



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería
Eléctrica - Instrumentación

Sistema de Medición Multifrecuencia de Impedancia Eléctrica en Tejidos Biológicos

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN INGENIERÍA

Presenta:

Roberto Giovanni Ramírez Chavarría

Tutora Principal:

Dra. Celia Angelina Sánchez Pérez, ICAT, UNAM

Comité Tutoral:

Dra. María Herlinda Montiel Sánchez, ICAT, UNAM

Dr. Augusto García Valenzuela, ICAT, UNAM

Dr. Daniel Matatagui Cruz, CSIC España

Ciudad Universitaria, Cd. Mx.

Enero 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente: Dr. Augusto García Valenzuela

Secretario: Dra. María Herlinda Montiel Sánchez

1er. Vocal: Dra. Celia Angelina Sánchez Pérez

2o. Vocal: Dra. Laura Adriana Oropeza Ramos

3er. Vocal: Dr. Pablo Roberto Pérez Alcázar

Esta tesis se realizó en el Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología (ICAT),
Ciudad Universitaria, UNAM.

Directora de tesis

Dra. Celia Angelina Sánchez Pérez

Dedicada para ...

Dios.

Mis abuelas Isabel y Bernarda (*In memoriam*), desde donde estén se que siempre me acompañan.

Mis padres María Eugenia y Roberto, por todo su amor, comprensión y por enseñarme los valores fundamentales de la vida.

Mi hermano Hugo, por ser mi mejor amigo y mi cómplice.

El amor de mi vida, Pilar, por estar a mi lado en cada momento, por tu amor y apoyo incondicional, por tus enseñanzas que cada día hacen de mí un mejor ser humano, y por el gran futuro que nos espera juntos!

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi *alma mater*, por la formación brindada durante tantos años y por ser mi segundo hogar.

A la Facultad de Ingeniería, por brindarme la oportunidad de comenzar mi vida académica y formar así a nuevas generaciones de jóvenes ingenieros. Especialmente a los Departamentos de Ingeniería de Control y de Ingeniería en Computación.

Al Instituto de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico (antes CCADET) por la infraestructura brindada en el Grupo de Dispositivos Biomédicos. Especialmente a la Dra. Celia Sánchez, por su guía, infinita paciencia y apoyo en la elaboración de este trabajo, así como para mi formación académica.

Al Comité Tutoral y a los Sinodales por su invaluable aportación al contenido de la tesis, así como el tiempo y dedicación invertido en la revisión del trabajo.

A mis amigos Matías Müller y Robert Mattila del KTH en Suecia, por su amistad, por compartir conmigo sus conocimientos y por los gratos momentos vividos.

A todas aquellas personas que directa e indirectamente contribuyeron a que esto fuera posible.

Esta tesis fue realizada gracias al apoyo otorgado por:

- El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) a través de la beca para estudios de Doctorado (CVU 555791).
- El Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) a través del proyecto IT100518.
- El Programa de Maestría y Doctorado en Ingeniería, y la Coordinación de Estudios de Posgrado de la UNAM.

Resumen

La medición multifrecuencia de impedancia eléctrica en medios biológicos o bioimpedancia es una técnica que ha cobrado importancia en los últimos años, debido a su relativa simplicidad de instrumentación, a su capacidad de relacionarse con parámetros físicos fundamentales como la permitividad y la conductividad eléctrica, y a la relación de éstas con diferentes estados fisiológicos. Sin embargo, la exhaustiva revisión al estado del arte, en cuanto a la técnica se refiere, permitió observar que la interpretación de datos experimentales se realiza de forma muy general en la mayoría de las aplicaciones; ésto es, dejando a un lado aspectos propios de la naturaleza de los tejidos biológicos que pudieran determinar características particulares y característicos de éstos. Con base en ello, este trabajo pretende en primera instancia aclarar algunos conceptos sobre las propiedades eléctricas y modelos relacionados a medios biológicos. Por otra parte, se implementaron estrategias de instrumentación, medición, identificación y estimación de parámetros no convencionales en aplicaciones biológicas, con la finalidad de obtener una mayor especificidad en el análisis de los datos experimentales, mediante un sistema que opera en el rango de 1 kHz a 1 MHz, en donde es posible obtener información relevante sobre la composición y estructura de medios biológicos.

Se presentan los prototipos desarrollados para la medición multifrecuencia de impedancia, sus etapas y componentes principales, así como los algoritmos de procesamiento involucrados en la medición. Teniendo como principal aportación el diseño de un sistema de medición empleando la tecnología *System on Chip* (SoC), la cual permite realizar tareas dedicadas a *hardware* y *software* dentro de un mismo circuito. Aprovechando ello, se implementaron técnicas espectrales de tal forma que, el dispositivo realiza mediciones de impedancia con el uso de un estimador no paramétrico, con alta resolución y buena relación señal a ruido.

En cuanto al modelo de análisis e interpretación de datos de bioimpedancia, una de las contribuciones más importantes del trabajo está dada en términos del modelo de distribución de tiempos de relajación (DRT: *Distribution of Relaxation Times*), el cual resulta ser un problema matemáticamente indeterminado. Para solucionarlo, se propone un método de optimización basado en la discretización de la función de distribución usando núcleos de base radial. Así, es posible atacar el problema usando mínimos cuadrados con regularización a fin de poner al modelo bajo un enfoque de estimación paramétrica. ¡Con los datos obtenidos por el sistema de medición de espectroscopía de impedancia eléctrica/electroquímica (EIS: *Electrical/Electrochemical Impedance Spectroscopy*) y el modelo DRT, se propone una nueva metodología denominada EIS-DRT para el análisis de datos experimentales en dos principales aplicaciones. En primera instancia, se propone la diferenciación de tejidos biológicos en condiciones *ex-vivo*. El procedimiento emplea dos escenarios, i) la función de distribución obtenida por DRT

como una representación característica y no paramétrica de los tejidos evaluados, y ii) un modelo paramétrico de estimación de impedancia en términos de un circuito eléctrico equivalente. Los resultados obtenidos son comparados con el modelo de Cole-Cole, con la finalidad de evaluar la propuesta. Finalmente, se presentan mediciones EIS en microcoloides compuestos de partículas dieléctricas en un medio conductor, a diferentes concentraciones. Las mediciones son validadas usando un circuito equivalente previamente reportado en la literatura. Posteriormente, se analizan con la metodología EIS-DRT, la cual permite identificar dos procesos en los coloides, i) la polarización de los electrodos, y ii) las concentraciones de las muestras. Con ello, se propone un nuevo método de sensado para este tipo de sistemas en términos de la relación que existe entre el tiempo de relajación y la concentración. Los resultados muestran una alta sensibilidad y buena resolución, con potencial aplicación en cultivos celulares.

Así, el conjunto de lo descrito en esta tesis constituye un marco de referencia para la caracterización de impedancia eléctrica multifrecuencia, visto desde una perspectiva innovadora a los métodos convencionales, y con miras hacia diversas aplicaciones biológicas.

Abstract

Electrical impedance multifrequency measurement in biological media, namely bioimpedance, is a widely used technique that has become relevant in the last years. This is due to its relative simple instrumentation, its ability to relate to fundamental physical parameters, such as electrical permittivity and conductivity, and their relationship to physiological states. Nevertheless, the state-of-the-art revision about bioimpedance, suggested that the data analysis is commonly done in a general fashion, leaving aside characteristic and particular aspects that should be taken into account, when evaluating the electrical response of biological samples. Based on this situation, the present work, attempts to clarify some concepts about the electrical properties and models, related to biological media. In this context, the present thesis shows the implementation of non-conventional strategies for instrumentation, measurement, identification and parameter estimation in bio-applications. The aim is to obtain greater specificity in the analysis of experimental data with a system operating in the range from 1 kHz to 1 MHz, where it is possible to obtain useful information about the structure and composition of biological media.

The developed systems are presented in terms of its main stages and components, as well as the processing algorithms involved in the measurement. In this sense, the main contribution comprises the design of a measurement system based on the System on Chip (SoC) technology, which allows to perform hardware and software tasks within a single chip. Taking on advantage of the SoC, spectral techniques were implemented on it, such that the device features of accurate estimation, high resolution and good signal to noise ratio, are presented.

In terms of the model for data analysis and interpretation, one of the main contributions of this work is given in terms of the distribution of relaxation times (DRT) model, which is a mathematical ill-posed problem. For its solution, we propose an optimization method based upon the distribution function discretization by means of radial basis kernels. Thus, the problem can be tackled in a regularized least-squares fashion within a parametric estimation approach.

With the collected data by the electrical/electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurement system and the DRT model, a novel EIS-DRT methodology, for experimental data analysis is proposed and demonstrated by means of two main applications. In first term, the differentiation of *ex-vivo* biological tissues. The procedure exhibits two main scenarios, i) the distribution function retrieved by DRT as a characteristic and non-parametric representation of the tissues, and ii) a parametric model for impedance estimating in terms of an equivalent electrical circuit. The results are compared with the Cole-Cole model in order to evaluate the proposal. Finally, the work shows EIS measurements in microcolloidal samples, composed by dielectric particles at different concentrations, suspended in a highly conductive medium. The collected data are validated using an equivalent circuit previously

reported in the literature. Afterwards, data are analyzed using the proposed EIS-DRT methodology, allowing to identify two processes in the colloidal samples, i) the electrode polarization, and ii) the concentration of the samples. With this, a new sensing method is proposed for this kind of systems, in terms of the relationship between the relaxation times and the concentration. Results show high sensitivity and good resolution, with potential application in cell culture characterization.

Therefore, the joint topics shown in this thesis constitutes a reference framework for electrical impedance characterization, as an innovative approach to the conventional ones, towards to several biological applications.

Índice general

Índice de figuras	XIII
Índice de tablas	XVII
1 Introducción	1
1.1. Antecedentes y motivación	1
1.2. Planteamiento del problema	4
1.3. Contribuciones	4
1.3.1. Lista de Publicaciones	6
1.4. Estructura de la Tesis	7
2 Preliminares	9
2.1. Notación	9
2.2. Propiedades eléctricas de medios biológicos	10
2.2.1. Dispersiones	11
2.2.2. Función dieléctrica en frecuencia	13
2.2.3. Polarización y relajación dieléctrica	14
2.3. Impedancia eléctrica	17
2.3.1. Espectroscopia de impedancia	19
2.4. Modelos de interpretación de impedancia eléctrica y circuitos equivalentes	20
2.4.1. Impedancia de un medio dieléctrico y conductor	21
2.4.2. Impedancia de un medio heterogéneo	23
2.4.3. Modelo de Cole-Cole	25
2.4.4. Modelo de distribución de tiempos de relajación(DRT)	28
3 Sistema de medición multifrecuencia	31
3.1. Analizador con detector de ganancia y fase	31
3.1.1. Generador de señal	32
3.1.2. Fuente de corriente	33

3.1.3.	Electrodos	33
3.1.4.	Amplificador de instrumentación	34
3.1.5.	Amplificador de transimpedancia	34
3.1.6.	Detector de ganancia y fase	34
3.1.7.	Calibración del sistema	35
3.2.	Analizador con procesamiento espectral	36
3.2.1.	Circuito potencióstato	37
3.2.2.	Etapa de acondicionamiento electrónico	38
3.2.3.	Etapa de lógica programable	38
3.2.4.	Etapa del sistema de procesamiento	40
3.2.5.	Estimación de la impedancia	40
3.2.6.	Calibración y caracterización del sistema	43
4	Análisis de impedancia con DRT	47
4.1.	Solución numérica del modelo DRT	47
4.1.1.	Reconstrucción del espectro de impedancias	50
4.2.	Calibración y validación del método	52
5	Resultados	55
5.1.	Caracterización de tejidos biológicos <i>ex-vivo</i>	55
5.1.1.	Preparación de las muestras	56
5.1.2.	Mediciones de impedancia	56
5.1.3.	Análisis estadístico	57
5.1.4.	Análisis del espectro de impedancias mediante tiempos de relajación	57
5.2.	Mediciones de impedancia en escala micrométrica	62
5.2.1.	Preparación de la muestras	63
5.2.2.	Medición y estimación no paramétrica de la impedancia	63
5.2.3.	Hacia un nuevo sensor de concentración con mediciones EIS y análisis DRT	66
6	Conclusiones y trabajo a futuro	71
	Bibliografía	73

Índice de figuras

2.1. Dependencia en frecuencia de la permitividad relativa y la conductividad de un medio biológico.	13
2.2. Diagrama de Bode típico de un experimento de espectroscopia de impedancia eléctrica.	20
2.3. Diagrama de Nyquist típico de un experimento de espectroscopia de impedancia eléctrica.	20
2.4. Circuito R-C equivalente (a) en paralelo y (b) en serie.	22
2.5. Diagrama de Bode para las componentes real Z^{Re} e imaginaria Z^{Im} de la impedancia, con un punto de inflexión y máximo local, respectivamente, ubicado en la frecuencia característica f_c	22
2.6. Campo eléctrico perpendicular a la interfaz entre dos medios dieléctricos conductores.	23
2.7. Circuito eléctrico equivalente de un medio heterogéneo con múltiples relajaciones en serie.	24
2.8. Comportamiento de la parte imaginaria de la impedancia Z^{Im} como función de la frecuencia, para diferentes valores del parámetro α del modelo de Cole-Cole.	27
2.9. Estructura del circuito equivalente asociado al modelo de Cole-Cole.	28
2.10. Estructura del circuito equivalente asociado al modelo de DRT.	29
3.1. Diagrama de bloques del sistema de medición de impedancias con detector de ganancia y fase.	32
3.2. Esquema del arreglo de electrodos en configuración tetrapolar.	33
3.3. Circuitos de calibración del sistema de medición con detector de ganancia y fase.	35
3.4. Diagrama de bloques del sistema de medición con procesamiento espectral.	36
3.5. Diagrama esquemático de un circuito potenciostato.	37

3.6. Análisis de los datos del ruido aditivo $\eta(t)$. (a) Histograma y ajuste a una distribución Gaussiana. (b)FFT del ruido con distribución compleja circular.	41
3.7. Diagrama de la técnica espectral implementada en el SoC para mediciones rápidas de espectroscopia de impedancia eléctrica. .	42
3.8. Señal multi-senoidal de excitación $v(t)$. (a) Representación temporal and, (b) magnitud del espectro en el dominio de la frecuencia.	44
3.9. Diagrama de Bode de la impedancia estimada con \hat{Z} y el modelo de impedancia Z^* para los valores nominales de $R - C$. El recuadro interno muestra el error MSE para la magnitud y la fase, como función de la frecuencia.	45
4.1. Colocación de <i>kernels</i> Gaussianos en la escala de tiempos τ	48
4.2. Función de distribución $\hat{\gamma}(\ln \tau)$ con dos máximos locales en el dominio de tiempos de relajación τ	51
4.3. Calibración y validación del modelo DRT. (a) Circuito de calibración. (b) Función de dsitribución estimada $\hat{\gamma}(\cdot)$. (c) Diagrama de Nyquist para los datos experimentales \tilde{Z} , la impedancia estimada con DRT (\hat{Z}_{DRT}) y Cole-Cole (\hat{Z}_{CC}). (d) Evolución del error realtivo (<i>err.</i>) entre los datos y los modelos estimados.	54
5.1. Fotografía del experimento EIS en tejido biológico <i>ex-vivo</i>	56
5.2. Mediciones EIS en el rango de 1 kHz a 1 MHz. Diagrama de Bode para la magnitud $ \tilde{Z} $ y fase ψ (.deg) de la impedancia como función de la frecuencia en tejidos <i>ex vivo</i> de rata WISTAR. (a) hígado,(b) corazón, (c) riñón, (d) pulmón, (e) músculo y (f) bazo.	58
5.3. Gráfica de las tres principales componentes para validar estadísticamente las mediciones mediante PCA.	59
5.4. Función de distribución $\hat{\gamma}(\cdot)$ como función de la constante de tiempo τ para los seis tejidos <i>ex-vivo</i> : (a) hígado, (b) corazón, (c) riñón, (d) pulmón, (e) músculo y (f) bazo.	60
5.5. Mediciones EIS en el rango de 1 kHz a 1 MHz. Diagrama de Nyquist para parte real Z^{Re} y parte imaginaria Z^{Im} de la impedancia en tejidos <i>ex vivo</i> de rata WISTAR. (a) hígado,(b) corazón, (c) riñón, (d) pulmón, (e) músculo y (f) bazo.	62
5.6. Esquema de medición de impedancia eléctrica con circuito potencióstato y arreglo de microelectrodos.	63
5.7. Fotografía del experimento EIS para la cuantificación de partículas de SiO_2 suspendidas en un electrolito.	64
5.8. Diagrama de Bode de la impedancia medida \hat{Z}_μ para las suspensiones de micropartículas de SiO_2 en PBS a diferentes concentraciones, identificadas por símbolos. El diagrama en el cuadro interior muestra el circuito equivalente de las muestras.	64

5.9. Función de distribución $\gamma(\cdot)$ con respecto de los tiempos de relajación τ . (a) Para las suspensiones de micropartículas de SiO_2 en PBS a diferentes concentraciones, identificadas por símbolos. (b) Acercamiento a las distribuciones para los tiempos de relajación en el rango de $\tau \approx 10^{-7}$ a 10^{-5}	66
5.10. Curva de calibración para la concentración κ en peso de micropartículas de SiO_2 , como función de las constantes de tiempo τ obtenidas con el modelo DRT.	68

Índice de tablas

4.1. Tiempos de relajación($\tau \times 10^{-6}$) nominales y estimados usando los modelos DRT y Cole-Cole.	53
5.1. Tiempos de relajación estimados por el modelo DRT ($\tau_{DRT,i} \times 10^{-6}$ (s)) y parámetros del modelo Cole-Cole ($\tau_{CC,i}10^{-6}$ (s) y α_i) para los seis tejidos caracterizados.	61
5.2. Valores del error MAPE en el ajuste de los datos EIS a los modelos DRT y Cole-Cole para tejidos biológicos <i>ex-vivo</i>	61
5.3. Parámetros estimados al ajustar los datos de la impedancia \hat{Z}_μ al modelo $Z_\mu^*(j\omega; \theta_\mu)$ usando NLLS.	65
5.4. Muestras de microcoloides, sus concentraciones en peso y los tiempos de relajación obtenidos con DRT.	67

Capítulo 1

Introducción

En este capítulo se hace una revisión a los antecedentes y estado del arte en cuanto a técnicas de medición de impedancia eléctrica en tejidos biológicos se refiere. Se describen los métodos de interpretación de datos y algunas potenciales aplicaciones de la técnica. Se plantea el problema que la presente tesis pretende abordar, enfatizando en las contribuciones de este trabajo. Finalmente, se presenta la organización del manuscrito.

1.1. Antecedentes y motivación

La espectroscopia de impedancia eléctrica (EIS: *Electrical Impedance Spectroscopy*) es una técnica que comenzó a ser estudiada desde finales del siglo XIX por Oliver Heaveside. Sin embargo, no fue hasta los años 70 del siglo XX, con la invención de instrumentos sofisticados de medición de impedancia, que la EIS toma fuerza para ser aplicada en el estudio de materiales y procesos [1]. Básicamente la espectroscopia de impedancias estudia la dependencia en frecuencia de la interacción de un campo eléctrico con materiales conductores y dieléctricos principalmente [2]. Mediante esta técnica es posible conocer el comportamiento y las propiedades eléctricas del material bajo estudio, modelando su respuesta en términos de mecanismos de conducción de corriente eléctrica, así como mecanismos de polarización de la materia. La EIS ha sido ampliamente utilizada en procesos electroquímicos tales como el análisis de la corrosión en metales [3] y el monitoreo del estado de carga de baterías [4]. Por otro lado, una fuerte aplicación de la EIS es en el estudio y caracterización de medios biológicos, dado que la impedancia eléctrica provee valiosa información acerca de las células, su membrana y los fluidos intra y extra celulares [5]. Más aún, estudiar la respuesta eléctrica de tejidos biológicos en un amplio rango de frecuencias, es de suma importancia ya que las propiedades intrínsecas de este tipo de material exhiben una fuerte dependencia con la frecuencia del campo eléctrico, conocida como

regiones de dispersión o dispersiones [6]. En la literatura está claramente reportado que las bandas de frecuencias entre los kHz y las decenas de MHz revelan información sobre la composición y estructura de medios biológicos, en términos de los fluidos intra y extra celulares, así como de la membrana celular. Por otro lado, el diseño de instrumentos de medición en dicho rango de frecuencias es relativamente simple [7]. La impedancia eléctrica en tejidos biológicos, comúnmente llamada bioimpedancia tiene como objetivo de estudio diagnósticos clínicos e investigación, relacionados con diferentes patologías y enfermedades. La medición de bioimpedancia resulta ser una herramienta atractiva para el estudio del comportamiento eléctrico de medios biológicos, cuya composición y estructura están estrechamente relacionados con sus propiedades eléctricas, de tal forma que es posible extraer información sobre el estado fisiológico del medio bajo estudio.

Aún con todo ello, existen interesantes retos respecto a la medición de bioimpedancia. Por una parte, lo relativo al diseño de instrumentos *ad-hoc* para los rangos de impedancias y frecuencias a evaluar, el escalamiento de los sistemas de medición, y características de alta resolución, sensibilidad y relación señal a ruido. Mientras que por otra parte el análisis de datos de impedancia y su interpretación sugiere el uso de técnicas alternativas a las ya existentes. En este sentido, es relevante determinar valores característicos de la bioimpedancia como función de la frecuencia ó espectro de impedancias.

Recientemente, se han publicado diversos trabajos relacionados con el diseño de nuevos sistemas e instrumentos de medición de impedancia, los cuales añaden mejoras a la técnica convencional. Por mencionar sólo algunos, en [8] se presenta un sistema que reduce efectos parásitos indeseables en las mediciones mediante el diseño de una fuente de corriente. En [9] se muestra el desarrollo de un chip inalámbrico implantable para mediciones de impedancia, y en [10] el uso de un dispositivo lógico programable muestra las ventajas en el diseño de un analizador de respuesta en frecuencia.

En cuanto a las aplicaciones para medir y estudiar bioimpedancia, es posible encontrar trabajos en donde se determinan diversas condiciones de tejido debido a afecciones patológicas y fisiológicas. Ejemplo de ello son, la aplicación en la determinación de propiedades de tejidos con cáncer y sin éste, antes y después de tratamientos radiológicos [11]. La realización de estudios de cáncer de mama y su diferenciación [12]. En la detección temprana de úlceras gástricas [13]. La caracterización *in-vivo* de procedimientos de broncoscopía [14], en donde se estudian las variaciones de la impedancia del tejido con respecto del tiempo. El estudio en condiciones *ex-vivo* del cerebro bajo condiciones normales, de isquemia y de hemorragia [15]. Evaluación de pacientes con accidente cerebro-vascular agudo [16], para fines de su recuperación y rehabilitación; entre muchas otras aplicaciones muy relacionadas con las áreas anteriormente mencionadas.

En la mayoría de las aplicaciones de medición multifrecuencia de bioimpedancia realizan la interpretación de los datos experimentales usando extracción de parámetros de forma muy general, ésto realizado mediante métodos gráficos y ajustando los datos al modelo clásico de Cole-Cole [17] usando el algoritmo de mínimos cuadrados no lineales. Posteriormente dichos parámetros son relacionados con procesos biológicos, así como a condiciones fisiológicas. Este procedimiento de análisis es ampliamente reportado en la literatura, como puede leerse en [18–22]. En donde la metodología es esencialmente similar aunque con modificaciones en la interpretación, la técnica de medición y la robustez del algoritmo de ajuste, principalmente.

A pesar de la eficiencia del modelo de Cole-Cole para aproximar los datos experimentales de impedancia, la identificación y caracterización de los mecanismos de relajación dieléctrica y conducción eléctrica no es del todo descrita por el modelo, ya que éste puede ser considerado como descriptivo y no precisamente como medio para modelar los procesos físicos. Por otro lado, el modelo de Cole-Cole requiere de conocimiento previo sobre las propiedades y la estructura del material bajo estudio para su correcta interpretación.

El modelo de distribución de tiempos de relajación (DRT: *Distribution of Relaxation Times*) es por el contrario conocido por su potencialidad en identificar claramente procesos dieléctricos y de conducción en fenómenos electroquímicos principalmente [23], [24]. Brevemente, el modelo DRT permite realizar una transformación de los datos de impedancia, del dominio de la frecuencia a un dominio de constantes de tiempo. Con ello, es posible obtener una función de distribución que agrupa los diferentes mecanismos de relajación, y cuya interpretación resulta ser específica y particular de los medios bajo estudio. Sin embargo, el principal problema por el cual el modelo DRT se evita emplear radica en su complejidad matemática para solucionarlo. Aunado a ello, hasta donde se sabe, el modelo DRT no ha sido ampliamente explotado y aplicado a aplicaciones biológicas, es decir, para la interpretación de datos multifrecuencia de bioimpedancia.

Por otra parte, dada la estrecha relación de las características eléctricas de medios biológicos con la impedancia eléctrica, es de suponerse que la bioimpedancia puede ser estudiada como un sistema formado por la interacción de elementos eléctricos pasivos, cuyo comportamiento depende del tiempo, i.e. un sistema dinámico [25]. Así, dicho sistema puede ser identificado mediante distintos métodos a fin de estimar parámetros relacionados con procesos fisiológicos y estructurales, de tal forma que el medio biológico bajo estudio pueda ser representado mediante un modelo dinámico [26].

1.2. Planteamiento del problema

Una vez establecidos los conceptos fundamentos sobre medición de impedancia eléctrica y sus potenciales aplicaciones a medios biológicos, el problema que el presente trabajo pretende abordar se formula de acuerdo a las siguientes premisas.

- Información útil de la respuesta eléctrica de tejidos biológicos se encuentra en el intervalo de kHz a decenas de MHz.
- Un sistema de medición de impedancia eléctrica en el rango 1 kHz a 1 MHz puede ser diseñado con instrumentación relativamente simple.
- Es posible diseñar estrategias de procesamiento de señales para incrementar la calidad en las mediciones multifrecuencia de impedancia.
- Un sistema biológico puede ser estudiado como un sistema dinámico lineal e invariante en el tiempo, bajo ciertas condiciones.
- La respuesta en frecuencia del sistema biológico bajo estudio puede ser estimada mediante técnicas paramétricas y no paramétricas, aún en presencia de ruido en las mediciones.
- El modelo de distribución de tiempos de relajación puede ser útil para el análisis de datos de bioimpedancia, a fin de obtener una "huella digital" del medio a caracterizar.

Por tanto, la hipótesis a demostrar puede sintetizarse de la siguiente manera.

Considere que un medio ó tejido biológico cuyas propiedades eléctricas efectivas, permitividad ϵ y conductividad σ , presentan una fuerte dependencia con respecto a la frecuencia ω del campo eléctrico aplicado. La respuesta eléctrica de dichos medios puede ser descrita por la medición de la impedancia eléctrica relacionada con ellos, mediante la aplicación de un voltaje y la medición de la corriente que se establece en el medio, ambos a la misma frecuencia ω . La medición de impedancia deberá ser realizada para un intervalo de frecuencias donde sea posible extraer información sobre la estructura y composición del tejido bajo estudio.

1.3. Contribuciones

El presente trabajo propone el diseño de un sistema integral de medición de impedancia en tejidos biológicos, en donde la instrumentación electrónica, el procesamiento de señales y el modelado de los datos experimentales son en conjunto su parte fundamental. La principal contribución de la tesis radica en proponer una solución alternativa al problema de medición de bioimpedancia multifrecuencia y al análisis de los datos desde una perspectiva distinta a aquellas reportadas previamente en la literatura. Las aportaciones desprendidas del trabajo de investigación son las siguientes.

