



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA  
ELÉCTRICA – INSTRUMENTACIÓN

SENSOR DE CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA SIN CONTACTO PARA  
MONITOREO DE PROCESOS BIOQUÍMICOS

TESIS  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:

Ramón Fernando Padilla Morán

TUTOR PRINCIPAL

ROBERTO GIOVANNI RAMÍREZ CHAVARRÍA  
INSTITUTO DE INGENIERÍA, UNAM

CIUDAD DE MÉXICO, SEPTIEMBRE, 2022



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. Juan A. Hernández Cordero

**Secretario:** Dr. Pablo Roberto Pérez Alcázar

**1er. Vocal:** Dr. Roberto Giovanni Ramírez Chavarría

**2do. Vocal:** Dra. Celia Angelina Sánchez Pérez

**3er. Vocal:** Dr. Naser Qureshi

Esta tesis se realizó en el Instituto de Ingeniería, Ciudad Universitaria, UNAM.

Director de tesis

Dr. Roberto Giovanni Ramírez Chavarría

---



## Agradecimientos

A la UNAM por darme la oportunidad de cumplir una nueva meta profesional a través del conocimiento y apoyo de todos mis profesores.

Esta tesis fue realizada gracias al apoyo de:

- Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) mediante el apoyo económico brindado durante los 24 meses de mis estudios de Maestría (CVU: 1083697)
- Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) a través del proyecto UNAM-PAPIIT TA100221



# Índice general

Índice de figuras	ix
Índice de tablas	x
Resumen	1
<b>1. Introducción</b>	<b>2</b>
1.1. Planteamiento del problema . . . . .	2
1.2. Motivación y Objetivos . . . . .	4
1.3. Contribución . . . . .	5
1.4. Estructura de la tesis . . . . .	6
<b>2. Antecedentes teóricos</b>	<b>8</b>
2.1. Biosensores Electroquímicos . . . . .	8
2.1.1. Celdas electroquímicas . . . . .	11
2.1.2. Sensores Amperométricos . . . . .	14
2.1.3. Sensores Potenciométricos . . . . .	15
2.1.4. Sensores Conductimétricos . . . . .	17
2.1.5. Impedancia eléctrica . . . . .	19
2.1.6. Modelo de circuitos eléctricos equivalentes . . . . .	21
2.1.7. Espectroscopia de impedancia electroquímica . . . . .	24
2.2. Electrodos interdigitados . . . . .	26
2.3. Detección de conductividad sin contacto acoplada capacitivamente ( $C^4D$ ) . . . . .	30
2.4. Amplificación de ácidos nucleicos . . . . .	34
2.4.1. Reacción en cadena de polimerasa ( $PCR$ ) . . . . .	35
2.4.2. Amplificación isotérmica mediada por bucle ( $LAMP$ ) . . . . .	37

<b>3. Diseño del sensor de conductividad <math>C^4D</math></b>	<b>42</b>
3.1. Computadora . . . . .	43
3.1.1. Etapa de comunicación . . . . .	44
3.1.2. Filtrado de datos . . . . .	45
3.1.3. Despliegue y captura de información . . . . .	46
3.2. Microcontrolador . . . . .	47
3.3. Generador de funciones . . . . .	49
3.3.1. Principio de funcionamiento . . . . .	50
3.3.2. Configuración del módulo AD9834 . . . . .	53
3.3.3. Acondicionamiento de la señal generada . . . . .	54
3.4. Unidad de detección . . . . .	56
3.4.1. Electrodo interdigitado . . . . .	56
3.4.2. Convertidor de corriente a voltaje . . . . .	57
3.4.3. Acondicionamiento de las señales . . . . .	58
3.5. Rectificador de señal . . . . .	63
3.6. Convertidor analógico-digital . . . . .	65
3.6.1. Principio de funcionamiento . . . . .	66
3.6.2. Configuración del convertidor ADS1220 . . . . .	68
<b>4. Pruebas y Resultados experimentales</b>	<b>71</b>
4.1. Prueba con elementos eléctricos pasivos . . . . .	71
4.2. Medición de conductividad en electrólitos . . . . .	75
4.3. Monitoreo de los cambios de conductividad eléctrica debido al método de amplificación <i>LAMP</i> . . . . .	80
<b>5. Conclusiones y trabajo a futuro</b>	<b>85</b>

# Índice de figuras

2.1. Composición básica de un biosensor. . . . .	9
2.2. Composición básica de una celda electroquímica. . . . .	11
2.3. Composición de un sistema de 2 electrodos. . . . .	12
2.4. Composición de un sistema de 3 electrodos. . . . .	13
2.5. La reacción de zinc metálico con una solución acuosa de iones de cobre en una celda galvánica. . . . .	14
2.6. Composición de una celda conductimétrica. . . . .	18
2.7. Composición de una celda con puente de Wheatstone. . . . .	19
2.8. Composición de una celda con el arreglo de las 4 puntas. . . . .	20
2.9. Circuito equivalente básico de una celda electroquímica. . . . .	22
2.10. Representación esquemática del efecto de doble capa eléctrica [1].	23
2.11. Circuito equivalente de Randles. . . . .	23
2.12. Diagrama de Nyquist del circuito equivalente de Randles. . . . .	25
2.13. Sistema de espectroscopia de impedancia electroquímica. . . . .	26
2.14. Celda electroquímica de electrodos interdigitados para el re- conocimiento de ADN [2]. . . . .	27
2.15. Composición y características de un arreglo de electrodos in- terdigitados. . . . .	28
2.16. Esquema de la transición de un capacitor de placas paralelas a un sensor plano [3]. . . . .	29
2.17. Modelo de circuito equivalente para un arreglo de electrodos interdigitados. . . . .	29
2.18. Sistema básico para aplicar la técnica de electroforesis capilar.	31
2.19. Arreglo axial $C^4D$ empleado como detector en un sistema de electroforesis capilar. . . . .	32
2.20. Modelo de circuito equivalente para un sistema $C^4D$ . . . . .	33
2.21. Composición básica de un sistema $C^4D$ . . . . .	34
2.22. Proceso completo de la técnica PCR. . . . .	36

2.23. Secuencias del ácido nucleico objetivo e iniciadores [4]. . . . .	39
2.24. Proceso completo para la técnica <i>LAMP</i> . . . . .	41
3.1. Composición del sensor de conductividad $C^4D$ propuesto. . . . .	43
3.2. Arreglo de la trama de datos para el protocolo de comunicación serial. . . . .	44
3.3. Imagen de muestra de la interfaz desarrollada. . . . .	47
3.4. Terminales y características de la placa de desarrollo Arduino Leonardo. . . . .	48
3.5. Transferencia de datos en el protocolo de comunicación SPI [5].	49
3.6. Generador de funciones AD9834. . . . .	50
3.7. Constitución básica de un generador DDS [6]. . . . .	51
3.8. Circunferencia de división de fase [6]. . . . .	51
3.9. Circunferencia de división de fase. . . . .	52
3.10. Circuito del filtro activo paso-bajas. . . . .	54
3.11. Electrodo interdigitado tipo <i>bd</i> . . . . .	57
3.12. Amplificador operacional convertidor de corriente a voltaje. . . . .	58
3.13. Amplificador operacional inversor. . . . .	59
3.14. Gráfica del voltaje de salida del rectificador en función de la frecuencia. . . . .	60
3.15. Arreglo formado con el analizador de redes <i>Analog Discovery 2 Diligent</i> . . . . .	62
3.16. Gráfica de la amplitud de la señal de salida en función de la frecuencia. . . . .	62
3.17. Circuito electrónico básico de un rectificador de precisión. . . . .	63
3.18. Circuito del rectificador de precisión propuesto. . . . .	66
3.19. Convertidor analógico-digital ADS1220. . . . .	67
3.20. Constitución básica de un convertidor tipo $\Sigma\Delta$ [7]. . . . .	67
3.21. Flujo de pulsos a la salida del modulador [8]. . . . .	68
3.22. Proceso de diezmado de los datos [9]. . . . .	69
4.1. Valores de corriente medidos en función de los valores de resistencia nominales para las pruebas de calibración. . . . .	74
4.2. Gráficas de amplitud (a) y fase (b) para cada una de las concentraciones de KCl. . . . .	76
4.3. Cambios de amplitud cuando se utilizan diferentes concentraciones de KCl. . . . .	77

4.4.	Cambios de la frecuencia de resonancia para cada una de las concentraciones de KCl. . . . .	78
4.5.	Cambios de fase para cada una de las concentraciones de KCl. . . . .	78
4.6.	Valores de voltaje <i>RMS</i> que arrojó el sistema $C^4D$ . . . . .	79
4.7.	Gráficas de amplitud (a) y fase (b) para cada una de las concentraciones de la solución <i>LAMP</i> . . . . .	81
4.8.	Cambios de amplitud cuando se utilizan diferentes concentraciones de la solución <i>LAMP</i> . . . . .	82
4.9.	Cambio en la frecuencia de resonancia para cada una de las concentraciones de la solución <i>LAMP</i> . . . . .	83
4.10.	Cambios de fase cuando se utilizan diferentes concentraciones de la solución <i>LAMP</i> . . . . .	84

# Índice de tablas

4.1. Valores de corrientes teóricas para las pruebas de calibración. .	73
4.2. Valores de voltaje RMS y voltajes pico a pico del TIA de las pruebas de calibración . . . . .	73
4.3. Valores de corrientes reales. . . . .	74
4.4. Comparación entre los valores de corriente teóricos y los valores de corriente medidos . . . . .	75
4.5. Valores de voltaje de salida para cada concentración junto con la desviación estándar de cada medición. . . . .	79
4.6. Valores de sensibilidad y límites de detección para cada parámetro de medición . . . . .	84

# Resumen

Las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos han cobrado relevancia en los últimos dos años debido a la actual pandemia de provocada por el coronavirus SARS-CoV-2, debido a que, han sido utilizadas principalmente para el diagnóstico de personas infectadas con este virus, siendo hasta ahora, la técnica PCR la más utilizada para este propósito, sin embargo, existen otras técnicas de amplificación de ácidos nucleicos conocidas como técnicas isotérmicas que resultan menos complejas y más específicas a la hora de replicar un ácido nucleico. De aquí que, estas técnicas sean capaces de integrarse con otros sistemas fuera de un laboratorio para detectar la presencia de algún tipo de ácido nucleico.

Con base en lo anterior, se presenta el diseño de un biosensor de conductividad eléctrica que hace uso de la técnica conocida como  $C^4D$  para detectar la presencia de un ácido nucleico cuando se somete a un proceso de amplificación isotérmica  $LAMP$ . La técnica  $C^4D$  permite realizar mediciones sucesivas de forma no invasiva y eliminando completamente el riesgo de contaminación de las muestras. Para la fabricación de este sistema, se aprovecha de una de las ventajas más significativas de este tipo de sensores que, es su compatibilidad directa con la electrónica y que permite el acondicionamiento y procesamiento de las señales que intervienen en el análisis.

Se presentan los resultados de dos pruebas de calibración y una prueba de concepto realizadas con el biosensor que, muestran la viabilidad del método propuesto mediante un análisis en frecuencia que permite analizar las muestras bajo prueba por medio de distintos parámetros cada uno con su propia sensibilidad y límites de detección. Al final, se ha obtenido como resultado un dispositivo con hardware mínimo, en conjunto con una plataforma de análisis robusta pero intuitiva para el usuario. Por otro lado, con la técnica propuesta, se ha realizado un análisis rápido, de alta sensibilidad, bajo costo y compatible con métodos de amplificación isotérmica.

# Capítulo 1

## Introducción

*En este capítulo se presenta la relación que existe entre los biosensores electroquímicos y las especies bioquímicas, en particular, con los ácidos nucleicos y como es que, a partir de la conjunción de distintas técnicas se pueden desarrollar sistemas para la detección de ésta misma especie bioquímica. Con base en esto se presenta la problemática que se busca resolver con este trabajo.*

---

### 1.1. Planteamiento del problema

A partir de los estudios de los procesos bioquímicos [10] han surgido distintos biosensores que utilizan diversas técnicas para caracterizar especies bioquímicas como proteínas, ácidos nucleicos, anticuerpos, células y otras partículas biológicas. Para esta tarea se han utilizado métodos de detección, monitoreo y transducción ópticos, mecánicos, térmicos, químicos, magnéticos y electroquímicos, para recolectar, observar e interpretar las señales que resultan del análisis realizado. Dentro de los métodos electroquímicos, la conductividad eléctrica ha sido utilizada como parámetro de detección en sistemas como los de electroforesis [11], sin embargo, en los últimos años esta herramienta ha sido utilizada para la detección directa de ácidos nucleicos cuando son sometidos a diversas técnicas de amplificación.

La amplificación de ácidos nucleicos [12] es una herramienta que ha sido relevante para la investigación y en aplicaciones, como el desarrollo de la medicina clínica, el diagnóstico de enfermedades infecciosas, la clonación

de genes y el control de calidad industrial. Dentro de estas técnicas la más utilizada es la conocida como reacción en cadena de polimerasa (*PCR* por sus siglas en inglés de *quantitative Polymerase Chain Reaction*), sin embargo, esta prueba resulta demasiado compleja, considerando que, requiere del uso de instrumentos sofisticados como por ejemplo, el uso de un termociclador, por otro lado, los procesos de manipulación de las muestras involucrados en esta técnica son lentos y necesitan de recursos humanos altamente capacitados para llevarlos a cabo, por tal motivo su implementación resulta ser exclusiva de laboratorios especializados. Con base en lo anterior, han surgido otras técnicas conocidas como técnicas de amplificación isotérmicas que no presentan las desventajas ya mencionadas.

Ambas técnicas tienen como objetivo la amplificación exponencial de miles de fragmentos de ácido nucleico con una mínima muestra de éste, sin embargo, por si solas no son capaces de indicar si la amplificación se realizó satisfactoriamente o, dicho de otra manera, si dentro de la muestra existía la mínima cantidad del ácido nucleico bajo prueba para ser amplificado. Para contrarrestar esta desventaja se utilizan en conjunto otras herramientas de detección como, por ejemplo, las pruebas por fluorescencia, pruebas de turbidez, electroforesis en gel y electroquímicas [13]. Éstas últimas, presentan una ventaja sobre las demás, y es que, su instrumentación es menos sofisticada. Además son de tamaño y precio reducido, pero su característica más importante, es su estrecha compatibilidad con la tecnología electrónica que permite realizar múltiples mediciones paralelas, reduciendo así el tiempo de medición y abriendo la posibilidad de realizar instrumentación sencilla para aplicaciones como: el análisis de sangre, cultivo celular y la detección de secuencias de ácidos nucleicos [14].

El uso de biosensores electroquímicos radica en que, dentro de los procesos bioquímicos como la amplificación de ácidos nucleicos, las propiedades eléctricas de las muestras se encuentran en un cambio constante. La conductividad eléctrica es una de estas propiedades y una de las más utilizadas como método de detección en electroquímica [15, 16]. El método de detección por conductividad usualmente utiliza electrodos que están en contacto con la muestra bajo prueba, sin embargo, esto provoca un efecto de polarización y un efecto de erosión electroquímica, además, los electrodos suelen contaminarse lo que puede provocar errores en las pruebas realizadas.

Una de las técnicas de detección de conductividad que ha cobrado relevancia en los últimos años es la técnica de detección de conductividad eléctrica sin contacto de acoplamiento capacitivo ( $C^4D$  por sus siglas en inglés de *Ca-*

*pacitively Coupled Contactless Conductivity Detection*) [17,18]. Esta técnica consiste en depositar una muestra o solución bajo prueba sobre una celda electroquímica formada por dos electrodos separados una cierta distancia y cubiertos por un material aislante, después, sobre uno de los electrodos se introduce un voltaje de tipo sinusoidal que origina que la celda se polarice, dando paso al movimiento de los iones dentro de la muestra, o dicho de otra manera, se genere una señal de corriente entre ambos electrodos. Así, la magnitud de la señal de corriente es única para cada muestra bajo prueba, considerando sus propiedades de conductividad, de aquí que, pueda ser utilizada como método de detección.

Las técnicas de amplificación isotérmica y la técnica de detección de conductividad  $C^4D$  [19] han sido utilizadas en conjunto para la detección de ácidos nucleicos, basándose en el hecho de que, durante el proceso de amplificación realizado se liberan y se absorben iones en la solución y de acuerdo a la tasa de producción de estos iones cambia la conductividad de la solución lo que representa la presencia del ácido nucleico bajo prueba.

Con base en lo anterior, la unificación de las técnicas de amplificación isotérmica y la detección de conductividad sin contacto  $C^4D$  pueden dar paso al desarrollo de nuevas herramientas que puedan contrarrestar las dificultades que enfrentan la técnica PCR y la detección de conductividad eléctrica convencional para la detección de ácidos nucleicos.

### 1.2. Motivación y Objetivos

El estudio de los procesos biológicos y químicos han provocado el desarrollo de distintos biosensores que utilizan un amplia de gama de métodos de detección a partir de distintos tipos de señales. Cuando estos métodos son de carácter eléctricoquímico, la conductividad eléctrica ha resultado ser útil como parámetro de detección para el estudio de especies bioquímicas, en particular para la detección de ácidos nucleicos que es la principal aplicación de este trabajo.

Para la detección de ácidos nucleicos se ha recurrido principalmente a la técnica PCR [20], la cual ha resultado efectiva para esta aplicación. Sin embargo, esta prueba requiere de infraestructura sofisticada y de recursos humanos altamente capacitados y, por lo tanto, solo puede ser realizada dentro de los laboratorios especializados. Para enfrentar esta problemática, se ha aprovechado la evolución y el avance en la investigación para la aplicación

de nuevas técnicas de amplificación de ácidos nucleicos que no requieren de instrumentos complejos para efectuarse, permitiendo la integración de otros sistemas, como los biosensores electroquímicos. Estos últimos, utilizan como método de transducción a los cambios en variables eléctricas resultantes de las reacciones químicas del mismo proceso de amplificación, como lo es la conductividad eléctrica.

Dentro de estos mismos sistemas resultan de interés los sistemas de detección de conductividad sin contacto debido a su composición sencilla, facilidad de operación y a su gran capacidad de reutilización.

Con base en lo anterior, los objetivos de este trabajo son:

1. Diseñar, fabricar y poner en funcionamiento un dispositivo electroquímico para la detección del proceso de amplificación de ácidos nucleicos a través de conductividad eléctrica.
2. Implementar la técnica  $C^4D$  con instrumentación relativamente simple para observar de manera detallada los cambios de conductividad eléctrica debido a la técnica de amplificación de ácidos nucleicos conocida como: amplificación isotérmica mediada por bucle (*LAMP* por sus siglas en inglés de *Loop Mediated Isothermal Amplification*).
3. Desarrollar algoritmos robustos de procesamiento de señales para incrementar la sensibilidad y resolución del método.

### 1.3. Contribución

La amplificación de ácidos nucleicos a través de la técnica *PCR* ha cobrado relevancia en los últimos dos años debido a la actual pandemia que se vive en todo el mundo por la presencia del virus SARS-CoV-2, pues ha sido utilizada para el diagnóstico de personas infectadas por este virus, sin embargo, también ha sido relevante como herramienta para la epidemiología basada en aguas residuales [21–23] que ha permitido conocer el comportamiento y el esparcimiento del virus en distintas partes del mundo.

Con base en lo anterior el Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México presentó un sensor electroquímico simple [24], económico y asequible para detectar material genético del virus SARS-CoV-2 para ayudar en el monitoreo epidemiológico en aguas residuales utilizando

una celda electroquímica formada por electrodos serigrafiados donde tiene lugar la reacción de amplificación *LAMP*.

De acuerdo a lo anterior, este trabajo busca presentar una alternativa más que pudiera contribuir al monitoreo de este agente patógeno en aguas residuales utilizando la misma técnica *LAMP*, pero esta vez, utilizando un sistema *C<sup>4</sup>D*. Al final, se espera obtener como resultado un dispositivo con *hardware* mínimo, en conjunto con una plataforma de análisis robusta pero intuitiva para el usuario. Por otro lado, con la técnica propuesta, se espera poder realizar un análisis que sea rápido, de alta sensibilidad y bajo costo.

### 1.4. Estructura de la tesis

Este trabajo se ha dividido en 5 capítulos. En este mismo capítulo ya se ha presentado la problemática que se busca resolver con este trabajo, así como también, las motivaciones y los objetivos que se han planteado para el desarrollo del sensor propuesto.

En el siguiente capítulo se presentan todos los antecedentes teóricos que permiten sustentar el diseño y el funcionamiento del sensor de conductividad. Se presentan el concepto de biosensor, biosensores electroquímicos, distintos tipos de sensores electroquímicos, la técnica de detección *C<sup>4</sup>D* y la técnica de amplificación de ácidos nucleicos.

En el capítulo 3 se presenta la constitución del sensor de conductividad desarrollado, la descripción y el principio de funcionamiento de cada uno de sus elementos, al igual que, los procesos en los que se ven involucrados cada uno de ellos.

En el capítulo 4 se presentan las pruebas a las que fue sometido el sensor de conductividad. La primera de ellas fue el análisis de pruebas en elementos eléctricos pasivos, dado que el sistema puede ser modelado a través de circuitos eléctricos básicos. La segunda prueba consistió en el análisis de soluciones de electrolitos que permiten observar, en primera instancia, los cambios en conductividad eléctrica al variar su concentración, considerando que los valores de conductividad eléctrica de estas sustancias se encuentran bien definidas en la literatura. Por último, con la técnica de amplificación isotérmica *LAMP* en conjunto con la técnica *C<sup>4</sup>D* se presentan los resultados del análisis con la presencia de agentes patógenos en muestras de aguas residuales.

Para finalizar en el capítulo 5 se presentan las conclusiones derivadas de las 3 pruebas realizadas con el sistema, de igual manera, se discuten las

## CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

---

futuras aplicaciones y mejoras que pudieran implementarse en un futuro para el sensor propuesto.

Ahora que se han expuesto las motivaciones para el desarrollo de este trabajo se aborda a continuación todos los conceptos en los que se basa el funcionamiento y la integración del sensor de conductividad que se propone.

# Capítulo 2

## Antecedentes teóricos

*En este capítulo se habla de todos aquellos conceptos que están involucrados en el desarrollo de este trabajo, comenzando con el concepto y la estructura de un biosensor, mencionando los diferentes tipos de transducción que utilizan pero enfocándose en las técnicas electroquímicas que son dependientes de una celda electroquímica y como es que a partir de estas celdas se pueden aplicar distintas técnicas amperométricas, potenciométricas y conductimétricas. Dentro de estas últimas se encuentra la técnica  $C^4D$ , utilizada en este trabajo.*

---

### 2.1. Biosensores Electroquímicos

De acuerdo con la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) el término biosensor se reserva para definir un dispositivo analítico que incorpora un elemento biológico íntimamente asociado con un transductor fisicoquímico, que en presencia de un analito produce una señal, generalmente eléctrica discreta o de carácter continuo, proporcional a la cantidad presente del mismo [25]. Los biosensores son un subconjunto de los sensores químicos y por lo tanto, comparten su estructura básica que está conformada por un sistema de reconocimiento químico o molecular (receptor) y un transductor fisicoquímico [26]. Los dos elementos se encontraran en todo momento interconectados, ya que, la señal de estímulo presente en el receptor que, puede ser

de tipo electroquímico, óptico, térmico o basado en la variación de la masa, es transformada por el transductor en una señal secundaria. [27, 28].

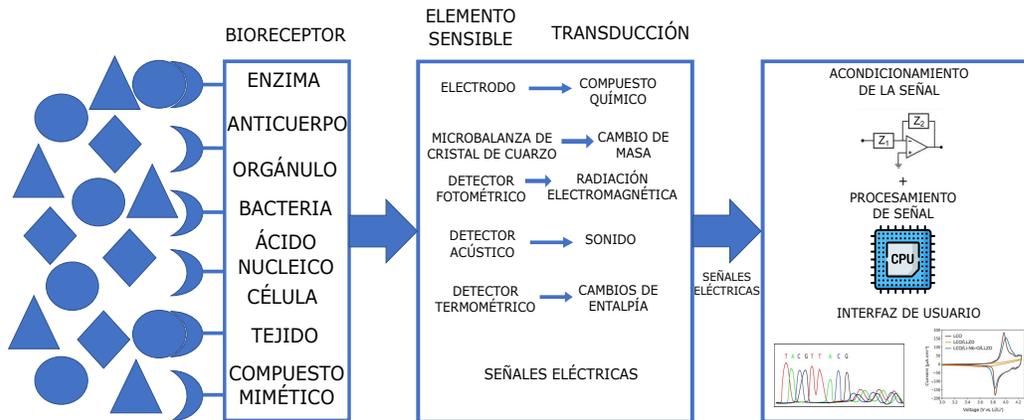


Figura 2.1: Composición básica de un biosensor.

Adicionalmente, en la Figura 2.1 se muestra de manera más específica la composición de un biosensor [2], a través de 5 componentes principales que son:

1. **Bioreceptor** presente en el analito y que proviene de las muestras que se están analizando, que generalmente son muestras de cultivos de células humanas (sangre, orina, saliva, etc.), de alimentos, ambientales (agua, muestras de suelos, vegetación). Por otro lado, los bioreceptores en sí pueden ser ácidos nucleicos, células, anticuerpos, enzimas u otras especies bioquímicas.
2. **Elemento sensible** que da lugar a un evento biológico específico que genera una señal. Algunos ejemplos de estos elementos [25] son las fibras ópticas, los electrodos, nanotubos, nanocables, marcadores fluorescentes y nanopartículas.
3. **Transductor** que transforma la señal asociada al proceso de reconocimiento en una señal procesable generalmente de tipo eléctrica.
4. **Etapas de acondicionamiento y procesamiento de la señal**, considerando que la mayoría de las veces la señal de salida del transductor

## CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

---

es de tipo eléctrico, deberá ser sometida a procesos de filtrado, ampliación y digitalización para poder ser enviada a una computadora y entonces someterla a un análisis a través de algún *software*.

5. **Interfaz de usuario** que es la herramienta con la cual se observan los resultados del análisis.

Como se ha mencionado existen diferentes métodos de transducción, sin embargo, dados los alcances y características de este trabajo solo se mencionaran los biosensores electroquímicos.

La electroquímica es la rama de la química que se ocupa de la relación que existe entre los efectos eléctricos y químicos. Gran parte de este campo se ocupa del estudio de los cambios químicos provocados por el paso de una corriente eléctrica y la generación de energía eléctrica por reacciones químicas [29].

