Trabajo Original

R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013

Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

MODELO MATEMÁTICO PARA ESTIMAR EL VOLUMEN DISPENSADO POR

UN ASA METÁLICA

Rafael Golding¹, Luis Pérez-Ybarra², Clara Hernández²

1. Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela.

2. Departamento de Ciencias Básicas, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Ciencias de

la Salud Sede Aragua, Universidad de Carabobo.

CORRESPONDENCIA: Luis Pérez-Ybarra. Final de Avenida Leonardo Ruíz Pineda.

Universidad de Carabobo. Sede Aragua. Escuela de Bioanálisis. Departamento de Ciencias

Básicas. Municipio Francisco Linares Alcántara. Sector La Morita. Zona Postal 2117B.

Maracay. Estado Aragua. Venezuela. Tlf. 58414 3951801.

Email: Lmpy2005@gmail.com.

RESUMEN

En este trabajo se desarrolló un modelo matemático para estimar el volumen de la gota que

queda atrapada en asas comerciales calibradas para 10 µL. Se construyó un banco óptico

para capturar imágenes de las gotas atrapadas en las asas para cuantificarlas y estimar la

función que define la forma de los meniscos. El modelo matemático construido estuvo

basado en la técnica de cálculo de un sólido de revolución, y la función de los meniscos se

obtuvo con regresión no lineal. Se tomaron muestras del volumen capturado por el asa con

los ángulos de retiro de 0°, 45° y 90°. Se realizó el análisis de varianza sobre las medidas

del volumen capturado y las comparaciones de medias se llevaron a cabo utilizando la

prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Se encontró que solo cuando el asa es

Acta Bioclinica 2013:5(3)135

ACTA BIOCLINICA

Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013

Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

cargada de muestra a un ángulo de 0°, se obtiene un volumen cercano a 10 μL indicado por la calibración del fabricante, para cualquier otro ángulo, la cantidad atrapada es muy inferior a 10 μL . El modelo matemático predice un volumen promedio de 10,937 μL con

error de predicción de 0,28%.

PALABRAS CLAVE: Calibración de asas metálicas, regresión no lineal, volumen de

sólidos de revolución.

MATHEMATICAL MODEL TO ESTIMATE THE VOLUME DELIVERED BY A
METALLIC LOOP

ABSTRACT

In this work a mathematical model to estimate the volume of the drop caught in commercial loops calibrated for 10 μ L was developed. An optic table was constructed to capture images of the drops caught in the loops to quantify and estimate the functional form of the meniscuses. The mathematical model achieved was based in the technique of calculation of a solid of revolution, the functional form of the meniscuses was obtained with nonlinear regression. Samples of the volume caught by the loop were took form the angles of 0°, 45° and 90°. On these measures the analysis of variance was applied and carried out the multiple comparisons of the means with the Tukey's test. Was found that only when the loop is charged with an angle of 0°, it obtains a volume near to 10 μ L as indicated for the manufacturer's calibration, for any other angle, the caught quantity is very inferior to 10 μ L. The mathematical model predicts an average volume of 10.937 μ L with a prediction

KEY WORDS: Calibration of metallic loops, nonlinear regression, volume of solids of revolution.

Recibido: 10-10-2012 Aprobado: 10-01-2013

error of 0.28 %.

ACTA BIOCLINICA

Trabajo Original R. Golding y Col Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

INTRODUCCIÓN

Las asas calibradas de Ni-Cr para inoculación son un instrumento muy simple y práctico para sembrar cultivos bacterianos con el fin de estudiar su crecimiento y caracterización (1, 2). El número de unidades formadoras de colonias depende de la cantidad de inóculo, por lo tanto es necesario conocer con certeza cuál es el volumen de muestra que fue transferido al medio de cultivo (3).

En este estudio se analiza la discrepancia encontrada entre el volumen dispensado por inoculación bacteriológica asa de un comercial y el volumen de calibración certificado por el fabricante del asa. Se trata de un asa metálica construida con un alambre de Ni-Cr, de 0,5 mm de diámetro, entorchado de forma tal que forme un aro perfectamente circular con un diámetro interno de 4 mm. Según el fabricante este instrumento transfiere 10 μL(3) de líquido cuando se carga con la muestra.