- Comercialmente existen instrumentos medidores de impedancia de alto costo y poca escalabilidad hacia diversas aplicaciones. Por ello, se propuso el diseño de un sistema de medición de impedancias en el rango de 1kHz a 1MHz (aunque puede extenderse fácilmente) empleando un circuito detector de ganancia y fase, con alta resolución y baja incertidumbre en las mediciones. El diseño del sistema está reportado en [27].
- Dada la premisa sobre la utilidad del modelo DRT en medios biológicos, en [28] se presenta la combinación del sistema de medición EIS anteriormente citado con una solución al modelo DRT. Además, se validó la metodología EIS-DRT analizando mediciones de impedancia en tres tejidos biológicos preservados en formol, en donde se obtuvo una clara diferenciación de los medios caracterizados.
- Una vez validada la metodología EIS-DRT, se realizó un protocolo exhaustivo de medición en muestras *ex-vivo* de tejido biológico de seis diferentes órganos de rata de la cepa Wistar, una de las cepas de ratas más populares utilizadas para la investigación de laboratorio. Los resultados obtenidos fueron validados estadísticamente y ajustados al modelo DRT, obteniendo como resultado una función de distribución de tiempos de relajación única para cada tejido. Con ello fue posible demostrar la potencialidad del método propuesto a la diferenciación de tejidos biológicos, como se puede leer en [29].
- Considerando al medio biológico bajo estudio como un sistema dinámico, en [30] se presentaron resultados numéricos de estimación de parámetros de bioimpedancia considerando una señal de excitación rápida y de gran ancho de banda. La finalidad del trabajo fue proponer una metodología de estimación de parámetros de bioimpedancia usando mediciones espectrales rápidas. Además se formalizó la solución al modelo DRT, desde la perspectiva de un problema de optimización resuelto con técnicas de estimación paramétrica.
- Dada la potencialidad y robustez de la metodología de mediciones espectrales rápidas con el uso de señales de excitación con alto contenido espectral. En [31] se presenta la instrumentación del método empleando dispositivos electrónicos de vanguardia, i.e. un dispositivo SoC (*System on Chip*), para implementar un estimador no paramétrico, de alta velocidad, gran ancho de banda, alta relación señal a ruido y baja incertidumbre. Por otro lado, mediante el nuevo sistema de medición se plantea el escalamiento de mediciones EIS en aplicaciones micrométricas con potencialidad de aplicación a medios biológicos, como suspensiones celulares [32].

1.3.1. Lista de Publicaciones

- Publicaciones en revistas indizadas
 - R. Ramírez-Chavarría, C. Sánchez-Pérez, D. Matatagui, N. Qureshi, A. Pérez-García, and J. Hernández-Ruíz, “Ex-vivo biological tissue differentiation by the distribution of relaxation times method applied to electrical impedance spectroscopy,” *Electrochim. Acta*, vol. 276, pp. 214–222, 2018
 - R. Ramírez-Chavarría, M. I. Müller, R. Mattila, and C. Sánchez-Pérez, “Fast and Accurate System on Chip Framework for Spectral Micro-impedance Measurements,” *To be published*, 2018
- Publicaciones en congresos internacionales con memorias indizadas
 - R. Ramírez-Chavarría, C. Sánchez-Pérez, and D. Matatagui, “Analysis of Impedance Spectroscopy Measurements of Biological Tissue using the Distribution of Relaxation Times Method,” in *Proc. 10th Int. Jt. Conf. Biomed. Eng. Syst. Technol.*, pp. 224–228, 2017
 - R. Ramírez-Chavarría, G. Quintana-Carapia, M. I. Müller, R. Mattila, D. Matatagui, and C. Sánchez-Pérez, “Bioimpedance parameter estimation using fast spectral measurements and regularization,” *IFAC-PapersOnLine*, vol. 51, no. 15, pp. 521 – 526, 2018. 18th IFAC Symposium on System Identification SYSID 2018
 - R. Ramírez-Chavarría and C. Sánchez-Pérez, “Sensing Micro-colloid Concentration by Spectral Impedance Measurements and Relaxation Times Analysis,” in *To be presented*, 2019
- Participación en congresos nacionales
 - R. Ramírez-Chavarría, J. Zambrano-Arroyo, and C. Sánchez-Pérez, “Sistema de medición de impedancia eléctrica multifrecuencia para caracterización de muestras de tejidos biológicos,” in *Memorias del Congreso de Instrumentación SOMI XXIX*, 2015
 - A. Barrera-Acevedo, R. Ramírez-Chavarría, A. Guadarrama-Santana, and A. García-Valenzuela, “Física y circuito equivalente de multicasas semiconductoras entre electrodos planos,” in *Memorias del LIX Congreso Nacional de Física*, 2016

1.4. Estructura de la Tesis

El contenido de la tesis se encuentra dividido en seis capítulos (incluyendo la presente introducción). El Capítulo 2 contiene toda la información preliminar necesaria para entender el contenido del trabajo, se aborda la notación utilizada, las definiciones y proposiciones más importantes, así como el análisis de los modelos de interpretación de impedancia eléctrica multifrecuencia.

El Capítulo 3 presenta el sistema de medición multifrecuencia, en donde es importante resaltar las dos secciones principales referentes a los dos sistemas de medición diseñados y empleados para los resultados finales del trabajo. Además, se describen las etapas y procedimientos más importantes de los sistemas de medición en forma conceptual.

En el Capítulo 4 se describe la metodología de solución al modelo DRT, abordando las definiciones y procedimientos más importantes. La aproximación de la función de distribución de tiempos de relajación mediante *kernels* y el uso de mínimos cuadrados con regularización, son la parte fundamental del capítulo. Aunque es un capítulo con fuerte contenido matemático, se refiere al lector a fuentes de consulta en caso de requerir un estudio más profundo de los temas aquí abordados.

Por su parte, el Capítulo 5 muestra los resultados obtenidos en términos de la aplicación de la metodología EIS-DRT aplicada a la diferenciación de tejidos biológicos en condiciones *ex-vivo*, y de la caracterización de la concentración de microcoloides compuestos de partículas dieléctricas en una matriz conductora.

Finalmente se presenta el Capítulo 6, dedicado a las conclusiones obtenidas como producto del trabajo, así como al trabajo a futuro inmediato, resultado de la línea de investigación cultivada durante el desarrollo de esta tesis.

Capítulo 2

Preliminares

En este capítulo se presentan los conceptos elementales para formular el problema de medición de impedancia eléctrica. Se revisan los modelos físicos de respuesta eléctrica en medios biológicos y su equivalencia con circuitos eléctricos. Finalmente se describen los modelos de interpretación de datos de bioimpedancia.

2.1. Notación

\triangleq	Por definición
\mathbb{R}	Campo de los números reales
\mathbb{Z}	Campo de los números enteros
\mathbb{I}	Campo de los números imaginarios
\mathbb{C}	Campo de los números complejos
z^*	Número complejo de la forma $z^* = a + jb$
j	Número imaginario $\sqrt{-1}$
z^{Re}	Parte real del número complejo $z^* = a + jb$
z^{Im}	Parte imaginaria del número complejo $z^* = a + jb$
$ z $	Magnitud o módulo del número complejo $z^* = a + jb$
$\angle z$	Ángulo o fase del número complejo $z^* = a + jb$
Z	Impedancia eléctrica compleja
$\mathbb{R}^{n \times m}$	Espacio de matrices con n renglones y m columnas
$\mathcal{L}\{\cdot\}$	Operador transformada de Laplace
$\mathcal{F}\{\cdot\}$	Operador transformada de Fourier
\bar{u}	Valor medio de la variable u
\hat{u}	Valor estimado de la variable u
\tilde{u}	Valor medido de la variable u
u^*	Valor óptimo de la variable u
$\mathbb{E}\{u\}$	Valor esperado de una variable u

2.2. Propiedades eléctricas de medios biológicos

Desde el punto de vista de la teoría electromagnética, cuando un sistema de cargas está sujeto a un campo eléctrico \vec{E} uniforme, el movimiento de éstas ocurre dependiendo de su naturaleza. En un primer caso, el libre movimiento de las cargas es impuesto por el campo eléctrico aplicado, resultando en la traslación de las cargas positivas en dirección al campo \vec{E} , mientras que las negativas lo hacen en dirección opuesta. En segunda instancia, el campo \vec{E} induce un movimiento de rotación de las cargas, tal que éstas se alinean paralelamente a la dirección del campo eléctrico. En tales casos, el resultado es una corriente de conducción \vec{J}_c y una corriente de desplazamiento o polarización \vec{J}_p , respectivamente. En general un sistema de dipolos inducidos o permanentes es denominado dieléctrico ideal; sin embargo en realidad un dieléctrico considera también cargas que pueden moverse libremente.

Observación 1. *Es importante mencionar que en este trabajo se hace referencia a la conductividad y permitividad eléctrica considerando a éstas como efectivas, i.e., son estudiadas desde un punto de vista macroscópico.*

Proposición 1. *Un medio biológico presenta propiedades intrínsecas de un material dieléctrico con permitividad efectiva ϵ debida al desplazamiento de cargas dentro del material, pero a la vez también presenta una conductividad efectiva σ asociada a los portadores de carga cuyo movimiento es libre. Así, la densidad de corriente total \vec{J} en un medio biológico está dada por*

$$\vec{J} = \vec{J}_c + \vec{J}_p. \quad (2.1)$$

Prueba. La ley de Ampere-Maxwell [34] relaciona la suma de las corrientes de conducción y de desplazamiento con el rotacional del campo magnético \vec{H} ,

$$\vec{\nabla} \times \vec{H} = \vec{J}_c + \vec{J}_p, \quad (2.2)$$

en donde, de acuerdo a la ley de Ohm, la corriente de conducción está definida como

$$\vec{J}_c \triangleq \sigma \vec{E}, \quad (2.3)$$

mientras que la corriente de polarización está dada por la variación del vector desplazamiento eléctrico \vec{D} ,

$$\vec{J}_p \triangleq \frac{\partial \vec{D}}{\partial t}, \quad (2.4)$$

en donde para medios dieléctricos

$$\vec{D} = \epsilon \vec{E} = \epsilon_0 \vec{E} + \epsilon_0 \chi \vec{E} = \epsilon_0 \vec{E} + \vec{P}, \quad (2.5)$$

siendo $\varepsilon_0 = 8,854 \times 10^{-12} \text{F/m}$ la permitividad del vacío y χ la susceptibilidad eléctrica. El vector $\vec{P} = \varepsilon_0 \chi \vec{E}$ corresponde a la polarización dieléctrica del material.

Considerando que el campo eléctrico aplicado es armónico a frecuencia angular $\omega = 2\pi f$ con amplitud E_0 , de la forma

$$\vec{E}(t) = E_0 \exp^{-j\omega t}, \quad (2.6)$$

cuya representación en el dominio de la frecuencia está dada por $\mathcal{F}\{\vec{E}(t)\} = \vec{E}(\omega)$.

La corriente total también estará dada en función de ω , la cual resulta al aplicar $\mathcal{F}\{\vec{J}\}$ en la ec. 2.1,

$$\begin{aligned} \vec{J}(\omega) &= \sigma \vec{E}(\omega) + j\omega \varepsilon \vec{E}(\omega) \\ &= (\sigma + j\omega \varepsilon) \vec{E}(\omega). \end{aligned} \quad (2.7)$$

De esta última expresión, es posible definir a la permitividad eléctrica $\varepsilon \in \mathbb{C}$ como

$$\varepsilon \triangleq \varepsilon_r - j \frac{\sigma}{\omega \varepsilon_0}. \quad (2.8)$$

y de manera análoga a la conductividad eléctrica $\sigma \in \mathbb{C}$ como

$$\sigma \triangleq (j\omega \varepsilon) \varepsilon_0, \quad (2.9)$$

en donde la $\varepsilon_r = (1 + \chi)$ es la permitividad relativa del material. ■

Observación 2. *En materiales biológicos la corriente de conducción está dada principalmente por la movilidad de iones hidratados [35], mientras que la corriente de desplazamiento se asocia con el desplazamiento de moléculas polares y por dipolos inducidos en las superficies de las membranas celulares [36].*

Sí la conductividad y la permitividad no dependen de la frecuencia, se puede deducir del análisis anterior que, la corriente de conducción es constante, mientras que la de desplazamiento incrementa con la frecuencia. Sin embargo, para los medios biológicos existe una descripción mas general, en la cual tanto ε como σ dependen de la frecuencia ω , dicha dependencia se conoce como regiones de dispersion o simplemente dispersiones [37].

2.2.1. Dispersiones

En la Fig. 2.1 se muestra una representación esquemática de la permitividad relativa ε_r y de la conductividad σ como función de la frecuencia. Una dispersión es la transición de un nivel a otro en el valor de dichas propiedades.

Es posible observar que ϵ_r decrece, mientras que σ aumenta, conforme la frecuencia f incrementa. Por otro lado, en la Fi. 2.1 se pueden observar tres transiciones en bajas, medias y altas frecuencias, denominadas dispersiones α , β y γ respectivamente. En [5], Schwan estableció la clasificación de las dispersiones en donde las propiedades del tejido biológico son caracterizadas, de acuerdo a lo siguiente:

- En frecuencias desde los mHz y hasta unos cuantos kHz, la dispersión α se asocia con la actividad de iones cerca de la superficie de la membrana celular, así como procesos de difusión iónica. El fenómeno más interesante a estudiar en esta región es el efecto de la doble capa eléctrica, formada entre el medio extracelular y la membrana; sin embargo, dicho fenómeno es complicado de medir y modelar debido a la existencia de la interfaz electrodo(metálico) y el electrolito, la cual opaca las mediciones reales del tejido. [38].
- Entre las decenas de kHz y las decenas de MHz, la dispersión β es asociada principalmente a la polarización de las membranas celulares, las cuales actúan como barreras al flujo de iones entre los medios intra y extra celulares. En este sentido, el fenómeno característico de esta región corresponde a la polarización interfacial (efecto Maxwell-Wagner), el cual se debe a la acumulación de cargas en la interfaz de la membrana celular. Esta región también se relaciona con mecanismos de polarización de proteínas y otras macro-moléculas orgánicas. La medición de las propiedades eléctricas en esta región permite obtener información directamente relacionada con la composición y estructura del tejido [39].
- En la región de los GHz, la dispersión γ se asocia con mecanismos de polarización por orientación en medios polares tales como agua, sales y algunas proteínas. La principal desventaja de esta dispersión radica en que la instrumentación del experimento requiere equipo sofisticado, además que la información obtenida de ella no está directamente relacionada con la estructura del tejido y es empleada en estudios relacionados con el contenido de agua en los tejidos.

Observación 3. *Los medios biológicos son materiales dispersivos, tanto la permitividad como la conductividad eléctricas son funciones de la frecuencia ω del campo eléctrico aplicado.*

- $\epsilon(\omega) = \epsilon^{\text{Re}}(\omega) + j\epsilon^{\text{Im}}(\omega)$
- $\sigma(\omega) = j\omega\epsilon(\omega) = \sigma^{\text{Re}}(\omega) + j\sigma^{\text{Im}}(\omega)$

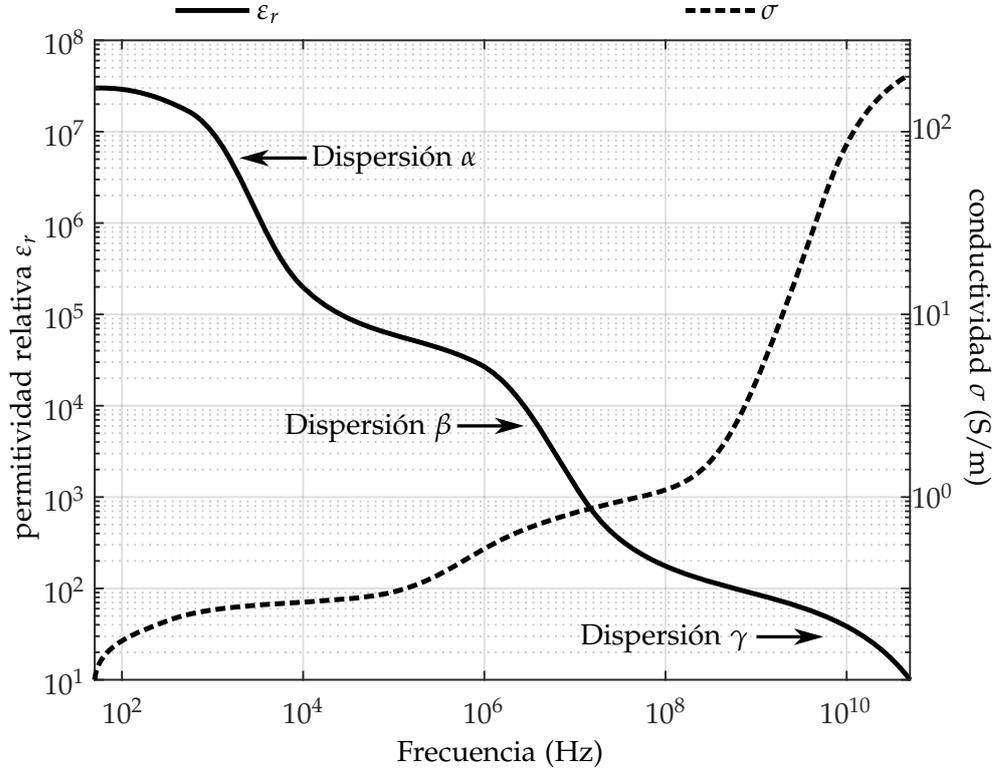


Figura 2.1: Dependencia en frecuencia de la permitividad relativa y la conductividad de un medio biológico.

2.2.2. Función dieléctrica en frecuencia

Considere un campo eléctrico dependiente del tiempo, a frecuencia ω y con amplitud constante E_0 ,

$$\vec{E}(t) = E_0 \cos(\omega t). \quad (2.10)$$

En bajas frecuencias la polarización del material estará en sincronía con el campo eléctrico, pero al incrementar la frecuencia, la polarización comenzará a desfasarse. En términos del desplazamiento eléctrico \vec{D} , éste tendrá la misma dependencia temporal pero con un retardo de fase,

$$\begin{aligned} \vec{D}(t) &= D_0 \cos(\omega t - \delta) = (D_0 \cos \delta) \cos(\omega t) + (D_0 \sin \delta) \sin(\omega t) \\ &\triangleq \epsilon' \vec{E}(t) + \epsilon'' \vec{E}(t + \pi/2). \end{aligned} \quad (2.11)$$

Las relaciones anteriores pueden ser escritas en notación compleja, en términos de la frecuencia ω , como sigue,

$$\begin{aligned} \vec{E}(t) &= E_0 e^{\pm j\omega t} \\ \epsilon(\omega) &\triangleq \epsilon'(\omega) \pm j\epsilon''(\omega) \\ \vec{D}(\omega) &= \epsilon(\omega) \vec{E}(\omega). \end{aligned} \quad (2.12)$$

En donde la parte real de la función dieléctrica es $\epsilon^{\text{Re}}(\omega) \triangleq \epsilon'(\omega)$, mientras que la parte imaginaria está dada por $\epsilon^{\text{Im}}(\omega) \triangleq \epsilon''(\omega)$

2.2.3. Polarización y relajación dieléctrica

Cuando un material es excitado por un campo eléctrico con dependencia temporal $\vec{E}(t)$, existen tres mecanismos de polarización: (i) electrónica, (ii) atómica y (iii) por orientación [40]. Las primeras dos se establecen de forma casi instantánea mientras que a la última le toma un cierto tiempo alcanzar su valor en estado estable. Así, la polarización total puede ser descrita como un proceso de primer orden caracterizado por una constante de tiempo τ . Por otro lado, cuando $\vec{E}(t)$ se deja de aplicar, el proceso es revertido y los efectos de polarización electrónica y atómica se desvanecen casi inmediatamente, mientras que la polarización dipolar decae lentamente.

Proposición 2. *El estado de polarización de un material biológico es descrito por un sistema causal, estable, y lineal e invariante en el tiempo (LTI: Linear Time-Invariant) de primer orden.*

Prueba. El material puede considerarse como un sistema sujeto a una excitación dada por el campo eléctrico $\vec{E}(t)$, y cuya respuesta es la polarización $\vec{P}(t)$. La relación entrada/salida está dada por la transformación $G(t)$. Así, la respuesta del sistema puede ser escrita como [41]

$$\vec{P}(t) = \int_{-\infty}^{\infty} \epsilon_0 \vec{E}(\tau) G(t - \tau) d\tau. \quad (2.13)$$

La integral 2.13 establece que la respuesta $\vec{P}(t)$ a un campo eléctrico arbitrario $\vec{E}(t)$, puede obtenerse mediante la convolución de éste y la respuesta al impulso unitario $G(t)$

$$\vec{P}(t) = \vec{E}(t) * [\epsilon_0 G(t)] \triangleq \int_{-\infty}^{\infty} \epsilon_0 \vec{E}(\tau) G(t - \tau) d\tau. \quad (2.14)$$

Aplicando la transformada de Fourier $\mathcal{F}\{\cdot\}$ de ambos lados de la expresión anterior se obtiene que,

$$\mathcal{F}\{\vec{P}(t)\} = \mathcal{F}\{\vec{E} * [\epsilon_0 G(t)]\} \quad \text{y} \quad (2.15)$$

$$\vec{P}(j\omega) = \epsilon_0 G(j\omega) \vec{E}(j\omega). \quad (2.16)$$

De la ecuación anterior es posible deducir que $G(j\omega) \triangleq \chi(j\omega)$, lo cual cumple con la definición de polarización dieléctrica,

$$\vec{P}(j\omega) = \epsilon_0 \chi(j\omega) \vec{E}(j\omega). \quad (2.17) \quad \blacksquare$$

Definición 1. *La susceptibilidad eléctrica $\chi(j\omega) \in \mathbb{C}$ es de la forma:*

$$\chi(j\omega) = \chi^{\text{Re}} + j\chi^{\text{Im}}, \quad (2.18)$$

donde χ^{Re} es la parte real y χ^{Im} es la parte imaginaria.

Modelo de Debye

El objetivo del modelo de Debye es encontrar una expresión para susceptibilidad eléctrica de la definición anterior, tal que $\chi(j\omega) \triangleq \chi_D(j\omega)$, en donde $\chi_D(j\omega)$ denota a la susceptibilidad de Debye. Así, es posible entonces derivar una expresión para la función dieléctrica de la sección 2.2.2.

Proposición 3. *La expresión de la susceptibilidad eléctrica en el dominio de la frecuencia puede ser caracterizada por una función de transferencia de primer orden, con un polo ubicado en el inverso del tiempo de relajación, τ .*

Prueba. La polarización $\vec{P}(t)$ por orientación o dipolar puede ser escrita en términos del siguiente modelo dinámico [40,42],

$$\frac{d\vec{P}(t)}{dt} + \frac{1}{\tau}\vec{P}(t) = 0, \quad (2.19)$$

cuya solución en ausencia de entradas y sujeta a la condición inicial $\vec{P}(0) = P_s$ es,

$$P(t) = P_s e^{-t/\tau}. \quad (2.20)$$

Dado que el interés de este trabajo es realizar un análisis en el dominio de la frecuencia, considere ahora una entrada armónica $a\vec{E}(t) = E_0 e^{j\omega t}$ con $a \neq 0$,

$$\frac{d\vec{P}(t)}{dt} + \frac{1}{\tau}\vec{P}(t) = a\vec{E}(t). \quad (2.21)$$

Aplicando la transformada $\mathcal{F}\{\cdot\}$ a la ecuación diferencial y operando los términos, se obtiene que

$$\vec{P}(j\omega) = \frac{a\tau}{1 + j\omega\tau}\vec{E}(j\omega), \quad (2.22)$$

comparando esta última expresión con la ecuación 2.17, se define a la susceptibilidad como

$$\chi(j\omega) \triangleq \chi_D(j\omega) = \frac{\chi_s}{1 + j\omega\tau}, \quad (2.23)$$

en donde χ_s es la susceptibilidad estática, i.e., cuando $\omega \rightarrow 0$. ■

Como se sabe, la polarización de un material está dada por diferentes mecanismos, los cuales para los fines de este trabajo, es posible separarlos en dos, la polarización inducida y la polarización de Debye [43].

Suposición 1. *La polarización total de un material biológico está dada por la superposición de la susceptibilidad inducida χ_I y la susceptibilidad de Debye χ_D . En términos de la susceptibilidad eléctrica se tiene entonces que,*

$$\chi_T = \chi_I + \chi_D. \quad (2.24)$$

Siguiendo la suposición anterior y recordando que $\varepsilon_r \triangleq \chi + 1$, la función dieléctrica total es,

$$\varepsilon_T(\omega) = 1 + \chi_T = 1 + (\chi_I + \chi_D). \quad (2.25)$$

En este punto es necesario evaluar a la permitividad total tomando el límite en los extremos de frecuencia y definir a éstos como,

$$\varepsilon_s \triangleq \varepsilon_T(\omega \rightarrow 0) = 1 + \chi_I + \chi_s, \quad (2.26)$$

$$\varepsilon_\infty \triangleq \varepsilon_T(\omega \rightarrow \infty) = 1 + \chi_I, \quad (2.27)$$

en donde ε_s es la permitividad estática o en bajas frecuencias, y ε_∞ es la asociada a altas frecuencias. Es posible definir la relación entre estas, tomando la diferencia entre sus valores tal que,

$$\Delta\varepsilon \triangleq \varepsilon_s - \varepsilon_\infty = \chi_s, \quad (2.28)$$

combinando la ec. 2.28 en la susceptibilidad de Debye (ec. 2.23) y sustituyendo en la función dieléctrica total (ec. 2.25), la función dieléctrica de Debye puede ser definida como,

$$\varepsilon_D(\omega) \triangleq \varepsilon_T = \varepsilon_\infty + \frac{\Delta\varepsilon}{1 + j\omega\tau}. \quad (2.29)$$

De la expresión anterior se observa que $\varepsilon_D(\omega) \in \mathbb{C}$, por lo que la parte real e imaginaria se obtienen multiplicando a la ec. 2.29 por su complejo conjugado, lo cual resulta en la componente real $\varepsilon_D^{\text{Re}}(\omega)$,

$$\varepsilon_D^{\text{Re}}(\omega) = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + (\omega\tau)^2}, \quad (2.30)$$

y en la componente imaginaria $\varepsilon_D^{\text{Im}}(\omega)$,

$$\varepsilon_D^{\text{Im}}(\omega) = \frac{(\omega\tau)(\varepsilon_s - \varepsilon_\infty)}{1 + (\omega\tau)^2}. \quad (2.31)$$

Observación 4. En este trabajo se considera que $\varepsilon_\infty \in \mathbb{R}_{>0}$, es una constante; sin embargo, en general, esto no necesariamente es así y depende también de la frecuencia, ya que en muy altas frecuencias (dispersión γ), existen otros mecanismos que inducen momento dipolar como es el caso de la permitividad dada por el modelo de Lorentz [34].

Modificaciones al modelo de Debye

Lo anteriormente expuesto considera a un material dieléctrico perfecto, es decir sin pérdidas, comúnmente asociadas a las corrientes de conducción [40]. Sin embargo, los medios biológicos presentan estas últimas en los fluidos intra y extra celulares [38]. Por lo cual es necesario incluir un término más en la función dieléctrica de Debye que incorpore las características de conducción.

Definición 2. La función dieléctrica de un medio biológico $\varepsilon(\omega) \in \mathbb{C}$ es modelada como la permitividad de Debye más término adicional de conductividad eléctrica dado por el modelo de Drude [34].

$$\varepsilon(\omega) \triangleq \underbrace{\varepsilon_\infty + \frac{\Delta\varepsilon}{1 + j\omega\tau}}_{\varepsilon_D(\omega)} - j\frac{\sigma_s}{\omega\varepsilon_0}, \quad (2.32)$$

siendo $\sigma_s \in \mathbb{R}_{\geq 0}$ una constante, la conductividad estática, i.e., a frecuencias $\omega \rightarrow 0$. Aún así, dado que en altas frecuencias, i.e., $\omega \rightarrow \infty$ se debe considerar que σ_s no es más un constante, y por ende ésta debe ser descrita como una función de la frecuencia.

