

Proyecto Fin de Carrera
Grado en Ingeniería Electrónica, Robótica y
Mecatrónica

Aplicación Tecnología Microondas de Frecuencia
Variable para Recalentamiento de Tejido Cardíaco
Criopreservado

Autor: Ana Zarco López

Tutor: Ramón Jesús Risco Delgado

Dpto. Física Aplicada III
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla

Sevilla, 2021



Proyecto Fin de Carrera
Ingeniería Electrónica, Robótica y Mecatrónica

Aplicación Tecnología Microondas de Frecuencia Variable para Recalentamiento de Tejido Cardíaco Criopreservado

Autor:

Ana Zarco López

Tutor:

Ramón Risco Delgado

Profesor titular

Dpto. de Física Aplicada III
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla
Sevilla, 2021

Proyecto Fin de Carrera: Aplicación Tecnología Microondas de Frecuencia Variable para Recalentamiento de
Tejido Cardíaco Criopreservado

Autor: Ana Zarco López

Tutor: Ramón Risco Delgado

El tribunal nombrado para juzgar el Proyecto arriba indicado, compuesto por los siguientes miembros:

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

Fecha:

El Secretario del Tribunal:

Agradecimientos

Este apartado es el directo responsable de estos minutos de pausa que me he tomado a hacer memoria para recordar todo lo vivido en esta etapa. Estos momentos están repletos de personas que han estado presente y junto con las que he pasado la misma. A las que les quiero dedicar estos párrafos de agradecimiento.

En primer lugar, quisiera agradecer a Ramón y mis compañeros. No podría haber tenido mejor tutor, al que agradezco mucho su ayuda y la confianza que puso en mí. Ha sido un placer trabajar en este interesante proyecto junto con este equipazo.

A todos los profesores y profesoras que durante mis etapas académicas no solo me han enseñado conocimientos sino otros valores y que me han inspirado como persona.

A mis compañeros y compañeras, aunque desgraciadamente no volveré a verles cada mañana compartiendo tantas vivencias juntos y terminemos distanciándonos al tomar cada uno su propio camino, han sido un pilar fundamental durante la etapa universitaria. Sea como sea, seguro que no les olvidaré.

A mis amigas y amigos, a pesar del reducido tiempo que hemos podido pasar juntos por las circunstancias, me han hecho sentirme querida y valorada en todo momento. Hemos forjado una relación que, independientemente del contacto que mantengamos, sé que siempre están ahí, igual que yo estoy para ellos como confió que siga siendo durante muchos más años. También a mis amigos virtuales o simplemente amigos, seguramente los que más me han escuchado diariamente en esta etapa y que han sido los que me han alegrado muchos de ellos.

A mi familia, mis padres y hermanos, por todo lo que han hecho por mí, por su amor, gracias.

Y si esto se permite quisiera agradecerme a mi misma.

Ana Zarco López

Grado en Ingeniería Electrónica, Robótica y Mecatrónica

Sevilla, 2021

Una de las proyecciones futuras de la criopreservación es lograr completar dicho desarrollo manteniendo la viabilidad y funcionalidad de tejidos biológicos. Esto permitiría formar bancos de órganos criopreservados entre otras aplicaciones que abriría paso esta técnica.

No obstante, se encuentran complicaciones que no lo hacen factible y aún permanecen en investigación soluciones y técnicas potenciales. Entre estos problemas, una de las principales dificultades reside en el proceso de recalentamiento, en el cual el tejido sufre daños biológicos internos que destruyen estos tejidos de mayor tamaño.

Este estudio se realiza con objetivo de analizar una posible solución a esta cuestión, el recalentamiento de órganos mediante tecnología VFM, basada en la introducción de tasas de cambio de frecuencia de microondas. Con el fin de recabar toda la información posible para caracterizar el estudio de forma completa y afin a datos reales, se parte comenzando con una revisión bibliográfica del estado actual y las investigaciones que se han llevado a cabo en el campo de la criopreservación y VFM, además de documentar las características y propiedades dieléctricas de las muestras biológicas tratadas.

En este proyecto se han desarrollado una serie de modelos que emulan cómo se comportaría el sistema de calentamiento de un corazón humano criopreservado mediante simulaciones realizadas en programas de elementos finitos, QuickWave y Comsol Multiphysics.

Para el análisis se realizaron dos tipos de experimentos controlados, modelando un sistema microondas con frecuencia fija y otro con frecuencia variable.

Finalmente, se presentan los resultados obtenidos. Estos demostraron que la uniformidad y la eficiencia del calentamiento están muy influenciadas por la frecuencia. Esta prometedora tecnología VFM optimizaba el proceso de recalentamiento y su rendimiento de forma notoria. Obteniendo perfiles de transferencia de calor más rápidos y un mapa de distribución de temperaturas más uniformes u homogéneos.

Abstract

One of the future projections of cryopreservation is to complete this development while maintaining the viability and functionality of biological tissues. This will allow to form banks of cryopreserved organs and other applications that this technique would open the way.

However, complications are encountered that make it not feasible. Potential solutions and techniques not still under investigation. Among these problems, one of the main difficulties lies in the rewarming process, in which the tissue suffers internal biological damage that destroys these larger tissues.

This study is carried out with the objective of analyzing a possible solution to this question, the reheating of organs technology using VFM, based on the introduction of microwave frequency swept rates.

In order to collect all the possible information to characterize the study in a complete way and related to real data, it starts with a bibliographic review of the current state and the investigations that have been carried out in the field of cryopreservation and VFM, in addition to documenting the characteristics and dielectric properties of the treated biological samples.

In this project, a series of models have been developed that emulate how the heating system of a cryopreserved human heart would behave through simulations carried out in finite element programs, QWED and Comsol Multiphysics.

For the analysis, two types of experiments were carried out, modeling a microwave system with a fixed frequency and another with variable frequencies.

Finally, the results obtained are presented. These demonstrated that the uniformity and efficiency of heating are highly influenced by frequency and this promising VFM technology significantly optimized the process and its performance, obtaining faster heat transfer profiles and more uniform or homogeneous temperature distribution.

. -translation by google-

Agradecimientos	vii
Resumen	ix
Abstract	xi
Índice	xii
Índice de Tablas	xiv
Índice de Figuras	xvi
1 Introducción	1
2 Estado del arte	3
2.1. <i>Criopreservación.</i>	3
2.1.1 Introducción, origen y definición de conceptos	3
2.1.2 Proceso y dificultades	6
2.1.3 Técnicas y procedimiento protocolo	12
2.1.4 Aplicaciones de la criopreservación	13
2.2. <i>Microondas y tecnología vfm</i>	15
3 Objetivos	21
4 Metodología	23
4.1 <i>Fundamentos físicos y modelo matemático</i>	23
4.2 <i>Entorno software y equipo utilizado</i>	24
4.3 <i>Descripción del objeto de estudio.</i>	25
4.3.1 El corazón humano. Introducción.	25
4.3.2 Geometría	26
4.3.3 Parametrización de las propiedades dieléctricas corazón.	28
4.4 <i>Descripción del modelo completo</i>	35
4.5 <i>Experimentos y Simulaciones</i>	48
5 Resultados	57
6 Conclusiones y líneas de investigación futuras	67
Referencias	70
Glosario	74
ANEXO A: CODIGOS MATLAB	75

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 4.1 Datos de densidad, calor específico y conductividad térmica órgano.	31
Tabla 4.2 Parámetros de tejido muscular de la ecuación Cole-Cole obtenidos por S.Gabriel.	33
Tabla 4.3 Definición parámetros globales COMSOL.	39
Tabla 4.4 Propiedades dieléctricas del material: cobre.	41
Tabla 4.5 Propiedades dieléctricas del material: aire.	42
Tabla 4.6 Propiedades dieléctricas del material: cristal	42
Tabla 4.7 Propiedades dieléctricas del material: órgano cardíaco humano	43
Tabla 5.1 Tabla de temperatura media alcanzada con frecuencia fija (a) y variable (b) en los modelos de Comsol	64
Tabla 5.2 Datos de densidad, calor específico y conductividad térmica órgano.	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 Diagrama P-T del agua. Representación de principio descenso crioscópico.	4
Figura 2.2 Distintos escenarios consecuencia de la osmosis en células de glóbulos rojos.	5
Figura 2.3 Distintos escenarios consecuencia de la velocidad de enfriamiento.	8
Figura 2.4 Naturaleza de los daños crioinducidos según la velocidad de congelación.	8
Figura 2.5 Probabilidad de fenómenos de nucleación y crecimiento en función de la temperatura y concentración de crioprotector genérico.	10
Figura 2.6 Espectro electromagnético	15
Figura 2.7 Bandas de radiofrecuencia.	16
Figura 2.8 Efectos en las moléculas causados por microondas. (a) por distribución de la carga, (b) redistribución polar.	16
Figura 2.9 Onda estacionaria en el interior de microondas tradicional de frecuencia fija.	18
Figura 2.10 Microondas de tecnología VFM: modelo microcure 2100.	18
Figura 4.1 Esquema simplificado fisiología órgano cardíaco.	26
Figura 4.2 Modelado y modificación corazón en software autodesk Fusion 360	27
Figura 4.3 Modelo geométrico corazón en QuickWave. Vista en alzado planta y perfil.	27
Figura 4.4 Modelo geométrico simplificado esfera corazón en COMSOL.	28
Figura 4.5 Parámetros dieléctricos del material y sus unidades en QuickWave	29
Figura 4.6 Contenido de agua en porcentaje en distintos tejidos y órganos humanos.	29
Figura 4.7 Permitividad y conductividad de tejido animal en función del contenido de agua a 3GHz.	30
Figura 4.8 Esquema distintas regiones de las propiedades dieléctricas, ϵ y σ , de tejidos en función de la frecuencia.	32
Figura 4.9 Grafica específica de corazón humano. Datos de permeabilidad relativa y conductividad eléctrica en un alto rango de frecuencia	32
Figura 4.10 Grafica de la permitividad real, conductividad en un rango de 100MHz a 25Ghz de mezclas con distintas concentraciones de glicerina.	34
Figura 4.11 Interfaz software COMSOL. Datos dieléctricos del material de estudio	34
Figura 4.12 Datos dieléctricos del material de estudio en software QuickWave	35
Figura 4.13 Interfaz Software de simulación (a) Comsol (b) QuickWave	35
Figura 4.14 Modelo geométrico completo. Esquema 3d y árbol bloques que lo forman.	36
Figura 4.15 Barra de herramientas para modelado geométrico de COMSOL (a) y de QuickWave (b)	36
Figura 4.16 Modelo geométrico detalle: cavidad del horno y puertos	37
Figura 4.17 Modelo geométrico detalle: plato central	37
Figura 4.18 Modelo geométrico detalle: órgano de estudio	38
Figura 4.19 Árbol de definiciones en el que se ven declarados las partes que componen la geometría espacial.	38
Figura 4.20 Modelo 3d: plano simetría.	40
Figura 4.21 Geometría del microondas a tamaño completo (izquierda) y reducido a la mitad (derecha)	40
Figura 4.22 Árbol con materiales usados en el modelo.	40
Figura 4.23 Librería de materiales definidos en el software simulación.	41
Figura 4.24 Mallado del interior cavidad horno	44
Figura 4.25 Mallado del modelo de órgano	44
Figura 4.26 Árbol de físicas en software de simulación.	45
Figura 4.27 Representación onda electromagnética simulada QWED.	45
Figura 4.28 Puertos de campo electromagnético	46

Figura 4.29 Configuración del puerto electromagnético (a) en COMSOL y (b) en QuickWave.	47
Figura 4.30 Configuración estudio transferencia de calor en solidos de COMSOL .	47
Figura 4.31 Acoplamiento físico en el software de simulaciones	48
Figura 4.32 Configuración de la simulación en QWED.	49
Figura 4.33 Tabla QWED de asignación de frecuencias variables en cada paso	50
Figura 4.34 Código Matlab para generación tabla de frecuencias variables en QuickWave	50
Figura 4.35 Configuración estudio del dominio temporal de Comsol.	51
Figura 4.36 Estrategia de simulación modelo variable de Comsol con Matlab	52
Figura 4.37 Mensajes salida en consola livelink comsol 5.6 with matlab	52
Figura 4.38 Código Matlab para modelado frecuencia variable con Comsol. Parte 1	53
Figura 4.39 Código Matlab para modelado frecuencia variable con Comsol. Parte 2	53
Figura 4.40 Código Matlab para modelado frecuencia variable con Comsol. Parte 3	54
Figura 5.1 Mapa distribución espacial patrón de campo magnético E [V/mm] para distintas frecuencias desde 2.45GHZ(a), 3.5GHZ(b), 5 Ghz(c) hasta 7 GHz(d)	57
Figura 5.2. Tabla de energía y potencia disipada a frecuencia 2.46GHz(a) y 4 GHz(b).	58
Figura 5.3. Mapa distribución temperatura en esfera tras calentamiento 30s a frec.fija (a) y frec.variable (b)	59
Figura 5.4. Mapa distribución temperatura en órgano QWED tras calentamiento 30s a frec.fija (a) y frec.variable (b)	61
Figura 5.5 Tabla datos temperatura de calentamiento en QuickWave.	60
Figura 5.6 Grafica comparativa de temperatura media con frec.fija vs variable en experimento QuickWave.	61
Figura 5.7 Línea de corte 3D para representación de datos.	61
Figura 5.8 Perfil térmico para una línea de referencia en el eje coordenado x del modelo de frecuencia fija y 1KW de potencia	62
Figura 5.9 Valor absoluto del campo eléctrico formado por ondas de frecuencia 2.45 GHz a lo largo de la línea de referencia.	62
Figura 5.10 Perfil térmico en puntos de línea de referencia en modelo de frecuencia fija a 250W con distintos pasos de simulación hasta 60s.	63
Figura 5.11 Perfil térmico en puntos de línea de referencia en modelo de frecuencia fija a 600W al finalizar simulación 60s	63
Figura 5.12 Perfil térmico en puntos de línea de referencia en modelo de frecuencia variable a 600W al finalizar simulación de 30s.	64

1 INTRODUCCIÓN

A mediados del siglo pasado nace una herramienta que supuso una revolución en el campo de las disciplinas de ciencias biológicas, la criopreservación. El interés de conservar material biológico a estas bajas temperaturas reside en la capacidad de suspender el tiempo biológico, deteniendo la actividad enzimática o química que pueda degradar el mismo.

Sustenta numerosos empleos, desde su uso para investigación de microorganismos, como también para el desarrollo de la sostenibilidad de recursos biológicos y la conservación de especies hasta para la medicina regenerativa a partir de células madre congeladas.

Una de las utilidades más importantes que se plantean en medicina son bancos de órganos. Debido a la escasez de órganos disponibles de donaciones y las largas listas de espera de pacientes para recibir estos trasplantes, se ha convertido en un punto crítico mantener la viabilidad de los órganos desde su extracción hasta comprobar el triunfo del injerto.

Esta línea de investigación es relativamente novedosa y a pesar de los grandes avances conquistados en las distintas fases de la criopreservación, aun hoy en día se encuentra vigente la búsqueda de soluciones y mejoras a las dificultades y problemas de lesiones irreversibles que se presentan en este proceso de enfriamiento y su posterior reversión mediante calentamiento.

Por otro lado, se ha desarrollado una tecnología que solventa los problemas inherentes en el proceso de calentamiento convencional por microondas a frecuencia fija. Mediante un barrido en el rango de frecuencias se consigue un patrón de temperaturas de calentamiento selectivo y más uniforme junto con una mayor eficiencia.

Esta técnica VFM es usada de forma asidua en la industria para la unión y secado a alta velocidad de distintos polímeros termoplásticos, sin embargo, aún no ha sido extendida su aplicación a otros campos como el biotecnológico.

El siguiente estudio tiene, por tanto, como objetivo analizar estos posibles beneficios que puede ofrecer la incorporación de dicha tecnología en el proceso de criopreservación.

En concreto, se enfoca en determinar los efectos del recalentamiento con VFM sobre el tejido cardíaco de un corazón humano.

A lo largo del siguiente documento se encuentran los distintos apartados que trataremos. Se comienza con el contexto actual de la criopreservación, pasando a detallar la metodología seguida y finalmente mostrando los resultados obtenidos junto con las conclusiones y líneas futuras para la investigación.

2 ESTADO DEL ARTE

2.1. Criopreservación.

2.1.1 Introducción, origen y definición de conceptos

La criopreservación se define como el proceso en el cual una célula o tejidos biológicos son congelados a temperaturas criogénicas con el objetivo de mantener la viabilidad y funcionalidad de los mismos en el tiempo.

Esta herramienta viene respaldada científicamente por la demostración de la relación directa que existe entre la temperatura de almacenamiento y el tiempo de viabilidad de la muestra criopreservada. Esto sucede ya que el tiempo biológico viene determinado por reacciones bioquímicas que van degradando el tejido biológico. El frío prolonga este tiempo pues a bajas temperaturas, inferiores a $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$, cualquier actividad biológica o metabólica queda detenida evitando la destrucción de la célula y manteniendo sus condiciones suspendidas.

El fundamento de esta práctica se conoce desde hace miles de años. En el periodo Neolítico, nuestros antepasados utilizaban fosas y cuevas donde había menor temperatura para la conservación de los alimentos. Así como en la propia naturaleza encontramos especies que, por las condiciones extremas de temperaturas, han desarrollado mecanismos propios que les permiten sobrevivir tras ser congelados. Por ejemplo, la especie de rana selvática pasa por un proceso similar al que trataremos, generando un anticongelante natural a partir de unas proteínas especializadas y glucosa. [1]

Más no fue hasta 1949 cuando se aplicó satisfactoriamente el concepto de criopreservación como lo conocemos hoy en día. Un equipo de científicos a cargo de Christopher Polge consiguieron criopreservar por primera vez eficazmente gametos de toro.

Este logro fue posible gracias al nacimiento predecesor del área de investigación de la criobiología con la publicación de la obra de Luyent “Vida y muerte a bajas temperaturas” en el año 1940 y los posteriores avances que impulsaron.

Desde entonces se han conseguido numerosos hitos y conocimientos en este ámbito, sin embargo, es una ciencia moderna de la que hoy en día aún sigue vigente su investigación como se reflejará en los siguientes apartados.

La criobiología es la ciencia que estudia cómo afecta las bajas temperaturas a los tejidos biológicos, es decir, estudia la base de conocimientos necesarios para su aplicación en la criopreservación.

Es imprescindible conocer ciertas características de las células y tejidos, junto con sus propiedades fisicoquímicas, entre ellas la estructura y composición de las membranas plasmáticas, pues determinan los principales eventos celulares que tienen lugar durante los procesos de criopreservación y de los cuales depende la viabilidad y supervivencia de las muestras. Por consiguiente, de forma previa a abordar este proyecto es esencial entender ciertos conceptos implicados.

Una célula eucariota está formada por un núcleo junto con distintos orgánulos encargados de realizar las funciones celulares sumergidos en citoplasma, una disolución de agua y sales, y delimitada por una membrana plasmática semipermeable.

Las células de tejido miocárdico están compuestas aprox. por un 70% de agua del total de su volumen, lo cual significa que su comportamiento está bastante relacionado con las características del agua.

Las moléculas de agua tienen un comportamiento muy particular comparado con el resto de compuestos que encontramos en la naturaleza. Esto se debe a su formación.

Cada molécula de H₂O está compuesta, como indica su formulación, por dos átomos de hidrógeno y uno de oxígeno que se encuentran unidos por enlaces covalentes, quedando una disposición en la cual estos distintos átomos quedan cargados positiva y negativamente respectivamente. Esto provoca que las distintas moléculas de agua se unan entre sí mediante enlaces intermoleculares débiles conocidos como puentes de hidrógeno. Estos enlaces provocan que el agua se compacte en su estado sólido. Este fenómeno estará presente en el proceso de criopreservación donde descendemos a umbrales de temperaturas bajo cero, atravesando el punto de congelación del agua pura en condiciones de presión atmosférica normalizadas.

Como se detallará más adelante, esta congelación es crítica para la viabilidad de la célula por lo que se debe evitar. Para ello una de las técnicas usadas se basa en usar a favor el principio físico del descenso crioscópico.

El descenso crioscópico consiste en disminuir la temperatura del punto de fusión del agua pura mediante la adición de sales. Es una propiedad coligativa, es decir, la relación de este descenso es directamente proporcional a la concentración de soluto existente en la disolución acuosa, dependiendo únicamente de ello y no de la naturaleza del mismo. Por tanto, permitiría descender la temperatura de la célula por debajo de 0°C sin que las moléculas de agua que esta contiene pasen a su estado sólido.

En la figura siguiente se ilustra gráficamente el efecto del descenso crioscópico. Se observa como la curva verde, que representa la disolución acuosa, encuentra desplazado su punto de fusión a menor temperatura respecto al disolvente puro en un ΔT . Así como también se aprecia la consecuencia directa de la disminución de la presión de vapor, ΔP , bajo las mismas condiciones de temperatura.

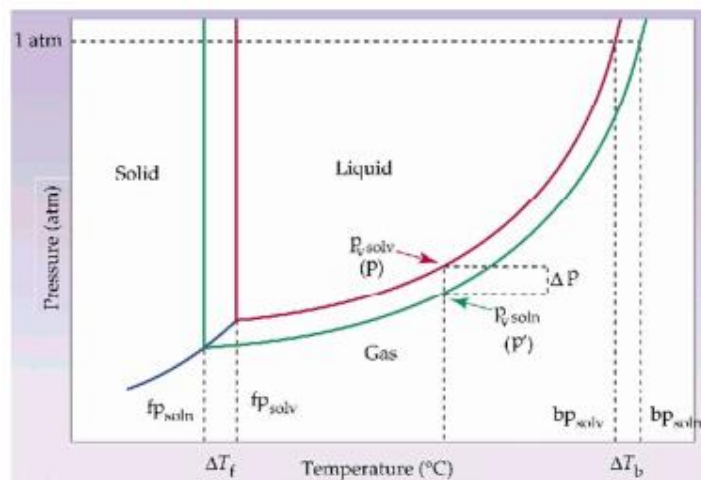


Figura 2.1 Diagrama P-T del agua. Representación de principio descenso crioscópico.

De la mano de esta herramienta de adición de soluto para la criopreservación se hace necesario el transporte de estas sustancias a través de la membrana que recubre la célula.

Existen dos formas de transporte celular basando como criterio de clasificación el consumo de energía metabólica que implica el proceso. Así el transporte que no utiliza energía se define como transporte pasivo mientras que el que por el contrario sí consume energía constituye el transporte activo. En el primer caso, el soluto se mueve siempre a favor de gradiente, que se convierte en la fuerza de conducción para el movimiento. Mientras que, por el contrario, el transporte activo ocurre de manera inversa, el movimiento se realiza en contra de gradiente de potencial químico o electroquímico. Para que esto sea posible se necesita un consumo de energía. [2]

La principal energía celular es denominada a ATP. El ATP bombea iones de sodio/potasio que poseen cargas positivas, Na⁺/K⁺, presentes en la propia membrana de la célula, hacia el exterior de la célula (exoplasma). Dando como resultado una pérdida de la electropositividad interna de la célula que mantiene un gradiente de

concentraciones. [3]

Por otro lado, se encuentra el transporte pasivo principalmente constituido por el proceso de osmosis.

Se basa en el principio de difusión a través de una membrana, en la cual, las moléculas de una sustancia se dirigen desde la solución más concentrada a la menos concentrada buscando el equilibrio hasta alcanzar una distribución homogénea en todo el espacio que les es accesible.

La membrana biológica tiene comportamiento de membrana semipermeable. Esto quiere decir que es permeable al agua dejando pasar esta pero impide el paso de solutos.

La osmosis es una clase de difusión a través de esta membrana semipermeable celular, en la que, por sus características, se enfoca en el movimiento del disolvente. El agua se mueve desde soluciones con baja concentración de soluto hacia soluciones con mayor concentración de soluto.

Esta separación de dos sistemas, el intracelular y el intercelular, con diferentes concentraciones de soluto genera una presión en la membrana semipermeable que los separa, esto se denota como la presión osmótica.

Esta tendencia de difusión a través de la membrana de una zona a otra está definida por la ley de difusión de Fick, que relaciona el gradiente entre ambos medios (gradiente químico o de concentración) con las propiedades de la membrana (área, grosor y permeabilidad). Calcula la velocidad a la que se produce el intercambio mediante una constante de difusión cuyo valor es directamente proporcional a la superficie de la membrana y a la diferencia de concentración de soluto, mientras que el grosor de la membrana colaboraría de forma inversa. [4]

Al introducir la célula en una disolución de sales con una concentración de sales superior a la del interior de la célula, denominado medio hipertónico, el agua saldrá de la célula, por lo que consecuentemente ésta verá su volumen reducido. En el caso inverso, si la solución que rodea a la célula es hipotónica, la célula aumentará el volumen de agua que contiene. Mientras que si no existe gradiente, como ocurre en un medio isotónico, no se activaría el proceso de osmosis al encontrarse en equilibrio.

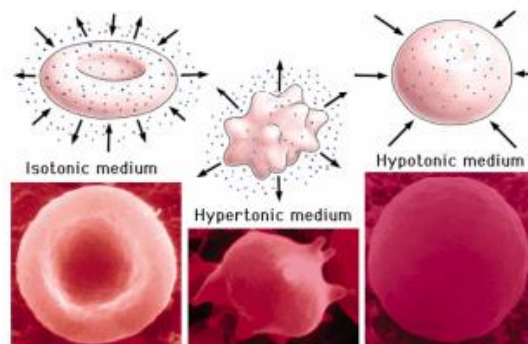


Figura 2.2 Distintos escenarios consecuencia de la osmosis en células de glóbulos rojos.

Fuente: [osmosis and red blood cells -www.NDP teacher.org]

El transporte a través de las membranas de sustancias durante la congelación y descongelación no es simple. Las bajas temperaturas (relacionadas con el aumento de la rigidez de la membrana) y la rapidez a la que se producen los cambios osmóticos en los procesos de congelación y post-descongelación dificultan el movimiento de moléculas a través de la membrana celular mediante procesos de transporte activo. Este transporte es dependiente de la acción de las bombas de ATP. Descender temperatura desde 25°C a 10°C reduce en la actividad de estas en un 60%. Por tanto, en el rango de temperaturas que se trabajan en la criopreservación uno de estos dos tipos de transporte se elimina, y el transporte pasa a ser predominado por los procesos de difusión y ósmosis en los momentos de estrés osmótico.

2.1.2 Proceso y dificultades

2.1.2.1 Introducción daños

Tras comprender los distintos conceptos químicos y biológico se tratará como afectan estos concretamente durante el proceso de criopreservación.

Como se ha visto anteriormente, la criopreservación es una herramienta que permite preservar el tejido biológico. Para esta congelación se hace uso de un elemento criogénico, normalmente nitrógeno líquido a -196°C , hasta alcanzar el objetivo de una temperatura óptima para el almacenamiento de la muestra. La temperatura que se asigna como óptima se encuentra entre unos -140°C y -150°C pues en este rango de temperaturas ya no existen fenómenos de difusión ni energía térmica suficiente para llevar a cabo las reacciones químicas. Temperaturas superiores a la óptima no asegura esta paralización del tiempo biológico y por tanto la correcta criopreservación y por otro lado el almacenamiento a temperaturas inferiores tampoco es recomendable, ya que se produce estrés mecánico que da lugar al crecimiento de las fracturas, sin presentar ninguna ventaja adicional.

A pesar de esto, la criopreservación no es un proceso libre de complicaciones, ya que puede inducir variaciones extremas irreparables en las propiedades químicas, térmicas y eléctricas de las membranas celulares y las interacciones entre células del tejido. (Ávila-portillo, Madero y López, 2006). [5]

Estas dificultades de la congelación no derivan de la permanencia a temperaturas bajas, como ya se ha indicado, sino de la fase inicial del congelamiento y el periodo de retorno a condiciones fisiológicas en la descongelación, que suponen los periodos críticos para la supervivencia celular durante la criopreservación.

Los daños y lesiones celulares crioinducidos durante el proceso de criopreservación se pueden reducir a seis tipos, como clasifica el profesor m.Kasai: [Kasai et al., 1996]: formación de Hielo tanto intracelular como extracelular, daños de fractura en estructura celular, altos índices de toxicidad en las sustancias crioprotectoras y variaciones extremas de la presión osmótica excediendo rango tolerable tanto por aumento como por descenso. [6]

2.1.2.2 Proceso y formación de cristales

Se detalla el proceso que sufren las células en esta fase donde tendrá lugar la cadena de eventos que vienen explicados en el apartado anterior y en los que se observan estas complicaciones mencionadas.

Para conservar en frío un conjunto de células deben ser sumergidas en una solución salina. En primera instancia este medio isotónico tendrá una concentración de soluto similar a la que esperamos en el interior de la célula, por tanto, se encuentra en un equilibrio en ausencia de intercambio. Cuando se comienza a disminuir a temperatura de este conjunto, por las propiedades de transferencia de calor, la solución añadida exterior alcanza previamente bajas temperaturas en comparación con el interior de la célula. Por lo que consecuentemente las moléculas de agua de esta disolución comienzan a cambiar de estado y formar hielo. Como consecuencia directa el agua líquida de la disolución extracelular va mermando y lo que previamente era un medio isotónico se convierte en uno hipertónico. Actúa en ese momento el principio de ósmosis antes enunciado, la célula empezará a expulsar agua del interior para compensar la posible diferencia entre las concentraciones intra y extracelulares.

Al salir agua de la célula, puesto que solo se intercambia el agua, aumentará la concentración de sal perteneciente a la disolución interna. Es aquí cuando interviene el otro principio repasado: de descenso crioscópico, que se utiliza a favor para descender el punto de congelación. La concentración salina intracelular es mayor, la temperatura a la que se formará hielo descende. Esto beneficia al proceso pues dificulta que el agua del interior de la célula se congele y dañe su estructura.

2.1.2.3 Daño estructural: deshidratación y cambios en la membrana

Además de esta formación de hielo intercelular aparecen otros dos factores que pueden perjudicar la viabilidad de la célula. Al evacuar tanta agua de la célula ocurren dos cosas, primero esta disminuye su volumen drásticamente, lo que provoca deformaciones estructurales irreversibles. Por otro lado, alcanzar concentraciones muy elevadas de sales puede resultar altamente tóxica para la célula.