Para mostrar la magnitud de la discrepancia y analizarla, se determinaron los volúmenes contenidos por el asa a varios ángulos de carga, mediante la pesada directa del líquido

Aprobado: 10-01-2013

entregado(1); luego, se creó un banco óptico para la obtención de imágenes y su posterior medición para el cálculo del volumen contenido en el asa; posteriormente, se desarrolló un modelo matemático desde un punto de vista netamente geométrico para calcular el volumen contenido por el asa, y finalmente, se compararon los resultados experimentales con los estimados a través del modelo matemático.

METODOLOGÍA

Contenido de orina capturado por el asa metálica

Para medir el volumen real de líquido capturado por el asa metálica se preparó una solución acuosa con las propiedades físicas densidad, viscosidad y tensión superficial muy semejantes a la orina humana, dicha solución estuvo constituida por 0,595 %p de ácido acético y 2,225 %p de NaCl; la solución así preparada presentó densidad de 1,013 g/mL, viscosidad de 1,008 cP y tensión superficial de 71 dinas/cm.

A 100 mL de esta solución se les agregaron 2 gotas de solución de violeta de genciana al

Acta Bioclinica 2013:5(3)137 Recibido: 10-10-2012



Trabajo Original R. Golding y Col Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

1% para colorearla en azul. Este procedimiento creó un medio de contraste para observar y caracterizar la forma geométrica de la orina artificial contenida por el asa metálica.

Se descargó el volumen de orina artificial atrapado por el asa sobre un pedazo de algodón altamente absorbente, y fue colocado en una balanza analítica de precisión, con el fin de pesar la cantidad de líquido transferido, considerando tres ángulos de retiro (β_{carga}) del asa del líquido: 0°, 45° y 90°. Estas observaciones se realizaron un total de 55 veces para el ángulo de 0° y 25 veces para los ángulos de 45° y 90°. En la figura 1 se ilustra cómo fueron medidos tales ángulos de retiro del asa de la solución de orina artificial.

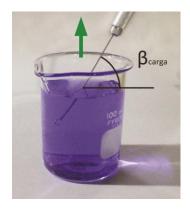


Figura 1. Ángulo de retiro del asa de la solución de orina artificial

Sobre los resultados anteriores se aplicó el Análisis de Varianza de una vía y la prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey para identificar si existían o no diferencias estadísticamente significativas en los volúmenes contenidos por las asas metálicas en función del ángulo de retiro. Los resultados fueron analizados utilizando el software estadístico Minitab 14.3 para Windows (4).

Características geométricas del líquido contenido por el asa metálica

Para estudiar la forma de los meniscos del líquido contenido por el asa metálica, se procedió a obtener imágenes digitales de las gotas atrapadas en el asa, con el fin de medir sus dimensiones y poder calcular sus volúmenes utilizando un modelo matemático. Para hacerlo, se construyó un pequeño banco óptico para alinear el asa cargada de líquido frente a una cámara web modificada para poder tomar imágenes a distancias de aproximadamente 15 mm del primer lente del conjunto. La cámara tenía sensor CMOS con



Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

una resolución de 1,3 Megapixeles y un grupo de lentes con una distancia focal de 13,25 mm. Al colocársele un diafragma con un orificio de 1,24 mm, la apertura óptica pasó a ser f/10,7, lo cual incrementó considerablemente la profundidad de campo, manteniendo toda la imagen prácticamente enfocada. La figura 2 muestra como quedó construido el banco óptico.

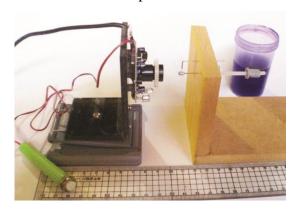


Figura 2. Banco óptico

Las imágenes de las gotas fueron adquiridas con el *freeware* MICAM 1.4 (5). Para cada carga del asa, el software tomó 64 imágenes de 1280×960 pixeles en 5 segundos y se promediaron para disminuir el ruido óptico. Se procesó con Photoshop CS3 10.0 para corregir la deformación de barril, producida por las lentes con distancias focales muy pequeñas y luego se midieron las imágenes

para tomar las coordenadas (x,y) de los puntos que limitan los meniscos. Se obtuvieron de esa manera tantas tablas de datos, como imágenes promedio de cada carga individual fueron analizadas.