Con base en lo anterior se puede decir que un sensor electroquímico es un dispositivo que puede convertir las reacciones de una muestra biológica en una señal medible de corriente o potencial eléctrico, en una acumulación de carga o alterar de manera medible las propiedades conductoras de un medio entre electrodos [2, 30].

Los biosensores electroquímicos se han utilizado en distintos rubros como en la salud para realizar diagnósticos en el entorno del paciente, en problemas genéticos como cáncer [31] o diabetes [32] y en el análisis de distintas medicinas [33]. También han sido utilizados en el control de calidad de alimentos [34], en la caracterización de distintas especies bioquímicas [35] y para distintos estudios del ambiente que involucran la calidad y el control de suelos y del agua [36, 37]. Todas estas aplicaciones se deben a su gran robustez, implementación sencilla, portabilidad, bajo costo, pero sobretodo, a su compatibilidad directa con la electrónica.

Bajo la denominación de sensores electroquímicos se pueden mencionar 3 tipos de sensores: amperométricos, potenciométricos y conductimétricos, su clasificación va de acuerdo a sus modos de detección o medición. Antes de describir cada uno de estos sensores es importante mencionar que todos ellos comparten el uso de una celda electroquímica [38] que en su forma más básica consiste de una solución iónica que se encuentra en contacto directo con dos barras conductoras mejor conocidas como electrodos, en la Figura 2.2 se puede observar de mejor manera su composición.

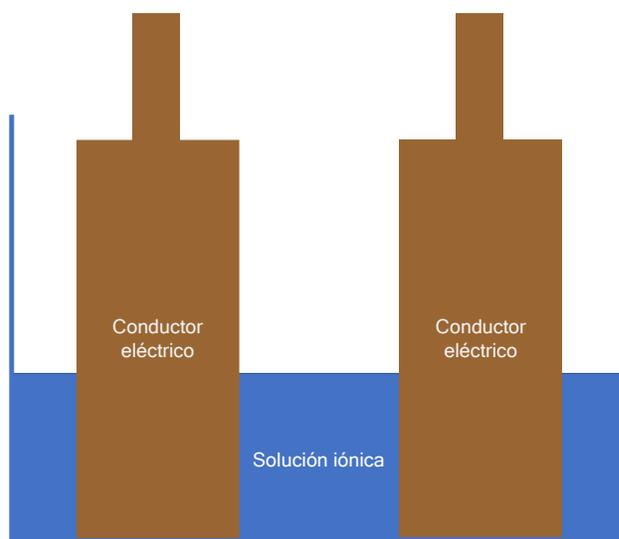


Figura 2.2: Composición básica de una celda electroquímica.

### 2.1.1. Celdas electroquímicas

Como ya se mencionó, el arreglo de las celdas consiste de dos electrodos y una solución iónica conductora, este arreglo es conocido como un sistema de dos electrodos [39, 40], los cuales llevan el nombre de electrodo de trabajo y electrodo auxiliar, en la Figura 2.3 se puede observar su composición. En este sistema se aplica un potencial entre ambos electrodos y los cambios detectados en forma de corriente son medidos en el electrodo de trabajo y su magnitud depende del potencial aplicado y de las propiedades de la sustancia iónica, por otro lado, el electrodo auxiliar tiene como principales tareas cerrar el circuito y mantener un potencial constante independientemente del valor de la corriente que fluya. La corriente que se genera es debido a una reacción conocida como *redox* (reducción + oxidación), en donde existe una transferencia de electrones y dentro de las celdas ocurre que uno de los electrodos es denominado cátodo en donde ocurre la semirreacción de reducción y se aceptan electrones, mientras que, en el otro electrodo, denominado ánodo, ocurre la semirreacción de oxidación en donde se ceden electrones.

El sistema de dos electrodos presenta ciertas desventajas entre las que se encuentran la dificultad para mantener un potencial constante en el electrodo auxiliar y también se presenta una caída de potencial debida a la resistencia propia de la solución y la corriente que esta fluyendo, mejor conocida como

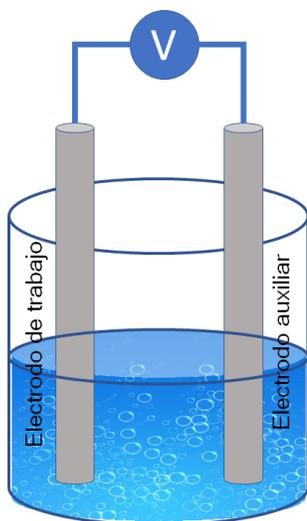


Figura 2.3: Composición de un sistema de 2 electrodos.

potencial  $iR$ . Para combatir esa problemática se presenta el sistema de tres electrodos [39] mostrado en la Figura 2.4, en donde, además del electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar, se agrega un electrodo de referencia. El electrodo de referencia tiene como tarea controlar y monitorear el potencial que se encuentra en el electrodo de trabajo y de esta manera minimizar el impacto de  $iR$ .

Dado que, los electrodos son los elementos sensibles en las celdas, vale la pena recalcar la función de cada uno de ellos de la siguiente manera

- **Electrodo de trabajo** es el elemento más importante dentro de la celda, debido a que, sobre su superficie ocurre la reacción electroquímica que se desea caracterizar. Generalmente el material de estos electrodos es un metal noble como el oro, la plata, el cobre o el platino, aunque también pueden ser de pasta de carbono o de grafito.
- **Electrodo auxiliar** es el elemento que permite cerrar el circuito y contribuye a un mejor flujo de cargas. Este electrodo puede estar hecho del mismo material que el electrodo de trabajo, sin embargo, debe ser de un tamaño mayor para que la reacción en este sea más lenta y no opaque a la que está sucediendo en el electrodo de trabajo.
- **Electrodo de referencia** es un elemento que mantiene un valor de

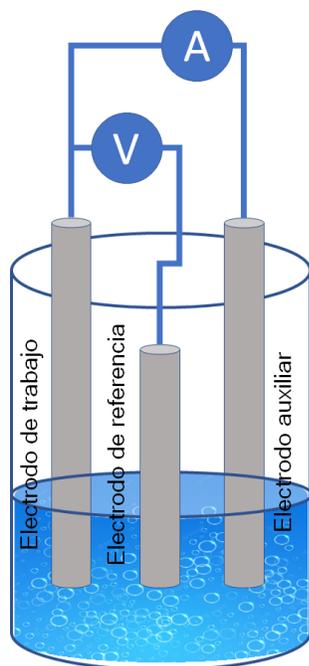


Figura 2.4: Composición de un sistema de 3 electrodos.

potencial constante y si se ve a la celda como un circuito eléctrico tendría la misma función que la tierra, de esta manera, con el electrodo de referencia cualquier cambio de potencial en la celda se debe solo al electrodo de trabajo. Los electrodos de referencia son de una composición mas compleja como el electrodo normal de hidrógeno o el electrodo de calomel, también se utilizan electrodos de metal-sal como el de plata/cloruro de plata ( $\text{Ag}/\text{AgCl}$ ).

Ambas celdas mostradas son también conocidas como celdas electrolíticas y su característica principal es que requieren de un potencial externo para generar una reacción *redox*, sin embargo, existen de otro tipo en donde a partir de una reacción *redox* espontánea se genera un potencial y corriente eléctrica conocidas como celdas galvánicas [40].

La composición básica de una celda galvánica se muestra en la Figura 2.5 donde se observan dos electrodos que están sumergidos de forma separada en una solución iónica, adicionalmente, las soluciones iónicas se unen con la ayuda de un puente salino que evita la contaminación de las sustancias mientras se

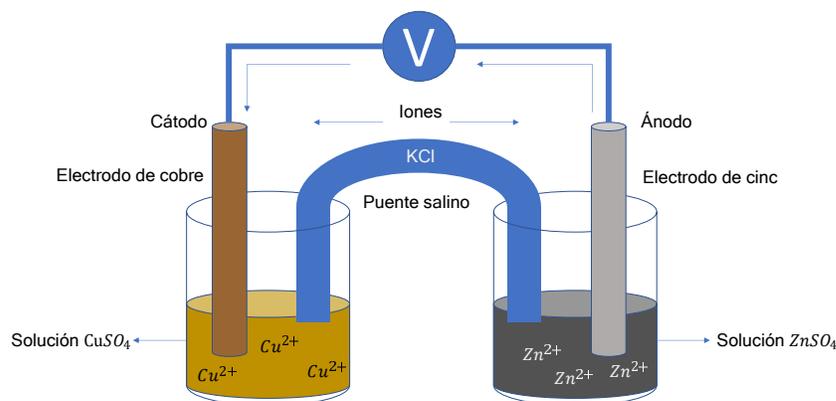


Figura 2.5: La reacción de zinc metálico con una solución acuosa de iones de cobre en una celda galvánica.

mantiene la reacción y también permite cerrar el circuito.

De igual forma en la Figura 2.5 se muestra el ejemplo más utilizado de una celda galvánica que está formada por un electrodo de zinc sumergido en una solución de sulfato de zinc ( $ZnSO_4$ ), un electrodo de cobre sumergido en sulfato de cobre ( $CuSO_4$ ) y un puente salino que es un tubo que contiene una solución de cloruro de potasio (KCl). La generación de corriente eléctrica en la celda se da en principio por el movimiento de electrones que se mueven del electrodo de zinc al electrodo de cobre a través del conductor externo, luego dentro de las soluciones se da un fenómeno de migración donde los iones de zinc son empujados desde el electrodo, de manera contraria, los iones de cobre son atraídos hacia el electrodo y en el puente salino los iones de potasio son atraídos hacia el electrodo de cobre y los iones de cloruro son atraídos hacia el electrodo de zinc, por último, en las superficies de los electrodos se da una reacción *redox* en donde el cobre se reduce y el zinc se oxida.

Ahora que se mencionaron los arreglos básicos de las celdas se pueden describir de mejor manera los diferentes tipos de sensores electroquímicos.

### 2.1.2. Sensores Amperométricos

Los dispositivos amperométricos [26, 30] son un tipo de sensor electroquímico que miden continuamente la corriente resultante de la oxidación o reducción de una especie electroactiva en una reacción bioquímica. El proceso de amperometría se refiere a la detección de las variaciones de corriente a

través del tiempo mientras se mantiene un potencial constante en un celda electroquímica, específicamente, entre un electrodo de trabajo y un electrodo de referencia. Estos sensores requieren de un estímulo de potencial externo que puede ser de un valor constante o escalonado, de esta manera los picos de corriente medida representan la concentración del analito presente en la solución. Estos sensores se caracterizan por su gran selectividad ya que para cada especie existirá un valor distinto de corriente.

Uno de los métodos más representativos de estos sensores es la voltamperometría que, se basa en medir una corriente cuando se hace variar un potencial en una celda. La respuesta en corriente eléctrica se observa a través de los valores máximos y mínimos que se logren obtener, de tal modo que representan las concentraciones del analito bajo prueba. Existen distintas técnicas de voltamperometría entre las que destacan:

- Voltamperometría de barrido lineal
- Voltamperometría de pulso normal
- Voltamperometría de pulso diferencial
- Voltamperometría de onda cuadrada
- Voltamperometría cíclica
- Voltamperometría AC

En aplicaciones bioquímicas la detección amperométrica [41] trabaja con microorganismos, antígenos, anticuerpos y ácidos nucleicos que se involucran en reacciones *redox* con enzimas, o en una reacción de bioafinidad en la superficie de un electrodo de trabajo.

### 2.1.3. Sensores Potenciométricos

En los sensores potenciométricos [2,30] una diferencia de potencial es medida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia para obtener información útil de la actividad de los iones en una reacción electroquímica, ya sea que, esté fluyendo o no corriente entre ambos electrodos. El transductor puede ser un electrodo selectivo de iones (ISE), que es un sensor electroquímico basado en películas delgadas o membranas selectivas como elementos de reconocimiento.

## CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

---

La relación entre el potencial que se mide y la concentración se puede ver por medio de la ecuación de Nernst que está dada de la siguiente manera:

$$E_{celda} = E_{celda}^0 - \frac{RT}{nF} \ln Q, \quad (2.1)$$

donde  $E_{celda}$  representa el potencial de la celda que se mide cuando no hay corriente,  $E_{celda}^0$  es una potencial constante que se aporta a la celda,  $R$  es la constante universal de los gases,  $T$  es la temperatura constante de la celda dada en grados Kelvin,  $n$  es el número de electrones intercambiados en la reacción *redox*,  $F$  es la constante de Faraday y  $Q$  es el índice entre la concentración de iones en el ánodo y la concentración de iones en el cátodo. Cuando se utiliza directamente la ecuación de Nernst para determinar la concentración de un analito se conoce como potenciometría directa.

Los sensores potenciométricos se pueden aplicar como método alternativo para determinar eléctricamente el punto de una reacción bioquímica en el que cantidades iguales de soluciones opuestas alcanzan un estado de equilibrio. Esto se conoce como medir un *punto final* de titulación con la técnica conocida como titulación o valoración potenciométrica. Al realizar una titulación a corriente constante o cero, el *punto final* se identifica a partir de las variaciones en el potencial del electrodo, que son causadas por cambios en la concentración de la solución que contiene al ion determinante del potencial.

Otro tipo de sensores potenciométricos utilizan transistores de efecto de campo (FET). Estos sensores utilizan un campo eléctrico para controlar el comportamiento eléctrico y la resistencia de un canal entre dos electrodos de materiales semiconductores. Existen diferentes dispositivos FET como el transistor de efecto de campo metal-óxido-semiconductor (MOSFET), transistor de efecto de campo metal-semiconductor (MESFET), transistor de efecto de campo modificado químicamente (CHEMFET) y aquel que entra dentro de los sensores potenciométricos conocido como transistor de efecto de campo sensible a iones (ISFET), en este dispositivo la puerta es sustituida con un electrodo selectivo de iones, que solo reacciona a un solo tipo de ion que generalmente es una membrana con características eléctricas compatibles con la especie que se desea analizar. Estos dispositivos se utilizan para medir cambios de pH, concentraciones de iones y para estudiar la cinética de las reacciones biocatalíticas que involucran enzimas.

### 2.1.4. Sensores Conductimétricos

Los sensores conductimétricos [1, 2] miden la capacidad de un analito como las soluciones electrolíticas, para conducir corriente eléctrica entre dos electrodos, dicho de otra manera, miden la conductividad eléctrica basándose en el hecho de que, una solución iónica se comporta como un conductor y en consecuencia obedece la ley Ohm. De acuerdo a lo anterior, la variable que refleja esta capacidad de conducción y que tiene relación directa con el potencial de estímulo y la corriente que se genera en la celda, es comúnmente la resistencia eléctrica  $R$  que está definida como:

$$R = \rho \frac{l}{A}, \quad (2.2)$$

donde  $l$  representa generalmente la longitud de un material, pero en este caso es el espacio que existe entre los electrodos,  $A$  para este caso representa el área superficial de los electrodos y por último,  $\rho$  es la resistividad que, despejando de 2.2 podemos establecer como:

$$\rho = R \frac{A}{l}, \quad (2.3)$$

la resistividad es la capacidad de un material o sustancia para oponerse al paso de la corriente eléctrica, por lo tanto, resulta ser el inverso de la conductividad eléctrica  $\sigma$  que se puede definir como:

$$\sigma = \frac{1}{\rho} = \frac{1}{R} \times \frac{l}{A} = G \times k, \quad (2.4)$$

sus unidades están dadas en  $\Omega^{-1}cm^{-1}$  o en  $S cm^{-1}$  donde S son *Siemens*. El término mostrado como  $1/R$  representa la conductancia  $G$ , es el inverso de la resistencia eléctrica y su unidad está dada en S. Las mediciones de conductividad se dan en una celda conductimétrica como la mostrada en la Figura 2.6 donde se observan dos electrodos separados una cierta distancia. Con esto en mente el término  $l/A$  es conocido como constante de celda  $k$  y su valor es único para cada arreglo de electrodos.

La relación que existe entre la conductividad  $\sigma$  y la concentración  $C$  ( $mol cm^{-3}$ ) de la sustancia bajo prueba, se da por medio de la de conductividad molar  $\Lambda$  de la siguiente manera:

$$\Lambda = \frac{\sigma}{C}. \quad (2.5)$$

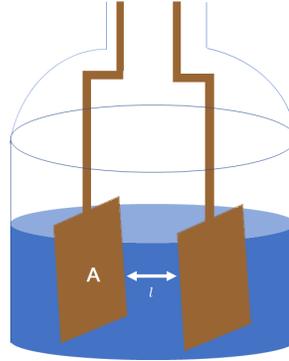


Figura 2.6: Composición de una celda conductimétrica.

Ya sea que se requiera medir conductividad o resistividad el parámetro detectado por la celda es resistencia o conductancia en principio, por lo que, una de las maneras clásicas de medir estos parámetros es a través de un puente de Wheatstone [42] donde la resistencia bajo prueba es sustituida por las terminales de los electrodos como se muestra en el arreglo de la Figura 2.7. La resistencia de la sustancia bajo prueba se puede obtener de la siguiente manera

$$R_x = R_v \frac{R_1}{R_2}. \quad (2.6)$$

Este arreglo de dos electrodos resulta efectivo, sin embargo, es susceptible a un efecto de polarización debido a la acumulación de los iones en la superficie de los electrodos, como consecuencia, surge la celda de 4 electrodos o 4 puntas [42] mostrada en la figura 2.8. En esta celda los electrodos más externos se encuentran conectados a una fuente de energía que permite que circule una corriente sobre ellos, en contraste, los electrodos internos al no estar en contacto directo con la fuente experimentarán un flujo de corriente casi nulo, por consiguiente, al medir el voltaje  $v_{ei}$  entre estos se puede hacer una relación directa con la corriente  $i_f$  que esta fluyendo en la celda para obtener la resistencia  $R_s$  que pertenece, solo a la solución bajo prueba despreciando en mayor parte los efectos negativos de la contaminación de los electrodos de la siguiente manera

$$R_s = \frac{v_{ei}}{i_f}. \quad (2.7)$$

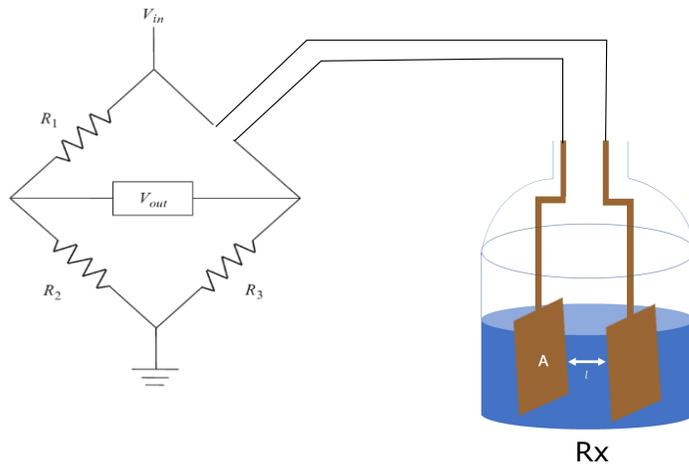


Figura 2.7: Composición de una celda con puente de Wheatstone.

Existen otros tipo de celdas que resultan mas complejas [43] como por ejemplo:

- Celda de electrodos planos paralelos
- Celda de Van der Pauw
- Celda de electrodos planos
- Celda de electrodos cilíndricos coaxiales

Al igual que los sensores amperometricos estos sensores requieren de un potencial o voltaje de estimulación, ya sea, de corriente directa (DC) o de corriente alterna (AC), se prefiere el segundo método para disminuir el ya mencionado efecto de polarización que añade un valor no deseado de resistencia, adicional al de la solución bajo prueba, debido a que, al estar alternando la polaridad los iones están en constante movimiento y por lo tanto es más complicado que los iones se adsorban a los electrodos. Al trabajar con voltajes de corriente alterna se introduce un concepto más completo de resistencia eléctrica conocido como impedancia.

### 2.1.5. Impedancia eléctrica

La impedancia [44] representa la oposición al flujo de una corriente eléctrica cuando un sistema es excitado por una señal de tipo sinusoidal. Si se

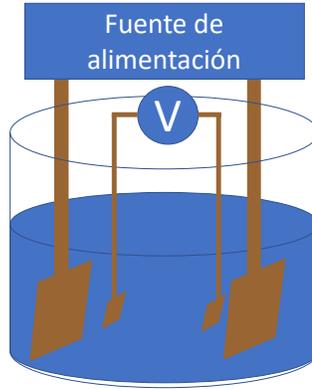


Figura 2.8: Composición de una celda con el arreglo de las 4 puntas.

considera una señal de voltaje  $v(t) = \mathbf{V}_0 \cos(\omega t + \phi)$  a una frecuencia  $\omega = 2\pi f$  dada, con  $\mathbf{V}_0$  y  $\phi$  como la amplitud y la fase de la señal, la cual se puede representar de forma fasorial como:

$$\mathbf{V} = \mathbf{V}_0 e^{j\phi}, \quad (2.8)$$

donde  $\mathbf{V}_0 = |\mathbf{V}|$  es la magnitud y  $\phi = \angle \mathbf{V}$  es la fase.

Y si se asume que la señal es aplicada a un sistema entonces también se tiene una corriente  $i(t) = \mathbf{I}_0 \cos(\omega t + \phi)$  representada de forma fasorial como:

$$\mathbf{I} = |\mathbf{I}_0| \angle \phi, \quad (2.9)$$

a la relación que existe entre la señal de voltaje y la de corriente se le conoce como impedancia eléctrica, y está definida para una frecuencia arbitraria  $\omega$  como el cociente entre el fasor de voltaje  $\mathbf{V}$  y el fasor de corriente  $\mathbf{I}$ , cuya expresión es:

$$\mathbf{Z}(j\omega) = \frac{\mathbf{V}}{\mathbf{I}}, \quad (2.10)$$

la impedancia es una magnitud de carácter complejo por lo que  $j$  se denota como la representación de un número imaginario de valor  $\sqrt{-1}$ . Considerando lo anterior la impedancia tiene una parte real y una parte imaginaria, así que se puede representar en el plano rectangular como:

$$\mathbf{Z} = \mathbf{R} + j\mathbf{X}, \quad (2.11)$$

con  $R$  como la parte real que se denomina como resistencia y  $X$  como la parte imaginaria que se denomina como reactancia eléctrica. La reactancia eléctrica puede ser tanto capacitiva como inductiva, aunque, por ahora solo se considera la capacitiva que, está dada como:

$$\mathbf{X}_C = \frac{1}{j\omega\mathbf{C}}, \quad (2.12)$$

donde  $C$  representa un valor de capacitancia.

Al igual que la resistencia la impedancia tiene una magnitud recíproca conocida como admitancia que también es de carácter complejo y esta definida como:

$$\mathbf{Y} = \frac{1}{\mathbf{Z}} = \mathbf{G} + j\mathbf{B}, \quad (2.13)$$

en este caso  $B$  es el inverso de la reactancia y es conocido como susceptancia que de igual manera puede ser capacitiva o inductiva, mientras que  $G$  continua siendo la conductancia.

### 2.1.6. Modelo de circuitos eléctricos equivalentes

Se puede ver a la celda electroquímica como una impedancia formada por la resistencia de la solución y dos capacitores como se muestra en la figura 2.9. Los capacitores se forman debido al *efecto de doble capa* [1] que se da cuando se aplica un potencial entre los electrodos que permite que se polaricen, ocasionando que los iones de la solución con una carga opuesta sean adsorbidos sobre la superficie de los electrodos formando así una región conocida como plano interno de Helmholtz, enseguida, a una distancia  $x$  se crea un segundo plano formado por los iones de la solución que un principio tenían la misma polaridad que el electrodo y que por lo tanto fueron expulsados, sin embargo, ahora la mayoría son atraídos por las cargas que se encuentran sobre los electrodos, a esta segunda región se le conoce como plano externo de Helmholtz. En la Figura 2.10 se presenta un ejemplo de este proceso. De igual manera, es visible la formación de dos planos polarizados separados por una determinada distancia, esta descripción es muy similar a la definición de un capacitor. Vale la pena mencionar que la distancia de separación está dada por las moléculas del disolvente que solvatan a los iones.

A partir de lo anterior, se puede hablar de un modelo de circuito eléctrico equivalente que, en su forma mas básica está formado por una resistencia

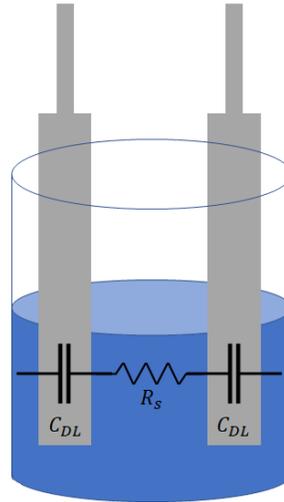


Figura 2.9: Circuito equivalente básico de una celda electroquímica.

y capacitor conectados en serie, aunque se han presentado otros modelos más completos [45] como el modelo de Randles mostrado en la figura 2.11. Este modelo es utilizado para describir el comportamiento de los sensores electroquímicos que utilizan a la impedancia eléctrica como parámetro de caracterización. El modelo está formado por 4 elementos

1. La resistencia de la solución bajo prueba  $R_S$
2. La capacitancia de doble capa  $C_{DL}$
3. La resistencia de transferencia de carga  $R_{CT}$
4. La impedancia de Warburg  $Z_W$

La resistencia de transferencia de carga  $R_{CT}$  representa la dificultad que experimenta un electrón para transportarse entre átomos y moléculas, por otro lado, la impedancia de Warburg está relacionada con el proceso de difusión del proceso electroquímico de la solución bajo prueba, en específico con su coeficiente de difusión, que de igual manera depende de la concentración y de la frecuencia del voltaje AC de estimulación. La fase de esta impedancia siempre es de  $45^\circ$ .

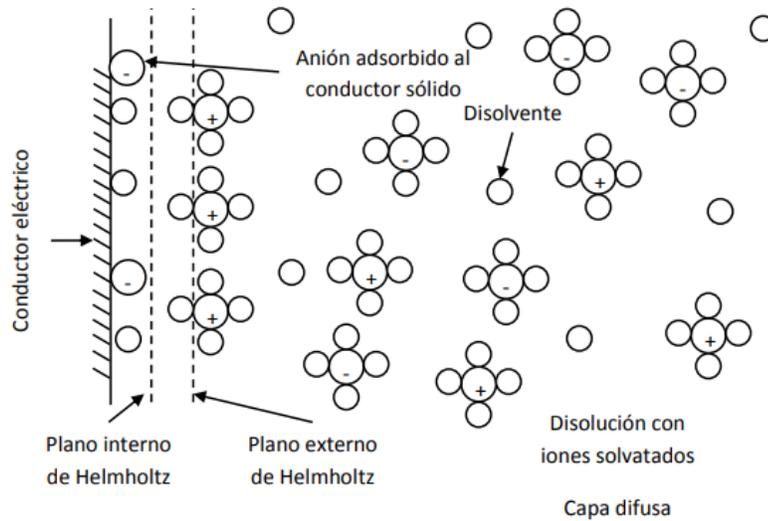


Figura 2.10: Representación esquemática del efecto de doble capa eléctrica [1].