Conforme la célula pierde volumen por la salida de agua, el líquido citoplasmático del interior genera una

compresión que hace que aumente la resistencia a continuar esta difusión. Cuando excede cierto nivel marcado por la resistencia física propia de la membrana estos cambios en la permeabilidad son irreversibles, perdiendo la capacidad de posteriormente rehidratarse y volver a las condiciones iniciales.

La membrana son las estructuras que más se resignan en este proceso. No solo sufre por la presión osmótica que produce la deshidratación sino también por el propio frío al que se expone.

Este fenómeno se entiende poniendo el foco en la composición de la membrana. Aunque esta varíe sus porcentajes dependiendo del tipo y especie de célula que se trate, normalmente se componen en gran medida de lípidos anfipáticos y en menores cantidades de proteínas y carbohidratos.

Estos lípidos anfipáticos precisamente son los que se relacionan con el intercambio de agua que hemos tratado hasta ahora. Están caracterizadas por ser moléculas que tienen una zona polar, que interacciona fácilmente con el agua, y una zona hidrofóbica, que por el contrario excluye tanto al agua como a otros compuestos polares.

Estos lípidos líquidos cambian su estado a sólido alrededor de temperaturas de entre 10°C - 16°C, perdiendo la fluidez y aumentando considerablemente el grado de fragilidad del contorno celular. Se altera también las funciones de la membrana plasmática. Como se ha tratado, en el proceso de deshidratación también se puede presentar la pérdida de estos lípidos, colaborando a mermar la capacidad de expansión posterior al volver a condiciones isotónica.

2.1.2.4 Influencia del tiempo en el proceso. Formación de hielo-deshidratación.

Una vez conocidas estas dificultades se retoma los acontecimientos que tienen lugar en el proceso de congelación. Durante este proceso pueden ocurrir distintas cosas, en la cual predominará un tipo de daño u otro dependiendo de la velocidad con la que se lleva a cabo el enfriamiento.

Lo primero que ocurre al alcanzar temperaturas cercanas a bajo cero es la formación de hielo, comenzando en el exterior celular. Tras este hecho, dependiendo de la velocidad de enfriamiento, se producirán distintas consecuencias.

La primera situación corresponde a un enfriamiento lento. En esta el proceso de osmosis cuenta con el tiempo suficiente para desalojar agua y el descenso criogénico permite evitar la formación de hielo intercelular. Sin embargo, supondría una excesiva pérdida de agua y reducción de su volumen, que puede resultar letal e irreversible. Aumentaría también el hielo extracelular.

Si por el contrario se realiza una congelación más rápida se puede evitar la salida de agua pero a costa de aumentar la probabilidad de formación de hielo en ambos medios, tanto el intracelular como el extracelular, que pueden contribuir a la destrucción celular mecánica. Pues la célula no alcanzaría la deshidratación suficiente para conseguir el descenso del punto de congelación óptimo que evite la formación de hielo. [7]

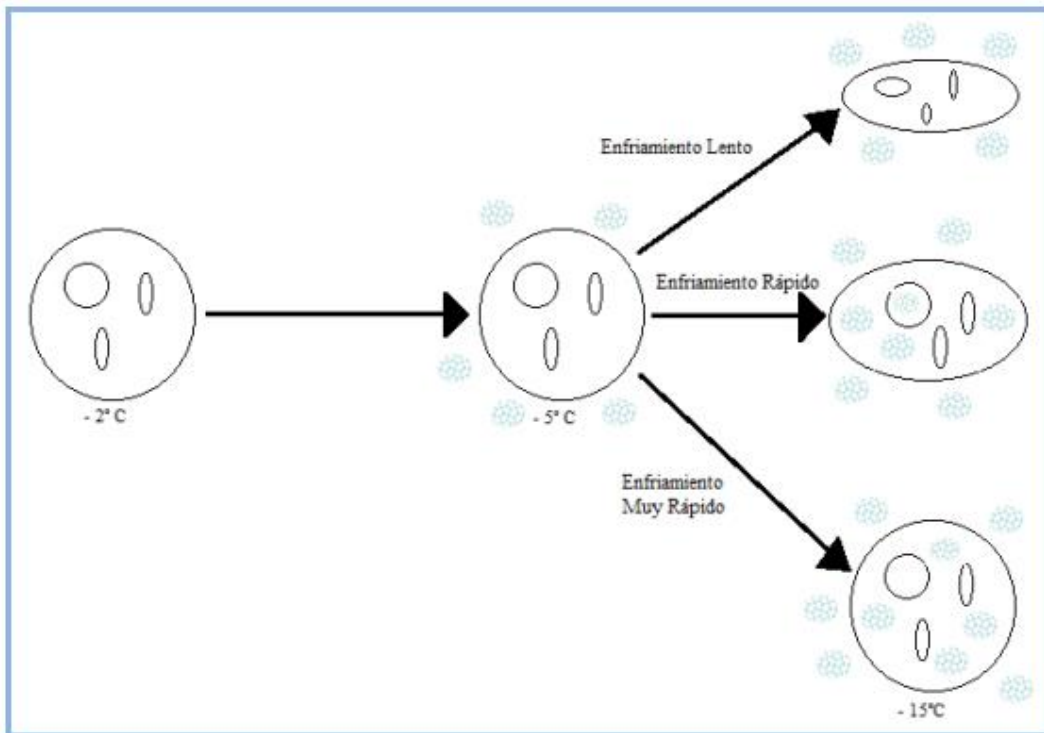


Figura 2.3 Distintos escenarios consecuencia de la velocidad de enfriamiento.

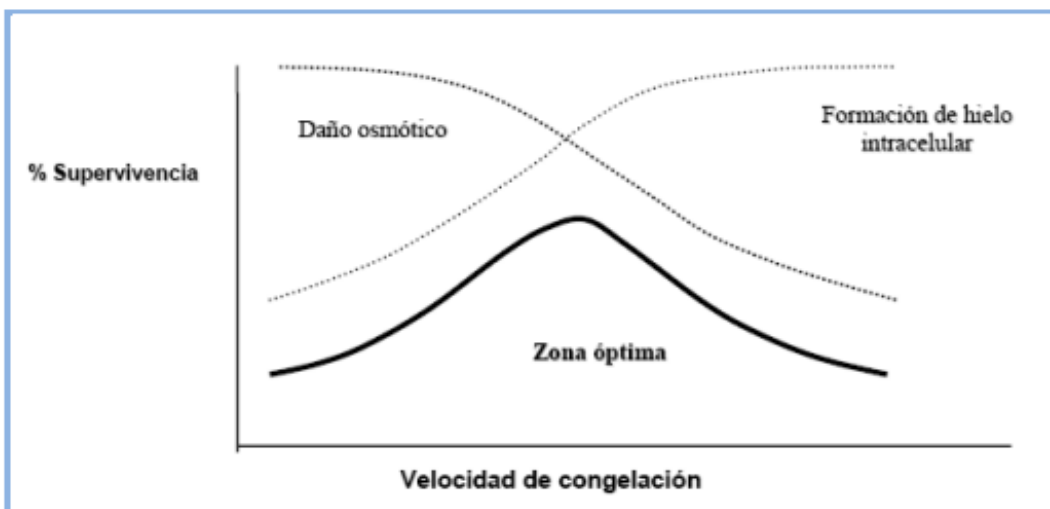


Figura 2.4 Naturaleza de los daños crioinducidos según la velocidad de congelación.

Fuente: [Reconstitución de productos hematopoyéticos criopreservados. Universitat autònoma Barcelona, 2005, p.30y31]

De esto se deduce la necesidad de encontrar una velocidad de enfriamiento intermedia suficientemente lenta con la podemos evitar por completo la formación del daño hielo intracelular, a la vez que lo suficientemente rápida para mantener en niveles tolerables la deshidratación de la célula, haciendo un balance entre ambos compromisos. Este mismo efecto también se puede conseguir con técnicas de enfriamiento ultrarrápido como se verá.

2.1.2.5 Agentes crioprotectores

Este es un proceso complejo, con objetivo de optimizarlo se introduce una nueva herramienta que ayude a mitigar el problema, los crioprotectores.

Los agentes crioprotectores son sustancias hidrosolubles en agua y de baja toxicidad capaces de modificar las propiedades fisicoquímicas de las soluciones acuosas que existen en el interior de las células. Actúan así como el soluto que interviene como se viene explicando en el proceso de criopreservación, siendo su función principal promover una rápida deshidratación celular, a la vez, que amortiguar el efecto de la alta concentración de solutos en el interior de la célula.

Bioquímicamente es posible distinguir tres tipos de crioprotectores en función de su composición química: los alcoholes (metanol, etanol, propanol, 1-2 propanediol y glicerol), azúcares (glucosa, lactosa, sucrosa, sacarosa) y el dimetil sulfóxido. Otra clasificación en acuerdo a la respuesta de la permeabilidad celular, encontramos agentes penetrantes y no penetrantes. La función que desempeñan variará dependiendo del tipo elegido:

1. Los crioprotectores penetrantes- Son sustancias de bajo peso molecular por lo que penetran a través de la membrana celular fácilmente. Esto les permiten actuar como un reemplazo del agua que sale. Su principal acción protectora se atribuye a deshidratar la célula por sustitución del agua intracelular, amortiguando la acumulación excesiva de solutos en el medio extracelular, evitando el estrés osmótico, mientras impide la formación de cristales en el interior.
2. Los crioprotectores no penetrantes- En cambio son sustancias de alto peso molecular, efectivas en la rápida deshidratación de la célula cuando se usan altas velocidades de congelación. Se suelen usar combinándolos con los agentes penetrantes, pues mitiga el excesivo arrugamiento de la membrana que producen debido a que las velocidades de intercambio son distintas, el agua sale más rápido de lo que entra y es sustituido por este primer tipo de crioprotector. Se tratan de polímeros que tienen tendencia a formar puentes de hidrógeno con las moléculas de agua para reducir de forma considerable su actividad.

2.1.2.6 Fases detalladas de formación de hielo.

Para comprender el funcionamiento de los crioprotectores hace falta detallar cómo se forma el hielo y de qué forma interviene este implemento.

Hay dos mecanismos con los que se relaciona la aparición de estos cristales de hielo intracelular: La nucleación y el crecimiento. [8]

1. Nucleación – Las moléculas de agua que contiene una disolución no permanecen estáticas, sino que se encuentran constantemente en movimiento, formando agrupaciones y deshaciéndolas de forma aleatoria. Estos núcleos o clústeres se forman mediante enlaces de puente de hidrógenos que son fácilmente destruidos con la agitación térmica. Sin embargo, cuando varios logran agruparse alcanzando cierto tamaño, la agitación térmica no es capaz de separarlos. Esta agrupación se denomina nucleación. Y supone el principio de la congelación pues la unión de una molécula más de agua aportaría la energía necesaria para generar el crecimiento indefinido de cristal del hielo. Mientras menores sean las temperaturas a las que se encuentra el sistema, menor es la energía térmica que destruirían estos enlaces y por tanto menor es la dimensión de la agrupación mínima que desencadenaría la nucleación.
2. Crecimiento – Posteriormente a la nucleación que forma el hielo se encuentra el fenómeno del crecimiento del mismo. Este está dominado por la viscosidad de la solución. Si la solución es muy viscosa, el hielo creado no puede crecer. Por el contrario, donde presenta baja viscosidad, las dendritas avanzan su crecimiento. La temperatura y la viscosidad son fenómenos inversos. Por lo que el requisito para el crecimiento de hielo es, respecto a este sentido, contrario al de la formación o nucleación.

2.1.2.7 Proceso de criopreservación con la adición de crioprotectores

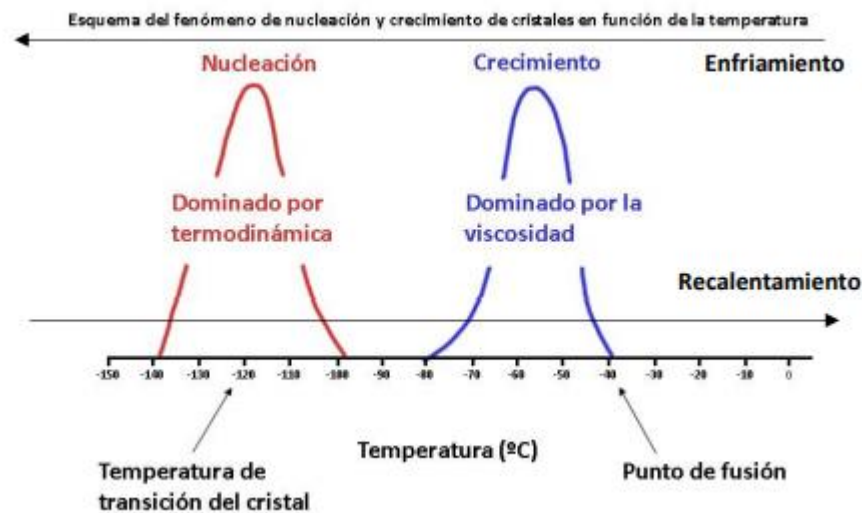


Figura 2.5 Probabilidad de fenómenos de nucleación y crecimiento en función de la temperatura y concentración de crioprotector genérico.

Fuente:[Risco,2019]

La figura 2.5, es una representación gráfica de estos dos fenómenos mencionados anteriormente. En el eje horizontal se encuentra la temperatura de forma ascendente. En ella se encuentran dos curvas que representan por un lado la probabilidad de nucleación, en color rojo, y por otro la velocidad de crecimiento del hielo en color azul para una concentración de crioprotector genérico. En el caso de usar una solución que carezca de agente crioprotector, estas dos curvas están superpuestas, porque la temperatura será lo suficientemente alta y lo suficientemente baja como para mantener una viscosidad estable que permitirá que los dos fenómenos se den a la vez.

A medida que se aumente la concentración de crioprotector, produce un efecto en estos procesos y dichas curvas cambian su forma, volviéndose más estrechas y separándose, reduciendo así el rango de temperaturas en las que ambas se encontraban superpuestas. Para concentraciones por encima de un cierto umbral no hay superposición en ningún punto, tal y como se representa en la figura.

Con esto obtenemos que, al comenzar a enfriar al sistema recorriendo la gráfica de derecha a izquierda, pasamos primero por la zona de crecimiento, pero no hay todavía núcleos que pueden crecer. Posteriormente una vez superada la fase de crecimiento se encuentra la de la nucleación, que esta vez no tienen la posibilidad de crecer pues esta fase ya se dio en temperaturas superiores. De esta manera, la adición de agentes crioprotectores permite llevar una muestra a temperaturas criogénicas evitando el problema de la formación de cristales de hielo.

Sin embargo, el problema resurge en el recalentamiento. Como se ha dicho anteriormente, al enfriar, existe la posibilidad de que se creen unos núcleos de hielo, pero estos no podían crecer. Ahora cuando el sistema se vuelve a calentar, los núcleos de hielo formados durante el enfriamiento cruzarán el rango de temperatura con orden inverso. Al cruzar la zona de crecimiento que se encuentra a mayores temperaturas donde la viscosidad es menor, es posible que estos núcleos ahora sí formen cristales. Este fenómeno es conocido como recristalización. Incluso estos núcleos, si no se forman en el enfriamiento, pueden formarse en el propio calentamiento. Este otro fenómeno es denominado vitrificación.

Durante el recalentamiento, la forma de evitar tanto la desvitrificación como la recristalización es pasar rápidamente por el punto crítico de formación de hielo mediante una transferencia de calor elevada que permita

alcanzar temperaturas suficientemente altas antes de que el crecimiento de los cristales de hielo comprometa la viabilidad biológica del sistema.

Por otra parte, este recalentamiento, además de ser rápido debe ser también uniforme, debido a que un cambio no uniforme en el volumen del medio puede producir daños físicos extracelulares. Pues si durante el recalentamiento, se producen zonas localizadas que aun poseen una temperatura local inferior al resto, pueden introducir la formación de cristales de hielo en las zonas ya recalentadas. [Schneider and Mazur, 1987] [8]

2.1.2.8 Problemas con crioprotector: toxicidad y presión osmótica.

La introducción de crioprotectores es muy útil como se ha visto pero sigue presentando problemas no solo en el proceso de calentamiento sino también relacionados con la presión osmótica y toxicidad.

Aunque los crioprotectores son elegidos de baja toxicidad para temperaturas criogénicas, a temperaturas ambiente ciertas concentraciones son lamentablemente tóxicas para el tejido. Como su toxicidad disminuye y la cantidad de criopreservante que tolera la célula va aumentando conforme baja la temperatura, la introducción de estos se realiza mediante un procedimiento con ciertos tiempos de exposición del material, para que el producto protector penetre el tejido sin alcanzar los niveles tóxicos referidos. En el mismo sentido, cuando se procede a la técnica de descongelado, se debe retirar mediante concentraciones decrecientes del crioprotector, para su total eliminación evitando de esta forma los efectos tóxicos. [6]

Además, los crioprotectores están relacionados con el daño celular mediante un aumento de la presión osmótica. Durante este proceso de extracción del crioprotector en el calentamiento, el agua entra a mayor magnitud de lo que sale el crioprotector.

La estadística de células que sobreviven en un proceso de criopreservación está determinado por la susceptibilidad al estrés osmótico durante la adición y la sustracción de los agentes crioprotectores y los periodos críticos de cambio de temperatura.

2.1.2.9 Problemas en recalentamiento de tejidos volumétricos.

Estos problemas se magnifican cuando en vez de trabajar con una sola célula aislada se toma un tejido. En general el éxito de la criopreservación es inversamente correlacionado con la complejidad de los sistemas biológicos congelados. Este tipo de sistemas se componen de células con distintas características de composición, tamaños, propiedades electroquímicas, etc. Además, aumenta notablemente el volumen de la muestra, este hecho dificulta especialmente alcanzar los requisitos en el proceso de descongelación.

Una vez numerados todos los mecanismos de daño biológico que se pueden producir, se estudian formas de realizar el proceso tratando de evitar estos o en su defecto que sean mínimos. Se implementan distintos protocolos para la criopreservación, sin embargo, estos aún son subóptimos en la mayoría de casos y sigue abierta la línea de investigación para mejorar su calidad y/o introducir nuevas herramientas.

2.1.3 Técnicas y procedimiento protocolo

A continuación, se describen las distintas técnicas que se utilizan actualmente. Estas se asocian como soluciones a los dos procesos críticos para el éxito de la criopreservación: congelación y recalentamiento.

2.1.3.1 Técnicas de congelación.

Hay dos enfoques para llevar a cabo la congelación del material biológico de acuerdo a la velocidad que se realiza: slowfreezing o vitrificación.

La Congelación lenta o ‘slow freezing’: Como indica su nombre se basa en un enfriamiento a velocidades bajas y controladas gradualmente. Se introduce el material en una disolución isotónica con un 10% de agente crioprotector aprox.

Esta disolución exterior llega antes a la temperatura de congelación y el agua de la misma comienza a formar hielo. Esto reduce el agua del medio externo por lo que la célula expulsa agua del interior por el efecto de la osmosis para llegar al equilibrio de concentraciones. Esto desencadena el efecto de descenso criogénico y la temperatura de congelación dentro de la célula desciende por su mayor concentración de soluto.

Si el descenso de temperatura es lo suficientemente lento para que el agua pueda salir a la vez que entra el crioprotector con el tiempo suficiente se evita la formación de hielo. Gracias al crioprotector, como se describe anteriormente, es posible llegar a temperaturas tan bajas sin formar núcleos en la que la viscosidad es tan alta que no hay posibilidad de formación de estructuras cristalinas. Sin embargo, para sistemas complejos, la congelación lenta no es aplicable pues las células no pueden reubicarse en las zonas libres de hielo, ya cuentan con una estructura propia y estática del tejido

La vitrificación por el contrario se basa en una solidificación amorfa por un enfriamiento ultrarrápido. Esta técnica se apoya en el principio de que al enfriar cualquier líquido con velocidades alrededor 100 °C/min (Farrant, 1965), es un ritmo lo suficientemente alto para solidificar sin lugar a que se ordenen en cristales.

Aunque a priori sean tasas demasiado altas, mediante la adición de ciertas concentraciones de solutos se reduce esta velocidad de enfriamiento (Risco, 2018). En correspondencia con estos dos comportamientos, se distinguen dos formas de vitrificación: por enfriamiento ultrarrápido y por vitrificación en equilibrio.

Vitrificación por enfriamiento ultrarrápido – Justamente consiste en realizar la vitrificación de forma muy rápida para que alcance las temperaturas criogénicas en corto tiempo. Así es útil en sistemas que pueden ser dañados por el frío pues se expone en el punto crítico un tiempo mínimo. Esta técnica no es realizable para muestras más complejas que una célula aislada, pues está limitada por la inexistencia de algún sistema que logre tasas de enfriamiento de tal grande magnitud para grandes volúmenes como órganos.

Por otro lado, encontramos la vitrificación de equilibrio, siendo esta segunda opción más útil en sistemas voluminosos tales como tejidos y órganos. Comparado con el otro método de vitrificación se reduce drásticamente la velocidad enfriamiento necesaria para evitar la formación de cristales, mediante la adición de una alta concentración de solutos (ACP). Sin embargo, no está exenta de problemas en la práctica. La adición del agente necesita un monitoreo y a bajas temperaturas que aumenta la viscosidad de la solución y disminuye la permeabilidad de las membranas se dificulta el proceso.

2.1.3.2 Técnicas de recalentamiento.

El recalentamiento representa el proceso más problemático en la criopreservación de órganos. Estos siguen sufriendo los daños celulares que comprometen su viabilidad.

En los últimos años se han llevado a cabo numerosas investigaciones destinadas a solventar estos problemas. Estas siguen en pie pues aún no se ha descubierto un sistema lo suficientemente estable, eficiente y eficaz para poder implementarse.

El mayor avance reside, como se ha descrito en anteriores puntos, en la introducción de anticongelantes y la mejora de estos buscando mezclas menos tóxicas y métodos optimizados para la agregación de estos como el 'liquidus tracking'. Además de los crioprotectores, existen otro tipo de moléculas con la capacidad de disminuir la formación de hielo como es el caso de las proteínas antihielo que cuentan con evidencia de que su adhesión al hielo surge efecto en la limitación del crecimiento del cristal.

Otra herramienta usada se basa en la relación del crioprotector y la velocidad mínima del proceso crítico para evitar la formación de hielo. Esta depende de un tercer parámetro a añadir en la función: la presión. Realizando los procesos, en vez de a presiones atmosféricas, a presiones más altas en condiciones hiperbáricas se requiere menores velocidades de transmisión del calor para evitar la formación de hielo. La mayor limitación de esta estrategia reside en el hecho de que los sistemas biológicos no residen correctamente en altas presiones. Siguiendo esta línea, se plantea otra forma de aumentar naturalmente estas altas presiones sellando herméticamente la muestra en un recipiente de paredes rígidas con la solución sin aire. Al formarse el hielo ocupará un volumen mayor que el que llenaría la misma cantidad de agua en estado líquido. Este medio de preservación isocórica tiene los mismos beneficios y desventajas que el método hiperbárico.

Por último, otra herramienta desarrollada, el nanowarning, consiste en la adición de partículas magnéticas disueltas de forma que se distribuyan en la muestra a calentar. Estas partículas hacen la función de fuente de calor distribuidos cuando son sometidas a corrientes inducidas y a ciclos de histéresis magnética. Su funcionalidad se fomenta uniéndola con las proteínas anticongelantes. Estas se caracterizan por su afinidad con los núcleos de hielo, de forma que las partículas magnéticas quedarían situadas junto a los núcleos de hielo, focalizando así este calor para derretirlos mediante un pulso de radiofrecuencia que impida su crecimiento. Desgraciadamente estas partículas magnéticas resultan tóxicas y no se consigue una uniformidad de calentamiento con los dispositivos actuales.

Estas herramientas listadas sirven para conseguir unas mejores características en el material que ayuden a su calentamiento y son usadas junto con distintos dispositivos de calentamiento.

Una de las últimas tecnologías estudiadas es calentamiento HIFU, ultrasonidos focalizados de alta intensidad. Su funcionamiento se basa en que las ondas de presión superiores a 20KHz producen una agitación microscópica cuando atraviesa distintos materiales. Por esta razón el sistema debe estar introducido en un medio de transmisión de estas ondas. La principal dificultad de esta técnica es que su máxima potencia se genera en una zona focal y para órganos de gran tamaño es necesario aumentar esta zona. Además, se producen fenómenos de cavitación que pueden inducir a daños por la creación de burbujas de aire. [8]

Otro método usado es el recalentamiento por microondas. El calor por radiación que emite es una manera eficaz de calentar las moléculas polares evitando el problema de la recristalización y la desvitrificación. Desafortunadamente presenta una limitación: el "thermal runaway" que junto con la onda estacionaria que se crea en el interior de la cavidad pone en compromiso la homogeneidad de su calentamiento.

Reduciendo esta limitación el calentamiento por microondas supondría un buen candidato para realizar el proceso de forma óptima. Esto es lo que promete una nueva tecnología de microondas denominadas VFM con la que se trabajará en este proyecto y se desarrolla en el siguiente punto 1.2.

2.1.4 Aplicaciones de la criopreservación

La criopreservación podría abordar un gran número de aplicaciones de alto valor para el avance de la sociedad. Conseguir conservar células, tejidos y organismos completos traería consigo un potencial desarrollo en distintos campos científicos desde impulsar la investigación biomédica y de otras ciencias naturales hasta incluso conseguir mejorar la esperanza de vida humana.

Una de las aplicaciones de investigación que ya se realizan es la preservación de microorganismos, pues debido a su reducido tamaño se ha conseguido altos resultados de éxito. Esto permite la investigación de la microbiología. El mundo microscópico es bastante más importante de lo que solemos pensar pues, aunque no lo veamos, están presentes en mayoritariamente todos los hábitats de la Tierra y su papel es indispensable para la vida en ella, el mantenimiento y funcionamiento de los ecosistemas globales [9]. Este grupo incluye hongos, todos los tipos de bacterias, virus... y se estima que solo se ha estudiado un 1% de este. La criopreservación permitiría almacenar más muestras de estos, contribuyendo a su estudio pues un gran número de estos son destruidos en las pruebas que se realizan en los laboratorios. El frío no solo permite este almacenamiento, sino que también reduce el riesgo de contaminación, muy importante en estos ambientes. [10]

En la directa preservación del medio ambiente y la biodiversidad también supone una gran herramienta. Debido a ciertos factores entre los que se encuentra el cambio climático y la contaminación de la naturaleza muchas especies están siendo afectadas y cada vez más de ellas se agregan a la lista de especies en peligro de extinción. En la actualidad se estima que alrededor de 100.000 especies vegetales están en peligro de extinción, lo cual representa casi 1/3 de las especies de plantas en el mundo (Panis&Lambardi, 2005).

La criopreservación permite congelar material genético y preservar la variabilidad original de las poblaciones con la menor pérdida de información genética posible (Rivera et al. 2008).

En uno de estos bancos zoológicos mayores se encuentran criopreservada 600 especies, y han logrado el éxito de recuperar especies que en caso contrario estarían ya extintas como el cóndor de California donde ya se dispone de 300 ejemplares. [11]

Una de las grandes proyecciones que tiene la criopreservación es la creación de bancos de órganos. Esta incorporación en el proceso de trasplante sería revolucionario para el protocolo actual. Pues el tiempo desde que el órgano es extirpado hasta que es trasplantado al paciente receptor es un parámetro primordial para garantizar el triunfo del injerto. Ciertos órganos son críticos, como el corazón, para el que se disponen sólo 4 horas desde la extracción. Mantener estos órganos en frío permitirían parar el tiempo biológico de su degradación. Las listas de espera de pacientes que necesitan trasplantes son largas y según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la disponibilidad de estos tejidos en condiciones para trasplantes no satisface la demanda existente, solo se cubren el 10% de la demanda de pacientes. [12]

Por esto, la introducción de conservar bancos de órganos indefinidamente ayudaría notoriamente en este serio problema de los trasplantes. Sin embargo, realizar el proceso de criopreservación en tejidos de este tamaño aún no ha sido conseguido. Hasta el momento el mayor hito datado es un estudio dirigido por Gregory M. Fahy, donde se logró con éxito el trasplante de riñones recalentados de conejo. Dicha investigación está descrita en el artículo -Physical and biological aspects of renal vitrification- publicado en la revista Cryobiology.

Los avances en medicina determinaron unos grandes resultados en el uso de células madre en la cura de determinadas enfermedades. La ingeniería de células madre combinada con la ciencia que tenemos entre manos supone una herramienta muy potente que permitiría almacenar el cordón umbilical cuya sangre es rica en estas células.

Esto da lugar a la organogénesis, que consiste en una impresión biológica en 3D de órganos de forma personalizada a partir de estas células madre. Esta tecnología no solo supondría un enorme alivio a las listas de espera, sino que también asegura menores tasas de rechazo al usar células propias y por tanto el éxito del trasplante. [13]

Además de todas estas aplicaciones directas médicas también es útil para la investigación biomédica. Al igual que en la investigación microbiológica la preservación de tejidos impulsaría la investigación en este campo, facilitando la disponibilidad de muestras de material y mejorando la eficiencia de los experimentos. Pudiendo experimentar incluso directamente en el ADN humano en vez de usar animales de laboratorio de farmacología por ejemplo (Pichugin, Fahy y Morin, 2006).

2.2. Microondas y tecnología vfm

El uso de microondas para producir calentamiento es una de las técnicas que ha tenido mayor impacto en la industria. Actualmente es una tecnología cotidiana que se encuentra como electrodoméstico en muchos hogares.