Modelo matemático para estimar el volumen contenido por el asa metálica

Utilizando herramientas de cálculo diferencial e integral, cálculo numérico y regresión no lineal se construyó un modelo matemático para estimar el volumen contenido por el asa metálica en función de las características geométricas de la misma y la orina artificial. Para realizar los cálculos necesarios se utilizaron los *softwares* Derive 6.0(6) y CurveExpert 1.40 (7). Para su cabal compresión, los pasos para la construcción del modelo matemático, el uso de los *softwares* y el análisis geométrico, se detallan en la sección de resultados.

Finalmente se aplicó el modelo matemático a un ejemplo con datos experimentales reales para compararlo y validarlo, en función del porcentaje de error de estimación encontrado, dado por

Acta Bioclinica 2013:5(3)139
Recibido: 10-10-2012
Aprobado: 10-01-2013

ACTA BIOCLINICA

Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

$$\% \, Error_{estimación} = \frac{\left| Vol_{estimado} - Vol_{experimental} \right|}{Vol_{experimental}} \times 100$$

RESULTADOS

Contenido de orina capturado por el asa metálica

Se observó que la cantidad de líquido capturado depende fuertemente del ángulo que forma el asa metálica con la superficie del líquido de ensayo cuando se efectuaba el proceso de carga. Los promedios y desviaciones estándares de tales ensayos se presentan en la tabla 1.

Tabla 1: Volúmenes promedio capturados por el asa metálica

Ángulo (°)	Volumen (μL)	Desviación Estándar (μL)	Repeticiones	Grupo de Tukey*
0	10,906	1,116	55	A
45	4,963	1,264	25	В
90	1,967	0,736	25	C

El análisis de varianza mostró que existen diferencias altamente significativas entre los volúmenes capturados por el asa metálica en función del ángulo de retiro del líquido (p<0,0001); asimismo, la prueba de comparaciones de medias de Tukey mostradas

en la tabla 1, indicó que el volumen capturado es diferente para los tres ángulos de retiro, siendo el volumen más parecido al indicado por la calibración del fabricante el correspondiente al ángulo de retiro de 0°. Estos resultados indican que el tamaño de la gota de líquido atrapada por el asa en la operación de carga, depende del ángulo en el que se retira el asa de la muestra a ser analizada.

También en la tabla 1 se puede apreciar que la discrepancia entre el volumen calibrado por el fabricante y el volumen pesado experimentalmente es de 9,06%, cuando el ángulo de retiro del asa durante la carga es de 0°, las discrepancias halladas en los otros ángulos son demasiado grandes como para recomendar su uso.

Modelo matemático para estimar el volumen contenido por el asa metálica

Los resultados experimentales anteriores, en los cuales se muestra la discrepancia que existe entre el volumen indicado por el fabricante y los obtenidos según el ángulo de retiro del asa, llevaron a los autores a construir un modelo matemático que estimara



Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

el volumen contenido por el asa metálica en función de las características geométricas tanto del asa, como de la gota de líquido capturada por la misma.

La figura 3 muestra un corte transversal de la mitad del asa metálica, en el cual se señalan algunas medidas de interés para la construcción del modelo matemático.

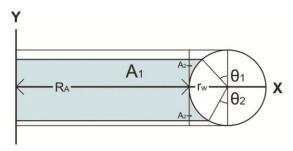


Figura 3. Corte transversal de la mitad de un asa metálica.