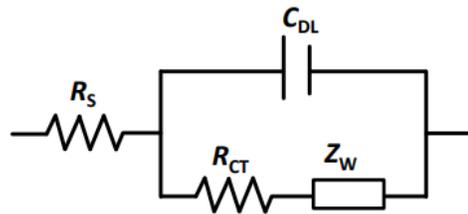


Figura 2.11: Circuito equivalente de Randles.

Dos de las técnicas que se basan en este y otros modelos para evaluar las propiedades intrínsecas de algún material e investigar los procesos particulares involucrados en la conductividad, resistividad o la capacitancia de un sistema electroquímico, son la espectroscopia de impedancia electroquímica y la detección de conductividad sin contacto acoplada capacitivamente.

### 2.1.7. Espectroscopia de impedancia electroquímica

La espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) [30, 45, 46] es una técnica simple, rápida, de bajo costo y no invasiva utilizada en sistemas electroquímicos que se basa en el concepto de impedancia eléctrica para la caracterización de superficies de electrodos, procesos de corrosión, estudios de membranas y la optimización de celdas de combustible.

La técnica consiste en aplicar una señal de voltaje de tipo sinusoidal a una celda electroquímica que responde al estímulo con una señal medible de corriente eléctrica, luego, al relacionar ambas señales como se muestra en la ecuación 2.10 se puede obtener un valor de impedancia eléctrica. Este proceso se repite variando la frecuencia de la señal de voltaje en un determinado rango de frecuencias, de tal forma que, se obtiene un valor de impedancia por cada una de las frecuencias seleccionadas, considerando que la impedancia está en función de la frecuencia. Con los distintos valores de impedancia es posible construir un espectro de impedancias para evaluar las propiedades intrínsecas de algún material e investigar los procesos particulares involucrados en la resistividad y la capacitancia del sistema electroquímico.

Generalmente los espectros de estas pruebas se presentan por medio de un diagrama de Nyquist o a través de diagramas de Bode y para poder interpretarlos se utilizan circuitos eléctricos equivalentes que, como se había mencionado anteriormente representan las propiedades del sistema bajo prueba. En la Figura 2.12 se presenta el diagrama de Nyquist que contiene el espectro del ya mencionado circuito equivalente de Randles, donde es posible observar el valor de  $R_S$  en la intersección del semicírculo con el eje  $Z_r$ . Luego  $R_{CT}$  se encuentra en el otro extremo y su valor está dado como  $R_S + R_{CT} - 2DC_{DL}$  donde  $D$  representa un coeficiente de difusión característico. Enseguida el valor de la capacitancia de doble capa  $C_{DL}$  se encuentra en el punto máximo del semicírculo y está dada como  $\omega = 2\pi f = 1/(R_{CT}C_{DL})$ . Por último, la línea con un ángulo de  $45^\circ$  representa a  $Z_W$  que se puede extrapolar del eje  $Z_r$ .

Los sistemas de espectroscopia de impedancia electroquímica están compuestos generalmente por dos elementos: un circuito potenciostato y un analizador de respuesta en frecuencia (FRA) [46], un ejemplo se muestra en la Figura 2.13. El circuito potenciostato [47] mostrado está formado por una celda de tres electrodos y dos amplificadores operacionales llamados amplificador de control y amplificador de transimpedancia. El trabajo del amplificador de control es monitorear el voltaje entre el electrodo de trabajo y el

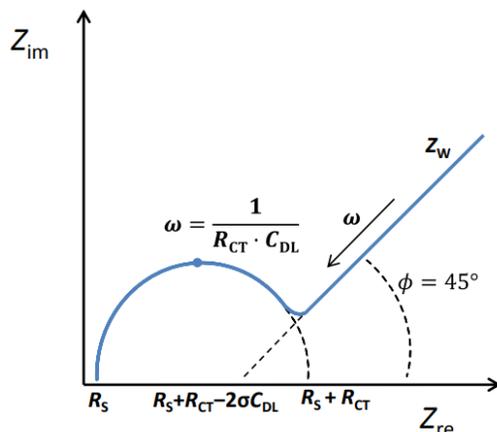


Figura 2.12: Diagrama de Nyquist del circuito equivalente de Randles.

electrodo de referencia para asegurar que el valor de ambos sea el mismo en todo momento, por otro lado, el amplificador de transimpedancia tiene como tarea transformar la señal de corriente a una señal de voltaje proporcional.

El analizador de respuesta en frecuencia [48] es un instrumento de medición utilizado para analizar componentes, circuitos y sistemas en el dominio de la frecuencia. Su funcionamiento consiste en generar una señal que se introduce a un sistema, esta señal viaja a través del sistema, de modo que en su salida se genera otra de características similares que posteriormente es filtrada e introducida nuevamente al analizador para medir su amplitud y su fase con ayuda de detectores sensibles a la fase.

En los biosensores electroquímicos la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica se utiliza para observar cambios en las propiedades eléctricas derivadas de eventos de reconocimiento biológico en las superficies de electrodos modificados [2]. Un ejemplo de uso es para monitorear la unión de algún tipo de ADN. En esta aplicación se depositan cadenas simples de ADN entre los espacios que forman un arreglo de electrodos interdigitados para funcionar como elemento de reconocimiento biológico, de tal manera que, cuando los electrodos entren en contacto con una solución iónica que contiene otra cadena simple de ADN complementaria, se genere una unión que provoque un incremento en la impedancia total del sistema. En este ejemplo la celda está formada por los electrodos interdigitados mostrados en el Figura 2.14, el uso de estos electrodos se ha incrementado de gran mane-

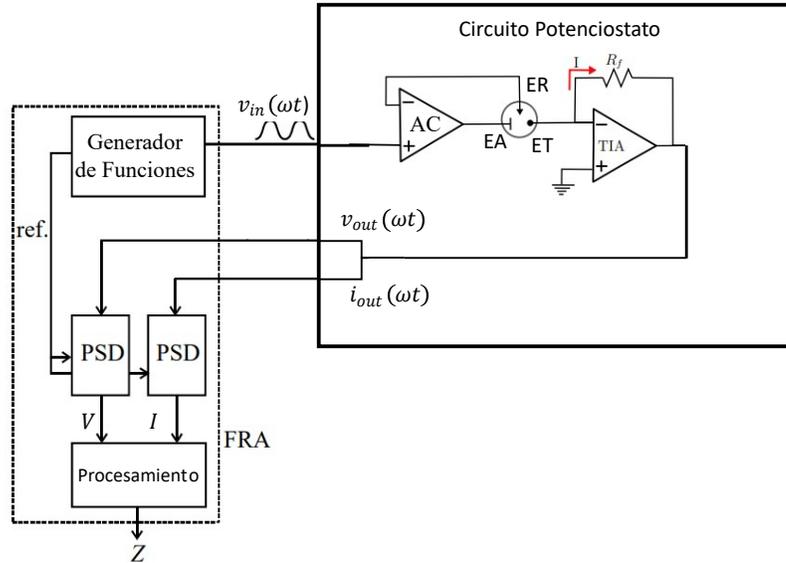


Figura 2.13: Sistema de espectroscopia de impedancia electroquímica.

ra debido a la ventajas que ofrecen y las cuales se abordan en las siguiente secciones considerando que en este trabajo también son utilizados.

## 2.2. Electrodo interdigitados

Los electrodos interdigitados [3, 45, 49, 50] son un tipo sensor plano que está compuesto por dos electrodos metálicos con un patrón repetitivo similar a un dedo depositados de forma paralela sobre un sustrato aislante, de igual forma son conocidos como electrodos tipo peine. La mayoría de las veces se puede identificar a los electrodos como electrodo de excitación y electrodo de detección, otras de sus características a tener en cuenta son: las barras de recolección, el número de dedos, la longitud y el ancho de cada dedo, así como el espacio que hay entre cada uno de ellos. Su estructura se muestra en la Figura 2.15. Este tipo de electrodos se utilizan frecuentemente en sensores de gas, sensores de humedad y en distintos biosensores.

En particular su uso en biosensores electroquímicos se debe a su fácil miniaturización, su bajo costo y a su sencillo proceso de fabricación, sin embargo, su característica más llamativa es que no se necesita modificar su

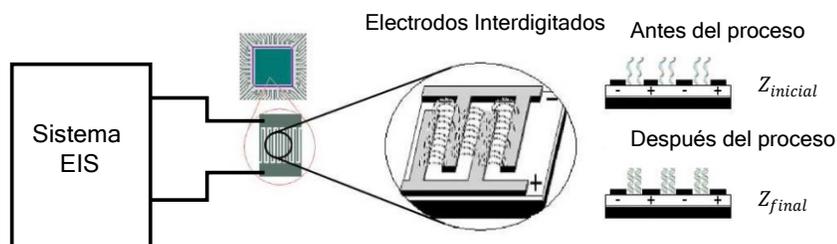


Figura 2.14: Celda electroquímica de electrodos interdigitados para el reconocimiento de ADN [2].

estructura para analizar distintas soluciones, ya que, la interfase electrodo-solución provoca cambios eléctricos que pueden proporcionar información de los parámetros intrínsecos de la muestra. Los electrodos interdigitados suelen ser vistos como sensores capacitivos debido a su estructura y a su capacidad de medir cambios en las propiedades dieléctricas generados por la interacción entre los electrodos y la solución, no obstante, también es posible observar cambios en la conductividad o resistividad que transmiten información relacionada con la densidad, la concentración o la impedancia de la solución.

Su principio de funcionamiento es muy similar al de un capacitor de placas planas paralelas, por lo que, para poder explicarlo se puede considerar que se aplica un voltaje a un capacitor de tal forma que sus placas se polarizan y se crea un campo eléctrico que viaja de una placa a la otra. Si durante este proceso se decide abrir lentamente las placas, como se muestra en la figura 2.16, se obtendrá un arreglo coplanar que ocasiona que el campo eléctrico se estire y abarque un mayor espacio. Ahora, teniendo en cuenta el arreglo de los electrodos interdigitados se puede decir que cada uno de los dedos representa una placa, de manera que, al estar polarizadas de forma distintas e intercaladas se crean varias protuberancias de campo eléctrico que viajan de un electrodo a otro, esta naturaleza repetitiva permite que haya una señal más estable. Es importante mencionar que la forma y la capacidad de penetración del campo dependen del espacio que haya entre los electrodos. Finalmente, cuando los electrodos entran en contacto con algún material o solución bajo prueba se modifica la distribución del campo eléctrico generando cambios en los parámetros eléctricos que permiten obtener información de la muestra

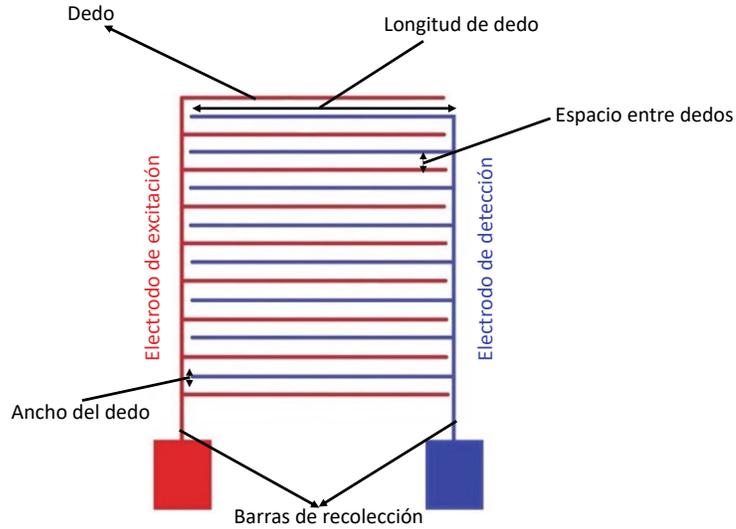


Figura 2.15: Composición y características de un arreglo de electrodos interdigitados.

depositada.

Viendo el arreglo de electrodos interdigitados como una celda electroquímica se puede establecer un circuito equivalente como el mostrado en la figura 2.17 donde se tiene a  $R_c$  como la resistencia conjunta de los cables y las barras colectoras,  $C_G$  como la capacitancia geométrica entre dos electrodos cuando se une con una solución bajo prueba,  $R_s$  continua siendo la resistencia de la solución entre los electrodos, del mismo modo, la capacitancia de doble capa está presente solo que, en este caso se muestra como un elemento de fase constante  $CPE_{DL}$ .

Como se mencionó anteriormente con los electrodos interdigitados se pueden observar en general los cambios en la capacitancia  $C$  efectiva de la celda cuando se deposita una sustancia bajo prueba que, modifica la constante dieléctrica del medio entre los dos electrodos, de manera que la capacitancia se puede de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$C = \epsilon_0 \epsilon_r \times k, \quad (2.14)$$

donde  $\epsilon_0$  es la permitividad del vacío,  $\epsilon_r$  es la permitividad relativa de la solución bajo prueba y  $k$  es la constante de la celda.

Si se requiere observar cambios en la resistividad o conductividad se debe

## CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

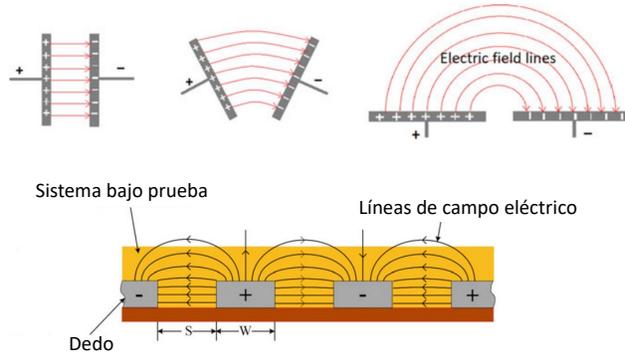


Figura 2.16: Esquema de la transición de un capacitor de placas paralelas a un sensor plano [3].

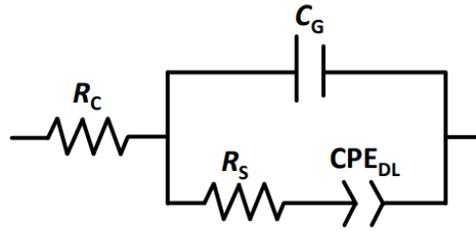


Figura 2.17: Modelo de circuito equivalente para un arreglo de electrodos interdigitados.

obtener el valor de la resistencia de la solución de la siguiente manera:

$$R_s = \rho_s \times k \quad (2.15)$$

donde  $\rho_s$  es la resistividad de la solución bajo prueba y  $k$  es la constante de la celda. Para los electrodos interdigitados se puede calcular a  $k$  [51] con la siguiente ecuación:

$$k = 2 \frac{\sqrt[3]{S/W}}{L(N-1)} \quad (2.16)$$

aquí  $S$  representa el espacio entre los dedos de los electrodos,  $W$  es el ancho de los dedos,  $L$  es la longitud de los dedos y  $N$  el es número de dedos considerando ambos electrodos.

### 2.3. Detección de conductividad sin contacto acoplada capacitivamente ( $C^4D$ )

La técnica de detección de conductividad sin contacto acoplada capacitivamente ( $C^4D$ ) [16, 18] es una técnica electroquímica reciente que introduce un nuevo tipo de celda que evita el efecto de polarización y la erosión de los electrodos, debido a que, la solución bajo prueba y la celda nunca entran en contacto. Es utilizada frecuentemente en los sistemas de electroforesis capilar como elemento de detección para la caracterización de distintas especies como iones, peptidos, proteínas, carbohidratos, esteroides, ácidos nucleicos, vitaminas, fármacos y células.

La electroforesis capilar [52] es una técnica analítica que se basa en el efecto de doble capa y en el fenómeno de migración de especies con carga eléctrica para la separación y cuantificación de diferentes analitos como son iones, biomoléculas y células de acuerdo a su relación carga-masa.

Para explicar su funcionamiento se debe tomar en cuenta la Figura 2.18 en donde se muestran dos electrodos sumergidos de forma separada en un reservorio que contiene una sustancia *buffer*, de igual manera, en estos reservorios se sumergen los extremos de un pequeño tubo capilar flexible que está cargado negativamente. Luego dentro de uno de estos reservorios se deposita la sustancia bajo prueba y enseguida con la fuente de poder se aplica un alto voltaje de DC entre los electrodos que crea un campo eléctrico, al mismo tiempo, en la pared del capilar que está cargada negativamente se presenta el efecto de doble capa donde se forma una primera región llamada capa fija que contiene cationes que son atraídos por la carga negativa del capilar, sin embargo, los cationes atraídos neutralizan parcialmente la carga negativa en el capilar por lo que ahora la superficie puede atraer más cationes formando una segunda región llamada capa móvil, donde la concentración de cationes es mayor a la de aniones, hacia el centro del capilar la concentración de iones es la misma y es aquí que, debido al exceso de cationes en la región móvil se da el fenómeno de migración que, genera un flujo neto de especies llamado flujo electroosmótico en donde se separan las distintas especies que forman a la solución bajo prueba conforme a su relación carga-masa, por la afinidad de diferentes aditivos presentes en la solución *buffer* y por la viscosidad del sistema.

Por si sola la electroforesis capilar no es capaz de entregar un resultado por lo que es necesario utilizar un detector que funciona de manera indepen-

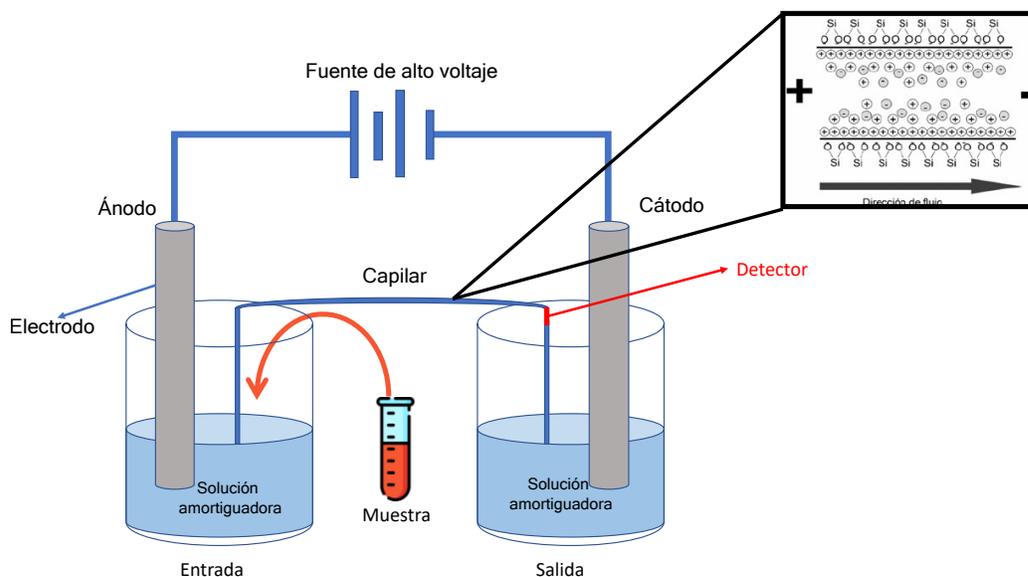


Figura 2.18: Sistema básico para aplicar la técnica de electroforesis capilar.

diente, la mayoría de la veces se utilizan sistemas de naturaleza óptica que permiten caracterizar a los analitos de acuerdo a su nivel de absorbancia o fluorescencia [53], sin embargo, algunas especies de iones pequeños no pueden ser detectados por estos sistemas. Con base en lo anterior se propuso la detección de conductividad eléctrica basada en arreglos convencionales [16] donde los electrodos de detección se colocaban al final del capilar de separación y estaban en contacto directo con la solución bajo prueba, no obstante, debido a la dificultad de construir celdas con dimensiones que coincidieran con los diámetros internos de las columnas de separación, la detección de conductividad por contacto nunca fue ampliamente adoptada y se abandonó la fabricación de este tipo de detectores.

Como alternativa se presentó el primer sistema de detección  $C^4D$  mostrado en la Figura 2.19 [54, 55]. Es un arreglo axial formado por dos electrodos tubulares galvanizados colocados a lo largo del exterior del capilar de forma separada, de tal forma que, cuando se este llevando a cabo una prueba con el sistema de electroforesis se excite uno de los electrodos con una señal de voltaje AC provocando que se genere una respuesta medible en forma de una señal de corriente eléctrica en el otro electrodo. En cada momento que el flujo electroosmótico permite el paso de una especie iónica la señal de corriente cambia su amplitud, reflejando así un cambio en la conductividad, de manera

## CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

que, cada una de las especies tendrá su propio valor característico en un determinado tiempo. Los resultados son enviados a un sistema computacional y con los datos obtenidos se puede entregar un resultado a través de una gráfica conocida como electroferograma, que muestra la señal proporcional a la conductividad en función del tiempo de cada una de las especies presentes en el solución bajo prueba.

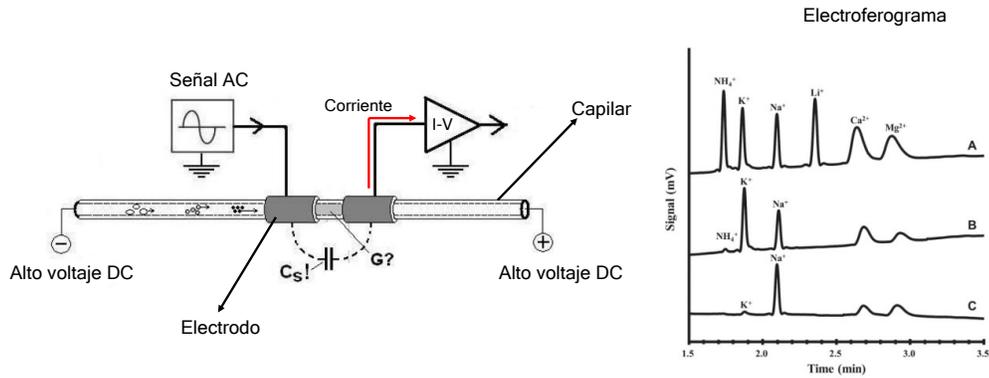


Figura 2.19: Arreglo axial  $C^4D$  empleado como detector en un sistema de electroforesis capilar.

Enfocándose solo en el sistema  $C^4D$  se puede decir que está formado por una celda con una superficie aislante, un electrodo de excitación, un electrodo de detección, una fuente de voltaje AC de alta frecuencia y una unidad de detección de señal (figura 2.21). Los dos electrodos se colocan sobre la superficie de la celda aislante separados por una determinada distancia. El arreglo  $C^4D$  al igual que otras celdas se puede representar por medio de un circuito equivalente mostrado en la figura 2.20, en este caso, los dos electrodos, la celda aislante y la solución bajo prueba, forman capacitores de acoplamiento ( $C_1$  y  $C_2$ ), también se considera la capacitancia parásita ( $C_p$ ) que es formada debida al acoplamiento entre los electrodos y el aire. Por último, la solución depositada entre los dos electrodos es equivalente a una resistencia ( $R_s$ ).

El principio de funcionamiento del detector  $C^4D$  [15, 17, 56–59] consiste en aplicar una señal de voltaje AC sobre el electrodo de excitación, lo que origina que la celda aislante se polarice, a su vez, esto induce el movimiento de iones dentro de la muestra debido a la formación de una diferencia de potencial interfacial, luego, en el electrodo de detección ocurre lo mismo, lo que genera una corriente entre ambos electrodos.

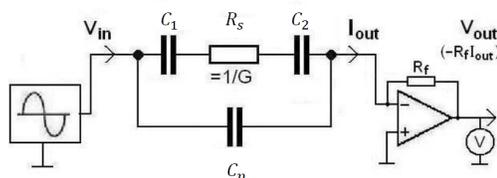


Figura 2.20: Modelo de circuito equivalente para un sistema  $C^4D$ .

La corriente que se genera es detectada por la unidad de detección de señal que es en esencia un amplificador de transimpedancia que transforma esta señal de corriente a una de voltaje proporcional. La relación entre la señal de respuesta y la señal de voltaje del generador reflejan la admitancia total del sistema que está constituida por la reactancia de los capacitores de acoplamiento, la capacitancia parásita y la resistencia de la solución bajo prueba, siendo esta última la variable de interés, por lo que, los valores de reactancia de los 3 capacitores deben atenuarse. La capacitancia de los capacitores de acoplamiento es de un valor que ronda los picoFarads, de aquí que, de acuerdo a la expresión 2.12 se necesita que la señal de excitación tenga una frecuencia alta que permita reducir el valor de la reactancia, generalmente se eligen frecuencias de entre 100 kHz y 5 MHz. La capacitancia parásita por otro lado, tiene un valor alto ( $\mu\text{F}$ ), de manera que, la reactancia parásita puede ser fácilmente atenuada con la frecuencia seleccionada para los capacitores de acoplamiento. De esta manera, los cambios en la señal de respuesta se deben únicamente a la conductancia de la muestra bajo prueba.

La señal de salida de la unidad de detección es de naturaleza alterna y con una frecuencia relativamente alta, por tal motivo, la mayoría de las veces se emplea un rectificador que convierta la señal a un valor de voltaje continuo que permite emplear de manera más sencilla técnicas de acondicionamiento o digitalización para un mejor análisis de datos.

Los sistemas  $C^4D$  por si solos han sido utilizados en algunos casos para el estudio de suelos [60], para el conteo de células de bacterias [61], para el estudio de conservadores de comida [62], para el análisis de componentes del cemento [63] y en el monitoreo del proceso de amplificación de ácidos nucleicos [19], misma aplicación que se utiliza en este trabajo y por lo tanto resulta de interés este proceso que se presenta a continuación.