Se basa en la teoría electromagnética de Jamer Clerk Maxwell formulada en 1873. Recoge los resultados de las investigaciones anteriores de Laplace, Poisson, Faraday, Gauss y otros, planteando la hipótesis de que la luz era una forma de energía electromagnética y a partir de ecuaciones matemáticas describió la propagación de estas ondas a través del espacio. No se reconoció hasta 15 años después cuando Heinrich Hertz realizó experimentos que lo verificaron y Guillermo Marconi lo aplico en el año 1900 transmitiendo señales inalámbricas que recorrieron el Océano Atlántico. Desde entonces numerosos científicos e ingenieros del siglo XIX han aportado descubrimientos y avances en esta línea que han conseguido que hoy en día contemos con esta tecnología de radiofrecuencia indispensable en la sociedad moderna. [14]

Por radiofrecuencia se entiende a una parte del espectro electromagnético, localizado en las ondas electromagnéticas que se caracterizan por la radiación menos energética que tiene una frecuencia entre 3KHz y 300GHz. (fig. 2.6)

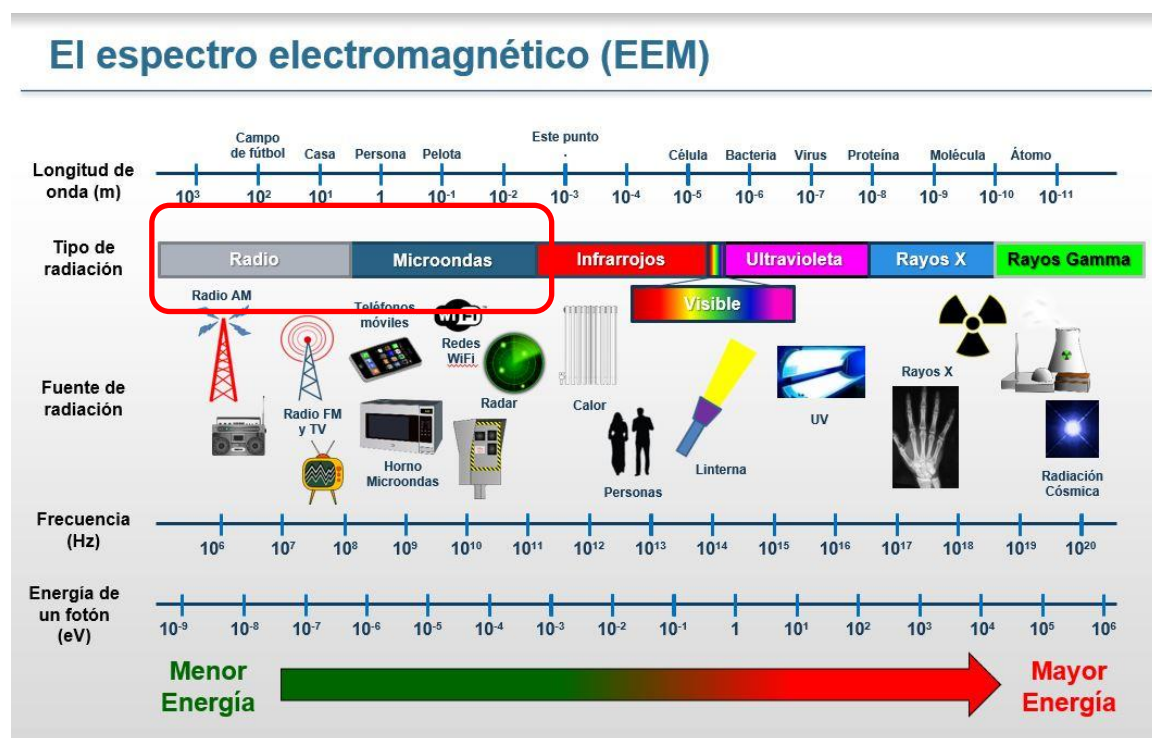


Figura 2.6 Espectro electromagnético

Una onda electromagnética propaga un campo eléctrico y a su vez también se crea un campo magnético generado por esta carga eléctrica en movimiento.

Dentro de este grupo de ondas se realiza otra subclasificación (fig. 2.7) dependiendo de su frecuencia pues no todas las ondas electromagnéticas se comportan de igual forma en su propagación o interacción con el medio. Por convenio cada rango de radiofrecuencia se asigna para distintas aplicaciones por la Unión Internacional de Telecomunicaciones (UIT).

Frecuencias	Designación	Servicios Típicos
3 – 30 KHz	VLF (Muy baja frecuencia)	Navegación, sonar
30 – 300 KHz	LF (Baja frecuencia)	Radio Guía, ayudas a la navegación
0.3 – 3 MHz	MF (Media frecuencia)	Radiodifusión AM, Servicios Marítimos
3 – 30 MHz	HF (Alta frecuencia)	Telefonía, telégrafo, banda ciudadana, comunicaciones mar – tierra y mar – aire
30 – 300 MHz	VHF (Muy alta frecuencia)	Televisión, Radiodifusión FM, control tráfico aéreo, ayudas a la navegación
0.3 – 3 GHz	UHF (Ultra alta frecuencia)	Televisión, hornos domésticos, comunicaciones satélite, radares de vigilancia
3 – 30 GHz	SHF (Súper alta frecuencia)	Radares embarcados, de policía, de aeropuertos, comunicaciones vía satélite, radioenlaces, televisión por cable
30 – 300 GHz	EHF (Extremadamente alta frecuencia)	Radar, localización de misiles

Figura 2.7 Bandas de radiofrecuencia.

Fuente: [14]

En este estudio nos centramos en las ondas electromagnéticas del rango de frecuencias con aplicación de microondas y hornos para recalentamiento.

Este recalentamiento tiene origen por la interacción del campo eléctrico cambiante en dirección con la materia polar, mediante dos fenómenos (fig. 2.8): el de inducción que desplaza las moléculas y el de polarización que hace que giren sobre si mismas en su posición inicial de equilibrio. Estos dos fenómenos inducen a movimientos energéticos que producen calor dentro del material.

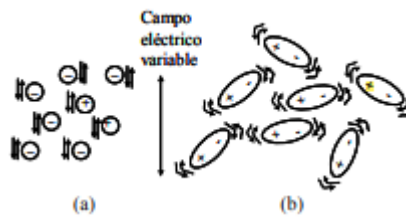


Figura 2.8 Efectos en las moléculas causados por microondas. (a) por distribución de la carga, (b) redistribución polar.

Fuente: [15]

Gracias a estos fenómenos el tipo de recalentamiento producida por los microondas presenta mejores características que el resto de formas de recalentamiento convencionales. En un horno convencional la muestra se calienta por conducción del calor que pasa desde la superficie hasta el interior, siendo un fenómeno lento y con un claro gradiente de temperaturas. Pero por el contrario en el calentamiento que trabajamos, el calor se genera en el interior del producto siendo más rápido y eficiente al centrar toda la energía directamente en el cuerpo.

La energía que produce este calor puede ser expresada mediante la ecuación (1). En función de la frecuencia, el campo eléctrico y las pérdidas (ϵ'') en cada punto del material expuesto a la irradiación del microondas.

La distribución de este campo eléctrico en toda la muestra también depende de la geometría de la cavidad del horno y las propiedades dieléctricas del material. Por ello es imprescindible caracterizar adecuadamente el material con el que se trabaja. Además, en general, estas constantes dieléctricas pueden cambiar con el tiempo y la zona. [15]

$$Q = 2\pi f \epsilon_0 \epsilon'' (\vec{E}_{rms}(x, y, z, t))^2 \quad (1)$$

Para el funcionamiento de esta tecnología se necesita un generador de ondas electromagnéticas con su aplicador, una cavidad resonante que corresponde al interior del sistema donde residirá la muestra a calentar y una guía de ondas que introducirá estas desde el generador al interior del sistema.

La cavidad interna del horno se presenta en distintas geometrías adaptadas a la función destinada y sus paredes están hechos de material metálico conductor para contener las ondas del interior. Por simplicidad sus formas suelen ser sencillas para abaratar su fabricación, es muy común encontrarlas con una forma de cubo rectangular.

Las guías de ondas están formadas por conductores que se extienden en una dirección del espacio de sección recta y constante de modo que propagan las ondas por su interior. Estas pueden tener distintas formas y componentes, pero detallaremos las rectangulares con un solo conductor.

Es importante determinar estas características de las guías pues de ellas depende el modo en el que se propagan las ondas del campo electromagnético y por ende su comportamiento. Encontramos así distintos modos:

1. Modo TEM. Se caracterizan por tener tanto componentes eléctricas como magnéticas en la dirección de propagación nulas. $E_z=0$ y $H_z=0$. Este modo solo se da en guías no rectangulares formadas por más de un conductor.
2. Modo TE. El campo eléctrico no tiene componente longitudinal, componiéndose exclusivamente de ondas eléctricas transversales. Además, el campo magnético si tiene valores no nulos en su dirección z. $E_z=0$ y $H_z \neq 0$.
3. Modo TM. A diferencia del anterior, en este modo es el campo magnético el que solo tiene componentes transversales y en cambio el campo eléctrico si puede propagarse de forma longitudinal. $E_z \neq 0$ y $H_z=0$.

En este proyecto se usa guías rectangulares de un conductor con el modo TE.

En un comienzo los generadores habituales se construían a partir de un magnetrón encargado de transformar la energía eléctrica en sus dichas ondas. Pero gracias al avance de la investigación electrónica se encuentran distintos diseños que incluyen amplificadores, y otros componentes MEMS que permitieron, entre otras cosas, el desarrollo de esta tecnología VFM con frecuencia cambiante.

Esta tecnología nace para solventar los problemas que se dan en la tecnología tradicional de microondas.

La frecuencia a la que funciona los microondas tradicionales es conocida y fija, asignada en Europa a 2.45 GHz. Este valor es seleccionado por convenio para evitar interferencias con otras tecnologías, sin embargo, si se puede modificar y usar otras frecuencias en el rango del espectro de la radiofrecuencia incluso más energéticas para el calentamiento como usa esta nueva tecnología VFM.

El principal problema que presenta esta tradicional forma de calentamiento con frecuencia fija es la poca homogeneidad de su calentamiento. La distribución de temperatura se ve significativamente afectada por la geometría de la cavidad y la frecuencia. Además, la posible diferencia en los valores de los parámetros dieléctricos a lo largo de todo el material puede contribuir también a que unos puntos se calienten de forma más rápida que otros. En los tejidos biológicos, por ejemplo, las zonas compuestas por grasa alcanzan temperaturas elevadas de forma más rápida al contar con una absorción de la radiación mayor que el resto de zonas del tejidos.

En la cavidad la onda viajera rebota en las paredes del mismo y se forma una onda estacionaria en la que se encuentran nodos calientes donde la amplitud de la onda es máxima y nodos fríos donde esta onda tiene valores nulos y no se produce su efecto. Este fenómeno se puede observar en la figura 2.9. Esto puede causar puntos calientes y pérdidas de energía en el material comprometiendo la calidad y eficiencia del recalentamiento. Este efecto es empeorado por el hecho de que las propiedades dieléctricas de las que hablamos no son distintas solo desde el comienzo, sino que también se modifican con la temperatura haciendo que absorba aún más radiación y los puntos calientes tiendan a calentarse más (thermal runaway), generando una diferencia de temperaturas irreversible en relación con las áreas frías.

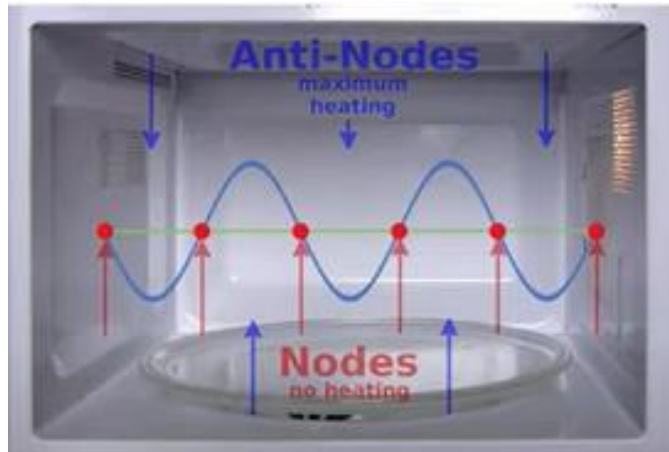


Figura 2.9 Onda estacionaria en el interior de microondas tradicional de frecuencia fija.

Se investigaron numerosos métodos para solucionar estos problemas presentados. Se encontró así un método de recalentamiento por microondas, la tecnología VFM de la que hablábamos, que consiste en barrer valores de frecuencia de un ancho de banda seleccionado de forma rápida. Ofreciendo un calentamiento no solo más rápido con un acoplamiento altamente energético, sino uniforme al generar múltiples focos calientes cambiantes en la cavidad y permitiendo mayor control selectivo sobre el campo electromagnético diseñando el recalentamiento en diferentes partes de un objeto que pudiera tener propiedades dieléctricas dispares. [16]

En la industria existen varios tipos de dispositivos que ya usan esta tecnología VFM. Conoceremos algunos de sus valores con el fin de caracterizar nuestro modelo de forma similar a estos dispositivos ya funcionales.

Hay dispositivos de distintos tamaños y características. Uno de los más potentes se encuentra en el Instituto de Investigaciones Industriales Swinburne (IRIS), Universidad Tecnológica de Swinburne, Melbourne, Australia- Es el modelo VW1500 y cuenta con una potencia de 125 W, consigue cambiar la frecuencia más de 100 veces por segundo en un rango de 6-18GHz. Otro modelo comercializado es Microcure 2100, su potencia es de 250W, las dimensiones de su cavidad son 300 mm×275 mm×375 mm y el rango de frecuencias que opera es de 2-7 GHz [17]. Las características que simularemos serán similares a estos parámetros.



Figura 2.10 Microondas de tecnología VFM: modelo microcure 2100.

Esta investigación ha sido impulsada por la necesidad en otras industrias de solventar los problemas del calentamiento del microondas y obtener estas mejores características. Desde entonces lleva siendo utilizada para estas distintas tareas generando resultados óptimos. En el campo aeronáutico y naval es usado para la unión y curado de piezas importantes expuestas a unas condiciones que debe asegurar que no tenga ningún desperfecto que las separe. También es muy importante en ingeniería química para el procesado de compuestos, síntesis

química y polimerización. Así como en la electrónica se usa para el curado de chips y tarjetas inteligentes. Incluso es usado para el secado de termoplásticos que encontramos en objetos cotidianos. [17]

Sin embargo, esta tecnología no ha sido aun aplicada al campo de la criopreservación, por esto, entre otras razones que se comentan a continuación se comienza a realizar este estudio.

3 OBJETIVOS

En el apartado predecesor se ha investigado sobre la situación en la que se encuentra actualmente el estudio de la criopreservación. Junto a ella se entiende de forma más precisa y concreta las limitaciones que sigue presentando, en las cuales numerosos científicos trabajaban para paliar y solucionar. Se han alcanzado grandes avances en el proceso de congelación, sin embargo, uno de los procesos que aún resulta con más dificultades es el recalentamiento, que constituye la última fase de la criopreservación.

Por otro lado, en la industria se ha incorporado un sistema de calentamiento avanzado mediante microondas de frecuencia variable que presenta mejores características que otros tipos de calentamiento. Sin embargo, el uso de este no ha sido extrapolado aún al campo médico.

De esta forma el objetivo que pretende abarcar el siguiente proyecto consiste en determinar la viabilidad del uso de dicha tecnología en el calentamiento de tejido biológico. Pues hasta el momento no se encuentran datos estudios de este ámbito.

Este estudio comprendería el análisis del comportamiento en el calentamiento de un corazón humano mediante simulación por computador con softwares de elementos finitos englobando distintos puntos:

Diseño y caracterización de los parámetros del modelo y experimentos con propósito de obtener resultados lo más óptimos posibles a la vez de modelar condiciones realistas que otorgue validez a dicho estudio. Incluyendo la recapitulación de información sobre los parámetros dieléctricos del material biológico en estas condiciones a las que se expone en el experimento.

Determinar la eficiencia y eficacia de esta tecnología de frecuencia variable en comparación con microondas de frecuencia fija convencional. Incluyendo la homogeneidad que se consigue en el calentamiento, observando la distribución de temperaturas en el cuerpo.

Verificar si la velocidad de calentamiento media del órgano es suficientemente aceptable para la idoneidad de su uso. Esta debe cumplir la tasa de 100°C por minuto como establece las investigaciones mencionadas. Con esta información estatuir el grado de viabilidad en función del porcentaje estimado de supervivencia de las muestras.

Analizar las ventajas y avances que supondría la inclusión de esta tecnología en este camino de investigación. Así como también señalar los puntos débiles y los siguientes pasos al estudio.

La realización de este proyecto pretende ser un paso, con sus limitaciones, que arroje ciertos resultados que sirvan de forma positiva en su campo de investigación perteneciente. La mayor motivación de este proyecto es que el progreso en esta línea de investigación podría suponer una gran apertura en las numerosas y útiles aplicaciones que ofrece la herramienta de la criopreservación. Como se ha mencionado en el punto 2.1.4 entre ellos la posibilidad de poder preservar en temperaturas criogénicas corazones humanos permitiendo la existencia de bancos de órganos disponibles ante la necesidad de trasplantes.

4 METODOLOGÍA

4.1 Fundamentos físicos y modelo matemático

En el estudio que se abarca ocurren varios fenómenos físicos relacionados con el campo electromagnético y la transferencia de calor en sólidos. Estos fenómenos se describen mediante leyes y modelos matemáticos cuya resolución es necesaria para describir y determinar los experimentos y los resultados buscados.

El acoplamiento de estos dos fenómenos da a ecuaciones altamente no lineales y complejas por lo que serán resueltos de forma computacional mediante simulaciones.

El análisis electromagnético es determinado por las leyes de Maxwell. La energía electromagnética de las ondas estacionarias del interior del horno se rige por sus ecuaciones. [18]

$$\nabla \times \mu_r^{-1}(\nabla \times \vec{E}) - k^2(\epsilon' - J\epsilon'') = 0 \quad (2)$$

Donde μ_r representa la permeabilidad relativa del material,

ϵ' es la parte real de la constante dieléctrica del material mientras que ϵ'' la parte imaginaria.

\vec{E} es el campo eléctrico (V/m) cuyo valor es:

$$\vec{E} = \sum_{l,m,n} A_{l,m,n} \sin(knx) \sin(kmy) \sin(klz) \quad (3)$$

Las constantes tienen los siguientes valores : $kn=1 \pi / a$; $Km=m \pi / b$; $kl=n \pi / d$.

n , m y l son el número de variaciones semisinusoidales que se dan en la onda estacionaria.

$$k^2 = kl^2 + km^2 + kn^2 = \left(\frac{2\pi}{c}\right)^2 f^2 \quad (4)$$

Sustituyendo la ecuación (4) y (3) en la ecuación inicial de maxwell (2) se puede deducir que la intensidad del campo eléctrico depende de la frecuencia, f , por tanto para distintos valores no producirá la misma distribución del campo en el interior de la cavidad.

En los sistemas reales esta onda electromagnética tiene pérdidas de energía al pasar por un medio dieléctrico con pérdidas, P_{dis} (potencia disipada por unidad de volumen [W/m³]). Dicha potencia de pérdidas es la fuente de calor que se produce en un calentamiento por microondas debido a la agitación térmica de las partículas dentro del material introducido convirtiendo la energía eléctrica en calorífica.

$$P_{dis} = 2\pi f \epsilon_0 \epsilon'' (\vec{E})^2 \quad (1)$$

Esta energía como vemos es proporcional a los parámetros de pérdidas dieléctricas y a la intensidad del campo eléctrico cuyo valor ya está determinado con la ecuación (3)

La termodinámica entiende que la transferencia de calor tiene lugar principalmente mediante tres tipos de mecanismos: Conducción, la transmisión de calor se produce por contacto sin transferencia de materia;

convección, en la que, si ocurre transferencia de materia portadora del calor y radiación, por medio de la emisión de ondas electromagnéticas o fotones. En el calentamiento producido por un microondas el fenómeno de convección por el aire suele ser despreciable frente al resto de efectos termodinámicos [Akarapu2004]. [19]

Este intercambio y transmisión de calor del material se produce hasta alcanzar la temperatura de equilibrio. Se plantea un balance de energía microscópica de la generación interna debido a la energía suministrada por las microondas (Lin y col., 1995) [20]. El balance microscópico resultante estaría determinado por las ecuaciones de Fourier:

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} = k \nabla^2 T + P_{dis} \quad (5)$$

En la cual ρ se corresponde a la densidad del material (Kg/m³), C_p es la capacidad calorífica a presión constante (J / (kg °C)). La capacidad térmica y la densidad establecen cuánta energía por cada grado se almacena en una determinada cantidad de masa o volumen. T representa la temperatura (°C), k la conductividad térmica (W/m°C). Estos valores son tomados de las propiedades del material.

Despejando esta ecuación (5) y sustituyendo los valores implicados de la ecuación (1) se obtendría la ecuación expresada de forma completa:

$$\frac{\partial T}{\partial t} = \frac{\pi f \epsilon' \epsilon'' (\vec{E})^2 + k \nabla^2 T}{\rho C_p} \quad (6)$$

Quedando determinado la tasa de aumento de temperatura con el tiempo, en el siguiente apartado se detalla el desarrollo seguido para la realización de este sistema.

4.2 Entorno software y equipo utilizado

Este estudio del análisis de recalentamiento en tejidos biológicos criopreservados se lleva a cabo de forma teórica permitiendo una estimación de los fenómenos físicos que ocurren en el proceso, suponiendo un primer acercamiento para posteriores experimentos prácticos y optimización del proceso.

Debido a la complejidad de resolución de las ecuaciones implicadas en el análisis de los efectos de tecnología de microondas de frecuencia variable se hace vigente el uso de una herramienta que resuelva el problema computacionalmente. Además, debe ser capaz de resolver fenómenos acoplados para los cuales la solución de cada problema físico individual no puede obtenerse independientemente de los demás.

Así pues, se utiliza distintos softwares para implementar las simulaciones pertinentes.

Entre ellos se escoge el conjunto de software QuickWave (conocido también por sus siglas QWED) versión 2019 y 2020, especializado en el diseño y simulaciones electromagnéticas, basado en métodos numéricos, FDTD. Utiliza fundamentalmente diferencias finitas en el dominio del tiempo y elementos finitos en el dominio de la frecuencia y destinado a su aplicación a la investigación electromagnética y al diseño industrial. Esta especialización lo hace ideal para la aplicación en este estudio.

Se pretende conocer la distribución espacial y evolución con el tiempo del mapa de temperaturas del cuerpo, por lo que nos centraremos en los módulos 'Microwave Heating' y 'Basic Heating Module', incorporados en el propio software, acoplando ambos fenómenos físicos: la transferencia de calor y la simulación del campo electromagnético. [2]

El otro software utilizado es COMSOL Multiphysics 5.6, también basado en el análisis de elementos finitos para resolver diversos problemas en ingeniería, física y química. La singularidad de este software es la elevada

cantidad de módulos preconfigurados sobre distintas áreas que junto con la robustez y fiabilidad en la resolución de fenómenos acoplados ha supuesto uno de los principales softwares de simulación en un amplio abanico de campos de investigación. En este caso los módulos que se han utilizado son 'Heat transfer' y 'frequency domain', equivalentes a los del software anterior pues calcula el campo generado por las ondas electromagnéticas y resuelve, con estos datos, la transferencia de calor al sistema implementado a lo largo del tiempo de simulación.

El uso de ambos programas es de utilidad a fin de comparar, reafirmar resultados y complementar la información obtenida.

Además, se emplea otros softwares: Matlab tanto como para la programación de los códigos que genera la frecuencia variable como su posterior análisis y la visualización de datos y Autodesk como herramienta especializada en el modelado geométrico. Se detalla posteriormente en los subapartados correspondientes.

El equipo utilizado como soporte para las simulaciones se trata de dos PC's con sistema operativo Windows 10. Un ordenador Acer con una memoria RAM de 4Gb y un procesador Intel i5 y el otro dispositivo cuenta con mayor RAM, 18 Gb, y una CPU Intel 64 de dos núcleos que permite un procesamiento más complejo de las simulaciones.

Se siguen los distintos pasos de configuración previos a la resolución de las simulaciones como se explica detalladamente en los subapartados que continúan.

4.3 Descripción del objeto de estudio.

4.3.1 El corazón humano. Introducción.

Se trabajará en el recalentamiento calor de órganos criopreservados. En particular, como ya se ha indicado, con un corazón humano adulto por su interés práctico en aplicaciones tan importantes como banco de donaciones.

Por ello lo primero es obtener conocimientos sobre su funcionamiento, anatomía, composición y características a fin de diseñar un modelo lo más próximo al sistema real que genere un comportamiento y resultados equivalentes en las simulaciones.

De forma resumida el corazón es uno de los órganos más indispensables para la vida macroscópica. Constituye la bomba central del sistema circulatorio que se encarga de que la sangre se transporte por los vasos sanguíneos alimentando a todas las células de organismo del oxígeno y los nutrientes necesarios para sus funciones a la vez que recoge los desechos que genere. El corazón de los seres humanos es tetra cámara: compuesto por dos aurículas situada sobre los dos ventrículos que corresponden a las cámaras de entrada y de salida respectivamente.

El proceso comienza cuando la sangre desoxigenada llega al ventrículo derecho del corazón a través del atrio y es bombeada hacia los pulmones, donde se dirige a los alvéolos pulmonares a hacer el intercambio de gases, volviendo oxigenada de nuevo al corazón por las venas pulmonares hasta la aurícula izquierda. En este lado el corazón recibe la sangre oxigenada y comienza su distribución circulatoria por el cuerpo, exceptuando a los pulmones, por la arteria aorta ascendente se dirige hacia la cabeza y por la descendente al resto del cuerpo. [5] [21]

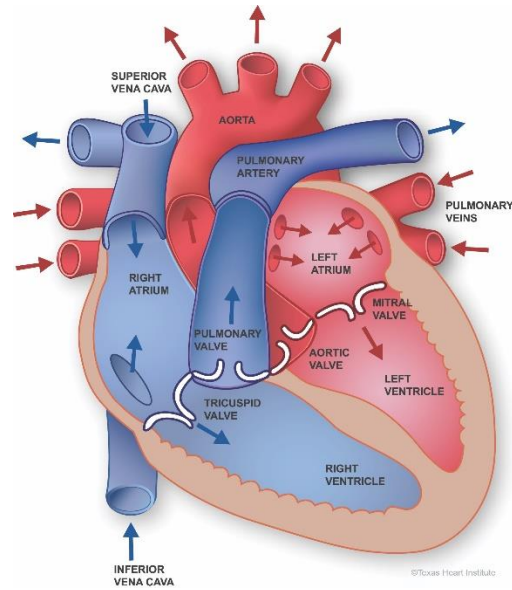


Figura 4.1 Esquema simplificado de la fisiología del órgano cardiaco.

4.3.2 Geometría

Una vez comprendida la estructura cardiaca se aborda su modelado geométrico para introducirlo en el simulador.

El editor geométrico de Qwed, modeller 2017, solo cuenta con herramientas básicas insuficientes para construir la compleja geometría del órgano. En su lugar se usará el software autodesk fusión 360 versión estudiantes, especializado en diseño CAD por lo que dispone de numerosas herramientas para desarrollar esta tarea de forma más precisa y sencilla.

Se parte de un modelado 3D médico que representa un corazón humano completo con las distintas partes que lo componen y se modifica con el software mencionado para conseguir el modelo deseado.

En primer lugar, se unen las distintas partes y elimina aquellas que sobran para nuestro estudio como algunas arterias y venas subyacentes.

Además, se debe escalar el modelo hasta reproducir unas dimensiones promedias de un corazón de un ser humano adulto. Se establece un tamaño de 12 cm de largo, 7 cm de profundidad y 8 cm de ancho.

Se completa la figura geométrica cerrando las caras que deben unirse para pasar a formar un sólido mallado con un número de caras reducido (14.000 caras aprox.), buscando la compatibilidad exigida en el software principal de simulación para poder importar el cuerpo en el estudio.

Finalmente el modelo creado es guardado en un archivo con formato '.step' compatible para su exportación.

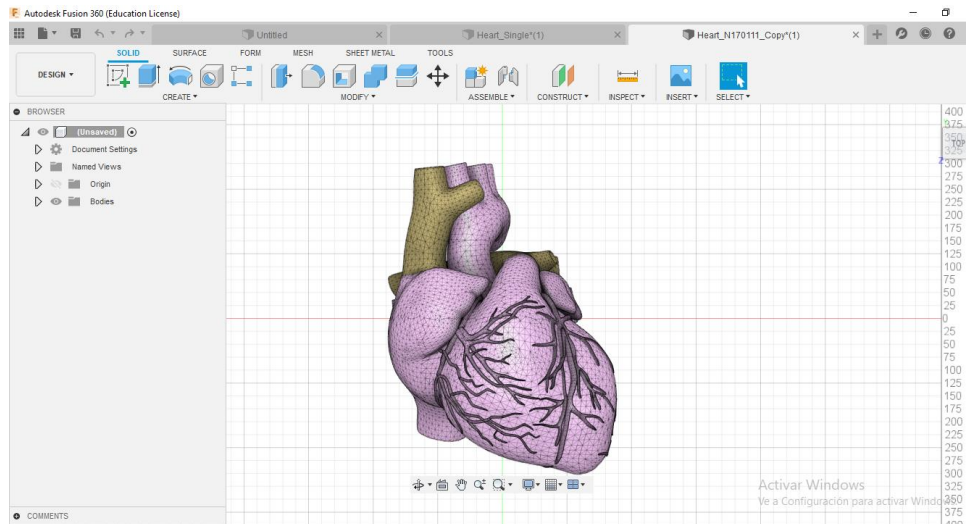


Figura 4.2 Modelado y modificación corazón en software autodesk Fusion 360

Se importa el archivo de la geometría completa finalizada al software de Qwed. Se termina de ajustar, rotar y posicionar para situarlo sobre el plato central del microondas evitando que ningún punto del objeto interseccione con el resto.