En la figura 3, R_A es el radio interno del asa, r_w el radio del alambre del asa, θ_1 y θ_2 los ángulos de contacto del líquido con respecto al eje vertical del alambre del asa medidos en radianes, y A_1 y A_2 las áreas de las secciones transversales del líquido suponiendo que éste no forma menisco al ser capturado por el asa. De la figura 3 se deduce que el volumen de líquido contenido por el asa corresponde al

volumen de revolución con respecto al eje Y de las áreas A_1 y A_2 , el cual está dado por

$$V_{\text{interno}} = V_{A_1} + V_{A_2}$$
 (Ec. 1)

El volumen generado por la revolución del área A_1 es la suma de los volúmenes de dos cilindros circulares de radio R_A y alturas $r_w \cos\theta_1$ y $r_w \cos\theta_2$, así

$$V_{A_1} = \pi r_w R_A^2 (\cos \theta_1 + \cos \theta_2)$$
 (Ec. 2)

El volumen generado por el área A2 viene dado por la revolución de la región limitada por las funciones $x = R_A$ y la hoja negativa de la circunferencia $\left[x - \left(R_{A} + r_{w} \right) \right]^{2} + y^{2} = r_{w}^{2},$ esta circunferencia la ecuación de la sección transversal del alambre; además, dicha región está limitada por las alturas $y = r_w \cos \theta_1$ e $y = -r_w \cos \theta_2$. Despejando la variable x, considerando la hoja negativa circunferencia, y aplicando la fórmula para hallar el volumen de un sólido de revolución por el método de la arandela (8), queda:



Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

$$\begin{split} V_{A_{2}} &= \pi \int\limits_{-r_{w}\cos\theta_{1}}^{r_{w}\cos\theta_{1}} \left\{ \left[\left(R_{A} + r_{w}\right) - \sqrt{r_{w}^{2} - y^{2}} \right]^{2} - \left[R_{A}\right]^{2} \right\} dy \\ V_{A_{2}} &= \pi \int\limits_{-r_{w}\cos\theta_{1}}^{r_{w}\cos\theta_{1}} \left[2r_{w}R_{A} + 2r_{w}^{2} - 2\left(R_{A} + r_{w}\right)\sqrt{r_{w}^{2} - y^{2}} - y^{2} \right] dy \end{split}$$

(Ec. 3)

Utilizando el *software* Derive 6.0⁽⁶⁾ para realizar la integración y simplificando, se obtiene

$$V_{A_{2}} = \pi r_{w}^{2} \left(R_{A} + r_{w}\right) \left[\theta_{1} + \theta_{2} - \pi + \cos\theta_{1} \left(2 - \sin\theta_{1}\right) + \cos\theta_{2} \left(2 - \sin\theta_{2}\right)\right] - \frac{\pi r_{w}^{3}}{3} \left[\cos^{3}\theta_{1} + \cos^{3}\theta_{2}\right]$$

(Ec. 4)

Estas ecuaciones indican que el volumen máximo posible de este disco interno de líquido es de 6,63 μL , para un asa con $R_{_{\rm A}}=2$ mm y $r_{_{\! w}}=0,25$ mm y se presenta cuando los ángulos θ_1 y θ_2 son iguales a cero, este volumen está muy por debajo del valor certificado, por lo cual se intuye que, a menos que la gota tenga meniscos sobresalientes del plano definido por el aro del asa, el volumen siempre será mucho menor que los 10 μL indicados por el fabricante.

Las imágenes obtenidas en el banco óptico muestran que solo cuando el asa es cargada a 0° la gota posee meniscos fuera del plano definido por el aro metálico. Para 90° y a 45°, no se observa ningún menisco que sobresalga

y el líquido se encuentra confinado dentro de los límites internos del aro, de allí el bajo volumen de líquido retenido por el asa en estos casos. En la Figura 4 se visualiza esta descripción.

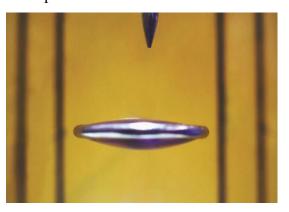


Figura 4. Asa cargada con líquido a 0°

Un esquema de tales meniscos se presenta en la figura 5, en la cual se muestran además los puntos cuyas coordenadas fueron obtenidas luego del procesamiento de las imágenes obtenidas en el banco óptico.

