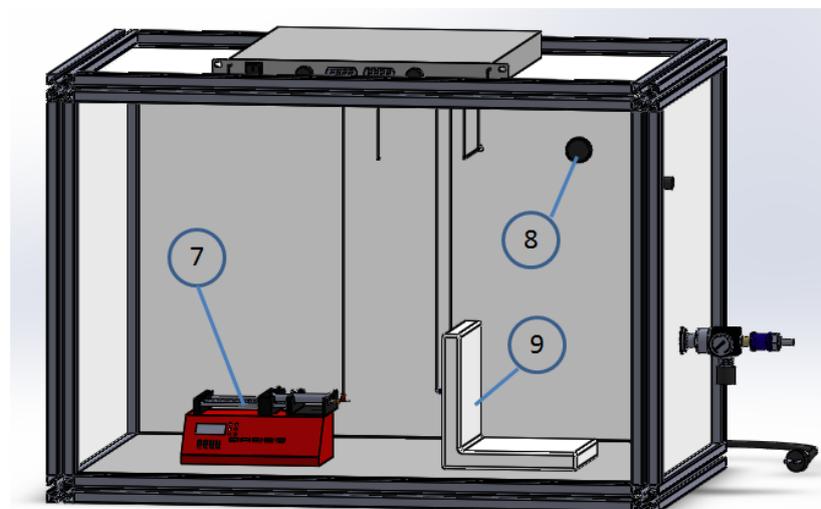
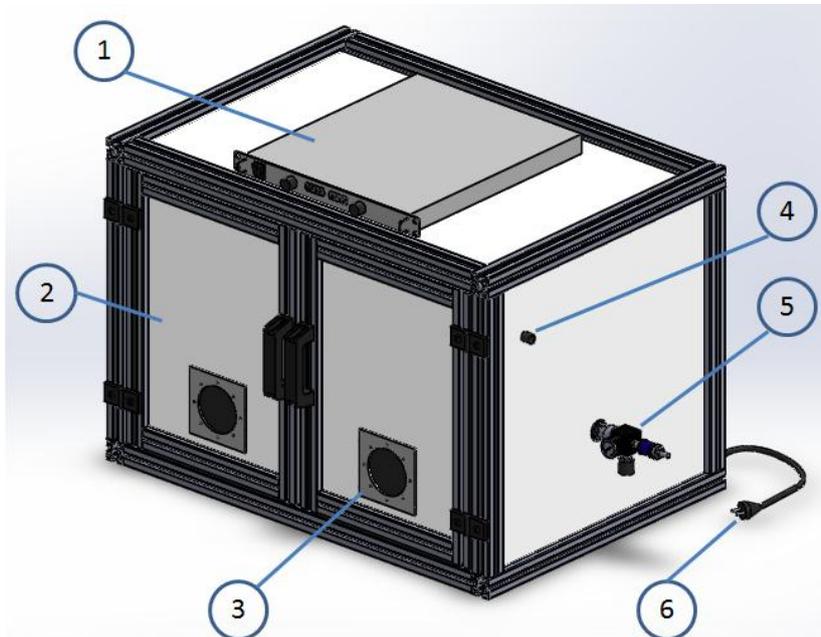
## **2. Indicaciones de advertencia y seguridad**

- Antes de proceder a la conexión del equipo, limpiar y despejar la zona de trabajo. Las interferencias creadas por residuos de anteriores ensayos pueden crear contaminación cruzada sobre las muestras.
- Siempre al principio y final de cada ensayo ha de procurarse que se encuentre cada elemento conectado a la red, incluida la conexión al conductor de protección dispuesta en la parte trasera de la cabina.
- Para un uso eficiente y ahorro energético se recomienda únicamente emplear la toma de aire comprimido cuando se vayan a realizar ensayos. Cerrar el caudal de aire al abrir las puertas de la cabina.
- El dispositivo es sensible a cargas electrostáticas. Asegúrese de encontrarse libre de ellas antes de manipularlo.
- Evitar golpes, movimientos bruscos o inmersión en líquidos de los elementos dispuestos en la cabina.
- No guardar expuesto a la luz solar, o en ambientes con temperatura y/o húmedas elevadas.
- No permitir su empleo a personas sin la adecuada formación para las que pueda resultar peligroso el mal uso del equipo.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Manual de Usuario

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

## 4. Descripción del aparato



Nº	Descripción
1	Fuente de alimentación
2	Puertas de la cabina
3	Guantes de manipulación
4	Salida de gases
5	Entrada de aire
6	Toma de seguridad
7	Bomba para jeringuillas
8	Higrómetro
9	Soporte para placa

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Manual de Usuario**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

El equipo dispone de una bomba programable sobre la que se ha de colocar la jeringuilla cargada con la disolución. Frente a ésta se encuentra el soporte de corcho sobre el que se colocará el colector donde se proyectará el jet de la jeringuilla cargada con la disolución. La parte interior de la cabina dispone de un sensor de humedad relativa, una toma de aire comprimido de entrada y otra de expulsión de gases.

La estructura de la cabina está formada por perfiles de aluminio ranurados y las paredes de paneles de polipropileno, resistentes a los gases nocivos que se evaporarán dentro del equipo. Las puertas consisten en paneles de metacrilato transparente para la visualización interior del proceso, y sobre ellas se encuentran atornillados unos guantes para la manipulación durante el ensayo.

## **5. Mantenimiento**

Un mantenimiento continuo prolongará la vida útil de la máquina sustancialmente. Especial importancia tiene el preservarla de suciedad, tal como polvo, restos de producto, etc., para su buen funcionamiento. Los paneles se pueden limpiar con acetona, etanol y/o agua jabonosa. Ha de tenerse especial cuidado en que no caiga acetona sobre las superficies de corcho, ya que este reactivo es especialmente corrosivo para ese tipo de material.

Se recomienda disponer siempre de un juego de piezas de repuesto recomendadas, para poder solucionar rápidamente las posibles averías. Dichos elementos se encuentran en el apartado 8 Listado de repuestos recomendados

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Manual de Usuario

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 6. Preparación para los ensayos

- 1) En primer lugar, conectar las tomas de red de los aparatos, incluida la toma de seguridad (conductor de protección al que están unidas las masas de los elementos y dispositivos colocados en el interior de la cabina). Esta medida protege al equipo y al usuario de posibles derivaciones de corriente y de cargas estáticas.
- 2) Preparar el interior de la cabina. Para ello, cargar la disolución según el protocolo y preparar la bomba para jeringuillas. Hay que comprobar que el cable de seguridad (masa) se encuentra conectado a la carcasa del aparato.
- 3) Preparar el colector, adhiriéndolo al soporte de corcho.
- 4) Conectar los 4 cocodrilos de la siguiente forma:
  - Rojo**: en la aguja de la jeringuilla
  - Negros**: a ambos lados del aluminio
  - Amarillo y verde**: sobre el aluminio
- 5) Posicionar todos los elementos convenientemente y cerrar las puertas, con cuidado de que no se queden los guantes entre el marco.
- 6) Conectar la toma de aire comprimido. Para ello, deje en posición de ON la válvula corredera de color azul dispuesta en el conjunto de entrada de aire. Regule el manorreductor a la presión deseada. Se aconseja dejar los primeros 5 minutos el aire a una presión superior a 5 bar para reducir la humedad
- 7) Se aconseja que la humedad relativa durante el ensayo sea lo más baja posible (máximo 40%). Una humedad elevada dificultará la evaporación de los solventes, reflejándose en los resultados. Para visualizar la humedad, basta con pulsar dos veces sobre el botón RANGE del higrómetro conectado a la cabina. Una vez la humedad haya adquirido el valor deseado, puede reducirse la presión de aire a 1bar, dejando el flujo constante.



# TRABAJO FINAL DE MASTER. Manual de Usuario

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

- 8) Poner en marcha la extracción mediante la bomba de membrana.
- 9) Encender la fuente de alimentación. No tocar nada mientras ésta se encuentre encendida.
- 10) Finalizado el ensayo: apagar la fuente, detener la toma de aire de entrada y la de salida, parar la bomba de jeringuillas con los guantes de la cabina y abrir las puertas para extraer las muestras.

**NOTA:** Una vez adquirida la regulación del caudal de aire y tras conseguir la humedad requerida con las puertas cerradas, se han de manipular los elementos del interior mediante los guantes. Ya que al abrir las puertas de la cabina, la humedad se elevará. Únicamente abrir las puertas tras finalizar el ensayo.

## 7. Solución de problemas

- En caso de que la cabina lleve en marcha más de 12h puede cargarse de electricidad estática. Se aconseja hacer pausas de 1h en caso de desear seguir con su funcionamiento.
- Mala conexión de los cables. Si el aparato ha sufrido sacudidas es posible que alguno de los conectores se haya soltado. Revisar y ajustar todos los cables y componentes.
- En caso de deterioro de alguno de los elementos de la cabina, se recomienda el reemplazo por uno nuevo para garantizar la eficacia del equipo. Consultar el listado repuestos recomendados a continuación para preveer este tipo de situaciones.
- Para añadir cualquier otro aparato o elemento eléctrico fuera del listado de elementos descritos debe de tener su toma de seguridad. Añadir un cable de conexión de la carcasa de dicho elemento a la regleta posicionada en la parte trasera de la cabina, dentro de la caja azul de seguridad.
- Para cualquier inconveniente o duda respecto el funcionamiento del equipo no dude en ponerse en contacto con la persona responsable.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Manual de Usuario

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 8. Listado de repuestos recomendados

Cantidad	Definición
1 ud	Rollo de goma aislante adhesiva
1 m	Goma EPDM
1 ud	Adaptador de red cc 12v 1A
1 ud	Guantes
2 m	Cable conductor de protección (amarillo-verde) de 1.5mm <sup>2</sup>



# ANEXOS

---

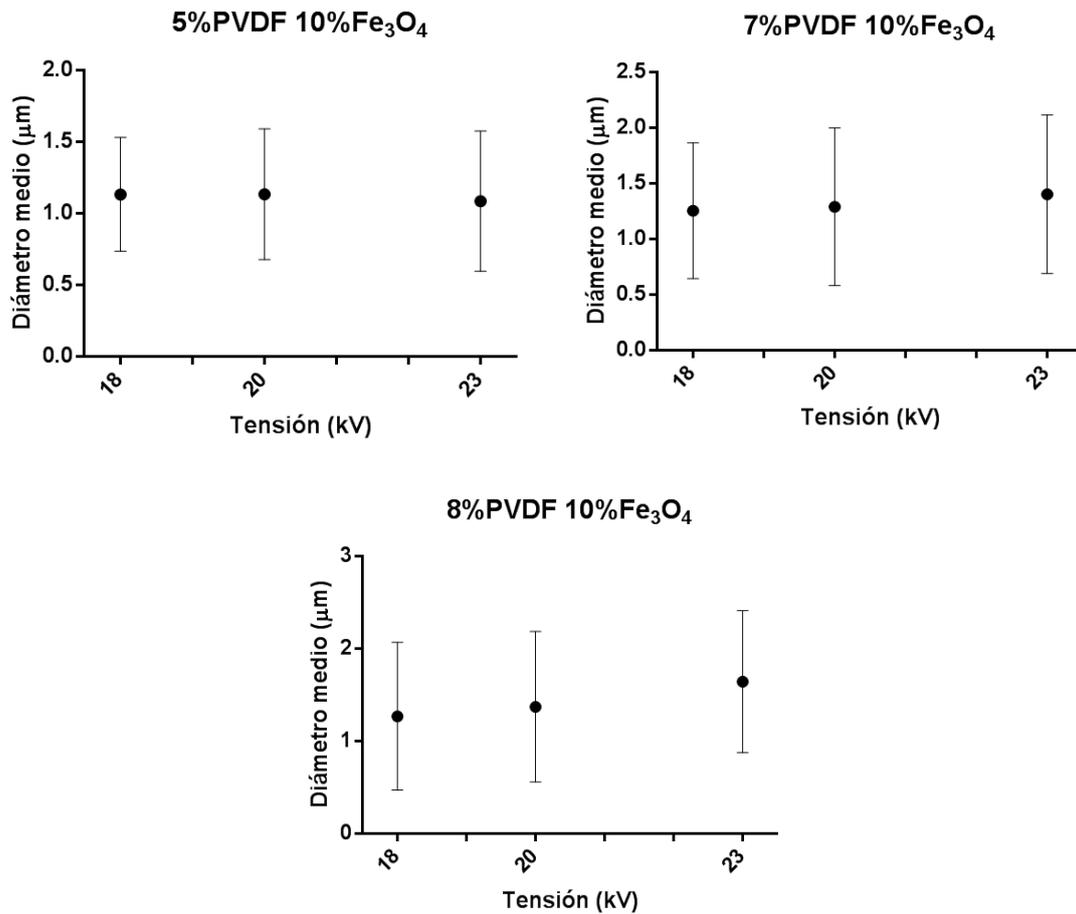
# TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 1. Gráficas y cálculos estadísticos

Gráficas de porcentajes al 5, 7 y 8% de PVDF en función de la tensión de la aplicada



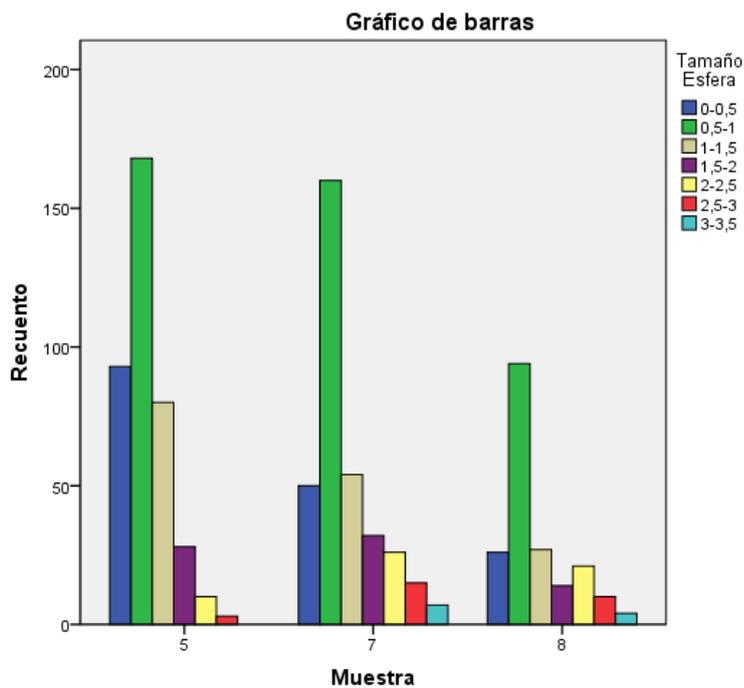
## TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

### Cálculos estadísticos con hojas de cálculo Excel

Histograma media total del número de partículas según la concentración de PVDF



Recuento		Tamaño Esfera							Total
		1	2	3	4	5	6	7	
Muestra	5	93	168	80	28	10	3	0	382
	7	50	160	54	32	26	15	7	344
	8	26	94	27	14	21	10	4	196
Total		169	422	161	74	57	28	11	922

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

### Diferencias significativas en la cantidad de micropartículas, cálculo de $\chi^2$

	N observado	N esperado
5	382	363,0
7	344	363,0
Total	726	

#### Estadísticos de contraste

	Muestra
Chi-cuadrado	1,989
gl	1
p.	,158

no significativa

No hay diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de esferas entre las concentraciones al 5% y 7% de PVDF.  
( $\chi^2=1.989$  ;  $p>0.158$ )

	N observado	N esperado
5	382	289,0
8	196	289,0
Total	578	

#### Estadísticos de contraste

	Muestra
Chi-cuadrado	59,855
gl	1
p	,000

Diferencias significativas

Sí hay diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de esferas entre las concentraciones al 5% y 8% de PVDF.  
( $\chi^2=59.855$  ;  $p>0.01$ )

	N observado	N esperado
7	344	270,0
8	196	270,0
Total	540	

#### Estadísticos de contraste

	Muestra
Chi-cuadrado	40,563
gl	1
p	,000

Diferencias significativas

Sí hay diferencias estadísticamente significativas en la cantidad de esferas entre las concentraciones al 7% y 8% de PVDF.  
( $\chi^2=40.563$  ;  $p>0.01$ )

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

### ANOVA, Diferencias significativas en el tamaño medio y desviación

Muestra	Media	N	Desv. típ.
PVDF-5	,86934	382	,483101
PVDF-7	1,10439	344	,698650
Total	,98071	726	,606111

Tabla de ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p
PVDF * Muestra	10,001	1	10,001	28,245	,000
Intra-grupos	256,343	724	,354		
Total	266,343	725			

Medidas de asociación

	Eta	Eta cuadrado
PVDF * Muestra	,194	,038

Entre los diámetros medios de las concentraciones al 5% y 7% sí que hay diferencias estadísticamente significativas.