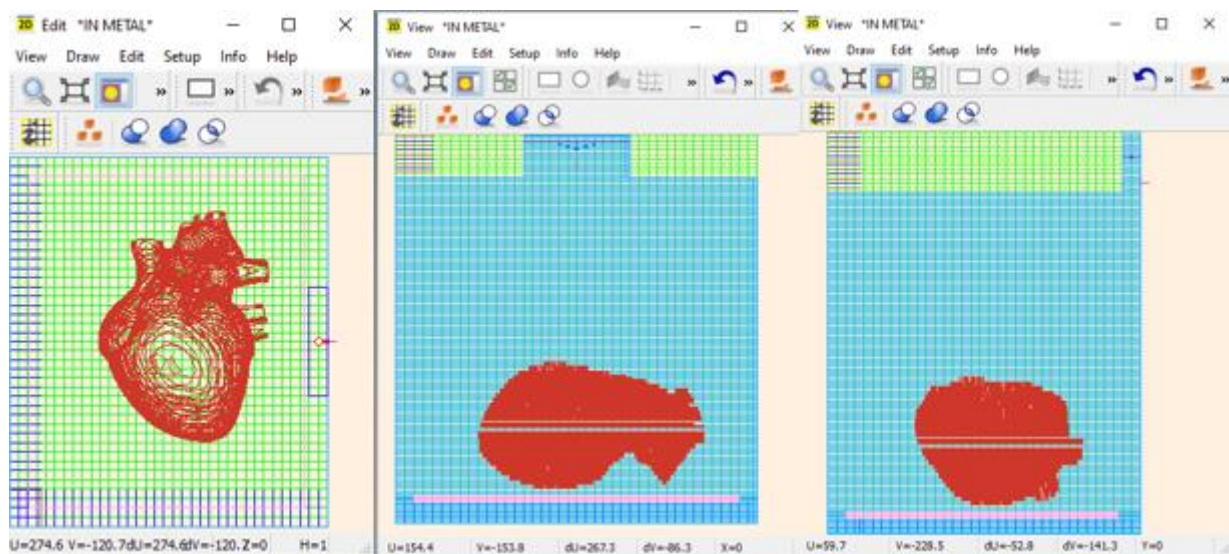


Figura 4.3 Modelo geométrico corazón en QuickWave. Vista en alzado planta y perfil.

Posteriormente en las simulaciones con el software COMSOL la geometría es sustituida por una más simple. Esto es debido a que requiere mucho gasto computacional para resolver cálculos y para poder realizar simulaciones practicables tanto en tiempo como en recursos del procesador era necesario esta abstracción del objeto de estudio.

Esta simplificación consiste en esquematizar el órgano cardiaco mediante una esfera solida de dimensiones similares, en este caso de unos 4cm de radio aproximadamente.

Esta figura se genera en el propio software haciendo uso de las herramientas de diseño 3D que proporciona. Y se sitúa de igual forma centrado en el plato del microondas.

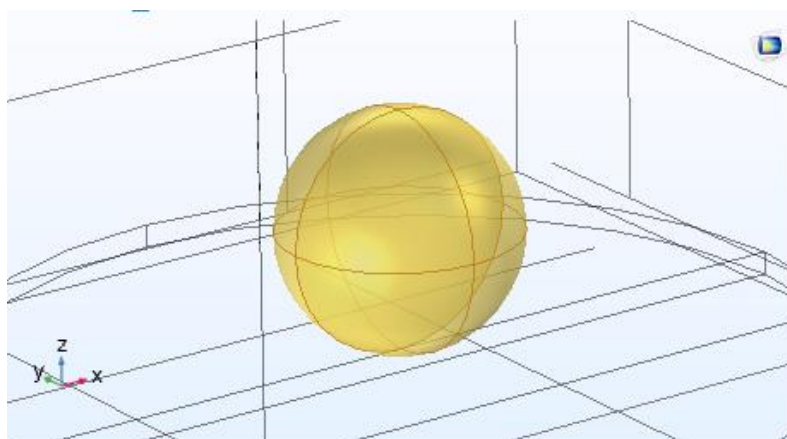


Figura 4.4 Modelo geométrico simplificado esfera corazón en COMSOL.

Dicha aproximación tiene sentido por el modo de operar en la criopreservación. En el proceso no solo se preserva el órgano deseado sino el sistema conjunto formado por este y la disolución crioprotectora extracelular necesaria en la técnica de congelación. Recordemos que esta disolución es adicionada para sustituir el líquido celular, produciendo intercambios hasta que ambos medios se encuentren en equilibrio de concentraciones. Por lo que se puede hipotetizar que las composiciones de ambos dominios serán muy similares y se pueden suponer propiedades homogéneas en todo el conjunto.

Una vez determinado la forma geométrica del objeto se debe de introducir el material que lo forma con los datos de propiedades dieléctricas necesarios para el cálculo de la transferencia de calor por microondas electromagnéticas.

4.3.3 Parametrización de las propiedades dieléctricas corazón.

Cuando a un material dieléctrico se le aplica un campo electromagnético, se generan en él procesos químicos y físicos. Así en el tejido cardiaco que se encuentra bajo la acción del campo microondas se incitan fuerzas que polarizan las estructuras no polares y a la orientación de los dipolos ya existentes. Además, en la agrupación de células que forman los tejidos quedan entre ellas espacios llenos de agua extracelular, moléculas polares, por lo que el contenido de agua en el tejido tiene gran influencia.

La respuesta de una muestra biológica a la acción del campo eléctrico dependerá de las características de sus estructuras y dipolos, así como su capacidad de formación y orientación, en función de la frecuencia (Foster & Schwan, 1996). Este comportamiento se estudia numéricamente por los parámetros dieléctricos. [22]

Recapitulando para determinar estas propiedades es preciso conocer numerosos parámetros de los que depende, entre ellas tanto las características intrínsecas de los materiales que componen la mezcla como las condiciones externas a las que se expone. Estas condiciones externas se conforman mayormente por la temperatura del material y frecuencia de las ondas a las que se encuentra expuesta. Como dichas condiciones son variables a lo largo del experimento se deriva a que los parámetros dieléctricos que buscamos también lo serán. Sin embargo, como se somete a unos parámetros que oscilan entre ciertos valores conocidos y controlados se puede suponer que la variación de los parámetros dieléctricos es lo suficientemente pequeña para considerarlos valores escalares fijos ajustados al orden de frecuencia y temperaturas que se trabaja. Otra hipótesis empleada es, además de la homogeneidad mencionada en todo el material, la isotropía del medio, es decir, las propiedades no dependen de la dirección en las que se aplica el campo, sino que su valor es igual en todas las direcciones del espacio.

Considerando estas hipótesis, los parámetros dieléctricos se aproximarán con una media ponderada de los distintos parámetros individuales de las sustancias que forman parte de la composición del sistema.

Los parámetros a introducir son los siguientes: la permeabilidad relativa, permitividad relativa, conductividad

eléctrica, conductividad térmica, densidad y capacidad calorífica.

Note the following meaning of abbreviations used in the Edit Medium dialogue:

- $Eps = \epsilon_r$ [dimensionless]
- $Mu = \mu_r$ [dimensionless]
- $Sigma = \sigma$ [S/m]
- $SigmaM = \sigma_m / (\kappa)^4 = \omega \mu_0 \mu_r'' / (\kappa)^4 \approx \omega \mu_0 \mu_r'' / (120 * \pi)^2$ [Ω/m], $\kappa = (\mu_0 / \epsilon_0)^{0.25} \approx (120 \pi)^{0.5}$
- $Density = \rho$ [g/cm³]
- $Specific\ heat$ [J/(g°C)]
- $Initial\ temp.$ [°C]
- $Thermal\ Conductivity = Kx, Ky, Kz$ [W/cm°C]

Figura 4.5 Parámetros dieléctricos del material y sus unidades en QuickWave

Fuente: [Guía web de software QWED]

Sobre la composición el tejido miocardio está formado principalmente por musculo caracterizado por un gran contenido de agua. Esta agua extracelular varía en función del individuo, edad, género y estilo de vida pero suele rondar valores de alrededor de un 70% de su volumen. Según recoge la documentación existente (fig.4.6)

Tissue	Water content (% by weight)	Water content (% by volume)
Whole blood	78.5	83
Blood plasma	91	93
Blood corpuscles	68-72	73-77
Muscle	70-80	75-84
Skin	62-76	68-80
Fat	5-20	4-18
Liver	71-77	76-81
Lung	79-84	83-87
Spleen	75-80	80-84
Kidney	78-84	82-87
Whole Brain	73-78	78-82
Brain (grey)	80-85	84-88
Brain (white)	68-73	73-78

Figura 4.6 Contenido de agua en porcentaje en distintos tejidos y órganos humanos.

Datos de estudios realizados por Altman and fiettmer (1964), Best and Taylor (1950), Spells (1960), Mitchell et al (1945) y Pethig (1984).

Fuente: [23]

Conocer este dato es preciso pues el contenido de agua influye en gran medida en los parámetros dieléctricos como recoge distintos estudios realizados. [23]

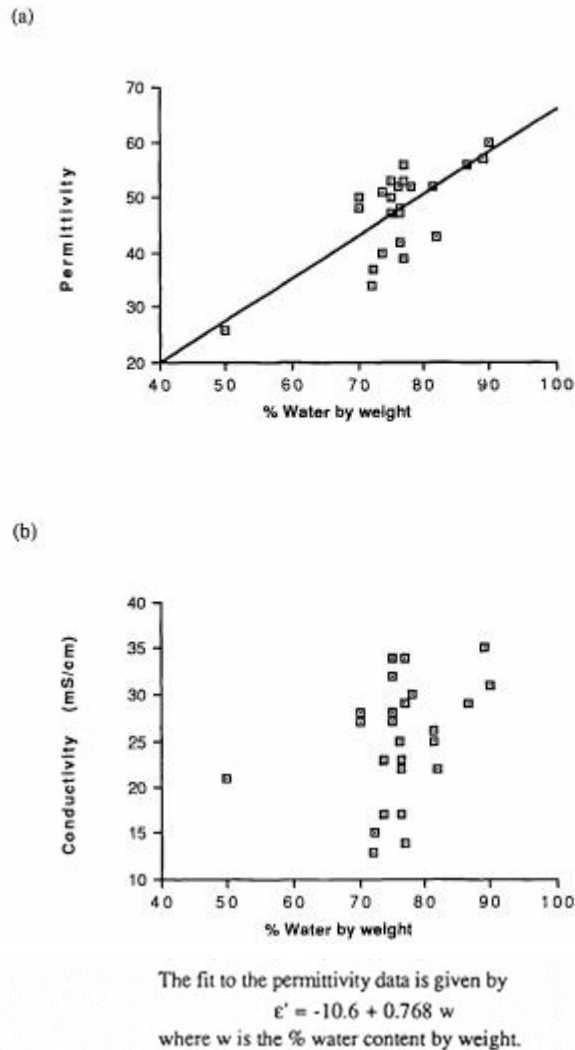


Figura 4.7 Permittividad y conductividad de tejido animal en función del contenido de agua a 3GHz.

En estos ensayos estadísticos se puede observar la relación que existe entre el porcentaje de agua en peso y el aumento del valor de las propiedades de conductividad y permitibilidad medidas en muestras de tejido animal de características similares al tejido humano y expuesto a una frecuencia de 3GHz rango comprendido en las simulaciones que buscamos.

En cambio, en la muestra estudiada no se encuentran estas cantidades de agua pues esta es sustituida por una disolución con crioprotector en el proceso de congelación en búsqueda de mejora en las propiedades.

Otro estudio realizado en el laboratorio expone que las concentraciones de crioprotector para la que se observaba un comportamiento más óptimo y menor formación de hielo rondaban alrededor del 60% de soluto. Las sustancias anticongelantes que se mencionan en la sección 2.1.4 de criopreservación son las más usadas y

mejores resultados ofrecen, en este caso el estudio utiliza glicerol.

En definitiva, el corazón humano de trabajo se compone de un 30% tejido muscular, otro porcentaje igual de H₂O y un 40% de C₃H₈O₃ aproximadamente.

Así teniendo los datos conocidos y documentados de otros estudios añadidos a la bibliografía se obtiene las propiedades totales intrínsecas del material y de transmisión de calor. [24] [25] [26] [27] [28]

Tabla 4.1 Datos de densidad, calor específico y conductividad térmica órgano.

Material	Densidad (p) [g/cm ³]	Calor específico. [J/g°C]	Conductividad térmica [W/mK]
Agua	0.92	4.19	0.6
Glicerol	1.26	2.42	0.29
Tejido cardiaco	[1.075, 1.127]	3.75	0.25
Total (0.4*valor glicerol+ 0.3*valor agua+ 0.3*valor tejido)	1.110	3.35	0.35

Se determinan a continuación los parámetros relacionados con someter la materia a un campo electromagnético.

Como ya se ha explicado estos valores son dependientes de la frecuencia. Mediante la siguiente grafica (fig.4.8) se aclara como afecta el valor de este parámetro de las ondas en el comportamiento del tejido biológico y la dominancia de ciertas propiedades frente a otras.

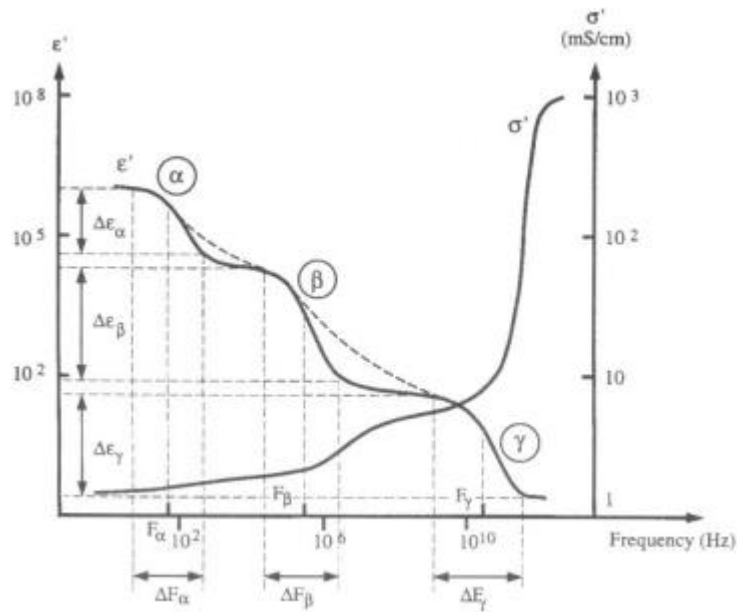


Figura 4.8 Esquema distintas regiones de las propiedades dieléctricas, ϵ y σ , de tejidos en función de la frecuencia. (Bourne et al.,1996)

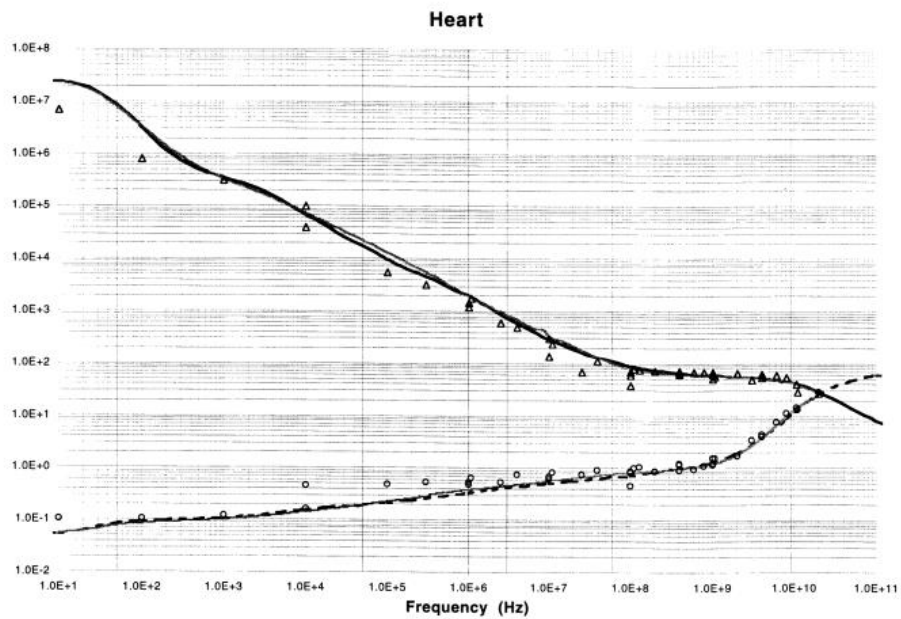


Figure 1. (h) Heart.

Dielectric properties of biological tissues: III

2281

Figura 4.9 Grafica específica de corazón humano. Datos de permeabilidad relativa y conductividad eléctrica en un alto rango de frecuencia. (S.Gabriel, 1996)

Fuente: [29]

En la Figura 4.9 se puede observar en los resultados este comportamiento relativo de la permitividad relativa y la conductividad eléctrica frente a la frecuencia. Para el primer parámetro se tiene que conforme aumenta la

frecuencia su valor va disminuyendo, mientras que para el segundo parámetro es de forma inversa, va aumentando cuando la frecuencia aumenta.

Se aprecian de este modo 3 regiones del tejido biológico en la que se identifican también 3 factores de relajación o dispersión relacionados con la respuesta del mismo a la corriente y la frecuencia.

Las propiedades dieléctricas de diversos tejidos biológicos fueron estudiadas y expuestas en los estudios realizados por Foster y Schwan en el año 1989. En dicho estudio se presenta la distribución de tres regiones principales de dispersión y una última relacionada con la respuesta de estos tejidos biológicos a la corriente y frecuencia que se sometían (representados en la figura 4.8).

Estas tres regiones principales se distinguen como α , β , γ para bajas, medias y altas frecuencias, respectivamente. El último tramo, a muy altas frecuencias, se distingue por una dispersión más pequeña denominada δ . Cada una de estas regiones están centradas en un rango de frecuencias y se caracterizan por mecanismos de polarización diferentes al ser atravesadas por un campo. [22] [30]

1. Región de dispersión α . Para bajas frecuencias por debajo de los KHz. El efecto dominante en la conductividad de los tejidos es la conducción de electrolitos en el espacio extracelular produciéndose la difusión iónica a través la membrana celular. Procesos físicos que incluye la polarización a lo largo de la estructura de frontera de la membrana. En frecuencias por debajo de la que se produce este tipo de dispersión, la permitividad relativa crece exponencialmente.
2. Región de dispersión β . Dada en rango inferior de radiofrecuencias, entre 0.1 MHz y 10 MHz. En esta región se inducen los efectos de polarización de las membranas celulares. Pues en esta, la membrana celular tiene impedancia despreciable y la corriente logra pasar a través de ella desde el medio intracelular al extracelular poniéndose de manifiesto en la permitividad y conductividad.
3. Región de dispersión γ . Se sitúa en la región de los gigahercios, GHz. Su aparición se debe a la polarización de los dipolos de agua existentes en el tejido.

Se han realizado distintos ensayos sobre corazones humanos para medir estos valores. Una de las formas más simple de medición de las propiedades dieléctricas de permitividad y conductividad de una muestra a priori sin caracterizar es a partir de la medición de una impedancia de prueba ajustándola en relación con muestra que si es conocida.

La metodología o técnica más usada para el registro de estas propiedades eléctricas de los tejidos biológicos utiliza electrodos de contacto que introducen una corriente eléctrica y otro número variante de electrodos que miden de la caída de potencial (Salazar, 2004; Bragos et al., 1999; Rafiei et al., 2007; Beckmann et al., 2007). Otro método es obtener esta medida a través de inducción magnética (Hagmann, 1993; Gandhi & Chen, 1990), aplicando un campo magnético primario al sitio de estudio y obteniendo la información recibida de otro campo magnético secundario que se genera. De la diferencia entre ambos campos se obtiene las características buscadas. [30]

Así lo realizó Gabriel en sus experimentos para tejido muscular. Gabriel parametrizó los datos obtenidos para posteriormente formular la ecuación de Cole-Cole con la que se podría obtener rápidamente los valores para cualquiera de las frecuencias. Nos centramos en el primer grupo de valores de la tabla 4.2 que son obtenidos en la frecuencia de trabajo y cuyo error reportado fue de alrededor del $\pm 5\%$.

Tabla 4.2 Parámetros de tejido muscular de la ecuación Cole-Cole obtenidos por S.Gabriel.

Tejido	ϵ_{∞}	$\Delta\epsilon_1$	$\tau_1(ps)$	α_1	$\Delta\epsilon_2$	$\tau_2(ns)$	α_2	$\Delta\epsilon_3$	$\tau_3(\mu s)$	α_3	$\Delta\epsilon_4$	$\tau_4(ms)$	α_4	σ
Músculo	4	50	7.23	0.10	7000	353.68	0.1	$1.2 \cdot 10^6$	318.31	0.1	$2.5 \cdot 10^7$	2.27	0.00	0.2

Por otro lado, la permitividad relativa y conductividad eléctrica viene determinada en gran parte por su contenido de la mezcla de agua y glicerina en un 60% cuyos valores están datados y graficados, como se observa en la siguiente figura.

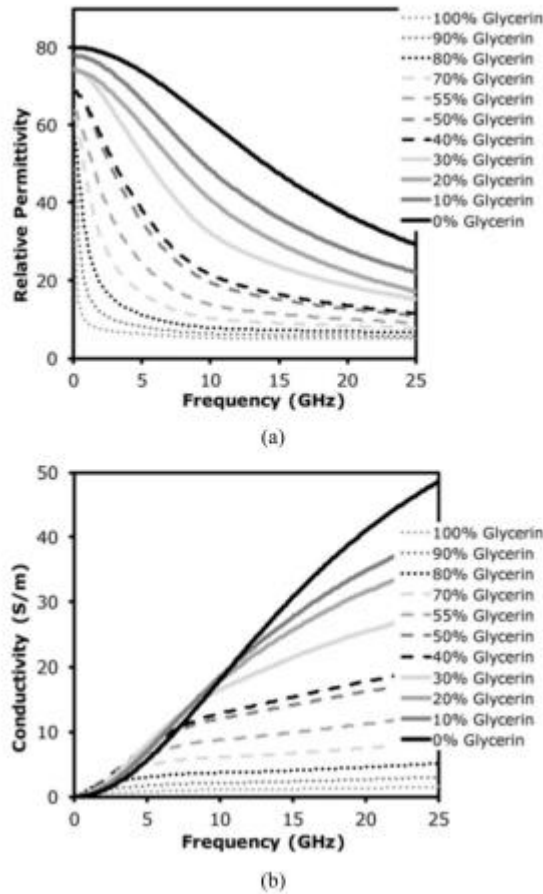


Figura 4.10 Grafica de la permitividad real, conductividad en un rango de 100MHz a 25Ghz de mezclas con distintas concentraciones de glicerina.

Fuente: [31]

Valorando estos conocimientos se asienta el valor de la permitividad relativa aproximadamente en 50 y la conductividad eléctrica en 5.

Por último, la permeabilidad relativa, μ_r , se considera cercana al valor del agua por lo que se asigna a la unidad.

Todos estos datos expresados en las correspondientes unidades se introducen en ambos programas en la tabla de propiedades del material destinado a ello.

▼ Contenido de material					
▶▶	Propiedad	Variable	Valor	Unidad	Grupo de propiedad
<input checked="" type="checkbox"/>	Permitividad relativa	epsilon...	50	1	Básico
<input checked="" type="checkbox"/>	Permeabilidad relativa	mur_is...	1	1	Básico
<input checked="" type="checkbox"/>	Conductividad eléctrica	sigma_...	5	S/m	Básico
<input checked="" type="checkbox"/>	Conductividad térmica	k_iso ;...	0.3356	W/(m·K)	Básico
<input checked="" type="checkbox"/>	Densidad	rho	1110	kg/m ³	Básico
<input checked="" type="checkbox"/>	Capacidad calorífica con presión...	Cp	3350	J/(kg·K)	Básico

Figura 4.11 Interfaz software COMSOL. Datos dieléctricos del material de estudio.

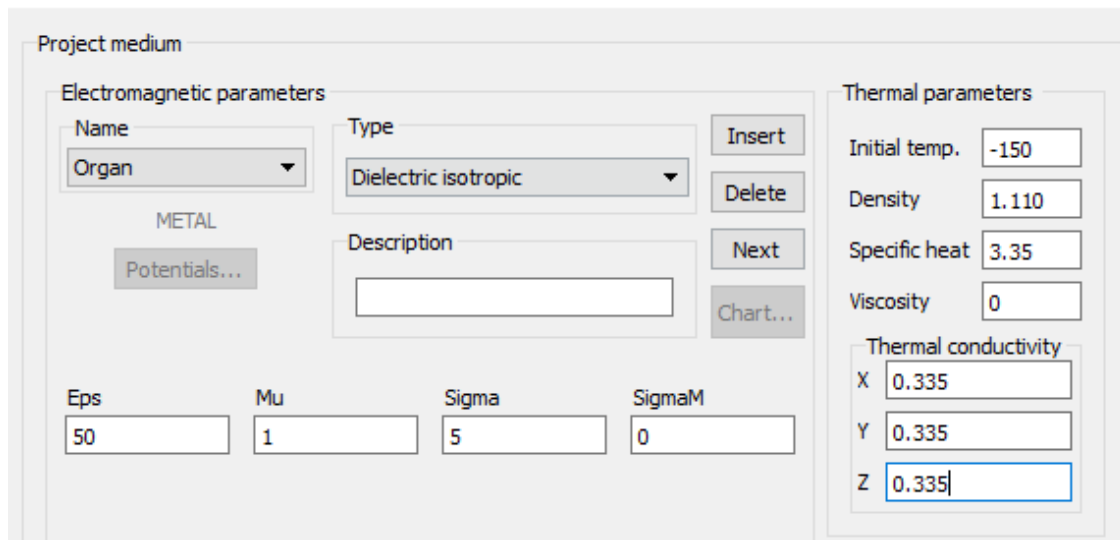


Figura 4.12 Datos dieléctricos del material de estudio en software QuickWave

Una vez constituido el modelo del objeto completo se diseña y configura el resto del modelo para realizar las simulaciones del estudio.

4.4 Descripción del modelo completo

A continuación, se precisa el modelo completo a simular. Se siguen los distintos pasos a configurar en orden: geometría, materiales, malla, física, estudio y resultados.

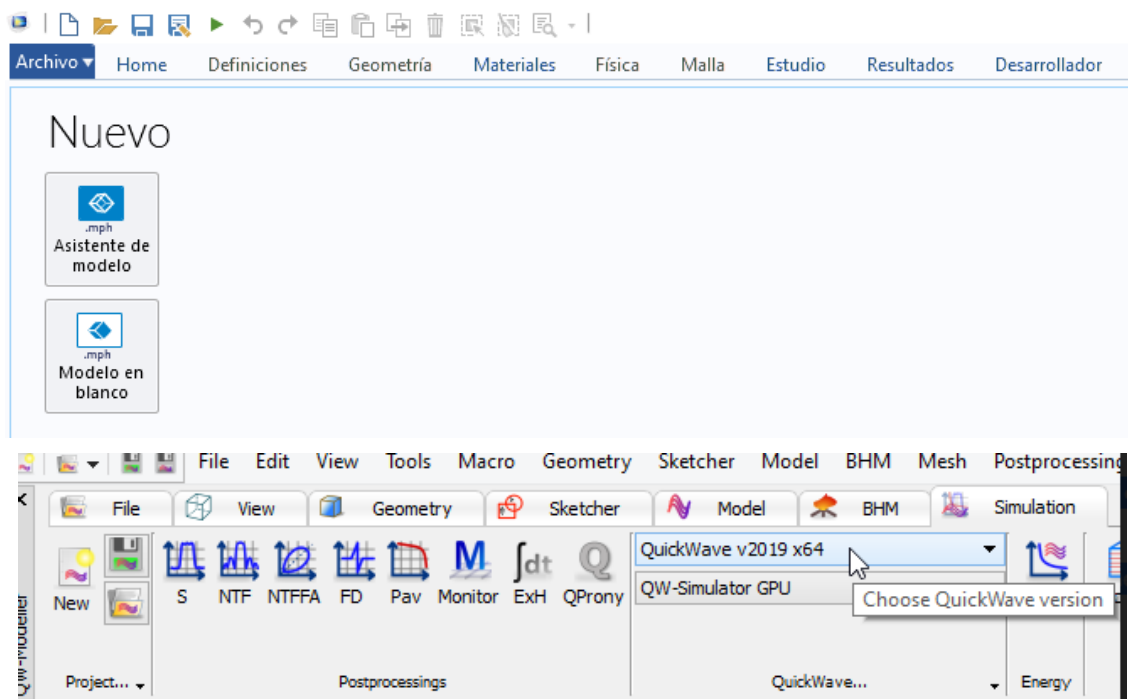


Figura 4.13 Interfaz Software de simulación (a) Comsol (b) QuickWave

Estos vienen marcados de forma intuitiva en la interfaz propia de los softwares mediante pestañas separadas, al entrar en cada módulo se despliega las correspondientes herramientas y opciones disponibles.

En primer lugar se creara un modelo ‘.mph’ vacío en el que se añadirá la geometría.

Este modelo se diseña en base a los dispositivos microondas de última tecnología ya existentes en la industria, aprovechando así las numerosas investigaciones ya realizadas para la maximización de rendimiento y funcionalidad óptima del sistema.

El modelo geométrico completo (figura 4.14) incluye la cavidad del horno, un plato circular como bandeja, el puerto coaxial junto con la guía de ondas y finalmente el objeto introducido para calentar al que está dedicado el punto anterior.