Alternativamente, la conductividad de un dieléctrico con un tiempo de relajación se expresa de acuerdo al siguiente modelo [5, 38, 43]

$$\sigma(\omega) \triangleq \sigma_s + (\sigma_\infty - \sigma_s) \frac{\omega^2\tau^2}{1 + \omega^2\tau^2}, \quad (2.33)$$

donde

$$(\sigma_\infty - \sigma_s) = \frac{\varepsilon_0(\Delta\varepsilon)}{\tau}, \quad (2.34)$$

siendo σ_s la conductividad a bajas frecuencias o asociada a la corriente directa y σ_∞ la conductividad en altas frecuencias.

2.3. Impedancia eléctrica

En la práctica, la forma de cuantificar y caracterizar las propiedades eléctricas de un material biológico es a través de la aplicación de un campo eléctrico inducido a través de una diferencia de potencial o voltaje V , mientras que la medición de la densidad de corriente puede hacerse a través de la intensidad de corriente I , en donde ambas son consideradas como variables escalares o señales. Cómo se estudió en las secciones anteriores, la respuesta eléctrica de medios biológicos puede ser caracterizada por sistemas lineales, y considerando que el interés de este trabajo es en el dominio de la frecuencia, es posible obtener expresiones de voltaje y corriente en términos de fasores.

Definición 3. Considere un circuito eléctrico formado por una interconexión arbitraria de elementos LTI [44]. Sea una señal de voltaje a frecuencia ω dado por

$$v(t) = V_o \cos(\omega t + \varphi), \quad (2.35)$$

con V_o y φ , la amplitud y la fase de la señal, respectivamente, cuya representación como fasor $\mathbf{V} \in \mathbb{C}$ es

$$\mathbf{V} \triangleq V_o e^{j\varphi}, \quad (2.36)$$

donde $V_o = |\mathbf{V}|$ es la magnitud y $\varphi = \angle \mathbf{V}$ es la fase.

Sí se asume que la señal $v(t)$ es el voltaje aplicado al circuito, tal que

$$v(t) = \text{Re} \{ \mathbf{V} e^{j\omega t} \} = |\mathbf{V}| \cos(\omega t + \angle \mathbf{V}), \quad (2.37)$$

y una corriente inducida también senoidal de la forma,

$$i(t) = \text{Re} \{ \mathbf{I} e^{j\omega t} \} = |\mathbf{I}| \cos(\omega t + \angle \mathbf{I}). \quad (2.38)$$

Es posible entonces definir una relación entre las señales de voltaje y corriente.

Definición 4. La impedancia eléctrica [44] $Z(\cdot) \in \mathbb{C}$ de un circuito a una frecuencia arbitraria ω , se define como el cociente entre el fasor de voltaje \mathbf{V} y el fasor de corriente \mathbf{I} , cuya expresión es

$$Z(j\omega) \triangleq \frac{\mathbf{V}}{\mathbf{I}}. \quad (2.39)$$

Es posible también definir al inverso de la impedancia eléctrica como la admitancia $Y(\cdot) \in \mathbb{C}$, cuya relación se expresa como

$$Y(j\omega) \triangleq \frac{\mathbf{I}}{\mathbf{V}}. \quad (2.40)$$

Bajo estas condiciones, es preciso definir a las componentes real e imaginaria de la impedancia eléctrica.

Definición 5. Considere las variables $R \in \mathbb{R}_{\geq 0}$ y $X \in \mathbb{I}$, tal que la suma de éstas sea $Z = R + X \in \mathbb{C}$.

- La componente $Z^{\text{Re}} \triangleq R$, se denomina resistencia.
- La componente $Z^{\text{Im}} \triangleq X$, se denomina reactancia eléctrica.
Para un capacitor de valor $C \geq 0$, la reactancia capacitiva es

$$X_c \triangleq \frac{1}{j\omega C}. \quad (2.41)$$

Para un inductor de valor $L \geq 0$, la reactancia inductiva es

$$X_L \triangleq j\omega L. \quad (2.42)$$

- La componente $Y^{\text{Re}} \triangleq G$, se denomina conductancia $G = 1/R$.
- La componente $Y^{\text{Im}} \triangleq B$, se denomina susceptancia $B = 1/X$.

2.3.1. Espectroscopia de impedancia

La espectroscopía de impedancia eléctrica ó electroquímica (EIS) es un herramienta ampliamente utilizada para caracterizar la respuesta eléctrica de un material en función de la frecuencia. Como resultado es posible obtener un modelo que contenga información sobre las propiedades eléctricas relacionadas con diversos mecanismos de conducción de corriente eléctrica y estados de polarización de la materia. Entre las aplicaciones más comunes de la técnica EIS se encuentran análisis electroquímicos [2] y aplicaciones biomédicas y/o biológicas [38], principalmente.

El experimento consiste en inducir un fisor corriente de baja amplitud a una frecuencia arbitraria ω a través de un material bajo estudio y medir el fisor voltaje ó caída de potencial en el material. Así, mediante la relación entre el voltaje y la corriente, es posible obtener un valor de impedancia a la frecuencia de excitación. El proceso se repite cambiando la frecuencia de la corriente inducida para así obtener un espectro de impedancias.

Definición 6. El espectro de impedancias se define como el vector de mediciones u observaciones $\tilde{\mathbf{Z}} \triangleq [\tilde{Z}(j\omega_1) \quad \tilde{Z}(j\omega_2) \quad \cdots \quad \tilde{Z}(j\omega_n)] \quad \forall \tilde{\mathbf{Z}} \in \mathbb{C}^n$, en un intervalo de frecuencias $\omega \in [\omega_1, \omega_n]$.

Comúnmente existen dos tipos de representación para el espectro de impedancias, los diagramas de Bode y Nyquist. En el diagrama de Bode (Fig. 2.2), se grafica la magnitud de cada uno de los elementos del vector de observaciones $|\tilde{Z}|$ y la diferencia entre los ángulos del fisor voltaje y el fisor corriente, denominada fase ψ , ambas como función de la frecuencia angular ω ó de la frecuencia lineal $f = \omega/2\pi$. Por otro lado, en el diagrama de Nyquist (Fig. 2.3) se grafican los valores de las componentes real Z^{Re} e imaginaria Z^{Im} , en el eje de las ordenadas y de las abscisas, respectivamente. En dicho diagrama la frecuencia se encuentra implícita y su interpretación se realiza de derecha a izquierda, correspondiente a las mediciones desde una frecuencia mínima f_{min} hasta una máxima f_{max} . En general, el espectro de impedancias puede ser interpretado para obtener información sobre las características del material bajo estudio, dicha tarea se realiza empleando métodos gráficos, ajustando a modelos físicos parametrizados, o con la experiencia del observador. Sin embargo, en todos los casos el espectro de impedancias debe cumplir con las siguientes características: i) alta resolución, ii) baja incertidumbre y iii) gran sensibilidad, principalmente, con las cuales es posible realizar un posterior análisis de los datos experimentales sin pérdida de información sustantiva.

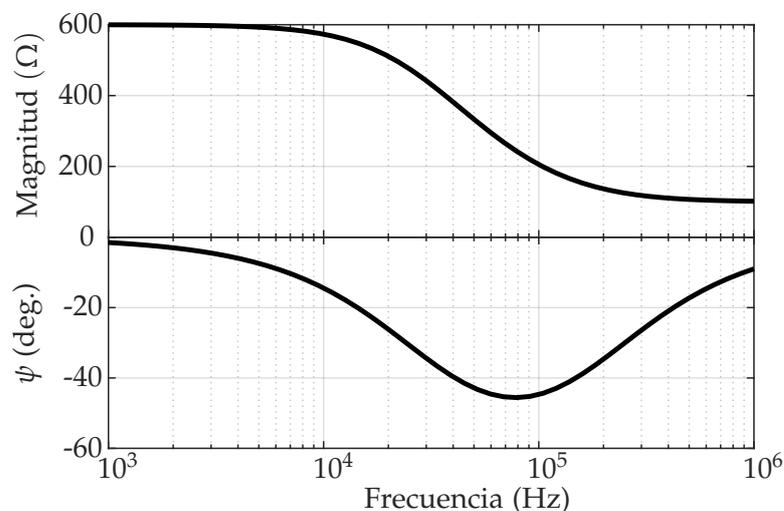


Figura 2.2: Diagrama de Bode típico de un experimento de espectroscopia de impedancia eléctrica.

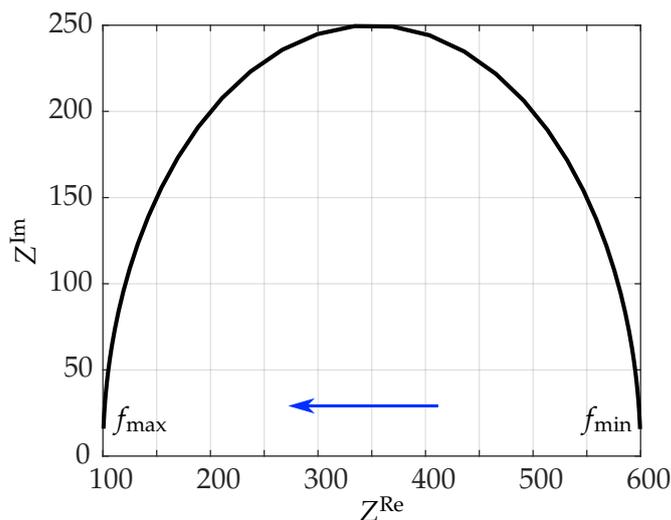


Figura 2.3: Diagrama de Nyquist típico de un experimento de espectroscopia de impedancia eléctrica.

2.4. Modelos de interpretación de impedancia eléctrica y circuitos equivalentes

Dado que los medios biológicos presentan fuertes propiedades dieléctricas y conductoras, además de una marcada dependencia respecto a la frecuencia del campo eléctrico aplicado, la forma más intuitiva de poder modelar la respuesta eléctrica asociada a una impedancia, es mediante el uso de circuitos equivalentes [33]. A continuación se presentan las configuraciones comúnmente empleadas en el ámbito de la EIS en medios biológicos.

Suposición 2. En el intervalo de frecuencias a analizar durante este trabajo, 1.e., desde 1 kHz a 1 MHz, se puede establecer que tanto $\sigma(\omega)$ como $\varepsilon(\omega)$ son (quasi)-constantes positivas definidas.

2.4.1. Impedancia de un medio dieléctrico y conductor

Proposición 4. Un medio con permitividad $\varepsilon(\omega) \in \mathbb{C}$ y conductividad $\sigma(\omega) \in \mathbb{C}$, puede ser modelado con un circuito eléctrico LT1 de primer orden con una capacitancia C en paralelo con una resistencia R , denominado circuito de única relajación.

Prueba. Considere que el material se coloca entre dos placas conductoras, formando un capacitor de placas paralelas. La capacitancia C de un capacitor con placas de área A , separadas una distancia d es

$$C \triangleq \frac{A}{d} \varepsilon_0 \varepsilon(\omega), \quad (2.43)$$

en donde la permitividad está definida en la ec. 2.8, por lo que considerando a la conductividad, la expresión para la capacitancia se redefine como

$$C \triangleq \kappa \varepsilon_0 \left(\varepsilon_r + j \frac{\sigma}{\varepsilon_0 \omega} \right), \quad (2.44)$$

donde $\kappa = A/d$ es llamado factor geométrico, mientras que $\varepsilon(\omega) \approx \varepsilon_D(\omega)$. Por otro lado, siguiendo la definición de la admitancia de un capacitor Y_C y sustituyendo la ec. 2.44 se tiene que,

$$\begin{aligned} Y_C(j\omega) \triangleq j\omega C &= j\omega \kappa \varepsilon_0 \left(\varepsilon_r - j \frac{\sigma}{\varepsilon_0 \omega} \right) = \kappa \left(\sigma + j\omega \varepsilon_0 \varepsilon_r \right) \\ &= G + jB \\ &= 1/R + j\omega C. \end{aligned} \quad (2.45)$$

Finalmente, de acuerdo con la teoría de circuitos [44], la ec. 2.45 se refiere a la admitancia equivalente de un circuito con una resistencia $R = 1/G = 1/(\kappa\sigma)$, en paralelo con un capacitor $C = B/\omega = \kappa\varepsilon_0\varepsilon_r$. ■

Definición 7. La impedancia $Z_{RCp}(j\omega)$ de un circuito R-C de primer orden, con una resistencia en paralelo con un capacitor (2.4(a)), está dada por el siguiente modelo

$$Z_{RCp}(j\omega) \triangleq \frac{1}{Y_C} = \frac{R}{1 + j\omega\tau_{RC}}, \quad (2.46)$$

en donde $\tau_{RC} = RC$ se denomina constante de tiempo.

Definición 8. La impedancia $Z_{RCs}(j\omega)$ de un circuito R-C de primer orden, con una resistencia en serie con un capacitor (2.4(b)), está dada por el siguiente modelo

$$Z_{RCs}(j\omega) \triangleq \frac{1 + j\omega\tau_{RC}}{j\omega C}, \quad (2.47)$$

en donde $\tau_{RC} = RC$ se denomina constante de tiempo.

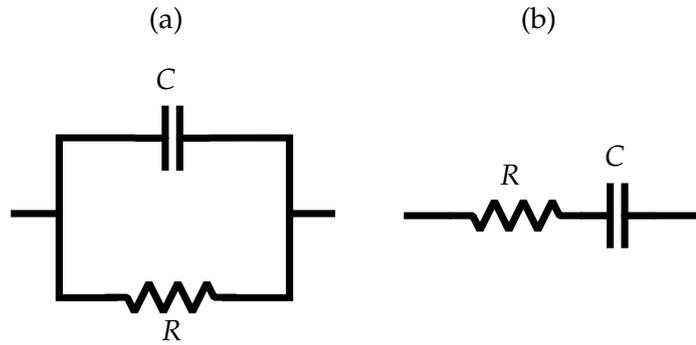


Figura 2.4: Circuito R-C equivalente (a) en paralelo y (b) en serie.

Suposición 3. La constante de tiempo τ_{RC} puede asociarse físicamente al tiempo de relajación de un material τ , en el caso del modelo de Debye (ec. 2.29), tal que

$$\tau \approx \tau_{RC}.$$

Observación 5. La constante de tiempo ó tiempo de relajación τ se relaciona con la llamada frecuencia característica $\omega_c = 2\pi f_c$ en el espectro de impedancias.

$$\omega_c = \frac{1}{\tau} \rightarrow f_c = \frac{1}{2\pi\tau}.$$

La frecuencia característica corresponde al valor máximo local de la componente imaginaria Z^{Im} y al punto de inflexión de la componente real Z^{Re} , ambas como función de la frecuencia. La Fig. 2.5 muestra el diagrama de Bode ilustrando la frecuencia característica de un circuito R-C.

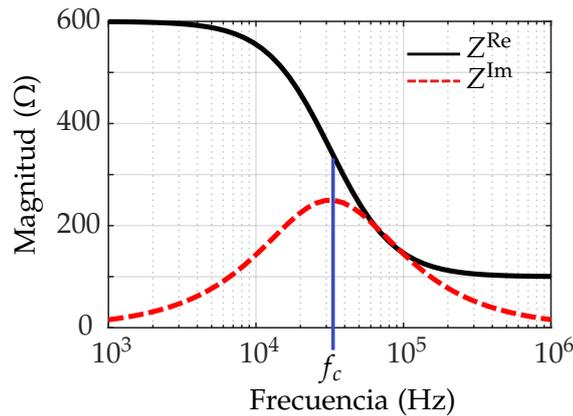


Figura 2.5: Diagrama de Bode para las componentes real Z^{Re} e imaginaria Z^{Im} de la impedancia, con un punto de inflexión y máximo local, respectivamente, ubicado en la frecuencia característica f_c .

2.4.2. Impedancia de un medio heterogéneo

De manera análoga al análisis anterior, es posible obtener una expresión para la impedancia de un medio heterogéneo, considerando n materiales que lo conforman, cada uno con una permitividad $\varepsilon_i(\omega)$ y conductividad $\sigma_i(\omega)$, asociadas.

Proposición 5. *Un medio biológico puede ser modelado como un sistema dinámico LTI, de orden n , con n polos ubicados en $\tau_i \forall i = 1, 2, \dots, n$. Denominado circuito con múltiples relajaciones.*

Prueba. Considere un medio heterogéneo con $n = 2$ materiales, en el cual un campo eléctrico \vec{E} atraviesa perpendicularmente la interfaz entre dos medios como se muestra en la Fig. 2.6.

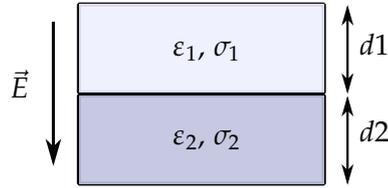


Figura 2.6: Campo eléctrico perpendicular a la interfaz entre dos medios dieléctricos conductores.

Así, en la frontera entre los dos medios se tiene la condición para las componentes normales del campo eléctrico,

$$E_{n1}\varepsilon_1 = E_{n2}\varepsilon_2. \quad (2.48)$$

Por otro lado, la relación entre las componentes de densidad de corriente en la interfaz es,

$$\frac{J_1}{J_2} = \frac{\sigma_1 E_{n1}}{\sigma_2 E_{n2}} = \frac{\sigma_1 \varepsilon_2}{\sigma_2 \varepsilon_1}. \quad (2.49)$$

La permitividad y la conductividad totales ε_T y σ_T , pueden ser obtenidas con la capacitancia del arreglo, considerando $d = d_1 + d_2$. Si cada material es modelado como un capacitor, cuyo espesor $d_i \forall i = 1, 2$, es equivalente a la separación entre placas de un capacitor, se tiene que,

$$\frac{d}{\varepsilon_T - j\sigma_T/\omega\varepsilon_0} \triangleq \frac{d_1}{\varepsilon_1 - j\sigma_1/\omega\varepsilon_0} + \frac{d_2}{\varepsilon_2 - j\sigma_2/\omega\varepsilon_0}. \quad (2.50)$$

Tomando la admitancia y la impedancia de cada elemento de acuerdo a las ecs. 2.45 y 2.47, la impedancia equivalente Z_{MRs} de múltiples relajaciones en serie es

$$Z_{MRs}(j\omega) = \frac{R_1}{1 + j\omega\tau_1} + \frac{R_2}{1 + j\omega\tau_2}, \quad (2.51)$$

donde $\tau_i = R_i C_i \forall i = 1, 2$, corresponden a las constantes de tiempo asociadas a cada circuito.

En general, si un medio heterogéneo está formado por n materiales, la impedancia equivalente es

$$Z_{MRs}(j\omega) \triangleq \sum_{i=1}^n \frac{R_i}{1 + j\omega\tau_i}. \quad (2.52) \quad \blacksquare$$

La Fig. 2.7 muestra el circuito equivalente de un medio heterogéneo con múltiples relajaciones en serie.

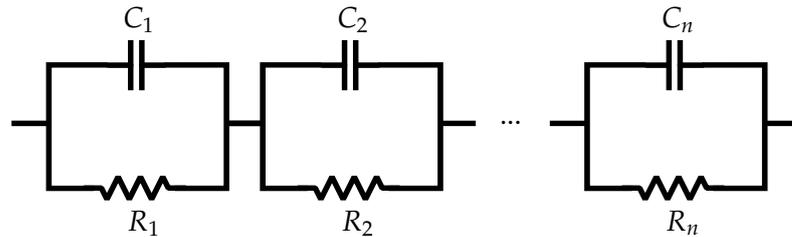


Figura 2.7: Circuito eléctrico equivalente de un medio heterogéneo con múltiples relajaciones en serie.

El circuito anteriormente descrito se debe al efecto de Maxwell-Wagner [6], el cual establece procesos de relación interfacial que ocurren en sistemas en donde la corriente eléctrica debe fluir a través de una interfaz con dos o más materiales dieléctricos y constituye la base de modelos de análisis más robustos para medios biológicos.

Considere un medio heterogéneo formado por n materiales. Dentro de dicho medio ocurren múltiples procesos de interacción, lo cual puede causar que el comportamiento dieléctrico del material bajo estudio presente múltiples fenómenos de relajación, cada uno asociado a un tiempo de relajación τ_i para $i = 1, 2, \dots, n$. Físicamente, esta situación se interpreta como una desviación del fenómeno de relajación de Debye, es decir, el medio no presentará exactamente las características descritas por dicho modelo, por lo que es necesario establecer modelos más robustos que permitan analizar el espectro dieléctrico o de impedancias a fin de revelar los mecanismos y procesos de relajación presentes en la muestra. El caso más simple se presenta

2.4. Modelos de interpretación de impedancia eléctrica y circuitos equivalentes

cuando la respuesta del medio puede ser modelada como la superposición de n términos del modelo de Debye.

Definición 9. *La respuesta eléctrica de un medio biológico debe ser modelada al menos como la sumatoria de n procesos de relajación descritos cada uno por el modelo de Debye (ec. 2.29).*

$$\varepsilon_{\text{BIO}}(\omega) \triangleq \varepsilon_{\infty} + \sum_{i=1}^n \frac{\Delta\varepsilon_i}{1 + j\omega\tau_i}, \quad (2.53)$$

donde $\Delta\varepsilon_i$ corresponde a los límites de la región de dispersión caracterizada por el tiempo de relación τ_i .

Observación 6. *Sí los tiempos de relación de la ec.2.53 están bien separados entre sí, tal que,*

$$\tau_1 \ll \tau_2 \ll \dots \ll \tau_n,$$

entonces el espectro de impedancias mostrará claramente las diferentes regiones de dispersión como función de la frecuencia, a través de las frecuencias características $f_{c,1}, f_{c,2}, \dots, f_{c,n}$.

Sin embargo, en la práctica es comúnmente difícil encontrar un material que cumpla con la observación anterior. Por el contrario, la respuesta del material mostrará una dispersión amplia en donde se engloban todos los tiempos de relajación.

Definición 10. *La respuesta eléctrica de un medio biológico con una dispersión amplia en el espectro de impedancias puede ser descrita por una función continua de distribución $g(\tau)$ que agrupe a los procesos de relajación, dada por*

$$\varepsilon_{\text{BIO}}(\omega) \triangleq \varepsilon_{\infty} + \Delta\varepsilon \int_0^{\infty} \frac{g(\tau)d\tau}{1 + j\omega\tau}; \quad \int_0^{\infty} g(\tau)d\tau = 1. \quad (2.54)$$

La ec. 2.54 es entonces la suma de un número infinito de procesos de Debye, la cual puede ser usada para representar las dispersiones en el espectro mediante una función adecuada $g(\cdot)$. Sin embargo, en la práctica es necesario resolver dicha integral, lo cual resulta matemáticamente complicado o encontrar una función empírica a partir del espectro observado.

2.4.3. Modelo de Cole-Cole

Uno de los modelos comúnmente usado para la descripción de múltiples procesos de relajación fue presentado en 1941 por K.S. Cole y R.H. Cole [45]. El modelo de Cole-Cole es una modificación a la expresión de Debye (ec. 2.29).

Definición 11. El modelo para la función dieléctrica de Cole-Cole $\epsilon_{CC} \in \mathbb{C}$, agrupa múltiples tiempos de relajación asociados a diversos términos de Debye, y está dado por,

$$\epsilon_{CC}(\omega) \triangleq \epsilon_{\infty} + \frac{\Delta\epsilon}{1 + (j\omega\tau_{CC})^{\alpha}}, \quad (2.55)$$

en donde el exponente $0 < \alpha \leq 1$ es un parámetro asociado a la distribución de tiempos de relajación, el cual agrupa a los diversos mecanismos y procesos involucrados en el material. Mientras que el parámetro τ_{CC} es una fracción de todos los tiempos de relajación.

Observación 7. Note que en el modelo de Cole-Cole (ec. 2.55) sí $\alpha = 1$, entonces se tiene el modelo de Debye para la permitividad.

Análogamente, K.S. Cole en [17] presentó una alternativa para el espectro dieléctrico en términos de un modelo de impedancia eléctrica.

Definición 12. El modelo de Cole-Cole para la impedancia $Z_{CC}(j\omega) \in \mathbb{C}$ es equivalente al de la permitividad, dado por una transformación entre la variable ϵ_{CC} y una variable Z_{CC} .

$$Z_{CC}(j\omega) \triangleq R_{\infty} + \frac{R_p}{1 + (j\omega\tau_{CC})^{\alpha}} = Z_{CC}^{\text{Re}} + jZ_{CC}^{\text{Im}}, \quad (2.56)$$

en donde $R_p \triangleq \Delta R = R_{\infty} - R_s$ es la diferencia entre la resistencia a bajas frecuencias R_s y la resistencia a altas frecuencias R_{∞} .

Observación 8. Note que la dinámica del modelo para ϵ_{CC} es igual a la de la impedancia $Z_{CC}(j\omega)$, por lo que su tratamiento desde el punto de vista matemático puede ser similar.

Así, en términos del parámetro α , éste es comúnmente interpretado como:

- Una medida de la distribución de tiempos de relajación.
- La desviación de un resistor y/o un capacitor ideal en términos del circuito equivalente.
- La existencia de procesos de difusión en el medio a caracterizar [1].

La Fig. 2.8 ilustra el comportamiento de la parte imaginaria Z^{Im} como función de la frecuencia para diferentes valores de α en el rango de 0.1 a 1. En ella se puede observar que a medida que α aumenta su valor, el ancho del espectro se va reduciendo hasta el punto en que solo existe un tiempo de relajación. Por ende, un valor bajo de α implica una amplia dispersión y diversos tiempos de relajación, mientras que a medida que $\alpha \rightarrow 1$ la dispersión de tiempos se reduce.

2.4. Modelos de interpretación de impedancia eléctrica y circuitos equivalentes

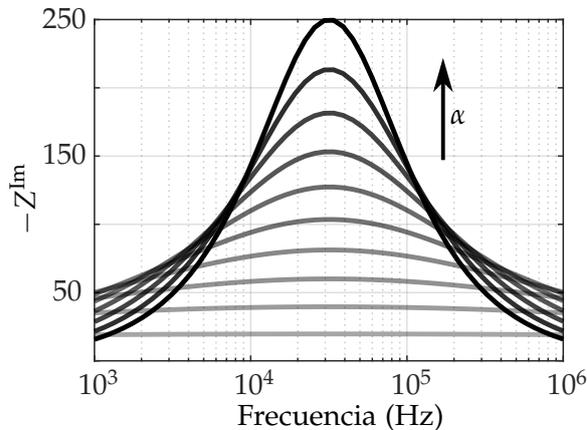


Figura 2.8: Comportamiento de la parte imaginaria de la impedancia Z^{Im} como función de la frecuencia, para diferentes valores del parámetro α del modelo de Cole-Cole.

El modelo de Cole-Cole encuentra su principal aplicación en sistemas que se desvían de un sólo tiempo de relajación, y es el mayormente usado para analizar el espectro de impedancias en mediciones de medios biológicos.

Sin embargo desde el punto de vista físico, el modelo presenta la desventaja de no poder distinguir claramente procesos que puedan ser característicos del medio a estudiar.