Muestra	Media	N	Desv. típ.
PVDF-5	,86934	382	,483101
PVDF-8	1,14872	196	,750577
Total	,96408	578	,601684

Tabla de ANOVA

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p.
PVDF * Muestra	10,111	1	10,111	29,298	,000
Intra-grupos	198,777	576	,345		
Total	208,887	577			

Medidas de asociación

	Eta	Eta cuadrado
PVDF * Muestra	,220	,048

Entre los diámetros medios de las concentraciones al 5% y 8% sí que hay diferencias estadísticamente significativas.

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

Muestra	Media	N	Desv. típ.
PVDF-7	1,10439	344	,698650
PVDF-8	1,14872	196	,750577
Total	1,12048	540	,717556

**Tabla de ANOVA**

			Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p.
PVDF * Muestra	Inter-grupos (Combinadas)		,245	1	,245	,476	,491
	Intra-grupos		277,279	538	,515		
	Total		277,524	539			

**Medidas de asociación**

	Eta	Eta cuadrado
PVDF * Muestra	,030	,001

Entre los diámetros medios de las concentraciones al 7% y 8% no que hay diferencias estadísticamente significativas.

<b>Tabla de contingencia Muestra * Tamaño Esfera</b>									
Recuento									
		TamañoEsfera							Total
		1	2	3	4	5	6	7	
Muestra	5	93	168	80	28	10	3	0	382
	7	50	160	54	32	26	15	7	344
	8	26	94	27	14	21	10	4	196
<b>Total</b>		<b>169</b>	<b>422</b>	<b>161</b>	<b>74</b>	<b>57</b>	<b>28</b>	<b>11</b>	<b>922</b>
Porcentaje									
5		24,35	43,98	20,94	7,33	2,62	0,79	0,00	100
7		14,53	46,51	15,70	9,30	7,56	4,36	2,03	100
8		13,27	47,96	13,78	7,14	10,71	5,10	2,04	100
		<b>18,33</b>	<b>45,77</b>	<b>17,46</b>	<b>8,03</b>	<b>6,18</b>	<b>3,04</b>	<b>1,19</b>	<b>100</b>
		1	2	3	4	5	6	7	
5 7	Chi cuadrado	9,074	,157	1,829	,621	8,257	9,941		
	sig	,003	,692	,176	,431	,004	,002		
5 8	Chi cuadrado	9,800	,562	2,882	,034	11,560	5,333		
	sig	,002	,454	,090	,853	,001	,021		
7 8	Chi cuadrado	,439	,327 <sup>a</sup>	,600	1,059	,231	,222	,000	
	sig	,508	,568	,439	,303	,631	,637	1,000	

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

### 2. Cálculo del riesgo de ignición

$$V_{cabinas} = x \cdot y \cdot z = 1 \cdot 0.7 \cdot 0.7 = 0.49m^3 = 490L$$

En el caso que nos ocupa se dispone en la cámara de un volumen de  $0.49m^3$  donde la extracción de gases va a ser constante en el momento de puesta en marcha del equipo. Así pues, únicamente cabe a estudio el límite inferior de inflamabilidad, ya que nunca se alcanzará el superior. Para el estudio exacto de cada ensayo es necesaria la consulta de la ficha técnica de cada disolvente a emplear.

Para el cálculo del volumen máximo de disolvente para evitar el riesgo de ignición, han de escogerse las condiciones más desfavorables de ensayo. Por ello se ha escogido una concentración del 5% del polímero, con tal de permitir un mayor cantidad de disolvente en la disolución. La velocidad más alta empleada del jet que impulsa la bomba es 3mL/h, lo cual indica que inyectará una cantidad mayor de disolvente que a los valores de flujo menores. A mayor temperatura, mayor será la evaporación del disolvente, por lo que se ha escogido una temperatura ambiental de 35°C

Para ejemplificar los cálculos, se empleará la ficha técnica de dimetilformamida, siendo éste un solvente característico por su inflamabilidad.

$$L.I.I. = 2.2\% \text{ vol}$$

$$L.S.I. = 16.0\% \text{ vol}$$

Siendo conocedores de estos datos, se calcula el volumen máximo de disolvente evaporado que se puede obtener sin riesgo de incendio. Basta con multiplicar el límite inferior por las dimensiones de la cabina de electrohilado:

$$V_{límite} = V_{cabinas} \cdot L.I.I. = 0.49 \cdot 0.022 = 0.01078m^3 = 10.78L$$

A continuación, para calcular la peligrosidad de los ensayos, se ha de estudiar el tiempo que tardaría en llegar al punto de inflamación. Ésto se realiza mediante la relación entre el volumen límite y el volumen de solvente evaporado durante los ensayos de electrohilado.

$$\frac{V_{límite}}{V_{s.e.}}$$

Para el caso más crítico la cantidad de polímero (%5 w/v), y nanopartículas (%10) expedido con un flujo de 3mL/h es:

$$3ml \text{ DMF} \cdot \frac{5}{100} = 0.15g \text{ PVDF} \rightarrow 0.15 \cdot \frac{10}{100} = 0.015g \text{ Fe}_3\text{O}_4$$

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

Sabiendo mediante la hoja de seguridad del polímero y las nanopartículas que las densidades son  $1.75\text{g/cm}^3$  y  $4.8\text{g/cm}^3$ , respectivamente:

$$V_{PVDF} = \frac{\text{masa}_{PVDF}}{\rho_{PVDF}} = \frac{0.15}{1.75} = 0.0857\text{cm}^3 = 0.0857\text{mL} = 0.0000857\text{L}$$

$$V_{Fe_3O_4} = \frac{\text{masa}_{Fe_3O_4}}{\rho_{Fe_3O_4}} = \frac{0.015}{4.8} = 0.026\text{cm}^3 = 0.026\text{mL} = 0.000026\text{mL}$$

$$V_{DMF} = V_{\text{solución}} - V_{PVDF} - V_{Fe_3O_4} = 3 - 0.0857 - 0.026 = 2.8883\text{mL} = 0.00289\text{L}$$

$$T = 35^\circ\text{C} = 308\text{K}$$

$$P_{\text{cabin}} \cdot V_{DMF} = n_{DMF} \cdot R \cdot T;$$

$$n_{DMF} = \frac{\text{masa}_{DMF}}{M_{DMF}} = \frac{V_{DMF} \cdot \rho_{DMF}}{M_{DMF}}$$

$$V_{DMF\text{evaporado}} = \frac{V_{DMF} \cdot \rho_{DMF} \cdot R \cdot T}{M_{DMF} \cdot P_{\text{cabin}}} = \frac{0.00289 \cdot 0.95 \cdot 0.082 \cdot 308}{73.09 \cdot 1} = 0.0009487\text{L}$$

$$\frac{V_{\text{límite}}}{V_{DMF\text{evaporado}}} = \frac{10.78}{0.0009487} = 11363h$$

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

### 3. Cálculos del esquema eléctrico

#### Cálculo corriente nominal

Para el cálculo de la corriente nominal, y así saber el valor del magnetotérmico y diferencial, se ha de sumar la corriente que circula por cada uno de los elementos.

$$P = V \cdot I \cdot \cos\alpha$$

$$I_{nominal} = I_1 + I_2 + I_3$$

Siendo  $I_1$  la corriente de la fuente de alimentación,  $I_2$  la bomba de jeringuillas e  $I_3$  la corriente de la bomba de extracción. Considerando  $\cos\alpha$  con valor 1, y  $V$  la tensión de red de 230V:

$$I_{nominal} = \frac{P_1}{V} + \frac{P_2}{V} + \frac{P_3}{V} = \frac{120}{230} + \frac{9}{230} + \frac{240}{230} = 1.6A$$

La elección del magnetotérmico ha de ser el inmediatamente superior, por lo que se escogerá uno de 2x2A, con un poder de corte (intensidad máxima del interruptor automático para abrir en cortocircuito) de 6kA y curva C. Mediante este elemento se obtiene protección frente a cortocircuitos y sobrecargas.

Se ha escogido un interruptor magnetotérmico de protección tipo iK60N de la casa Schneider Electric.

Para la selección del interruptor diferencial, la corriente nominal mínima son 25A. La sensibilidad será de 30mA de clase AC, que es la empleada para corriente alterna en protección de vivienda. Se ha escogido un interruptor diferencial tipo iID de la casa Schneider Electric. Mediante este elemento se obtiene protección frente a contactos indirectos.

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 4. Programación sensor DH22

```
#include "DHT.h"

// Uncomment whatever type you're using!
// #define DHTTYPE DHT11 // DHT 11
#define DHTTYPE DHT22 // DHT 22 (AM2302), AM2321
// #define DHTTYPE DHT21 // DHT 21 (AM2301)

// Connect pin 1 (on the left) of the sensor to +5V
// NOTE: If using a board with 3.3V logic like an Arduino Due connect pin 1
// to 3.3V instead of 5V!
// Connect pin 2 of the sensor to whatever your DHTPIN is
// Connect pin 4 (on the right) of the sensor to GROUND
// Connect a 10K resistor from pin 2 (data) to pin 1 (power) of the sensor

const int DHTPin = 5; // what digital pin we're connected to

DHT dht(DHTPin, DHTTYPE);

void setup() {
  Serial.begin(9600);
  Serial.println("DHTxx test!");

  dht.begin();
}

void loop() {
  // Wait a few seconds between measurements.
  delay(2000);

  // Reading temperature or humidity takes about 250 milliseconds!
  float h = dht.readHumidity();
  float t = dht.readTemperature();

  if (isnan(h) || isnan(t)) {
    Serial.println("Failed to read from DHT sensor!");
    return;
  }

  Serial.print("Humidity: ");
  Serial.print(h);
  Serial.print(" %\t");
  Serial.print("Temperature: ");
  Serial.print(t);
  Serial.print(" *C ");
}
```

# TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

## 5. Código programación Arduino PID

```
int ref=1;

int t1=0;

int t2=0;

int vueltas=200;

int cont=0;

int T=10;

float E=0.0;

float I=0.0;

float Iant=0;

float Kp=2.9;

float Ki=10.5;

float Up;

int Upi;

float Ui;

float U;

int Ain = A0 ;           // Entrada analógica 0

int Ain1 = A1 ;         // Entrada analógica 1

int Ain2 = A2 ;         // Entrada analógica 1

int An2;

float D2;

float A2v;

void setup() { // put your setup code here, to run once:

  Serial.begin(115200) ;           // Inicializa comunicación serie

  pinMode(A2,INPUT);

  pinMode(13,OUTPUT);

  pinMode(7,OUTPUT);

  analogReadResolution(12) ;           // Entrada analógica 12 bits (4096)

  analogWriteResolution(12) ; }

void loop() { // put your main code here, to run repeatedly:
```

## TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

```
cont++;

if(cont>=vueltas){cont=0;}

if(cont<=99){ref=1;}else{ref=2;}

An2=analogRead(Ain2);           // Lectura A2 (0..4095)

D2=map(An2,0,4095,0,100)/100.0 ; // Valor normalizado (0..1)

A2v=3.3*D2 ;                    // Valor en Voltios (0..3,3)

E=(ref-A2v);

Up=(E*Kp);

Upi=map(Up*10,0,33,0,4095) ;    // Valor normalizado (0..1)

if(Upi>=4095){Upi=4095;}

if(Upi<=0){Upi=0;}

I=E*0.01+lant;

lant=I;

Ui=I*Ki;

U=Up+Ui;

analogWrite(7, Upi);

t2=millis() ;                  // Temporización

if (t2-t1>T) {

    digitalWrite(13,HIGH) ; Serial.println(t2-t1) ;}

else {digitalWrite(13,LOW) ;}

while (t2-t1<T) {t2=millis() ;}

t1=millis() ;

Serial.print("ref=") ;

Serial.print(ref) ;

Serial.print(" E=") ;

Serial.print(E) ;

Serial.print(" Up=") ;

Serial.print(Up) ;

Serial.print(" Upi=") ;

Serial.println(Upi) ;}
```

## **TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

---

### **6. Hojas de seguridad de reactivos**

**N,N-DIMETILFORMAMIDA**

**ICSC: 0457**

Octubre 2000

CAS: 68-12-2 Dimetilformamida  
 RTECS: LQ2100000 DMF  
 NU: 2265 DMFA  
 CE Índice Anexo I: 616-001-00-X N-Formildimetilamina  
 CE / EINECS: 200-679-5 C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>NO / HCON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>  
 Masa molecular: 73.09



TIPO DE PELIGRO / EXPOSICIÓN	PELIGROS AGUDOS / SÍNTOMAS	PREVENCIÓN	PRIMEROS AUXILIOS / LUCHA CONTRA INCENDIOS
<b>INCENDIO</b>	Inflamable. En caso de incendio se desprenden humos (o gases) tóxicos e irritantes.	Evitar las llamas, NO producir chispas y NO fumar. NO poner en contacto con oxidantes.	Polvo, espuma resistente al alcohol, agua pulverizada, dióxido de carbono.
<b>EXPLOSIÓN</b>	Por encima de 58°C pueden formarse mezclas explosivas vapor/aire.	Por encima de 58°C, sistema cerrado, ventilación.	En caso de incendio: mantener fríos los bidones y demás instalaciones rociando con agua.
<b>EXPOSICIÓN</b>		<b>¡EVITAR LA FORMACIÓN DE NIEBLAS DEL PRODUCTO! ¡EVITAR LA EXPOSICIÓN DE MUJERES (EMBARAZADAS)! ¡</b>	
<b>Inhalación</b>	Dolor abdominal. Diarrea. Náuseas. Vómitos. Rubefacción facial.	Ventilación, extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio, reposo. Proporcionar asistencia médica.
<b>Piel</b>	¡PUEDE ABSORBERSE!	Guantes de protección. Traje de protección.	Quitar las ropas contaminadas. Aclarar y lavar la piel con agua y jabón. Proporcionar asistencia médica.
<b>Ojos</b>	Enrojecimiento. Dolor.	Gafas ajustadas de seguridad o protección ocular combinada con protección respiratoria.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad), después proporcionar asistencia médica.
<b>Ingestión</b>		No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo.	Enjuagar la boca.