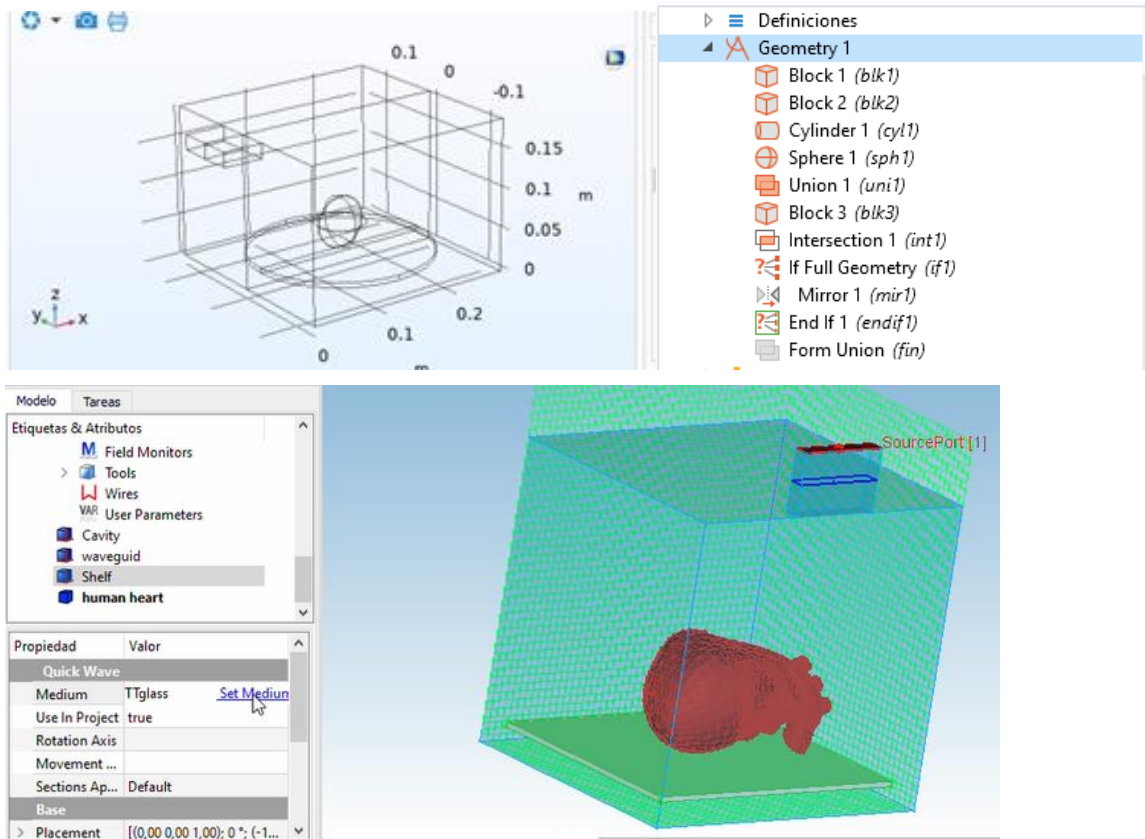


Figura 4.14 Modelo geométrico completo. Esquema 3d y árbol bloques que lo forman. En comsol(a) y Quickwave (b)

Al tratarse de una geometría compuesta por figuras simples se aborda directamente en el software con las herramientas de diseño gráfico existentes que permiten generar formas 3D básicas.

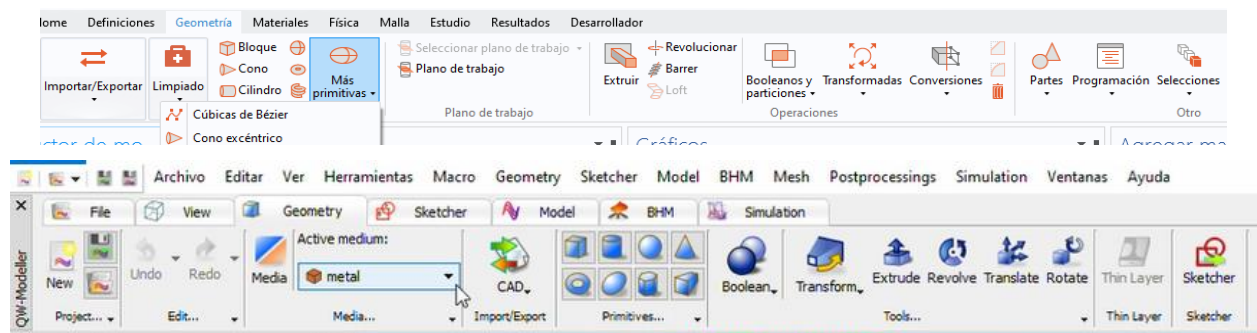


Figura 4.15 Barra de herramientas para modelado geométrico de COMSOL (a) y de QuickWave (b)

Primero se crea la cavidad que delimita el horno y en el cual se producirá el calentamiento en su interior. Existen muchos modelos con distintos tamaños, para este estudio se escoge uno de dimensiones adaptadas al órgano a recalentar. Se genera un cubo de base aproximadamente cuadrada de 26cm en el plano xy y una altura de 20cm comenzando el primer vértice en el origen $(0,0,0)$ y extendiéndose su superficie hacia las coordenadas crecientes con valores positivos.

Se añade un puerto rectangular (posicionado de forma vertical en QWED y horizontal en Comsol) centrado en la base superior de la pared. Sus dimensiones son de $0.05 \times 0.78 \times 0.018$ m de ancho, largo y alto respectivamente.

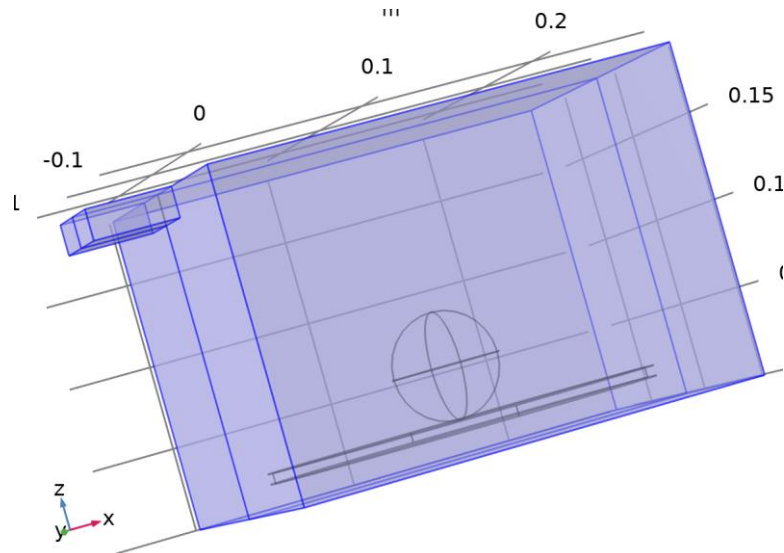


Figura 4.16 Modelo geométrico detalle: cavidad del horno y puertos

En el centro de la base de la cavidad se añade un cilindro que representa el plato soporte. El cilindro tendrá un radio de 11.35 cm ocupando gran parte de la superficie del microondas y un grosor de 1.5 cm.

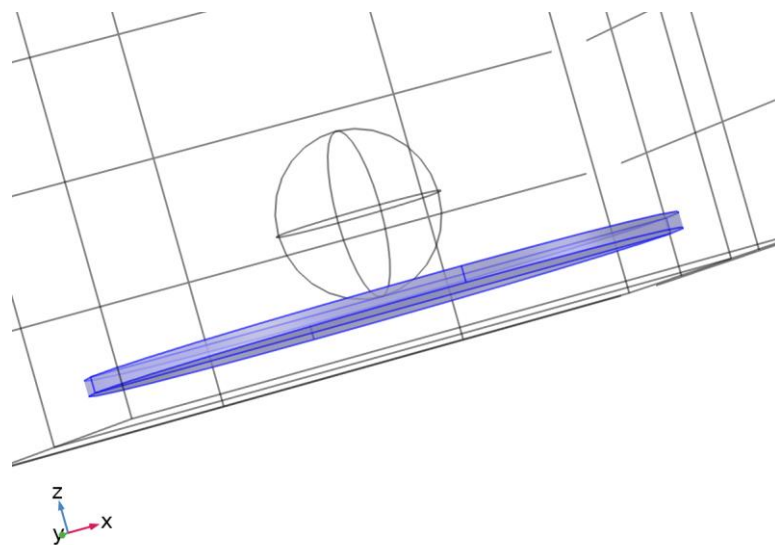


Figura 4.17 Modelo geométrico detalle: plato central

Se importa el cuerpo que representa el órgano como ya fue mencionado y se traslada mediante las herramientas

a la posición central deseada en el plano xy asignándole como coordenada la mitad de los valores del ancho y largo de la cavidad. Luego, se sitúa sobre el plato elevando su coordenada z, tanto los cm de radio propios del cuerpo como el espesor de la geometría del plato de cristal, para evitar que ciertos puntos de ambos dominios compartan espacio físico a la vez.

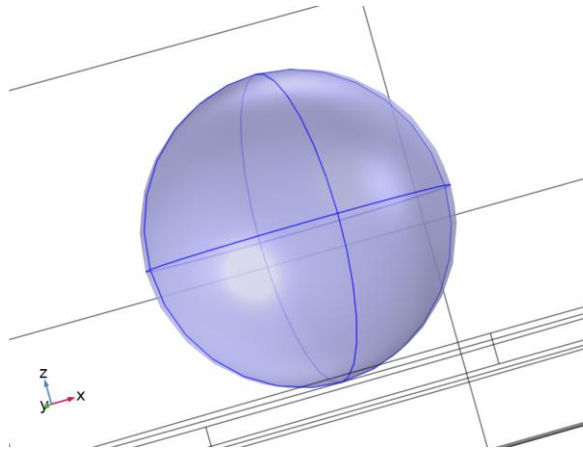


Figura 4.18 Modelo geométrico detalle: órgano de estudio esférico

Adicionalmente se definen y nombran explícitamente las distintas partes geométricas, a priori denominadas automáticamente con números por el propio programa, con el fin de distinguir de forma más sencilla los dominios para continuar la configuración en los siguientes pasos.

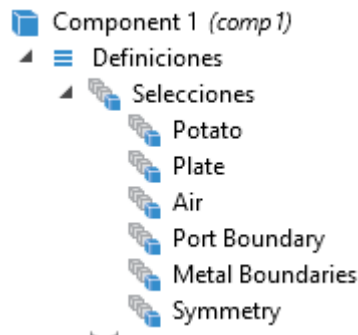


Figura 4.19 Árbol de definiciones en el que se ven declarados las partes que componen la geometría espacial.

También se fijan los valores de otros parámetros globales útiles para ser utilizado en varios campos o ser modificados rápidamente a lo largo de los distintos experimentos.

Tabla 4.3 Definición parámetros globales COMSOL.

Nombre	Expresión	Valor	Descripción
wo	267[mm]	0.267 m	Oven width
do	270[mm]	0.27 m	Oven depth
ho	188[mm]	0.188 m	Oven height

Nombre	Expresión	Valor	Descripción
wg	50[mm]	0.05 m	Waveguide width
dg	78[mm]	0.078 m	Waveguide depth
hg	18[mm]	0.018 m	Waveguide height
rp	113.5[mm]	0.1135 m	Glass plate radius
hp	6[mm]	0.006 m	Glass plate height
bp	15[mm]	0.015 m	Glass plate base
rpot	40[mm]	0.040 m	Sfere radius
T0	203[K]	203 K	Initial organ temperature
full_geometry	1	1	Symmety flag
frec	2.45[GHz]	2.45E9 Hz	frequency
tiempot	60[s]	60 s	Time of simulation

En la tabla se encuentran declarado los parámetros que se usan con un nombre que se identifica para su uso, junto con una expresión, en este caso se asignan valores reales fijos pero ofrece la posibilidad de ajustar una función que calcule su valor. Se debe añadir entre corchetes las unidades correspondientes al dato, estas no tienen por qué estar dadas en el sistema internacional, el programa se encarga de convertir dicho dato a las unidades designadas para los cálculos, indicándolo automáticamente en la columna contigua. Adicionalmente cuenta con una cuarta casilla que, de forma opcional, puede ser usada para describir brevemente la entrada del parámetro y evitar confusiones.

En el software COMSOL es importante remarcar que se añade un plano de simetría que corta la geometría aprovechando esta característica particular del sistema para disminuir considerablemente el coste de cálculo, siendo necesario solo resolver las ecuaciones en la mitad del espacio.

Se utiliza un plano Y desplazado la mitad del largo del horno pasando por el centro del órgano y la mitad del puerto de ondas con un vector normal (0,1,0).

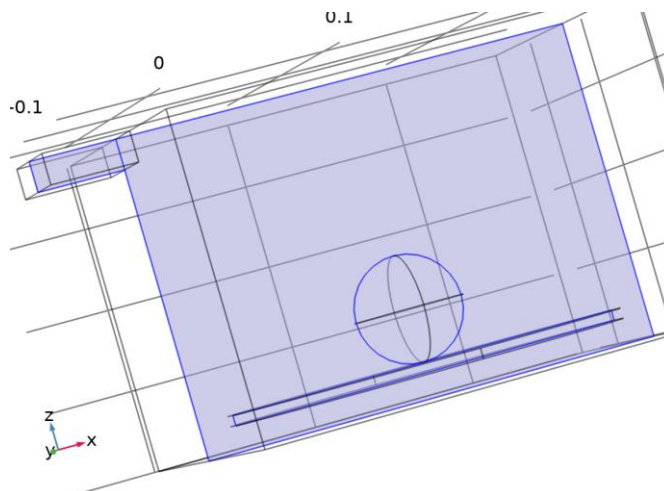


Figura 4.20 Modelo 3d: plano simetría.

Los pasos por seguir serán primero unir todos los elementos geométricos con la herramienta ‘unión’, posteriormente añadir otro rectángulo geométrico que incluya solo la mitad del modelo y con la herramienta ‘intersección’ se podrá formar una geometría cortada que incluya solo esta parte seleccionada.

Una vez obtenida la geometría donde se realizarán los cálculos se usa el parámetro global ‘full_geometry’ para añadir una condición lógica binaria en el apartado geométrico que permite la programación (ver en fig.4.15 de interfaz geométrica). Con un condicional simple ‘if’ se asigna esta geometría en el caso de que este parámetro tenga un valor de 0 y se aplica la transformación geométrica ‘espejo’ referido al plano de simetría.

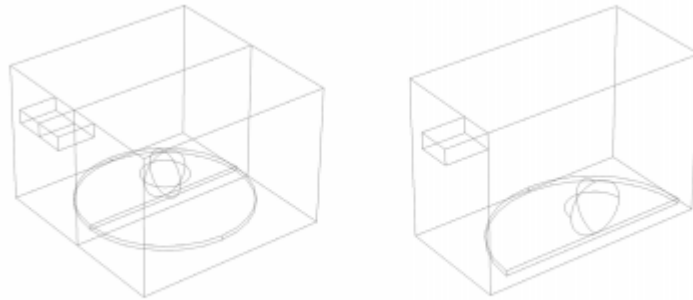


Figura 4.21 geometría del microondas a tamaño completo (izquierda) y reducido a la mitad (derecha)

Fuente: (Web COMSOL [29])

El siguiente paso es definir de qué materiales está formada la geometría resuelta otorgándole así de las propiedades influyentes en el cálculo posterior.



Figura 4.22 Árbol con materiales usados en el modelo.

Se realiza añadiendo materiales y asignándolos a los dominios correspondientes ya definidos y nombrados para su fácil asignación.

Ambos softwares cuentan con una amplia biblioteca en la cual se encuentran distintos materiales clasificados según su naturaleza, incluyendo un subapartado de bioalentamiento, ciertamente útil como referencia en el estudio que nos ataña.

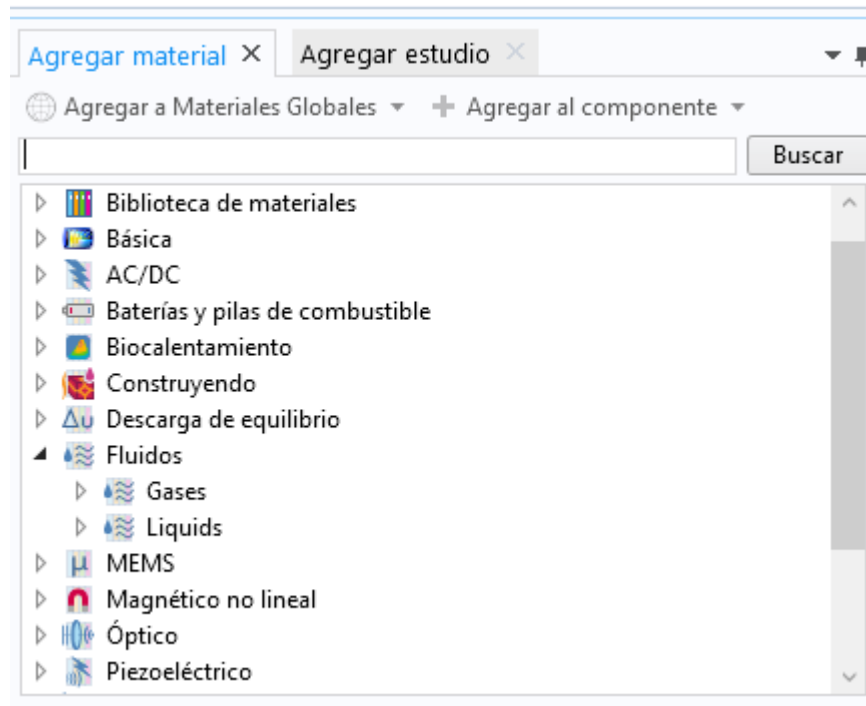


Figura 4.23 Librería de materiales definidos en el software simulación.

Como ya se ha comentado anteriormente los materiales poseen propiedades únicas que hacen que cada material tenga un comportamiento distinto a los siguientes fenómenos físicos que se aplicarán. Por tanto, se hace preciso introducir sus propiedades dieléctricas y caloríficas. Los parámetros a introducir son los siguientes: la permeabilidad relativa, permitividad relativa, conductividad eléctrica, conductividad térmica, densidad y capacidad calorífica. También tiene otros parámetros internos como la masa molar, la viscosidad volumétrica, etc. cuyos valores dependen y son derivados calculados a partir de los anteriores por tanto no necesitan ser introducidos en la tabla de propiedades.

La cavidad del horno esta típicamente formada por placas metálicas. Por tanto, las paredes del contorno tienen asignado las propiedades del cobre. El puerto por su parte se compone de igual forma por este material metálico, sus contornos estarán formados por cobre aprovechando su atributo conductor para conducir correctamente el campo electromagnético por él. Dichos valores se encuentran datados en siguiente la tabla.

Tabla 4.4 Propiedades dieléctricas del material: cobre.

Nombre	Valor	Unidad
Permeabilidad relativa	1	1
Conductividad eléctrica	5.998e7[S/m]	S/m
Permitividad relativa	1	1

El espacio interior de la cavidad está formado por aire, del cual sabemos que tanto la permeabilidad relativa como la permitividad tienen valor unidad, mientras que la conductividad térmica es nula y el resto de valores se determinan por constantes típicas y dependientes de la temperatura como se observa en la siguiente tabla.

Tabla 4.5 Propiedades dieléctricas del material: aire.

Nombre	Valor	Unidad
Permeabilidad relativa	1	1
Permitividad relativa	1	1
Conductividad eléctrica	0[S/m]	S/m
Conductividad térmica	k(T)	W/(m·K)
Constante de gas específico	R_const/Mn	J/(kg·K)
Capacidad calorífica con presión constante	Cp(T)	J/(kg·K)

El plato central es de cristal generalmente y sus datos se encuentran tipificados.

Tabla 4.6 Propiedades dieléctricas del material: cristal

Nombre	Valor	Unidad
Permeabilidad relativa	1	1
Conductividad eléctrica	1e-12[S/m]	S/m
Capacidad calorífica con presión constante	820[J/(kg·K)]	J/(kg·K)
Permitividad relativa	4.2	1
Densidad	2600[kg/m ³]	kg/m ³
Conductividad térmica	3[W/(m·K)]	W/(m·K)

Para el órgano a recalentar con las características bajo las que se encuentra por el proceso de criopreservación no se dispone de un material ya predeterminado en la librería, por tanto se debe crear un nuevo material. Se añaden los distintos campos necesarios para introducir sus datos y se le asigna valores siguiendo la metodología detallada en el punto anterior específico del modelo objeto.

Tabla 4.7 Propiedades dieléctricas del material: órgano cardiaco humano

Nombre	Valor	Unidad
Permitividad relativa	50	1
Permeabilidad relativa	1	1
Conductividad eléctrica	5	S/m

Nombre	Valor	Unidad
Conductividad térmica	0.3356	W/(m·K)
Densidad	1110	kg/m ³
Capacidad calorífica con presión constante	3350	J/(kg·K)

Finalmente, ya completo el modelo geométrico y sus propiedades, se comienza a configurar los fenómenos físicos que tendrán lugar y sus ecuaciones a resolver para obtener resultados.

Ambos softwares funcionan mediante cálculo de elementos finitos, es decir, obtienen una solución numérica aproximada sobre un medio continuo dividiéndolo en numerosos subdominios no intersectantes denominados elementos finitos. Estos elementos cuentan con una serie de puntos representativos llamados 'nodos'. Estos nodos presentan relaciones entre ellos de adyacencia en el caso de pertenecer al mismo elemento finito o conectividad si es compartido por varios. El conjunto de estos puntos y sus relaciones forman una malla que constituye la discretización del dominio de estudio aproximando el modelo geométrico y sobre el que se realizan los cálculos.

Cada nodo tendrá un conjunto de variables incógnitas relacionadas que se corresponden a los grados de libertad. Con las relaciones de este conjunto de variables entre distintos nodos se puede formar un sistema de ecuaciones lineales de la que se determina sus valores. Por consiguiente, el número de ecuaciones de dicho sistema es proporcional al número de nodos. [30]

Por tanto, la solución y la calidad de esta dependerá de la generación de la malla del modelo.

El propio programa genera de forma automática una malla de elementos finitos que considera óptima en función del tipo de geometría y sus características. Sin embargo, esta malla en ocasiones puede no ser la mejor opción, por lo que se aborda el mallado de forma manual. Manualmente se realiza con la herramienta de control por usuario que permite modificar los parámetros y modos de generación de la malla con el fin de obtener mallas de la calidad deseada en diferentes partes del modelo.

Por lo general, una división alta del modelo 3D conduce a mejores resultados en términos de precisión. Sin embargo, al aproximar un modelo por un gran número de pequeños elementos finitos conduce inevitablemente a un sistema de alto orden de las ecuaciones algebraicas que podría afectar negativamente a la velocidad de los cálculos. Por tanto, esta tarea se debe abordar contemplando un equilibrio entre la precisión y el coste del cómputo hasta obtener una calidad suficiente y satisfactoria desde el punto de vista de una solución fiable y de confianza para el problema físico objetivo que se está modelando.

Esta calidad depende de dos parámetros principalmente: la forma de los elementos y el grado de discretización.

En cuestión de la forma, el mallado está formado por elementos tetraédricos (tetraedros y triángulos), cuanto más de estos tengan una forma equilátera mejores resultados se obtienen. Por tanto, es deseable reducir el número de elementos cuyos lados difieren notablemente en tamaño y distribuir de forma uniforme los elementos que intervienen en la malla.

Por otro lado, la calidad de la solución se ve también directamente afectada por el grado de discretización del modelo geométrico original, es decir, la densidad de elementos finitos en la malla. Se controla este parámetro especificando el valor de tamaño de los elementos finitos y junto con sus tolerancias. Siendo la resolución adaptativa, asociando elementos más pequeños para tener mayor densidad en aquellas zonas curvadas o que necesitan mayor precisión y permitiendo mayores dimensiones en zonas más simples. [34]

Se construyen dos mallados distintos formados por tetraedros libres. En primer lugar un mallado más grueso en el dominio del interior del horno (fig. 4.24) y otro más preciso para el órgano objeto de estudio (fig. 4.25).

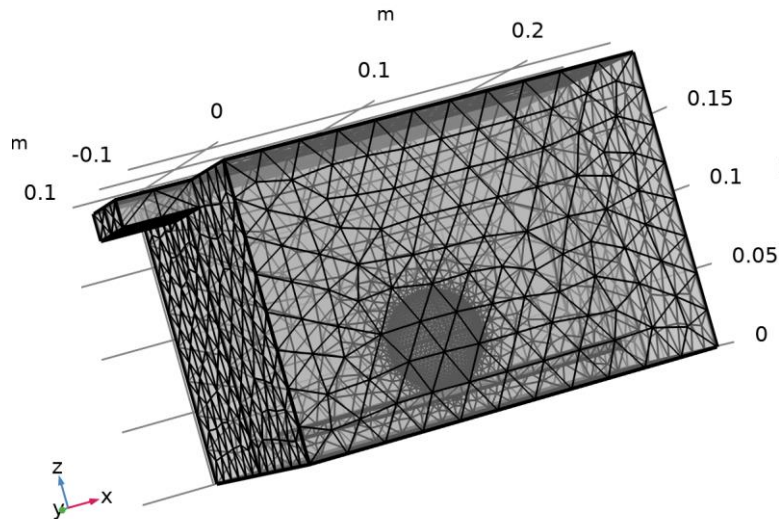


Figura 4.24 Mallado del interior cavidad horno

Se trata de un dominio con contornos rectos por lo que se puede asignar un mallado menos denso con elementos de mayor tamaño. Además, tendrá mayor tolerancia permitiendo que el mallado tenga más rango de libertad de adaptación en el tamaño y forma de los tetraedros según la zona del espacio. El tamaño máximo es de 0.024470 m y el mínimo de 7.3420×10^{-4} m. Otros parámetros configurados son el factor de curvatura a 0.6, la resolución de regiones estrechas de 0.5 y la tasa de crecimiento rápido de 1.5.

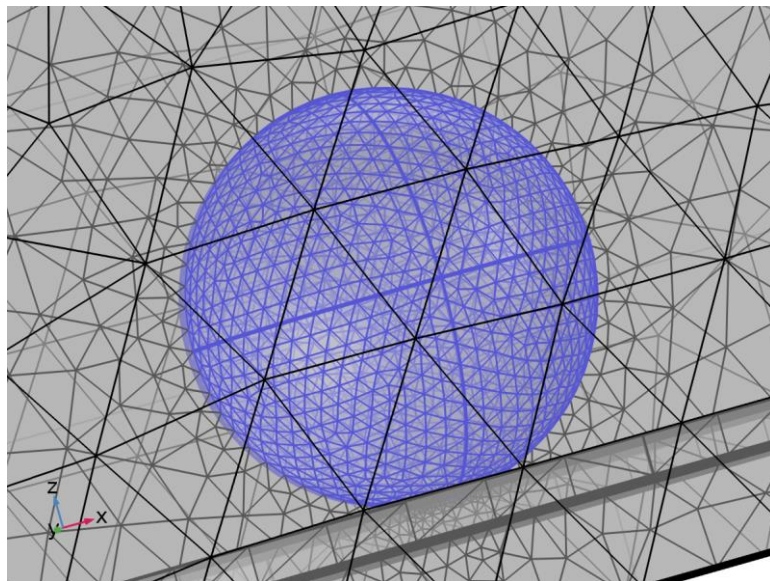


Figura 4.25 Mallado del modelo de órgano

El dominio esférico del órgano necesita más precisión por lo que se compondrá de un mayor número de tetraedros de tamaño menor y más uniforme en todo el cuerpo. Se utiliza los mismos ajustes que es resto del modelo, pero disminuyendo la tolerancia y dimensiones, ahora el tamaño máximo de cada elemento será de 0.003461 m y un tamaño mínimo de 1.0380×10^{-4} m.

Una vez mallado todo el modelo geométrico se ofrece las estadísticas que indican que la calidad media es de un valor suficiente de 0.6665 y está formado por 102551 tetraedros y 9629 triángulos.

Posteriormente se añade los fenómenos físicos que ocurren en el estudio. Se necesitan los módulos 'Microwave

Heating y 'Basic Heating Module' en el software QWED y los equivalentes en COMSOL, 'Heat transfer' y 'electromagnetic waves, frequency domain, time dependent'.

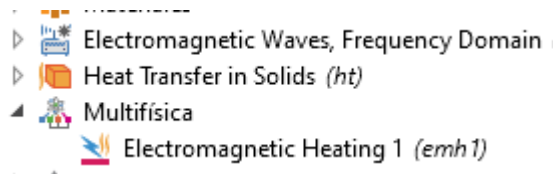


Figura 4.26 Árbol de físicas en software de simulación.

En primer lugar, se indica el tipo de campo generado dando valor a las ondas electromagnéticas, en este caso se trata con ondas de forma senoidal sin desfase de 25mV de amplitud y una frecuencia de 2.45 GHz que posteriormente podrá irse variando en los distintos experimentos.

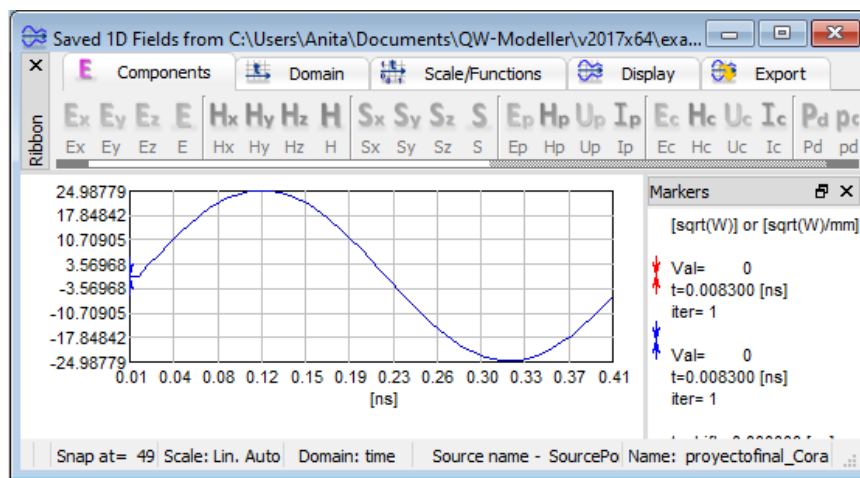


Figura 4.27 Representación onda electromagnética simulada QWED.

Posteriormente se debe activar y configurar el puerto por el que se introduce el campo electromagnético. Se especifica la entrada por la que pasan dichas ondas electromagnéticas generadas hacia el interior del sistema y un vector que indique la dirección y sentido de estas.