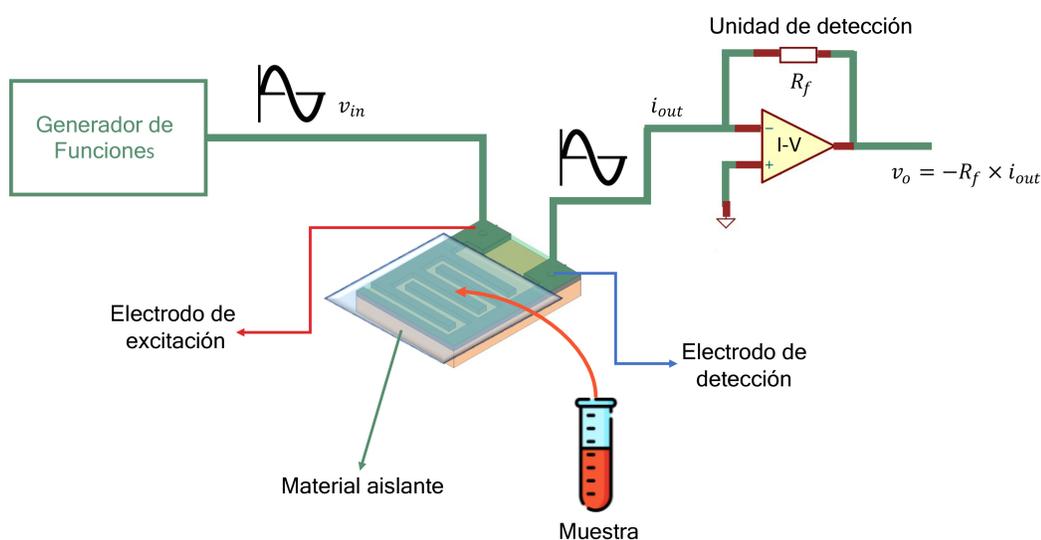


Figura 2.21: Composición básica de un sistema  $C^4D$ .

## 2.4. Amplificación de ácidos nucleicos

La amplificación de ácidos nucleicos [12,64] es una herramienta molecular utilizada en distintos campos de la investigación y en campos orientados a aplicaciones, como el desarrollo de medicina clínica, el diagnóstico de enfermedades infecciosas, la clonación de genes y el control de calidad industrial. El principio básico de esta herramienta consiste en preparar una solución que contiene cantidades pequeñas de algún tipo de ácido nucleico que son sometidas a cambios de temperatura junto con otros elementos reactivos que permiten su replicación de forma exponencial.

Considerando que el proceso es dependiente de la temperatura se puede clasificar a las técnicas de amplificación en dos categorías basadas en sus requerimientos de temperatura llamadas: técnicas de amplificación por termociclado y técnicas de amplificación isotérmica. Las primeras requieren de diversos cambios de temperatura durante el proceso de replicación y para realizar esta tarea se hace uso de un termociclador que es un instrumento que permite variar la temperatura de manera secuencial de un contenedor. Por otro lado, las técnicas isotérmicas no requieren ser sometidas a cambios de temperatura, puesto que, solo requieren que la solución se encuentre a una temperatura de entre 60 a 65 °C para realizar la replicación del ácido nucleico objetivo.

Dentro de la categoría de amplificación por termociclado se encuentra la primer técnica de amplificación desarrollada y la más utilizada hasta hoy en día, llamada reacción en cadena de polimerasa (PCR) [20].

### 2.4.1. Reacción en cadena de polimerasa (*PCR*)

Para amplificar un ácido nucleico por *PCR* se requiere formar una solución con los siguientes elementos:

- **Ácido nucleico objetivo**
- Una enzima llamada **polimerasa** encargada de la replicación y sensible a la temperatura.
- **Iniciadores** o *primers* que son fragmentos complementarios de la secuencia del ácido nucleico objetivo que funcionan como guía para que la polimerasa pueda realizar la replicación. Se utilizan dos primers uno que sea complemento del inicio de la secuencia del ácido nucleico objetivo y uno mas que sea complemento de su secuencia final.
- **Desoxinucleótidos** (*dNTPs*) que sirven como enlace para unir a las nuevas copias del ácido nucleico objetivo.
- **Cloruro de Magnesio** u otro cofactor necesario para activar la polimerasa.
- Una **solución amortiguadora** o *buffer* que mantenga el pH de toda la mezcla.

La solución antes mencionada es sometida a un proceso que se puede dividir en 3 etapas llamadas:

1. Desnaturalización.
2. Alineamiento.
3. Extensión del ácido nucleico.

En el principio de la etapa de desnaturalización el ácido nucleico objetivo se encuentra de manera establece, es decir, con sus dos hebras unidas por sus nucleótidos naturales, enseguida la solución se calienta a una temperatura de

## CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

entre 90 y 96 °C, lo que provoca que el ácido nucleico objetivo se separe en dos hebras simples, o dicho de otra manera, se desnaturalice.

Ahora que el ácido nucleico se ha separado comienza la etapa de alineamiento, de tal forma que, la solución se enfría a una temperatura de entre 40 y 60 °C que permite que los iniciadores se emparejen con la hebras simples, uno por el extremo del inicio y el otro por el extremo del final de cada una de las hebras.

Para la última etapa se aumenta una vez más la temperatura de la solución hasta 72 °C, esto causa que la polimerasa se active y comience a realizar su trabajo que es fabricar nuevas copias del ácido nucleico. Cuando la polimerasa encuentra el extremo donde se dio el proceso de alineamiento, comienza a unir, con ayuda de los nucleótidos, al iniciador y a la hebra de manera que esta unión sirve como un molde que le permite continuar este proceso hasta el final de la hebra para generar una nueva copia del ácido nucleico objetivo. Al final de esta etapa se tienen dos copias del ácido nucleico de modo que, si se repite todo el proceso se tendrán cuatro copias y si se continua realizando, cada una la de las copias servirá como molde para nuevas copias lo que da como resultado una replicación exponencial del modo  $2^n$ . Las tres etapas se presentan en la Figura 2.22.

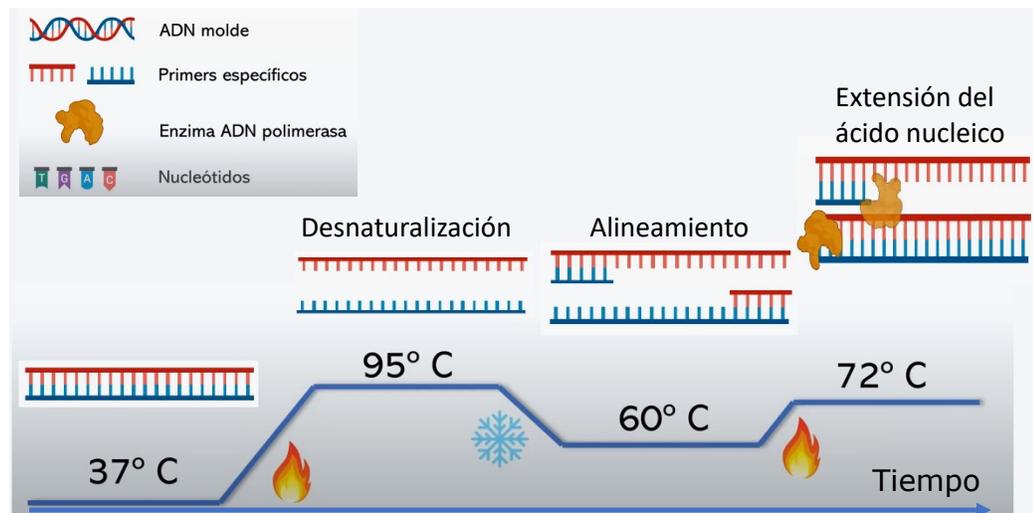


Figura 2.22: Proceso completo de la técnica PCR.

La principales desventajas de la PCR es que está sujeta al uso del termociclador y a otros instrumentos sofisticados que provocan que sea de uso

exclusivo en los laboratorios especializados, por otro lado, el proceso de replicación es lento ya que puede tardar hasta horas para finalizar y por último al utilizar varios instrumentos requiere de recursos humanos altamente capacitados para poder llevar a cabo una prueba, por estas razones, surgieron como alternativa las técnicas de amplificación isotérmica.

### 2.4.2. Amplificación isotérmica mediada por bucle (*LAMP*)

Como ya se mencionó anteriormente, las técnicas de amplificación isotérmica [12, 64, 65] no requieren del uso de un termociclador o ciclos de temperatura para llevar a cabo la amplificación de ácidos nucleicos y por lo tanto, ofrecen ventajas potenciales sobre las de termociclado en cuanto a velocidad, costo, escala y portabilidad. Estas técnicas han surgido gracias al descubrimiento y desarrollo de nuevas enzimas de polimerasa.

Entre las técnicas de amplificación isotérmica se encuentran algunas como:

- Amplificación basada en secuencias de ácidos nucleicos (*NASBA*)
- Amplificación de desplazamiento de hebra (*SDA*)
- Amplificación exponencial del círculo rodante (*E-RCA*)
- Amplificación isotérmica mediada por bucle (*LAMP*)
- Amplificación dependiente de helicasa (*HDA*)
- Método de amplificación de ramificación (*RMA*)

Cada una de estas técnicas presenta sus propios procesos y el explicar cada una de ellas está fuera de los alcances de este trabajo, por lo que, solo se hace énfasis en la técnica *LAMP*, misma que se utiliza en la aplicación del sistema propuesto.

*LAMP* [12, 66] utiliza procesos similares a los involucrados en la técnica *PCR*, es decir, la desnaturalización del ácido nucleico, el alineamiento de los iniciadores y la extensión del ácido nucleico. La solución utilizada en *LAMP* está formada por los siguientes elementos:

- **Ácido nucleico objetivo**

## CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

---

- La **polimerasa** *Bacillus stearothermophilus*(*BstDNA*).
- 4 **Iniciadores**, 2 internos (FIP y BIP) y 2 externos (F3 y B3).
- **Desoxinucleótidos** (*dNTPs*).
- **Cloruro de Magnesio** u otro cofactor.
- Una **solución amortiguadora** o *buffer*.

Al no tener ciclos de temperatura se dice que la técnica *LAMP* es de un solo paso, aunque se puede identificar tres procesos para la replicación del ácido nucleico objetivo

1. Producción del material de inicio.
2. Amplificación cíclica.
3. Elongación y reciclado.

Los procesos de esta técnica resultan un tanto complejos y por tal motivo es necesario describir las secuencias que forman la estructura del ácido nucleico objetivo y de los iniciadores. En principio las secuencias que permiten la replicación están denominadas como F2c y B2, estas secuencias están unidas al fragmento de ácido nucleico objetivo con la ayuda de dos secuencias internas llamadas F1c y B1, en el otro lado, F2c y B2 están unidas las secuencias externas F3c y B3, para observarlo de mejor manera se presenta esta estructura en la figura 2.23. El iniciador FIP está formado por las secuencias F1c y F2, mientras que, BIP está formado por las secuencias B2 y B1c, los dos iniciadores restantes contienen las secuencias F3 y B3. La letra c en todos los casos indica que son complementarias. Para comprender de mejor manera los procesos que se van a describir a continuación se presenta la figura 2.24.

El primer proceso inicia con la separación del ácido nucleico objetivo en dos hebras simples, luego, el iniciador FIP se alinea con la hebra superior juntando su secuencia F2 con la secuencia complementaria F2c de una de las hebras simples, después, con ayuda de la polimerasa se crea una nueva cadena doble, sin embargo, la secuencia F1c se encuentra elevada y no se complementa con la secuencia de la hebra superior, por esta razón, cuando el iniciador F3 se encuentra con la hebra doble desplazará a la inferior para formar una nueva hebra doble. La hebra simple que fue desplazada ahora

## CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

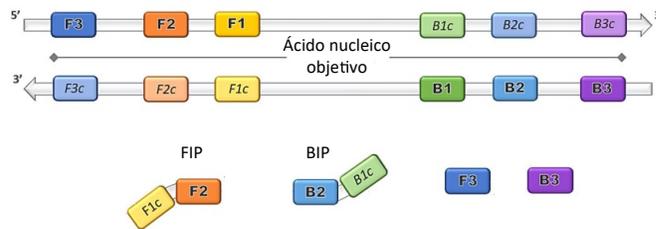


Figura 2.23: Secuencias del ácido nucleico objetivo e iniciadores [4].

se encuentra con el iniciador BIP y sus secuencias B2 y B2c se juntan para formar una cadena doble, pero del mismo modo, B1c queda elevada y no se complementa con la secuencia inferior, por lo que, en el momento que B3 encuentre a la hebra doble las separará nuevamente para formar ella misma otra hebra doble. Por último, la hebra que ha sido desplazada dos veces contiene las secuencias F1 y F1c en uno de sus extremos y por el otro lado tiene las secuencias B1 y B1c, esto provoca que se atraigan y se junten formando dos semibucles en los extremos de la hebra y de esta manera se crea el producto que permite la replicación cíclica del ácido nucleico objetivo.

Para el siguiente proceso, se debe observar que la hebra con los dos semibucles es compatible en uno de sus extremos con el iniciador FIP y por otro lado, la secuencia F1 que cierra el semibucle izquierdo está alineada con la hebra superior a través de la secuencia F1c. Con esta dos observaciones en mente se pueden describir dos eventos, en principio, la polimerasa ayudará a que la secuencia F1 genere una nueva hebra que provoca que el semibucle derecho se desdoble, enseguida, en el otro extremo el iniciador FIP se alinea justo en el bucle izquierdo de la nueva hebra doble, aquí, se forma otra cadena doble que desprenderá parcialmente a la que antes había creado F1 quedando enganchada solo por el lado izquierdo por la secuencia F1, por último, el extremo que quedo suelto está formado por la secuencias B1c y B1 que se atraen y forman un nuevo bucle. Este proceso se repite una gran cantidad de veces hasta formar una especie de cadenas que son el indicador de que el ácido nucleico se ha replicado. Es necesario mencionar que también existe el caso en donde la hebra con dos semibucles es compatible con el iniciador BIP, sin embargo el proceso es el mismo que se presento para el iniciador FIP.

En el proceso de elongación y reciclado se toman todas las hebras que han sido desplazadas para seguir formando más cadenas hasta obtener re-

## CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

---

peticiones alternativamente invertidas de la secuencia objetivo en la misma hebra. Es evidente la complejidad de los procesos en *LAMP* pero es gracias a esto que es mucho más específica y eficiente que PCR.

Para finalizar resulta relevante mencionar que, tanto las técnicas isotérmicas como las de termociclado no son capaces de entregar un diagnóstico o resultado que indique que se ha amplificado el ácido nucleico objetivo, es por esta razón que se combinan con distintos tipos de biosensores [64] basados en técnicas de fluorescencia, quimioluminiscencia, electroquimioluminiscencia, ensayos calorimétricos, resonancia de plasmones superficiales, fotoelectroquímicos y electroquímicos.

Hasta este punto se han abordado todos los conceptos que sostienen el principio de funcionamiento del sensor de conductividad propuesto, partiendo de la descripción de los biosensores, pero haciendo énfasis en los biosensores electroquímicos, siendo esta clasificación a la que pertenecen los detectores tipo  $C^4D$  de los cuales, también se han descrito sus orígenes y su composición principal, de igual manera, resultó de interés describir los procesos involucrados en las técnicas de amplificación de ácidos nucleicos, teniendo en cuenta que, la principal aplicación del sensor que aquí se presenta es identificar si estos procesos ocurrieron. Con estos conceptos en mente, en el siguiente capítulo se explica la composición particular y el funcionamiento de los elementos que componen el sensor  $C^4D$  que se ha desarrollado para este trabajo.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES TEÓRICOS

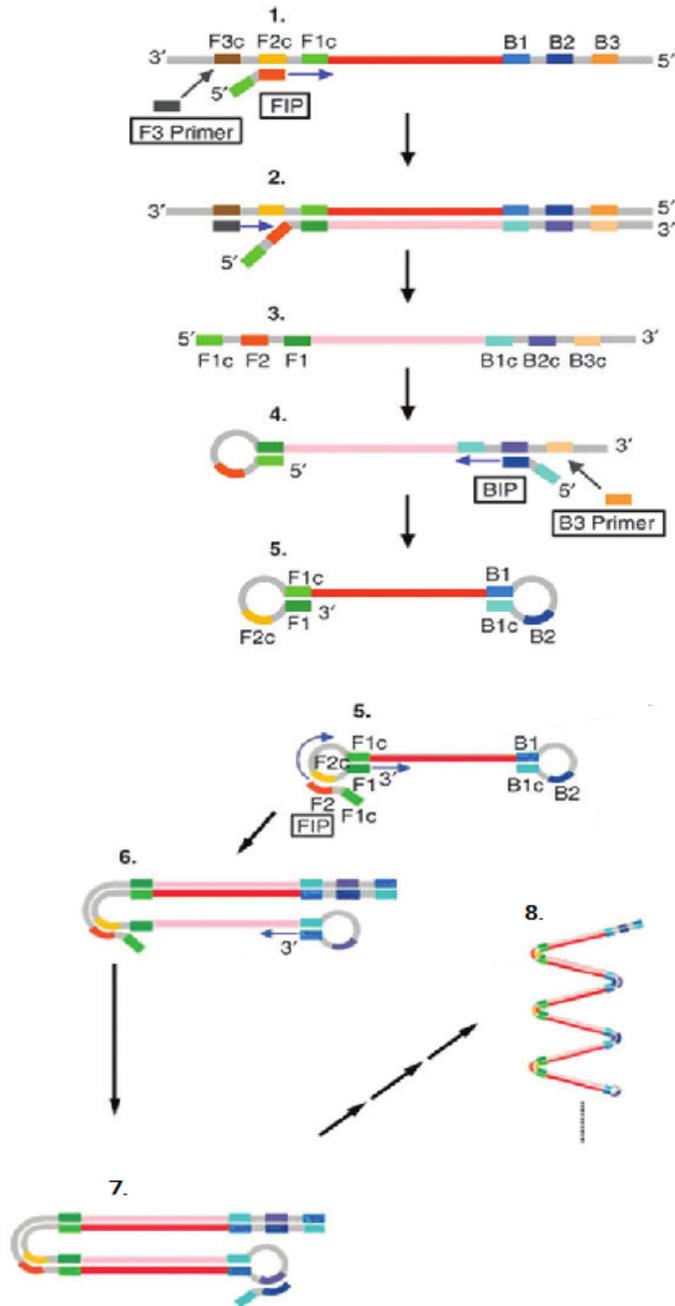


Figura 2.24: Proceso completo para la técnica *LAMP*.

# Capítulo 3

## Diseño del sensor de conductividad $C^4D$

*A lo largo de este capítulo se da a conocer a fondo el diseño del sensor de conductividad eléctrica describiendo las características, los principios de funcionamiento y el trabajo que realiza cada uno de los elementos que lo conforman.*

---

El sensor propuesto está compuesto por 6 elementos principales: una computadora, un microcontrolador, el módulo AD9834 que es un generador de señales, una unidad de detección compuesta principalmente por unos electrodos interdigitados de tamaño reducido y un amplificador de transimpedancia, un circuito rectificador de precisión y por último el módulo ADS1220 que es un convertidor analógico-digital. En la Figura 3.1 se muestra el diagrama de bloques del sensor propuesto.

El funcionamiento del sensor comienza cuando el usuario, a través de la computadora envía la señal de comienzo del análisis, la computadora se comunica con el microcontrolador y este inmediatamente comienza a enviar los comandos de configuración para el modulo AD9834 que, con la información recibida genera una señal de tipo sinusoidal a una determinada frecuencia.

La señal generada es ingresada inmediatamente a la unidad de detección, compuesta por los electrodos interdigitados sobre los cuales debe colocarse una capa aislante para poder depositar la muestra bajo prueba. En cuanto la señal sinusoidal es ingresada se genera una señal de corriente entre los electrodos y la magnitud de esta señal dependerá de la conductancia de la

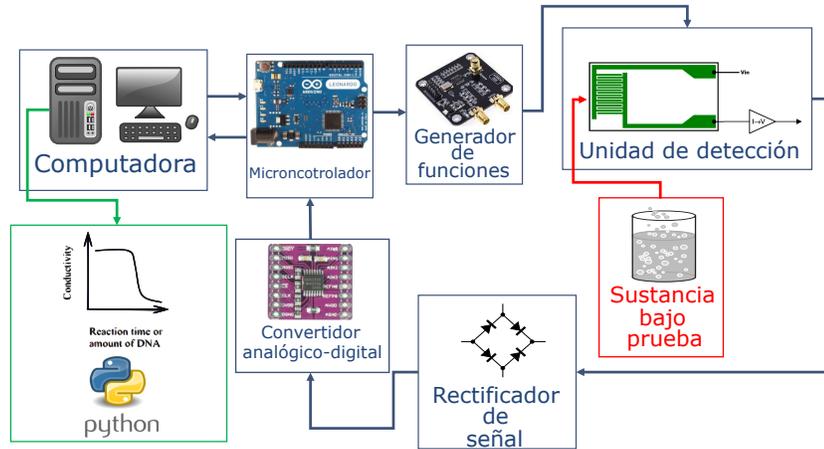


Figura 3.1: Composición del sensor de conductividad  $C^4D$  propuesto.

muestra bajo prueba. Enseguida la señal de corriente es ingresada al segundo elemento de la unidad de detección que es un amplificador de transimpedancia y su trabajo es transformar esta señal de corriente en una señal de voltaje proporcional que es enviada al circuito rectificador.

El circuito rectificador tiene como tarea eliminar las pulsaciones de la señal producida en la etapa anterior para obtener una señal de voltaje de corriente directa que tiene una amplitud igual al voltaje pico de la señal pulsante y que corresponde a la conductancia de la sustancia bajo prueba. Por último, el voltaje de corriente directa es enviado al módulo ADS1220 que se encarga de digitalizar los valores de su amplitud y enviar los datos directamente al microcontrolador, lo que también permite enviarlos a la computadora para llevar a cabo el análisis y mostrar los resultados al usuario.

A continuación se describen de manera más detallada la función y la estructura de cada uno de los elementos que componen el sensor propuesto.

### 3.1. Computadora

La computadora es el primer elemento que compone la estructura del sensor, además, es el medio que le permite al usuario tener el control de su funcionamiento y con el cual también puede observar los resultados obtenidos.

Para realizar estas tareas se hace uso de un puerto *USB* de la computadora que sirve de conexión física y en cuanto al uso de *software* se utilizó el lenguaje

de programación *Python* para desarrollar un programa que despliega una interfaz que, le confiere al usuario la capacidad de observar en tiempo real los cambios en amplitud de la señal derivados del análisis que se esté realizando.

El software desarrollado está compuesto por 3 etapas principales:

1. Etapa de comunicación
2. Filtrado de datos
3. Despliegue y captura de información

### 3.1.1. Etapa de comunicación

Para la primer etapa la computadora debe comunicarse con el siguiente elemento que en este caso es el microcontrolador, por lo tanto, se hace uso del protocolo de comunicación serial *USB* [67] que establece un puerto de comunicación entre ambos dispositivos sirviendo estos de receptor y transmisor, según se requiera. Para enviar los datos primero se selecciona el puerto de comunicación asignado al microcontrolador por la computadora, generalmente conocido como puerto *COM*, posteriormente se fija una velocidad de transmisión en *bits* por segundo (las más comunes son 4800, 9600, 115200). Finalmente como se muestra en la Figura 3.2 se envían o se reciben de manera ordenada y en tramas de 8 *bits* los datos que corresponden a los valores capturados por el convertidor analógico-digital y son interpretados de acuerdo al código *ASCII*.

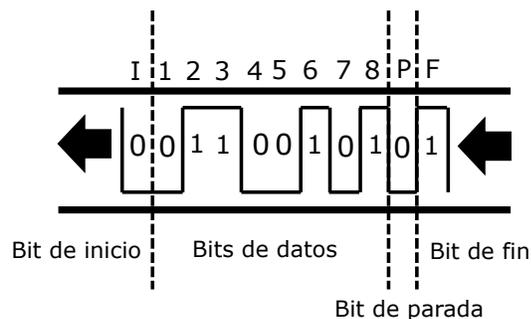


Figura 3.2: Arreglo de la trama de datos para el protocolo de comunicación serial.

### 3.1.2. Filtrado de datos

En la segunda etapa los datos obtenidos son sometidos a un filtro digital paso-bajas de primer orden basado en un circuito RC [68] con la intención de reducir el ruido de la señal proveniente de la etapa de rectificación y poder observar de forma depurada la señal de corriente continua deseada.

Para realizar este filtro se aplica el concepto de transformada Z para discretizar la función de transferencia de un filtro de primer orden en tiempo continuo. La función de transferencia en el dominio de Laplace para un filtro paso-bajas de primer orden está dada de la siguiente manera:

$$\frac{V_o(s)}{V_i(s)} = \frac{1}{1 + RCs}, \quad (3.1)$$

donde  $V_o(s)$  representa el voltaje de salida,  $V_i(s)$  es el voltaje de entrada,  $R$  es la resistencia y  $C$  es la capacitancia. Ahora para pasar al dominio Z es necesario aplicar un estímulo conocido al modelo anterior, como puede ser una entrada de tipo escalón y a partir de la ecuación de respuesta se puede obtener la transformada Z que da como resultado la siguiente función:

$$\frac{V_o(z)}{V_i(z)} = \frac{(1 - e^{-\frac{T}{RC}})z^{-1}}{1 - e^{-\frac{T}{RC}}z^{-1}}, \quad (3.2)$$

que es la función de transferencia, correspondiente al filtro pasa bajas de primer orden de tipo digital. Enseguida, es necesario aplicar la transformada Z inversa y de esta manera obtener una ecuación que represente el comportamiento del sistema en el tiempo discreto y se puede escribir de la siguiente manera:

$$v_o[k] = e^{-\frac{T}{RC}} \times v_o[k - 1] + (1 - e^{-\frac{T}{RC}}) \times v_i[k - 1], \quad (3.3)$$

donde  $v_o[k]$  representa el valor de voltaje filtrado,  $v_o[k - 1]$  es un valor de voltaje filtrado en un tiempo  $k - 1$ ,  $v_i[k - 1]$  es un valor de voltaje no filtrado en un tiempo  $k - 1$  y  $T$  es el tiempo de muestreo. Por último, debemos considerar la frecuencia de corte del filtro paso-bajas [69] que está dada por la siguiente expresión:

$$f_c = \frac{1}{2\pi RC}, \quad (3.4)$$

despejando el término  $\frac{1}{RC}$  podemos reescribir la ecuación (3) como:

$$v_o[k] = e^{-2\pi f_c T} \times v_o[k-1] + (1 - e^{-2\pi f_c T}) \times v_i[k-1], \quad (3.5)$$

esta última expresión es la que se ha introducido al programa desarrollado y en la cual se debe tomar en cuenta la frecuencia de corte y el tiempo de muestreo. En este caso se tomó como frecuencia de corte 1 Hz, considerando que el voltaje que se desea observar es de corriente continua, por esta razón, las señales con una frecuencia mayor a 1 Hz son omitidas. Por otra parte, el tiempo de muestreo se debe adecuar al mismo valor que se establece en el convertidor analogico-digital, en este aspecto se decidió tomar un tiempo de 10 ms.