DERRAMES Y FUGAS	ENVASADO Y ETIQUETADO
Protección personal adicional: traje de protección completo incluyendo equipo autónomo de respiración. Ventilar. Eliminar toda fuente de ignición. Recoger, en la medida de lo posible, el líquido que se derrama y el ya derramado en recipientes herméticos. Absorber el líquido residual en arena o absorbente inerte y trasladarlo a un lugar seguro.	Clasificación UE Símbolo: T R: 61-20/21-36 S: 53-45 Nota: E Clasificación NU Clasificación de Peligros NU: 3 Grupo de Envasado NU: III

RESPUESTA DE EMERGENCIA	ALMACENAMIENTO
Ficha de Emergencia de Transporte (Transport Emergency Card): TEC (R)-30S2265 o 30GF1-III Código NFPA: H1; F2; R0;	Separado de oxidantes fuertes, halógenos.

**IPCS**  
 International Programme on Chemical Safety

Preparada en el Contexto de Cooperación entre el ICPS y la Comisión Europea © CE, ICPS, 2005



N,N-DIMETILFORMAMIDA

ICSC: 0457

## DATOS IMPORTANTES

## ESTADO FÍSICO; ASPECTO

Líquido de incoloro a amarillo, de olor característico.

## PELIGROS QUÍMICOS

La sustancia se descompone al calentarla intensamente o al arder, produciendo humos tóxicos, incluyendo óxidos de nitrógeno. Reacciona violentamente con oxidantes, nitratos e hidrocarburos halogenados. Ataca a algunos plásticos y el caucho.

## LÍMITES DE EXPOSICIÓN

TLV: 10 ppm como TWA; (piel); A4 (no clasificable como cancerígeno humano); BEI establecido (ACGIH 2004).

MAK: 5 ppm, 15 mg/m<sup>3</sup>; Categoría de limitación de pico: II(4); H (absorción dérmica); Riesgo para el embarazo: grupo B (DFG 2005).

## VÍAS DE EXPOSICIÓN

La sustancia se puede absorber por inhalación y a través de la piel.

## RIESGO DE INHALACIÓN

Por evaporación de esta sustancia a 20°C se puede alcanzar bastante lentamente una concentración nociva en el aire.

## EFECTOS DE EXPOSICIÓN DE CORTA DURACIÓN

La sustancia irrita los ojos. La sustancia puede afectar al hígado, dando lugar a ictericia. Ver Notas.

## EFECTOS DE EXPOSICIÓN PROLONGADA O REPETIDA

La sustancia puede afectar al hígado, dando lugar a alteraciones funcionales. La experimentación animal muestra que esta sustancia posiblemente cause efectos tóxicos en la reproducción humana.

## PROPIEDADES FÍSICAS

Punto de ebullición: 153°C

Punto de fusión: -61°C

Densidad relativa (agua = 1): 0.95

Solubilidad en agua: miscible

Presión de vapor, Pa a 25°C: sobre 492

Densidad relativa de vapor (aire = 1): 2.5

Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20°C (aire = 1): 1.00

Punto de inflamación: 58°C c.c.

Temperatura de autoignición: 445°C

Límites de explosividad, % en volumen en el aire: 2.2-15.2 a 100°C

Coefficiente de reparto octanol/agua como log Pow: -0.87

## DATOS AMBIENTALES

## NOTAS

El consumo de bebidas alcohólicas aumenta el efecto nocivo. Los síntomas no se ponen de manifiesto hasta que han pasado unas pocas horas o incluso días. Se han investigado los efectos de esta sustancia sobre el medio ambiente pero no se ha encontrado ninguno. Esta ficha ha sido parcialmente actualizada en octubre de 2005: ver Límites de exposición, Respuesta de emergencia.

## INFORMACIÓN ADICIONAL

Límites de exposición profesional (INSHT 2012):

VLA-ED: 5 ppm; 15 mg/m<sup>3</sup>

VLA -EC: 10 ppm; 30 mg/m<sup>3</sup>

Notas: agente químico que tienen establecido un valor limite indicativo por la UE. Vía dérmica. Sustancia tóxica para la reproducción humana de categoría 1B.

VLB: 15 mg/L en orina de N-metilformamida; 40 mg/L en orina de N-Acetil-S-(N-metilcarbamoil) cisteína, nota S.

## NOTA LEGAL

Esta ficha contiene la opinión colectiva del Comité Internacional de Expertos del IPCS y es independiente de requisitos legales. Su posible uso no es responsabilidad de la CE, el IPCS, sus representantes o el INSHT, autor de la versión española.

# Fichas Internacionales de Seguridad Química

<b>ETANOL (ANHIDRO)</b>	<b>ICSC: 0044</b>
Octubre 2000	

Alcohol etílico		
<b>CAS:</b>	64-17-5	<b>CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH / C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O</b>
<b>RTECS:</b>	KQ6300000	<b>Masa molecular: 46.1</b>
<b>NU:</b>	1170	
<b>CE Índice Anexo I:</b>	603-002-00-5	
<b>CE / EINECS:</b>	200-578-6	

TIPO DE PELIGRO / EXPOSICIÓN	PELIGROS AGUDOS / SÍNTOMAS	PREVENCIÓN	PRIMEROS AUXILIOS / LUCHA CONTRA INCENDIOS
<b>INCENDIO</b>	Altamente inflamable.	Evitar las llamas, NO producir chispas y NO fumar. NO poner en contacto con oxidantes fuertes.	Polvo, espuma resistente al alcohol, agua en grandes cantidades, dióxido de carbono,
<b>EXPLOSIÓN</b>	Las mezclas vapor/aire son explosivas.	Sistema cerrado, ventilación, equipo eléctrico y de alumbrado a prueba de explosión. NO utilizar aire comprimido para llenar, vaciar o manipular.	En caso de incendio: mantener fríos los bidones y demás instalaciones rociando con agua.

EXPOSICIÓN	PELIGROS AGUDOS / SÍNTOMAS	PREVENCIÓN	PRIMEROS AUXILIOS / LUCHA CONTRA INCENDIOS
<b>Inhalación</b>	Tos. Dolor de cabeza. Fatiga. Somnolencia.	Ventilación, extracción localizada o protección respiratoria.	Aire limpio, reposo.
<b>Piel</b>	Piel seca.	Guantes de protección.	Quitar las ropas contaminadas. Aclarar y lavar con agua y jabón.
<b>Ojos</b>	Enrojecimiento. Dolor. Quemazón.	Gafas ajustadas de seguridad.	Enjuagar con agua abundante durante varios minutos (quitar las lentes de contacto si puede hacerse con facilidad), después proporcionar asistencia médica.
<b>Ingestión</b>	Sensación de quemazón. Dolor de cabeza. Confusión. Vértigo. Pérdida del conocimiento.	No comer, ni beber, ni fumar durante el trabajo.	Enjuagar la boca. Proporcionar asistencia médica.

<b>DERRAMES Y FUGAS</b>	<b>ENVASADO Y ETIQUETADO</b>
Ventilar. Eliminar toda fuente de ignición. Recoger, en la medida de lo posible, el líquido que se derrama y el ya derramado en recipientes herméticos. Eliminar el residuo con agua abundante.	<b>Clasificación UE</b> Símbolo: F R: 11 S: (2-)7-16 <b>Clasificación NU</b> Clasificación de Peligros NU: 3 Grupo de Envasado NU: II

<b>RESPUESTA DE EMERGENCIA</b>	<b>ALMACENAMIENTO</b>
Ficha de emergencia de transporte (Transport Emergency Card): TEC (R)-30S1170. Código NFPA: H 0; F 3; R 0;	A prueba de incendio. Separado de oxidantes fuertes.

<b>IPCS</b> International Programme on Chemical Safety						
---	---	---	---	---	--	---

Preparada en el Contexto de Cooperación entre el IPCS y la Comisión Europea © IPCS, CE 2005

**VÉASE INFORMACIÓN IMPORTANTE AL DORSO**

# Fichas Internacionales de Seguridad Química

**ETANOL (ANHIDRO)****ICSC: 0044**

## DATOS IMPORTANTES

**ESTADO FÍSICO; ASPECTO:**

Líquido incoloro, de olor característico.

**PELIGROS FÍSICOS:**

El vapor se mezcla bien con el aire, formándose fácilmente mezclas explosivas.

**PELIGROS QUÍMICOS:**

Reacciona lentamente con hipoclorito cálcico, óxido de plata y amoníaco originando peligro de incendio y explosión. Reacciona violentamente con oxidantes fuertes tales como ácido nítrico, nitrato de plata, nitrato de mercurio o perclorato magnésico, originando peligro de incendio y explosión.

**LÍMITES DE EXPOSICIÓN:**

TLV: 1000 ppm (como TWA), A4 (no clasificable como cancerígeno humano) (ACGIH 2004).  
MAK: 500 ppm; 960 mg/m<sup>3</sup>; Categoría de limitación de pico: II(2),  
Cancerígeno: categoría 5, Mutágeno: categoría 5, Riesgo para el embarazo: grupo C (DFG 2004).

**VÍAS DE EXPOSICIÓN:**

La sustancia se puede absorber por inhalación del vapor y por ingestión.

**RIESGO DE INHALACIÓN:**

Por evaporación de esta sustancia a 20 °C se puede alcanzar bastante lentamente una concentración nociva en el aire.

**EFFECTOS DE EXPOSICIÓN DE CORTA DURACIÓN:**

La sustancia irrita los ojos. La inhalación de altas concentraciones del vapor puede originar irritación de los ojos y del tracto respiratorio. La sustancia puede afectar al sistema nervioso central.

**EFFECTOS DE EXPOSICIÓN PROLONGADA O REPETIDA:**

El líquido desengrasa la piel. La sustancia puede afectar al tracto respiratorio superior y al sistema nervioso central, dando lugar a irritación, dolor de cabeza, fatiga y falta de concentración. Ver Notas.

## PROPIEDADES FÍSICAS

Punto de ebullición: 79 °C

Punto de fusión: -117 °C

Densidad relativa (agua = 1): 0,8

Solubilidad en agua: miscible

Presión de vapor, kPa a 20 °C: 5,8

Densidad relativa de vapor (aire = 1): 1,6

Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20 °C (aire = 1): 1,03

Punto de inflamación: 13 °C c.c.

Temperatura de autoignición: 363 °C

Límites de explosividad, % en volumen en el aire: 3.3-19

Coeficiente de reparto octanol/agua como log Pow: -0.32

## DATOS AMBIENTALES

## NOTAS

El consumo de etanol durante el embarazo puede afectar al feto. La ingesta crónica de etanol puede causar cirrosis hepática. El punto de inflamación de la disolución acuosa al 50% es 24 °C. Esta ficha ha sido parcialmente actualizada en abril de 2005: ver Límites de exposición.

## INFORMACIÓN ADICIONAL

Límites de exposición profesional (INSHT 2013):

VLA-EC: 1000 ppm; 1910 mg/m<sup>3</sup>

Notas: Esta sustancia tiene prohibida total o parcialmente su comercialización y uso como fitosanitario y/o biocida.

**Nota legal**

Esta ficha contiene la opinión colectiva del Comité Internacional de Expertos del IPCS y es independiente de requisitos legales. Su posible uso no es responsabilidad de la CE, el IPCS, sus representantes o el INSHT, autor de la versión española.

## SAFETY DATA SHEET

### [SECTION 1]: PRODUCT AND COMPANY IDENTIFICATION

Product Trade Name	: <b>EMG 1300 Polymer Coated Dry Magnetic Nanoparticles</b>
Chemical Name	: Proprietary Product
Chemical Formula	: Mixture
Chemical Family	: Coated particles
Relevant Identified Use	: Biomedical/Scientific Research
Uses Advised Against	: N/A
Manufacturer's Name	: <b>Ferrotec Corporation</b>
Importers / Distributor	: <b>Ferrotec (USA) Corporation, 33 Constitution Dr., Bedford, NH 03110, USA</b>
Telephone Number	: <b>(603) 472-6800</b>
Emergency Tel. Number	: <b>+1 (800)424-9300 (CHEMTREC – US only)</b> <b>+1 (703)527-3887 (CHEMTREC – International)</b>
Other safety information	: <b>+81-479-73-6752 (FERROTEC CORP. – Japan)</b> <b>+49-7022-9270-0 (FERROTEC GmbH – Germany)</b>

---

### [SECTION 2]: HAZARD IDENTIFICATION

**Skin Corrosion / Irritation:** Category 2

**Severe Eye Damage / Irritation:** Category 2

**Target Organs** : Not Established

#### GHS Label Elements, including precautionary statements -

##### Pictogram:



**Signal word:** Warning

##### Hazard statement(s):

H315 Cause skin irritation

H319 Cause serious eye irritation

##### Precautionary statement(s):

###### -Prevention

P264 Wash thoroughly after handling

P273 Avoid release to the environment

P280 Wear protective gloves / protective clothing / eye protection / face protection.

**-Response**

P302+P352 If on skin: Wash with plenty of soap and water

P305+P351+P338 If in eyes: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if possible and easy to do. Continue rinsing.

P332+P313: IF skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

P337+P313: If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

P362 Take off contaminated clothing and wash before reuse.