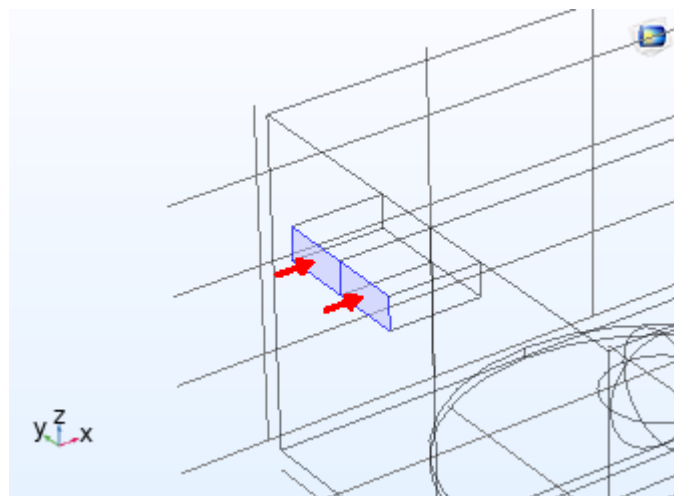


Figura 4.28 Puertos de campo electromagnético

La guía por la que se transmiten es rectangular y el modo de propagación que se asigna es TE10, esta asignación es importante para el comportamiento pues lo describen ecuaciones distintas como fue explicado en detalle en el apartado 2.2 de tecnología microondas.

La potencia del microondas se ajusta hasta dar con el valor más óptimo adecuado, se comienza con una potencia de 1KW.

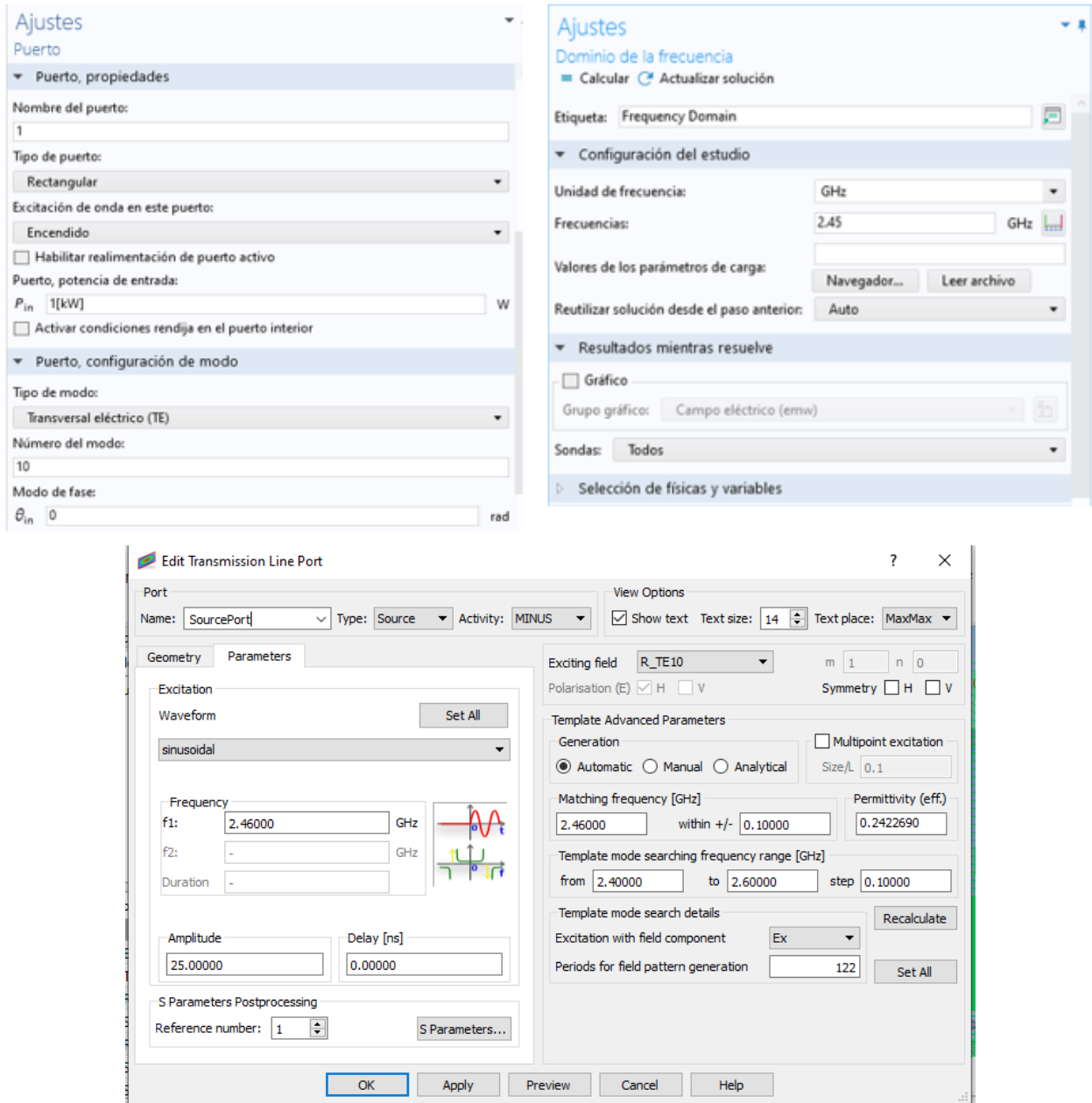


Figura 4.29 Configuración del puerto electromagnético (a) en COMSOL y (b) en QuickWave.

El campo eléctrico, E , es nulo en un comienzo, por ello como condiciones iniciales se asigna un valor de 0 V/m a sus componentes E_x , E_y y E_z . La frecuencia a la que se inicia el puerto es la tipificada de 2,45 GHz.

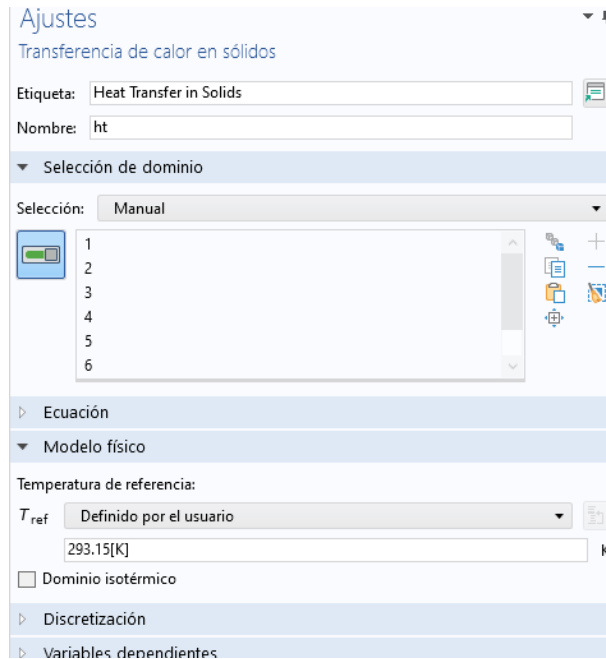


Figura 4.30 Configuración estudio transferencia de calor en sólidos de COMSOL.

Para el módulo de calentamiento solo se tendrá que añadir el dominio sobre el que se aplica este calentamiento.

En cuanto a la temperatura inicial se introducen dos condiciones iniciales distintas. Los tejidos criopreservados se almacenan a unas temperaturas bajo cero alrededor de -150°C (temperatura recomendada por estudios de Cryobiotech). Por tanto, el dominio correspondiente al órgano se asigna esta temperatura inicial en el software QWED. Sin embargo, en el software COMSOL donde el modelo es más pesado de simular se reduce esta temperatura inicial como -70°C a fin de reducir este coste de tiempo. El rango de temperatura que interesa estudiar su evolución es el que se comprende entre -70°C hasta -20°C pues supone el periodo crítico de formación de hielo donde se desgasta la viabilidad de la muestra. El dominio que lo rodea correspondiente al aire existente dentro de la cavidad se considera que se encuentra en condiciones normales a una temperatura media de 25°C . También se considera normalizada la presión atmosférica de trabajo asignado a 1atm .

El horno se encuentra aislado térmicamente con el exterior de forma que las características ambientales en el que sea colocado no interfieran en los resultados obtenidos.

Se importan las propiedades de la termodinámica, densidad, etc. que serán tomadas desde el material considerado con un comportamiento ideal.

Ya solo restaría acoplar ambos fenómenos físicos asegurando que estos no se resuelven independientemente, sino que los distintos cálculos se relacionen entre sí afectándose mutuamente y produciendo un calentamiento con origen electromagnético.

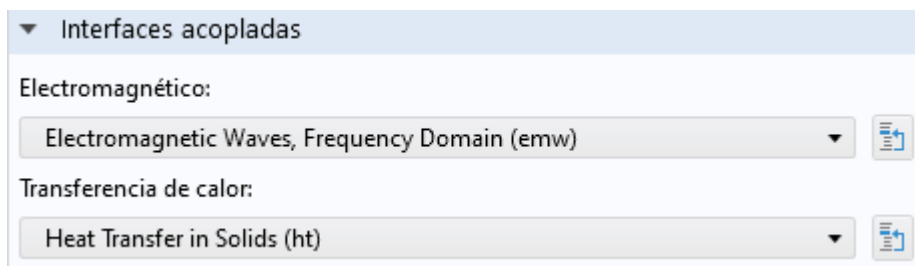


Figura 4.31 Acoplamiento físico en el software de simulaciones.

En este paso el modelo se encuentra completamente definido para el estudio, preparado para realizar las simulaciones que serán explicadas a continuación.

4.5 Experimentos y Simulaciones

En este punto solo resta por indicar al simulador la forma de estudio que se quiere realizar para comenzar con el mismo.

En busca del objetivo de analizar la eficacia de la tecnología VFM para su uso en la criopreservación se realizan distintos experimentos. Para determinar esto se realiza una comparación de la tecnología tradicional de microondas con esta otra nueva tecnología.

Se requiere así diversas configuraciones para llevar a cabo estas simulaciones bajo distintas condiciones.

Hasta ahora se han construido modelos similares en ambos softwares de simulación, sin embargo, en este paso final se crea una diferenciación que hace que se deba detallar las operaciones realizadas en cada uno de forma individual. Además, como se ha especificado se requiere dos modelos en cada programa para comparar sus condiciones con frecuencia fija y variable. Se trabaja así finalmente con 4 modelos.

Comenzamos con el conjunto de software QWED, el modelo ha sido abierto hasta este momento en el programa Modeller v2019, pero al simular se lanza de forma automática el programa QW-GPU Simulator v2019x64 para completar los cálculos y presentar una interfaz más adecuada en este paso.

En el modelo de frecuencia fija la configuración del puerto se mantiene como la inicial comentada en el apartado anterior (fig. 4.29).

En opciones BHM se asigna un estudio del calentamiento del objeto durante 60s con pasos fijos de 1s dividiendo así el estudio en tiempo en un número suficiente de 60 pasos cuyos resultados intermedios pueden ser consultados así.

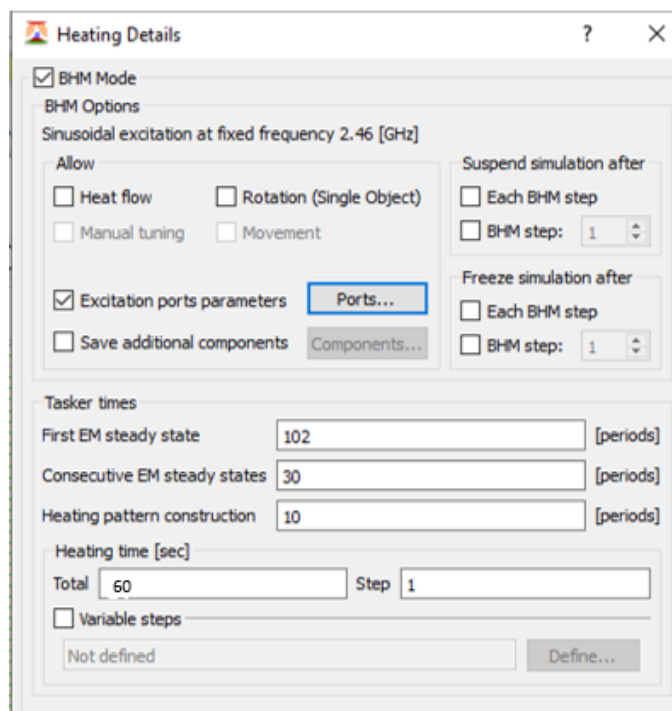


Figura 4.32 Configuración de la simulación en QWED.

Para el modelo de frecuencia variable, el entorno software contempla la posibilidad de modificar el puerto durante el tiempo de la simulación. Para ello se contemplan dos formas: marcando la casilla de parar el tiempo

en cada paso del calentamiento BHM y modificando de forma manual el valor de la frecuencia antes de continuar la simulación o de forma automática mediante una tabla que asigna las frecuencias a cada paso de forma automática. Como se trata de una simulación pesada y larga la forma más eficiente de realizar este modelo sin tener que parar la simulación a cada paso ni necesitar supervisión humana extra es con esta segunda opción. Solo hace falta marcar la opción de parámetros de excitación de puerto y modificar la tabla de forma previa con los valores deseados del puerto. (fig. 4.33)

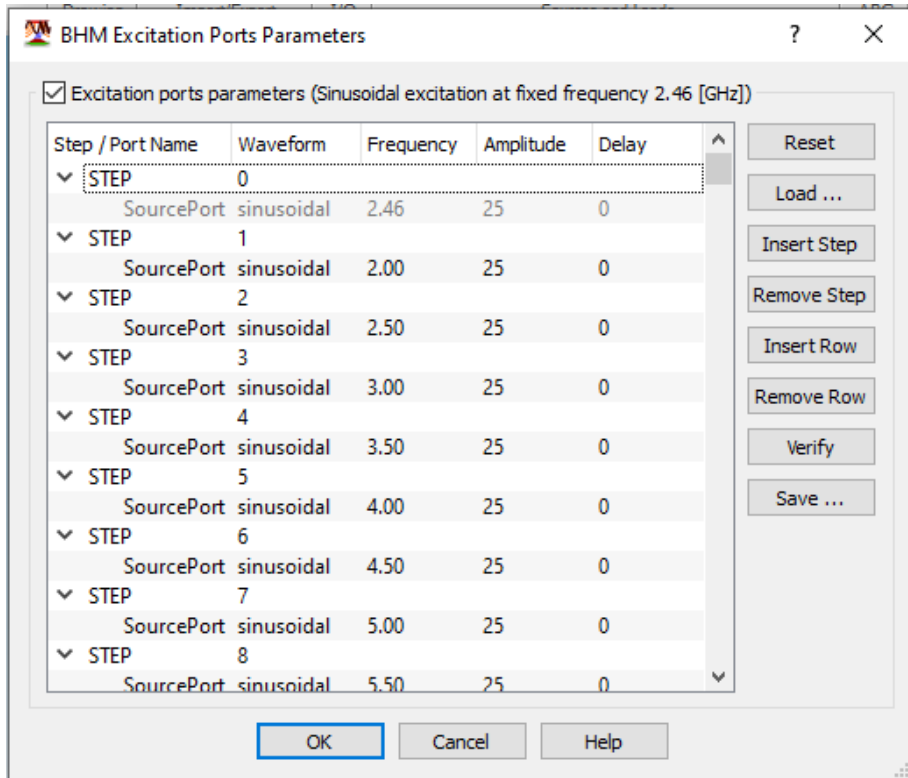


Figura 4.33 Tabla QWED de asignación de frecuencias variables en cada paso

Sin embargo, esta opción sigue requiriendo un trabajo repetitivo y expuestos a fallos humanos al necesitar una introducción manual de estos valores y que crece linealmente con el número de pasos deseados. Por la naturaleza del mismo, se incita a realizar un código en Matlab que genere la tabla deseada de forma rápida, pudiendo modificar la misma de forma sencilla cuando se requiera. Solo se debe observar el formato necesario de la tabla para cargar en el programa y replicarlo.

```

matlabfrecuenciavariante.m  generador_txt_parametros_cambiofrec.m  +
1 - frecuencia=[2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 5.5 6 6.5 7 6.5 6 5.5 5 4.5 4 3.5 3 2.5];
2 - num_min=1; %simular 1 minututo
3 - tiempo_paso=[0:0.1:60*num_min]; %variar frecueancia 0.1 es decir 10 veces por seg,malla de tiempo
4 - num_paso=10*60*num_min;
5
6 - fileID= fopen('archivo.txt','w');
7
8 - fprintf('QW BHM excitation ports parameters V1.0 \n');
9
10
11 - j=1; % para recorrer bucle
12 - for i=1:num_paso
13
14
15 - fprintf(fileID,'STEP %d\n',i);
16 - fprintf(fileID,'          SourcePort sinusoidal %4.2f 25 0\n',frecuencia(j));
17
18 - j=j+1;
19 - if j>20
20 -     j=1;
21 - end
22
23 - end
24 - fclose(fileID);

```

Figura 4.34 Código Matlab para generación tabla de frecuencias variables en QuickWave

En primer lugar, se declaran y asignan valores a las variables que se usan: las frecuencias que recorrerá, los segundos de simulación y el número de pasos. Estos valores iniciales son así detectables fácilmente para poder modificarlos en caso de realizar distintos experimentos. En este caso se especifican más adelante sus valores.

Se abre un documento de texto plano tipo '.txt', se da nombre y ubica en el directorio donde se encuentra el propio código de Matlab '.m'.

A continuación, solo se necesita un bucle hasta completar el número de pasos totales en el cual se escribe el texto con el formato necesario a la vez que se usa otro índice para recorrer el vector de frecuencias de forma correcta ascendente y saturando para comenzar de nuevo de forma descendente.

Una vez terminado el bucle se cierra el documento y ya está listo para su introducción en el software.

Para este experimento al igual que la frecuencia fija con la que comparamos se simula durante 1 min (posteriormente también se probó otros tiempos como 30s y 5 min) y se realizaran pasos cada 0.1s es decir se generarían un total de 6000 pasos.

En cada uno de estos pasos, de forma equivalente, en cada décima de segundo se modifica la frecuencia del puerto. Esta es la razón de tener un mallado más preciso en este modelo, para modificar la frecuencia de forma rápida acercándose al funcionamiento real de este tipo de tecnologías VFM. El rango de frecuencia entre el que se mueve el puerto se elige entre [2,7] GHz. Aunque en la realidad los cambios se producen de forma aproximadamente continua, realizamos una aproximación discreta evitando grandes saltos en la frecuencia. Se barre así el intervalo de forma creciente incrementando 0.5 GHz en cada paso de décima de segundo y cuando llegue a la frecuencia máxima de 7Ghz de decrementará de igual modo. Realiza esta operación durante toda la simulación, modificando la frecuencia diez veces en total cada segundo.

Se pasa a generar de igual forma ambos modelos en el software COMSOL.

El modelo de frecuencia fija se genera de forma análoga, aunque se encuentren diferencias en el formato. En la configuración del dominio temporal se fija el tiempo de simulación total igual de 60s, es decir una unidad de minuto, facilitando posteriormente la extrapolación y otros cálculos. En el campo de tiempos de salida se indica por tanto un vector que comprenda desde el inicio a 0 s hasta 60 s realizando saltos de 60/10s.

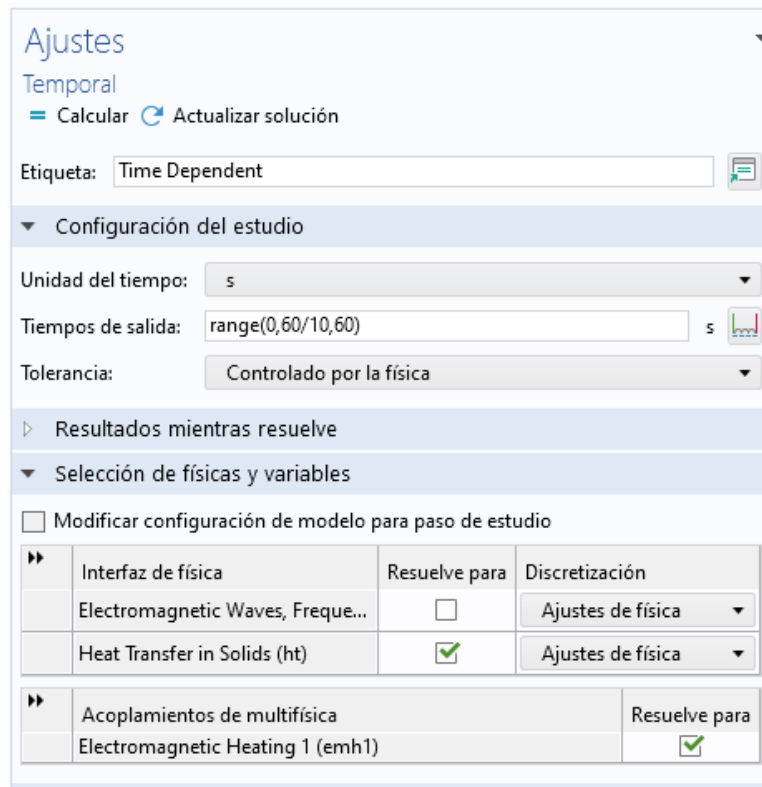


Figura 4.35 Configuración estudio del dominio temporal de Comsol.

Listo el modelo de frecuencia fija se aborda el siguiente de frecuencia variable.

COMSOL Multiphysics no ofrece la capacidad de implementar un modelo de calentamiento por microondas electromagnéticas dependiente del tiempo cuya frecuencia pueda ser modificada en los distintos momentos de simulación, si no que la configuración del puerto permanece fija y estable durante toda ella. Para solucionar esto se investigan distintas formas que permitieran llegar al objetivo. Se desarrolla un método que combina la capacidad de resolver multifísicas de COMSOL y la gran herramienta para procesar datos y cálculos de MATLAB. Se utiliza el software MATLAB versión 2020a que junto con el programa liverlink perteneciente a COMSOL 5.6 permite crear un enlace virtual con una consola que ejerce de cliente y servidor para, no solo poder procesar los datos de las simulaciones de COMSOL sino también, poder modificar el propio modelo de forma externa mediante MATLAB. Recoge una serie de funciones para ello y que se pueden consultar su funcionamiento y uso en la propia web de la empresa del producto. [35]

El algoritmo de funcionamiento se representa en la fig. 4.35. Se trata de un bucle en el cual se va modificando la frecuencia de f_0 a $f_0 + \Delta f$ y con este cambio se simula durante un periodo de calentamiento $t_0 + \Delta t$. Al final de cada paso de tiempo se almacena la temperatura junto con su coordenada local. Esta distribución de temperatura es utilizada en la iniciación de la siguiente iteración y se repite el proceso hasta que se completa el proceso de calentamiento completo.

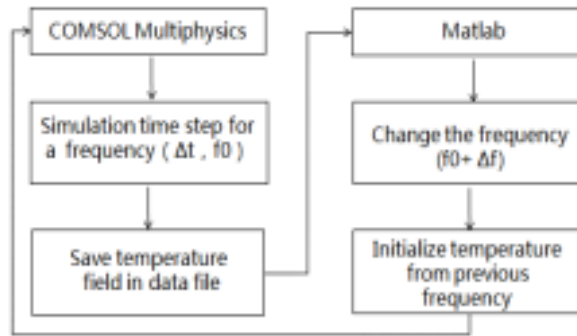


Figura 4.36 Estrategia de simulación modelo variable de Comsol con Matlab

Fuente: [18]

En primer lugar se debe de establecer la conexión entre servidor y cliente por el puerto de comunicaciones asignados y abrir el modelo desde MATLAB, una vez cargado y conectado aparece un mensaje por la consola que lo indica (fig. 4.37).

```

COMSOL Multiphysics 5.6 with MATLAB
COMSOL Multiphysics server 5.6 (Construcción: 280) inicializado, escuchando puerto 2036
Utilizar el comando de consola 'close' para salir de la aplicación
2021-08-17 20:33:11 Un cliente de LiveLink(TM) for MATLAB(R) con nombre de usuario 'Ana' ha iniciado sesión desde 'Portatil-Anita'
Loading model: C:\Users\Anita\Desktop\pruebaFrecuenciaVariable\rf_0.mph
Tag: Model
  
```

Figura 4.37 Mensajes salida en consola livelink comsol 5.6 with matlab

Se limpia las posibles variables internas residuales para evitar interferencia y que puedan corromper los resultados.

Se declaran e inicializan las nuevas variables que se usan: un subíndice para recorrer el bucle, la frecuencia y temperaturas iniciales, la frec. máxima y mínima del rango que trabajamos y el número de pasos de la simulación.

```

1 %% FRECUENCIA VARIABLE. AUTOMATIZAR PROCESO CON MATLAB
2 |
3 - clear all
4 %%mphlaunch
5 - folder = 'C:\Users\Ana\Desktop\pruebafrecuenciavariabile'; %cambiar directorio actual
6
7 % inicializar funciones con comsol
8 - import com.comsol.model.*
9 - import com.comsol.util.*
10 - model=mphload('rf_0.mph'); %nombre del modelo
11
12 - return
13 %variables locales de matlab
14 - frec_ini=2.5e9;% comenzamos declarando variable frecuencia a los Ghz iniciales
15
16 %para frecuencia lineal
17 - frec_min=2e9;
18 - frec_max=7e9;
19 %para almacenar frec en fre aleatoria.
20 - tabla_frecuencias=[];
21
22 %otras variables
23 - i=1;
24 - T0=133; %temp inicial material, -140oC pasados a kelvin +273
25 - tiempomat = 0.5; %tiempo de simulacion cada frec en cada paso, 0.5 segundo
26 - frecuencia=frec_ini; %inicializamos frecuencia primer paso
27 - tabla_frecuencias=[tabla_frecuencias;frecuencia];
28
29 - pasos=200;
30 - frec1 = linspace(frec_min,frec_max,pasos);

```

Figura 4.38 Código Matlab para modelado frecuencia variable con Comsol. Parte 1

Se configura el modelo con las condiciones iniciales con las funciones 'model.param.set' y 'model.componets'. Luego se calcula el estudio con las líneas de código 'model.study' y se guardan los resultados en un archivo con 'model.results.export'. Este texto servirá como condiciones iniciales de la siguiente simulación.

```

33 %crear variables en el modelo y asignarles los valores
34 - model.param.set('T0', T0,'K'); %crea el parametro global en COMSOL (meter los datos en el programa)
35 - model.param.set('tiempot',tiempomat,'[s]');%crea el parametro global en COMSOL (meter los datos en el programa)
36 - model.param.set('frec', frecuencia,'Hz');
37
38
39 % inicializamos valores cond iniciales temperaturas a la fisica de
40 % calentamiento ht
41 - model.component('comp1').physics('ht').feature('init1').set('Tinit', 'T0'); %le asigna las condiciones iniciales
42 - model.component('comp1').physics('ht').feature('init2').set('Tinit', '298.15[K]'); %le asigna las condiciones ini
43
44
45 %asignar valores de rango a al estudio de frecuencia y tiempo
46 - model.study('std1').feature('freq').set('plist', 'frec'); %meter frecuencia en COMSOL
47 - model.study('std1').feature('time').set('tlist', 'range(0,tiempot/5,tiempot)');%meter tiempos en COMSOL
48
49 - model.study('std1').run %runear en COMSOL (realizar estudio)
50
51 %exportar resultados
52 - model.result.export.create('datal', 'Data');
53 - model.result.export('datal').set('unit', {'K'});
54 - model.result.export('datal').set('descr', {'Temperature'});
55 - model.result.export('datal').set('expr', {'T'});
56 - model.result.export('datal').setIndex('looplevelinput', 'last', 0);
57 - model.result.export('datal').set('filename', sprintf('T_frecuenciavariabile_%d.txt',i));
58 - model.result.export('datal').run;
59
60 %guardamos nuevo modelo
61 - mphsave(model, sprintf('modelo_frecvar_paso_%d.mph',i));
62

```

Figura 4.39 Código Matlab para modelado frecuencia variable con Comsol. Parte 2

Una vez simulado el primer paso se realiza un bucle que realice el algoritmo explicado. Este bucle 'for' se define con un subíndice 'i' desde el segundo paso hasta el número total de pasos que se haya dividido la simulación.

Dentro de este bucle se sigue unos puntos ordenados. Primero se asigna la nueva frecuencia modificada al puerto. En segundo lugar, se crea una función de interpolación que se nombra como 'int_i' donde 'i' es el número de

paso correspondiente. Esta función es determinada así por los datos importados contenientes en el archivo de texto generado como resultados del paso predecesor indicando que se obtiene la temperatura expresada en K en función de sus coordenadas x,y,z escritas en metros.

Con estas nuevas condiciones asignadas se vuelve a calcular el estudio de igual forma.

Una vez terminado el cálculo se vuelve a generar el conjunto de datos de temperatura de todos los puntos pertenecientes al interior de la cavidad preparados para introducir en la siguiente iteración. Finalmente se guarda el modelo generado y aparece un mensaje por la consola de MATLAB que indica que el tiempo de simulación ha sido completado satisfactoriamente.

```

68 %BUCLE
69 for i=2:200 % realizamos bucle 120 veces, si lo hacemos cada medio segundo por ejemplo simulariamos 60s, lmin
70 %paso1
71 % asignar frecuencia : recorre rango frec 1 vez ascendente
72 frec=frec1(i);
73
74 model.param.set('frec', frecuencia,'[Hz]'); % comando que asigna el valor nuevo de frecuencia al nombre del parametro
75
76 %paso2.
77
78 model.func.remove(sprintf('int_%d',i-1));
79 model.func.create(sprintf('int_%d',i), 'Interpolation'); %crea una funcion interpolacion por cada iteracion
80 model.func(sprintf('int_%d',i)).set('source','file');
81 model.func(sprintf('int_%d',i)).set('filename',sprintf('T_frecuenciavariabile_%d.txt',i-1))
82 model.func(sprintf('int_%d',i)).importData;
83
84
85 model.component('comp1').physics('ht').feature('init1').set('Tinit', sprintf('int_%d(x/l[m],y/l[m],z/l[m])',i));
86 model.component('comp1').physics('ht').feature('init2').set('Tinit', sprintf('int_%d(x/l[m],y/l[m],z/l[m])',i));
87
88
89 %paso 3
90 model.study('std1').run %comando que run estudio , std1 corresponderia al nombre que tiene entre parentesis el estudio
91 %paso4.
92 model.sol('sol1').run;
93 %paso5
94
95 %Exporta los datos
96 model.result.export.create(sprintf('data%d',i2), 'Data');
97 model.result.export(sprintf('data%d',i)).set('unit', {'K'});
98 model.result.export(sprintf('data%d',i)).set('descr', {'Temperature'});
99 model.result.export(sprintf('data%d',i)).set('expr', {'T'});
100 model.result.export(sprintf('data%d',i)).setIndex('looplevelinput', 'last', 0);
101 model.result.export(sprintf('data%d',i)).set('filename', sprintf('T_frecuenciavariabile_%d.txt',i));
102 model.result.export(sprintf('data%d',i)).run;
103
104
105 %guardamos nuevo modelo
106 mphsave(model,sprintf('modelo_frecvar_paso_%d.mph',i));
107
108 %imprime por pantalla matlab para tener realimentacion por donde va
109 %ejecutando codigo
110 sprintf('datos de interacion numero %d almacenados',i )
111
112 end
113
114 sprintf('TERMINADO!')