El proceso de filtrado comienza tomando valores para  $v_o[k-1]$  igual a cero y  $v_i[k-1]$  es el primer valor que es enviado desde el convertidor analogico-digital, al sustituir esos valores en la expresión (5) obtendremos el primer valor  $v_o[k]$ . Para el siguiente ciclo el valor  $v_o[k]$  pasa a ser  $v_o[k-1]$  y  $v_i[k-1]$  es el segundo valor que ingresa a la computadora o dicho de otra manera el dato que no ha sido filtrado. Este proceso se repite hasta que el usuario de por terminado el análisis.

### 3.1.3. Despliegue y captura de información

La última etapa del programa consiste el desplegar a través de una ventana la gráfica de los valores obtenidos de la etapa de filtrado. Para realizar esta acción se utilizó el módulo de *Python* conocido como *Matplotlib* que, es una biblioteca completa para crear visualizaciones estáticas, animadas e interactivas. De este módulo se empleo la función *animation* que nos permite dibujar la gráfica en tiempo real de los datos filtrados. *Animation* necesita recabar la información de lo que va a mostrar, específicamente, el tipo de figura que va a mostrar, que para este caso es una gráfica y se muestra en la Figura 3.3. También requiere llamar la función que se está empleando para obtener la información y así dibujar cada punto de la gráfica, esta función es la que se utiliza para filtrar los datos. Y por último, se tiene que definir un intervalo de tiempo para mostrar cada uno de los puntos y tiene el mismo valor que el tiempo de muestreo.

Para guardar la información es necesario que el usuario interrumpa la animación de la gráfica. Anteriormente los datos filtrados se almacenaron en un variable y para guardar esa información en un archivo que el usuario pueda manipular, se utiliza el módulo de *Python Pandas*, que nos permite

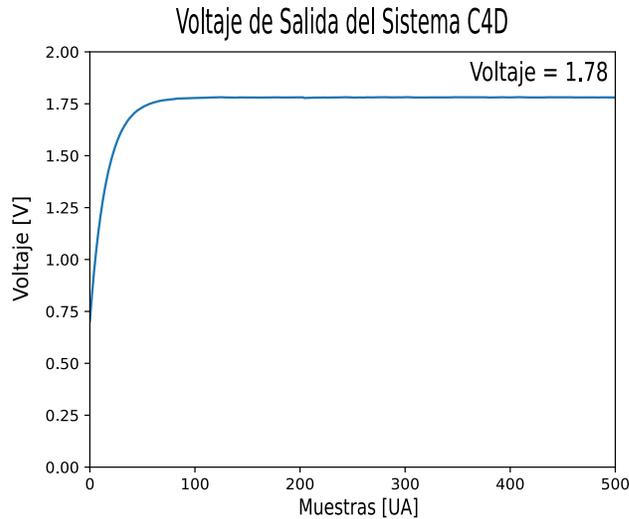


Figura 3.3: Imagen de muestra de la interfaz desarrollada.

tomar la información almacenada en la variable y a partir de esta crear un archivo con valores separados por comas, también conocido como archivo *CSV*. Este tipo de archivos son fáciles de manipular y son compatibles con otro tipo de software como lo es *Excel*, *OpenOffice Calc*, *Matlab* y el mismo *Python*, solo por mencionar algunos.

## 3.2. Microcontrolador

El microcontrolador es el enlace de comunicación entre la computadora, el generador de funciones y el convertidor analógico-digital, ya que, a través de distintos protocolos de comunicación envía la información correspondiente a la configuración que deben adoptar. Para este trabajo, se eligió la tarjeta de desarrollo Arduino leonardo que se muestra en la Figura 3.4.

Arduino Leonardo está basada en el microcontrolador ATmega32u4 [70], dentro de sus principales características se encuentran: 20 terminales de entrada/salida digitales (7 de ellas pueden ser usadas como salida *PWM*), conexión micro USB, conector DC de alimentación, es compatible con los protocolos de comunicación serial *USB*, *I<sup>2</sup>C* y *SPI*, siendo esta última una de las razones por la cual se eligió, sin embargo, la principal razón es que ya existen bibliotecas de configuración compatibles con el entorno de desarrollo

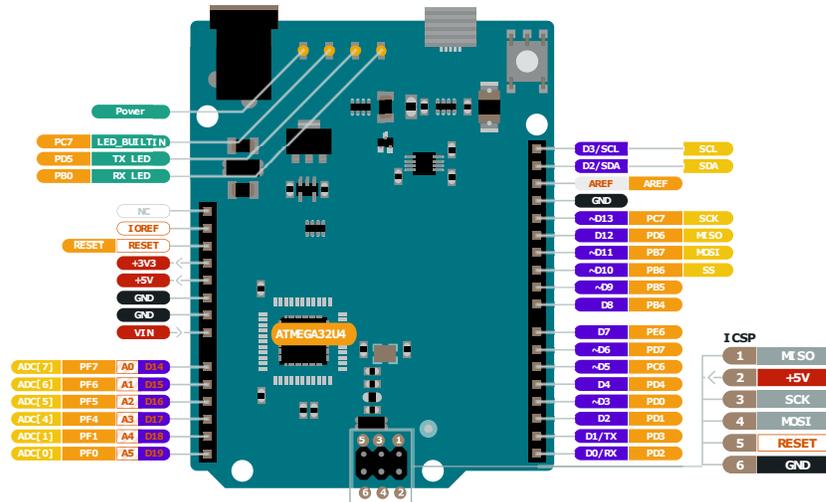


Figura 3.4: Terminales y características de la placa de desarrollo Arduino Leonardo.

de Arduino para el generador de funciones y el convertidor analógico-digital, por ese motivo la configuración de los dispositivos se ve simplificada. La placa integra todo lo necesario para que el microcontrolador opere, solo se necesita conectar a la computadora por el cable USB.

La interconexión física entre dispositivos se da a través de las terminales dedicadas para la comunicación serial de interfaz de periféricos mejor conocida como *SPI* [5, 71] (en la Figura 3.4 se observan en el lado inferior derecho). Este protocolo de comunicación se basa en el envío de datos en tramas de 8 *bits* en serie y de manera sincrónica y para este propósito se establecen roles de maestro y esclavo entre dispositivos, en este caso el microcontrolador es maestro, mientras que el generador de funciones y el convertidor analógico-digital son esclavos. El envío de las tramas de datos se da por medio 3 terminales:

1. *Master Out Slave In (MOSI)*: desde esta terminal el maestro envía datos, mientras que el esclavo los recibe.
2. *Master In Slave Out (MISO)*: desde esta terminal el maestro recibe datos mientras que el esclavo envía datos.
3. *Serial Clock (SCLK)*: Sobre este terminal se encuentra una señal de reloj que genera el maestro para sincronizar la transmisión y recepción de datos entre dispositivos.

El proceso de comunicación mostrado en la figura comienza cuando el maestro genera y envía la señal de reloj al esclavo para posteriormente enviar los datos. En este caso el microcontrolador primero envía mediante la terminal *MOSI* los datos de configuración del generador de funciones y termina inmediatamente la comunicación. Enseguida selecciona al convertidor analógico-digital como esclavo y por el mismo medio envía los datos de configuración. A continuación se inicia el proceso de análisis del sensor y en el momento que se tiene un resultado el convertidor envía los datos del análisis por la terminal *MISO* al microcontrolador. La comunicación sigue activa hasta que el usuario de por terminado el análisis.

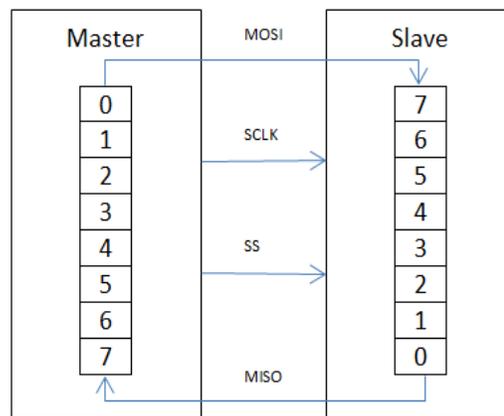


Figura 3.5: Transferencia de datos en el protocolo de comunicación SPI [5].

El último trabajo que tiene el microcontrolador es enviar los datos a la computadora en cuanto los recibe del convertidor y este proceso es similar al ya descrito en la sección 3.1.1.

### 3.3. Generador de funciones

El generador de funciones tiene como propósito crear la señal de trabajo, es decir, una señal de tipo sinusoidal a una frecuencia dada. Para este trabajo se utiliza el módulo AD9834 creado por *Analog Devices* mostrado en la Figura 3.6. Es un dispositivo capaz de crear hasta dos señales de tipo sinusoidales, triangulares y cuadradas con una frecuencia de hasta 37.5 MHz. Puede ser polarizado con voltajes de entre 3.3 V y 5 V, por lo que la mayoría

de los microcontroladores puede alimentarlo sin inconvenientes, considerando también, que su consumo no supera los 20 mW.

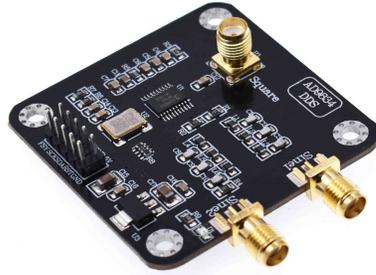


Figura 3.6: Generador de funciones AD9834.

### 3.3.1. Principio de funcionamiento

El funcionamiento del generador se basa en la técnica conocida como síntesis digital directa *DDS* [6], que es un método para generar señales analógicas a partir de una señal variable en el tiempo en forma digital. De acuerdo al diagrama mostrado en la Figura 3.7 la técnica requiere de tres componentes principales:

1. Acumulador de fase.
2. Convertidor de fase a amplitud.
3. Convertidor digital-analógico.

El proceso de generación de una señal con esta técnica se fundamenta en el hecho de que las señales sinusoidales tienen una fase angular repetitiva que va de  $0$  a  $2\pi$ . Con esto en mente se puede cuantizar este rango de acuerdo a la resolución del acumulador de fase, para el módulo AD9834 la resolución es de 28 bits por lo tanto, el rango se divide en  $2^{28}$  valores. Para comprender esto de mejor manera podemos observar la Figura 3.8, en donde se tiene una circunferencia y sobre el origen de esta se dibuja un vector que está apuntando a cada uno de los puntos o estados dados por el acumulador de fase que en la figura tiene una resolución de 16 bits. A fin de que el vector pueda recorrer toda la circunferencia y mostrar un ciclo entero de la señal, se

### CAPÍTULO 3. DISEÑO DEL SENSOR DE CONDUCTIVIDAD $C^4D$

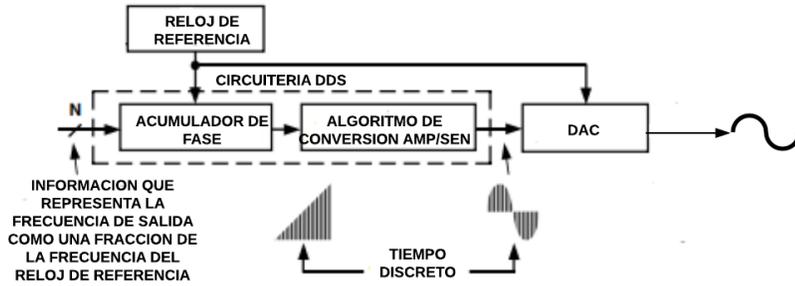


Figura 3.7: Constitución básica de un generador DDS [6].

emplea un contador que está sincronizado con una frecuencia de referencia dada por el mismo oscilador con el que cuenta el AD9834 que es de 70 MHz.

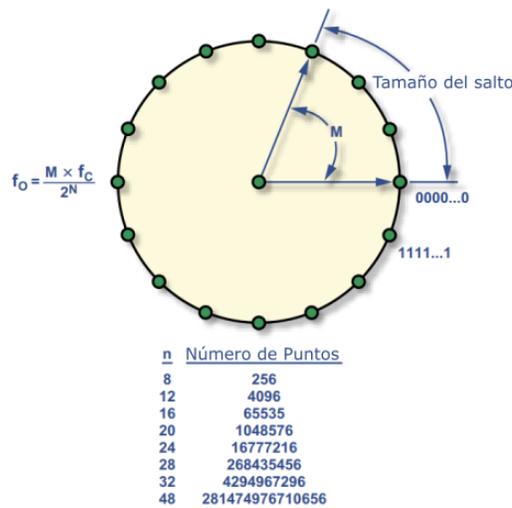


Figura 3.8: Circunferencia de división de fase [6].

Si se quieren mostrar señales de diferentes frecuencias el vector debe moverse en incrementos distintos a uno, es decir, tomando menos puntos para generar la señal como se muestra en la Figura 3.9 en donde el espacio entre puntos tiene un valor de 2 y debido a esto se pueden dibujar dos ciclos, esto significa que conforme aumente la frecuencia el número de puntos para cada ciclo se verá reducido. El espacio entre puntos es conocido como palabra de

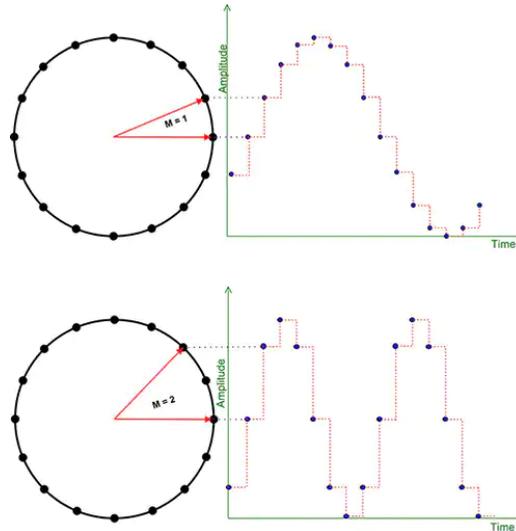


Figura 3.9: Circunferencia de división de fase.

sintonía y se denomina con la letra  $M$ .

En resumen podemos establecer que la frecuencia de la señal deseada está dada de la siguiente manera

$$f_{out} = \frac{M \times f_{ref}}{2^n}, \quad (3.6)$$

donde  $f_{out}$  es la frecuencia de salida del DDS,  $M$  es el valor de la palabra de sintonía,  $f_{ref}$  es la frecuencia de referencia del sistema y  $n$  es la resolución del acumulador de fase.

El proceso continua con el convertidor de fase a amplitud y su trabajo es interpretar cada valor de fase como un valor digital de una señal sinusoidal, dicho de otra manera, entrega el seno de cada valor de la fase. Para realizar esta tarea aprovecha el valor del contador y lo compara con valores de una dirección de memoria que almacena los datos de la amplitud. Es evidente que dada la resolución del acumulador de fase ( $2^{28}$ ) se necesitaría una memoria con una gran capacidad de almacenamiento, por lo que, los diseñadores han optado por reducir la cantidad de *bits* para representar la amplitud de la señal, en este caso a 14 *bits*, también se aprovechan de la simetría de las señales sinusoidales teniendo en cuenta que, solo se requiere la información de una cuarta parte de la señal para poder dibujar un ciclo completo.

Para finalizar, los datos de amplitud que arroja el convertidor de fase a

amplitud son ingresados a un convertidor digital-analógico de 10 *bits* que transforma los valores digitales en una señal de salida analógica con valores de voltaje que van de acuerdo los rangos de operación del AD9834. También es importante mencionar que la señal puede ser filtrada para obtener una señal más suave y que no sea evidente el escalonamiento debido al proceso de conversión.

### 3.3.2. Configuración del módulo AD9834

El módulo AD9834 debe configurarse para poder generar una señal y para ese propósito cuenta con una memoria, de la cual, se modifican sus registros. El principal de los registros es conocido como registro de control y tiene una capacidad de 16 *bits* y cada uno de estos puede tomar un valor binario que representa cierta funcionalidad, entre estas funciones se encuentran: la selección del acumulador de fase, el contador a utilizar, la función de reinicio, la función de inactividad y el tipo de conversión de datos. De igual manera cuenta con registros para establecer el tipo de señal que se va a generar, su frecuencia y fase.

Estos registros de memoria son modificados para cubrir específicamente las necesidades de cada usuario, sin embargo, no resulta una tarea trivial y es aquí donde resalta la razón que nos llevo a elegir el modulo AD9834. El motivo se resume en que, este módulo es directamente compatible con el entorno de desarrollo de Arduino donde ya existe una biblioteca llamada *AD98xx* que permite simplificar la configuración del AD9834 en un alto nivel de configuración, basta con establecer el inicio de la comunicación con el microcontrolador y enseguida mediante la función

*ApplySignal(tipo de señal, canal de la señal, frecuencia, fase),*

de la cual se modifican sus argumentos para establecer el tipo de señal, el canal de la señal, su frecuencia y la fase. Por supuesto dependerá de las necesidades de cada proyecto el nivel de configuración que se requiera para este dispositivo, pero para cubrir las necesidades de este trabajo resulta suficiente lo que brinda Arduino.

Al final se ha configurado el módulo AD9834 para entregar una señal de tipo sinusoidal con una frecuencia de 2 MHz sin ningún defasamiento. La frecuencia se eligió de acuerdo a las características de la unidad de detección que se describe en la siguiente sección.

### 3.3.3. Acondicionamiento de la señal generada

La señal sinusoidal que arroja el generador tiene una amplitud de 470 mV<sub>pp</sub> montada sobre un voltaje de corriente directa de 235 mV debido a la técnica que utiliza para generar dicha señal, por lo tanto, para poder trabajar con la señal es necesario amplificarla y retirar el voltaje de corriente directa para trabajar sobre un nivel cero. Para realizar ambas tareas se emplea un filtro activo paso-altas de primer grado no inversor [72].

El principio de funcionamiento del filtro activo es el mismo que el de un filtro pasivo, excepto que para esta configuración se agrega al circuito un amplificador operacional que va a permitir la amplificación de la señal que ha sido filtrada. La configuración de dicho filtro se muestra en el circuito de la figura 3.10 donde se tiene como elementos al ya mencionado amplificador operacional, resistencias y capacitores.

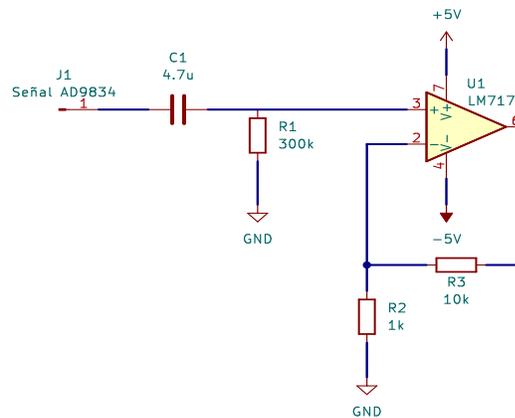


Figura 3.10: Circuito del filtro activo paso-bajas.

Para adecuar la configuración a las necesidades de este trabajo podemos ver al circuito como un filtro pasivo paso-altas del cual su salida es ingresada a un amplificador operacional en configuración no inversora. Bajo este concepto podemos decir que la frecuencia de corte  $f_c$  del filtro [69] está dada como:

$$f_c = \frac{1}{2\pi R_1 C}, \quad (3.7)$$

donde  $R_1$  es la resistencia y  $C$  el capacitor que conforman el circuito. Considerando que se desea suprimir el nivel de corriente directa, se plantea una frecuencia de corte de 0.1 Hz, entonces se propone un valor de capacitor de

4.7  $\mu\text{F}$  y solo resta calcular el valor de la resistencia despejando de la ecuación 3.7 de la siguiente manera:

$$R_1 = \frac{1}{2\pi f_c C}, \quad (3.8)$$

$$R_1 = \frac{1}{(2\pi)(0,1)(4,7 \times 10^{-6})} \approx 330\text{k}\Omega.$$

Una vez que se definieron los componentes del filtro podemos establecer el índice de ganancia para el amplificador operacional. El voltaje de salida  $v_o$  para la configuración no inversora [72] está dado como:

$$v_o = v_{in} \times \left(1 + \frac{R_f}{R_2}\right), \quad (3.9)$$

aquí  $v_{in}$  es la señal de entrada o en este caso la señal filtrada,  $R_f$  es la resistencia de realimentación y  $R_2$  la última resistencia que conforma el circuito. Por otro lado el componente:

$$\left(1 + \frac{R_f}{R_2}\right),$$

establece la ganancia de la señal y es importante para saber en que magnitud se debe amplificar la señal teniendo en cuenta que la amplitud inicial de la señal es de 470 mV y que la señal que se requiere debe tener 5 V. Con estas dos amplitudes podemos obtener un cociente tomando como dividendo los 5 V y como divisor la amplitud inicial de 470 mV. De esta manera obtenemos un valor de aproximadamente 11 y bajo estas circunstancias se eligen valores de 1 k $\Omega$  para  $R_2$  y de 10 k $\Omega$  para  $R_f$  que al sustituir en la componente de la ganancia se tiene:

$$\left(1 + \frac{10000}{1000}\right) = 11,$$

por último, sustituyendo en la ecuación 3.9 tenemos que el voltaje de salida o mejor dicho, la amplitud de la señal de trabajo es:

$$v_o = 0,470 \times 11 \approx 5V.$$

Para finalizar esta parte es necesario mencionar que en cuanto a los materiales se eligieron capacitores electrolíticos y resistencias de carbón de precisión y el amplificador seleccionado es el LM7171 fabricado por *Texas Instruments* que es de propósito general pero cuenta con un amplio ancho de

banda de trabajo de 200 MHz mientras consume solo 6.5 mA de corriente. Por tal motivo resulta adecuado para acondicionar la señal de trabajo que es de frecuencia relativamente alta.

### 3.4. Unidad de detección

La unidad de detección es el elemento más importante de todos los que componen el sistema propuesto debido a que contiene los elementos fundamentales que requiere un sistema  $C^4D$  que son:

1. Electrodo de excitación.
2. Electrodo de detección.
3. Convertidor de corriente a voltaje.

Los primeros dos elementos están contenidos dentro de un mismo elemento que son unos electrodos de tipo interdigitados y son directamente el sensor de sistema ya que cuando sobre ellos se coloca un aislante y se deposita la sustancia bajo prueba ambos forman capacitores de acoplamiento, y la solución entre los dos electrodos es equivalente a una resistencia. Cuando se introduce la señal de trabajo al electrodo de excitación se obtiene una señal corriente que es transformada en una señal de voltaje a través del tercer elemento de la unidad de detección y luego a partir de la nueva señal obtenida, se puede implementar la detección de conductividad. A continuación se presentan las características de cada uno de los elementos de la unidad de detección.

#### 3.4.1. Electrodo interdigitados

Los electrodos elegidos como sensor son de tipo interdigitados en configuración  $bd$  y se muestran en la Figura 3.11. En cuanto a sus características tienen 5 mm de ancho por 10 mm de alto, un espesor de 70  $\mu\text{m}$  y están formados de oro cobre y níquel depositados sobre tereftalato de polietileno (PET). Cada uno de sus *dedos* tiene un ancho de 45  $\mu\text{m}$  y un espacio entre ellos de 55  $\mu\text{m}$ .

El aislante colocado sobre los electrodos es cinta adhesiva transparente tipo *Diurex* hecha con polipropileno bi-orientado (BOPP) de 40  $\mu\text{m}$  de espesor.

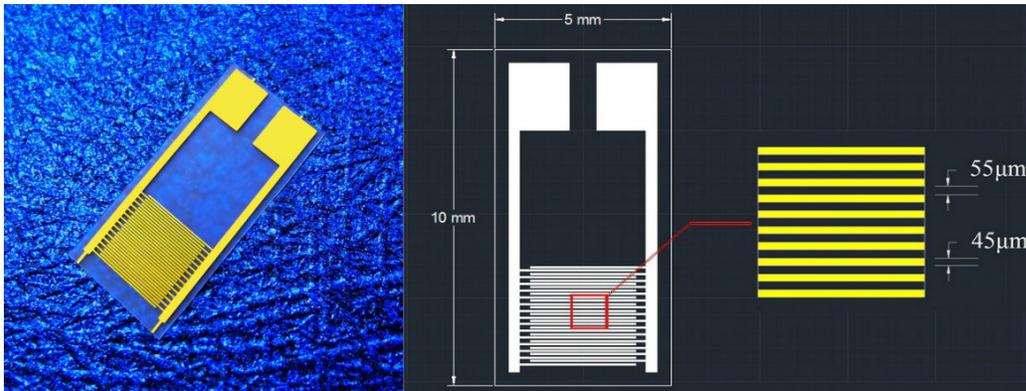


Figura 3.11: Electrodo interdigitados tipo *bd*.

El proceso en el que se ven involucrados los electrodos comienza cuando se deposita una sustancia sobre los electrodos y se introduce la señal de trabajo por el primer electrodo, se crea una diferencia de potencial entre los electrodos que excita a las partículas dentro de la sustancia, generándose un fenómeno de migración, lo que da lugar a una corriente eléctrica que es detectada por el segundo electrodo que está conectado a un amplificador de transimpedancia del cual se habla enseguida.

### 3.4.2. Convertidor de corriente a voltaje

La mayoría de los componentes electrónicos trabajan con señales de voltaje, sin embargo, el sensor  $C^4D$  entrega una señal de corriente eléctrica como salida y por tal motivo, es necesario convertir esa señal a una de voltaje de tal manera que los demás elementos del sistema puedan interpretarla y trabajar con ella.

Para realizar esta tarea se utiliza un amplificador en configuración de convertidor de corriente a voltaje también conocido como amplificador de transimpedancia [72] y como lo indica su nombre se utiliza para amplificar una señal de corriente a una de voltaje proporcional. La composición de este amplificador se muestra en la Figura 3.12.