Observación 9. *El modelo de Cole-Cole puede ser complicado de interpretar físicamente dado que es un sistema de orden fraccionario. Por otro lado, desde el punto de vista dinámico este no es más un LTI y las herramientas de análisis deben considerar otros aspectos [46].*

Circuito equivalente

Dado que el modelo de Cole-Cole para la impedancia involucra elementos eléctricos, éste mantiene una estructura muy similar al circuito equivalente para un medio dieléctrico y conductor (Fig. 2.4(a)). En la Fig. 2.9 se muestra el circuito del modelo de Cole-Cole, el cual añade una resistencia más en serie R_∞ , la cual no afecta la dinámica del circuito. Por otro lado, el capacitor considerado es de orden fraccionario, lo que implica que exista el parámetro α en el denominador del modelo 2.56. Si $\alpha = 1$ entonces se tiene un circuito R-C en paralelo convencional denominado en la literatura circuito *Randles* [47] ó circuito *Voigt* [48], dependiendo el área de aplicación.

Finalmente es importante mencionar que el circuito anterior puede asociarse a un medio heterogéneo, tal que si existen n regiones de dispersión, puede modelarse como la suma de n circuitos equivalentes con el modelo,

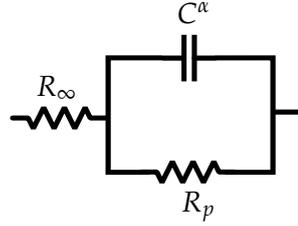


Figura 2.9: Estructura del circuito equivalente asociado al modelo de Cole-Cole.

$$Z_{CC}(j\omega) \triangleq R_\infty + \sum_{i=1}^n \frac{R_{p,i}}{1 + (j\omega\tau_{i,CC})^\alpha}. \quad (2.57)$$

2.4.4. Modelo de distribución de tiempos de relajación(DRT)

El modelo de distribución de tiempos de relajación (DRT) [23] es usado como un mecanismo de interpretación de datos de impedancia, comúnmente usado en aplicaciones electroquímicas. Con él, es posible encontrar un mecanismo de caracterización del material bajo prueba tal que éste separa los diferentes procesos de relajación con diferentes constantes de tiempo, y provee acceso directo a la escala de distribución de τ_i para $i = 1, 2, \dots, n$. El modelo DRT toma como base las ecs. 2.54 en donde múltiples relajaciones son modeladas por la función $g(\tau)$, las cuales pueden ser identificadas a partir de mediciones de impedancia \tilde{Z} y transformadas del dominio de la frecuencia a un dominio de constantes de tiempo.

Definición 13. El modelo de impedancia DRT, $Z_{DRT}(j\omega) \in \mathbb{C}$, está definido como la suma de un número $R_\infty \in \mathbb{R}_{\geq 0}$, y una expresión integral.

$$Z_{DRT}(j\omega) = R_\infty + \int_0^\infty \frac{g(\tau)}{1 + j\omega\tau} d\tau, \quad (2.58)$$

en donde R_∞ es la resistencia a altas frecuencias, y la integral corresponde a una de Fredholm del primer tipo [49] con núcleo o kernel $\mathcal{K} \triangleq (1 + j\omega\tau)^{-1}$.

La definición anterior establece que el espectro de impedancias puede ser representado mediante la conexión de $n \rightarrow \infty$ circuitos R-C en paralelo, más una resistencia en serie R_∞ , como se observa en la Fig. 2.10.

Observación 10. Note que el modelo DRT de la ec. 2.58 considera una función de distribución en un dominio lineal de constantes de tiempo τ ; sin embargo, en la práctica los datos \tilde{Z} son medidos mediante EIS en una escala logarítmica, por lo que es posible establecer una función auxiliar en la ec. 2.58, tal que

$$g(\tau) = \frac{\gamma(\ln \tau)}{\tau}.$$

2.4. Modelos de interpretación de impedancia eléctrica y circuitos equivalentes

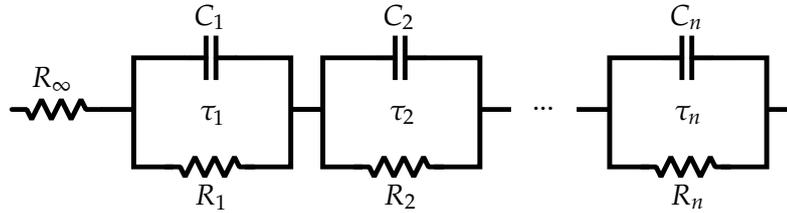


Figura 2.10: Estructura del circuito equivalente asociado al modelo de DRT.

Sustituyendo la función $\gamma(\ln \tau)$ en la integral de Fredholm, es posible reescribir el modelo DRT como

$$Z_{\text{DRT}}(\omega) = R_{\infty} + \int_0^{\infty} \frac{\gamma(\ln \tau)}{1 + j\omega\tau} d(\ln \tau), \quad (2.59)$$

en donde el término $\gamma(\cdot)$ es la función de distribución que agrupa todos los procesos de relajación involucrados en el material. Es importante observar desde el punto de vista matemático que el modelo de la ec. 2.59 representa un problema indeterminado y con una infinidad de soluciones. Por otro lado, desde el punto de vista físico el modelo resulta ser un problema inverso en donde se busca una transformación no-trivial del dominio de la frecuencia a un dominio de tiempos de relajación.

Diversos grupos han trabajado en la solución del problema, por ejemplo, en [50] se propone el método de división espectral, en [51] se emplea una solución iterativa con un algoritmo de reconstrucción algebraico, y mediante un análisis de Fourier en [52]. Recientemente, el trabajo desarrollado en [53] y [54], presenta una solución aproximando a la función $\gamma(\cdot)$ mediante funciones continuas por partes. Así, tomando dichas referencias como base, en esta tesis se propone la solución del problema utilizando un enfoque paramétrico basado en la colocación de funciones base ó *kernels*, cuya solución se presenta detalladamente en el Capítulo 4.

Los conceptos abordados en este capítulo pretenden ser un marco formal de referencia para el lector. Se presentaron las definiciones más importantes sobre las propiedades eléctricas de medios biológicos, desde un punto de vista físico, pasando por el concepto de impedancia eléctrica en términos de las señales voltaje y corriente, hasta finalmente abordar los modelos de interpretación del espectro de impedancias comúnmente utilizados en diversas aplicaciones. Con ello, en el siguiente capítulo se describen los bloques más importantes que componen a los sistemas de medición de impedancia desarrollados.

Capítulo 3

Sistema de medición multifrecuencia

Se presenta el diseño y desarrollo de dos sistemas de medición de impedancia eléctrica, los cuales son la base de los resultados obtenidos en este trabajo. Se muestran las etapas más importantes que los conforman, así como la diferencia entre ellos en términos de velocidad de procesamiento, robustez y área de aplicación.

3.1. Analizador con detector de ganancia y fase

El sistema de medición basa su funcionamiento en el método de cuatro electrodos, en el cual una corriente alterna se hace circular por el tejido empleando los electrodos externos, y el voltaje resultante se mide por los electrodos internos. La magnitud de la impedancia asociada al tejido es cuantificada mediante el cociente entre el voltaje medido y la corriente aplicada, mientras que la fase entre ambas señales es determinada empleando un arreglo de detectores logarítmicos. El procesamiento de datos para obtener los valores de la impedancia en forma polar y binómica se realiza con un microcontrolador de 32 bits. El sistema desarrollado es capaz de generar una corriente de amplitud constante $I = 400\mu A$, en el rango de 100 Hz a 1 MHz, mientras que la impedancia de carga conectada puede variar entre 10Ω y $10\text{ k}\Omega$. La Fig. 3.1 muestra el diagrama del sistema desarrollado, incluyendo las etapas más relevantes de éste.

El diseño del sistema tiene como unidad central de procesamiento a un microcontrolador de 32 bits (ARM CORTEX M-4) capaz de realizar tareas de procesamiento digital de señales.

Una señal senoidal de voltaje es generada por medio de un circuito DDS (*Digital Direct Synthesis*), en cuya salida se añade una etapa de acoplamiento a corriente alterna mediante un filtro paso-altas y un seguidor de voltaje. La señal de voltaje resultante es introducida a una fuente de corriente contro-

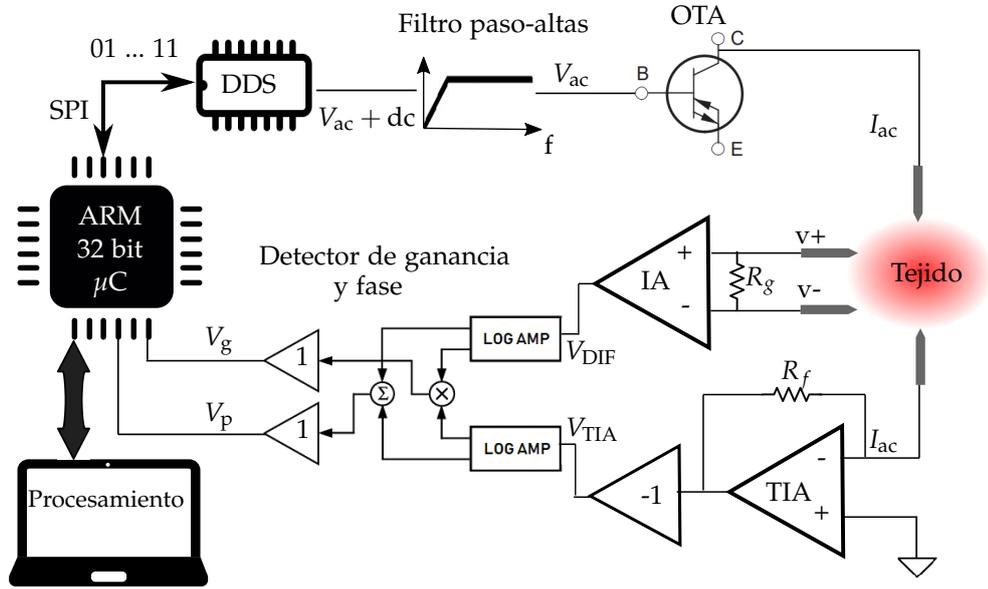


Figura 3.1: Diagrama de bloques del sistema de medición de impedancias con detector de ganancia y fase.

lada por voltaje que servirá como señal de excitación al tejido a través del electrodo superior. La corriente es medida en el electrodo inferior mediante un amplificador de transimpedancia de bajo ruido, con un ancho de banda de 65 MHz. La salida de este último V_{TIA} es proporcional a la corriente medida. De acuerdo a la ley de Ohm, en los electrodos V_+ y V_- existe una diferencia de potencial en el tejido, medida mediante un amplificador de instrumentación, cuya salida es la señal V_{DIF} . Las señales V_{DIF} y V_{TIA} son introducidas a un circuito detector de ganancia y fase, el cual presenta en su salida, un voltaje V_g de 30 mV/dB proporcional a la relación entre las señales medidas, y un voltaje V_p que relaciona la diferencia de fase entre las entradas mediante 10 mV/deg. Finalmente, los voltajes anteriores son digitalizados con el microcontrolador y procesados para obtener el valor de la impedancia medida $\tilde{Z} = \tilde{Z}^{Re} + j\tilde{Z}^{Im}$.

3.1.1. Generador de señal

El circuito AD9854 (*Analog Devices*TM) es el encargado de generar la señal senoidal que sirve como base para el sistema de medición. Este circuito es controlado por el microcontrolador mediante el protocolo SPI (*Serial Peripheral Interface*). La sintonización de la frecuencia de salida f_o se realiza mediante una palabra binaria (*FTW: Frequency Tunning Word*) de N bits calculada mediante

$$FTW = (f_o \cdot 2^N) / SCLK, \quad (3.1)$$

donde N tiene una longitud máxima de 48 bits y $SCLK=25$ MHz, es el reloj de sincronización propio del AD9854.

3.1.2. Fuente de corriente

Una etapa de suma importancia en el sistema propuesto es la fuente de corriente controlada por voltaje, la cual debe cumplir con dos características principales: amplio ancho de banda y capacidad de soportar un rango elevado de valores para la impedancia de carga. El diseño de la fuente se basa en un amplificador de transconductancia (OTA) construido con el circuito OPA860 (*Analog Devices*TM).

3.1.3. Electrodo

La configuración del sistema de medición emplea el método de cuatro puntas o electrodos, los cuales deben ser lo suficientemente delgados para minimizar la pronta destrucción del tejido, deben estar equidistantes entre sí y tener una longitud mayor que su ancho. Los electrodos empleados tienen geometría de aguja y son del tipo utilizado en estudios encefalográficos de aplicación subdérmica. A fin de garantizar la estabilidad mecánica de las puntas, éstas son colocadas en un soporte de acrílico. En la Fig. 3.2 se muestra un diagrama esquemático del arreglo de electrodos empleados.

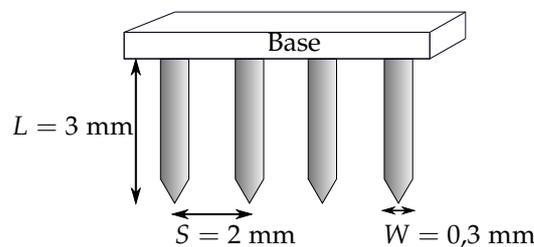


Figura 3.2: Esquema del arreglo de electrodos en configuración tetrapolar.

Factor geométrico

Al realizar mediciones de parámetros eléctricos en materiales es necesario determinar el factor geométrico (Γ) de los electrodos de medición. Para el caso de un arreglo de cuatro electrodos en punta, dicho factor está dado por [55],

$$\Gamma \triangleq \frac{2}{\pi L} \left(\frac{\eta}{1 - \eta^2} \right), \quad (3.2)$$

siendo L la longitud de cada electrodo, S la separación entre electrodos, W su diámetro, y $\eta = S/L$. Así, el factor geométrico de los electrodos en el sistema de medición es $\Gamma = 4/5\pi$.

3.1.4. Amplificador de instrumentación

El voltaje presente en el tejido biológico, al hacer circular la corriente alterna a través de éste, es de tipo diferencial con una baja relación señal a ruido, por tal motivo es necesario emplear un circuito con alta impedancia de entrada, que sea capaz de medir la señal diferencial con una cierta ganancia y que rechaze las señales en modo común. Para ello se ha diseñado un amplificador de instrumentación (IA) con base en el amplificador operacional AD8066 (*Analog Devices*TM) con tecnología *FastFET* de ultra bajo ruido. El IA además de cumplir con las características anteriores, es capaz de operar en un ancho de banda de 10 MHz y con selección de ganancia por la resistencia R_g . Finalmente, el IA presenta en su salida la señal de voltaje llamada V_{DIF} .

3.1.5. Amplificador de transimpedancia

La medición de la corriente I_{ac} que circula por el tejido se realiza con un circuito convertidor de corriente a voltaje, llamado amplificador de transimpedancia. El circuito hace uso del amplificador operacional AD8065 con una resistencia de realimentación $R_f = 510\Omega$. La salida del circuito corresponde al voltaje V_{TIA} , proporcional a la corriente medida mediante la resistencia R_f , dado por:

$$V_{TIA} = -R_f \cdot I_{ac}. \quad (3.3)$$

3.1.6. Detector de ganancia y fase

La medición de impedancia eléctrica se realiza mediante el circuito detector de ganancia y fase AD8302 (*Analog Devices*TM), el cual toma las señales V_{DIF} y V_{TIA} . Dichas señales son comparadas mediante un arreglo de amplificadores logarítmicos para determinar la relación entre las magnitudes de los voltajes V_{DIF} y V_{TIA} , así como el ángulo de fase entre ellos. El detector presenta en su salida dos voltajes en corriente directa, uno proporcional a la magnitud V_m y otro a la fase V_p , dados por las siguientes expresiones

$$\begin{aligned} V_m &= \alpha_1 \cdot \log\left(\frac{V_{DIF}}{V_{TIA}}\right) + 900\text{mV} \quad \text{y} \\ V_p &= \alpha_2 \cdot (\theta_{V_{DIF}} - \theta_{V_{TIA}} - 90\text{deg.}) + 900\text{mV}, \end{aligned} \quad (3.4)$$

donde $\alpha_1 = 600\text{mV/decada}$ y $\alpha_2 = -10\text{mV/deg.}$

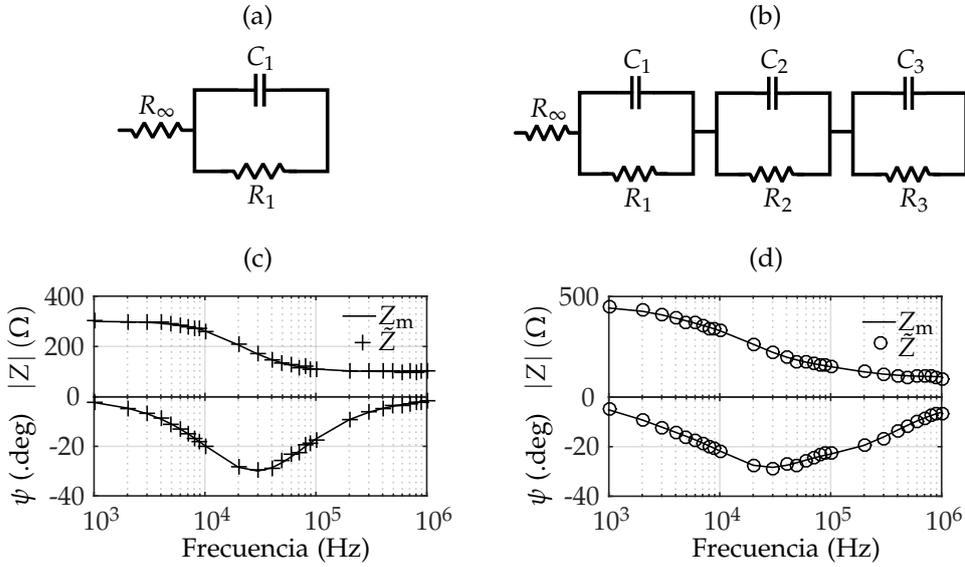


Figura 3.3: Circuitos de calibración del sistema de medición con detector de ganancia y fase.

Finalmente, la impedancia medida \tilde{Z} está dada en términos de su magnitud $|\tilde{Z}|$ y el ángulo de fase ψ . Dichos valores son obtenidos para cada frecuencia, usando las siguientes relaciones,

$$|\tilde{Z}| = R_f \cdot 10^{\frac{V_m - 900\text{mV}}{600\text{mV}}} \quad \text{y} \quad \psi = - \left(\frac{900\text{mV} - V_p}{10\text{mV/deg.}} + 90 \text{ deg.} \right). \quad (3.5)$$

3.1.7. Calibración del sistema

Con la finalidad de verificar el funcionamiento del instrumento EIS de ganancia y fase, así como validar el modelo DRT, se midió la impedancia de dos conjuntos de circuitos eléctricos RC mostrados en las Fig. 3.3(a) y 3.3(b), respectivamente. Los circuitos fueron construidos usando los siguientes elementos, $R_\infty = 100\Omega$, $R_1 = 200\Omega$, $C_1 = 48\text{nF}$, $R_2 = 100\Omega$, $C_2 = 470\text{nF}$, $R_3 = 50\Omega$ y $C_3 = 22\text{nF}$. Los valores teóricos de las constantes de tiempo asociadas son $\tau_{\text{th},1} = 9,6 \times 10^{-6}\text{s}$, $\tau_{\text{th},2} = 5,0 \times 10^{-5}\text{s}$ y $\tau_{\text{th},1} = 1,1 \times 10^{-6}\text{s}$. En las Fig. 3.3(c) y 3.3(d), se muestran los diagramas de Bode de las mediciones EIS (símbolos) y su comparación con la respuesta en frecuencia teórica de la impedancia equivalente del circuito (línea continua) calculada con la Ec. 2.52. Es importante resaltar que los datos experimentales presentan una diferencia relativa menor al 4% con respecto a los datos teóricos.

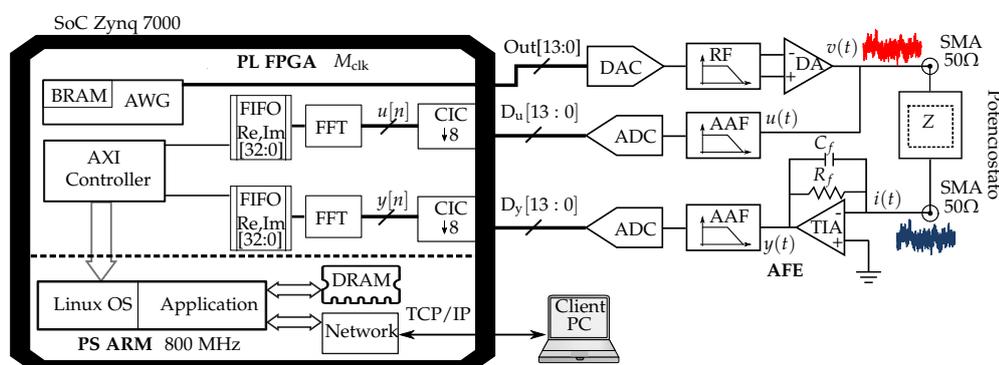


Figura 3.4: Diagrama de bloques del sistema de medición con procesamiento espectral.

3.2. Analizador con procesamiento espectral

Dado que una de las principales contribuciones de este trabajo es la propuesta de un esquema de medición de impedancia eléctrica con innovación tecnológica. Se desarrolló un sistema que presenta la siguientes características:

- (i) El uso de un dispositivo integrado *System on Chip* (SoC), el cual conjunta un sistema de lógica programable (PL) dedicado a tareas de *hardware*, así como un sistema de procesamiento (PS), para tareas de alto nivel.
- (ii) Realizar mediciones rápidas de impedancia en escala micrométrica de amplio ancho de banda.
- (iii) Implementar en *hardware* un estimador espectral no paramétrico y asintóticamente eficiente para atenuar el ruido en las mediciones y así obtener datos experimentales con la menor incertidumbre posible.

El diagrama de bloques del sistema desarrollado se muestra en la Fig. 3.4, en donde se distinguen las tres principales etapas: el acondicionamiento electrónico (AFE: *Analog front-end*), la lógica programable y el sistema de procesamiento. El propósito de la etapa AFE es acondicionar las señales de excitación y de salida, voltaje y corriente, respectivamente; usando filtrado, amplificación y conversión de datos. EL bloque PL tiene como base un dispositivo lógico programable (FPGA: *Field Programmable Gate Array*), y realiza las tareas de generación, adquisición y procesamiento digital de las señales. Finalmente, la etapa del PS se encarga de mejorar las calidad de estimación a través de un post-procesamiento de datos, además de ser la etapa encargada de establecer comunicación con una computadora personal (PC).

3.2.1. Circuito potencioestado

Dado que el sistema de medición con procesamiento espectral se pretende diseñar para realizar mediciones de muestras coloidales, en donde partículas dieléctricas se encuentran suspendidas en un electrolito, es necesario adecuar el mecanismo de sensado en cuanto a los electrodos se refiere. Para ello, se hace uso de un circuito denominado potencioestado, ampliamente utilizado en electroquímica [56] y su uso se basa en el hecho de evaluar muestras con una fuerte tendencia conductora, en donde el voltaje aplicado a la muestra no permanece constante debido a caídas de potencial en la propia muestra. En la Fig. 3.5 se muestra un diagrama simple del circuito potencioestado, el cual sirve como base para realizar mediciones EIS.

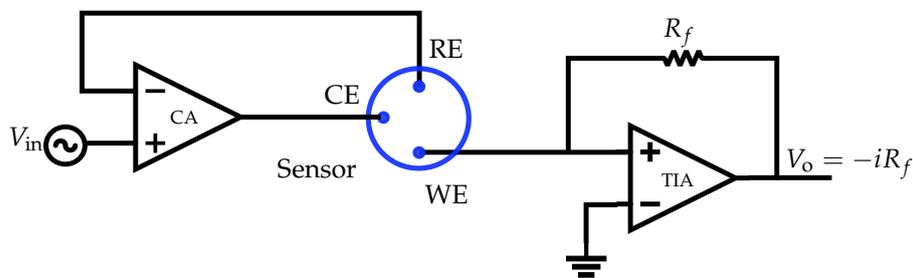


Figura 3.5: Diagrama esquemático de un circuito potencioestado.

El funcionamiento del circuito se da de la siguiente manera:

1. Se aplica un voltaje V_{in} en la entrada no inversora V_+ del amplificador de control (CA).
2. En la entrada inversora V_- del amplificador se conecta el denominado electrodo de referencia (RE: *Reference Electrode*), el cual se encarga de medir la diferencia de potencial V_{WE-RE} , entre el electrodo de trabajo (WE: *Working Electrode*) y el de referencia.
3. El CA compara el voltaje medido V_{WE-RE} con el voltaje aplicado V_{in} y genera la corriente necesaria para hacer que estos voltajes sean iguales. Dado que el funcionamiento de CA, debe cumplir que $V_- = V_+$ y a su retroalimentación negativa, el amplificador compensará el valor de su salida.
4. El voltaje efectivo aplicado al contra-electrodo (CE: *Counter Electrode*) es el necesario, para compensar las caídas de potencial en el WE, debido a su interacción directa con la muestra.
5. La corriente i que fluye por la muestra colocada en el sensor se mide en el electrodo de trabajo, con un amplificador de transimpedancia (TIA).

3.2.2. Etapa de acondicionamiento electrónico

En la etapa AFE, una señal cuantizada $V[n]$, generada por el SoC (ver sección 3.2.3), se convierte en una señal analógica con un circuito AD9717 (DAC: *Digital to Analog Converter*) de 14 bits. La señal se reconstruye con un filtro Butterworth de un séptimo orden (RF), con una frecuencia de corte de 65.5 MHz, para eliminar el contenido de alta frecuencia. Posteriormente, esta señal se transforma de su forma diferencial a una de un solo extremo $v(t)$, por medio de un amplificador diferencial de alto rendimiento (DA) diseñado con un amplificador operacional AD8065. Este voltaje corresponde a la señal de excitación $v(t)$ aplicada a la muestra bajo estudio ó impedancia de carga Z , usando un arreglo de microelectrodos acoplados a 50Ω mediante un conector SMA. La corriente $i(t)$ que fluye a través de la muestra se mide con un amplificador de transimpedancia (TIA) con alta impedancia de entrada de $1T\ \Omega$ y un ruido de $0.6\ \text{fA}/\sqrt{\text{Hz}}$, construido con el circuito integrado AD8671. Para evitar inestabilidad del TIA, debido a la dependencia en frecuencia de su realimentación y a la naturaleza de la impedancia a medir, se agrega un capacitor de compensación C_f en paralelo con la resistencia de realimentación R_f . Con ello, se obtiene un margen de fase estable y un bajo nivel de ruido de salida. La amplitud del voltaje de salida $y(t)$, es proporcional a la corriente por $y(t) \triangleq -R_f i(t)$. Una referencia de la señal de excitación $v(t)$, denominada $u(t)$, y la señal de salida $y(t)$, se limitan en ancho de banda con filtros anti-alias (AAF). Finalmente, las señales se digitalizan mediante dos convertidores AD9246 (ADC) de 14 bits.

3.2.3. Etapa de lógica programable

La etapa PL se basa en el FPGA XC7Z010 Artix-7, el cual tiene 28 mil celdas programables, 2.1 Mb bloques de memoria de acceso aleatorio (BRAM), 80 núcleos de procesamiento digital y un reloj maestro de $M_{\text{clk}} = 125\ \text{MHz}$. El dispositivo es programado usando núcleos IP e interfaces avanzadas extensibles AXI, para transmisión y conexión de datos entre módulos maestros y esclavos [57]. Esta etapa realiza tres tareas principales: i) generación de la señal $V[n]$, ii) adquisición de la señales de referencia $u(t)$ y de salida $y(t)$, y iii) el cálculo de la transformada rápida de Fourier (FFT: *Fast Fourier Transform*), de ambas señales.