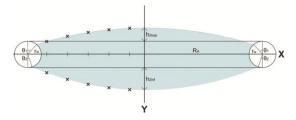


Figura 5. Sección transversal de la gota atrapada en el asa

Con las medidas de las imágenes se probaron varios modelos no lineales para definir la

Acta Bioclinica 2013:5(3)142

Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

función que describe la silueta de los Se intentaron meniscos. circunferencias, parábolas, hipérbolas, semielipses, polinomios de cuarto grado y catenarias. Los mejores coeficientes de correlación se obtuvieron para las circunferencias. Todas las $ecuaciones \ se \ encontraron \ por \ regresi\'on \ no \ v_{\tiny menisco \, sup} = \frac{1}{6}\pi \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right] \left\{3 \left[R_{\tiny A} + r_{\tiny w} \left(1-\sin\theta_{\tiny l}\right)\right]^2 + \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right]^2\right\} = \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right] \left\{3 \left[R_{\tiny A} + r_{\tiny w} \left(1-\sin\theta_{\tiny l}\right)\right]^2 + \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right]^2\right\} = \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right] \left\{3 \left[R_{\tiny A} + r_{\tiny w} \left(1-\sin\theta_{\tiny l}\right)\right]^2 + \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right]^2\right\} = \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right] \left\{3 \left[R_{\tiny A} + r_{\tiny w} \left(1-\sin\theta_{\tiny l}\right)\right]^2 + \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right]^2\right\} = \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right] \left\{3 \left[R_{\tiny A} + r_{\tiny w} \left(1-\sin\theta_{\tiny l}\right)\right]^2 + \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right]^2\right\} = \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right] \left\{3 \left[R_{\tiny A} + r_{\tiny w} \left(1-\sin\theta_{\tiny l}\right)\right]^2 + \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right]^2\right\} = \left[r_{\tiny w} \left(1-\cos\theta_{\tiny l}\right) + h_{\tiny 2 sup}\right] \left[r_{\tiny w} \left$ lineal con los datos extraídos de las tablas de $coordenadas \ \left(x,y\right) \ de \ las \ imágenes \ promedio_{V_{menisco \, inf}} = \frac{1}{6}\pi \left[r_{w}\left(1-\cos\theta_{2}\right) + h_{2inf}\right] \left\{3\left[R_{A} + r_{w}\left(1-\sin\theta_{2}\right)\right]^{2} + \left[r_{w}\left(1-\cos\theta_{2}\right) + h_{2inf}\right]^{2}\right\}$ de las gotas, con el shareware CurveExpert 1.40 (7). Los valores indican que las siluetas de los meniscos, tanto superior, como inferior, corresponden ambos a segmentos circulares, provenientes de arcos de circunferencia centradas sobre el eje Y, cuyos volúmenes de revolución definen casquetes esféricos.

Las ecuaciones de los meniscos obtenidas por regresión y generadas para cada imagen promedio de gota, son de la forma

$$y_{sup} = \sqrt{r_{sup}^2 - x_{sup}^2} + K_{sup}$$
 (Ec. 5)

$$y_{inf} = \sqrt{r_{inf}^2 - x_{inf}^2} + K_{inf}$$
 (Ec. 6)

Esto indica que son círculos centrados en el eje Y, donde r_{sup} y r_{inf} son los radios de los meniscos y K_{sup} y K_{inf} los desplazamientos del centro del círculo respecto al origen de coordenadas en el eje Υ.

Las ecuaciones de volumen de los casquetes esféricos son conocidas y al aplicarlas a este caso se obtiene

$$_{\text{nisco sup}} = \frac{1}{6}\pi \left[r_{w} \left(1 - \cos \theta_{1} \right) + h_{2\text{sup}} \right] \left\{ 3 \left[R_{A} + r_{w} \left(1 - \sin \theta_{1} \right) \right]^{2} + \left[r_{w} \left(1 - \cos \theta_{1} \right) + h_{2\text{sup}} \right]^{2} \right\}$$

$${}_{o\,inf} = \frac{1}{6}\pi \Big[r_{w} \left(1 - \cos\theta_{2} \right) + h_{2inf} \Big] \Big\{ 3 \Big[R_{A} + r_{w} \left(1 - \sin\theta_{2} \right) \Big]^{2} + \Big[r_{w} \left(1 - \cos\theta_{2} \right) + h_{2inf} \Big]^{2} \Big\}$$

$$(Ec. 8)$$

Los términos $r_w (1-\cos\theta_1)$ y $r_w (1-\cos\theta_2)$, son los segmentos de la altura de los casquetes esféricos superior e inferior que no son visibles en la imagen fotográfica, y las alturas h_{2sup} y h_{2inf} los anchos máximos visibles, superior e inferior, sobre los meniscos de las gotas.