P391 Collect spillage

Any hazards not otherwise classified or identified during classification process: N/A

% of mixture consisting of ingredient(s) of unknown toxicity: N/A

**HMIS Classification**

**Health hazard: 2**

**Chronic Health Hazard: N/A**

**Flammability: 0**

**Physical hazards: 0**

**NFPA Rating**

**Health hazard: 2**

**Fire: 0**

**Reactivity Hazard: 0**

**Potential Health Effects**

**Inhalation:** Inhalation of mist or vapors at elevated temperatures may cause respiratory irritation.

**Skin:** Potential skin irritant

**Eyes:** Potential eye irritant

**Ingestion:** No significant health hazard

---

**[SECTION 3]: COMPOSITION / INGREDIENT INFORMATION**

**Synonyms:** N/A

The precise composition of this mixture is proprietary information.

A more complete disclosure will be provided to a physician or a nurse in the event of a medical emergency. All components are registered in Chemical Abstracts Service (CAS).

Composition	Proportion % (by volume)	Exposure Limit	Toxicity Data
A Iron Oxide (magnetite)	68.4 – 76.7	No Data	No Data
B Dispersant	23.3 – 31.6	No Data	No Data

#### [SECTION 4]: FIRST AID MEASURES

##### **Necessary measures to be taken according to route(s) of exposure -**

**Ingestion:** This material has minimal toxicity, but aspiration into lungs during ingestion could cause severe pulmonary injury. Do not induce vomiting; seek medical attention if material is ingested.

**Eye contact:** Check for contact lenses and remove. Flush with water for at least 15 minutes and consult a physician for treatment.

**Skin Contact:** Wash with soap and water.

**Inhalation of smoke or mist:** Move to fresh air and refer to a physician for treatment. If difficulty in breathing is observed, supply oxygen. If inhaled, there are possibilities of dizziness or asphyxiation without special symptoms.

##### **Most important symptoms/effects**

**Acute:** Not established

**Delayed:** Not established

**Indication of immediate medical attention and special treatment needed, if necessary:** This product should not cause any significant health issues. Take appropriate action for signs of allergic or sensitivity reaction.

**Notes to physicians:** This product contains a fatty acid dispersant. If breathing has stopped, try artificial respiration.

---

#### [SECTION 5]: FIRE FIGHTING MEASURES

**Suitable extinguishing media:** CO<sub>2</sub>, Foam, dry chemical, water spray (water spray may cause frothing)

**Unsuitable extinguishing media:** N/A

**Specific hazards arising from chemical combustion products:** Burning may produce carbon monoxide and nitrogen oxides. Vapor mixed with air at temperatures above flash point may be explosive. Vapor is heavier than air.

**Special protective equipment and precautions for fire-fighters:** Respirators, if smoke or vapor is present.

---

#### [SECTION 6]: ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

##### **Steps to be taken in case material is released or spilled**

**Personal precautions:** Remove clothing that may have become contaminated, wash skin thoroughly with soap and lots of water.

**Environmental Precautions:** Remove bulk of material to a disposal container and wash surface with soap and water to reduce possible slipping hazard. Prevent material from entering sewers, water courses or low areas.

**Methods and materials for containment and cleanup:** Refer to section 13.

---

#### [SECTION 7]: HANDLING AND STORAGE

**Precautions for safe handling:** Ordinary care in handling chemicals. Wash hands after handling.

**Conditions for safe storage:** Keep in a cool, dark area. If large quantities are stored, ground the storage container to prevent static buildup.

**Other precautions:** Avoid contamination of food or tobacco products. Users should be aware that a very small percentage of the population may display unexpected allergic skin reactions to otherwise innocuous industrial chemicals and raw materials.

---

**[SECTION 8]: EXPOSURE CONTROLS / PERSONAL PROTECTION**

**OSHA permissible exposure limit (PEL):** Not established

**ACGIH Threshold Limit Value (TLV):** Not established

**Any other exposure limit used or recommended by the chemical manufacturer, importer, or employer preparing the safety data sheet, where available:** No data

**Appropriate engineering controls:** Supply adequate ventilation

**Personal Protective Measures/Equipment:**

**Respiratory protection:** Not required unless smoke, mists or vapors are produced.

**Ventilation:** No special ventilation required.

**Hand protection:** Rubber or plastic gloves to prevent prolonged or repeated contact with skin.

**Eye protection:** Safety glasses recommended.

**Other protective equipment:** Apron recommended but not required.

---

**[SECTION 9]: PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES**

<b>Appearance:</b> Black/brown particles or clumps	<b>Lower /Upper Explosion Limits:</b> Not established
<b>Odor:</b> Mild faint	<b>Vapor Pressure (kPa @ 20°C):</b> N/A
<b>Odor Threshold:</b> Not established	<b>Vapor Density (Air = 1):</b> No data
<b>pH:</b> N/A	<b>Density:</b> 4.8 g/cc
<b>Melting/Freezing Point (°C):</b> N/A	<b>Water Solubility:</b> Insoluble
<b>Boiling Point (°C):</b> N/A	<b>Partition Coefficient: n-octanol/water:</b> No data
<b>Flash Point (°C):</b> N/A	<b>Auto-ignition Temperature:</b> No data
<b>Evaporation Rate:</b> N/A	<b>Decomposition Temp.:</b> No data
<b>Flammability (solid/gas):</b> No data	<b>Viscosity:</b> N/A

---

**[SECTION 10]: STABILITY AND REACTIVITY**

**Reactivity:** No data

**Chemical stability:** Stable under recommended storage conditions

**Possibility of hazardous reactions:** No data

**Conditions to avoid (e.g. static discharge, shock or vibration):** Pyrolysis

**Incompatible materials:** Strong oxidizing agents

**Hazardous decomposition products:** None

---

**[SECTION 11]: TOXICOLOGICAL INFORMATION**

**Acute Toxicity**

**Oral LD50**

LD50 Oral – No data

**Inhalation LC50**

LC50 Inhalation – No data

**Dermal LD50**

LD50 Dermal – No data

**Other information on acute toxicity**

**Skin corrosion/irritation:** May cause skin irritation

**Serious eye damage/eye irritation:** May cause irritation to eyes and/or membranes

**Respiratory or skin sensitization:** May cause respiratory irritation

**Germ cell mutagenicity:** No data

**Carcinogenicity:** No data

**IARC:** No data

**NTP:** No data

**OSHA:** No data

**Reproductive Toxicity:** No data

**Teratogenicity:** No data

**Specific target organ toxicity – single exposure (Globally Harmonized System):** No data

**Specific target organ toxicity – repeated exposure (Globally Harmonized System):** No data

**Aspiration hazard:** No data

**Potential health effects**

**Inhalation:** Slight irritation

**Ingestion:** May cause slight irritation if aspirated during swallowing

**Skin:** Slight irritation

**Eyes:** Slight irritation

**Signs and Symptoms of Exposure:** Symptoms, if present, vary with individual. Watch for signs of allergic reaction, rash or respiratory distress.

**Synergistic effects:** No data

**Additional Information:** N/A

---

**[SECTION 12]: ECOLOGICAL INFORMATION**

**Ecotoxicity (Aquatic and Terrestrial toxicity):** No data

**Persistence and biodegradability:** No data

**Bioaccumulative potential:** No data

**Mobility in soil:** No data

**Other adverse effects:** No data

---

**[SECTION 13]: DISPOSAL CONSIDERATION**

**Product:** Comply with all federal, state and local regulations for disposal of waste organic materials. Consult a professional waste disposal service for help in disposing of bulk product.

**Do not dump this product into sewers, on the ground or into any body of water.**

**Contaminated packaging:** Dispose of as unused product, high temperature incineration.

---

**[SECTION 14]: TRANSPORT INFORMATION****DOT (US)**

**Hazard class:** Not dangerous goods

**UN No:** N/A

**Packing Group:** III

**Proper bulk shipping description:** Dry Particles N.O.S.

**Proper non-bulk shipping description:** Not restricted

**Reportable Quantity:** None

**Marine Pollutant:** No Reference

**Poison Inhalation Hazard:** N/A

**IMDG**

**Hazard class:** Not dangerous goods

**UN No:** N/A

**Packing Group:** III

**Proper bulk shipping description:** Not restricted

**Proper non-bulk shipping description:** Not restricted

**ICAO shipping description:** Not restricted

**ADR/RID hazard class:** Not restricted

**IATA**

**Hazard class:** Not dangerous goods

**UN No:** N/A

**Packing Group:** III

**Proper bulk shipping description:** Not restricted

**Proper non-bulk shipping description:** Not restricted

---

**[SECTION 15]: REGULATORY INFORMATION**

**OSHA Hazards: N/A**

**DSL Status: N/A**

**SARA 302 Components: N/A**

**SARA 313 Components: N/A**

Composition	CAS No.	TSCA	EINECS	OSHA
A Magnetite (Fe <sub>3</sub> O <sub>4</sub> )	1309-38-2	Registered	Registered	Registered
B Oil Soluble Dispersant	Proprietary	Registered	Registered	Registered

These components do not contain any chemical subject to the reporting requirements of Section 313 of Title III of the Superfund Amendment and Reauthorization Act (SARA) of 1986 and 40 CFR part 372.

---

**[SECTION 16]: OTHER INFORMATION**

We believe the statements, technical information and recommendations contained herein to be reliable, but they are given without warranty or guarantee of any kind, express or implied, and we assume no responsibility for any loss, damage or expense, direct or consequential, arising from their use.

This material is not sold for use in products for which prolonged contact with skin or implantation into the human body is intended. We do not recommend this material as safe and effective for such uses and assume no liability for any such use.

RoHS compliance statement: This material is believed to comply with RoHS standards.

REACH 2 Compliance Statement: This material is believed to comply with REACH standards.

Date of preparation: 26-May, 2015      Date of last revision and revision level:

# Solef® PVDF

## Polyvinylidene Fluoride

Solef® PVDF is a fluorinated semi-crystalline thermoplastic which is obtained by polymerizing vinylidene fluoride. This fluorinated polymer has been manufactured and marketed for more than 30 years, using both suspension and emulsion process developed and perfected by Solvay Specialty Polymers.

Solef® PVDF, without any additives, has the intrinsic stability inherent to fluoropolymers, even when exposed to harsh environments. It provides the user with a unique combination of properties leading to longer equipment life. The most important properties of Solef® PVDF are listed below:

- Excellent chemical resistance to most aggressive substances and solvents
- Excellent mechanical strength and toughness
- High abrasion resistance
- High temperature capabilities: continuous use service temperature up to 150 °C/302 °F
- Excellent ageing resistance
- High purity
- Resistance to UV and nuclear radiations
- Excellent intrinsic fire resistance
- Low permeability to most gases and liquids
- Easily melt-processed by standard methods of extrusion and molding
- Wide range of rigid and flexible grades available

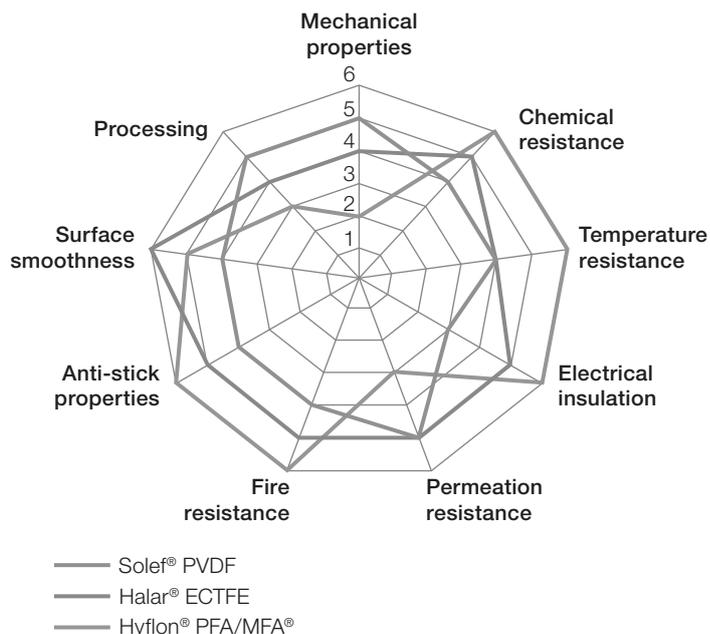
Besides the PVDF homopolymers, Solvay Specialty Polymers offers a wide products range of VF2-HFP copolymers, and VF2-CTFE copolymers which stand out for their better cold temperature behavior. The VF2-CTFE range comprises the Solef® 60000 series, which offers an improved balance between good cold temperature properties and thermomechanical properties of the homopolymers.

PVDF is extensively used in the general chemical processing industry, the high purity semiconductor market, and the wire and cable industry. Solvay Specialty Polymers today offers a growing choice of PVDF grades which are associated with new applications such as the Oil & Gas industry, Automotive, Building industry, Electronics, Chimney linings, Lithium Batteries, Fuel cells, Food and Pharmaceutical industries.