Para comprender el funcionamiento de este amplificador debemos tomar en cuenta que entre ambas terminales existe tierra virtual y que por las mismas características de los amplificadores operacionales existe una gran impedancia de entrada en sus terminales y por lo tanto, el único camino que

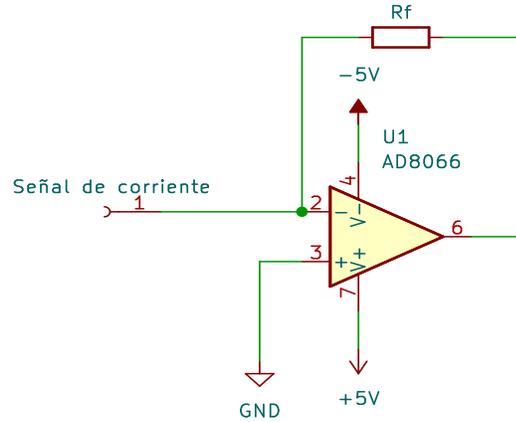


Figura 3.12: Amplificador operacional convertidor de corriente a voltaje.

encuentra la señal de corriente generada  $i_g$  es por conducto de la resistencia de realimentación y como resultado se obtiene un voltaje de salida  $v_{TIA}$  que está dado de la siguiente manera:

$$v_{TIA} = -R_f \times i_g, \quad (3.10)$$

donde  $R_f$  es la resistencia de realimentación y su magnitud determina la ganancia de la señal de corriente  $i_g$ . Para poder elegir el valor de  $R_f$  [73] se debe tomar en cuenta el valor máximo de voltaje de amplificación  $v_{max}$ , el valor mínimo de voltaje  $v_{min}$  y la corriente máxima que se desea medir  $i_{max}$ . Con lo mencionado anteriormente, el valor de la resistencia se calcula de la siguiente manera:

$$R_f = \frac{v_{max} - v_{min}}{i_{max}}. \quad (3.11)$$

Para este trabajo se emplearon distintos valores de resistencias para  $R_f$  de acuerdo a los valores de corriente que se median, por lo tanto, en el siguiente capítulo en cada una de las pruebas se menciona el valor de resistencia utilizado en las pruebas realizadas. Los valores que se mantuvieron constantes son el voltaje  $v_{max}$  y el voltaje  $v_{min}$  con valores de 5 V y 0 V respectivamente.

### 3.4.3. Acondicionamiento de las señales

Se realizaron dos ajustes a las señales involucradas en la unidad de detección, el primero de ellos tiene que ver con la salida de voltaje del amplificador

de transimpedancia y el segundo está relacionada directamente con la señal de trabajo.

En cuanto a la señal de salida del amplificador de transimpedancia, se puede observar en la ecuación 3.10 que, existe un signo menos que acompaña al producto de la resistencia por la corriente debido a que es una configuración inversora y por lo tanto, el voltaje de salida está defasado  $180^\circ$ , lo cual, no refleja el comportamiento original de la corriente de salida del sensor. A fin de eliminar el defasamiento de la señal se agrega un amplificador operacional a la salida de amplificador de transimpedancia en configuración inversora [72] y de ganancia 1 para conservar la amplitud. La configuración inversora se muestra en la Figura 3.13 y su voltaje de salida está representado del siguiente modo:

$$v_o = -\frac{R_2}{R_1} \times -v_{TIA} \quad (3.12)$$

en la ecuación la división entre  $R_2$  y  $R_1$  establece la ganancia de voltaje, pero dado que es 1 ambas tienen el mismo valor que se estableció en  $10k\Omega$ . De esta manera al sustituir en la ecuación anterior se tiene que:

$$v_o = -\frac{10000}{10000} \times -v_{TIA} \quad \therefore \quad v_o = v_{TIA},$$

así se elimina el defasamiento y recuperamos la forma original de la señal proporcional a la corriente.

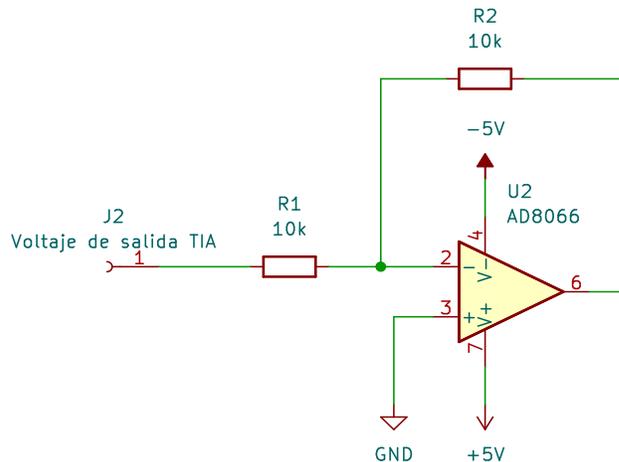


Figura 3.13: Amplificador operacional inversor.

### CAPÍTULO 3. DISEÑO DEL SENSOR DE CONDUCTIVIDAD $C^4D$

---

Para cubrir las necesidades de los amplificadores operacionales en las configuraciones transimpedancia e inversora se utilizó el circuito integrado AD8066 fabricado por *Analog Devices* que es un encapsulado que contiene dos amplificadores operacionales basados en transistores *fastFET* de bajo ruido de operación ( $7 \text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$  y  $0.6 \text{ fA}/\sqrt{\text{Hz}}$ ), con un ancho de banda de 145 MHz y un voltaje de operación de 5 V.

El segundo ajuste realizado tiene que ver con la señal de trabajo que es ingresada al primer electrodo y como se ha estado mencionando, la sensibilidad de un sistema  $C^4D$  reside en la resistencia de la sustancia bajo prueba. El modelo eléctrico del sistema está representado por tres capacitores y una resistencia, de ahí que generalmente se utilicen señales de frecuencia relativamente altas que atenúen la parte reactiva de la impedancia total que representa el sensor para el sistema.

Las frecuencias de trabajo para un sistema  $C^4D$  van desde los 200 kHz hasta 2.5 MHz y como se había anticipado al realizar un barrido de frecuencias con el sensor en el rango mencionado se observa, como en la gráfica de la Figura 3.14 que, conforme la frecuencia aumenta, el voltaje de salida también lo hace, no obstante, al depositar una sustancia sobre los electrodos la sensibilidad del sistema era insuficiente incluso en el valor más alto del rango.

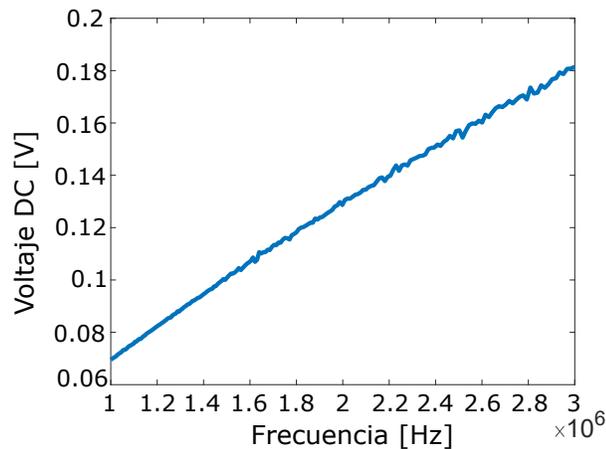


Figura 3.14: Gráfica del voltaje de salida del rectificador en función de la frecuencia.

Lo anterior está relacionado directamente con los electrodos elegidos, ya que, como se ha mencionado en otros trabajos [56, 74, 75] el pequeño espacio

entre los electrodos provoca que tengan una resistencia pequeña, igualmente, los capacitores que se forman tienen una capacitancia reducida (órdenes de hasta *femtoFarads* en algunos casos) lo que resulta contraproducente ya que, incluso en frecuencias altas su aportación a la impedancia total es mucho mayor a la resistencia y por tal motivo, la sensibilidad del sistema se reduce. Aunado a lo anterior resulta necesario considerar a la capacitancia parásita que aporta de igual manera a la reducción en la sensibilidad del sistema aunque en menor medida.

Para comprobar lo ya mencionado se utilizó un analizador de impedancias (*Analog Discovery 2 Digiligent*) que nos permitió observar los parámetros eléctricos de los electrodos, obteniendo valores de resistencia de 802  $\Omega$  y de 11.2 pF para los capacitores.

Con el fin de enfrentar esta problemática se decidió aplicar el concepto de frecuencia de resonancia [44] que, es aquella donde la reactancia capacitiva  $X_C$  y la reactancia inductiva  $X_L$  de un circuito tienen el mismo valor. Para entenderlo de mejor manera se considera que la impedancia  $Z$  total del circuito RLC [44] en serie está dada como:

$$Z = R + j(X_L - X_c), \quad (3.13)$$

y en el caso en donde  $X_c = X_L$  se tiene que:

$$Z = R.$$

Bajo este concepto se agregó un inductor de 470  $\mu\text{H}$  que está conectado en serie con el primer electrodo y se encontró la frecuencia de resonancia que está definida como:

$$f_r = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}}, \quad (3.14)$$

al sustituir los valores de capacitancia e inductancia utilizados tenemos que la frecuencia es de aproximadamente 2.2 MHz, sin embargo, con la ayuda de un analizador de redes (*Analog Discovery 2 Digiligent*) se integró el arreglo mostrado en la Figura 3.15 con el cual al realizar un barrido de frecuencias que iba desde 1 MHz hasta 3 MHz se pudo observar que la frecuencia de resonancia real es de aproximadamente 2 MHz que es la frecuencia que se programó en el generador para realizar las pruebas que se presentan en el siguiente capítulo. En la gráfica de la Figura 3.16 se observa los resultados arrojados por el analizador de redes y como se esperaba en la frecuencia de

### CAPÍTULO 3. DISEÑO DEL SENSOR DE CONDUCTIVIDAD $C^4D$

resonancia se observa la mayor amplitud considerando que la impedancia se reduce drásticamente.

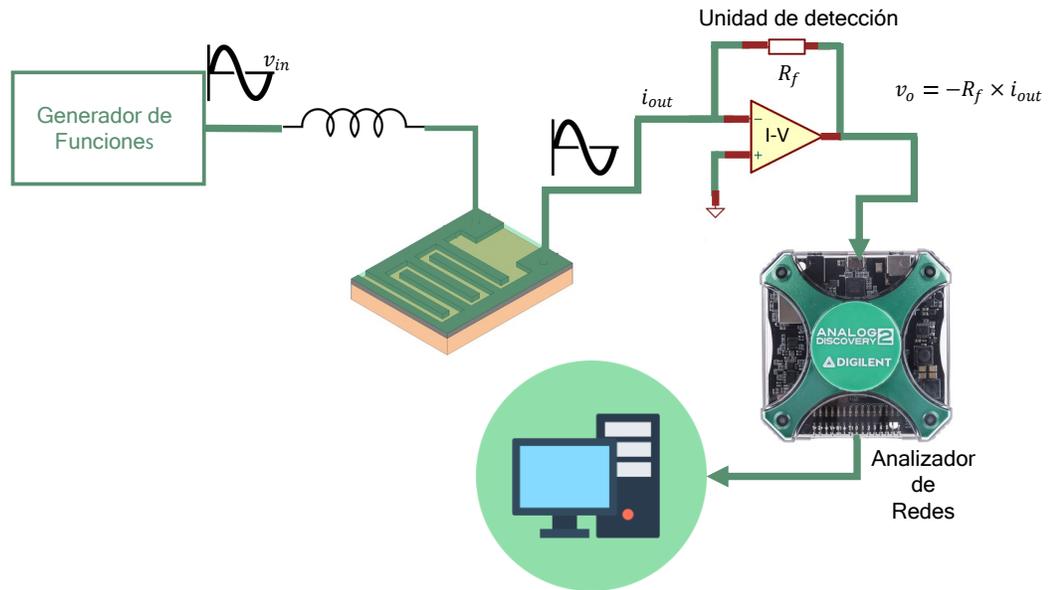


Figura 3.15: Arreglo formado con el analizador de redes *Analog Discovery 2 Digilent*.

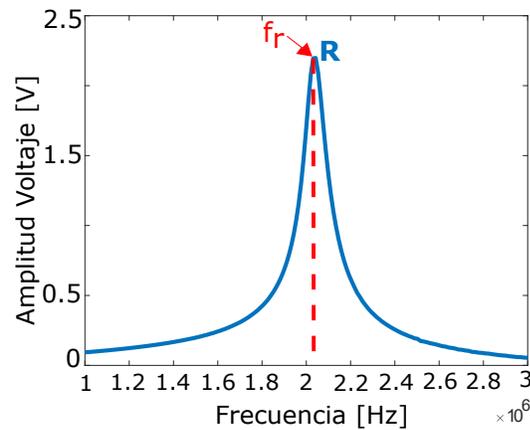


Figura 3.16: Gráfica de la amplitud de la señal de salida en función de la frecuencia.

### 3.5. Rectificador de señal

Con el propósito de poder observar y analizar los cambios en amplitud del voltaje de salida de la etapa anterior se rectificó la señal, de tal manera que, se obtuviera un voltaje de corriente continua proporcional a su voltaje eficaz  $V_{RMS}$ , el cual contiene la información necesaria y con el que también resulta más sencillo promediar los valores de amplitud. Para realizar esta acción se utiliza un rectificador de precisión.

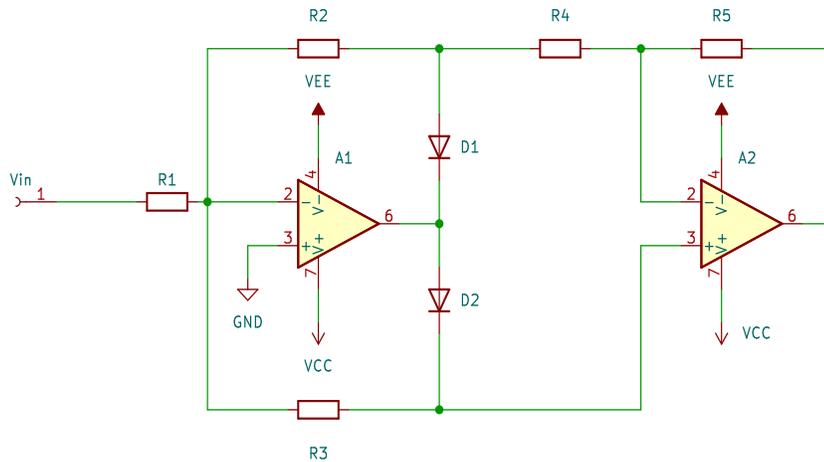


Figura 3.17: Circuito electrónico básico de un rectificador de precisión.

Un rectificador de precisión [72] es un circuito electrónico basado en amplificadores operacionales encargado de obtener un voltaje pulsante o rectificado que, en comparación con los rectificadores pasivos puede trabajar con señales con una amplitud por debajo del voltaje de encendido de un diodo rectificador.

En la Figura 3.17 se muestra el circuito básico de un rectificador de precisión de onda completa que está compuesto por dos amplificadores, dos diodos y varias resistencias. Su funcionamiento se puede explicar planteando dos casos que involucran al semiciclo positivo y al negativo de la señal de entrada.

Cuando se presenta el semiciclo positivo, la salida del amplificador A1 es negativa y por lo tanto, el diodo D1 está polarizado directamente, mientras que, el diodo D2 está polarizado inversamente. Con lo anterior podemos contemplar al amplificador A1 como si estuviera en configuración inversora y su salida es:

$$v_{oA1} = - \left( \frac{R_2}{R_1} \right) v_i. \quad (3.15)$$

La salida de A1 va directamente a la terminal inversora del amplificador A2 y considerando que la terminal inversora de A1 y la terminal no inversora de A2 se encuentran unidas podemos decir que son equipotenciales con un voltaje de cero, en consecuencia, también podemos considerar al amplificador A2 en configuración inversora y su voltaje de salida esta dado como:

$$v_o = - \left( \frac{R_5}{R_4} \right) v_{oA1}, \quad (3.16)$$

sustituyendo de la ecuación 3.15 se tiene:

$$v_o = - \left( \frac{R_5}{R_4} \right) \left( - \left( \frac{R_2}{R_1} \right) v_i \right),$$

y tomando a  $R_1 = R_2 = R_4 = R_5$  se puede concluir que:

$$v_o = v_i \quad (3.17)$$

En el caso del semiciclo negativo la salida del primer amplificador es positiva, de aquí que, el diodo D1 se encuentra polarizado en inversa y el diodo D2 está polarizado en directa. Al igual que en el caso anterior A1 puede verse como un amplificador inversor solo que en este caso las resistencia de realimentación es  $R_3$  y su salida se puede expresar como:

$$v_{oA1} = - \left( \frac{R_3}{R_1} \right) v_i. \quad (3.18)$$

Ahora la salida de A1 ingresa por la terminal no inversora del amplificador A2 y observando que ambas salidas inversoras son equipotenciales se puede concluir que se encuentran conectadas a tierra y por lo tanto, el amplificador A2 puede considerarse un amplificador no inversor cuyo voltaje de salida es:

$$v_o = \left( 1 + \frac{R_5}{R_4} \right) v_{oA1}, \quad (3.19)$$

sustituyendo de la ecuación 3.18 se tiene:

$$v_o = \left( 1 + \frac{R_5}{R_4} \right) \left( - \left( \frac{R_3}{R_1} \right) v_i \right),$$

para este caso debemos considerar que  $R_1 = R_4 = R_5 = 2R_3$  y de este modo se establece que el voltaje de salida es:

$$v_o = v_i. \quad (3.20)$$

Basándose en lo anterior se puede concluir que el rectificador de precisión es un circuito que transmite ambos semiciclos de una señal de corriente alterna pero los convierte a una sola polaridad en su salida.

Para este trabajo se diseñó un rectificador de precisión cuyo circuito se muestra en la Figura 3.18. El arreglo que se propone se puede explicar en tres etapas. En la etapa 1 se conserva el amplificador que representa el núcleo del rectificador, sin embargo, su salida es enviada a una etapa de filtrado (Etapa 2), la cual elimina las pulsaciones de la señal previamente rectificadas y entrega un voltaje a directo a su salida, +VDC y -VDC, para el semiciclo positivo y negativo, respectivamente. Por último la etapa 3 está compuesta por dos amplificadores no inversores con ganancia 2 cuyas salidas representan al voltaje eficaz  $V_{RMS}$  asociado a la señal proveniente de la unidad de detección, proporcionando la siguiente relación:

$$V_o = V_{RMS} \left( \frac{2}{3,6} \right) \left( \frac{\sqrt{2}}{\pi} \right) (2)(2) = 1,0004V_{RMS} \quad (3.21)$$

### 3.6. Convertidor analógico-digital

El último elemento del sistema  $C_4D$  propuesto es el convertidor analógico-digital y su trabajo es recibir el voltaje de corriente directa proveniente de la salida del rectificador y transformarlo en datos digitales que son enviados al microcontrolador.

El convertidor seleccionado para esta tarea es el ADS1220 fabricado por *Texas Instruments* mostrado en la Figura 3.19. Este convertidor cuenta con una resolución de 24 *bits* con un voltaje de referencia de 0 a 2.048 V que nos permite ampliar la sensibilidad del sistema, permitiendo observar cambios mínimos en el voltaje de salida. También tiene una velocidad de muestreo de hasta 2000 muestras por segundo, suficiente para las necesidades de este trabajo considerando que se está trabajando con voltajes de corriente continua. Por último, se puede alimentar con una fuente de 5 V consumiendo una corriente de tan solo 120  $\mu A$ .

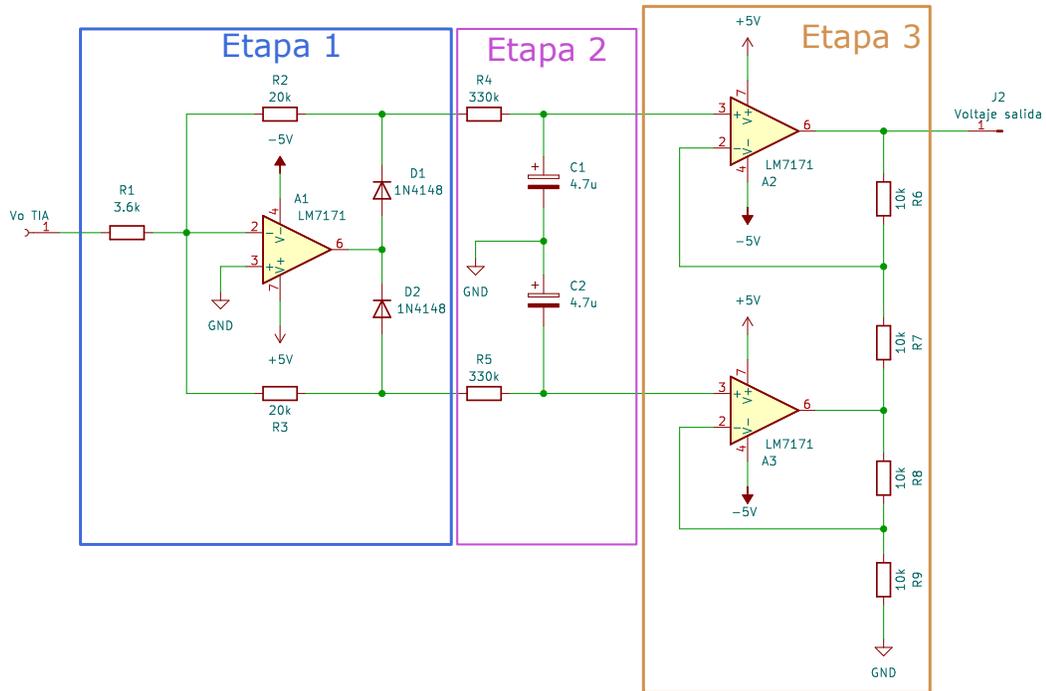


Figura 3.18: Circuito del rectificador de precisión propuesto.

### 3.6.1. Principio de funcionamiento

El convertidor ADS1220 utiliza la técnica conocida como  $\Sigma\Delta$  [7–9, 76] para convertir el voltaje directo proveniente del rectificador a datos digitales. La configuración básica de este tipo de convertidores que se muestra en la Figura 3.20 está compuesta de: un modulador  $\Sigma\Delta$  y un filtro digital que a su vez está conformado por un filtro digital paso-bajas y un filtro de diezrado.

El proceso comienza cuando la señal continua es ingresada a la entrada del modulador que se encarga de convertir la señal con solo 1 bit de resolución, a un señal de pulsos que representa el voltaje de la señal analógica como se muestra en la Figura 3.21. Dicho de otra manera el modulador genera una cadena de unos y ceros que al ser promediados puede obtenerse el valor de amplitud de la señal de entrada.

Al tener solo 1 bit de resolución la conversión contiene un alto ruido de cuantización, sin embargo, el mismo modulador está compuesto por un integrador que permite manipular ese ruido y enviarlo a frecuencias más altas que la frecuencia de muestreo  $f_s$  y, dado que esta frecuencia debe ser por lo

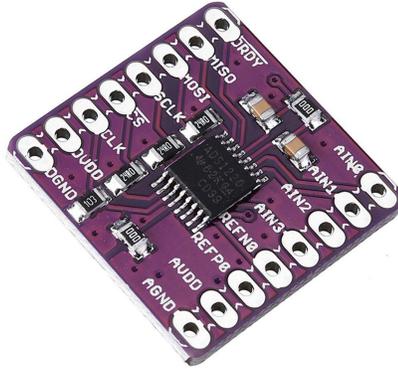


Figura 3.19: Convertidor analógico-digital ADS1220.

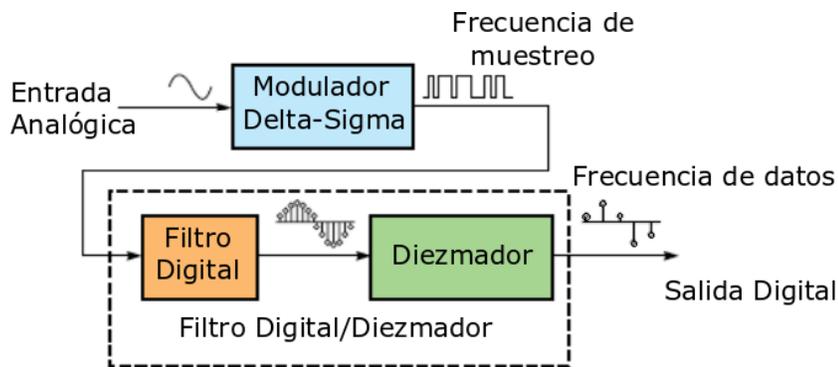


Figura 3.20: Composición básica de un convertidor tipo  $\Sigma\Delta$  [7].

menos dos veces mayor a la frecuencia de la señal de entrada, la mayor parte del ruido puede ser eliminado sin alterar la información que corresponde a la señal. Para eliminar ese ruido de altas frecuencias se emplea un filtro que generalmente es un filtro paso-bajas digital de promediado que tiene una frecuencia de corte igual a  $f_s$ .

El proceso concluye cuando los datos de salida del filtro paso-bajas son ingresados al filtro de diezmado y para comprender su funcionamiento es necesario recordar que la trama de datos o el tren de pulsos trabajan en la frecuencia de muestreo y aunque esto permite reconstruir la señal original con una alta resolución se requeriría de una gran capacidad de procesamiento

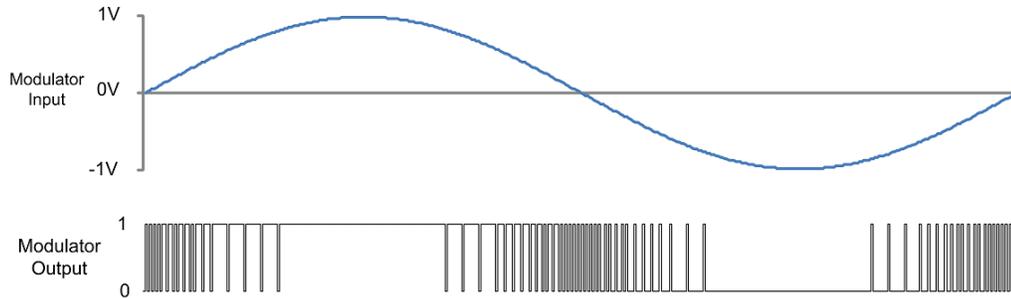


Figura 3.21: Flujo de pulsos a la salida del modulador [8].

para trabajar con tantos datos, de ahí que sea necesario ralentizar el flujo de estos. Para realizar dicha acción se emplea el filtro de diezmado que descarta algunas de las muestras a un ritmo determinado por una frecuencia  $f_d$ , y así, se puede establecer una relación entre  $f_s$  y  $f_d$  que se conoce como frecuencia de diezmado ( $DR$ ) y representa al número de muestras a la salida por cada muestra que envía el modulador.  $DR$  puede verse como:

$$DR = \frac{f_s}{f_d}. \quad (3.22)$$

El descartar datos puede verse como una desventaja, no obstante, se debe considerar que el convertidor sigue trabajando dentro de un ancho de banda que contiene a la frecuencia de la señal de entrada y bajo este concepto se puede elegir una frecuencia  $f_d$  que actué como frecuencia de corte, que sea muy cercana a la frecuencia original y que reduzca aun más la cantidad de ruido, dando así como resultado un  $DR$  de valor alto. Este proceso puede observarse en la Figura 3.22 que muestra a la señal en el dominio de la frecuencia y el efecto de diezmado.