Generación de la señal de excitación

Para generar la señal $v(t)$, se implementó un módulo generador de señales arbitrarias (AWG: *Arbitrary Waveform Generator*). La señal que se eligió corresponde a una multi-senoidal, construida mediante la suma finita de un número (F) de senoidales, contenidas en un periodo de tiempo corto, y que además provee interpretación directa en el dominio de la frecuencia gracias a sus propiedades espectrales [58]. Particularmente se consideró una excita-

ción multi-senoidal con fases aleatorias, dada por

$$v(t) = \sum_{k=1}^F A_k \cos(\omega_k t + \varphi_k), \quad (3.6)$$

donde A_k es la amplitud, φ_k es la fase uniformemente distribuida, tal que $\varphi_k \in [0, 2\pi]$ y $\omega_k = \frac{2\pi k f_{\text{sDAC}}}{N_m}$ con N_m el número de muestras en un periodo. La frecuencia de muestreo del DAC es $f_{\text{sDAC}} := M_{\text{clk}}$. La forma de onda es almacenada en la BRAM del FPGA con 32 bits de ancho de palabra y capacidad de 65536 muestras. De acuerdo con el valor de ω_k , un contador de "paso de lectura-se calcula a partir de N_m y f_{sDAC} para acceder coherentemente al contenido de la memoria. Un vector lógico de 14 bits contiene la amplitud de la señal $v(t)$ para ser enviado al DAC y reconstruirla en la AFE. Finalmente, la señal analógica es aplicada a los microelectrodos de sensado, con una amplitud máxima de $\pm 1V$.

Adquisición de señales

Debido a que las mediciones de impedancia están limitadas en un rango de frecuencias, se aprovecha la frecuencia de muestreo del ADC para realizar un filtro de decimación (DF: *Decimation Filter*), dado que, intuitivamente, éste puede mejorar las mediciones en tiempo y reducir el costo computacional del procesamiento. En contraste con un filtro paso-bajas clásico de respuesta finita al impulso (FIR: *Finite Impulse Response*), se implementó el DF con un arreglo de integrador en cascada (CIC: *Cascade-Integrator Comb*), dando como resultado una forma eficiente de implementar un filtro de promedios móviles [59]. El procedimiento resulta en una frecuencia de muestreo efectiva $f_{\text{sADC}} \approx 15,6$ MHz. Las señales de excitación y de salida $u(t)$ and $y(t)$, son muestreadas (a intervalos de muestreo f_{sADC}^{-1}) y adquiridas de forma sincronizada, y temporalmente almacenadas en un par de vectores lógicos de 16 bits $D_u[13 : 0]$ y $D_y[13 : 0]$, respectivamente. Los dos bits más significativos establecen la amplitud de la señal en el rango de valores decimales $[-8192, 8192]$.

Transformada rápida de Fourier

En un evento de disparo, un periodo de cada señal muestreada $u[n]$ y $y[n]$, es procesado con un núcleo FFT, el cual calcula la transformada discreta de Fourier (DFT: *Discrete Fourier Transform*) mediante el algoritmo *Radix-2 Burst* [60]. Después de que un conjunto de datos es cargado, la transferencia de datos se detiene hasta que el cálculo de la FFT termina. El algoritmo usa un enfoque iterativo, en donde los datos son cargados y procesados de forma separada. Así, cuando el procesamiento termina, los datos son descargados y almacenados en un registro (FIFO: *First In First Out*). Cada bloque resultante de la FFT es transferido al PS a través de un controlador

AXI. La explicación detallada del método de procesamiento de señales se da en la sección 3.2.5.

3.2.4. Etapa del sistema de procesamiento

La etapa de procesamiento tiene como elemento central un microcontrolador de 32 bits ARM-Cortex-A9 a 800 MHz. En él se ejecuta una aplicación escrita en lenguaje C, bajo un sistema operativo con núcleo Linux. Dicha aplicación permite la escritura y monitoreo al sistema de medición de forma remota. La aplicación realiza la tarea final de procesamiento para la estimación de impedancia, además de funcionar como un servidor de red. El registro FIFO de la etapa anterior puede entonces ser leído por el sistema operativo como una región de memoria mapeada en la memoria dinámica (DRAM). Esta etapa también se encarga de ordenar los coeficientes resultantes de la FFT en una matriz con P columnas, cada una correspondiente a un periodo procesado, y M filas relacionadas con cada frecuencia excitada. Finalmente, el procesador realiza un promedio espectral de los datos para obtener los valores de impedancia resultantes, los cuales son enviados a una PC usando el protocolo de transferencia TCP/IP.

3.2.5. Estimación de la impedancia

Las señales de referencia $u(t)$ y de salida $y(t)$, están perturbadas por ruido blanco aditivo y estacionario. Esto se debe al ruido intrínseco en los canales de medición producido por el circuito electrónico. En la Fig. 3.6, se muestra la señal de ruido $\eta(t)$ caracterizada usando una frecuencia de muestreo de 125 MHz, y 16384 muestras. La Fig. 3.6(a) presenta la función de distribución Gaussiana que mejor se ajusta al ruido observado, con un valor medio $\mu = 0,06$ mV y desviación estándar $\sigma = 0,5$ mV. Por otro lado, la Fig. 3.6(b) muestra la representación espectral de $\eta(t)$, exhibiendo una distribución circular compleja, la cual satisface probabilísticamente que el valor esperado de la señal cumple que $\mathbb{E}\{\eta(t)\} = 0$. Ésto significa que el ruido blanco aditivo en una cierta frecuencia, no influye en otra, y además no existe correlación del ruido entre diferentes experimentos [61].

En este caso, es posible establecer que las señales medidas están dadas por

$$\begin{aligned} u(t) &= u_0(t) + \eta_u(t) \quad \text{y} \\ y(t) &= y_0(t) + \eta_y(t), \end{aligned} \tag{3.7}$$

donde $u_0(t)$ y $y_0(t)$ son las señales libres de ruido, mientras que $\eta_u(t)$ y $\eta_y(t)$ son las fuentes de perturbación o interferencia, para las señales de excitación y salida, respectivamente. Considere ahora que las secuencia de entrada y salida muestreadas son $\{u[n]\}_{n=0}^{N-1}$ y $\{y[n]\}_{n=0}^{N-1}$, en donde

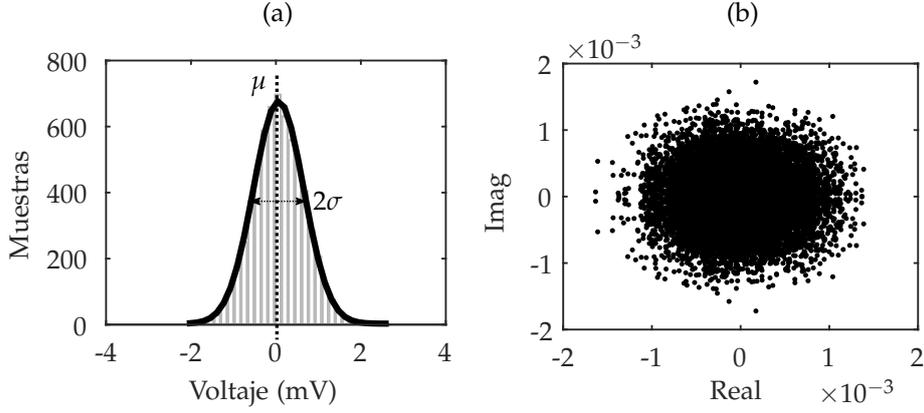


Figura 3.6: Análisis de los datos del ruido aditivo $\eta(t)$. (a) Histograma y ajuste a una distribución Gaussiana. (b) FFT del ruido con distribución compleja circular.

$$\begin{aligned} u[n] &\triangleq u(t = n/f_{sADC}) \quad y \\ y[n] &\triangleq y(t = n/f_{sADC}), \end{aligned} \quad (3.8)$$

con N el número de muestras. Al aplicar la FFT (implantada en el FPGA), las señales en el dominio de la frecuencia se obtienen como sigue,

$$\begin{aligned} U(k) &\triangleq \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_{n=0}^{N-1} u[n] e^{-j\frac{2\pi}{N}nk} = U_0(k) + \eta_U(k) \quad y \\ Y(k) &\triangleq \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_{n=0}^{N-1} y[n] e^{-j\frac{2\pi}{N}nk} = Y_0(k) + \eta_Y(k) \end{aligned} \quad (3.9)$$

de modo que $U(k), Y(k) \in \mathbb{C}$, y $k = 0, \dots, N - 1$.

En general, se busca tener un estimador insesgado, teniendo como consecuencia una alta relación señal a ruido (SNR: *Signal-to-Noise Ratio*) y por ende baja incertidumbre, para su uso subsecuente en el cálculo final de la impedancia. Para este propósito, se recurre a técnicas de análisis espectral presentadas en [58]. Consecuentemente, se implementa en el PS, un estimador no paramétrico que cumpla con eficiencia asintótica y consistencia, cuyo procedimiento se describe en el Algoritmo 1.

La Fig. 3.7 esquematiza el mencionado algoritmo, para las secuencias de datos de entrada y salida, mostrando que el conjunto de N datos adquiridos puede ser dividido en P bloques, para posteriormente obtener la FFT con M puntos para cada bloque de datos.

Algoritmo 1 Estimación no paramétrica de impedancia empleando una señal de excitación multi-senoidal.

- 1: Separar las señales adquiridas en un número entero P de bloques de datos.
- 2: Calcular la FFT para cada bloque, $p \in \{1, \dots, P\}$, como

$$U^{[p]}(k) \triangleq \frac{1}{\sqrt{M}} \sum_{n=0}^{M-1} u[n] e^{-j\frac{2\pi}{M}nk}$$

$$Y^{[p]}(k) \triangleq \frac{1}{\sqrt{M}} \sum_{n=0}^{M-1} y[n] e^{-j\frac{2\pi}{M}nk}; \quad k \in \{0, \dots, M-1\}$$

- 3: Almacenar los resultados de las FFTs de cada bloque P para cada frecuencia M , en una matriz $\mathbf{Z} \in \mathbb{C}^{M \times P}$.
- 4: Aplicar el estimador propuesto mediante el promedio de los P diferentes bloques, para cada frecuencia ω_k .
- 5: **Salida:** $\hat{Z}(j\omega_k)$

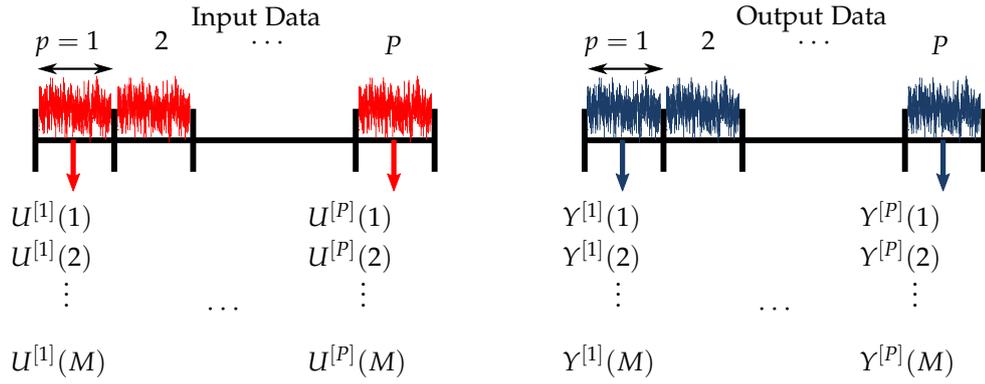


Figura 3.7: Diagrama de la técnica espectral implementada en el SoC para mediciones rápidas de espectroscopia de impedancia eléctrica.

Proposición 6. Un estimador insesgado, asintóticamente eficiente y consistente para la impedancia multifrecuencia $\hat{Z}(j\omega_k)$ está dado por

$$\hat{Z}(j\omega_k) \triangleq \frac{\frac{1}{P} \sum_{p=1}^P U^{[p]}(k)}{\frac{1}{P} \sum_{p=1}^P Y^{[p]}(k)}. \quad (3.10)$$

en donde si se realiza un número grande de experimentos la desviación estándar de la medida $\sigma_Z \rightarrow 0$.

Prueba. El espectro del ruido de entrada $\eta_U(k)$ y de salida $\eta_Y(k)$ (considerado como error de la medición) [58], satisface que

$$\mathbb{E}\{\eta_U^{[p]}(k)\} = 0, \quad \mathbb{E}\{\eta_Y^{[p]}(k)\} = 0, \quad p = 1, 2, \dots \quad (3.11)$$

Además, usando la Ley de grandes números [62], sí el número de experimentos $P \rightarrow \infty$, se tiene que el valor medio de estos corresponde al valor esperado de la variable medida,

$$\begin{aligned} \lim_{P \rightarrow \infty} \frac{1}{P} \sum_{p=1}^P U^{[p]}(k) &= \mathbb{E}\{U(k)\} \quad \text{y} \\ \lim_{P \rightarrow \infty} \frac{1}{P} \sum_{p=1}^P Y^{[p]}(k) &= \mathbb{E}\{Y(k)\}. \end{aligned} \quad (3.12)$$

Combinando las Ecs. 3.12 y 3.10, se obtiene que

$$\hat{Z}(j\omega_k) = \frac{\mathbb{E}\{U(k)\}}{\mathbb{E}\{Y(k)\}}, \quad (3.13)$$

con probabilidad 1, a medida que $P \rightarrow \infty$ (para un valor fijo de P). ■

Observación 11. *Es posible construir un estimador insesgado para la impedancia Z , tal que $\hat{Z}(j\omega_k) \approx Z(j\omega_k)$, aún en presencia de mediciones ruidosas. Sin embargo dado que en la práctica es imposible cumplir que $P \rightarrow \infty$, se debe considerar que existe aún un término σ_Z asociado a la incertidumbre de la medición, tal que*

$$\sigma_z \triangleq (\mathbb{E}\{|\hat{Z}(j\omega_k) - Z(j\omega_k)|^2\})^{1/2}. \quad (3.14)$$

Como resultado, si se incrementa el número de mediciones, la exactitud de la medición también lo hace de acuerdo a [63],

$$\sigma_z = \frac{\sigma}{\sqrt{2P}}. \quad (3.15)$$

Finalmente, es importante mencionar que efectos de fuga espectral (*spectral leakage*) son evitados escogiendo un número de frecuencias medidas M como múltiplo de $\lceil 1/f_{\text{sADC}} \rceil$, de otra forma la fuga espectral debe minimizarse empleando técnicas de ventaneo [64].

3.2.6. Calibración y caracterización del sistema

El sistema de medición fue evaluado utilizando un circuito eléctrico con elementos $R - C$, emulando las características dieléctricas y conductoras de un medio biológico. Las mediciones se realizaron aplicando una señal multi-senoidal $v(t)$, compuesta por $M = 52$ frecuencias de excitación, $\{f_1, f_2, \dots, f_F\}$, en el rango de $f_1 = 1\text{kHz}$ a $f_F = 1\text{MHz}$, con una amplitud de $1V_{\text{rms}}$. En la Fig. 3.8(a) se muestra un periodo de la señal de excitación, mientras que en la Fig. 3.8(b) es mostrado el espectro de dicha señal. Es posible notar que la magnitud del espectro en las frecuencias excitadas es igual para todas ellas, con un valor alrededor de 20 dB, el cual está casi 40 dB por arriba del nivel de ruido, situado entre -20 a -60 dB. Respecto a la etapa de adquisición,

se tomaron $N = 16384$ muestras por periodo, dando como resultado una resolución en frecuencia $\Delta f = 952\text{Hz}$; además se realizan $P = 10$ experimentos o repeticiones para fines de la estimación no paramétrica propuesta. El

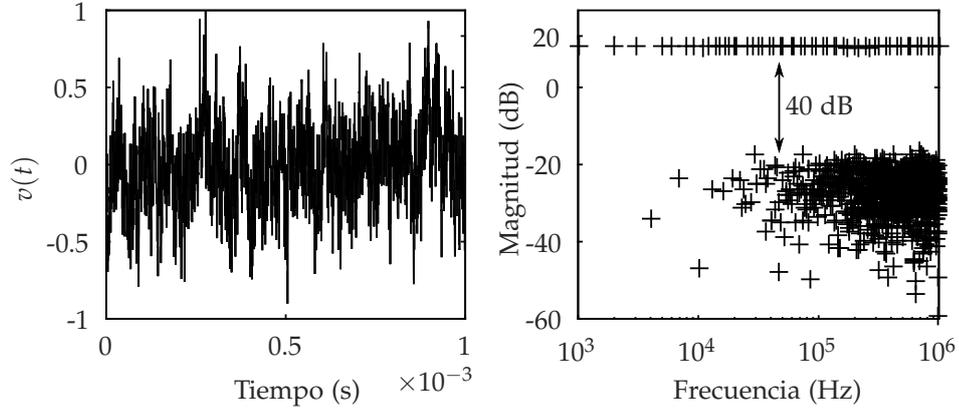


Figura 3.8: Señal multi-senoidal de excitación $v(t)$. (a) Representación temporal and, (b) magnitud del espectro en el dominio de la frecuencia.

circuito de calibración tiene un modelo de impedancia dado por,

$$Z(j\omega) = R_\infty + \frac{R_1}{1 + j\omega R_1 C_1'} \quad (3.16)$$

considerando los valores nominales de los elementos que conforman el circuito $R_\infty = 220\Omega$, $R_1 = 3,3\text{k}\Omega$ and $C_1 = 4,7\text{nF}$. La Fig. 3.9 muestra el diagrama de Bode para la magnitud y la fase φ de los valores de impedancia $Z(j\omega)$, calculados con los valores nominales, así como los puntos obtenidos mediante el procedimiento de medición propuesto en la ec. 3.10, para $\hat{Z}(j\omega)$.

Con la finalidad de evaluar el desempeño del estimador no paramétrico, se usa el error cuadrático medio (MSE: *Mean-Square Error*) como indicador, el cual está definido como sigue,

$$\text{MSE} \triangleq P^{-1} \sum_{k=1}^M (Z(j\omega_k) - \hat{Z}(j\omega_k))^2 \quad (3.17)$$

Uno puede notar en los recuadros al interior de la 3.9 el valor del MSE como función de la frecuencia, para la magnitud y la fase. En ambos casos, el error aumenta cuando la frecuencia también lo hace, dicho efecto se debe a cargas parásitas en la etapa AFE, así como, a otros efectos propios de la electrónica de acondicionamiento. Aún así, el MSE indica un error menor a 1Ω en el caso de la magnitud, mientras que para la fase se encuentra por debajo de 0.1deg. , el cual es relativamente bajo para impedancias y fases en el orden de $10^3\Omega$ y 10^1 deg. , respectivamente.

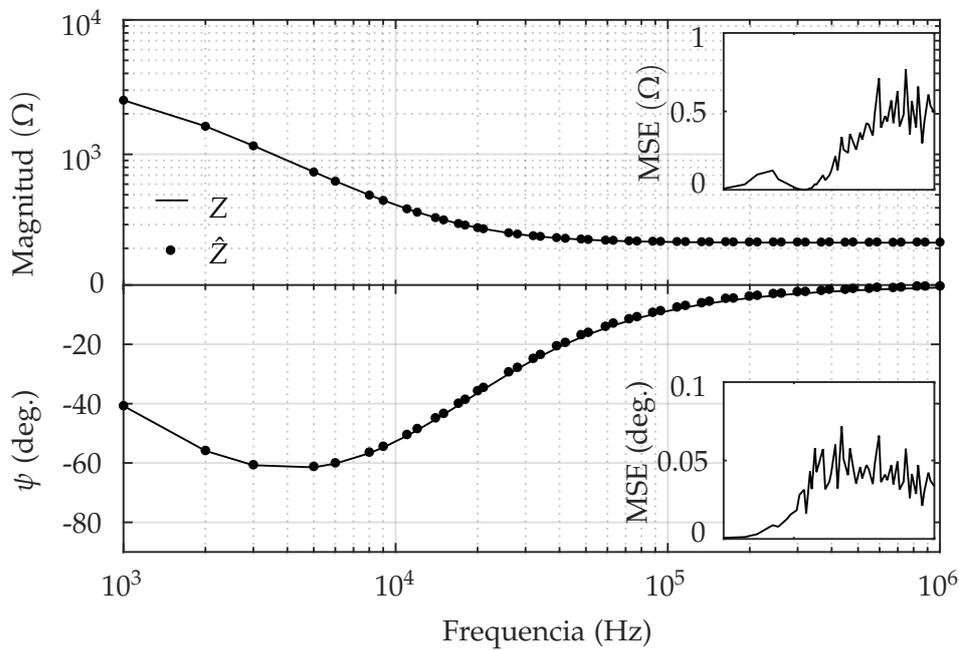


Figura 3.9: Diagrama de Bode de la impedancia estimada con \hat{Z} y el modelo de impedancia Z^* para los valores nominales de $R - C$. El recuadro interno muestra el error MSE para la magnitud y la fase, como función de la frecuencia.

En resumen, este capítulo abordó lo referente a las etapas más importantes que conforman el diseño de dos sistemas de medición de impedancia eléctrica multifrecuencia. Respecto al primero de ellos, el cual tiene como elemento central un circuito detector de ganancia y fase, su desempeño es bueno en términos de incertidumbre de la medición; sin embargo presenta la desventaja de que el tiempo aproximado en realizar una medición en el rango de 1 kHz a 1 MHz es de aproximadamente 5 minutos, debido a que la señal senoidal de excitación se aplica para cada frecuencia a evaluar. Por otro lado, el segundo sistema desarrollado, tiene su parte medular en técnicas de procesamiento digital de señales, las cuales se explotan de tal forma que sea posible obtener mediciones de impedancia multifrecuencia con muy baja incertidumbre, con un ancho de banda de ≈ 999 kHz y en un tiempo aproximado de 10 segundos, considerando múltiples repeticiones para fines de procesamiento. Así, contar con ambos sistemas de medición permitirá obtener datos fiables de impedancia, los cuales serán procesados con el modelo DRT a fin de evaluar la respuesta eléctrica de diferentes materiales bajo estudio.

Capítulo 4

Análisis de impedancia con DRT

Este capítulo presenta el método de solución numérica al modelo de distribución de tiempos de relajación (DRT). En principio el modelo presenta una solución indeterminada; sin embargo se plantea ésta en términos de estimación paramétrica, empleando mínimos cuadrados y regularización. Finalmente, se muestra la validación del método empleando mediciones en circuitos *RC* de calibración.

4.1. Solución numérica del modelo DRT

Para resolver el problema definido en la sección 2.4.4, se emplea un enfoque de mínimos cuadrados con regularización, tomando como base los trabajos previos presentados en [65], [53] y formalizado en [30], en donde el objetivo es encontrar la función $\gamma(\ln \tau)$ que mejor describa los datos de impedancia obtenidos por el sistema de medición.

Definición 14. *La función de distribución $\gamma(\ln \tau)$ puede ser escrita en términos de un modelo paramétrico,*

$$\hat{\gamma}(\ln \tau; \boldsymbol{\theta}) \triangleq \sum_{m=1}^M \theta_m g_m(\tau), \quad (4.1)$$

en donde $\boldsymbol{\theta} = [\theta_1 \ \cdots \ \theta_M]^\top \ \forall \ \theta_m \in \mathbb{R}_{\geq 0}$, es el vector de parámetros a estimar, y su valor corresponde a las amplitudes de las funciones $g_m(\tau)$.

Así, la función $\gamma(\cdot)$ puede ser aproximada por la suma de M funciones de base radial (RBF: *Radial Basis Function*) llamadas *kernels*.

Definición 15. *El kernel $g_m(\tau)$ está definido por una función de distribución Gaussiana,*

$$g_m(\tau) \triangleq \exp -(\mu(|\ln \tau - \ln \tau_m|))^2, \quad (4.2)$$

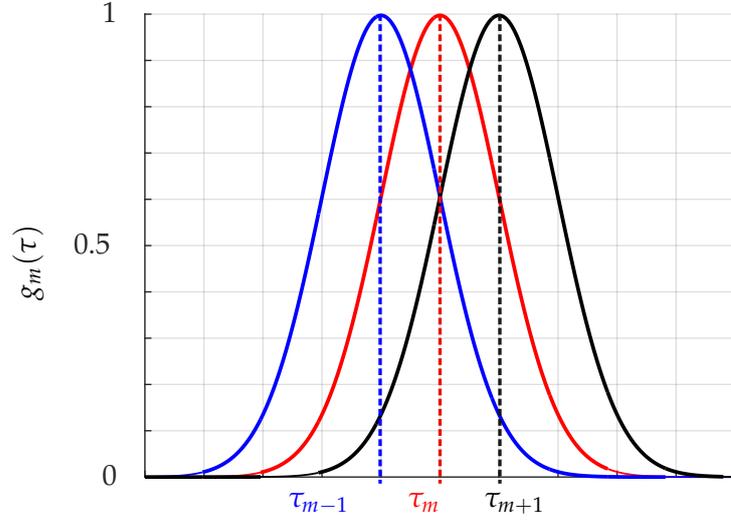


Figura 4.1: Colocación de *kernels* Gaussianos en la escala de tiempos τ .

con centro en el m -ésimo tiempo de relajación τ_m y ancho de cintura (FWHM: Full Width at Half Maximum) dado por el factor μ .

La Fig. 4.1 muestra la colocación de M *kernels* en una escala de tiempos de relajación τ .

Combinando las ecs. 4.1 y 2.59, el modelo de impedancia DRT puede ser reescrito en términos de los parámetros θ y los *kernels* Gaussianos, como

$$Z_{\text{DRT}}(j\omega; \theta) \triangleq R_\infty + \sum_{m=1}^M \theta_m \int_0^\infty \frac{g_m(\tau)}{1 + j\omega\tau} d(\ln \tau). \quad (4.3)$$

Definición 16. El modelo paramétrico $Z_{\text{DRT}}(j\omega; \theta) \in \mathbb{C}$, tiene componentes real $Z_{\text{DRT}}^{\text{Re}}$ e imaginaria $Z_{\text{DRT}}^{\text{Im}}$, extraídas a partir de multiplicar $Z_{\text{DRT}}(\omega; \theta)$ por su complejo conjugado.

$$Z_{\text{DRT}}^{\text{Re}} \triangleq R_\infty + \sum_{m=1}^M \theta_m \underbrace{\left[\int_0^\infty \frac{g_m(\tau)}{1 + (\omega\tau)^2} d(\ln \tau) \right]}_{A^{\text{Re}}}, \quad (4.4)$$

$$Z_{\text{DRT}}^{\text{Im}} \triangleq - \sum_{m=1}^M \theta_m \underbrace{\left[\int_0^\infty \frac{\omega\tau g_m(\tau)}{1 + (\omega\tau)^2} d(\ln \tau) \right]}_{A^{\text{Im}}} \quad (4.5)$$

Considere un conjunto de mediciones de impedancia multifrecuencia, denominado vector de observaciones, $\tilde{\mathbf{Z}} \triangleq [\tilde{Z}_1 \ \cdots \ \tilde{Z}_L]^\top$, con $\ell = 1, 2, \dots, L$.

En donde $\tilde{\mathbf{Z}}$ puede estar compuesto por mediciones de $\tilde{\mathbf{Z}}^{\text{Re}}$ únicamente, o bien $\tilde{\mathbf{Z}}^{\text{Im}}$ solamente, medidas en $\omega_\ell = 2\pi f_\ell$ frecuencias.