```

Figura 4.40 Código Matlab para modelado frecuencia variable con Comsol. Parte 3

Dichos códigos se encuentran adjunto en formato original (anexo B)

En cuanto a la caracterización numérica de este experimento se simula como se ha hecho en el resto 60s. Sin embargo, debido a la complejidad del proceso, este modelo supone mucha carga computacional y como se indicó anteriormente se realiza una simulación parcial en el rango de calentamiento crítico. En vez de comenzar con la temperatura inicial de -140°C se asignó -70°C en los modelos COMSOL. Esta simulación de frecuencia variable se para cuándo se complete esta fase y alcance la temperatura segura de -20°C en vez de completar el tiempo de simulación asignado de 1 min. A diferencia del modelo de frecuencia variable de QWED, por este problema mencionado no es posible llevar a cabo una simulación tan precisa y se deberá reducir el número de paso intermedios (120 pasos en este experimento, variando la frecuencia cada 0.5s) hasta ser viable computacionalmente.

Se prueban varias formas de asignar la frecuencia de los puertos, desde recorrer un vector de frecuencias como

en el programa anterior hasta asignarle frecuencias aleatorias dentro del rango. Finalmente se escogió la que dio mejores resultados. La frecuencia del puerto se modifica más lentamente recorriendo de forma ascendente las frecuencias comprendidas entre 2 y 7 GHz una vez repartido entre el número de pasos.

Una vez definidos el tipo de simulación y configurado la forma de realizar los cálculos se comienza a simular.

Para resolver las distintas ecuaciones se calculan con un resolvidor lineal iterativo que utiliza Lagrange Cuadrático para calcular la geometría. El programa COMSOL indica que el número de grados de libertad resueltos es de 138601 (mas 140379 grados de libertad internos) alcanzado errores lineales de alrededor de $1.1e-15$.

La simulación tiene una duración que depende del equipo y la complejidad del modelo que se realice. En este caso necesita aprox. media hora en QWED y otras 22h en COMSOL para obtener resultados en el modelo simple de frec. fija y más de 50h para la simulación del modelo de frecuencia variable. Utilizando una memoria tanto virtual como física de 6GB.

Finalmente se generan los resultados y se pasa a su análisis en el siguiente apartado.

5 RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados que se han obtenido para la simulación mediante los softwares de simulación que utilizan el método de elementos finitos. Estos softwares al finalizar los cálculos generan un gran archivo en el cual se guardan estos resultados, pero además ofrece una serie de herramientas para presentar estos de forma gráfica. Los resultados que aportan COMSOL Y QWED se presentan en distintos formatos y con distintas herramientas disponibles siendo así complementarias. Además, se ofrecen distintas opciones que permiten obtener los datos de distintos puntos del cuerpo o realizar cálculos globales del volumen completo del mismo ofreciendo una visión en detalle o más amplia y general del cuerpo.

Se presentan en primer lugar los resultados computacionales para los experimentos realizados en el software QuickWave y posteriormente se completa con los resultados obtenidos en COMSOL.

Se hace una comparación entre ambos modelos computacionales, el de frecuencia fija y el de frecuencia variable, arrojando los datos que se extraen de los resultados obtenidos en las simulaciones llevadas a cabo en este trabajo. Finalizando su análisis con las deducciones de conclusiones.

En primer lugar, se observa la distribución de la onda magnética dentro de la cavidad a tiempo real para los distintos valores de frecuencia de los puertos. (fig. 5.1)

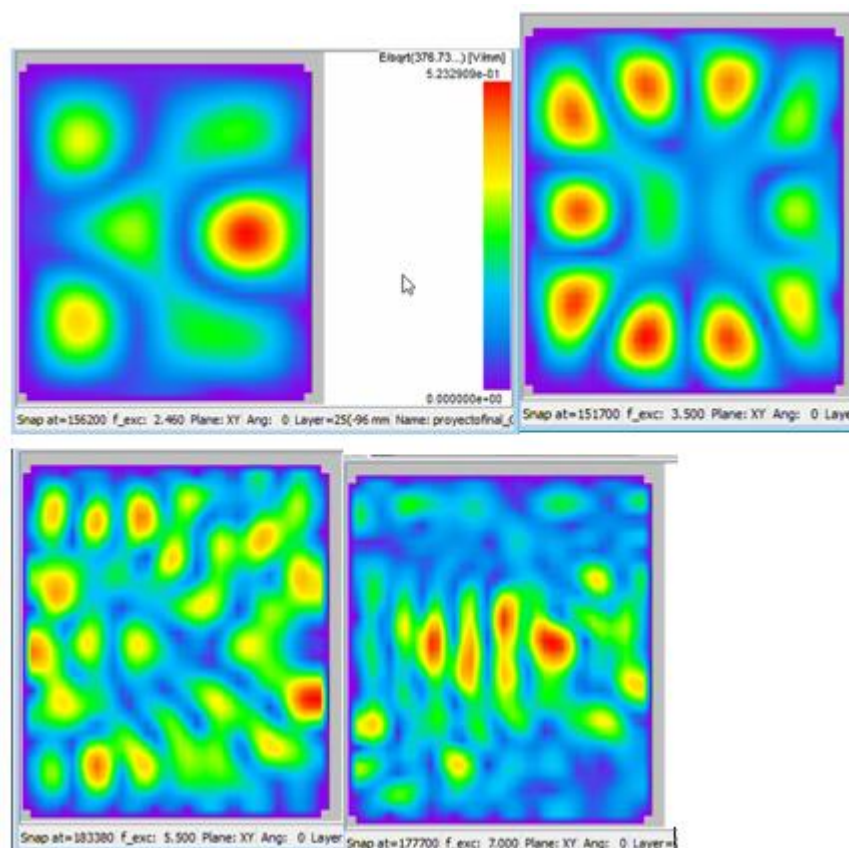


Figura 5.1 Mapa distribución espacial patrón de campo magnético E [V/mm] para distintas frecuencias desde 2.45GHz(a), 3.5GHz(b), 5 GHz(c) hasta 7 GHz(d)

Estos vienen representados por un mapa de colores. Los colores cálidos indican un valor máximo del campo mientras que colores más fríos en la escala como es el caso del color morado representan valores nulos de 0 V/mm donde no se produce calentamiento por ausencia de esta energía. A cada frecuencia se ve asociado la generación un patrón de onda estacionaria en el cual sus nodos calientes y fríos permanecen en la misma posición

espacial. De esta forma se muestra el campo magnético, de los dos tipos de modelo realizado: el de frecuencia fija a 2.45 GHz y el de frecuencia variable, en función del tiempo generando una animación que muestra este patrón a cada instante. Mientras que en el primer modelo de frecuencia fija solo se observa el primer patrón de distribución de nodos, en el segundo se aprecia como estos cambian rápidamente junto con el barrido de frecuencias en todo el rango seleccionado modificando la distribución de los nodos cada décima de segundo.

El programa QuickWave también muestra una tabla con información acerca de la Energía [nJ] y la potencia disipada [W] tanto magnética como eléctrica para las distintas frecuencias de configuración del puerto de microondas. En la siguiente tabla se indican estos valores para dos distintas frecuencias seleccionadas (fig. 5.3)

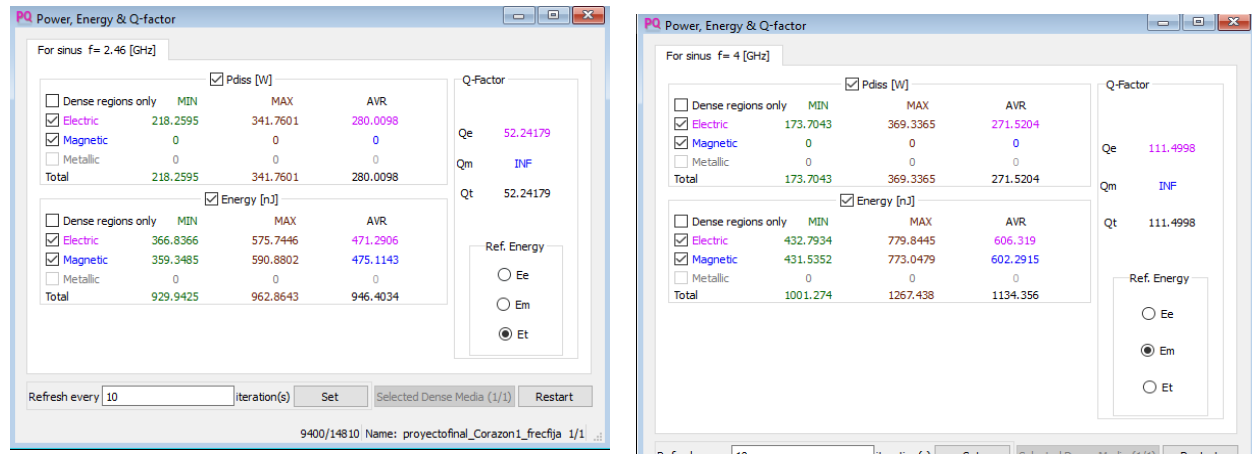


Figura 5.2. Tabla de energía y potencia disipada a frecuencia 2.46GHz(a) y 4 GHz(b).

Como es lógico se observa que cuanto mayor frecuencia más energía aporta al sistema lo que se podría traducir en un calentamiento más rápido. Además, a determinadas frecuencias las pérdidas eléctricas son menores suponiendo un mayor rendimiento en el funcionamiento disminuyendo el gasto de recursos.

Una vez analizado estas características del campo electromagnético útiles para entender el comportamiento del sistema, se pasa a exponer los resultados centrados en el principal objetivo del estudio, el recalentamiento de la muestra.

El software QuickWave muestra también en su estudio de transferencia de calor unas gráficas térmicas representando en 2D un mapa de temperaturas de distintas secciones del sistema. De igual forma el color morado se usa para las zonas más frías y el rojo para las de mayor temperatura.

Permite la opción de elegir la cota de altura z del planoxy que queremos visualizar, pudiendo distinguir distintas superficies que componen la geometría. En este caso se escoge un plano de corte que pasa aproximadamente por el centro de la figura.

Se repara en la figura 5.3 que la esfera perteneciente al modelo de frecuencia fija presenta distintas franjas de temperatura y mientras que una cercana al puerto se encuentra a altas temperaturas la otra zona central aún permanece en a temperaturas cercanas a la inicial. Mientras que en el segundo modelo basado en tecnología VFM no hay una zona de recalentamiento tan focalizada y la mayor parte del cuerpo se encuentra en un color azul claro consiguiendo una temperatura media un poco mayor como se ve más adelante.

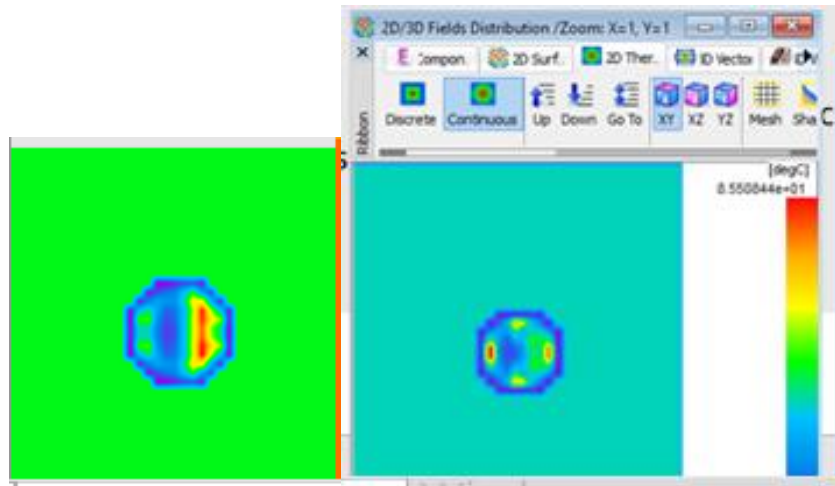


Figura 5.3. Mapa distribución temperatura en esfera tras calentamiento 30s a frec.fija (a) y frec.variable (b)

Un comportamiento similar también se contempla cuando se sustituye por la geometría más compleja similar al órgano criopreservado.

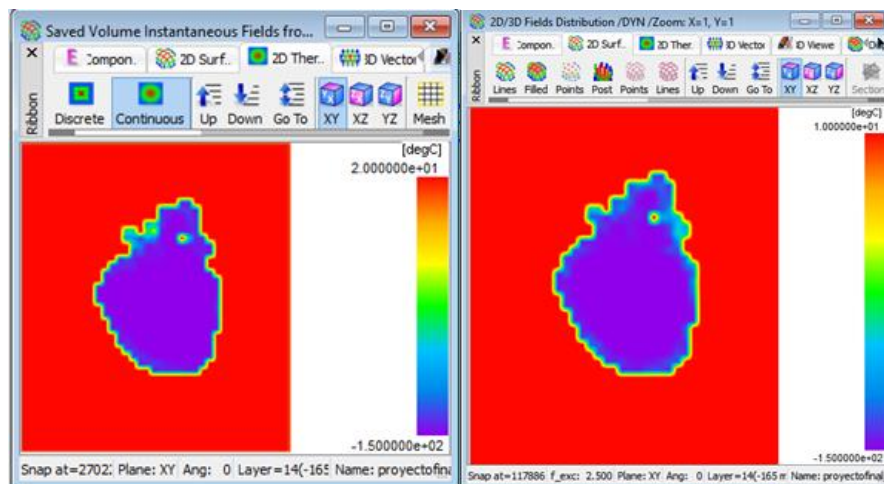


Figura 5.4. Mapa distribución temperatura en órgano QWED tras calentamiento 30s a frec.fija (a) y frec.variable (b)

En la figura 5.4 se repara en que en la esquina superior izquierda del corazón del modelo de frecuencia fija aparecen colores amarillos en ciertos puntos mientras que a la derecha en la figura del corazón expuesto a frecuencia variable no se encuentra este nodo caliente pero si tonos azules más claros repartidos en todo el borde externo del órgano.

Para sacar conclusiones más precisas que la leyenda de colores se analizan los datos numéricos obtenidos en el archivo generado con los resultados de los cuales se puede deducir y calcular numéricamente esta conducta que se viene observando.

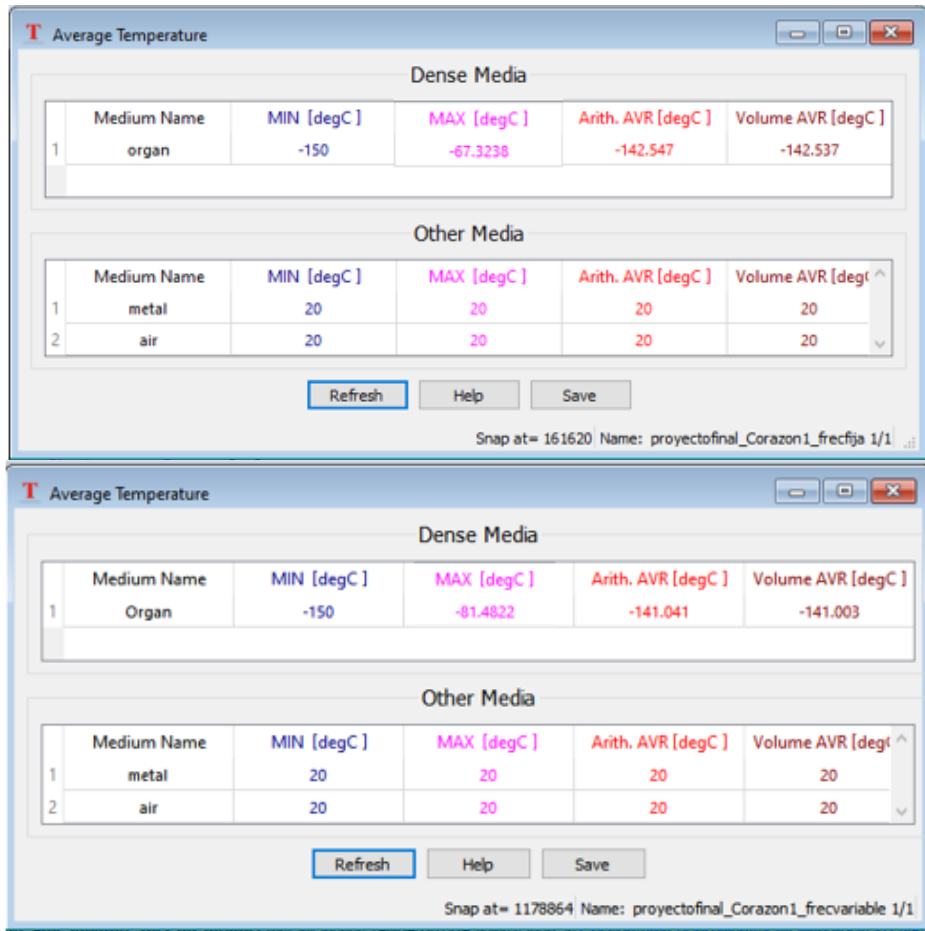


Figura 5.5 Tabla datos temperatura de calentamiento en QuickWave.

La figura 5.5 entabla los valores de temperatura medidos en la muestra de órgano. Entre estos datos se encuentra: la temperatura mínima, que en ambos casos es la inicial de -150°C de algún punto que no haya sufrido calentamiento; la temperatura máxima, que alcanza los -67.3°C en el modelo de frecuencia fija y -81.4°C en la variable y la temperatura media de todo el volumen, -142.5°C y -141°C respectivamente.

Estos puntos máximos y mínimos son puntos aislados detectados por el software pero de forma realista la diferencia de temperatura entre puntos cercanos que son los que debe existir esta disparidad de temperatura mínima no es tan elevado. Pero estos datos si suponen un acercamiento para entender en porcentaje la mejora de homogeneidad en el calentamiento.

También aparece la temperatura inicial de 20°C a las que se asignó el resto de los materiales de los cuales no estudiamos su calentamiento.

Analizando estos datos y comparando resultados de ambas simulaciones se detecta un calentamiento mayor y más homogéneo en el modelo de frecuencia variable. Un calentamiento de 1.5 grados más por cada medio minuto mostrando un comportamiento aproximado lineal.

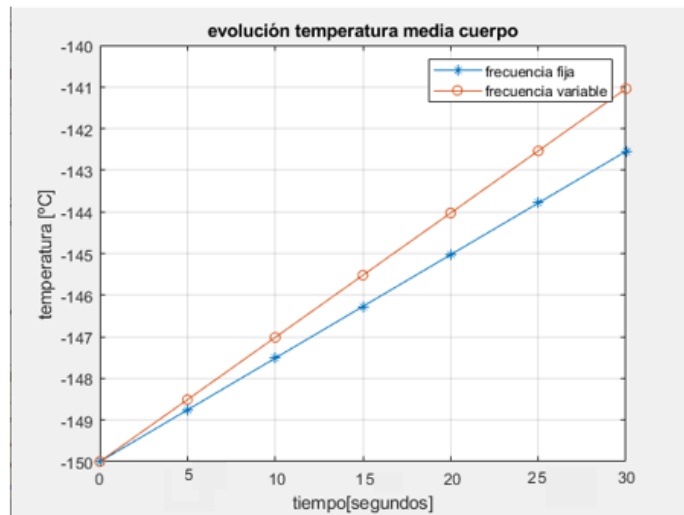


Figura 5.6 Grafica comparativa del calentamiento fija vs variable en experimento QuickWave.

En el análisis de homogeneidad mediante diferencia de temperatura entre puntos máx. y min., se recoge una menor diferencia de temperaturas en tecnología VFM (diferencia: 68.5 grados frente a 83 grados), lo que se traduce a reparto de calor 10.3% más homogéneo como se apreciaba en las figuras del mapa distribución.

Aunque estas desigualdades de velocidad de calentamiento no sean muy notorias y siga sin ser completamente homogéneo si marca una tendencia hacia este procedimiento.

Se pasa a exponer los resultados obtenidos en el software más potente de Comsol y con sus modelos más completos.

Para representar graficas 1d se escoge una línea de corte que recoge los datos de los puntos 3d por los que pasa. De forma inicial se escoge la línea que corta el órgano esférico pasando por su centro y lo recorre en el eje x como se observa en la siguiente figura.

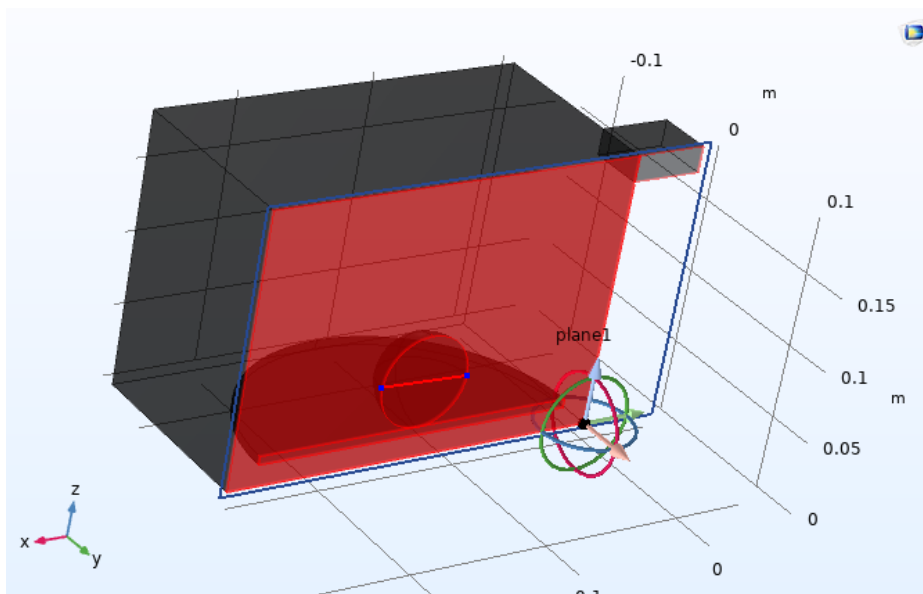


Figura 5.7 Línea de corte 3D para representación de datos.

Así se representa graficas lineales tanto de la temperatura como del campo eléctrico de la cavidad.

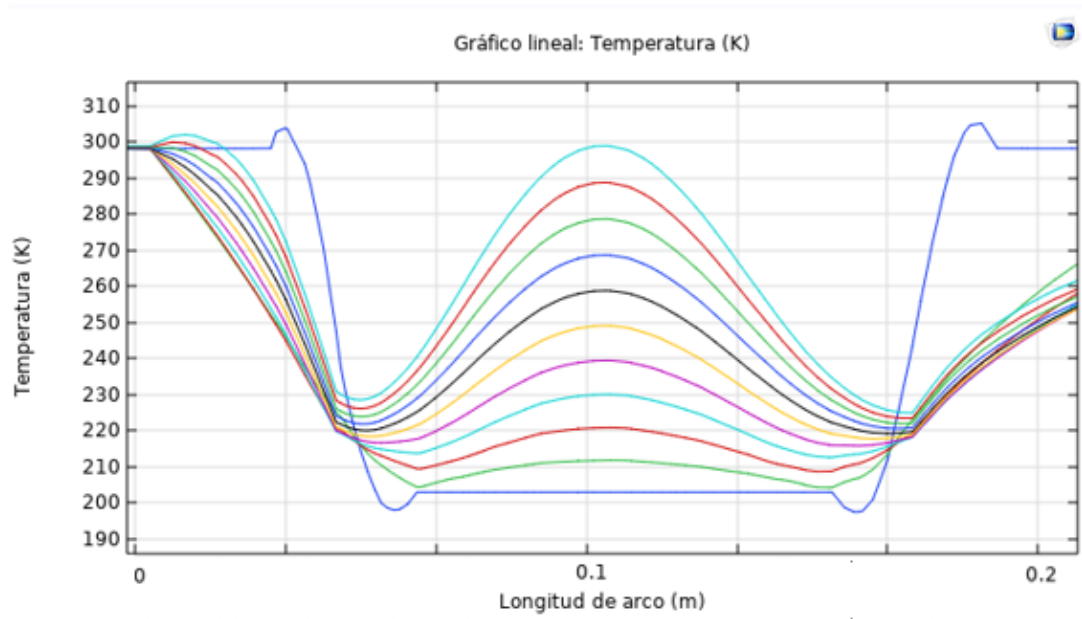


Figura 5.8 Perfil térmico para una línea de referencia en el eje coordenado x del modelo de frecuencia fija y 1KW de potencia.

La figura 5.8 representa la evolución de la temperatura en el órgano del modelo de frecuencia fija en distintos tiempos. La primera curva azul marino corresponde con el instante inicial en el cual el órgano se encuentra a -70°C o 203K y el ambiente que lo rodea a 25°C o 298K . Las sucesivas curvas representan el perfil térmico en los distintos pasos de la simulación hasta terminar el estudio de 60s. Se observa como el centro del órgano se calienta de forma más rápida mientras que los puntos periféricos se encuentran a menor temperatura.

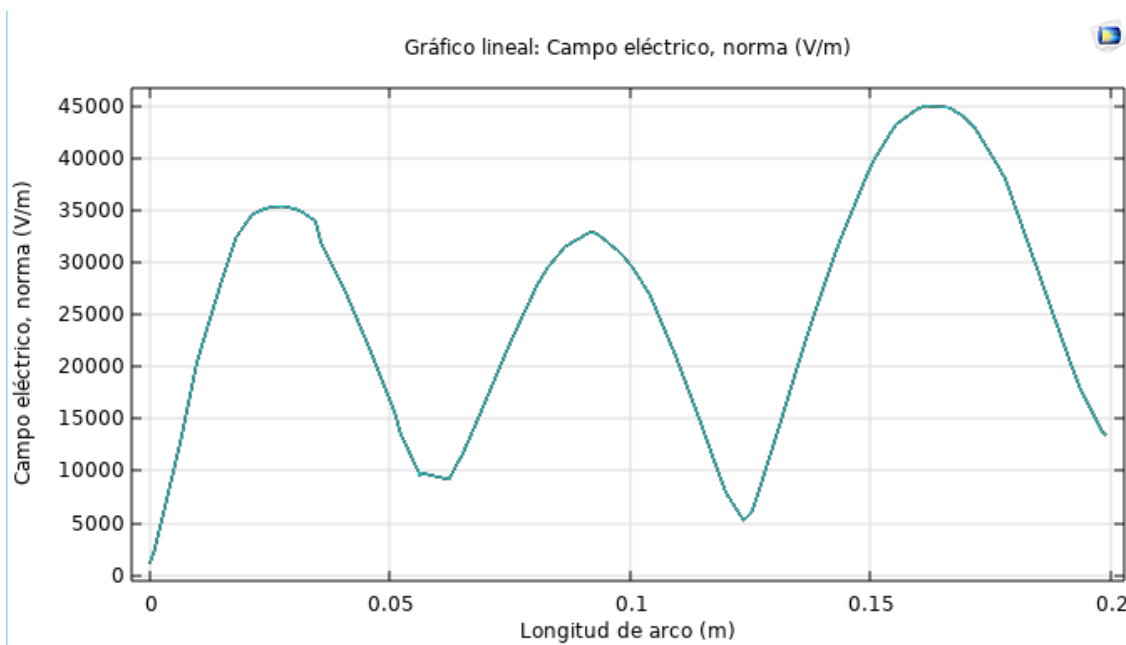


Figura 5.9 Valor absoluto del campo eléctrico formado por ondas de frecuencia 2.45 GHz a lo largo de la línea de referencia

Se observa como las zonas que alcanzan más temperatura se corresponden en parte con los nodos donde mayor valor toma el campo eléctrico.

Se obtienen otros perfiles de temperatura en ambos modelos de los experimentos realizados con distintas condiciones.

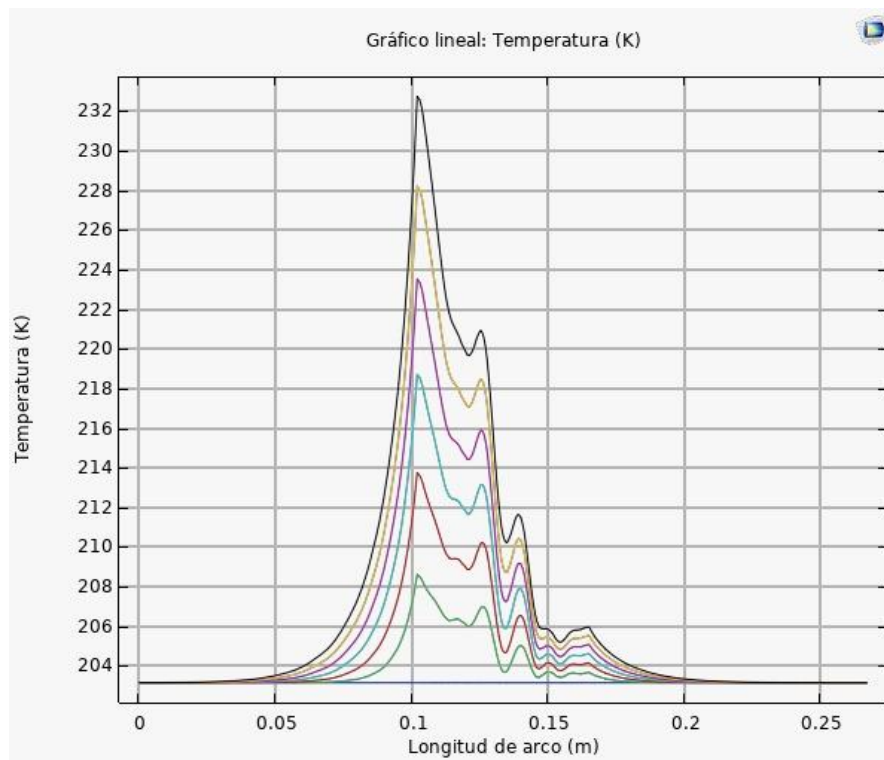


Figura 5.10 Perfil térmico en puntos de línea de referencia en modelo de frecuencia fija a 250W con distintos pasos de simulación hasta 60s.