El volumen total de la gota atrapada en el asa metálica será entonces la suma de los aportes del volumen contenido dentro de circunferencia interior del asa, Ec. 1, el volumen del menisco superior, Ec. 6 y el volumen del menisco inferior, Ec. 7.

$$V_{gota} = V_{interno} + V_{menisco sup} + V_{menisco inf}$$
(Ec. 9)



Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815 ISSN: 2244-8136

Para encontrar tales sumandos es necesario conocer los valores de h_{2sup} , h_{2inf} , θ_1 y θ_2 , para obtenerlos, se procede de la siguiente manera:

De las ecuaciones Ec. 4 y Ec. 5, cuando x = 0,

$$y_{sup} = y_{supmax} = r_{sup} + K_{sup}$$
 (Ec. 10)

$$y_{inf} = y_{infmin} = r_{inf} + K_{inf}$$
 (Ec. 11)

que son, respectivamente, el punto máximo del círculo superior y el punto mínimo del círculo inferior. A su vez,

$$h_{2sup} = y_{supmax} - r_{w}$$
 (Ec. 12)

$$h_{2min} = y_{infmin} - r_w$$
 (Ec. 13)

Por otra parte, al interceptar las circunferencias que definen los meniscos, Ec. 4 ó Ec. 5, con la circunferencia que define la sección transversal del alambre metálico del asa, Ec. 13, se pueden calcular los puntos de corte, x_{corte} , y los ángulos θ_1 y θ_2 , de la gota con el alambre, como se aprecia en la figura 5.

La ecuación de la sección transversal del alambre del asa metálica es

$$y_{w} = \sqrt{r_{w}^{2} - (x_{w} - J_{w})^{2}}$$
 (Ec. 14)

El cual corresponde a una circunferencia centrada sobre el eje X, con un desplazamiento $J_{\rm w}=R_{\rm A}+r_{\rm w}$, del centro respecto al origen de coordenadas.

Las ecuaciones se igualan, haciendo $y_{sup} = y_w \,, \ o \ , \ y_{inf} = y_w \,, \ se \ resuelven \ para$ $x_{corte,sup} \ y \ x_{corte,inf} \ , respectivamente,$

Entonces para el menisco superior

$$\sqrt{r_{\text{sup}}^2 - x_{\text{corte,sup}}^2} + K_{\text{sup}} = \sqrt{r_{\text{w}}^2 - \left(x_{\text{corte,sup}} - J_{\text{w}}\right)^2}$$

Despejando x_{corte,sup}

$$\mathbf{x}_{\text{corte,sup}} = \frac{\mathbf{J}_{\text{w}}^{2} - \mathbf{r}_{\text{w}}^{2} + \mathbf{x}_{\text{corte,sup}}^{2} + \left(\sqrt{\mathbf{r}_{\text{sup}}^{2} - \mathbf{x}_{\text{corte,sup}}^{2}} + \mathbf{K}_{\text{sup}}\right)^{2}}{2\mathbf{J}_{\text{w}}}$$
(Ec. 15)

Además

$$\theta_1 = \arcsin\left(\frac{J_w - X_{corte, sup}}{r_w}\right)$$
 (Ec. 16)

Para resolver la Ec. 14, se aplica el método de superaceleración de Steffensen que utiliza el algoritmo Δ^2 de Aitken, para acelerar la convergencia hacia el valor de $x_{corte}(9)$. Las iteraciones se detienen cuando el error relativo de las aproximaciones es menor al 0,0001%. Este resultado también puede

ACTA BIOCLINICA

Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

obtenerse con el software Derive 6.0(6). Mediante este mismo procedimiento, se calculan $\mathbf{x}_{\text{corte,inf}}$ y $\mathbf{\theta}_2$, para el menisco inferior, la ecuación 15 provee los ángulos para calcular el resto de los valores necesarios para estimar el volumen.

Ejemplo desarrollado a partir de datos experimentales

Como un ejemplo de la aplicación del procedimiento y validación del mismo, se presenta un cálculo típico con los datos adquiridos de una imagen promedio individual. Los resultados de las mediciones se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Coordenadas (x,y) de los puntos de la imagen de la gota en el asa.