In addition to the Solef® resins, Solvay Specialty Polymers offers a wide range of other fluoropolymers which are also easily processable by injection, extrusion, and all conventional processing techniques:

- Halar® ECTFE (copolymer of ethylene and chlorotrifluoroethylene)
- Hyflon® PFA/MFA® (copolymer of tetrafluoroethylene and perfluoroalkylvinylethers)
- Hylar® PVDF for coating applications

### Relative performance of melt processable fluoropolymers



### Solef® PVDF grades

Grade	Form	Description
<b>Homopolymers</b>		
<b>Solef® 6008</b>	Powder and granules	Low molecular weight PVDF homopolymer
<b>Solef® 6010</b>	Powder and granules	Medium molecular weight PVDF homopolymer
<b>Solef® 6012</b>	Powder and granules	High molecular weight PVDF homopolymer
<b>Solef® 1015</b>	Powder	Very high molecular weight PVDF homopolymer
<b>Solef® 6020</b>	Powder	Ultra high molecular weight PVDF homopolymer
<b>Solef® 5130</b>	Powder	Ultra high molecular weight functionalized PVDF homopolymer
<b>Solef® 9007</b>	Powder and granules	Low molecular weight PVDF homopolymer
<b>Solef® 9009</b>	Powder and granules	Medium molecular weight PVDF homopolymer
<b>Solef® 460</b>	Powder and granules	Branched high molecular weight PVDF homopolymer
<b>Solef® 41308</b>	Powder and granules	Enhanced adhesion PVDF for multilayer structures
<b>Copolymers</b>		
<b>Solef® 11010</b>	Powder and granules	Flexible PVDF copolymer
<b>Solef® 21510</b>	Powder and granules	Very flexible PVDF copolymer
<b>Solef® 31508</b>	Powder and granules	Improved low-temperature flexibility PVDF copolymer
<b>Solef® 60512</b>	Granules	Special PVDF grade for high-pressure flexible piping

## Typical Properties of Solef® PVDF Homopolymer Grades

	Unit	Solef® 6008	Solef® 6010	Solef® 6012	Solef® 1015	Test Method
<b>Physical properties</b>						
Density at 23 °C/73 °F	g/cm <sup>3</sup> (lb/ft <sup>3</sup> )	1.75–1.80 (110–112)	1.75–1.80 (110–112)	1.75–1.80 (110–112)	1.75–1.80 (110–112)	ASTM D792
Water absorption (24 h at 23 °C/73 °F)	%	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	ASTM D570
Melt flow index (230 °C/446 °F)	g/10 min					ASTM D1238
21.6 kg		–	–	–	2.8–4.6	
10 kg		–	–	4–6	–	
5 kg		16–30	4–8	–	–	
3.8 kg		–	–	–	–	
2.16 kg		5.5–11	–	–	–	
<b>Mechanical properties</b>						
Tensile at 23 °C/73 °F (Type IV specimen, 2 mm thick)						ASTM D638
Stress at yield (50 mm/min)	MPa (psi)	50–60 (7,200–8,700)	50–60 (7,200–8,700)	50–60 (7,200–8,700)	50–60 (7,200–8,700)	
Stress at break (50 mm/min)	MPa (psi)	30–50 (4,400–7,300)	30–50 (4,400–7,300)	30–50 (4,400–7,300)	30–50 (4,400–7,300)	
Elongation at yield (50 mm/min)	%	5–10	5–10	5–10	5–10	
Elongation at break (50 mm/min)	%	20–300	20–300	20–300	20–300	
Modulus (1 mm/min)	MPa (kpsi)	1,800–2,500 (260–360)	1,700–2,500 (250–360)	1,700–2,500 (250–360)	1,700–2,500 (250–360)	
Notched charpy strength (4 mm thick, 2 m/s, 23 °C/73 °F)	J/m (ft·lbf/in)	40–120 (0.7–2.0)	100–200 (2–4)	150–250 (3–5)	400–500 (7.5–10)	ASTM D6110
IZOD impact (notched V 10 mm, 23 °C/73 °F, 4 mm thick)	J/m (ft·lbf/in)	–	–	–	–	ASTM D256
Shore D hardness (2 mm thick)		73–80	73–80	72–78	72–78	ASTM D2240
Abrasion resistance	mg/1,000 rev	5–10	5–10	5–10	5–10	TABER CS 17, 1 kg
Friction coefficient	static dynamic	0.2–0.4 0.15–0.35	0.2–0.4 0.15–0.35	0.2–0.4 0.15–0.35	0.2–0.4 0.15–0.35	ASTM D1894

	Unit	Solef® 6008	Solef® 6010	Solef® 6012	Solef® 1015	Test Method
<b>Thermal properties</b>						
Crystallinity by DSC						ASTM D3418
Melting point	°C (°F)	170–175 (338–347)	170–175 (338–347)	170–175 (338–347)	170–175 (338–347)	
Heat of fusion (80°C/176°F to end of melting)	J/g (BTU/lb)	58–67 (25–29)	58–66 (25–28)	55–65 (23–28)	57–66 (24–28)	
Crystallization point	°C (°F)	134–144 (273–291)	137–144 (279–291)	137–145 (279–293)	137–144 (279–291)	
Crystallization heat	J/g (BTU/lb)	54–60 (23–26)	54–60 (23–26)	50–60 (21–26)	50–56 (21–24)	
VICAT point	°C (°F)	135–145 (275–295)	135–145 (275–295)	135–145 (275–295)	135–145 (275–295)	ASTM D1525 2A
Glass transition (Tg)	°C (°F)	–40 (–40)	–40 (–40)	–40 (–40)	–40 (–40)	ASTM D4065
Molding shrinkage (linear)	%	2–3	2–3	2–3	–	
Thermal stability	°C (°F)	375–400 (707–752)	>400 (>752) <sup>(1)</sup>	>400 (>752) <sup>(1)</sup>	375–400 (707–752)	TGA. T° for 1% w loss in air
Linear thermal expansion coefficient	10 <sup>-6</sup> /K (10 <sup>-6</sup> /°F)	140 (78)	140 (78)	140 (78)	140 (78)	ASTM D696
Thermal conductivity at 23°C/73°F	W/m·K (BTU·in/h·ft <sup>2</sup> ·°F)	0.2 (1.4)	0.2 (1.4)	0.2 (1.4)	0.2 (1.4)	ASTM C177
Specific heat						
at 23°C/73°F	J/g·K (BTU/lb·°F)	1.2 (0.28)	1.2 (0.28)	1.2 (0.28)	1.2 (0.28)	
at 100°C/212°F	J/g·K (BTU/lb·°F)	1.6 (0.38)	1.6 (0.38)	1.6 (0.38)	1.6 (0.38)	
<b>Electrical properties</b>						
Surface resistivity (voltage < 1 V, after 2 min, 500 V at 23°C/73°F)	Ω	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	ASTM D257
Volume resistivity (intensity = 10 mA, after 2 min at 23°C/73°F)	Ω·cm	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	ASTM D257
Dielectric strength at 23°C/73°F, 1 mm thick	kV/mm	20–25	20–25	20–25	20–25	ASTM D149
<b>Fire resistance</b>						
UL-94 flammability test	Class	V–0	V–0	–	V–0	UL-94
Limiting oxygen index (sheet 3 mm thick)	%	44	44	44	44	ASTM D2863

<sup>(1)</sup> Results achieved with formulated grade (code: XXXX/0000)

Mechanical properties are significantly affected by the sample preparation method.

Typical property values are reported in this document. They should not be interpreted as sales specifications.

	Unit	Solef® 6020	Solef® 5130	Solef® 9007	Test Method
<b>Physical properties</b>					
Density at 23 °C/73 °F	g/cm <sup>3</sup> (lb/ft <sup>3</sup> )	1.75–1.80 (110–112)	1.75–1.80 (110–112)	1.75–1.80 (110–112)	ASTM D792
Water absorption (24 h at 23 °C/73 °F)	%	< 0.04	< 0.2	< 0.04	ASTM D570
Melt flow index (230 °C/446 °F)	g/10 min				ASTM D1238
21.6 kg		≤ 0.2	–	–	
10 kg		–	–	–	
5 kg		–	–	20–38	
3.8 kg		–	–	16–26	
2.16 kg		–	–	–	
<b>Mechanical properties</b>					
Tensile at 23 °C/73 °F (Type IV specimen, 2 mm thick)					ASTM D638
Stress at yield (50 mm/min)	MPa (psi)	–	–	45–60 (6,500–8,700)	
Stress at break (50 mm/min)	MPa (psi)	–	–	30–50 (4,400–7,300)	
Elongation at yield (50 mm/min)	%	–	–	5–10	
Elongation at break (50 mm/min)	%	–	–	20–300	
Modulus (1 mm/min)	MPa (kpsi)	1,300–2,000 (188–290)	1,000–1,500 (145–218)	1,400–2,200 (200–320)	
Notched charpy strength (4 mm thick, 2 m/s, 23 °C/73 °F)	J/m (ft·lbf/in)	–	–	40–120 (0.7–2.0)	ASTM D6110
IZOD impact (notched V 10 mm, 23 °C/73 °F, 4 mm thick)	J/m (ft·lbf/in)	–	–	–	ASTM D256
Shore D hardness (2 mm thick)		–	–	73–80	ASTM D2240
Abrasion resistance	mg/1,000 rev	–	–	5–10	TABER CS 17, 1 kg
Friction coefficient	static dynamic	–	–	0.2–0.4 0.15–0.35	ASTM D1894

	Unit	Solef® 6020	Solef® 5130	Solef® 9007	Test Method
<b>Thermal properties</b>					
Crystallinity by DSC					ASTM D3418
Melting point	°C (°F)	171–175 (340–347)	158–166 (316–331)	162–168 (324–334)	
Heat of fusion (80 °C/176 °F to end of melting)	J/g (BTU/lb)	55–65 (23–28)	40–48 (17–21)	53–60 (22–26)	
Crystallization point	°C (°F)	133–138 (271–280)	124–130 (255–266)	133–140 (271–284)	
Crystallization heat	J/g (BTU/lb)	48–55 (21–24)	37–45 (16–19)	53–60 (22–26)	
VICAT point	°C (°F)	135–145 (275–295)	–	–	ASTM D1525 2A
Glass transition (T <sub>g</sub> )	°C (°F)	–40 (–40)	–40 (–40)	–40 (–40)	ASTM D4065
Molding shrinkage (linear)	%	–	–	2–3	
Thermal stability	°C (°F)	375–400 (707–752)	>375 (>707)	375–400 (707–752)	TGA. T° for 1% w loss in air
Linear thermal expansion coefficient	10 <sup>-6</sup> /K (10 <sup>-6</sup> /°F)	140 (78)	–	140 (78)	ASTM D696
Thermal conductivity at 23 °C/73 °F	W/m·K (BTU·in/h·ft <sup>2</sup> ·°F)	0.2 (1.4)	–	0.2 (1.4)	ASTM C177
Specific heat					
at 23 °C/73 °F	J/g·K (BTU/lb·°F)	1.2 (0.28)	–	1.2 (0.28)	
at 100 °C/212 °F	J/g·K (BTU/lb·°F)	1.6 (0.38)	–	1.6 (0.38)	
<b>Electrical properties</b>					
Surface resistivity (voltage < 1 V, after 2 min, 500 V at 23 °C/73 °F)	Ω	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	ASTM D257
Volume resistivity (intensity = 10 mA, after 2 min at 23 °C/73 °F)	Ω·cm	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	ASTM D257
Dielectric strength at 23 °C/73 °F, 1 mm thick	kV/mm	20–25	–	20–25	ASTM D149
<b>Fire resistance</b>					
UL-94 flammability test	Class	–	–	–	UL-94
Limiting oxygen index (sheet 3 mm thick)	%	44	–	44	ASTM D2863

*Mechanical properties are significantly affected by the sample preparation method.  
Typical property values are reported in this document. They should not be interpreted as sales specifications.*

	Unit	Solef® 9009	Solef® 460	Solef® 41308	Test Method
<b>Physical properties</b>					
Density at 23 °C/73 °F	g/cm <sup>3</sup> (lb/ft <sup>3</sup> )	1.75–1.80 (110–112)	1.75–1.80 (110–112)	1.75–1.80 (110–112)	ASTM D792
Water absorption (24 h at 23 °C/73 °F)	%	< 0.04	< 0.04	< 0.04	ASTM D570
Melt flow index (230 °C/446 °F)	g/10 min				ASTM D1238
21.6 kg		–	10	–	
10 kg		–	–	–	
5 kg		10–20	–	18–24	
3.8 kg		7–13	–	–	
2.16 kg		–	–	6–8	
<b>Mechanical properties</b>					
Tensile at 23 °C/73 °F (Type IV specimen, 2 mm thick)					ASTM D638
Stress at yield (50 mm/min)	MPa (psi)	45–60 (6,500–8,700)	35–55 (5,000–8,000)	45–50 (6,500–7,200)	
Stress at break (50 mm/min)	MPa (psi)	30–50 (4,400–7,300)	30–50 (4,400–7,300)	20–40 (2,900–5,800)	
Elongation at yield (50 mm/min)	%	5–10	10–15	5–10	
Elongation at break (50 mm/min)	%	20–300	20–300	20–300	
Modulus (1 mm/min)	MPa (kpsi)	1,400–2,200 (200–320)	1,000–1,500 (145–218)	1,600–2,200 (230–320)	
Notched charpy strength (4 mm thick, 2 m/s, 23 °C/73 °F)	J/m (ft·lbf/in)	40–120 (0.7–2.0)	–	40–120 (0.7–2.0)	ASTM D6110
IZOD impact (notched V 10 mm, 23 °C/73 °F, 4 mm thick)	J/m (ft·lbf/in)	–	107 (2)	–	ASTM D256
Shore D hardness (2 mm thick)		73–80	73–80	–	ASTM D2240
Abrasion resistance	mg/1,000 rev	5–10	5–10	5–10	TABER CS 17, 1 kg
Friction coefficient	static dynamic	0.2–0.4 0.15–0.35	0.2–0.4 0.15–0.35	0.25–0.35 0.25–0.35	ASTM D1894

	Unit	Solef® 9009	Solef® 460	Solef® 41308	Test Method
<b>Thermal properties</b>					
Crystallinity by DSC					ASTM D3418
Melting point	°C (°F)	162–168 (324–334)	155–160 (311–320)	167–171 (333–339)	
Heat of fusion (80 °C/176 °F to end of melting)	J/g (BTU/lb)	53–60 (22–26)	42–50 (17–21)	50–55 (21–23)	
Crystallization point	°C (°F)	133–140 (271–284)	128–135 (262–275)	130–140 (266–284)	
Crystallization heat	J/g (BTU/lb)	53–60 (22–26)	42–50 (17–21)	48–54 (20–23)	
VICAT point	°C (°F)	–	–	–	ASTM D1525 2A
Glass transition (T <sub>g</sub> )	°C (°F)	–40 (–40)	–39 (–38)	–40 (–40)	ASTM D4065
Molding shrinkage (linear)	%	2–3	–	–	
Thermal stability	°C (°F)	375–400 (707–752)	375–400 (707–752)	>375 (>707)	TGA. T° for 1% w loss in air
Linear thermal expansion coefficient	10 <sup>-6</sup> /K (10 <sup>-6</sup> /°F)	140 (78)	126 (70)	140 (78)	ASTM D696
Thermal conductivity at 23 °C/73 °F	W/m·K (BTU·in/h·ft <sup>2</sup> ·°F)	0.2 (1.4)	0.2 (1.4)	0.2 (1.4)	ASTM C177
Specific heat					
at 23 °C/73 °F	J/g·K (BTU/lb·°F)	1.2 (0.28)	1.2 (0.28)	–	
at 100 °C/212 °F	J/g·K (BTU/lb·°F)	1.6 (0.38)	1.6 (0.38)	–	
<b>Electrical properties</b>					
Surface resistivity (voltage < 1 V, after 2 min, 500 V at 23 °C/73 °F)	Ω	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	ASTM D257
Volume resistivity (intensity = 10 mA, after 2 min at 23 °C/73 °F)	Ω·cm	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	ASTM D257
Dielectric strength at 23 °C/73 °F, 1 mm thick	kV/mm	20–25	10	–	ASTM D149
<b>Fire resistance</b>					
UL-94 flammability test	Class	V–0	V–0	–	UL-94
Limiting oxygen index (sheet 3 mm thick)	%	44	44	–	ASTM D2863