Para concluir se puede decir que aunque a la salida del filtro de diezmado la cantidad de puntos se menor, seguirán siendo suficientes para crear una copia digital y fiel de la señal analógica.

### 3.6.2. Configuración del convertidor ADS1220

Antes de explicar el proceso de configuración del convertidor ADS1220 es necesario mencionar algunas otras de sus características adicionales a las ya mencionadas al principio de esta sección, entre las que se encuentran: 4

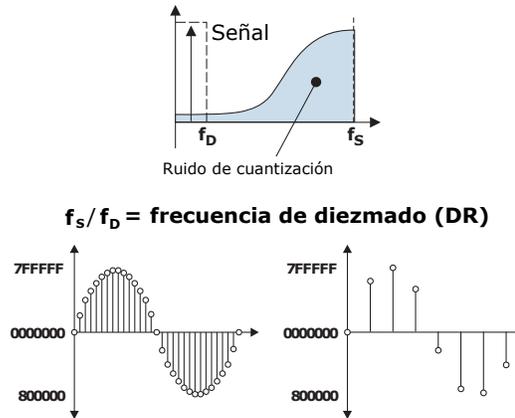


Figura 3.22: Proceso de diezmado de los datos [9].

canales de entrada con los cuales se pueden realizar medidas diferenciales entre canales de entrada, adicionalmente, la señales de entrada pueden ser amplificadas internamente ya que cuenta con un amplificador de ganancia programable (*PGA*) con ganancias de 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 y 128, sin embargo, al amplificar la señal reduce el voltaje de referencia que es por defecto 2.048 V.

La configuración del convertidor es muy similar a la del generador de funciones, puesto que comparte el mismo protocolo de comunicación SPI ya explicado en la sección correspondiente al microcontrolador y, por otro lado, también cuenta con una memoria que puede modificarse para recibir instrucciones y enviar información. Dentro de esa memoria cuenta con un registro principal de control que le permite al usuario modificarlo para que el convertidor realice acciones de prendido y apagado, de reinicio, de comienzo de conversión, de lectura y escritura en otros registros de memoria y de entrar en estado de suspensión.

El segundo registro de memoria importante es del modo de conversión que puede ser: continuo para una sola terminal, continuo en medida diferencial, intermitente para una sola terminal, intermitente en medida diferencial. Otros registros son los que establecen la ganancia del *PGA*, el voltaje de referencia que puede ser el de 2.048 V o uno externo que el usuario puede definir.

También es posible establecer la velocidad de muestreo que puede ser de 20, 45, 90, 175, 330, 600 y 1000 muestras por segundo, por último, la

### CAPÍTULO 3. DISEÑO DEL SENSOR DE CONDUCTIVIDAD $C^4D$

---

resolución del convertidor puede modificarse en un máximo de 23 *bits* ya que el ADS1220 es capaz de recibir voltajes negativos y por lo tanto, utiliza uno de sus bits para definir el signo del valor de amplitud.

La modificación de cada uno de los registros de memoria mencionados se lleva a cabo en el entorno de desarrollo de *Arduino* a través de la biblioteca llamada *Protocentral ADS1220* que nos permite establecer los parámetros del convertidor en un alto nivel y en pocas líneas de código.

El último trabajo que queda por realizar es convertir los valores decimales enviados por el convertidor al microcontrolador a un valor de voltaje  $V$  de la siguiente manera:

$$V = \frac{n \times V_{ref}}{G \times 2^{23}}, \quad (3.23)$$

donde  $n$  es el valor recibido por el microcontrolador,  $V_{ref}$  es el voltaje de referencia elegido,  $G$  es el valor de ganancia seleccionado para el *PGA* y se considera el valor máximo de resolución de 23 bits.

Con este último elemento se puede concluir la descripción del sensor  $C^4D$  propuesto, de esta manera y, considerando la composición nuclear de este tipo de sensores se presentó: la superficie aislante, la celda electroquímica, la fuente de voltaje AC y la unidad de detección de señal, así como otros elementos complementarios que permiten el acondicionamiento y el procesamiento de las señales de trabajo, por lo tanto, en el siguiente capítulo se muestran las pruebas que se realizaron con el sistema descrito y sus resultados.

# Capítulo 4

## Pruebas y Resultados experimentales

*A fin de de corroborar el correcto funcionamiento del sensor propuesto y cumplir con los objetivos planteados al principio de este trabajo, se realizaron tres pruebas principales: prueba con elementos eléctricos pasivos, medición utilizando soluciones de electrolitos y la más importante, el monitoreo de la presencia de agentes patógenos por medio de conductividad eléctrica en muestras de aguas residuales cuando se aplica la técnica de amplificación isotérmica LAMP. De esta manera en las siguientes secciones se describen los materiales utilizados, los arreglos realizados, los procedimientos y los resultados obtenidos para cada una de las pruebas.*

---

### 4.1. Prueba con elementos eléctricos pasivos

Como se ha estado mencionando a lo largo de este trabajo los sistemas de tipo  $C^4D$  observan los cambios en conductividad que están relacionados directamente con la resistencia de la sustancia bajo prueba y por lo tanto, esta resistencia puede ser emulada con una resistencia eléctrica de carbón convencional.

La razón principal de trabajar con resistencias convencionales es examinar el desempeño del convertidor de corriente a voltaje en los rangos de corriente

## CAPÍTULO 4. PRUEBAS Y RESULTADOS EXPERIMENTALES

---

en los que trabajan los sistemas  $C^4D$  [54] que van desde los  $\mu A$  hasta los mA y teniendo en cuenta que al ser una resistencia la frecuencia de la señal no es relevante. Para la prueba se seleccionó un rango de corriente que va desde  $10 \mu A$  a  $5 \mu A$ , considerando que es un rango que requiere de una gran amplificación y donde la señal pudiera contener gran cantidad de ruido. En la sección 3.4.2 se explicó que la resistencia de realimentación del amplificador de transimpedancia se selecciona de acuerdo al rango de corriente y de voltaje con el que se va a trabajar y es calculada de acuerdo a la siguiente expresión:

$$R_f = \frac{v_{max} - v_{min}}{i_{max}}, \quad (4.1)$$

donde  $v_{max}$  es el voltaje máximo con valor de 5 V,  $v_{min}$  es el voltaje mínimo con valor de 0 V e  $i_{max}$  es el valor máximo de corriente en el rango seleccionado, es decir,  $10 \mu A$ . Sustituyendo de la ecuación tenemos que el valor de resistencia que necesitamos es de:

$$R_f = \frac{5 - 0}{(10 \times 10^{-6}) - (5 \times 10^{-6})} = 500k\Omega.$$

Una vez que se conoce el valor de la resistencia de alimentación se procede a calcular el valor de la resistencia que actúa como sustancia bajo prueba y teniendo en cuenta que deseamos que fluya la corriente máxima, se puede recurrir a la ley de Ohm [44] con la que se puede encontrar que la resistencia que se requiere para que fluyan  $10 \mu A$  de corriente es:

$$R = \frac{v_{max}}{i} = \frac{5}{10 \times 10^{-6}} = 500k\Omega,$$

es evidente que la relación es uno a uno, sin embargo, si se necesita que fluyan diferentes valores de corriente se deben elegir distintos valores de resistencias y en este caso se eligieron 5 resistencias más para tener distintos valores en el rango seleccionado de acuerdo a la Tabla 4.1.

El siguiente ejercicio consiste en observar a través de la interfaz programada el voltaje a la salida del convertidor que es proporcional al valor de corriente real observado por el convertidor de corriente a voltaje y, que debe ser similar a los valores de corriente teóricos utilizando la misma resistencia  $R_f$ .

Considerando que la interfaz muestra el voltaje del rectificador  $v_{RMS}$ , es necesario reconstruir el valor de salida del convertidor a partir de la expresión 3.21, por otro lado, es imprescindible recordar que al ser un valor  $RMS$  debe

## CAPÍTULO 4. PRUEBAS Y RESULTADOS EXPERIMENTALES

---

Tabla 4.1: Valores de corrientes teóricas para las pruebas de calibración.

Resistencia [kΩ]	Corriente [μA]
500	10.0
600	8.33
700	7.14
800	6.25
900	5.56
1000	5.0

ser multiplicado por  $\sqrt{2}$  y el resultado de esa multiplicación también debe ser multiplicado por 2 para obtener el valor pico a pico de la señal original, o dicho de otra manera, obtener el valor del voltaje de salida del amplificador de transimpedancia  $v_{TIA}$  que queda de la siguiente manera:

$$v_{TIA} = v_{RMS} \times \sqrt{2} \times 2. \quad (4.2)$$

Para cada resistencia se realizaron 5 mediciones tomando 500 muestras que se promediaron y al finalizar se obtuvieron los valores de voltaje *RMS* mostrados en la Tabla 4.2 al igual que los voltajes de salida del amplificador de transimpedancia.

Tabla 4.2: Valores de voltaje RMS y voltajes pico a pico del TIA de las pruebas de calibración

Resistencia [kΩ]	$v_{RMS}$ [V]	$v_{TIA}$ [V]
500	1.69	4.79
600	1.45	4.09
700	1.21	3.43
800	1.10	3.12
900	0.98	2.78
100	0.93	2.63

Enseguida con los valores del voltaje de salida de amplificador de transimpedancia se obtuvieron los valores de corriente despejando de la ecuación 3.10 del voltaje de salida:

$$i = \frac{v}{R_f} \quad (4.3)$$

## CAPÍTULO 4. PRUEBAS Y RESULTADOS EXPERIMENTALES

Tabla 4.3: Valores de corrientes reales.

Resistencia [ $k\Omega$ ]	Corriente [ $\mu A$ ]
500	9.58
600	8.18
700	6.87
800	6.24
900	5.57
1000	5.26

Con estos mismos valores se pudo obtener la gráfica que se muestra en la Figura 4.1 donde se observa el comportamiento de la corriente en función de la resistencia y como se esperaba la corriente es inversamente proporcional a la resistencia. Continuando con el análisis también se realizó el ajuste lineal que indica como es que la resistencia ejerce un efecto lineal sobre la variable de respuesta que en este caso es la corriente.

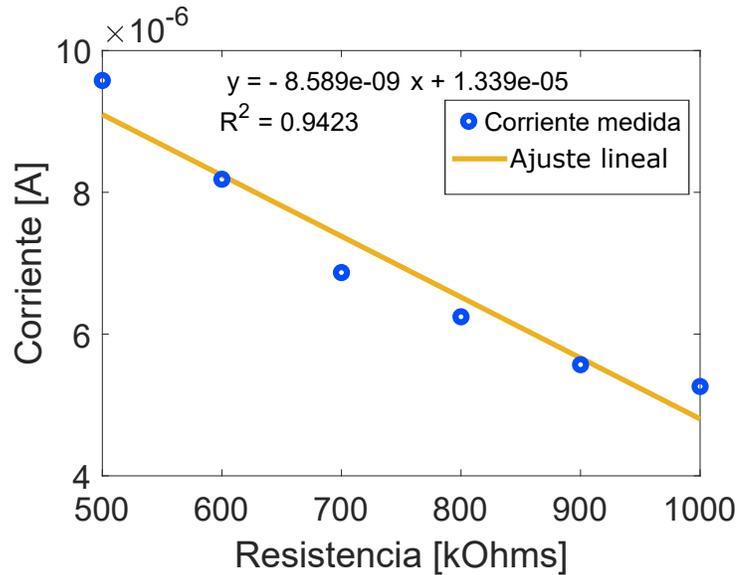


Figura 4.1: Valores de corriente medidos en función de los valores de resistencia nominales para las pruebas de calibración.

Para finalizar se hizo la comparación entre los valores de corriente teóricos y los valores de corriente reales para poder establecer el porcentaje de error en las mediciones. Los resultados se muestran en la Tabla 4.4 y de ahí podemos

Tabla 4.4: Comparación entre los valores de corriente teóricos y los valores de corriente medidos

Corriente Teórica [ $\mu\text{A}$ ]	Corriente Medida [ $\mu\text{A}$ ]	% de Error
10.0	9.58	4.22
8.33	8.18	1.79
7.17	6.87	3.85
6.25	6.24	0.09
5.56	5.57	0.23
5.0	5.26	5.21

concluir que a pesar de que existe un error, este no va mas allá del 6 % y por lo tanto, se encuentra dentro de los límites permisibles que indican que el convertidor de corriente a voltaje se encuentra trabajando de forma correcta y con lo cual entonces se pueden realizar pruebas con sustancias reales.

## 4.2. Medición de conductividad en electrólitos

Los electrólitos [77] son sustancias que en solución permiten la conducción de la corriente eléctrica, debido a que se separan o se ionizan en un solvente dado, produciendo iones o especies químicas cargadas eléctricamente. La cantidad de iones que producen o que están presentes en la solución está relacionada con su capacidad para conducir la corriente eléctrica, o dicho de otra manera, está relacionada directamente con su conductividad. Lo anterior, se puede comprobar al trabajar con soluciones que contengan diferentes concentraciones de una sustancia de electrólitos.

Aunque se establece un cambio en la conductividad lo que se observa es un cambio en la conductancia [78] de las soluciones cuando están depositadas sobre una celda de conductividad, de igual forma, al ser un cambio de conductancia entonces se puede observar como un cambio de resistencia que, de una u otra manera, son las variables a las que reaccionan los sensores de tipo  $C^4D$ . Por tal motivo, en distintos trabajos [15, 19, 53, 55–59] donde se han implementado estos sistemas se utilizan soluciones de electrólitos para comprobar su correcto funcionamiento y una de las sustancias más socorridas para realizar dichas pruebas es el cloruro de potasio (KCl).

De esta manera la segunda prueba consiste en observar los cambios en el

## CAPÍTULO 4. PRUEBAS Y RESULTADOS EXPERIMENTALES

voltaje de salida del sistema cuando se depositan soluciones con diferentes concentraciones de KCl sobre los electrodos recubiertos por el aislante. Las concentraciones elegidas son 0.1 M, 0.2 M, 0.3M, 0.4 M y 0.5 M de KCl y se depositaron sobre los electrodos 20  $\mu\text{L}$  de cada una de estas con la ayuda de una jeringa para insulina con capacidad de 0.5 ml. También es necesario mencionar que la resistencia  $R_f$  que se utilizó para esta prueba tiene un valor 680  $\Omega$ , tanto en está prueba como en la de aplicación.

Como primer ejercicio se consideró que no solo se estaba depositando una sustancia que provoca que la resistencia cambie sino que, en general puede ser vista como una impedancia total [14], de tal forma que, si contiene una parte reactiva, entonces la frecuencia de resonancia, la amplitud y la fase de señal deberían verse afectadas por esta sustancia. Así que, con la ayuda del analizador de redes mencionado en la sección 3.4.3 se realizó un análisis en frecuencia que permitiera observar los cambios en la señal debido a cada una de las sustancias depositadas en los electrodos.

La prueba en concreto consistió en realizar 5 barridos de frecuencias de 1 MHz hasta 3 MHz tomando 1000 muestras a lo largo de ese rango para cada una de las concentraciones elegidas y al final se promediaron los valores de cada barrido. Los resultados de este ejercicio se pueden observar en la gráfica de la Figura 4.2.

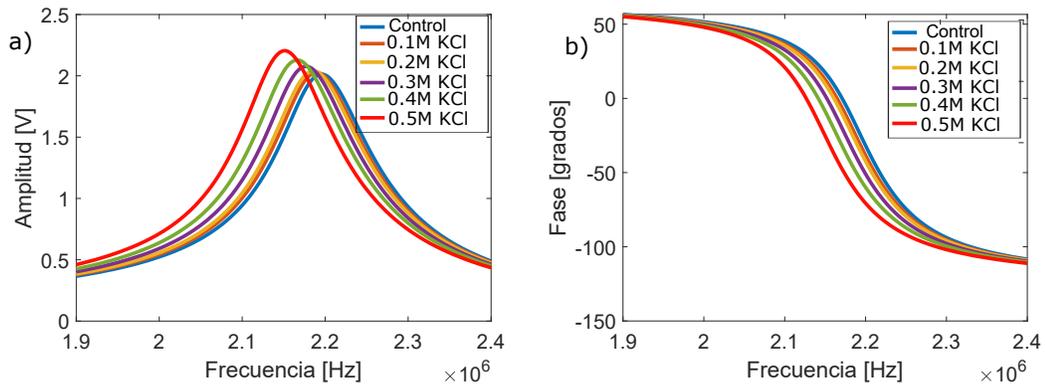


Figura 4.2: Gráficas de amplitud (a) y fase (b) para cada una de las concentraciones de KCl.

Los resultados de esta prueba comprueban que como se esperaba la amplitud y la fase se modifican para cada una de las concentraciones y que por tal motivo existe una frecuencia de resonancia específica en cada caso, también resulta evidente que en el rango de frecuencias cada una de las partes que

componen a la impedancia que representa a la sustancia bajo prueba, toma un papel dominante en determinados puntos, siendo los puntos máximos en la gráfica de la amplitud los que representan la parte resistiva y que son los que más interesan en este análisis. Con base en lo anterior se puede decir que, los cambios de amplitud cuando se depositan diferentes concentraciones son un reflejo de que la conductancia de las sustancias es distinta y que la sustancia más conductiva resulta ser la de mayor concentración, en este caso 0.5 M.

Para observar de mejor manera se han separado los 3 parámetros más importantes mostrados en la gráfica de la Figura 4.2, es decir, amplitud, fase y frecuencia de resonancia. De esta manera en las gráficas de las Figuras 4.3, 4.5 y 4.4 se puede observar el comportamiento de cada uno de los parámetros mencionados a partir de las diferentes concentraciones de KCl. En cada caso se estableció una relación lineal y con base en esta se encontraron los coeficientes de la ecuación lineal que mejor predice el comportamiento del sensor. Por otro lado, el ajuste lineal ha permitido observar las discrepancias entre los valores de salida del analizador que se han medido y los valores de salida esperados. Por último, se encontraron los coeficientes de determinación para cada caso y es evidente que los mejores resultados son para la frecuencia de resonancia y la fase.

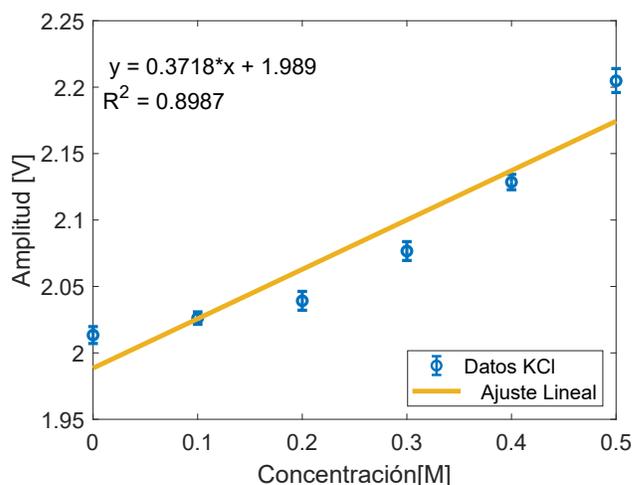


Figura 4.3: Cambios de amplitud cuando se utilizan diferentes concentraciones de KCl.

El segundo ejercicio que se realizó con las sustancias de electrolitos fue

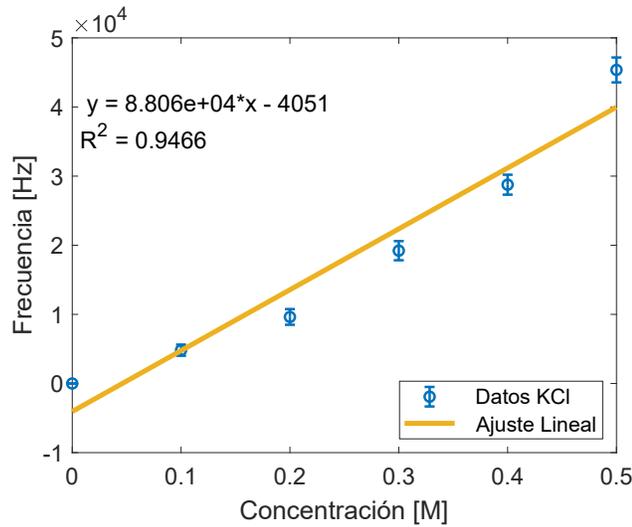


Figura 4.4: Cambios de la frecuencia de resonancia para cada una de las concentraciones de KCl.

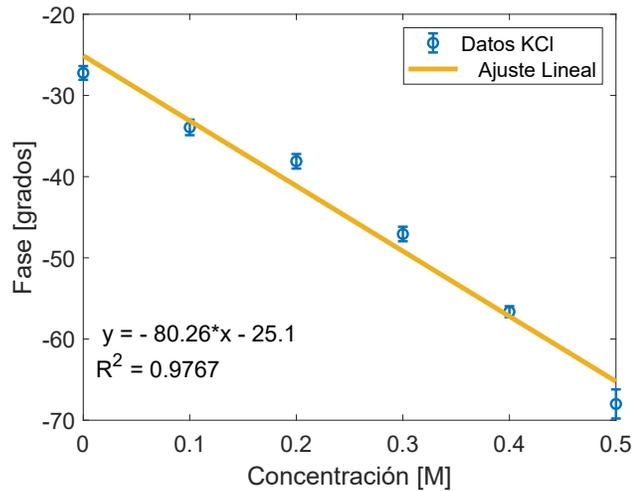


Figura 4.5: Cambios de fase para cada una de las concentraciones de KCl.

observar los cambios en el voltaje de salida del sistema que mostraba la interfaz programada para cada una de las concentraciones de KCl cuando se utiliza una señal sinusoidal con una frecuencia fija de 2 MHz. La prueba consistió en depositar nuevamente con ayuda de la jeringa de insulina 20  $\mu\text{L}$  de cada concentración de KCl y posteriormente tomar 500 muestras del

## CAPÍTULO 4. PRUEBAS Y RESULTADOS EXPERIMENTALES

voltaje de salida para cada una en 5 ocasiones para al final promediar los valores. Los resultados de estas pruebas se muestran en la Tabla 4.5 y en la gráfica de la Figura 4.6.

Tabla 4.5: Valores de voltaje de salida para cada concentración junto con la desviación estándar de cada medición.

Concentración KCl [M]	Voltaje RMS promedio [V]	Desviación estándar [V]
0	1.328	0.07009
0.1	1.314	0.07391
0.2	1.302	0.07318
0.3	1.279	0.07080
0.4	1.269	0.06649
0.5	1.245	0.06086

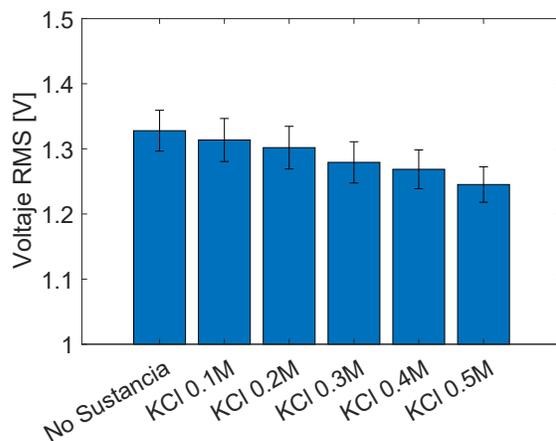


Figura 4.6: Valores de voltaje  $RMS$  que arrojó el sistema  $C^4D$ .

De este segundo ejercicio se puede mencionar que para cada una de las concentraciones existe un valor distinto de voltaje a la salida del sistema, esto quiere decir que cada una de las sustancias presenta su propio valor de conductividad, sin embargo, en este caso se observa que mientras la concentración aumenta, el voltaje disminuye, esto se debe a lo ya visto en la prueba anterior en donde la frecuencia de la señal juega un papel importante en la

amplitud de la señal. Lo anterior no representa ningún problema ya que el sistema es capaz de diferenciar entre una sustancia u otra de acuerdo a su capacidad conductiva.

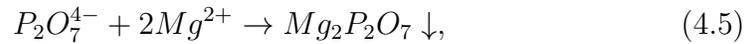
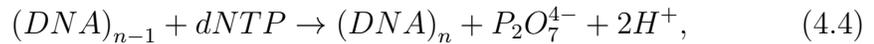
Ahora que se ha comprobado el correcto funcionamiento del sistema con sustancias reales, es momento de darle una aplicación real al sistema, que en este caso es realizar el análisis de una sustancia que resulta de una amplificación de ADN de tipo *LAMP* de un agente patógeno.

### 4.3. Monitoreo de los cambios de conductividad eléctrica debido al método de amplificación *LAMP*

La última prueba que se realizó es una aplicación directa para el sistema  $C^4D$  propuesto, en donde se observan los cambios de conductividad a través del voltaje de salida cuando se utiliza como sustancia bajo prueba una solución que contiene el ácido nucleico de un agente patógeno que ha sido amplificado por medio de la técnica *LAMP*.

El objetivo principal de esta prueba es comprobar que el sistema puede diferenciar entre una sustancia que si contiene el ácido nucleico y una que no lo contiene para poder establecer un diagnóstico. Por otro lado, también se busca que el sistema no solo sea capaz de entregar un resultado positivo y negativo, sino que, al igual que en la prueba pasada tenga la oportunidad de diferenciar entre concentraciones, para que más adelante pueda cuantificar la carga del patógeno que se encuentra en la sustancia, en caso de que sea utilizado para esta aplicación.

Cuando se realiza un amplificación de ácidos nucleicos a través de la técnica *LAMP* la sustancia resultante del proceso experimenta un cambio en su conductividad eléctrica [13, 19] debido a que cuando el ADN objetivo es separado y la polimerasa utiliza los iones de magnesio para unir los nucleótidos a las cadenas simples, se genera un cambio en las fuerzas iónicas de la mezcla. Esta reacción se puede describir con las siguientes ecuaciones:





estas ecuaciones muestran que cuando la polimerasa (dsDNA) utiliza a los iniciadores y a los nucleótidos (dNTPs) para formar nuevas cadenas se produce una sal de pirofosfato de magnesio y protones. Así el consumo de los iniciadores y los nucleotidos, más la sal que se forma, dan lugar a un cambio en la fuerza iónica general de la solución *LAMP* que contiene el ácido nucleico del patógeno.