X	-1,767	-1,619	-1,472	-1,324	-1,176	-0,881	-0,585	0,006
(mm)								
Y _{sup} (mm)	0,272	0,304	0,331	0,356	0,379	0,415	0,442	0,461
Y _{inf} (mm)	-0,403	-0,448	-0,496	-0,536	-0,574	-0,630	-0,671	-0,703

Las ecuaciones de los arcos circulares que representan los meniscos quedan por las $x_{corte,sup} = -\frac{2}{3}$ ecuaciones 4 y 5, para el menisco superior

$$y_{sup} = \sqrt{70,529 - x^2} - 7,937$$
, con un

coeficiente de correlación de 0,999945; y para el menisco inferior $y_{inf} = -\sqrt{28,290-x^2}+4,615$, con un coeficiente de correlación de 0,999893. Los coeficientes de correlación de las regresiones no lineales para los dos meniscos son excelentes y se ajustan casi perfectamente a arcos de circunferencia.

Para x=0, en cada caso, se determina la altura máxima de los casquetes, $y_{\text{supmax}}=0,461$ mm, con la ecuación 9, $y_{\text{infmin}}=0,703$ mm, con la ecuación 10. y, como $r_{\text{w}}=0,25$ mm, los anchos visibles de los casquetes son $h_{2\text{sup}}=0,211$ mm y $h_{2\text{inf}}=0,453$ mm por las ecuaciones 11 y 12, además $J_{\text{w}}=2,25$ mm.

Sustituyendo valores en la ecuación de cálculo del punto de contacto del menisco superior con el alambre del asa, $x_{corte,sup}$, en la ecuación 14, se tiene

$$= \frac{2,25^2 - 0,25^2 + x_{\text{corte,sup}}^2 + \left(\sqrt{70,529 - x_{\text{corte,sup}}^2} - 7,937\right)^2}{(2)(2,25)}$$

*Acta Bioclinica 2013:5(3)*145



Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815 ISSN: 2244-8136

Al resolver la ecuación por aproximaciones sucesivas para $x_{corte,sup}$, se obtiene $x_{corte,sup} = 2,0946$ mm, de donde

$$\theta_1 = \arcsin\left(\frac{2,25-2,0946}{0,25}\right) = 38,43^\circ = 0,671 \text{ rad}$$

El procedimiento se repite para el menisco inferior y se obtiene $x_{corte,inf}=2,1750$ mm y $\theta_2=17,46^\circ=0,305$ rad .

Sustituyendo los valores de θ_1 y θ_2 en las ecuaciones 2 y 3, se obtiene el contenido interno del asa, $V_{interno}$ con la ecuación 1; con los valores de h_{2sup} y θ_1 , en la ecuación 6, se obtiene el volumen del menisco superior, y con los valores de h_{2inf} y θ_2 , en la ecuación 7, se obtiene el volumen del menisco inferior. Entonces, según la ecuación 8, el volumen de la gota será la suma de los tres aportes:

$$V_{interno} = 5,682~\mu L$$
 Correspondiente a
 $\theta_1 = 0,671~rad~y~\theta_2 = 0,305~rad$
 $V_{menisco~sup} = 1,764~\mu L$ Correspondiente a
 $\theta_1 = 0,671~rad~y~h_{2sup} = 0,211~mm$

 $V_{menisco\,inf}=2,968~\mu L$ Correspondiente a $\theta_2=0,305~rad~y~h_{2inf}=0,453~mm$ así, el volumen contenido estimado para el asa metálica es

$$V_{gota} = 10,414 \mu L$$

Este procedimiento se repitió para cada una de las imágenes promedio adquiridas y se encontró un valor medio de volumen de gota de 10,937 μL, con una desviación estándar de 1,244 μL, lo cual coincide muy bien con los datos obtenidos experimentalmente; presentando un error de estimación de apenas

$$\% \text{Error}_{\text{estimación}} = \frac{|10,937 - 10,906|}{10,906} \times 100 = 0,28\%$$

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos tanto experimentalmente como por el modelo matemático construido coinciden con el trabajo de Herrera y col.(10), quienes encontraron que el volumen más parecido al calibrado para el asa metálica se obtiene cuando el ángulo de retiro es de 0°, por lo cual se recomienda realizar el retiro del asa en un ángulo lo más cercano posible a este ángulo para garantizar que el volumen inoculado sean

Acta Bioclinica 2013:5(3)146



Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

el más cercano posible al certificado por el fabricante.