Definición 17. El modelo DRT puede ser escrito en forma matricial, siendo entonces posible definir dos matrices de regresión $\mathbf{A}^{\text{Re}} \in \mathbb{C}^{L \times M}$ y $\mathbf{A}^{\text{Im}} \in \mathbb{C}^{L \times M}$, construidas con L puntos medidos y M kernels. Las matrices para la parte real y la parte imaginaria son respectivamente,

$$\mathbf{A}^{\text{Re}} \triangleq \left[A^{\text{Re}} \right]_{\ell,m} \quad y \quad (4.6)$$

$$\mathbf{A}^{\text{Im}} \triangleq \left[A^{\text{Im}} \right]_{\ell,m}. \quad (4.7)$$

La ecuación matricial del modelo DRT queda entonces definida por $\mathbf{Z}_{\text{DRT}} \in \mathbb{C}^L$,

$$\mathbf{Z}_{\text{DRT}} = \left((R_\infty \mathbf{1}) + \mathbf{A}^{\text{Re}} \boldsymbol{\theta} \right) + j \mathbf{A}^{\text{Im}} \boldsymbol{\theta}. \quad (4.8)$$

en donde $\mathbf{1} = [1]_{\ell,1}$ y $\boldsymbol{\theta} = [\theta]_{m,1}$.

La ec. 4.8 permite tratar a las componentes real e imaginaria por separado, y el resultado será similar dado que ambas contienen información sobre la impedancia a caracterizar.

Por otra parte, la solución de la ecuación matricial 4.8 es ahora un problema determinado para el cual existe solución ajustando el vector de observaciones $\tilde{\mathbf{Z}}$ al modelo, y solucionando al problema para $\boldsymbol{\theta}$. Dicho procedimiento se realiza minimizando una función de costos \mathbb{V} .

Definición 18. La función de costos mide la distancia cuadrática entre las observaciones y el modelo, más un término de regularización \mathcal{R} ,

$$\mathbb{V}(\boldsymbol{\theta}) = \left\| \left((R_\infty \mathbf{1}) + \mathbf{A}^{\text{Re}} \boldsymbol{\theta} \right) - \tilde{\mathbf{Z}}^{\text{Re}} \right\|_2^2 + \left\| \mathbf{A}^{\text{Im}} \boldsymbol{\theta} - \tilde{\mathbf{Z}}^{\text{Im}} \right\|_2^2 + \mathcal{R}, \quad (4.9)$$

en donde $\|\cdot\|_2^2$ es la norma euclidiana de un vector.

Definición 19. El término $\mathcal{R} \in \mathbb{R}^M$ puede estar definido por las normas \mathcal{L}_1 ó \mathcal{L}_2 , de la siguiente forma.

- Usando la norma \mathcal{L}_1 :

$$\mathcal{R} \triangleq \lambda \|\boldsymbol{\theta}\|_1 = \lambda \sum_{m=1}^M |\theta_m|. \quad (4.10)$$

- Usando la norma \mathcal{L}_2 :

$$\mathcal{R} \triangleq \lambda \|\boldsymbol{\theta}\|_2^2 = \lambda \sum_{m=1}^M \theta_m^2 \quad (4.11)$$

En donde $\lambda \in \mathbb{R}_{\geq 0}$ es un parámetro de sintonización, el cual previene sub ajuste y sobre ajuste de los datos al modelo, sin embargo, su selección depende de la norma utilizada. (Para una mayor referencia consultar [66]).

Para ajustar el modelo, es necesario encontrar el valor óptimo del vector de parámetros, para lo cual es necesario minimizar la función de costos, de acuerdo a

$$\boldsymbol{\theta}^* = \underset{\boldsymbol{\theta}: \boldsymbol{\theta} \geq 0}{\operatorname{argmin}} \mathbb{V}(\boldsymbol{\theta}). \quad (4.12)$$

Observación 12. El problema descrito por las ecs. 4.9 y 4.12 es un problema de optimización con función de costos y restricciones convexas. Es decir, el problema puede ser visto como una minimización convexa en, el cual puede solucionarse eficientemente con mínimos cuadrados y programación lineal $\boldsymbol{\theta}$ [67].

El vector $\boldsymbol{\theta}^*$ es usado entonces para calcular la función de distribución en la Ec. 4.1, y con ella es posible obtener el estimado del modelo para la impedancia Z_{DRT} tiene solución dada por,

$$\hat{Z}_{\text{DRT}} = Z_{\text{DRT}}(j\omega; \boldsymbol{\theta}^*) \triangleq R_{\infty} + \int_0^{\infty} \frac{\hat{\gamma}(\ln \tau; \boldsymbol{\theta}^*)}{1 + j\omega\tau} d(\ln \tau). \quad (4.13)$$

4.1.1. Reconstrucción del espectro de impedancias

De acuerdo con la teoría de relajación [1], un circuito RC exhibe analíticamente una función de distribución Gaussiana con un máximo local centrado en su correspondiente tiempo de relajación. La Fig. 4.2, ilustra un ejemplo en donde la función $\gamma(\cdot)$ presenta dos máximos locales, los cuales pueden asociarse a dos mecanismos de relajación y por ende a un circuito equivalente con dos circuitos RC.

Así, cuando se tiene que $\max\{\hat{\gamma}(\cdot)\}$, un tiempo de relajación puede ser identificado directamente. En este sentido, un espectro de impedancia transformado al dominio de τ , puede ser visto como un medio de identificación no paramétrica para la impedancia bajo estudio, según la forma de $\hat{\gamma}(\ln \tau; \boldsymbol{\theta}^*)$. En contraste, es posible también establecer un marco de identificación paramétrica, para reconstruir de forma directa el espectro de impedancia mediante la obtención de una función de transferencia. El Algoritmo 1 presenta el procedimiento de estimación e identificación usando DRT.

Observación 13. Los máximos locales de la función de distribución $\hat{\gamma}(\ln \tau; \boldsymbol{\theta}^*)$ están centrados en tiempos de relajación característicos de la impedancia bajo estudio.

$$n = \# \text{ circuitos RC} = \# \text{ máximos locales de } \hat{\gamma}(\cdot).$$

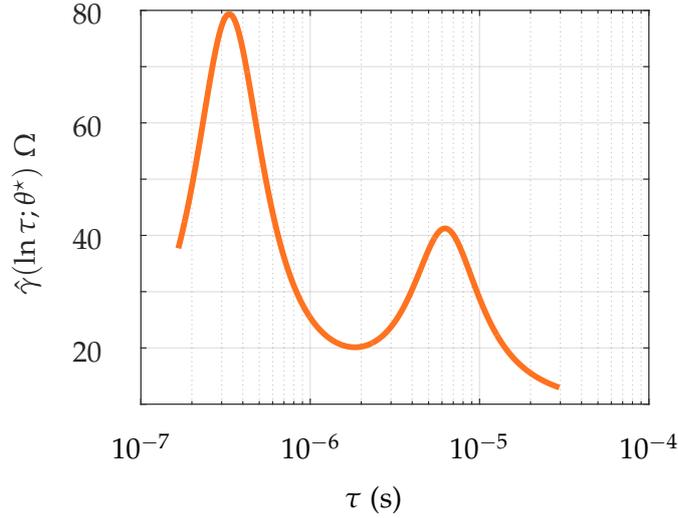


Figura 4.2: Función de distribución $\hat{\gamma}(\ln \tau)$ con dos máximos locales en el dominio de tiempos de relajación τ .

Algoritmo 2 Estimación de parámetros y reconstrucción del espectro de impedancias a partir del modelo DRT.

- 1: Construir el vector de datos experimentales u observaciones $\tilde{\mathbf{Z}}^{\text{Re}}$ y/o $\tilde{\mathbf{Z}}^{\text{Im}}$;
- 2: Construir las matrices de regresión $\mathbf{A}^{\text{Re}} \boldsymbol{\theta}$ y $\mathbf{A}^{\text{Im}} \boldsymbol{\theta}$;
- 3: Obtener $\boldsymbol{\theta}^* = \text{argmin}_{\boldsymbol{\theta}: \theta \geq 0} \mathbf{V}(\boldsymbol{\theta})$;
- 4: Calcular $\hat{\gamma}(\ln \tau; \boldsymbol{\theta}^*)$;
 \triangleright Encontrar los máximos locales de $\hat{\gamma}(\ln \tau; \boldsymbol{\theta}^*)$ y sus respectivos τ .
- 5: Devolver el valor de \hat{R}_∞
- 6: **for** $i = 1$ to n **do**
 $\gamma_i \triangleq \text{máx}\{\hat{\gamma}(\ln \tau; \boldsymbol{\theta}^*)\}$
 $\tau_{\text{DRT},i} \rightarrow \tau_i$
- 7: **end for**
- 8: Estimar la impedancia usando el modelo paramétrico:

$$\hat{\mathbf{Z}}(j\omega) \approx \hat{R}_\infty + \sum_{i=1}^n \frac{\gamma_i}{1 + j\omega\tau_{\text{DRT},i}} \quad (4.14)$$

- 9: **regresa** $\hat{\mathbf{Z}}(j\omega)$
-

4.2. Calibración y validación del método

Con el objetivo de calibrar y validar la metodología de análisis de impedancia multifrecuencia con el modelo DRT, se realizaron mediciones en el rango de 1 kHz a 1 MHz de un circuito eléctrico de calibración cuya estructura se muestra en la Fig. 4.3(a). Los valores nominales de los elementos del circuito son, $R_\infty = 100\Omega$, $R_1 = 200\Omega$, $C_1 = 15\text{nF}$, $R_2 = 75\Omega$ y $C_2 = 220\text{nF}$. Las constantes de tiempo nominales para cada par RC son $\tau_1 = 3,00 \times 10^{-6}$ s y $\tau_2 = 1,65 \times 10^{-6}$ s, en donde la i -ésima constante de tiempo está dada por $\tau_i = R_i C_i$. Es importante mencionar que la selección de dichos valores se eligió con base en dos criterios: i) que ambas constantes de tiempo se encuentren en el mismo orden de magnitud, y ii) que el valor de la impedancia equivalente se encuentre dentro del rango de valores reportados en la literatura para estudios biomédicos [68, 69]. Después de realizar un promedio espectral con $p = 3$ periodos, los datos de la componente real \tilde{Z}^{Re} e imaginaria \tilde{Z}^{Im} , fueron procesados con el modelo DRT, a fin de obtener la transformación de éstos del dominio de la frecuencia al dominio de constantes de tiempo τ .

En la Fig. 4.3(b) se muestra la función de distribución estimada $\hat{\gamma}(\ln \tau; \theta^*)$ por el método. En ella se pueden apreciar claramente dos máximos locales, cada uno centrado en su respectivo tiempo de relajación, en donde $\gamma_1 = 197,5\Omega$ corresponde a $\tau_{\text{DRT},1} = 3,11 \times 10^{-6}\text{s}$, mientras que $\gamma_2 = 63,3\Omega$ está ubicado en $\tau_{\text{DRT},2} = 1,67 \times 10^{-6}\text{s}$ y el valor estimado de la resistencia a altas frecuencias es $\hat{R}_\infty = 100\Omega$.

De acuerdo con la ec. 4.14 en el Algoritmo 2, la impedancia estimada puede entonces ser calculada directamente con $n = 2$ y usando los valores obtenidos anteriormente. Para fines de comparación, los datos medidos \tilde{Z}^{Re} y \tilde{Z}^{Im} son ajustados también al modelo clásico de Cole-Cole usando mínimos cuadrados no lineales (NLLS: *Non-Linear Least Squares*). Sin embargo, dicha tarea requiere de una inspección previa al espectro de impedancias a fin de determinar la complejidad del modelo Cole-Cole. En la Fig. 4.3(c) se observa que los datos experimentales (símbolos '+'), forman un semi-círculo, lo que sugiere que el modelo Cole-Cole a ajustar tiene una estructura con un solo tiempo τ_{CC} . Así, los parámetros estimados con NLLS para dicho modelo son $\hat{R}_{\infty, \text{CC}} = 90,10\Omega$, $\Delta R_{\text{CC}} = 285,5\Omega$, $\tau_{\text{CC}} = 4,27 \times 10^{-6}$ y $\alpha_{\text{CC}} = 0,85$.

En la Fig. 4.3(c) se muestra el diagrama de Nyquist comparando los datos medidos \tilde{Z} , con la impedancia estimada por los modelos DRT (\hat{Z}_{DRT}) y Cole-Cole (\hat{Z}_{CC}). A simple vista puede apreciarse que ambos modelos ajustan bien a los datos de forma cualitativa. Sin embargo, al analizar los parámetros estimados en cuanto a los tiempos de relajación se refiere, la Tabla 4.1 muestra que el modelo DRT identificó dos valores para τ con un error menor al 1% respecto a los valores nominales, mientras que usando el modelo Cole-Cole, éste estimó únicamente un tiempo de relajación, el cual se en-

cuentra aproximadamente en el mismo orden de magnitud que los valores de τ estimados por DRT. Este efecto puede ser debido a la naturaleza del modelo Cole-Cole, ya que los tiempos de relajación son englobados con el parámetro α_{CC} . En resumen, un análisis del espectro de impedancias con el modelo DRT identifica de forma explícita los procesos de relajación involucrados en la impedancia baja prueba, sin necesidad de tener conocimiento previo sobre su comportamiento y/o estructura.

Tabla 4.1: Tiempos de relajación($\tau \times 10^{-6}$) nominales y estimados usando los modelos DRT y Cole-Cole.

	Nominal	DRT	Cole-Cole
τ_1	3.00	3.11	4.27
τ_2	1.65	1.67	-

Finalmente, en la Fig. 4.3(d), se muestra la evolución del error relativo en la estimación del espectro de impedancias, para las componentes real \tilde{Z}^{Re} e imaginaria \tilde{Z}^{Im} . Como se puede apreciar, el máximo error para el modelo DRT es menor a 0.03 para la parte real y menor que 0.1 para la parte imaginaria. Mientras que, el mayor error en el modelo de Cole-Cole es menor a 0.06 en la parte real y de 0.4 para la parte imaginaria. En conclusión, el análisis del error permite observar que existe una mayor similitud entre las mediciones y el modelo DRT, lo que establece que dicho modelo puede ser un mecanismo interesante de análisis de impedancia en aplicaciones biológicas.

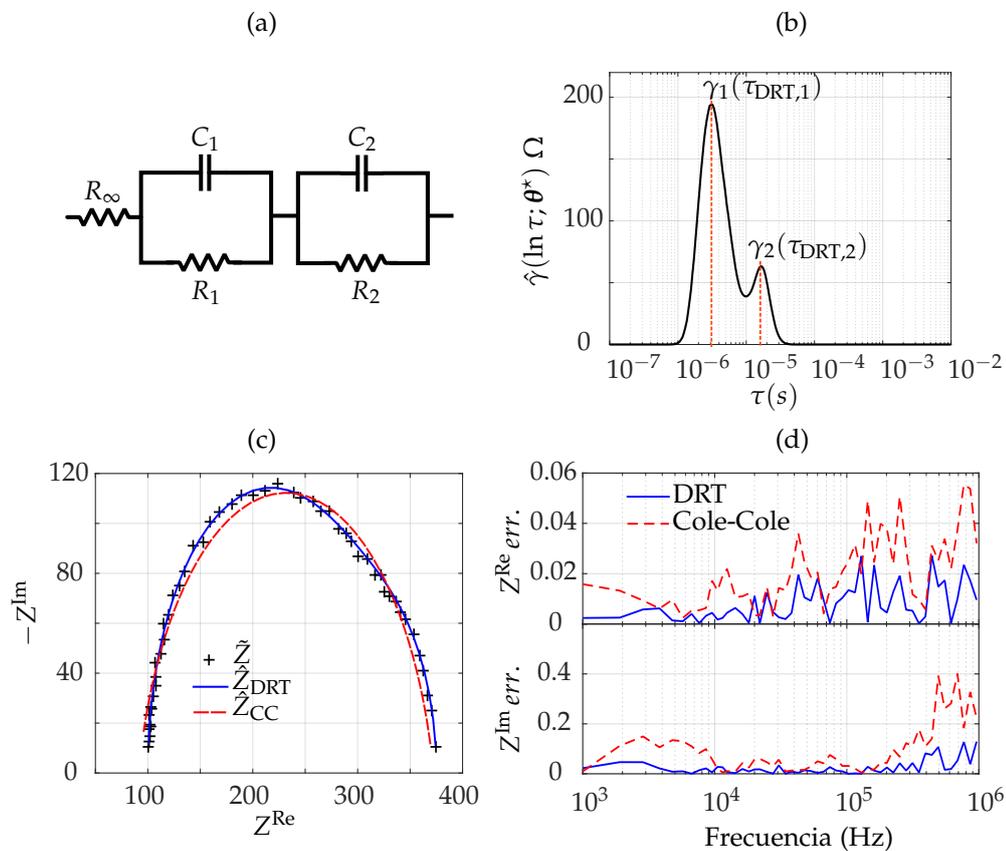


Figura 4.3: Calibración y validación del modelo DRT. (a) Circuito de calibración. (b) Función de dsitribución estimada $\hat{\gamma}(\cdot)$. (c) Diagrama de Nyquist para los datos experimentales \tilde{Z} , la impedancia estimada con DRT (\hat{Z}_{DRT}) y Cole-Cole (\hat{Z}_{CC}). (d) Evolución del error realtivo (*err.*) entre los datos y los modelos estimados.

El análisis presentado en este capítulo permite establecer la metodología central de este trabajo en cuanto al análisis de datos de impedancia se refiere. Al calibrar y validar el modelo DRT y su solución numérica, es posible entonces aplicar los sistemas de medición desarrollados y el análisis con DRT en aplicaciones biológicas y de caracterización de muestras con características dieléctricas y conductoras, como se verá en el siguiente capítulo.

Capítulo 5

Resultados

Se presentan los resultados principales de la metodología EIS-DRT, divididos en dos grandes secciones. En primera instancia se presenta la diferenciación de tejidos biológicos en términos de la obtención de una "huella" digital para cada uno. La siguiente sección muestra mediciones EIS en microcoloides y una nueva propuesta de sensor para cuantificar la concentración de partículas en ellos.

5.1. Caracterización de tejidos biológicos ex-vivo

Las muestras de tejido extraídas fueron caracterizadas con el analizador de impedancias con detector de ganancia y fase (ver sección 3.1), en el rango de 1kHz a 1 MHz con el uso de cuatro electrodos de acero inoxidable de uso subdérmico. Los electrodos fueron colocados en configuración lineal, cada uno con un diámetro $d = 0,3\text{mm}$ y longitud $L = 3\text{mm}$, separados entre sí una distancia $s = 2\text{mm}$. Cada muestra se midió en tres diferentes zonas del tejido con el fin de evaluar la variabilidad de las mediciones debido a la naturaleza inhomogénea propia de los tejidos. Así mismo, se repitieron tres mediciones en cada zona para caracterizar la incertidumbre debida a las condiciones de medición. En total, se obtuvieron 36 mediciones por cada órgano medido, considerando las cuatro ratas. Es importante mencionar que se respetó un orden secuencial en las mediciones EIS para cada órgano a fin de mantener estrictamente el tiempo en que los órganos fueron preservados en una solución de conservación IMDM. Finalmente, se usaron los promedios de las mediciones de magnitud y fase de la impedancia como valores característicos de cada tejido con el objetivo de procesar los datos con los modelos DRT y Cole-Cole para fines de comparación. En donde, para el primer modelo se buscó obtener una representación no paramétrica mediante la función de distribución $\gamma(\cdot)$.

5.1.1. Preparación de las muestras

Cuatro ratas macho de la cepa WISTAR con una edad de entre 9 y 13 semanas, con un peso promedio de 336 g, fueron sacrificadas usando una dosis letal de pentobarbital sódico. Después del sacrificio, los órganos (hígado, corazón, riñón, pulmón, músculo y bazo) fueron extraídos y lavados con una solución *buffer* salina de fosfato (PBS) e inmediatamente preservados en una solución IMDM Gluta MAXTM, rica en proteínas. Finalmente, se realizaron mediciones EIS de forma consecutiva en un tiempo no mayor a 3 horas. Los protocolos de estudio fueron aprobados por el Comité de Ética del Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga” (No. DI/16/UME/4/18).

5.1.2. Mediciones de impedancia

Una vez que los datos de magnitud y fase fueron medidos con el sistema descrito en la sección 3.1. El montaje experimental de los electrodos en contacto con el tejido biológico se muestra en la fotografía de la Fig. 5.1. Para realizar las mediciones, se obtuvo el promedio de nueve mediciones en cada tejido ($|\bar{Z}|_p, \bar{\psi}_p$), el cual fue posteriormente promediado para los cuatro individuos ($|\bar{Z}|_{p,r}, \bar{\psi}_{p,r}$). En la Fig. 5.2 se muestran los diagramas de Bode de las mediciones EIS para cada tejido, en donde se presenta el valor medio obtenido (línea continua) y su incertidumbre (barras).

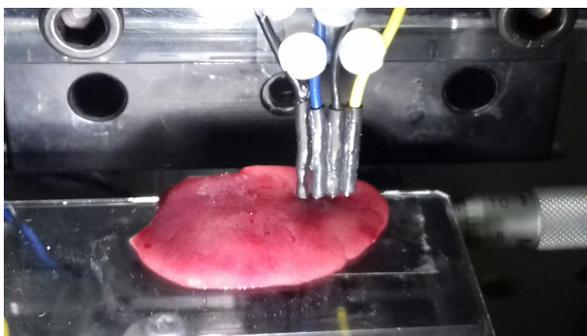


Figura 5.1: Fotografía del experimento EIS en tejido biológico *ex-vivo*.

Observación 14. En la Fig. 5.2 el lector debe considerar que la magnitud es $|\tilde{Z}| \triangleq |\bar{Z}|_{p,r}$ y la fase $\psi \triangleq \bar{\psi}_{p,r}$.

Los diagramas de Bode muestran que la respuesta en frecuencia presenta un comportamiento semejante a un modelo de circuito RC para todos los casos. Por otra parte, es de resaltar que en cada diagrama de magnitud se observan puntos de inflexión que sugieren la presencia de diversos procesos de relajación debidos a la dispersiones α y β [38].

Respecto a la incertidumbre en las gráficas para $|\bar{Z}|_{p,r}$, se puede observar que los tejidos de hígado y corazón presentan la menor incertidumbre, mientras que en las mediciones de bazo es mayor. Aunque, es importante mencionar que la consistencia física de dicho órgano es mayormente sólida, por lo que el contacto de los electrodos es bueno, caso contrario con el pulmón, en donde se debe poner especial cuidado para asegurar el correcto contacto de los electrodos con la muestra, debido a su consistencia suave y porosa.

En cuanto a los valores de la fase $\bar{\psi}_{p,r}$, es interesante observar que el hígado, pulmón, y músculo, presentan claramente un punto mínimo, mientras que el corazón, riñón y bazo tienen dos mínimos locales en el rango de frecuencias medido. La presencia de dichas características se asocia directamente con la existencia de diferentes mecanismos de relajación y conducción eléctrica en la estructura de los tejidos. Finalmente, los valores de la fase $\bar{\psi}_{p,r}$ para el hígado y el corazón presentan la menor incertidumbre, contrario a los tejidos de bazo y pulmón, en donde la incertidumbre aumenta.

5.1.3. Análisis estadístico

Para analizar estadísticamente la variabilidad de las mediciones EIS, se empleó el método de componentes principales (PCA: *Principal Component Analysis*) [70], aplicado a los datos de magnitud y fase, como función de la frecuencia. Para ello, se tomaron los promedios de cada órgano para las cuatro ratas, de tal forma que fuera posible reducir el número de dimensiones del conjunto de datos, sin perder información. En la Fig. 5.3, las componentes principales PC1, PC2 y PC3 son representadas en una gráfica tridimensional, en donde cada símbolo representa las mediciones EIS por órgano, promediadas por individuo. Es posible observar elipsoides bien diferenciadas entre ellas, las cuales agrupan los diferentes puntos (promedios), indicando que cada órgano ha sido correctamente diferenciado a través de las mediciones. Por otro lado, la separación entre los símbolos en el interior de cada elipsoide indica la dispersión de las mediciones. Así, el análisis estadístico muestra que los seis órganos pueden ser diferenciados con una baja dispersión entre individuos.

5.1.4. Análisis del espectro de impedancias mediante tiempos de relajación

Usando los valores promedio de magnitud $|\bar{Z}|_{p,r}$ y fase $\bar{\psi}_{p,r}$ (ver Fig. 5.2), se extrajeron las componentes real $\bar{Z}_{p,r}^{\text{Re}}$ e imaginaria $\bar{Z}_{p,r}^{\text{Im}}$ de la impedancia. Dichos datos fueron ajustados al modelo DRT, con el objetivo de estimar la función de distribución $\gamma(\cdot)$ para cada tejido. Las gráficas de las Fig. 5.4(a)-(f) muestran el resultado del análisis para los seis diferentes órganos. En ellas, es posible distinguir claramente diversos máximos locales en las funciones de distribución, cada uno correspondiente a un tiempo de relajación

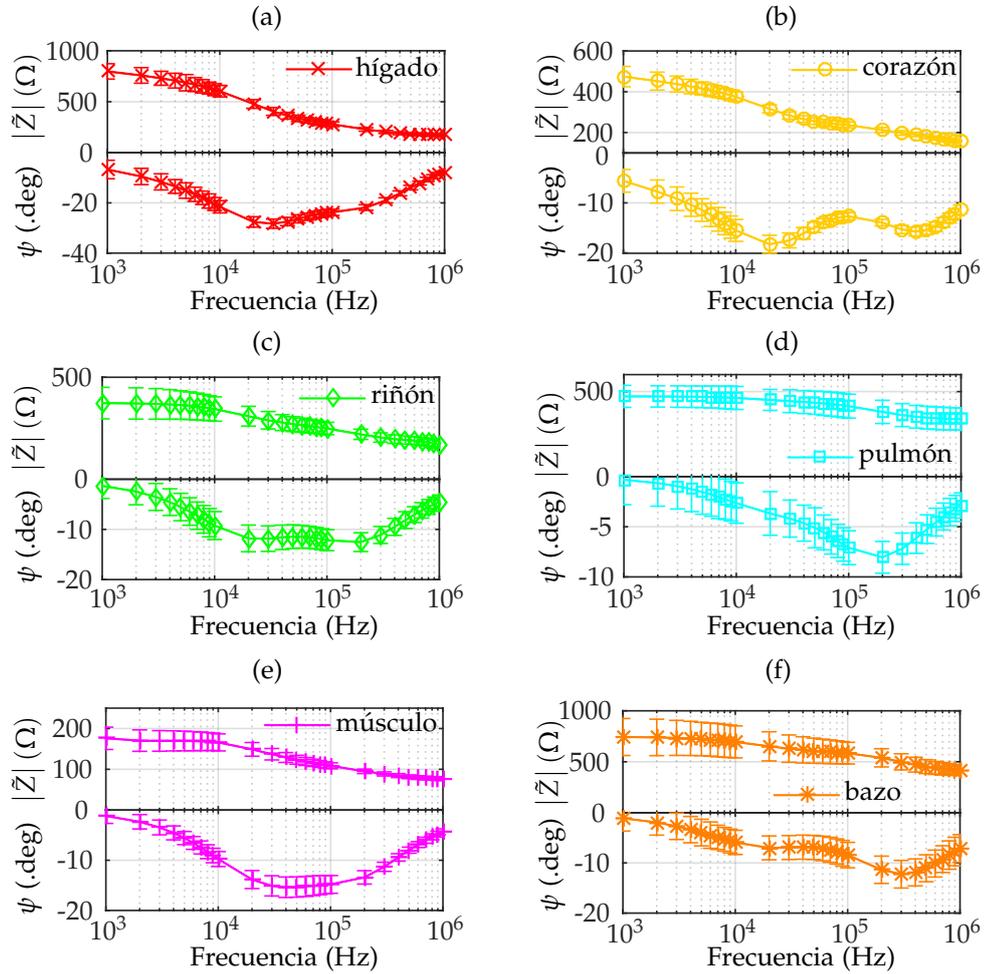


Figura 5.2: Mediciones EIS en el rango de 1 kHz a 1 MHz. Diagrama de Bode para la magnitud $|\tilde{Z}|$ y fase ψ (.deg) de la impedancia como función de la frecuencia en tejidos *ex vivo* de rata Wistar. (a) hígado, (b) corazón, (c) riñón, (d) pulmón, (e) músculo y (f) bazo.