*Mechanical properties are significantly affected by the sample preparation method.  
Typical property values are reported in this document. They should not be interpreted as sales specifications.*

## Typical Properties of Solef® PVDF Copolymer Grades

	Unit	Solef® 11010	Solef® 21510	Solef® 31508	Solef® 60512	Test Method
<b>Physical properties</b>						
Density at 23 °C/73 °F	g/cm <sup>3</sup> (lb/ft <sup>3</sup> )	1.75–1.80 (110–112)	1.75–1.80 (110–112)	1.75–1.80 (110–112)	1.75–1.80 (110–112)	ASTM D792
Water absorption (24 h at 23 °C/73 °F)	%	< 0.04	< 0.04	< 0.04	< 0.04	ASTM D570
Melt flow index (230 °C/446 °F)	g/10 min					ASTM D1238
21.6 kg		–	–	–	–	
10 kg		–	–	–	2.5–4	
5 kg		4–8	3–9	–	–	
3.8 kg		–	–	–	–	
2.16 kg		–	–	3–8	–	
<b>Mechanical properties</b>						
Tensile at 23 °C/73 °F (Type IV specimen, 2 mm thick)						ASTM D638
Stress at yield (50 mm/min)	MPa (psi)	20–35 (2,900–5,000)	15–18 (2,175–2,610)	14–35 (2,030–5,075)	34–40 (4,930–5,800)	
Stress at break (50 mm/min)	MPa (psi)	20–40 (2,900–5,800)	20–40 (2,900–5,800)	14–30 (2,030–4,350)	34–40 (4,930–5,800)	
Elongation at yield (50 mm/min)	%	10–12	12–15	10–12	9–12	
Elongation at break (50 mm/min)	%	200–600	600–750	350–600	100–300	
Modulus (1 mm/min)	MPa (kpsi)	800–1,200 (120–180)	360–480 (52–70)	400–600 (58–87)	1,250–1,400 (181.3–203)	
Notched charpy strength (4 mm thick, 2 m/s, 23 °C/73 °F)	J/m (ft·lbf/in)	150–200 (3–5)	–	–	400–1,000 (7.5–18.7) <sup>(2)</sup>	ASTM D6110
IZOD impact (notched V 10 mm, 23 °C/73 °F, 4 mm thick)	J/m (ft·lbf/in)	–	180 (3.37)	1,000 (18.7) <sup>(2)</sup>	–	ASTM D256
Shore D hardness (2 mm thick)		70–75	58–62	50–55	70	ASTM D2240
Abrasion resistance	mg/1,000 rev	5–15	5–15	5–10	5–10	TABER CS 17, 1 kg
Friction coefficient	static dynamic	0.2–0.4 0.15–0.35	0.2–0.4 0.15–0.35	0.2–0.4 0.15–0.35	0.2–0.4 0.2–0.3	ASTM D1894

<sup>(2)</sup> Partial break

	Unit	Solef® 11010	Solef® 21510	Solef® 31508	Solef® 60512	Test Method
<b>Thermal properties</b>						
Crystallinity by DSC						ASTM D3418
Melting point	°C (°F)	158–162 (316–324)	130–136 (266–277)	167–171 (333–339)	170–174 (338–345)	
Heat of fusion (80°C/176°F to end of melting)	J/g (BTU/lb)	35–40 (15–18)	20–24 (9–10)	23–29 (8.2–14.2)	41–50 (18–21.5)	
Crystallization point	°C (°F)	115–130 (239–266)	89–93 (192–199)	125–131 (259–265)	142–146 (288–295)	
Crystallization heat	J/g (BTU/lb)	30–40 (13–18)	20–24 (9–10)	22–28 (7–13)	42–50 (18–21.5)	
VICAT point	°C (°F)	90–105 (194–220)	155 (239)	110 (230)	167 (333)	ASTM D1525 2A
Glass transition (T <sub>g</sub> )	°C (°F)	–35 (–31)	–40 (–40)	–28 (–18)	–40 (–40)	ASTM D4065
Molding shrinkage (linear)	%	2–3	2–3	2–3	2–3	
Thermal stability	°C (°F)	330–350 (626–662)	340–375 (644–707)	320–340 (608–644)	320–340 (608–644)	TGA. T° for 1 % w loss in air
Linear thermal expansion coefficient	10 <sup>–6</sup> /K (10 <sup>–6</sup> /°F)	180 (100)	180 (100)	130–150 (72–83)	130–180 (72–100)	ASTM D696
Thermal conductivity at 23°C/73°F	W/m·K (BTU·in/h·ft <sup>2</sup> ·°F)	0.19 (1.3)	0.18 (1.2)	0.2 (1.4)	0.2 (1.4)	ASTM C177
Specific heat						
at 23°C/73°F	J/g·K (BTU/lb·°F)	1.2 (0.28)	1.2 (0.28)	1.2 (0.28)	1.2 (0.28)	
at 100°C/212°F	J/g·K (BTU/lb·°F)	1.6 (0.38)	1.6 (0.38)	1.6 (0.38)	1.6 (0.38)	
<b>Electrical properties</b>						
Surface resistivity (voltage < 1 V, after 2 min, 500 V at 23°C/73°F)	Ω	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	ASTM D257
Volume resistivity (intensity = 10 mA, after 2 min at 23°C/73°F)	Ω·cm	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	≥ 10 <sup>14</sup>	ASTM D257
Dielectric strength at 23°C/73°F, 1 mm thick	kV/mm	15–25	15–20	20–25	–	ASTM D149
<b>Fire resistance</b>						
UL-94 flammability test	Class	V–0	–	V–0	–	UL-94
Limiting oxygen index (sheet 3 mm thick)	%	44 <sup>(3)</sup>	44 <sup>(3)</sup>	48	–	ASTM D2863

<sup>(3)</sup> Formulations with higher values available: the Limiting Oxygen Index of the /0003 formulation is 65 %; the Limiting Oxygen Index of the /0009 formulation is > 90 %.

Mechanical properties are significantly affected by the sample preparation method.  
Typical property values are reported in this document. They should not be interpreted as sales specifications.

# **TRABAJO FINAL DE MASTER. Anexos**

Microesferas magnéticas de polifluoruro de vinilideno para estimulación celular *in vitro*. Determinación y control de los parámetros del proceso de fabricación.

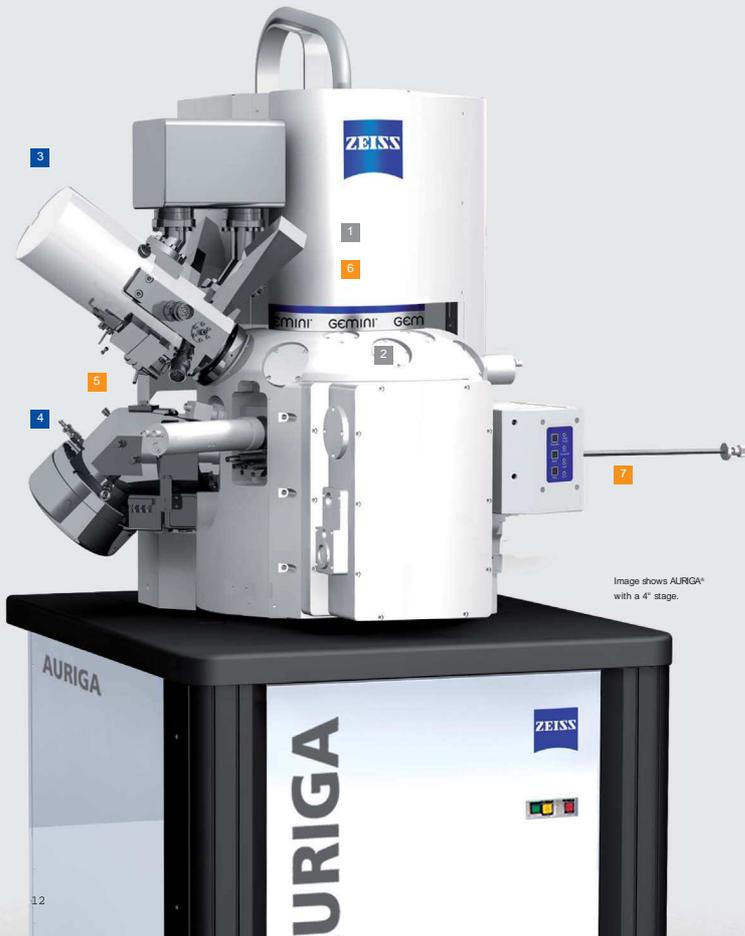
---

## **7. Datasheets**

## AURIGA® Series Custom-Tailored and Future Assured

■ Based on a fully modular concept, the AURIGA® CrossBeam® workstations can be tailored to the individual customer's applications – today and in the future.

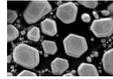
■ Starting with a high-performance FE-SEM platform, the system can be upgraded with a wide variety of hardware and software options, such as FIB, GIS, local charge compensation system and different detectors.



### FE-SEM Platform



1 GEMINI® FE-SEM column with in-lens SE detector for high resolution and contrast imaging



2 AURIGA® vacuum chamber with 15 free accessory ports

### CrossBeam® Components



3 FIB column for fast and precise sample modification  
- Canon column for multi-purpose applications  
- Cobra column with best-in-class FIB resolution



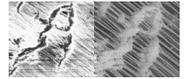
4 Gas injection system for a wide range of versatile gas processes  
- Single GIS  
- Multi GIS with up to 5 precursor materials



### Options



5 Local charge compensation and in-situ sample cleaning  
- Multi GIS integrated or  
- Charge compensator



6 In-lens EsB® detector for the highest material contrast



7 Airlock for fast and convenient sample transfer  
- 80mm or  
- 100mm maximum specimen size

Further Options  
Ion detector, STEM, 4QBSD, EDS, EBSD, WDS, SMS etc.

## AURIGA® & AURIGA® 60 Flexibility Taken to Extreme



- 1 Focused Ion Beam – the essential CrossBeam® component
- 2 WDS for highest sensitivity chemical analysis
- 3 Electron flood gun for charge control during ion beam preparation
- 4 Charge compensation for charge control in SEM imaging and analysis
- 5 EDX for fastest chemical analysis
- 6 STEM detector for TEM like imaging and quality control
- 7 EBSD for crystallographic mapping
- 8 Multichannel GIS for maximum precursor flexibility on a single flange
- 9 Single needle GIS for high angle sample access
- 10 Manipulators for sample modification and probing
- 11 4QBSD detector for high efficiency and angle selective material characterization
- 12 EsB® detector for finest z resolution without topographic artifacts in FIB nanotomography
- 13 Cathodoluminescence detection for optical material characterization
- 14 Cryo stage and transfer for access to frozen or beam sensitive material
- 15 Airlock solution (80mm) for fast and efficient sample transfer
- 16 Airlock solution (200mm) for fast and efficient sample transfer

# CrossBeam® Workstations (FIB-SEM) AURIGA® & AURIGA® 60

Modern materials research is characterized by a great complexity of tasks. Chemical composition, crystallographic orientation, complete morphology, and electrical attributes are only some of the questions scientists and engineers seek answers to. Their success depends on a detailed insight into topography and structure of the samples examined. On the other hand, in developing novel materials specimens often have to be extremely precisely processed.

To address these demands, the AURIGA® CrossBeam® workstation series has been designed to accommodate an optimum number of accessories/detectors only depending on the size of the vacuum chamber.

Due to a large 6" stage vacuum chamber, the AURIGA® 60 essentially broadens the application spectrum of the Carl Zeiss CrossBeam® technology. Up to 23 analytical or other accessories for diverse chemical or physical experiments can be mounted on the chamber, e.g. different detectors or a cryogenic transfer unit.

Thanks to a modular setup the system is capable of being simply and flexibly upgraded. So, one can start with a stand-alone FE-SEM platform that can be upgraded stepwise to a fully equipped CrossBeam® workstation.

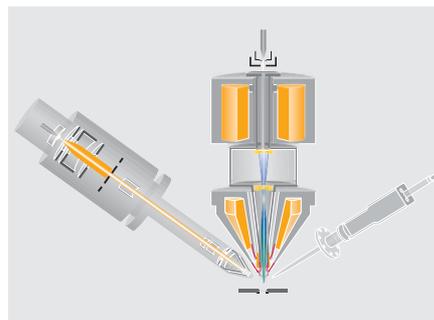
The highly versatile and flexible functionality of AURIGA® 60 enables new perspectives in 3D-imaging leading to fascinating insights into the building blocks of life or novel materials for future technological applications.



# CrossBeam® Concept

Fast and precise sample modification  
The ever increasing requirements on sample throughput and precision of milled objects are met by integrating the most innovative focused ion beam technology. High brightness liquid metal ion sources combined with state-of-the-art electrostatic lens design deliver an excellent imaging resolution combined with high current ion beam densities and up to 50 nA total beam current.

Deposition of conducting or non-conducting materials, as well as enhanced and selective etching, can be performed with either the electron or ion beam when combined with the highly flexible gas injection technology. Instrument usage can be optimized by the "on-board" automation tool set that is easily adapted to specific customer requirements using straightforward setup wizards and an intuitive scripting language.



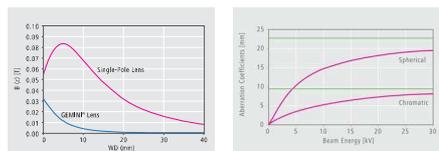
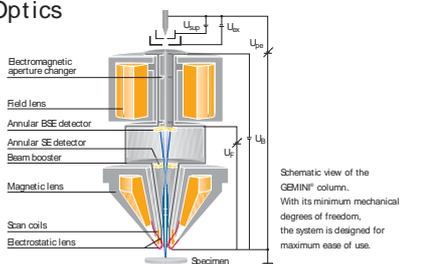
Key components of the AURIGA® CrossBeam®:  
GEMINI® electron optical column (center), focused ion beam (left) and gas injection system (right).

High resolution process control  
High resolution live electron imaging for excellent site specific control of the milling process is based on an advanced optical design that provides a practically magnetic field-free sample environment. Consequently, a change in the settings of the electron optical system will not interfere at all with the FIB processing; even more importantly there will be no compromises in terms of SEM resolution or ease-of-use of operation while monitoring and controlling the ion beam processing in real time.

Flexible imaging  
Topographical and compositional sample information are conveyed simultaneously by high resolution scanning electron imaging of secondary and backscattered electrons. Structural and material information on crystalline samples or oxidation layers can be obtained when operating in FIB imaging mode and detecting secondary ions generated during ion beam scanning of the specimen.