Si bien existe una discrepancia del orden de 9%, aproximadamente, entre el volumen calibrado por el fabricante y el obtenido en este trabajo para un ángulo de retiro de 0°, no se descarta que exista una mejor coincidencia entre estos valores para otros líquidos con características físicas diferentes a la orina artificial utilizada en el presente estudio, posiblemente el volumen contenido por el asa sea también función de las características físicas del líquido a capturar.

Se concluye entonces que solo cuando las asas de inoculación de cultivos bacteriológicos de 10 µL, calibradas, son cargadas a un ángulo de 0° con respecto a la superficie de la muestra líquida, el volumen entregado está próximo al valor certificado por el fabricante.

Por otra parte el modelo matemático construido mostró un buen comportamiento y un excelente error de estimación, lo cual indica que este tipo de fenómenos es fácilmente modelable, y que puede utilizarse esta metodología con fines predictivos, de

diseño y de validación del volumen contenido en un asa metálica.

Este procedimiento tiene la ventaja de poder ser utilizado para determinar volúmenes de gotas atrapadas en asas de cualquier tamaño, aún en asas de 1µL, las cuales no pueden ser calibradas por un método gravimétrico con una balanza analítica (1).

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Fundacite Aragua y a la Empresa Techomat C.A. por el financiamiento de este trabajo.

REFERENCIAS

- 1. Jacobs JA. De Brauwer EI. Cornelissen EI, Drent M. Accuracy and precision of quantitative calibrated loops in transfer bronchoalveolar lavage fluid. J Clin Microbiol. 2000 Jun;38(6):2117-21.
- Haugen J, Strøm O, Østervold B.
 Bacterial counts in urine. The
 reliability of the loop technique. Acta
 Path. Microbiol. Scandinav.
 1968:74:391-6.

ACTA BIOCLINICA

Trabajo Original R. Golding y Col

Volumen 3, N°5, Enero-junio 2013 Depósito Legal: PPI201102ME3815

ISSN: 2244-8136

- Frimodt-Møller N, Espersen, F. Evaluation of calibrated 1 and 10 microL loops and dipslide as compared to pipettes for detection of low count bacteriuria in vitro. APMIS. 2000 Jul-Ago;108(7-8):525-30.
- 4. Clifford-Blair R, Taylor RA. Minitab
 14 Supplement for: Biostatistics for
 the Health Sciences. December 30,
 2007. p. 59-62.

 http://sciences.ksu.edu.sa/files/mt14_manual.PDF
 Acceso: Noviembre 2011.
- Van Westen M. MICAM v. 1.4.
 October 2009.
 http://micam.software.informer.com/
 Acceso: Noviembre 2011.
- Ortega-Pulido P. Prácticas de Matemáticas I y Matemáticas II con Derive-5. Universidad Autónoma de Madrid. 2002. p. 45-6. http://es.scribd.com/doc/47483304/Ma nual-Derive-6 Acceso: Junio 2012.
- 7. Hyams DG. CurveExpert v. 1.40. June 2009.

- http://curveexpert.software.informer.c om/ Acceso: Noviembre 2011.
- Leithold L. El cálculo. 7^a edición.
 Oxford University Press Harla
 México. México. 1998. p 386-7.
- Díaz-Moreno JM, Benítez-Trujillo F.
 Introducción a los métodos numéricos para la resolución de ecuaciones.
 Universidad de Cádiz. Servicio de Publicaciones. Cádiz. 1998. p. 56.
- 10. Herrera D, López P, Duque-Rivera JL, Perez-Ybarra L. Golding R. Hernández C. Asas metálicas calibradas para microbiólogos: una alternativa de fabricación nacional. Rev Soc Ven Microbiol. 2010;30(1):37:42.

Acta Bioclinica 2013:5(3)148