(τ_{DRT}). La presencia de éstos revela entonces un tipo de "huella digital" que permite diferenciar a cada tejido y que está estrechamente relacionada con diversos procesos de polarización dieléctrica en la estructura de los órganos. En el caso del hígado, la función $\gamma(\cdot)$ presenta una forma con tres tiempos de relajación, sin embargo para el resto de los tejidos existen dos tiempos claramente identificables. El corazón, pulmón y bazo tienen una forma similar para la función de distribución, con una marcada diferencia en los valores de $\tau_{DRT,1}$, mientras que, para $\tau_{DRT,2}$, su valor es cercano en el caso del pulmón y el bazo. Para el riñón y el músculo, la distribución de tiempos parece ser muy similar. Finalmente, los valores estimados por el modelo DRT se encuentran resumidos en la parte izquierda de la Tabla 5.1.

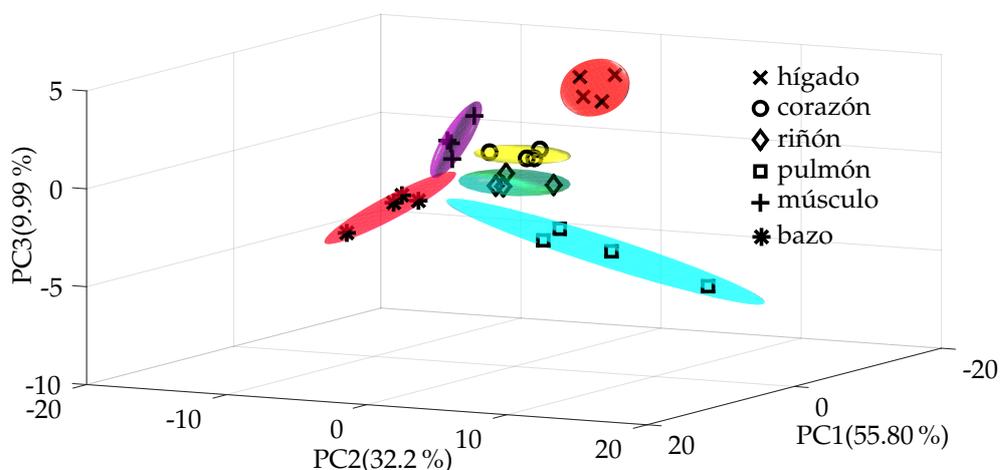


Figura 5.3: Gráfica de las tres principales componentes para validar estadísticamente las mediciones mediante PCA.

Estimación del espectro de impedancias

Con la finalidad de verificar la consistencia y desempeño del modelo DRT aplicado a la diferenciación de tejidos *ex-vivo*, se emplea el modelo propuesto en la ec. 4.14, a partir de las funciones de distribución $\gamma(\cdot)$ obtenidas para cada órgano. Además, se estimaron también los parámetros de modelo Cole-Cole, para fines de comparación. En la Fig. 5.5 se muestran los diagramas de Nyquist para los seis tejidos, en donde se pueden observar los datos medidos, así como las impedancias \hat{Z}_{DRT} Y \hat{Z}_{CC} estimadas con los modelos DRT y Cole-Cole respectivamente.

En este punto es importante mencionar que para el ajuste al modelo Cole-Cole, la complejidad de éste, en términos del número de parámetros, se determinó inspeccionando la cantidad de posibles semi-círculos que los datos experimentales forman en el diagrama de Nyquist respectivo. Para el hígado, pulmón y músculo se consideró un modelo con únicamente un tiempo de relajación $\tau_{CC,1}$ y una constante α_1 , de acuerdo a la presencia aparente de un solo semicírculo, mientras que, para el corazón, riñón y bazo el modelo usado considera dos tiempos de relajación $\tau_{CC,1}$, y $\tau_{CC,2}$, así como dos constantes α_1 y α_2 . Los valores de dichos parámetros se encuentran resumidos en la parte derecha de la Tabla 5.1, para cada órgano.

En los diagramas de la Fig.5.5 se observa que la estimación DRT (\hat{Z}_{DRT}) ajusta mejor a los datos experimentales en todos los casos. Aunque la estimación Cole-Cole (\hat{Z}_{CC}) da una buena aproximación para el corazón y el bazo, en los cuales los diferentes procesos de relajación están bien diferenciados uno del otro, dando como resultado un buen ajuste de los datos. La impedancia Cole-Cole para el hígado, pulmón, presenta una mayor desviación respecto a los datos para frecuencias centrales. Ésto puede suponerse debido a que

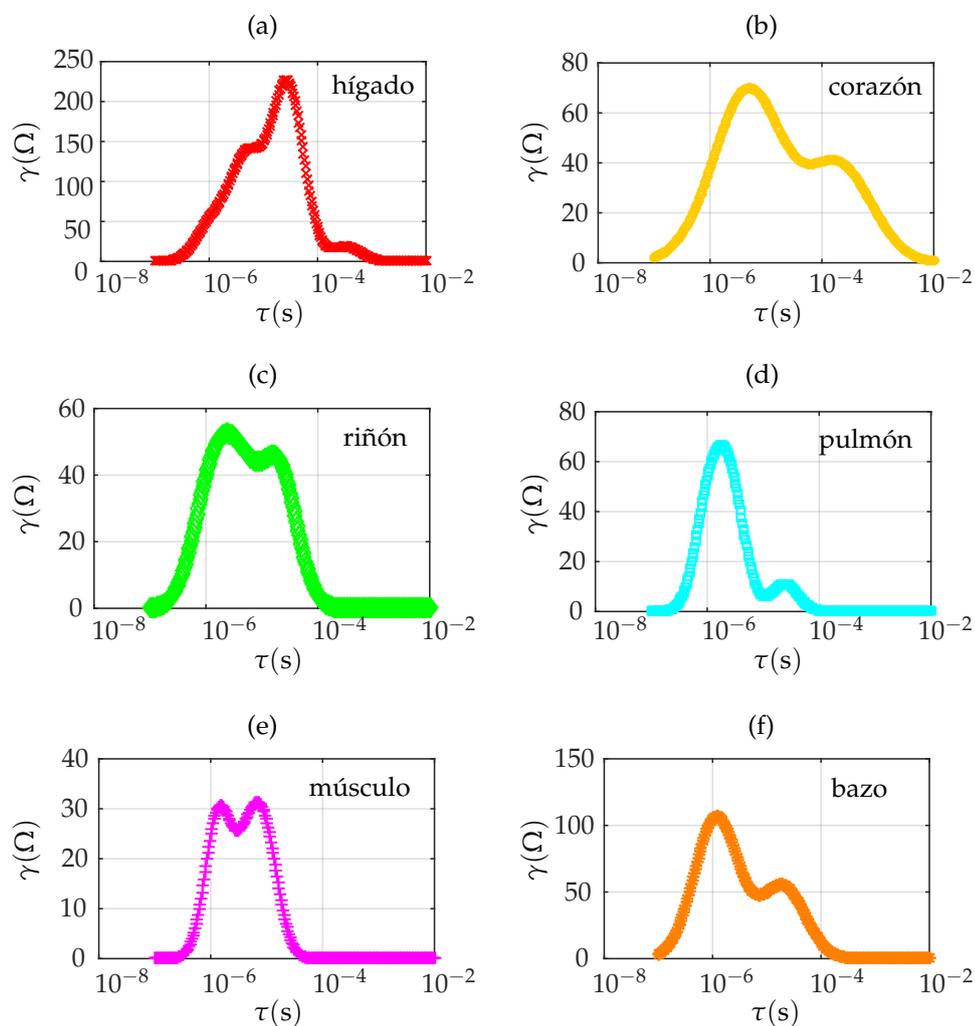


Figura 5.4: Función de distribución $\hat{\gamma}(\cdot)$ como función de la constante de tiempo τ para los seis tejidos *ex-vivo*: (a) hígado, (b) corazón, (c) riñón, (d) pulmón, (e) músculo y (f) bazo.

en este rango de frecuencias ocurren la mayoría de fenómenos de relajación, mismos que este modelo no puede distinguir con claridad. El procedimiento para obtener los parámetros del modelo de Cole-Cole confirma la necesidad de un conocimiento previo del fenómeno a modelar, el cual contrasta con el método sistemático provisto por el modelo DRT, ya que para este último no se requiere de observación previa de los datos para extraer la información sobre las constantes de tiempo, permitiendo así una mejor aproximación a los valores de impedancia.

Finalmente, se verificó la eficiencia de los valores de impedancia obtenidos

5.1. Caracterización de tejidos biológicos *ex-vivo*

Tabla 5.1: Tiempos de relajación estimados por el modelo DRT ($\tau_{\text{DRT},i} \times 10^{-6}$ (s)) y parámetros del modelo Cole-Cole ($\tau_{\text{CC},i} 10^{-6}$ (s) y α_i) para los seis tejidos caracterizados.

Tejido	DRT			Cole-Cole			
	$\tau_{\text{DRT},1}$	$\tau_{\text{DRT},2}$	$\tau_{\text{DRT},3}$	$\tau_{\text{CC},1}$	α_1	$\tau_{\text{CC},2}$	α_2
Hígado	26.7	5.1	312.4	12.2	0.7	-	-
Corazón	170.5	5.0	-	13.9	0.8	0.4	1.0
Riñón	16.7	2.4	-	10.3	1.0	0.7	0.6
Pulmón	24.2	1.7	-	1.4	0.8	-	-
Músculo	6.7	1.5	-	3.8	0.8	-	-
Bazo	18.1	1.3	-	11.4	0.9	0.6	1.0

por los modelos \hat{Z}_{DRT} y \hat{Z}_{CC} , usando como indicador el error porcentual promedio absoluto (MAPE: *Mean Absolute Percentage Error*), denotado por e . Dicho error se calculó para las componentes real e imaginaria de cada tejido (ver Tabla 5.2). El máximo error obtenido es del 1.5% para la componente real de la impedancia DRT, en el caso del músculo, mientras que para la impedancia Cole-Cole el máximo error corresponde al 1.7% para el hígado. Sin embargo, el error en la parte imaginaria muestra que para DRT es del 6.2% y aumenta considerable hasta el 19.9% en Cole-Cole, ambos casos referidos al riñón.

Tabla 5.2: Valores del error MAPE en el ajuste de los datos EIS a los modelos DRT y Cole-Cole para tejidos biológicos *ex-vivo*.

Tejido	$e \hat{Z}_{\text{DRT}}^{\text{Re}} \%$	$e \hat{Z}_{\text{DRT}}^{\text{Im}} \%$	$e \hat{Z}_{\text{CC}}^{\text{Re}} \%$	$e \hat{Z}_{\text{CC}}^{\text{Im}} \%$
Hígado	1.0	3.1	1.7	5.4
Corazón	0.9	3.0	1.6	6.5
Riñón	0.8	6.2	1.5	19.9
Pulmón	0.5	3.6	0.7	11.3
Músculo	1.5	5.3	1.6	9.4
Bazo	0.3	1.8	0.8	4.5

Usando el modelo DRT para analizar datos de impedancia en tejidos biológicos prevé un menor error respecto al modelo Cole-Cole, puesto que el análisis con la función de distribución de tiempos de relajación permite extraer información característica con mayor especificidad, y cuya potencialidad puede ser extendida a diversas aplicaciones clínicas y médicas [29].

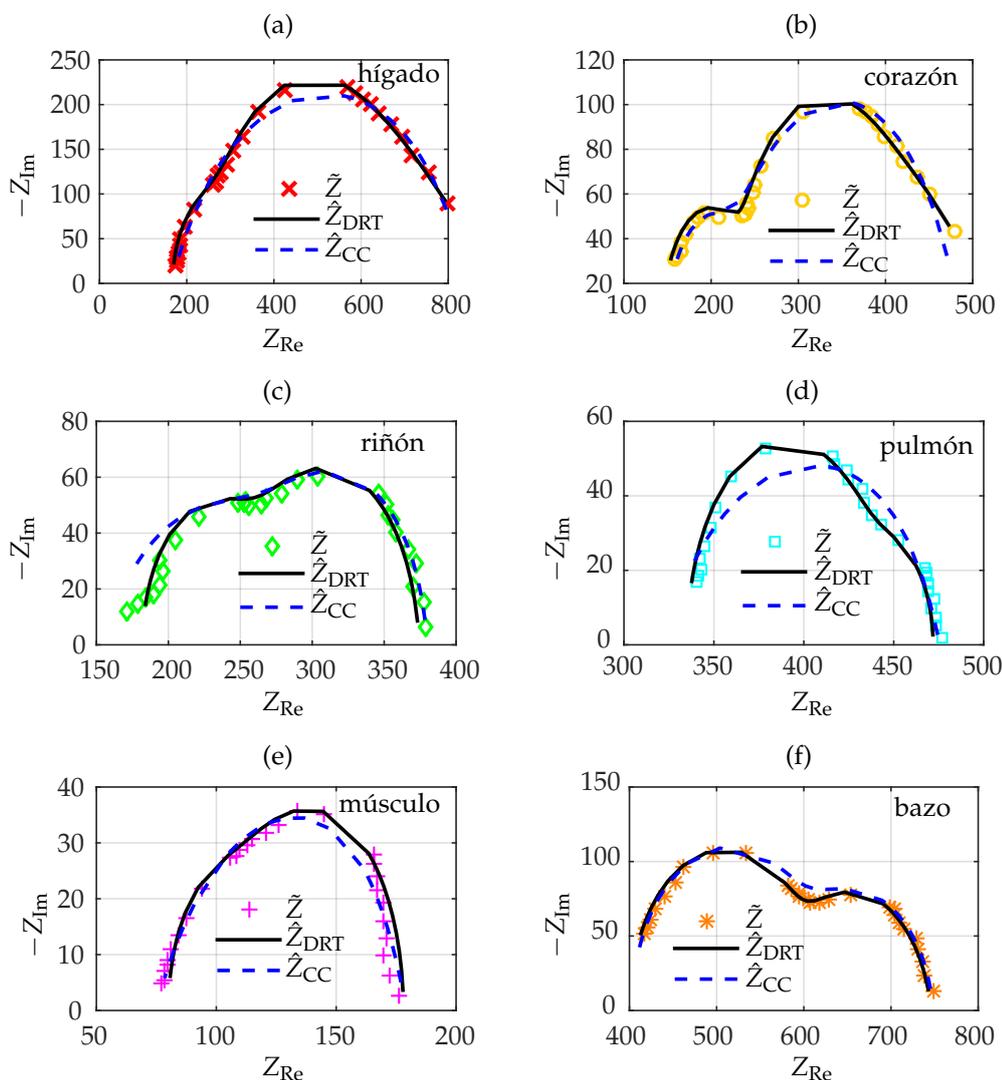


Figura 5.5: Mediciones EIS en el rango de 1 kHz a 1 MHz. Diagrama de Nyquist para parte real Z^{Re} y parte imaginaria Z^{Im} de la impedancia en tejidos *ex vivo* de rata WISTAR. (a) hígado, (b) corazón, (c) riñón, (d) pulmón, (e) músculo y (f) bazo.

5.2. Mediciones de impedancia en escala micrométrica

En términos del sistema de medición con procesamiento espectral, éste fue utilizado para realizar mediciones de impedancia en microescala. Para ello, se caracterizó experimentalmente la impedancia de microcoloides constituidos por partículas esféricas de dióxido de silicio (SiO_2), suspendidas en una matriz de PBS (*Phosphate Buffer Saline*) actuando como medio electrolítico.

Como elemento sensible se empleó un arreglo de microelectrodos (MEA: *Microelectrode Array*) de la empresa *Dropsens*. Los electrodos se encuentran

dispuestos para su conexión directa a un circuito potencioestado, con el CE, RE y WE fabricados de Platino (Pt) sobre un substrato de vidrio, usando litografía óptica. El electrodo de trabajo es una superficie metálica cubierta por una resina SU-8 microperforada, con un área de trabajo de 3 mm de diámetro, con agujeros de 10 μm separados una distancia de 100 μm .

Como señal de excitación se usa una multi-senoidal, la cual se aplica por el electrodo CE, mientras que la corriente que fluye a través de la muestra se mide en el electrodo WE (ver Fig. 5.6).

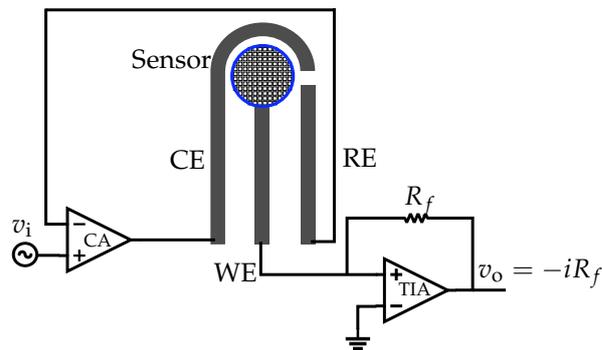


Figura 5.6: Esquema de medición de impedancia eléctrica con circuito potencioestado y arreglo de microelectrodos.

5.2.1. Preparación de la muestras

Las muestras a caracterizar son microcoloides con partículas de SiO_2 de radio $r = 0,8\mu\text{m}$, en 4 diferentes concentraciones suspendidas en PBS (ver Tabla 5.3). El PBS presenta un comportamiento altamente conductivo, con una conductividad $\sigma_{\text{PBS}} = 0,15\text{S/m}$ y permitividad relativa $\epsilon_{\text{PBS}} = 78$. Mientras que las partículas de SiO_2 tienen una naturaleza dieléctrica, con permitividad $\epsilon_{\text{SiO}_2} = 4,5$ y una baja conductividad $\sigma_{\text{SiO}_2} = 10^{-8}\text{S/m}$. Las muestras caracterizadas presentan un volumen de 200 μL . En la Fig. 5.7 se muestra la fotografía de las partículas de SiO_2 depositadas sobre los electrodos de medición.

5.2.2. Medición y estimación no paramétrica de la impedancia

La plataforma de medición utilizada es la presentada en la sección 3.2, en donde se propone la estimación no paramétrica de la impedancia de forma rápida y exacta, en un rango de frecuencias de 1 kHz a 1 MHz. En la Fig. 5.8 se muestran el diagrama de Bode de la impedancia estimada $\hat{Z}_\mu(j\omega)$, para las cuatro muestras caracterizadas en términos de su magnitud y fase ψ .

De los resultados mostrados en la Fig. 5.8, es posible observar que la magnitud \hat{Z}_μ aumenta de acuerdo a un incremento en la concentración de las

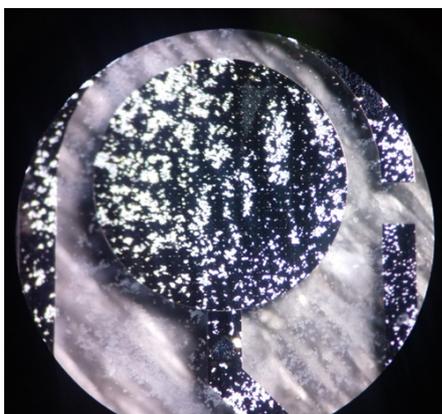


Figura 5.7: Fotografía del experimento EIS para la cuantificación de partículas de SiO_2 suspendidas en un electrolito.

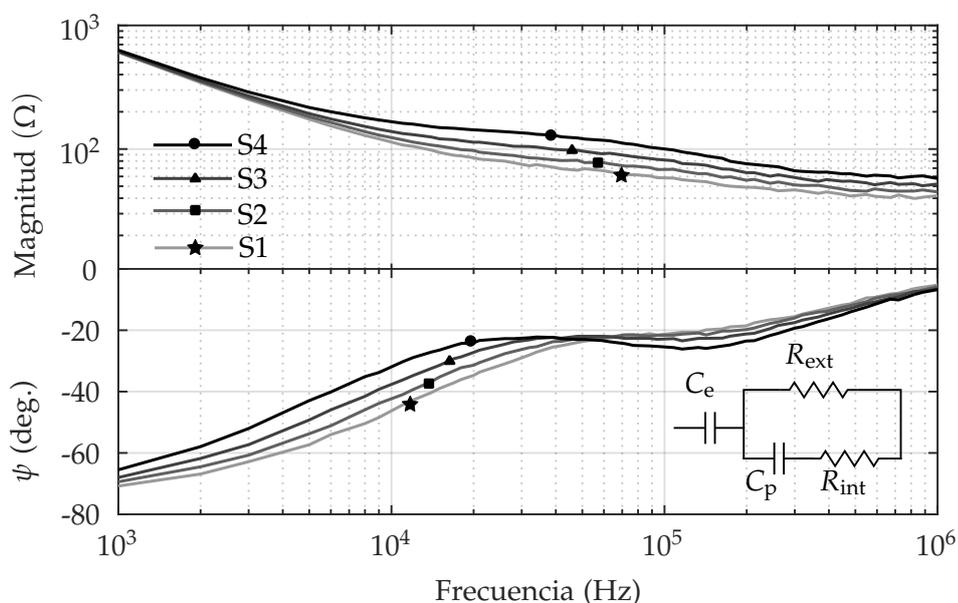


Figura 5.8: Diagrama de Bode de la impedancia medida \hat{Z}_μ para las suspensiones de micro-partículas de SiO_2 en PBS a diferentes concentraciones, identificadas por símbolos. El diagrama en el cuadro interior muestra el circuito equivalente de las muestras.

partículas, claramente visible en el rango de 2 kHz hasta 1 MHz, en donde la contribución dieléctrica de las muestras comienza a ser dominante. El incremento en la magnitud de la impedancia puede ser explicado por la presencia de una mayor fracción de volumen de partículas en los coloides, desvaneciendo así la conductividad total del medio efectivo. Respecto a la fase ψ , el ángulo para cada muestra puede ser bien diferenciado en frecuencias por en medio del espectro (30 kHz); sin embargo es posible notar que el valor de la fase comienza a disminuir a medida que la concentración también

lo hace, dado que la muestra tiene una tendencia más conductiva. En altas frecuencias, la fase de todas las muestras tiende hacia el mismo valor debido a que en ese punto pudiera existir un mecanismo de relajación común a la estructura del coloide.

Finalmente, a fin de verificar el comportamiento de la impedancia asociada a las muestras, se ajustaron los datos $\hat{Z}_\mu(j\omega)$ a un modelo de circuito equivalente propuesto en [71]. El circuito equivalente utilizado se muestra en el recuadro interior de la Fig. 5.8. El modelo de dicho circuito puede ser parametrizado en $\theta_\mu \triangleq [C_e \ R_{\text{int}} \ R_{\text{ext}} \ C_p]$ y escrito como,

$$Z_\mu^*(j\omega; \theta_\mu) = \frac{1}{j\omega C_e} + \frac{R_{\text{ext}}(1 + j\omega R_{\text{int}} C_p)}{j\omega R_{\text{ext}} C_p + (1 + j\omega R_{\text{int}} C_p)}, \quad (5.1)$$

en donde C_e representa la capacitancia de los electrodos, R_{ext} es la resistencia del PBS, R_{int} corresponde a la resistencia de las partículas de SiO_2 , y C_p la capacitancia de éstas.

La estimación paramétrica se realiza empleando ajustando los datos al modelo usando el método de mínimos cuadrados no lineales (NLLS). La Tabla 5.3, presenta los valores resultantes del proceso de estimación para cada parámetro asociado a su respectiva muestra y concentración κ . Como indicador de la bondad del ajuste se emplea al máximo error relativo (MRE) en porcentaje, mostrado en la última columna de la Tabla 5.3.

Tabla 5.3: Parámetros estimados al ajustar los datos de la impedancia \hat{Z}_μ al modelo $Z_\mu^*(j\omega; \theta_\mu)$ usando NLLS.

Muestra	κ (wt. %)	C_e (μF)	R_{int} (Ω)	R_{ext} (Ω)	C_p (nF)	MRE (%)
S1	0.1	1.08	110.12	58.21	7.32	6.2
S2	0.5	0.97	107.37	71.11	7.63	5.3
S3	1.0	0.97	101.69	90.20	8.02	3.7
S4	1.5	1.01	105.37	104.04	7.82	2.4

El error MRE es del 2.4% para la muestra S4, correspondiente a la mayor concentración, y alcanza un máximo valor de 6.2% para la muestra S1. Como es de esperarse, el MRE es mayor cuando la concentración de SiO_2 es baja, esto debido al hecho de que las mediciones EIS son menos sensibles para concentraciones muy diluidas. Sin embargo, dado que el error obtenido en el ajuste es relativamente bajo, es posible verificar que las mediciones realizadas pueden relacionarse de forma correcta con parámetros físicos asociados a microcoloides [72].

5.2.3. Hacia un nuevo sensor de concentración con mediciones EIS y análisis DRT

Posterior a las mediciones EIS (Fig. 5.8) y su validación con la estimación paramétrica al modelo de circuito equivalente, se planteó la posibilidad de estimar la función de distribución $\gamma(\cdot)$ para las diferentes concentraciones de microcoloides.

Siguiendo la metodología de análisis EIS-DRT, se obtuvieron cuatro diferentes funciones de distribución de tiempos de relajación para las cuatro concentraciones medidas, el resultado de dicho análisis se muestra en la Fig. 5.9.

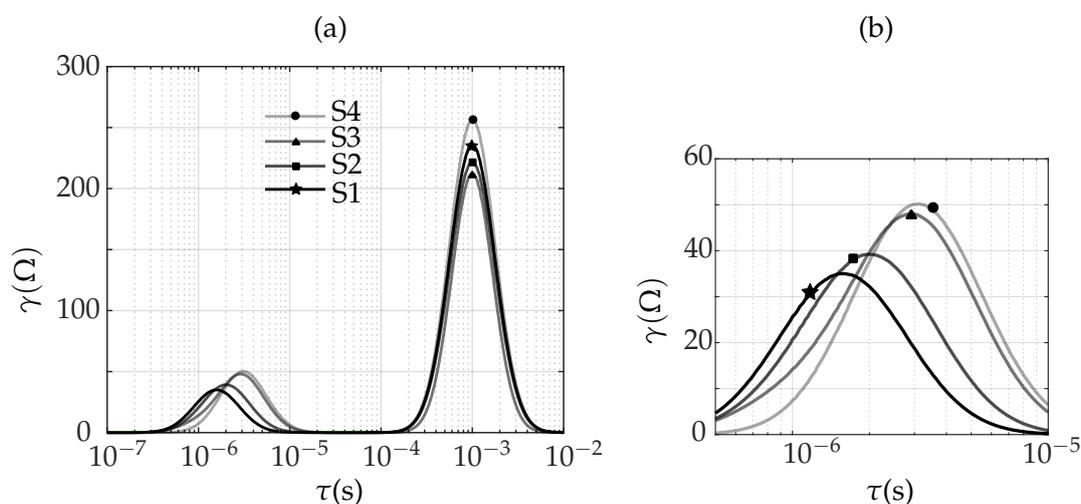


Figura 5.9: Función de distribución $\gamma(\cdot)$ con respecto de los tiempos de relajación τ . (a) Para las suspensiones de micropartículas de SiO_2 en PBS a diferentes concentraciones, identificadas por símbolos. (b) Acercamiento a las distribuciones para los tiempos de relajación en el rango de $\tau \approx 10^{-7}$ a 10^{-5} .