# GEMINI® Electron Optics

Superb imaging and analysis imaging of modern compound materials requires an electron optical system capable of delivering high resolution images with excellent contrast even at very low beam energies. The advanced optical system design of the GEMINI® meets this requirement with its unique beam booster approach, providing decreasing lens aberration coefficients with decreasing beam energy. Imaging of magnetic materials, such as ferromagnetic steel or rare earths, can be easily achieved with an objective lens designed for minimum magnetic field at the sample. High voltage material characterization by EDS, EBSD or other advanced techniques is based on a system designed for analytics. With its short analytical working distance of down to 5 mm and an optics design that provides optimised beam current conditions and hence signal to noise ratios, the system is ideally suited for any kind of material investigation.



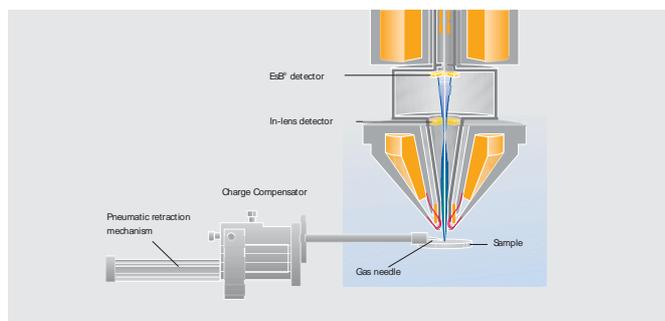
Magnetic field leakage of the GEMINI® lens compared to a traditional single pole lens design. A minimum magnetic field is required for the high resolution investigation of magnetic materials and undistorted ion beam operation.

The beam booster advantage: decreasing lens aberrations with decreasing beam voltage for high resolution imaging at very low landing energies.

Ease of use by design  
Being able to easily adjust parameters such as the beam voltage and field of view is of key importance in optimizing an instrument for maximum resolution and contrast imaging. Faster time to result can be achieved with an optical system design providing truly continuous adjustment of magnification, no tedious re-alignments after a change in beam energy, and a system control that automatically provides optimized values for beam aperture selection.

Instant topography and composition  
Topographical and compositional information is obtained simultaneously thanks to the unique detector architecture that allows parallel detection of secondary and back-scattered electrons. Two secondary electron detectors – chamber mounted and in-lens – guarantee maximum topography information for samples of various heights and shapes. The optional EsB® detector provides highest material contrast with energy-filtered detection of backscattered electrons.

# Local Charge Compensation Unique Technology



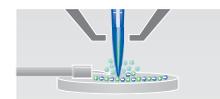
Fast change between local charge compensation and high vacuum operation is guaranteed by a simple pneumatic retraction mechanism for the gas injection system.

Imaging and analysis of charging samples  
The local charge compensator is essential to ensure maximum information gain for insulating materials. This system enables convenient SEM imaging across the entire range of acceleration voltages, better milling results by suppressing FIB-deflections, superior high KV analytics, such as EDS or EBSD, with no information loss, as well as the use of all standard detectors.

The design of the local charge compensation system is based on a gas which is locally injected into the area of interest and ionized by collisions with charged particles. This ionisation results in the desired removal of specimen charging and can also be used for in-situ sample cleaning.



The sample surface is charged up by electron irradiation. The gas flow is turned on and the gas molecules (light green) form a local gas cloud above the sample surface.



SE and BSE emitted from the sample surface ionize the gas molecules. The sample surface is neutralized when the resulting positive ions (darkgreen) hit the sample. Full imaging and analytical capabilities are thus enabled.



## Technology for Vacuum Systems

### Instructions for use



- ME 2C NT
- ME 4C NT
- ME 4C NT + 2 AK
- ME 8C NT
- ME 8C NT + 2 AK
- MZ 2C NT
- MZ 2C NT + 2 AK
- MZ 2C NT + AK + M + D
- MZ 2C NT + AK + EK
- MZ 2C NT + AK Synchro + EK
- MD 4C NT
- MD 4C NT + 2 AK
- MD 4C NT + AK + EK
- MD 4C NT + AK Synchro + EK
- PC 101 NT
- PC 201 NT

**Chemistry diaphragm pumps**  
**Chemistry vacuum systems**  
**Chemistry pumping units**

Dear customer,

Your VACUUBRAND diaphragm pumps are designed to provide you with many years of trouble-free service with optimal performance. Our many years of practical experience allow us to provide a wealth of application and safety information. Please read these instructions for use before the initial operation of your pump.

VACUUBRAND diaphragm pumps combine our many years of experience in design, construction and practical operation, with the latest developments in material and manufacturing technology.

Our quality maxim is the "zero defect" principle:

Every diaphragm pump, before leaving our factory, is tested intensively, including an endurance run of 14 hours. Any faults, even those which occur rarely, are identified and can be eliminated immediately.

After completion of the endurance run, every pump is tested, and must achieve specifications before shipment.

We are committed to providing our customers only pumps that meet this high quality standard.

While our pumps cannot eliminate all of your work, we design, manufacture and test them to ensure that they will be an effective and trouble-free tool to assist you in that work.

Yours,

VACUUBRAND GMBH + CO KG

### **After sales service:**

**Contact your local dealer or call +49 9342 808-5500.**

### **Trademark index:**

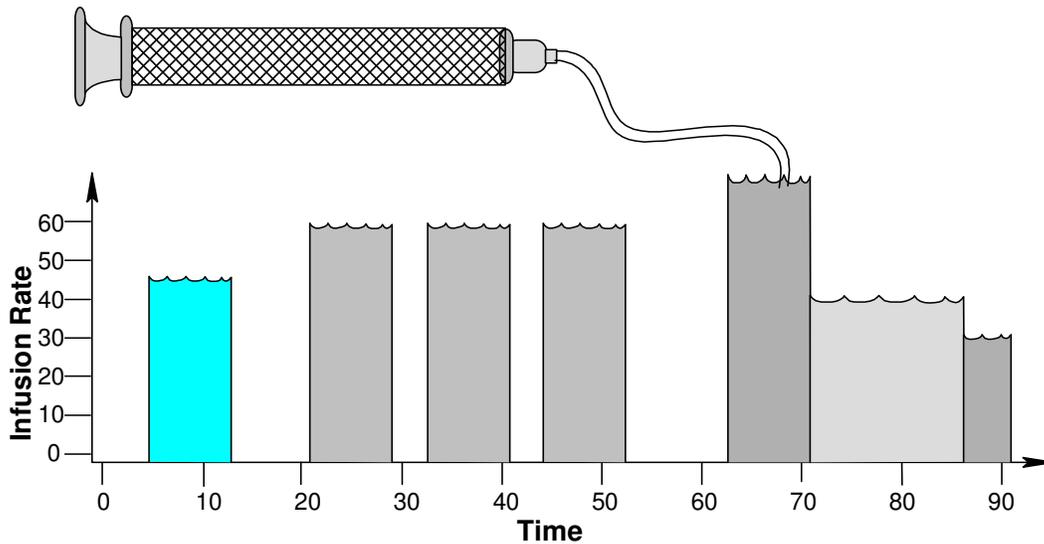
VACUU•LAN® (US-Reg.No 3,704,401), VACUU•BUS®, VACUU•CONTROL®, Peltronic®, VARIO® (US-Reg.No 3,833,788), VACUUBRAND® (US-Reg.No 3,733,388) and also the shown company logos are registered trademarks of VACUUBRAND GMBH + CO KG in Germany and/or other countries.

# SyringePump.com

Model: NE-1000  
Multi-Phaser™

## NE-1000 Series of Programmable Syringe Pumps

Firmware Version: V3.923



“WHAT’S YOUR APPLICATION?”™



**WARNING**  
**NOT FOR CLINICAL**  
**USE ON HUMANS**

## Quick Start Instructions

Assumes that the pump was not previous programmed with a multiple Phase Pumping Program.

- Plug in the pump.
- Press the power switch to turn on power.
- Press any key to stop the display from blinking.

### Setup Pumping Parameters

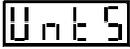
#### To Change Numbers:

- Use the up-arrow keys to increment individual digits.
- **To set/clear the decimal point:** Simultaneously press the 2 up-arrow keys under the 2 digits next to the decimal point position. Alternatively, press and hold the left-most up-arrow key for at least 1 second. When the digit increments from 9 to 0, the decimal point will begin to shift. Release the key when the decimal point is correct.
- Press any non-arrow key, or wait 2 seconds, to enter the new setting. The display will blink when a new value is entered and stored in memory.

#### Set the Syringe Inside Diameter:

- Momentarily press the 'Diameter' key. Set the inside diameter of the syringe in millimeters (mm).

#### Set the Pumping Rate.

- Momentarily press the 'Rate' key.
- To change the **pumping rate units:**
  - Momentarily press the 'Rate' key again. The display will show: 
  - Press any up-arrow key to select the next available rate units while the units LEDs are blinking.
  - Press any non-arrow key, or wait 2 seconds, to set the rate units.
- Set the pumping rate. If the pumping rate is out of range, the display will show: 

#### Set the Volume to be Dispensed or Continuous Pumping

- Momentarily press the 'Volume' key.
- When the display shows , the pump is set for continuous pumping. Pressing any up arrow key will change the display to 0.
- For continuous pumping: Set the volume to 0.
- For a Volume to be Dispensed: Set the volume. The default units are set according to the syringe diameter.

#### Set the Pumping Direction

- When the 'Withdraw' LED is lit, the pump is set for withdrawing. When not lit, the pump is set for infusing. Use the '↔' key to change the pumping direction.

### Load the Syringe

- Press in the white drive-nut button to move the pusher block.
- Insert the syringe plunger in the pusher block slot.
- Insert the syringe barrel flange in the flange brackets with the syringe barrel holder on the syringe. Tighten the flange brackets onto the syringe flange. Tighten the pusher block screw.

**Prime / Purge:** Press and hold the 'Start/Stop' key for one second. Release to stop.

**Start the Pump:** Press and release the 'Start/Stop' key to start or stop the pump.

### When Pumping

- The pumping rate can be changed.
- With continuous pumping, the pumping direction can be changed.

**PUMP RESET:** Press and hold the right-most up-arrow key while turning on power to the pump.

# FJ Series 120W Regulated High Voltage DC Power Supplies

1 kV to 60 kV  
Rack Mount  
1.75 Inch Panel  
Height...

Laboratory  
Performance...

CE and Semi S2-  
93 Compliant

Fully RoHS  
Compliant

The FJ Series of 120 watt high voltage supplies feature flexible embedded controls with low ripple and noise. They are air insulated, fast response units, with tight regulation and extremely low arc discharge currents.

Please refer to Technology > Applications page on our web site for typical applications.

The FJ Series with 22 option, are fully compliant with the Following European Directives:  
EN61000-3-2, Line Harmonics  
EN61010/ IEC61010, Safety  
EN61000-6-4, Conducted and Radiated Emissions  
EN61000-6-2:2005, Conducted and Radiated Immunity.  
2011/65/EU, Restriction of the use of Hazardous Substances (RoHS)



Models from 0 to 1 kV through 0 to 60 kV, 1.75" H x 20.0" D, 12 lbs.

## Features:

**Arc Quench.** The HV output is inhibited for a short period after each load arc to help extinguish the arc.

**Arc Count.** Internal circuitry constantly senses and integrates arcs that occur over a given time. In the event a system or load arcing problem develops and exceeds factory-set parameters, the power supply will cycle off in an attempt to clear the fault and then automatically restart after a pre-set "off dwell time".

**Pulse-Width Modulation.** Off-the-line pulse-width modulation provides high efficiency and a reduced parts count for improved reliability.

**Embedded Microcontroller control.** Front panel digital encoders provide high resolution local adjustment of voltage and current program. Integral RS-232, USB and optional ethernet communications provide remote control program and monitor.

**Low Ripple.** Typically, ripple is less than 0.02% RMS of rated voltage at full load.

**Air Insulated.** The FJ Series features "air" as the primary dielectric medium. No oil or encapsulation is used to impede serviceability or increase weight.

**Constant Voltage/Constant Current Operation.** Automatic crossover from constant-voltage to constant-current regulation provides protection against overloads, arcs, and short circuits.

**Redundant Thermal Overload Protection.** Thermostats and fan RPM sensing shut down the power supply due to over temperature or reduced fan speeds.

**Tight Regulation.** Voltage regulation is better than 0.005% for allowable line and load variations. Current regulation is better than 0.1% from short circuit to rated voltage.

**Constant Current/Current Trip.** A rear panel switch allows selection of either current mode.

**Slow Start.** Adjustable ramp time from 0 - 30 seconds. Output ramps from 0 V to programmed voltage level.

**Warranty.** Standard power supplies are warranted for three years; OEM and modified power supplies are warranted for one year. A formal warranty statement is available.



Designing Solutions for High Voltage Power Supply Applications

**GLASSMAN HIGH VOLTAGE INC.**

124 West Main Street, PO Box 317, High Bridge, NJ 08829-0317  
(908) 638-3800 • Fax (908) 638-3700 • www.glassmanhv.com

**GLASSMAN EUROPE Limited (UK)**  
+44 1256 883007 FAX +44 1256 883017  
E-mail: Glassman\_europe@glassmanhv.com

**GLASSMAN JAPAN High Voltage Limited**  
+81 45 902 9988 FAX +81 45 902 2268  
E-mail: Glassman\_japan@glassmanhv.com

# Specifications

(Specifications apply from 5% to 100% rated voltage. Operation is guaranteed down to zero voltage with a slight degradation of performance.)

**Input:** User selectable via rear panel switch, 102 - 132 V RMS or 198 to 264 VRMS single-phase, 48-63 Hz, 300 VA maximum at full load. C14 connector per IEC 60320 with mating line cords  
**SHIPPED SET FOR 198 to 264.**

**Efficiency:** Typically greater than 85% at full load.

**Output:** Continuous, stable adjustment, from 0 to rated voltage or current by panel mounted optical rotary encoder or by external +10V signals. Voltage accuracy is 0.5% of setting + 0.2% of rated. Optical rotary encoder resolution: 0.025% with "Fine Adjustment" mode selected. 0.25% with "Coarse Adjustment" mode (default). Repeatability is < 0.1% of rated.

**Static Voltage Regulation:** Better than  $\pm 0.005\%$  for specified line variations and  $0.005\% + 0.5 \text{ mV/mA}$  for no load to full load variations.

**Dynamic Voltage Regulation:** For load transients from 10% to 99% and 99% to 10%, typical deviation is less than 2% of rated output voltage with recovery to within 1% in 500 us and recovery to within 0.1% in 1 ms.

**Ripple:** Better than 0.02% of rated voltage + 0.5 V RMS at full load.

**Current Regulation:** When in current regulation mode, better than 0.1% from short circuit to rated voltage at any load condition.

**Voltage Monitor:** 0 to +10 V equivalent to 0 to rated voltage. Accuracy: 0.5% of reading + 0.2% of rated. Impedance is  $10 \text{ K}\Omega$ .