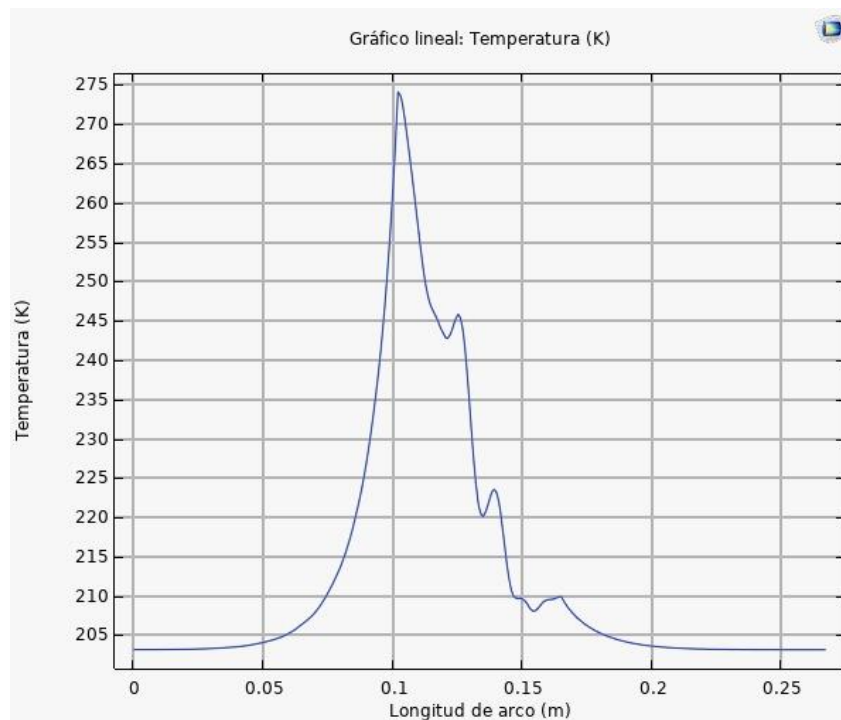


Figura 5.11 Perfil térmico en puntos de línea de referencia en modelo de frecuencia fija a 600W al finalizar simulación 60s

El patrón de calentamiento no cambia con la potencia, depende de la frecuencia, por esto es distinto en el

modelo en el que la frecuencia varia.

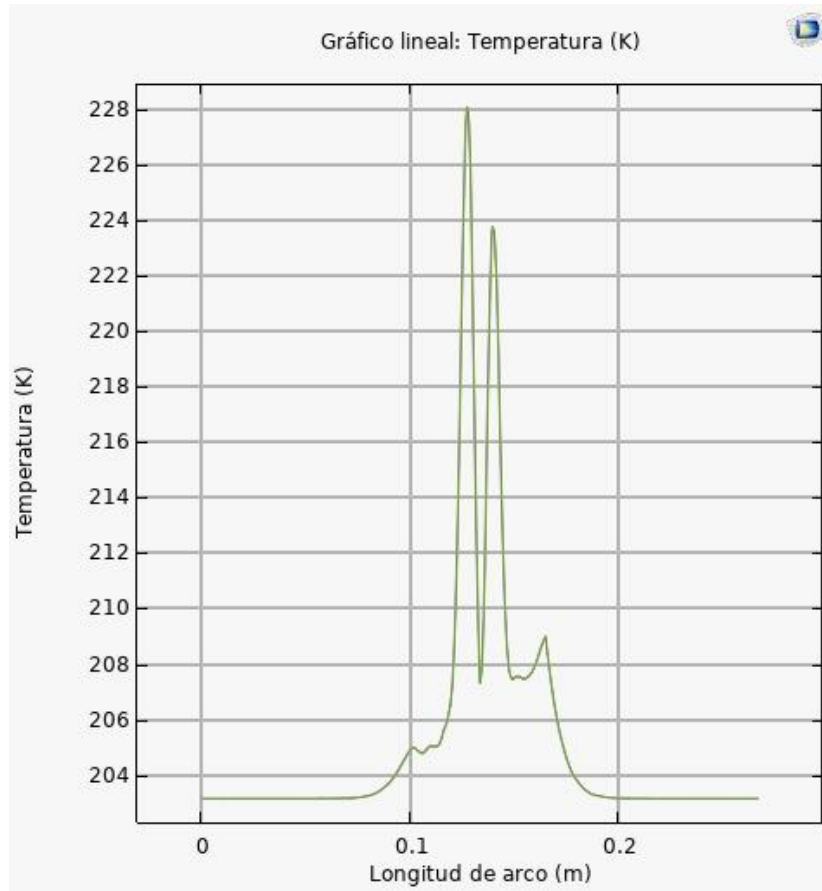


Figura 5.12 Perfil térmico en puntos de línea de referencia en modelo de frecuencia variable a 600W al finalizar simulación de 30s.

Estas graficas recogen la información solo de ciertos puntos del cuerpo, para analizar mejor estos datos se calcula la media de temperaturas entre todos los puntos que lo componen.

Tabla 5.1 Tabla de temperatura media alcanzada con frecuencia fija (a) y variable (b) en los modelos de Comsol

a)

Tiempo(s)	Temperatura(K)
0.00	204.65
6.00	208.64
12.00	212.60
18.00	216.55
24.00	220.49
30.00	224.42
26.00	228.34
42.00	232.25
48.00	236.16
54.00	240.06
60.00	243.95

b)

Tiempo(s)	Temperatura(K)
0.00	203.85
5.00	208.42
10.00	214.10
15.00	219.93
20.00	225.42
25.00	231.34
30.00	237.19
35.00	243.85
40.00	251.36

En la tabla se representa la temperatura media en el volumen del organo completo de ambos modelos durante los distintos pasos de simulacion. Comienzan con una temperatura de aproximadamente -70°C para estudiar el comportamiento en el rango critico del descongelameinto. En los datos del modelo de frecuencia fija se presentan los 10 pasos realizados cada 6s. Al final de la simulacion de la frecuencia fija, trascurrido 60s, se alcanza una temperatura de -30°C . El recalentamiento no alcanza la temperatura de -20°C a la que se considera que se ha escapado del rango critico de formacion de cristales pero observando su comportamiento lineal se estima llegar a alcanzarlo en sus 2-3 proximos pasos, es decir, alrededor de 1min y 15s.

La tabla correspondiente al modelo de frecuencia variable se agrupan los datos de los pasos principales, en este caso se elige cada 5 segundos. Se comprueba que el calentamiento ocurre de forma mas rapida y alcanza la temperatura final del modelo de frecuencia fija a los 35s. A los 40s la temperatura que alcanza el objeto ya es aproximadamente -20°C saliendo del rango que se pretendia estudiar y acabando la simulación. Esto supone una velocidad de calentamiento de $71.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ mientras que la velocidad del modelo de frecuencia fija llegaba a $36.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ obteniendo asi una mejora relativa de 196%, lo que supone casi el doble de tasa de velocidad. La tasa de velocidad lograda con la tecnologia VFM, aunque no llega a los $100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ recomendados se acerca a ella.

A pesar de implementarse con bajas especificaciones de cambios en la frecuencia debido a las limitaciones encontradas con el software, se presentan buenos resultados que se preveen aún más adecuados con el uso de equipos existentes de alta potencia.

Comsol tambien almacena la informacion de los puntos individualmente. Asi nos muestra el valor de temperatura del punto donde se ha concentrada la mayor potencia de calentamiento y el que apenas ha cambiado su temperatura inicial como indica la siguiente tabla.

Tabla 5.2 Datos de densidad, calor especifico y conductividad térmica órgano.

Datos (K) \ Tecnología microondas	Frecuencia fija	Frecuencia variable
Temperatura máx.	609.63	316.82
Temperatura min.	203.78	204.59

De igual forma que con el anterior software aparecen puntos aislados con temperaturas extremas, pero si son indicadores de una mejora en la homogeneidad con el modelo de frecuencia variable consiguiendo hasta una diferencia de temperaturas el doble menos respecto al modelo de frecuencia fija.

Se termina el análisis de los datos con las conclusiones extraídas.

6 CONCLUSIONES Y LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURAS

Al finalizar el estudio descrito en este documento se puede considerar que se obtuvieron unos resultados favorables cumpliendo la premisa conforme la que se abordó la investigación y sus objetivos.

Los resultados extraídos en el desarrollo de las simulaciones son esperanzadores. Demostrando una notable mejora en el proceso de recalentamiento de un órgano cardiaco humano criopreservado. Probando que el uso de esta tecnología VFM podría ser un método viable para conseguir el completo almacenamiento de estos tejidos sin sufrir daños biológicos y degradación.

Estos resultados prueban alcanzar unas velocidades de calentamiento mayores que los métodos de recalentamiento habituales. Además de solucionar el problema existente de nodos calientes y fríos que producían fenómenos indeseables y grandes gradientes térmicos, alcanzando una homogeneidad optima en el conjunto de la muestra.

Sin embargo, estas tasas no son suficientes para el criterio que garantiza de forma presumible la viabilidad y el éxito del proceso. De manera que, aunque este sistema sea un primer desarrollo y acercamiento, aun se debe de afrontar un diseño o método más robusto.

Por ello este campo de investigación sigue abierto. Entre ellos se indica algunas líneas de desarrollo que, aunque no entran en el alcance de este proyecto, si pudiese suponer los siguientes pasos para otros proyectos futuros:

En primer lugar, el siguiente procedimiento natural a seguir sería partir de las bases de este estudio con simulaciones por computador y realizarlo bajo las mismas condiciones para verificar la validez de los resultados con otros programas de simulación de multifísicas existentes.

No solo quedarse en este paso sino ir más allá y, basado en el modelo inicial abordado, realizar mejores simulaciones más adaptadas. Pues como se ha indicado, los experimentos realizados no están modelados con el diseño más optimo y realista posible a causa de las limitaciones encontradas. Se pueden abordar por un nuevo software y equipo más potente especializado en simulaciones con ondas electromagnéticas y que permita una gran configuración en la variación de los parámetros de la microonda. Sin depender de softwares externos y coste computacional de los modelos más ligeros. Además de usar otros softwares, para enriquecer la información presentada en este proyecto, también es oportuno realizar experimentos bajos distintas condiciones observando cómo afectan los distintos cambios. Se podría barajar un rediseño modelando otras cavidades con distintas características, hornos microondas combinados, distintas potencias...

Otra de las posibles mejoras es contrastar las propiedades dieléctricas del corazón y otros órganos humanos documentados durante la investigación con la bibliografía indicada. Estas propiedades han sido calculadas y aproximadas con hipótesis, al no ser medidas en las mismas condiciones a las que se exponen en estos experimentos. Es ciertamente interesante estudiar de forma experimental estas características a temperaturas de criogenización y expuestos al campo electromagnético tratado. Dicha evaluación posibilita una aproximación más realista de los modelos simulados.

En este estudio se aborda la mejora de la fase calentamiento desde el punto de la tecnología de recalentamiento pero, en esta dirección focalizando la investigación sobre el material, también resulta interesante inferir sobre los efectos de las propiedades dieléctricas del material biológico y descubrir nuevas formas de usar estas a nuestro favor como supuso la adición de crioprotectores u otras técnicas mencionadas.

Finalmente, una vez completado toda la caracterización de los experimentos de la forma más realista posible es necesario completar el estudio realizando estos experimentos de forma práctica. Las simulaciones deben ser contrastadas con datos experimentales para ser considerado resultados totalmente fiables pues hay varios matices que la computación discretizada no es capaz de contemplar y no siempre realiza el estudio de la manera que ocurriría en una simulación real.

Se hace patente afrontar la recreación de estos experimentos con muestras biológicas criopreservada reales en

un laboratorio con los dispositivos tecnológicos existentes, planteando el estudio bajo las condiciones que se predijeron con mejor resultado en los pasos anteriores.

REFERENCIAS

- [1] Wikipedia, «Criobiología» [En línea]. Available: <https://es.wikipedia.org/wiki/Criobiolog%C3%ADa>. [Último acceso: Mayo 2021].
- [2] J. Merino Pérez y M. J. Noriega Borge, «Fisiología General. Transporte a través de la membrana» [En línea]. Available: <https://ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/Tema%25204-Bloque%2520II-Transporte%2520a%2520traves%2520de%2520Membrana.pdf>. [Último acceso: Mayo 2021].
- [3] Wikipedia, «Transporte celular» [En línea]. Available: https://es.wikipedia.org/wiki/Transporte_celular#Transporte_activo. [Último acceso: Mayo 2021].
- [4] L. M. Ávila-Portillo, «Fundamentos de criopreservacion.» *Revista colombiana de Obstetricia y Ginecología*, vol. 57, nº 4, pp. 291-300, Diciembre 2006.
- [5] B. Tortosa Albiol, «Diseño y aplicación de técnicas de vitrificación en equilibrio para la criopreservación de corazón y encéfalo de *Mus musculus*» Universidad de Cataluña UVIC, 2019.
- [6] R. Risco, «Generalidades de la criopreservación» de *Modelado matemático e implementacion practicas de sistemas de vitrificacion ultrarapida mediante radiación laser*, Escuela Superior de Ingenieros de Sevilla, Departamento Física Aplicada III, p. Capitulo 1.
- [7] A. Sanchez Salinas, Estudio de la eficacia y seguridad del lavado de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica criopreservados mediante un sistema cerrado y automatizado para trasplantes autólogos, Universidad de Murcia: Dtp. Medicina, 2013.
- [8] J. C. Pérez, Recalentamiento de material criopreservado mediante ultrasonidos focalizados de alta intensidad, Universidad de Sevilla, 2019.
- [9] P. Yocelyn Ocares y F. Jean Franco Castro, «Preservación de microorganismos por congelación» de *Boletín INIA n° 428*, Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA / MINISTERIO DE AGRICULTURA, pp. 119-134, Cap. 7.
- [10] Wikipedia, «Microbiología» [En línea]. Available: <https://es.wikipedia.org/wiki/Microbiolog%C3%ADa>. [Último acceso: Julio 2021].
- [11] A. F. Muerza, «Criopreservacion de especies amenazadas» consumer, 2 septiembre 2010. [En línea]. Available: <https://www.consumer.es/medio-ambiente/criopreservacion-de-especies-amenazadas.html>. [Último acceso: Agosto 2021].
- [12] J. cabo, «Congreso mundial criobiología udima» 2018. [En línea]. Available: <https://www.udima.es/es/javier-cabo-congreso-mundial-criobiologia-udima-2018.html>. [Último acceso: Agosto 2021].
- [13] S. D. León Dueñas, «Científicos del grupo Ciclotrón del CNA llevan a cabo estudios de criopreservación de órganos» CNA (Universidad de Sevilla-Junta de Andalucía-CSIC), Sevilla, 2012.

- [14] E. G. San Román Castillo, P. R. Castillo Aranibar, M. G. Sotomayor Polar, L. V. Gonzales Fuentes y E. Zenteno Bolaños, *Aplicaciones y teoría de ingeniería de microondas*, Unión Europea. Programa ALFA III EuropeAid: 1a ed. Iniciativa Latinoamericana de Libros de Texto Abiertos (LATIn), p. 108, Marzo 2014.
- [15] A. Díaz Morcillo, J. Monzó Cabrera, E. Domínguez Tortajada y M. E. Requena Pérez, «Principios fundamentales y aplicaciones del calentamiento por microondas» ResearchGate, Universidad Politécnica de Cartagena Campus Muralla de Mar. Edificio Antiguo Hospital de Marina, Enero 2004.
- [16] H.S. Ku , F. Siu , E. Siores , J.A.R. Ball, «Variable frequency microwave (VFM) processing facilities and application in processing thermoplastic matrix composites» *elservier. Journal of Materials Processing Technology* , a University of Southern Queensland, Toowoomba, Australia, 2003.
- [17] C. Antonio, R. Deam & A. Taube. A review of the variable frequency microwave technology in material processing *journal of microwave power and electromagnetic energy*, 38:1, 75-87, DOI: 10.1080/08327823.2003.11688488,, 2003.
- [18] Z. Du, «Multi-physics modeling and process simulation for a frequency-shifted solid-state source microwave oven» *IEEE Access*, nº Digital Object Identifier 10.1109/ACCESS.2019.2960317, p. 8, Diciembre 2019.
- [19] G. Barbosa Roas, Evaluación computacional sobre la homogeneidad de calentamiento para un horno microondas basada en la norma UNE-EN 60705:2015, Universidad politécnica de Cartagena, octubre 2018.
- [20] J. Arballo, L. Campañone y R. Mascheroni, Análisis de perfiles de temperatura durante el proceso de calentamiento de frutas por microondas, Mendoza, Argentina: Facultad de Ingeniería, Universidad Nacional de la Plata., Noviembre 2013.
- [21] «Structure and function of the heart,» *News medical*, [En línea]. Available: [https://www.news-medical.net/health/Structure-and-Function-of-the-Heart-\(Spanish\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Structure-and-Function-of-the-Heart-(Spanish).aspx). [Último acceso: Mayo 2021].
- [22] M. E. Moncada, M. d. P. Saldarriaga, A. Fernandez Bravo y C. R. Pinedo, «Medición de impedancia eléctrica en tejido biológico,» *Revisión Tecno Lógicas*, Vols. %1 de %2ISSN 0123-7799, nº 25, pp. 51-76, Diciembre 2010.
- [23] A. Campbell Margaret, Measurements and analysis of the microwave dielectric properties of tissues., University of Glasgow: core.ac.uk, October 1990.
- [24] Sears, Z & Y. Física Universitaria, «Tabla densidades,» Serway. *Physics for scientific and engineers*, [En línea]. Available: <https://didactica.fisica.uson.mx/tablas/densidad.htm>. [Último acceso: 2021].
- [25] «Calor específico corazón humano», *Miranda fisioterapia*, [En línea]. Available: https://www-mirandafisioterapia-com.cdn.ampproject.org/v/s/www.mirandafisioterapia.com/amp/calor-especifico?amp_js_v=a6&_gsa=1&usqp=mq331AQKKAFQArABIACAw%3D%3D#aoh=16282856714984&referrer=https%3A%2F%2Fwww.google.com&_tf=De%20%251%24s&share=http.
- [26] L. d. Pierre y A. Mérése petit, «Calor específico. Recursos formula química», *Thales.cica*, [En línea]. Available: <https://thales.cica.es/rd/Recursos/rd99/ed99-0265-04/calorespec%EDfico.htm>. [Último acceso: 2021].

- [27] «Tablas de conductividad térmica», Etsam, [En línea]. Available: <http://unidadespegel.dpa-etsam.com>. [Último acceso: 2021].
- [28] «Tables conductivity», Hyperphysics, [En línea]. Available: <http://hyperphysics.phy-astr.gsu.edu/hbasees/Tables/thrcn.html>. [Último acceso: 2021].
- [29] S. Gabriel et al, The dielectric properties of biological tissues: III., Phys. Med. Biol. 41 2271, 1996.
- [30] S. Gómez Mejías, Estudio de las propiedades dieléctricas de los tejidos: una aproximación mediante modelado computacional y experimentación, Universidad de Sevilla: dpt. Ingeniería de sistemas y automática, 2017.
- [31] Meaney, P. M., Fox, C. J., Geimer, S. D., & Paulsen, K. D., Electrical characterization of glycerin: water mixtures: implications for use as a coupling medium in microwave tomography., IEEE transactions on microwave theory and techniques, vol. 65(5), pp. 1471-1478. doi:10.1109/TMTT.2016.2638423, 2017.
- [32] COMSOL Software License Agreement 5.5, [En línea]. Available: <https://www.comsol.com/model/microwave-oven-1424>.
- [33] Wikipedia, «Elementos finitos», [En línea]. Available: https://es.wikipedia.org/wiki/M%C3%A9todo_de_los_elementos_finitos. [Último acceso: Junio 2021].
- [34] «Purpose and role of mesh», Autofem, [En línea]. Available: https://autofem.com/help/es/purpose_and_role_of_meshes.html. [Último acceso: Julio 2021].
- [35] COMSOL, «Liverlink for MATLAB users guide», Abril 2021. [En línea]. Available: <https://doc.comsol.com/5.4/doc/com.comsol.help.llmatlab/LiveLinkForMATLABUsersGuide.pdf>.
- [36] A. Diaz-Morcillo, J. Monzó-Cabrera, E. Tortajada y M. Pérez, Principios fundamentales y aplicaciones del calentamiento por microondas, 2004.

GLOSARIO

VFM : Siglas en inglés de Variable Frequency Microwaves

MEMS: Sistemas Micro-Electro-Mecánicos

QWED: Siglas completas del software QuickWave

K : Grados kelvin

°C: Grados centígrados

fig. : Abreviatura de figura

frec.: Abreviatura de frecuencia.

ANEXO A: CODIGOS MATLAB

Código 3.1 Código Matlab para generar tabla de frecuencias para puerto de modelo de frecuencia variable en QuickWave

```
frecuencia=[2 2.5 3 3.5 4 4.5 5 5.5 6 6.5 7 6.5 6 5.5 5 4.5 4 3.5 3 2.5];
num_min=5; %simular 1 minuto
tiempo_paso=[0:0.1:60*num_min]; %variar frecuencia 0.1 es decir 10 veces por
seg,malla de tiempo
num_paso=10*60*num_min;

fileID= fopen('archivo.txt','w');

fprintf('QW BHM excitation ports parameters V1.0 \n');

j=1; % para recorrer bucle
for (i=1:num_paso)

fprintf(fileID, 'STEP %d\n',i);
fprintf(fileID, 'SourcePort sinusoidal %4.2f 25
0\n',frecuencia(j));

j=j+1;
if j>20
j=1;
end

end
fclose(fileID);
```

Código 3.2 Código Matlab para obtención de modelo de frecuencia variable en COMSOL

```
%% FRECUENCIA VARIABLE. AUTOMATIZAR PROCESO CON MATLAB

%---- START
%conectar liverlink matlab con comsol.
%Matlab y el modelo del microondas de comsol deben estar mismo directorio.
% primera iteracción en la que en condiciones iniciales no se usa función
% interpolación sino se introduce directamente temperatura inicial del
% objeto realizar a mano.
%posteriormente modificar modelo adaptándolo al método con sus variables
%y condiciones iniciales con la función
%intl(x,y,z) si es 3d u intl(r,z) si es 2d.

%----- ALGORITMO A SEGUIR:
%1.actualizar parámetro global frecuencia del modelo.
%2.introducir datos resultado anterior a función intl
%3. actualizar modelo y runear estudio.
%4. esperar a terminar análisis estudio
%5. Guardar archivo .txt resultados de distribución temperatura.
%6. repetir bucle.
```

```

%--- CODIGO

clear all
%%mphlaunch
folder = 'C:\Users\Ana\Desktop\pruebafrecuenciavariabile'; %cambiar directorio
actual

% inicializar funciones con comsol
import com.comsol.model.*
import com.comsol.util.*
model=mphload('rf_0.mph'); %nombre del modelo

%variables locales de matlab
frec_ini=2.5e9 ;% comenzamos declarando variable frecuencia a los Ghz
iniciales

%para frecuencia lineal
frec_min=2e9;
frec_max=7e9;
salto_frec=0.5e9; %salto que queremos cada segundo u tiempo de simulación que
decidamos.
%para almacenar frec en frec. aleatoria.
tabla_frecuencias=[];

%otras variables
i=1;
T0=133; %temp inicial material, -140oC pasados a kelvin +273
tiempomat = 0.5; %tiempo de simulacion cada frec en cada paso, 0.5 segundo
frecuencia=frec_ini; %inicializamos frecuencia primer paso
tabla_frecuencias=[tabla_frecuencias;frecuencia];
% figure(1)
% mphgeom(model) %pantalla del grafico de COMSOL

%crear variables en el modelo y asignarles los valores
model.param.set('T0', T0,'K'); %crea el parámetro global en COMSOL (meter los
datos en el programa)
model.param.set('tiempot',tiempomat,['s']);%crea el parámetro global en
COMSOL (meter los datos en el programa)
model.param.set('frec', frecuencia,'Hz');

% inicializamos valores cond iniciales temperaturas a la física de
% calentamiento ht
model.component('comp1').physics('ht').feature('init1').set('Tinit', 'T0');
%le asigna las condiciones iniciales de la patata
model.component('comp1').physics('ht').feature('init2').set('Tinit',
'298.15[K]'); %le asigna las condiciones iniciales del aire 25°C

%asignar valores de rango a al estudio1 de frecuencia y tiempo
model.study('std1').feature('freq').set('plist', 'frec'); %meter frecuencia
en COMSOL
model.study('std1').feature('time').set('tlist',
'range(0,tiempot/5,tiempot)');%meter tiempos en COMSOL

model.study('std1').run %runear en COMSOL (realizar estudio)

```

```

%exportar resultados
model.result.export.create('data1', 'Data');
model.result.export('data1').set('unit', {'K'});
model.result.export('data1').set('descr', {'Temperature'});
model.result.export('data1').set('expr', {'T'});
model.result.export('data1').setIndex('looplevelinput', 'last', 0);
model.result.export('data1').set('filename',
sprintf('T_frecuenciavariabile_%d.txt',i));
model.result.export('data1').run;

%guardamos nuevo modelo
mphsave(model,aprintf('modelo_frecvar_paso_%d.mph',i));

%imprime por pantalla matlab para tener realimentación por donde va
%ejecutando código
sprintf('datos de interacion numero %d almacenados',i )

%3forma frecuencia.
pasos=120;

frec1 = linspace(frec_min,frec_max,pasos);
%fin 3° forma frec

%BUCLE
for i=2:2*60 % realizamos bucle 120 veces, si lo hacemos cada medio segundo
por ejemplo simularíamos 60s, 1min

    %pasol. variar frecuencia.

    %modo 1 asignar frecuencia: con saltos fijos
    %saturamos frecuencia si pasa rango y cambiamos signo de pasos para
    %disminuir frecuencia dentro del rango o aumentar.
%
%   if frecuencia+salto_frec>frec_max || frecuencia+salto_frec<frec_min
%       salto_frec=-salto_frec;
%   end
%
%       frecuencia= frecuencia + salto_frec; %actualizar valor frecuencia
%fin modo 1
    %forma 2 asignar frecuencia: frecuencia random
    frecuencia= 2+5*rand(1,1);
    tabla_frecuencias=[tabla_frecuencias;frecuencia];
%fin forma 2
    %forma 3 asignar frecuencia : recorre rango frec 1 vez ascendente
    frec=frec1(i);
%fin forma 3

    model.param.set('frec', frecuencia,'[Hz]'); % comando que asigna el valor
nuevo de frecuencia al nombre del parametro que hayamos llamado a frecuencia
del modelo y este en los puertos

    % letra_num_interacion=sprintf(%d,i-1);

    %paso2.

%   model.func.create('int1'), 'Interpolation'); %crea una función
interpolación
%   model.func('int1').set('source','file'); %comando para introducir
archivo con temperaturas anterior.

```

```

%
model.func('int1').set('filename',sprintf('T_frecuenciavariabile_%d.txt',i-
1));
%   model.func('int1').importData;

    model.func.remove(sprintf('int_%d',i-1));
    model.func.create(sprintf('int_%d',i), 'Interpolation'); %crea una
funcion interpolación por cada iteracion
    model.func(sprintf('int_%d',i)).set('source','file');

model.func(sprintf('int_%d',i)).set('filename',sprintf('T_frecuenciavariabile_
%d.txt',i-1))
    model.func(sprintf('int_%d',i)).importData;

%Le mete de temperatura inicial el campo de temperaturas y le dice que lea
%los ejes x, y, z en metros
% con función int1 ya estaría introducido en condiciones iniciales
% con la función variante con cada interacción si habrá que volver a
% configurar lo de las condiciones iniciales de temp. Además ha añadido
% para el aire? no entiendo diferencia si mete mismos datos

model.component('comp1').physics('ht').feature('init1').set('Tinit',
sprintf('int_%d(x/1[m],y/1[m],z/1[m])',i));
model.component('comp1').physics('ht').feature('init2').set('Tinit',
sprintf('int_%d(x/1[m],y/1[m],z/1[m])',i));

    %paso 3
    model.study('std1').run %comando que run estudio , std1 corresponde al
nombre que tiene entre paréntesis el estudio a calcular en el árbol de
nuestro modelo
    %paso4.
    model.sol('sol1').run;
    %paso5

% model.result.export.create('data1', 'Data');
% model.result.export('data1').set('unit', {'K'});
% model.result.export('data1').set('descr', {'Temperature'});
% model.result.export('data1').set('expr', {'T'});
% model.result.export('data1').setIndex('looplevelinput', 'last', 0);
% model.result.export('data1').set('filename',
sprintf('T_frecuenciavariabile_%d.txt',i));
% model.result.export('data1').run;

%Exporta los datos
model.result.export.create(sprintf('data%d',i2), 'Data');
model.result.export(sprintf('data%d',i)).set('unit', {'K'});
model.result.export(sprintf('data%d',i)).set('descr', {'Temperature'});
model.result.export(sprintf('data%d',i)).set('expr', {'T'});
model.result.export(sprintf('data%d',i)).setIndex('looplevelinput', 'last',
0);
model.result.export(sprintf('data%d',i)).set('filename',
sprintf('T_frecuenciavariabile_%d.txt',i));
model.result.export(sprintf('data%d',i)).run;

```



```
%guardamos nuevo modelo
mphpsave(model, sprintf('modelo_frecvar_paso_%d.mph', i));

%imprime por pantalla matlab para tener realimentación por donde va
%ejecutando Código
sprintf('datos de interacion numero %d almacenados', i )

end

sprintf('TERMINADO!')
```