En la Fig. 5.9(a) se muestra el comportamiento de $\gamma(\cdot)$ como función de las constantes de tiempo τ . En ella es posible observar que para cada concentración existen dos valores máximos locales. En tiempos de relajación pequeños $\tau \approx 10^{-6}$, se pueden observar diferencias entre las concentraciones, en términos de su amplitud y del tiempo τ en donde el máximo local está ubicado. Por otro lado, en tiempos altos $\tau \approx 10^{-3}$ se aprecia que los cuatro máximos locales se encuentran muy cercanos entre sí. Dado este comportamiento es posible establecer dos situaciones:

- En tiempos de relajación pequeños, la función de distribución está dando información sobre la concentración de las muestras.
- En tiempo grandes de relajación, es dominante en amplitud pero consistente en ubicación, un tiempo característico y común para las dife-

rentes concentraciones, lo cual supone el efecto de la interfaz electrodo-electrolito en las mediciones de impedancia [73,74].

Bajo estas dos circunstancias, se consideran para el posterior análisis los valores máximos locales ubicados en tiempos de relajación pequeños, es decir aquellos asociados a las concentraciones. Así, en la Fig. 5.9(b) se presenta un acercamiento a las funciones $\gamma(\cdot)$ en el intervalo de valores de τ de interés. En ella, es posible observar que existe un desplazamiento del valor máximo de la función de distribución, de acuerdo al siguiente comportamiento; a medida que la concentración aumenta, el tiempo de relajación asociado también lo hace. Es decir, a mayor concentración se tiene un tiempo de relajación más grande. Puesto que la presencia de un mayor número de partículas eléctricamente aislantes en el coloide presupone un valor de resistencia efectiva mayor, y recordando que $\tau \approx RC$, la resistencia es directamente proporcional al tiempo de relajación.

La Tabla 5.4 resume las características de las muestras evaluadas y sus tiempos de relajación obtenidos con el modelo DRT a partir de las mediciones de impedancia. Con dicho análisis, se plantea un nuevo mecanismo de sensado

Tabla 5.4: Muestras de microcoloides, sus concentraciones en peso y los tiempos de relajación obtenidos con DRT.

Muestra	κ (wt. %)	$\tau \times 10^{-6}$ (s)
S1	0.1	1.60
S2	0.5	2.00
S3	1.0	2.85
S4	1.5	3.33

de concentración en microcoloides usando la metodología EIS-DRT propuesta en este trabajo. Para obtener los parámetros de desempeño del sensor se emplearon los datos de la tabla 5.4, con los cuales se relacionan las concentraciones en peso wt. % en función de los tiempos de relación τ .

En la Fig. 5.10 es posible observar los datos experimentales (símbolos) y el modelo que mejor se ajusta a ellos (línea continua). Con ellos, el modelo del sensor propuesto está dado por

$$\kappa(\tau; \theta) = \theta(a) \tau + \theta(b), \quad (5.2)$$

parametrizado por $\theta = [a \ b]^T$, siendo a la pendiente de la recta y b la ordenada al origen. La línea recta óptima $\kappa^*(\cdot)$, en el sentido de mínimos cuadrados, está dada por los valores estimados \hat{a} y \hat{b} . La bondad del ajuste es cuantificada por el coeficiente de correlación $r^2 = 0,9868$, el cual sugiere una buena predicción de las mediciones con el modelo lineal.

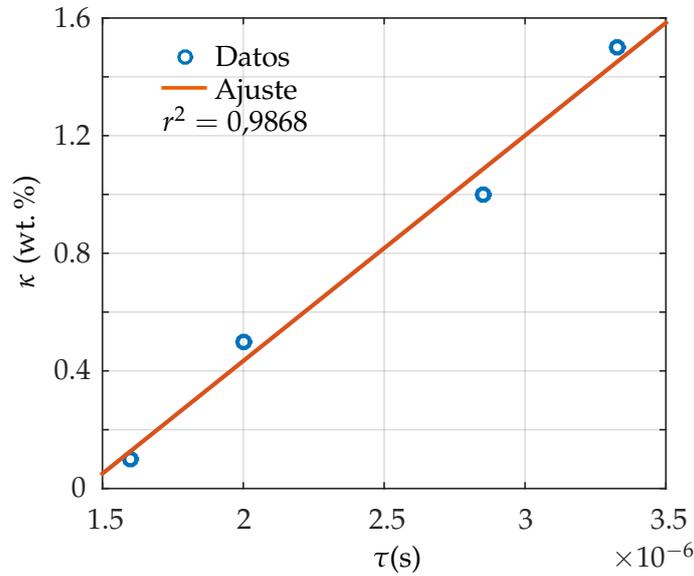


Figura 5.10: Curva de calibración para la concentración κ en peso de micropartículas de SiO_2 , como función de las constantes de tiempo τ obtenidas con el modelo DRT.

Usando el modelo κ^* es posible obtener directamente a la sensibilidad del sensor \mathcal{S} de acuerdo a la siguiente expresión,

$$\mathcal{S} \triangleq \frac{\partial \kappa^*}{\partial \tau} = 0,76 \left(\frac{\text{wt. \%}}{\mu\text{s}} \right). \quad (5.3)$$

Mientras que el parámetro \hat{b} se relaciona con el límite de detección, siendo éste igual a 0.05 wt. %. En este sentido es importante aclarar que la resolución de la medición en términos de las constantes tiempo τ está determinada por la resolución en frecuencia del espectro de impedancias, siendo en este caso de $1,59 \times 10^{-7}$ s. Lo anterior conduce entonces a una resolución de 0.01 wt. % para cuantificar la concentración de las muestras.

Mediante este experimento fue posible obtener la propuesta de un nuevo mecanismo de sensado para la concentración de partículas dieléctricas suspendidas en una matriz conductora, con dos principales contribuciones. Por un lado, el análisis DRT permite discriminar la influencia de la interfaz electrodo-electrolito en las mediciones EIS. Mientras que por otra parte, los valores de los tiempos de relajación pueden ser asociados con la concentración de las muestras bajo estudio con alta resolución en el dominio de constantes de tiempo y alta sensibilidad. Lo anterior requiere una futura interpretación y/o asociación con fenómenos físicos presentes en los microcoloides, de forma más exhaustiva.

5.2. Mediciones de impedancia en escala micrométrica

En este capítulo se presentaron los resultados principales del trabajo de investigación, teniendo como eje principal la aplicación de la metodología EIS-DRT a fin de caracterizar tejidos y medios con características dieléctricas y conductoras en un rango de frecuencias de 1kHz a 1MHz y su análisis en el dominio de tiempos de relajación mediante la función de distribución $\gamma(\cdot)$.

Capítulo 6

Conclusiones y trabajo a futuro

En este trabajo se abordó el análisis de las propiedades eléctricas fundamentales de los tejidos biológicos y su fuerte dependencia con respecto a la frecuencia ω , a través de la medición multifrecuencia de impedancia eléctrica; así como el análisis de los datos experimentales mediante un modelo alternativo a los convencionales. La medición de impedancia se realizó en el rango de 1 kHz a 1 MHz, en donde es posible extraer información sobre la estructura y composición del tejido bajo estudio, mediante un sistema construido con instrumentación relativamente simple, pero que presenta una relación señal a ruido de aproximadamente 40 dB, un amplio ancho de banda y baja incertidumbre de medición.

El trabajo propone una perspectiva en la cual los tejidos biológicos son estudiados como sistemas dinámicos lineales e invariantes en el tiempo, considerando precisamente a la impedancia eléctrica como el modelo que determina la relación salida/entrada de las señales que lo excitan. En este sentido, la tesis aborda técnicas de identificación y estimación de parámetros, para proponer una solución al modelo de distribución de tiempos de relajación, atacando al problema de forma paramétrica usando mínimos cuadrados y regularización, a fin de obtener una metodología sistemática para la caracterización de medios biológicos. La validación del modelo y el algoritmo propuestos fue realizada usando simulaciones numéricas y experimentos con muestras de tejido biológico. Además, se comparó su desempeño con el modelo clásico de Cole-Cole, siendo DRT un mecanismo más eficiente de identificación de parámetros relacionados con las propiedades eléctricas de tejidos biológicos, enfatizando en su alta resolución y precisión.

En cuanto a resultados se refiere, se aplicó la metodología para diferenciar muestras tejidos biológicos en condiciones *ex-vivo* a través de una "huella digital" obtenida con la función de distribución asociada al modelo DRT. Como resultado, se encontraron diferentes constantes de tiempo características

para cada tejido, las cuales no son identificadas por el modelo de Cole-Cole, considerado como estándar en mediciones de bioimpedancia. La ventaja de la metodología propuesta radica en que ésta no requiere información previa sobre el comportamiento eléctrico de las muestras a caracterizar a diferencia del modelo de Cole-Cole. Con ello, el modelo DRT y su modelo paramétrico asociado, aplicados al análisis de datos de bioimpedancia resulta ser una nueva y prometedora técnica, con suficiente resolución y sensibilidad para estudiar de forma concreta y sistemática alteraciones en tejidos relacionadas con las dispersiones α y β , las cuales pudieran ser de interés en estudios como cáncer, fibrosis o sarcopenia, por mencionar algunas.

La metodología propuesta EIS-DRT fue también aplicada a la caracterización de cuatro muestras de microcoloides, compuestos de diferentes concentraciones en peso de partículas dieléctricas suspendidas en un electrolito. Con la finalidad de evaluar su respuesta eléctrica, alternativamente a lo establecido en la literatura, se propuso la transformación de los espectros de impedancia a la función de distribución de tiempos de relajación. Los resultados mostraron claramente dos procesos característicos, uno de ellos relacionado con la interfaz electrodo-electrolito y el segundo estrechamente ligado con la concentración de las muestras. Con ello, se propuso una nueva técnica de sensado de concentración con aparente tendencia lineal y una alta sensibilidad. Dichos resultados deben ser analizados de una forma más profunda a fin de relacionar los procesos físicos involucrados con las funciones de distribución obtenidas. Dada la robustez de la técnica aquí presentada, se cree que ésta puede ser aplicada en temas de frontera, como es el estudio y caracterización de sistemas en microescala.

Finalmente, la presente investigación ha cultivado diversas líneas de trabajo para seguir siendo exploradas, y pretende ser la base de futuros trabajos de investigación. En el caso del sistema de medición, es posible mejorarlo en términos del diseño de una señal óptima y persistente de excitación, a fin de disminuir en gran medida los efectos de la interfaz electrodo-electrolito, así como aumentar el ancho de banda y la capacidad de mediciones de impedancia en tiempo real. Respecto al algoritmo de solución del modelo DRT, se ha abierto un problema en términos de la selección óptima de los parámetros de regularización, los cuales permitan realizar un procesamiento de datos en línea, esto último está estrechamente relacionado con el uso de técnicas de aprendizaje de máquinas. Desde la perspectiva de sistemas dinámicos, es posible plantear un modelo de impedancia que considere variaciones temporales, cuya aplicación sería útil en situaciones de medición en donde la muestra bajo estudio esté cambiando su composición y estructura. Finalmente, en cuanto a las aplicaciones micrométricas, se han comenzado a estudiar aplicaciones con células biológicas para fines de monitoreo en cultivos, tales como la proliferación y crecimiento celular.

Bibliografía

- [1] E. Barsoukov and J. R. Macdonald, *Impedance Spectroscopy: Theory, Experiment, and Applications*. John Wiley & Sons, 2 ed., 2005.
- [2] A. Lasia, *Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications*. Springer-Verlag New York, 1 ed., 2014.
- [3] R. G. Duarte, A. S. Castela, R. Neves, L. Freire, and M. F. Montemor, "Corrosion behavior of stainless steel rebars embedded in concrete: An electrochemical impedance spectroscopy study," *Electrochim. Acta*, vol. 124, pp. 218–224, 2014.
- [4] T. Osaka, T. Momma, D. Mukoyama, and H. Nara, "Proposal of novel equivalent circuit for electrochemical impedance analysis of commercially available lithium ion battery," *J. Power Sources*, vol. 205, pp. 483–486, 2012.
- [5] H. Schwan, "Electrical properties of tissues and cell suspensions: mechanisms and models," *Proc. 16th Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, 1994.
- [6] S. Grimnes, O. Rikshospitalet, and N. H. P. Schwan, "Interface phenomena and dielectric properties of biological tissue," in *Encyclopedia of surface and colloid science*, Boca Raton: Taylor & Francis, 2 ed., 2006.
- [7] S. Gabriel, R. W. Lau, and C. Gabriel, "The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz," *Phys. Med. Biol.*, vol. 41, no. 11, pp. 2251–2269, 1996.
- [8] R. E. Dodde, G. H. Kruger, and A. J. Shih, "Design of Bioimpedance Spectroscopy Instrument With Compensation Techniques for Soft Tissue Characterization," *J. Med. Devices.*, vol. 9, no. 2, p. 210011–210018, 2015.

- [9] S. Rodriguez, S. Ollmar, M. Waqar, and A. Rusu, "A Batteryless Sensor ASIC for Implantable Bio-Impedance Applications," *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 10, no. 3, pp. 533–544, 2016.
- [10] B. Sanchez, X. Fernandez, S. Reig, and R. Bragos, "An FPGA-based frequency response analyzer for multisine and stepped sine measurements on stationary and time-varying impedance," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 25, no. 1, 2014.
- [11] A. N. Aleinik, N. D. Turgunova, V. V. Velikaya, L. I. Musabaeva, Z. A. Startseva, and M. R. Mukhamedov, "Non-Invasive Tissue Injury Monitoring Using Bioimpedance Spectroscopy," *Adv. Mat. Res.*, vol. 1084, pp. 413–416, jan 2015.
- [12] Z. Haeri, M. Shokoufi, M. Jenab, R. Janzen, and F. Golnaraghi, "Electrical impedance spectroscopy for breast cancer diagnosis: Clinical study," *Integr. Cancer Sci. Ther.*, vol. 3, no. 6, pp. 1–6, 2016.
- [13] S. L. Swisher, M. C. Lin, A. Liao, E. J. Leeftang, Y. Khan, F. J. Pavinatto, K. Mann, A. Naujokas, D. Young, S. Roy, M. R. Harrison, A. C. Arias, V. Subramanian, and M. M. Maharbiz, "Impedance sensing device enables early detection of pressure ulcers in vivo," *Nat. Commun.*, vol. 6, p. 6575, 2015.
- [14] B. Sanchez, G. Vandersteen, I. Martin, D. Castillo, A. Torrego, P. J. Riu, J. Schoukens, and R. Bragos, "In vivo electrical bioimpedance characterization of human lung tissue during the bronchoscopy procedure. A feasibility study," *Med. Eng. Phys.*, vol. 35, no. 7, pp. 949–957, 2013.
- [15] L. Yang, G. Zhang, J. Song, M. Dai, C. Xu, X. Dong, and F. Fu, "Ex-Vivo Characterization of Bioimpedance Spectroscopy of Normal, Ischemic and Hemorrhagic Rabbit Brain Tissue at Frequencies from 10 Hz to 1 MHz," *Sensors*, vol. 16, no. 11, p. 1942, 2016.
- [16] F. Seoane, S. Reza Atefi, J. Tomner, K. Kostulas, and K. Lindecrantz, "Electrical Bioimpedance Spectroscopy on Acute Unilateral Stroke Patients: Initial Observations regarding Differences between Sides," *Bio-Med Res. Int.*, vol. 2015, p. 12, 2015.
- [17] K. S. Cole, "Permeability and Impermeability of cell membranes for ions," *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, vol. 8, pp. 110–122, 1940.
- [18] R. Buendia, R. Gil-Pita, and F. Seoane, "Cole parameter estimation from total right side electrical bioimpedance spectroscopy measurements Influence of the number of frequencies and the upper limit," in *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc., EMBS*, pp. 1843–1846, 2011.

-
- [19] D. Ayllon, F. Seoane, and R. Gil-Pita, "Cole equation and parameter estimation from electrical bioimpedance spectroscopy measurements - A comparative study," in *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc., EMBC*, pp. 3779–3782, 2009.
- [20] T. J. Freeborn, B. Maundy, and A. S. Elwakil, "Extracting the parameters of the double-dispersion Cole bioimpedance model from magnitude response measurements," *Med. Biol. Eng. Comput.*, vol. 52, no. 9, pp. 749–758, 2014.
- [21] Y. Yang, W. Ni, Q. Sun, H. Wen, and Z. Teng, "Improved Cole parameter extraction based on the least absolute deviation method," *Physiol. Meas.*, vol. 34, no. 10, pp. 1239–1252, 2013.
- [22] T. P. Iglesias, G. Vilão, and J. C. R. Reis, "An approach to the interpretation of Cole-Davidson and Cole-Cole dielectric functions," *J. Appl. Phys.*, vol. 122, no. 7, p. 7, 2017.
- [23] J. Macutkevic, J. Banys, and a. Matulis, "Determination of the Distribution of the Relaxation Times from Dielectric Spectra," *Nonlinear Anal. Model.*, vol. 9, no. 1, pp. 75–88, 2004.
- [24] J. Winterhalter, D. G. Ebling, D. Maier, and J. Honerkamp, "Analysis of Admittance Data: Comparison of a Parametric and a Nonparametric Method," *J. Comput. Phys.*, vol. 153, no. 1, pp. 139–159, 1999.
- [25] D. G. Luenberger, *Introduction to Dynamic Systems Theory, Models, and Applications*. New York: John Wiley & Sons, 1 ed., 1979.
- [26] A. K. Tangirala, *Principles of System Identification: Theory and Practice*. CRC Press, 1 ed., 2014.
- [27] R. Ramírez-Chavarría, J. Zambrano-Arroyo, and C. Sánchez-Pérez, "Sistema de medición de impedancia eléctrica multifrecuencia para caracterización de muestras de tejidos biológicos," in *Memorias del Congreso de Instrumentación SOMI XXIX*, 2015.
- [28] R. Ramírez-Chavarría, C. Sánchez-Pérez, and D. Matatagui, "Analysis of Impedance Spectroscopy Measurements of Biological Tissue using the Distribution of Relaxation Times Method," in *Proc. 10th Int. Jt. Conf. Biomed. Eng. Syst. Technol.*, pp. 224–228, 2017.
- [29] R. Ramírez-Chavarría, C. Sánchez-Pérez, D. Matatagui, N. Qureshi, A. Pérez-García, and J. Hernández-Ruíz, "Ex-vivo biological tissue differentiation by the distribution of relaxation times method applied to electrical impedance spectroscopy," *Electrochim. Acta*, vol. 276, pp. 214–222, 2018.

- [30] R. Ramírez-Chavarría, G. Quintana-Carapia, M. I. Müller, R. Mattila, D. Matatagui, and C. Sánchez-Pérez, "Bioimpedance parameter estimation using fast spectral measurements and regularization," *IFAC-PapersOnLine*, vol. 51, no. 15, pp. 521 – 526, 2018. 18th IFAC Symposium on System Identification SYSID 2018.
- [31] R. Ramírez-Chavarría, M. I. Müller, R. Mattila, and C. Sánchez-Pérez, "Fast and Accurate System on Chip Framework for Spectral Microimpedance Measurements," *To be published*, 2018.
- [32] R. Ramírez-Chavarría and C. Sánchez-Pérez, "Sensing Micro-colloid Concentration by Spectral Impedance Measurements and Relaxation Times Analysis," in *To be presented*, 2019.
- [33] A. Barrera-Acevedo, R. Ramírez-Chavarría, A. Guadarrama-Santana, and A. García-Valenzuela, "Física y circuito equivalente de multicapa semiconductoras entre electrodos planos," in *Memorias del LIX Congreso Nacional de Física*, 2016.
- [34] D. J. Griffiths and C. Ingelfield, *Introduction to Electrodynamics*. Pearson, 4 ed., 2013.
- [35] C. Gabriel, A. Peyman, and E. H. Grant, "Electrical conductivity of tissue at frequencies below 1 MHz," vol. 54, p. 4863, 2009.
- [36] R. Pethig, "Dielectric properties of biological materials: Biophysical and medical applications," *IEEE Transactions on Electrical Insulation*, vol. 19, no. 5, pp. 453–474, 1984.
- [37] C. Peratta and A. Peratta, *Modelling the Human Body Exposure to ELF Electric Fields*. United Kingdom: WIT Press, 1 ed., 2010.
- [38] S. Grimnes and Ø. G. Martinsen, *Bioimpedance and Bioelectricity Basics*. Academic Press, 3 ed., 2014.
- [39] W. Kuang and S. O. Nelson, "Low Frequency Dielectric Properties of Biological Tissue: A Review with Some New Insights," *Trans. ASAE*, vol. 41, no. 1, p. 173, 1998.
- [40] V. Raicu and Y. Feldman, *Dielectric Relaxation in Biological Systems: Physical Principles, Methods, and Applications*. OUP Oxford, 1 ed., 2015.
- [41] M. E. Salgado, J. I. Yuz, and R. A. Rojas, *Análisis de sistemas lineales*. Pearson, 1 ed., 2014.
- [42] C. Böttcher and Bordewijk, *Dielectrics in Time-Dependent Fields*. Amsterdam: Elsevier, 1 ed., 1992.

-
- [43] C. Gabriel, "Dielectric Properties of Biological Materials," in *Handb. Biol. Eff. Electromagn. fields Bioeng. Biophys. Asp. Electromagn. fields*, 2006.
- [44] C. A. Desoer and E. S. Kuh, *Basic circuit theory*. McGraw Hill international editions: Electrical and electronic engineering series, McGraw-Hill, 1 ed., 1969.
- [45] K. S. Cole and R. H. Cole, "Dispersion and Absorption in Dielectrics I. Alternating Current Characteristics Dispersion and Absorption in Dielectrics 1. Alternating Current Characteristics," *J. Chem. Phys.*, vol. 9, pp. 341–351, 1941.
- [46] S. Victor, R. Malti, H. Garnier, and A. Oustaloup, "Parameter and differentiation order estimation in fractional models," *Automatica*, vol. 49, no. 4, pp. 926 – 935, 2013.
- [47] S. M. M. Alavi, A. Mahdi, S. J. Payne, and D. A. Howey, "Identifiability of Generalized Randles Circuit Models," *IEEE Trans. Control Syst. Technol.*, vol. 25, no. 6, pp. 2112–2120, 2017.
- [48] Y. Tsvividis and J. Milios, "A detailed look at electrical equivalents of uniform electrochemical diffusion using nonuniform resistance–capacitance ladders," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 707, pp. 156 – 165, 2013.
- [49] C. W. Groetsch, "Integral equations of the first kind, inverse problems and regularization: A crash course," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 73, p. 32, 2007.
- [50] A. D. Franklin and H. J. De Bruin, "The fourier analysis of impedance spectra for electroded solid electrolytes," *Phys. Status Solidi A*, vol. 75, no. 2, pp. 647–656, 1983.
- [51] P. Büschel, T. Günther, and O. Kanoun, "Distribution of relaxation times for effect identification and modeling of impedance spectra," in *Conf. Proc. IEEE Trans. Instrum. Meas.*, pp. 901–904, 2014.
- [52] B. A. Boukamp, "Fourier transform distribution function of relaxation times; application and limitations," *Electrochim. Acta*, vol. 154, pp. 35–46, 2015.
- [53] M. Saccoccio, T. H. Wan, C. Chen, and F. Ciucci, "Optimal regularization in distribution of relaxation times applied to electrochemical impedance spectroscopy: Ridge and Lasso regression methods - A theoretical and experimental Study," *Electrochim. Acta*, vol. 147, pp. 470–482, 2014.

- [54] T. H. Wan, M. Saccoccio, C. Chen, and F. Ciucci, "Influence of the discretization methods on the distribution of relaxation times deconvolution: Implementing radial basis functions with drttools," *Electrochim. Acta*, vol. 184, pp. 483–499, 2015.
- [55] H. Ma, Y. Su, and A. Nathan, "Cell constant studies of bipolar and tetrapolar electrode systems for impedance measurement," *Sens. Actuators B-Chem.*, vol. 221, pp. 1264–1270, 2015.
- [56] R. Pruna, F. Palacio, A. Baraket, N. Zine, A. Streklas, J. Bausells, A. Errachid, and M. López, "A low-cost and miniaturized potentiostat for sensing of biomolecular species such as TNF- α by electrochemical impedance spectroscopy," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 100, pp. 533–540, 2018.
- [57] L. H. Crockett, R. A. Elliot, M. A. Enderwitz, and R. A. Stewart, *The Zynq Book: Embedded Processing with the ARM Cortex-A9 on the Xilinx Zynq-7000 All Programmable SoC*. Strathclyde Academic Media, 1 ed., 2014.
- [58] R. Pintelon and J. Schoukens, *System identification: a frequency domain approach*. Wiley-IEEE Press, 2nd ed., 2012.
- [59] G. J. Dolecek and S. K. Mitra, "Simple method for compensation of CIC decimation filter," *Electron. Lett.*, vol. 44, no. 19, pp. 1162–1163, 2008.
- [60] A. Saeed, M. Elbably, G. Abdelfadeel, and M. I. Eladawy, "Efficient FPGA implementation of FFT / IFFT Processor," *Int. J. Circuits, Syst. Signal Process.*, vol. 3, no. 3, pp. 103–110, 2009.
- [61] L. Ljung, *System Identification Theory for User*. Prentice Hall, 2 ed., 1999.
- [62] P. Devolder, J. Janssen, and R. Manca, *Basic Stochastic Processes*. John Wiley & Sons, 1 ed., 2015.
- [63] P. Stoica and R. Moses, *Spectral Analysis of Signals*. Prentice Hall, 1 ed., 2005.
- [64] J. Schoukens, Y. Rolain, and R. Pintelon, "Analysis of windowing/leakage effects in frequency response function measurements," *Automatica*, vol. 42, no. 1, pp. 27 – 38, 2006.
- [65] F. Ciucci and C. Chen, "Analysis of electrochemical impedance spectroscopy data using the distribution of relaxation times: A Bayesian and hierarchical Bayesian approach," *Electrochim. Acta*, vol. 167, pp. 439–454, 2015.

-
- [66] S. Shalev-Shwartz and S. Ben-David, *Understanding machine learning: From theory to algorithms*. Cambridge University Press, 1 ed., 2013.
- [67] S. Boyd and L. Vandenberghe, *Convex Optimization*. Cambridge University Press, 1 ed., 2004.
- [68] E. K. Murphy, A. Mahara, S. Khan, E. S. Hyams, A. R. Schned, J. Pettus, and R. J. Halter, "Comparative study of separation between ex vivo prostatic malignant and benign tissue using electrical impedance spectroscopy and electrical impedance tomography," *Physiological Measurement*, vol. 38, no. 6, p. 1242, 2017.
- [69] S. Gabriel, R. W. Lau, and C. Gabriel, "The dielectric properties of biological tissues: III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues," *Phys. Med. Biol.*, vol. 41, pp. 2271–2293, 1996.
- [70] K. H. Esbensen and P. Geladi, "Principal Component Analysis: Concept, Geometrical Interpretation, Mathematical Background, Algorithms, History, Practice," in *Comprehensive Chemometrics*, Elsevier, 1 ed., 2010.
- [71] T. Sun, C. Bernabini, and H. Morgan, "Single-colloidal particle impedance spectroscopy: Complete equivalent circuit analysis of polyelectrolyte microcapsules," *Langmuir*, vol. 26, no. 6, p. 3821–3828, 2010.
- [72] R. J. Kortschot, I. A. Bakelaar, B. H. Ern e, and B. W. Kuipers, "A differential dielectric spectroscopy setup to measure the electric dipole moment and net charge of colloidal quantum dots," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 85, p. 033903, 2014.
- [73] G. Barbero, M. Becchi, and F. C. Freire, "Contribution of the electrode-electrolyte interface to the impedance of an electrolytic cell," *J. Appl. Phys.*, vol. 104, no. 11, p. 7, 2008.
- [74] C. Chassagne, E. Dubois, M. L. Jim enez, J. P. M. van der Ploeg, and J. van Turnhout, "Compensating for Electrode Polarization in Dielectric Spectroscopy Studies of Colloidal Suspensions: Theoretical Assessment of Existing Methods," *Front. Chem.*, vol. 4:30, pp. 1–19, 2016.