**Current Monitor:** 0 to +10 V equivalent to 0 to rated current. Accuracy: 1% of reading + 0.1% of rated. Impedance is  $10 \text{ K}\Omega$ .

**Stability:** 0.01% per hour after 1/2 hour warm-up, 0.05% per 8 hours.

**Voltage Rise/Decay Time Constant:** The voltage rise time constant is 50 ms typical for all models using either HV enable or remote programming control. The voltage decay time constant is 50 ms with an 80% resistive load for 10 kV to 60 kV models and 50 ms with a 10% resistive load for 1 kV to 8 kV models.

**Temperature Coefficient:** 0.01% /°C.

**Ambient Temperature:** -20 to +40° C, operating; -40 to +85° C, storage.

**Polarity:** Available with either positive, negative or reversible polarity with respect to chassis ground.

**Protection:** Automatic current regulation protects against all overloads, including arcs and short circuits. Thermal switches and RPM sensing fans protect against thermal overload. Fuses, surge-limiting resistors, and low energy components provide ultimate protection.

**Arc Quench:** An arc quench feature provides sensing of each load arc and quickly inhibits the HV output for approximately 20 ms after each arc. Standard on 8 - 60 kV models; optional on 1- 6 kV models.

**Arc Count:** Internal circuitry senses the number of arcs caused by external load discharges. If the rate of consecutive arcs exceeds approximately one arc per second for five arcs, the supply will turn off for approximately 5 seconds to allow clearance of the fault. After this period the supply will automatically return to the programmed kV value with the rise time constant indicated. If the load fault still exists, the above cycle will repeat. Standard on 8 - 60 kV models; optional on 1- 6 kV models.

**External Interlock:** Open = off, closed = on. Normally latching except for blank front panel version where it is non-latching.

**Remote HV Enable/Disable:** 0 - 1.5 V = OFF, 2.5 - 15 V = ON.

**RS232/USB/Ethernet Programming and Monitor Accuracy:**

**Resolution:** 0.025% of full scale for both the voltage and the current programs. 0.1% of full scale for both the voltage and the current monitors

**Remote setting accuracy:** Voltage setting accuracy is better than 0.5% of setting + 0.2% of rated.

**Remote reading accuracy:** Voltage reading accuracy is 0.5% of reading + 0.2% of rated. Current reading accuracy is 1% of reading + 0.1% of rated.

**Front Panel Elements.**

**Output Voltage & Current Display:** 3.5 Digit digital meters. 1250 count maximum.

**Indicators:** AC Power, Current Mode, Voltage Mode, Pol +, Pol -, Fault, Fine Adjustment, Preset, Control Lock, Remote Enable, Remote Program, HV On.

**AC Power:** Rocker switch

**Switches (momentary):** HV On, SS Slope, Standby, Remote Enable, Remote Program, Preset, Fine Adjust, Control Lock.

**Rotary Encoders:** Voltage Adjust, Current Adjust..

**Rear Panel Elements.** AC power entry connector, fuses, power on indicator, ground stud, HV output connector, remote interface connector, RS232/USB connectors, and input voltage selector switch.

The signals provided on the remote interface connector are as follows:

**Inputs:** Safety interlock, output voltage and current program signals, high voltage enable and remote HV on.

**Outputs:** Output voltage and current monitor signals, HV status, fault status, I/V mode status and a +10 V reference source.

Signal common and ground reference terminals are also provided.

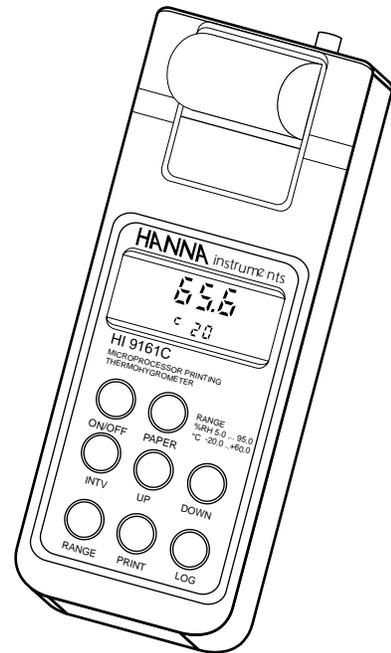
**Accessories:** Detachable, 8 foot, shielded high voltage coaxial cable (see models chart for cable type), 6 foot NEMA 5-15 line cord, 6 foot NEMA 6-15 line cord, 10 foot null modem cable and 10 foot USB cable are provided.

**Weight:** Approximately 12 lbs.

## Instruction Manual

---

# HI 9161 - HI 9261 HI 91610 Portable Microprocessor Printing and Logging Thermohygrometers



---

 **HANNA**  
instruments  
<http://www.hannainst.com>

**CE**  
These Instruments are in  
Compliance with the CE Directives

Dear Customer,

Thank you for choosing a Hanna Product.

Please read this instruction manual carefully before using the instrument. This manual will provide you with the necessary information for the correct use of the instrument, as well as a precise idea of its versatility. If you need more technical information, do not hesitate to e-mail us at [tech@hannainst.com](mailto:tech@hannainst.com).

These instruments are in compliance with **CE** directives EN 50081-1 and 50082-1.

## TABLE OF CONTENTS

PRELIMINARY EXAMINATION .....	3
GENERAL DESCRIPTION .....	3
FUNCTIONAL DESCRIPTION HI 9161 .....	5
FUNCTIONAL DESCRIPTION HI 9261 .....	6
FUNCTIONAL DESCRIPTION HI 91610 .....	7
FUNCTIONAL DESCRIPTION R.H. PROBE AND DISPLAY .....	8
SPECIFICATIONS .....	9
INITIAL PREPARATION .....	10
OPERATIONAL GUIDE .....	11
PRINTING/RECORDING WITH HI 9161 & HI 9261 .....	18
PRINTING/LOGGING WITH HI 91610 .....	20
CALIBRATION .....	26
DATA TRANSFER TO PC (HI 91610) .....	29
SELF-DIAGNOSTIC FUNCTIONS .....	30
MEMORY ORGANIZATION (HI 91610) .....	30
PRINTER MAINTENANCE .....	31
BATTERY REPLACEMENT .....	33
ACCESSORIES .....	34
WARRANTY .....	37
CE DECLARATION OF CONFORMITY .....	39



*ISO 9000 Certified  
Company since 1992*

## PRELIMINARY EXAMINATION

Remove the instrument from the packing material and examine it carefully to make sure that no damage has occurred during shipping. If there is any damage, notify your Dealer or the nearest Hanna Customer Service Center.

Each printing thermohygrometer is supplied complete with:

- Relative Humidity Probe (HI 70604/2)
- Temperature Probe (HI 762L/2)
- 1.5V AA Size Batteries (4 pieces)
- Non-fading Printer Paper (5 rolls)
- Rugged Carrying Case

Note: Save all packing material until you are sure that the instrument functions correctly. Any defective item must be returned in their original packaging together with the supplied accessories.

## GENERAL DESCRIPTION

HI 9161, HI 9261 and HI 91610 are portable, microprocessor-based printing/logging thermohygrometers.

The housing is made of rugged, lightweight material, making them truly portable. HI 9261 has been specifically designed by Hanna Instruments for use in the food industry.

The meters come equipped with a large, easy-to-read LCD.

Measurements can be performed with lab-grade precision in the field as well as in the laboratory without compromising accuracy.

For prolonged field and lab applications, these meters can be connected to a 12VDC adapter.

The interchangeable relative humidity probe contains both the sensor and the electronic circuitry necessary to amplify the R.H. measurements. Another electronic circuit converts the signal sent by the probe into a digital readout in % Relative Humidity. The standard cable is 2 meters (7') long, and a 5 meter (16.5') version is also available.

Note: the RH probe sensor must never come into contact with water or other liquids.

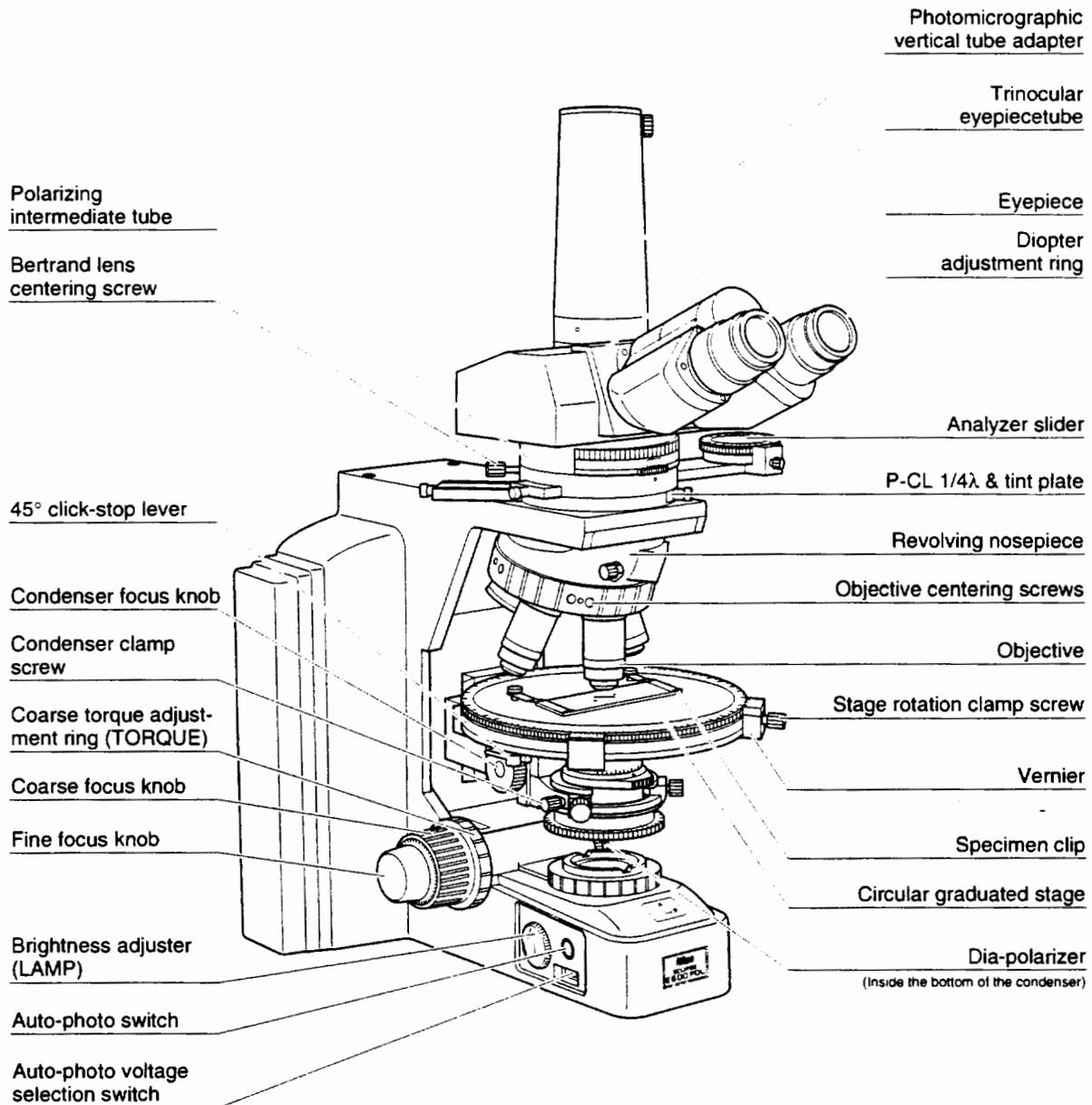
***Nikon***

Polarizing Microscope  
**ECLIPSE E600 POL**  
Instructions

# 1

## Names of Component Parts and Operational Parts

If the microscope has not yet been assembled, see chapter "4. Assembly" first.



# Technical Data

Essential Specifications	ULTRA PLUS	ULTRA 55	ULTRA 60
<b>Resolution (optimal WD)</b> <i>All resolution specifications are dependent on the system configuration.</i>	0.8 nm @ 30 kV (STEM mode) 0.8 nm @ 15 kV 1.6 nm @ 1 kV		
<b>Magnification</b>	12 - 1,000,000 x in SE mode / 100 - 1,000,000 x with EsB® detector		
<b>Emitter</b>	Thermal field emission type, stability >0.2%/h		
<b>Acceleration Voltage</b>	0.02 kV - 30 kV		
<b>Probe Current</b>	Configuration 1: 4 pA – 20 nA / Configuration 2: 12 pA – 100 nA		
<b>Detectors</b>	EsB® detector with filtering grid (0 – 1500V), High efficiency in-lens SE detector, Chamber mounted Everhart-Thornley detector, Integrated AsB® detector		
<b>Chamber</b>	330 mm (Ø) x 270 mm (h), 3 EDS ports 35° TOA, CCD-camera with IR illumination	330 mm (Ø) x 270 mm (h), 3 EDS ports 35° TOA, CCD-camera with IR illumination	520 mm (Ø) x 300 mm (h), 2 EDS ports 35° TOA, Integrated 8" airlock, CCD-camera with IR illumination
<b>Vacuum System</b>	Complete dry pumping system composed of Backing Pump, Turbomolecular Pump and Ion Getter Pump, Automatically controlled Quiet Mode to switch off Backing Pump after sample transfer when vacuum threshold is achieved		
<b>Charge Compensator</b>	Fully automated and pneumatic retractable local gas injector	—	—
<b>Specimen Stage</b>	5-Axes Motorised Eucentric Stage X = 130 mm, Y = 130 mm, Z = 50 mm, T = -3 to 70° R = 360° (continuous) 6-Axes Eucentric Stage X = 100 mm, Y = 100 mm, Z = 42 mm, Z' = 13 mm, T = -4 to 70° R = 360° (continuous)		6-Axes Motorised Super-Eucentric Specimen Stage X = 152 mm Y = 152 mm Z = 43 mm Z' = 10 mm T = -15 - 60° R = 360° (continuous)
<b>Image Processing</b>	Resolution: Up to 3072 x 2304 pixel, Noise reduction: Seven integration and averaging modes		
<b>Image Display</b>	High end 19" flat panel TFT colour display monitor with SEM image displayed at 1024 x 768 pixel		
<b>System Control</b>	SmartSEM** with Windows®XP, operated by mouse, keyboard and joystick with optional control panel		
<b>Space Requirement</b>	Minimum footprint: 1.97 m x 1.73 m, Minimum working area: 3.5 m x 5.0 m		Minimum footprint: 2.81 m x 1.73 m, Minimum working area: 3.5 m x 5.0 m
*SmartSEM® – Fifth generation SEM control Graphical User Interface			