Para esta prueba se utilizaron 5 concentraciones de una solución *LAMP*:  $0.001 \times 10^{-3}$ ,  $0.01 \times 10^{-3}$ ,  $0.1 \times 10^{-3}$ ,  $1 \times 10^{-3}$  y  $10 \times 10^{-3}$ , todas dadas en  $\text{ng}/\mu\text{L}$ . Para la prueba se depositaron  $20 \mu\text{L}$  de cada una de las concentraciones sobre los electrodos, posteriormente con ayuda del analizador de redes se hizo un barrido de frecuencias de 1 MHz hasta 3 MHz tomando 1000 puntos a lo largo de ese rango para cada una de las concentraciones y los resultados se pueden observar en la gráfica de la Figura 4.7.

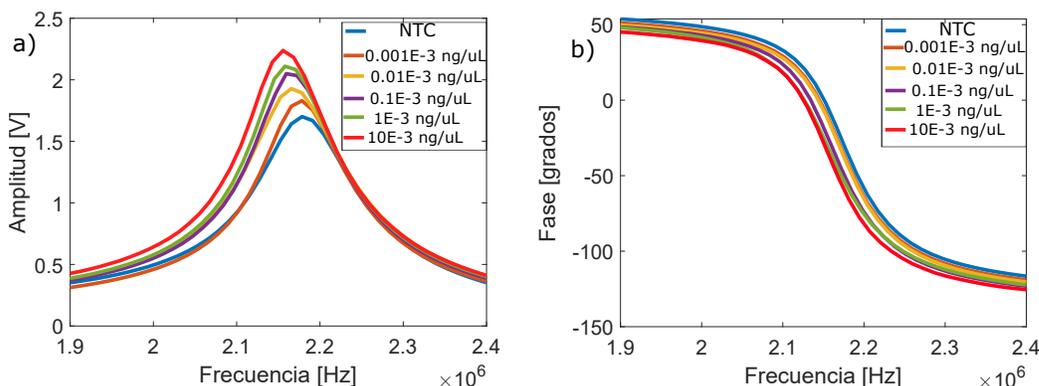


Figura 4.7: Gráficas de amplitud (a) y fase (b) para cada una de las concentraciones de la solución *LAMP*.

Los resultados de esta prueba arrojan que para cada una de las concentraciones de la solución *LAMP* existe una frecuencia de resonancia característica y de este modo se puede decir que existe un valor propio de impedancia considerando el defasamiento que hay entre cada una de las curvas. Una vez más, cada punto máximo representa la conductancia de cada una de las soluciones bajo prueba y considerando que conforme aumenta la concentración de las muestras también aumenta la amplitud se puede decir que son directamente proporcionales.

## CAPÍTULO 4. PRUEBAS Y RESULTADOS EXPERIMENTALES

Para corroborar lo anterior se realizó el mismo ejercicio que en la prueba anterior del KCl y se analizaron por separado los comportamientos de la amplitud, la fase y la frecuencia de resonancia en función de la concentración de la solución *LAMP*, pero, en este caso se utilizó la escala logarítmica considerando la magnitud de las concentraciones. Los resultados de este análisis se muestran en las Figuras 4.8, 4.9 y 4.10, en donde se observan las ecuaciones lineales que permiten modelar el comportamiento del sensor con las distintas concentraciones. El ajuste lineal por otro lado nos muestra el comportamiento ideal de cada parámetro y en este caso la amplitud y la fase resultan ser los mejores medios para caracterizar cada una de las concentraciones teniendo en cuenta los valores de los coeficientes de determinación  $R^2$  obtenidos (0.9915 y 0.9815 respectivamente).

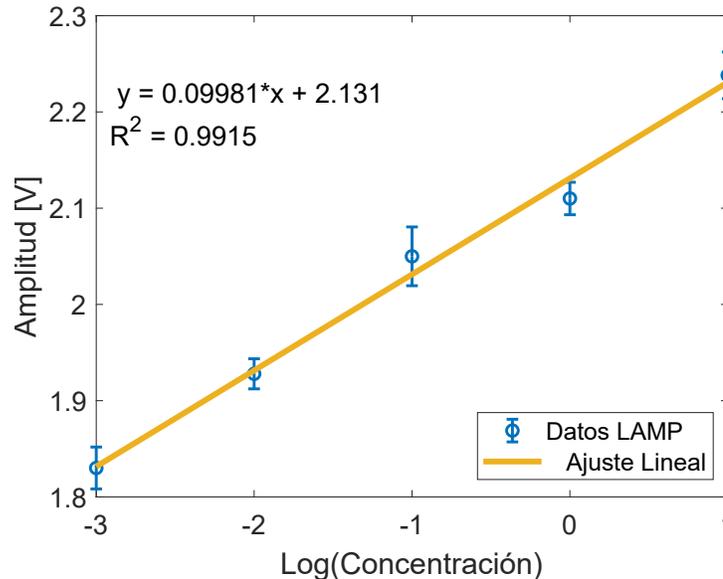


Figura 4.8: Cambios de amplitud cuando se utilizan diferentes concentraciones de la solución *LAMP*.

Por otro lado, con estas mismas ecuaciones se han obtenido los valores de sensibilidad del sistema para cada uno de los parámetros. Para la amplitud se obtuvo un valor de  $0.0998 \frac{V}{\text{Log}(\text{ng}/\mu L)}$ , para la frecuencia se tiene un valor de  $5271 \frac{\text{Hz}}{\text{Log}(\text{ng}/\mu L)}$ , mientras que, para la fase se obtuvo un valor de  $-3.004 \frac{\text{grados}}{\text{Log}(\text{ng}/\mu L)}$ .

De igual forma, a partir de la información de las rectas de ajuste se en-

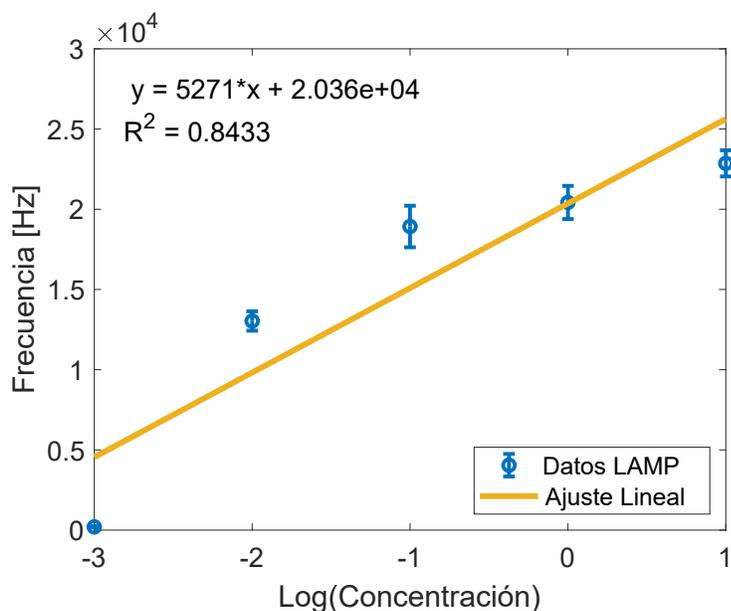


Figura 4.9: Cambio en la frecuencia de resonancia para cada una de las concentraciones de la solución *LAMP*.

cuentra el límite de detección [79] que, es la concentración mínima de analito en la muestra que puede ser detectada en el rango de concentración que va, desde  $0.001-10 \times 10^{-3} \text{ ng}/\mu\text{L}$ . En el caso en donde se utiliza la amplitud de la señal como parámetro de detección se encontró un límite de detección de  $0.5268 \times 10^{-3} \text{ ng}/\mu\text{L}$ . Por otra parte, el límite de detección cuando se utiliza la frecuencia es de  $0.0509 \times 10^{-3} \text{ ng}/\mu\text{L}$ . Por último, cuando se utiliza la fase, el límite de detección es de  $0.3876 \times 10^{-3} \text{ ng}/\mu\text{L}$ . Así, se puede decir que el sensor de conductividad es capaz de detectar si está presente el ácido nucleico amplificado con la posibilidad de diferenciar entre distintas concentraciones a través de diferentes parámetros de detección. Para observar de mejor manera los resultados obtenidos se presenta la Tabla 4.6.

Con esta prueba se puede corroborar que el sensor de conductividad  $C^4D$  propuesto, es capaz de detectar la presencia de un ácido nucleico que ha sido sometido a un proceso de amplificación de tipo *LAMP* con base en los valores de sensibilidad y los límites de detección encontrados que, comparados con instrumentos comerciales especializados en la cuantificación de ácidos nucleicos, como lo son los fluorímetros [80, 81], resultan bastantes similares, teniendo en cuenta que, los límites de detección de estos instrumentos son de

CAPÍTULO 4. PRUEBAS Y RESULTADOS EXPERIMENTALES

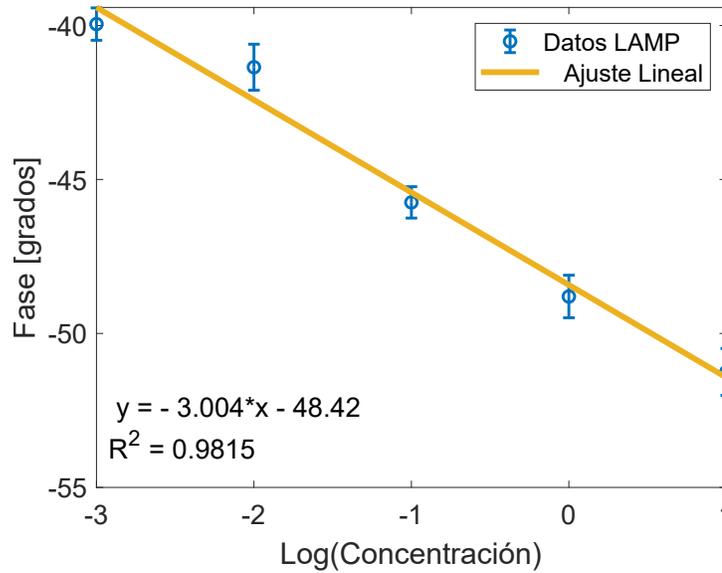


Figura 4.10: Cambios de fase cuando se utilizan diferentes concentraciones de la solución *LAMP*.

Tabla 4.6: Valores de sensibilidad y límites de detección para cada parámetro de medición

Parámetro de detección	Sensibilidad	Límite de detección
Amplitud	$0.0998 \frac{V}{\text{Log}(\text{ng}/\mu\text{L})}$	$0.5268 \times 10^{-3} \text{ ng}/\mu\text{L}$
Frecuencia	$5271 \frac{\text{Hz}}{\text{Log}(\text{ng}/\mu\text{L})}$	$0.0509 \times 10^{-3} \text{ ng}/\mu\text{L}$
Fase	$-3.004 \frac{\text{grados}}{\text{Log}(\text{ng}/\mu\text{L})}$	$0.3876 \times 10^{-3} \text{ ng}/\mu\text{L}$

hasta  $0.005 \text{ ng}/\mu\text{L}$  en un rango de concentración que va desde los  $0.5 \text{ pg}/\mu\text{L}$  hasta  $4000 \text{ ng}/\mu\text{L}$ . Con el análisis de estos resultados solo resta dar una conclusión que permita discutir si se han cumplido los objetivos propuestos y plantear el trabajo a futuro que se pueda realizar con este sensor.

# Capítulo 5

## Conclusiones y trabajo a futuro

En este trabajo de tesis se diseñó y se puso en funcionamiento un biosensor eletroquímico de conductividad eléctrica sin contacto para el monitoreo de especies bioquímicas que tuvo como aplicación principal el reconocimiento de un agente patógeno en muestras de aguas residuales cuando son sometidas a una técnica de amplificación *LAMP* que se ha desarrollado en el Instituto de Ingeniería de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El biosensor utiliza la técnica conductimétrica conocida como  $C^4D$  que, en comparación de las técnicas convencionales de conductividad, no provoca efectos de polarización ni de erosión electroquímica y además, elimina completamente el riesgo de la contaminación de la celda electroquímica al no estar en contacto con la muestra bajo prueba.

Aprovechando la estrecha compatibilidad que existe entre los sensores electroquímicos y la electrónica, se implementó un sistema  $C^4D$  portable y constituido por módulos electrónicos que permitieron la generación, el acondicionamiento y digitalización de señales de manera asequible. Es importante resaltar que la celda electroquímica de este sensor está constituida por un arreglo de electrodos interdigitados que, de igual manera, no tienen un elevado costo y contribuyen a la miniaturización del sistema y al uso de muestras mínimas para poder entregar un resultado. Sí bien, el uso de estos electrodos introdujo una nueva problemática para el estudio de las muestras, también permitió darle otro enfoque a su análisis a través de un estudio en frecuencia. Junto con el hardware utilizado, también se desarrolló una pequeña interfaz con ayuda de las herramientas que ofrece el lenguaje de programación Python para que el usuario observe las variaciones de las señales provenientes del sistema  $C^4D$  y pueda guardar todos los datos obtenidos.

## CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO

---

Es así que el sistema  $C^4D$  presentado, resulta innovador considerando que elimina el uso de cualquier instrumento de laboratorio y de esta manera pueda representar una alternativa para realizar pruebas en cualquier lugar que se requiera.

Con el hardware y software unificado se llevaron a cabo tres pruebas que permitieran corroborar el correcto funcionamiento del sistema  $C^4D$ . En principio se realizó una prueba con elementos eléctricos pasivos con el objetivo principal de comprobar que toda la electrónica estuviera trabajando de forma correcta, en especial el amplificador de transimpedancia. Por lo tanto, se simuló un sistema bajo prueba con la ayuda de resistencias eléctricas de carbono, bajo el hecho de que éstas no generarían ningún defasamiento en la señal y por esta razón al conocer su valor nominal y relacionarlo con la amplitud de la señal de voltaje se podía conocer la amplitud de la corriente que circulaba por la resistencia. De esta manera, se eligieron distintas resistencias y se calcularon los valores de corriente que en teoría debían circular por las resistencias y al compararlos directamente con los valores obtenidos a la salida del amplificador de transimpedancia las pruebas mostraron que el sistema estaba trabajando correctamente considerando que los valores de corriente mostrados a la salida eran muy similares a los valores teóricos al no rebasar un porcentaje de error del 6 %.

Como segunda prueba se hizo el análisis de soluciones de electrolitos que permitirán observar, en primera instancia, los cambios en conductividad eléctrica al variar su concentración. Para esta prueba se depositaron sobre la celda electroquímica distintas concentraciones de cloruro de potasio (0.1 M, 0.2 M, 0.3 M, 0.4 M y 0.5 M), esperando que la señal de salida del amplificador de transimpedancia tuviera una amplitud distinta para cada una de ellas. Para realizar estas mediciones se tomó en cuenta que cuando se utilizan electrodos interdigitados las capacitancias de acoplamiento que se forman llegan a ser tan pequeñas que, sin importar que frecuencia se elija para la señal de voltaje de entrada, éstas siempre opacarían la parte resistiva que es la variable de interés, por tal motivo, se recurrió al concepto de frecuencia de resonancia con la intención de contrarrestar la parte capacitiva del circuito equivalente. De este modo se agregó al diseño un inductor que contrarresta la parte capacitiva y con ayuda de un analizador de redes se pudo encontrar la frecuencia en donde ambas partes se eliminaban entre sí, de tal forma que solo se observaría la parte resistiva.

Con esta modificación se realizó la segunda prueba en dos partes, la primera de ellas fue un análisis en frecuencia para cada concentración de cloruro

de potasio donde se observa y concluye que cada una de las concentraciones podía ser vista como una impedancia de la cual se atenúa completamente su parte capacitiva permitiendo así resaltar el punto en donde la señal de salida es máxima y representa la conductividad de la concentración. En la segunda parte se hizo el análisis de cada muestra con una frecuencia fija que corresponde a la frecuencia de resonancia de la celda electroquímica sin ningún tipo de sustancia sobre su superficie, de tal forma que, cuando se deposite una sustancia sobre la celda la amplitud de la señal de salida del sistema  $C^4D$  se modifica. Al realizar esta prueba con cada una de las concentraciones de cloruro de potasio, se obtuvieron distintos valores de voltaje a la salida del sistema concluyendo que es capaz de diferenciar entre distintas sustancias de acuerdo a sus propiedades eléctricas con una sensibilidad de 0.3718 V/M.

En la última prueba el sensor  $C^4D$  fue utilizado para detectar la presencia de agentes patógenos en muestras de aguas residuales que han sido sometidas a la técnica de amplificación isotérmica *LAMP*. Durante el proceso de amplificación *LAMP* se liberan y se absorben iones en la solución. De acuerdo con la tasa de producción de estos iones cambia la conductividad de la solución lo que representa la presencia del ácido nucleico bajo prueba. Con base en esto, se eligieron varias soluciones que contenían distintas concentraciones del material genético del agente patógeno bajo prueba, y se colocaron sobre la celda para realizar un análisis en frecuencia considerando que, esta prueba muestra la conductancia característica de cada una de las concentraciones. De esta prueba surge una de las características más llamativas del sensor desarrollado ya que, si bien es posible observar los cambios de conductancia por medio de los cambios de amplitud, también es posible hacerlo a través de la fase y la frecuencia. Cada uno de estos parámetros de detección presentan su propia sensibilidad y límites de detección, esto significa que el sistema podría ser capaz de trabajar con diferentes concentraciones de acuerdo a las necesidades de la sustancia bajo prueba que se quisiera analizar. De acuerdo a todo lo anterior, se puede decir que el sistema, no solo es capaz de diferenciar entre soluciones que contienen material genético amplificado y soluciones que no lo contienen sino que, es capaz de diferenciar entre soluciones con diferentes concentraciones de material genético.

Con las tres pruebas realizadas se reafirma el desarrollo de un sensor  $C^4D$  de *hardware* mínimo en conjunto con una plataforma de análisis sencillo que tiene la capacidad de realizar pruebas sucesivas de forma no invasiva y eliminando completamente el riesgo de contaminación de las muestras para detectar la presencia de ácidos nucleicos. Resulta relevante mencionar que el

## CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES Y TRABAJO A FUTURO

---

sensor propuesto no presenta ningún tipo de *marcado* o *etiquetado* y por lo tanto, pudiera ser empleado no solo para la detección de ácidos nucleicos, sino también para otro tipo de especies bioquímicas considerando que la superficie de los electrodos reacciona en función de la sustancia que se le deposita.

La versatilidad de la técnica propuesta, y las modificaciones presentadas respecto al estado del arte, constituye una innovadora solución al problema de  $C^4D$  cuya aplicación pudiera ser extensiva a diferentes procesos. Ejemplo de ellos es que, ya se ha comentado el interés de que este sistema pudiera ayudar a las investigaciones realizadas en el Instituto de Ingeniería de la UNAM relacionadas con la epidemiología basada en aguas residuales y con distintas pruebas de electroforesis capilar.

# Bibliografía

- [1] A. B. Reyes and A. de Jesús García Mendoza, *Principios de electroquímica analítica*. Documentos de apoyo, Universidad Nacional Autónoma de México, 2011.
- [2] D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Vörös, and E. Reimhult, “Electrochemical biosensors - sensor principles and architectures,” *Sensors*, vol. 8, no. 3, pp. 1400–1458, 2008.
- [3] S. Mukhopadhyay, B. George, D. J. Roy, and T. Islam, *Interdigital Sensors Progress over the Last Two Decades: Progress over the Last Two Decades*. Springer Nature Switzerland AG, 2021.
- [4] F. Padzil, A.-R. Mariatulqabtiah, W. S. Tan, K. L. Ho, N. Mat Isa, H. Y. Lau, J. Abu, and K. Chuang, “Loop-mediated isothermal amplification (lamp) as a promising point-of-care diagnostic strategy in avian virus research,” *Animals*, vol. 12, p. 76, 12 2021.
- [5] S. Saha, M. A. Rahman, and A. Thakur, “Design and implementation of spi bus protocol with built-in-self-test capability over fpga,” in *2014 International Conference on Electrical Engineering and Information Communication Technology*, pp. 1–6, 2014.
- [6] M. Eva and C. Slattery, “All about direct digital synthesis,” *Analog Dialogue*, 2005.
- [7] B. C. Baker, “Delta-sigma adcs in a nutshell,” *Texas Instruments Incorporated*, 2011.
- [8] J. Wu, “Delta-sigma adc basics: Understanding the delta-sigma modulator,” *Texas Instruments Incorporated*, 2015.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- [9] B. C. Baker, “How delta-sigma adcs work, part 2,” *Texas Instruments Incorporated*, 2011.
- [10] B. Gale, K. Caldwell, and A. Frazier, “Electrical conductivity particle detector for use in biological and chemical micro-analysis systems,” *Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering*, 09 1998.
- [11] J. G. Brito, J. Silva, L. Blanes, and C. do Lago, “Understanding capacitively coupled contactless conductivity detection in capillary and microchip electrophoresis. part 1. fundamentals,” *Electroanalysis*, vol. 17, pp. 1198 – 1206, 05 2005.
- [12] F. Md, S. Mannan, A. Chowdhury, R. Mazumdar, M. Hossain, S. Islam, and M. Chowdhury, “Nucleic acid amplification-alternative methods of polymerase chain reaction (pcr),” *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 12 2013.
- [13] X. Zhang, W. Liu, X. Lu, J. Justin Gooding, Q. Li, and K. Qu, “Monitoring the progression of loop-mediated isothermal amplification using conductivity,” *Analytical biochemistry*, vol. 466, p. 16—18, 2014.
- [14] A. Rottigni, *Electronical instrumentation for impedance measurement on biosamples*. Politecnico di Milano, 2011.
- [15] Z. Huang, J. Long, W. Xu, H. Ji, B. Wang, and H. Li, “Design of capacitively coupled contactless conductivity detection sensor,” *Flow Measurement and Instrumentation*, vol. 27, 2012.
- [16] P. Kubáň and P. Hauser, “A review of the recent achievements in capacitively coupled contactless conductivity detection,” *Analytica chimica acta*, vol. 607, pp. 15–29, 02 2008.
- [17] W. Coltro, R. Lima, T. Segato, E. Carrilho, D. Jesus, C. do Lago, and J. Silva, “Capacitively coupled contactless conductivity detection on microfluidic systems - ten years of development,” *Analytical methods*, vol. 4, p. 25, 01 2012.
- [18] P. Hauser and P. Kubáň, “Capacitively coupled contactless conductivity detection for analytical techniques – developments from 2018 to 2020,” *Journal of Chromatography A*, vol. 1632, 11 2020.

- 
- [19] X. Zhang, Q. Li, X. Jin, C. Jiang, Y. Lu, R. Tavallaie, and J. Gooding, "Quantitative determination of target gene with electrical sensor," *Scientific reports*, vol. 5, 2015.
- [20] A. C. Romero, A. S. Díaz, B. R. Aguilar, and M. G. R. Muni-ve, *Herramientas moleculares aplicadas en ecología: aspectos teóricos y prácticos*. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (Semarnat)-Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC)-Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I), 2014.
- [21] C. M. Maida, E. Amodio, W. Mazzucco, G. La Rosa, L. Lucentini, E. Suffredini, M. Palermo, G. Andolina, F. R. Iaia, F. Merlo, M. G. Chiarelli, A. Siragusa, F. Vitale, F. Tramuto, D. Segreto, P. Schembri, G. Cuffari, A. Conti, G. Casamassima, A. Polizzi, M. Ferrara, G. Gullo, A. Lo Verde, A. Russo, A. Casuccio, C. Costantino, V. Restivo, P. Immordino, and G. Graziano, "Wastewater-based epidemiology for early warning of sars-cov-2 circulation: A pilot study conducted in sicily, italy," *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, vol. 242, p. 113948, 2022.
- [22] R. Sanjuán and P. Domingo-Calap, "Reliability of wastewater analysis for monitoring covid-19 incidence revealed by a long-term follow-up study," *Frontiers in Virology*, vol. 1, 2021.
- [23] X. Li, S. Zhang, J. Shi, S. P. Luby, and G. Jiang, "Uncertainties in estimating sars-cov-2 prevalence by wastewater-based epidemiology," *Chemical Engineering Journal*, vol. 415, p. 129039, 2021.
- [24] R. G. Ramírez-Chavarría, E. Castillo-Villanueva, B. E. Alvarez-Serna, J. Carrillo-Reyes, R. M. Ramírez-Zamora, G. Buitrón, and L. Alvarez-Icaza, "Loop-mediated isothermal amplification-based electrochemical sensor for detecting sars-cov-2 in wastewater samples," *Journal of Environmental Chemical Engineering*, vol. 10, no. 3, p. 107488, 2022.
- [25] F. O. O. de Apodaca and V. V. Sánchez, *Biosensores y Biochips: herramientas para el diagnóstico y la terapéutica*. Instituto de España - Real Academia Nacional de Farmacia, 2006.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- [26] D. R. Thevenot, K. Tóth, R. A. Durst, and G. S. Wilson, “Electrochemical biosensors: Recommended definitions and classification,” *Pure and Applied Chemistry*, vol. 71, no. 12, pp. 2333–2348, 1999.
- [27] S. Alegret, M. Valle, and A. Merkoçi, *Sensores electroquímicos: introducción a los quimiosensores y biosensores : curso teórico-práctico*. Materials, Servei de Publicacions de la Universitat Autònoma de Barcelona, 2004.
- [28] P. Coulet and L. Blum, *Biosensor Principles and Applications*. CRC Press, 2019.
- [29] A. Bard and L. Faulkner, *Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications*. Wiley, 2000.
- [30] A. Ensafi, *Electrochemical Biosensors*. Elsevier Science, 2019.
- [31] J. Wang, “Electrochemical biosensors: Towards point-of-care cancer diagnostics,” *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 21, no. 10, pp. 1887–1892, 2006.
- [32] H. Teymourian, A. Barfidokht, and J. Wang, “Electrochemical glucose sensors in diabetes management: an updated review (2010–2020),” *Chem. Soc. Rev.*, vol. 49, pp. 7671–7709, 2020.
- [33] E. de Souza Gil and G. R. de Melo, “Electrochemical biosensors in pharmaceutical analysis,” *Brazilian journal of pharmaceutical sciences*, vol. 46, no. 3, pp. 375–391, 2010.
- [34] M. Ahmed, M. Hossain, and E. Tamiya, “Electrochemical biosensors for medical and food applications,” *Electroanalysis*, vol. 20, no. 6, pp. 616–626, 2008.
- [35] E. M. Abad-Villar, P. Kubáň, and P. C. Hauser, “Determination of biochemical species on electrophoresis chips with an external contactless conductivity detector,” *ELECTROPHORESIS*, vol. 26, no. 19, pp. 3609–3614, 2005.
- [36] I. Bontidean, A. Mortari, S. Leth, N. L. Brown, U. Karlson, M. M. Larsen, J. Vangronsveld, P. Corbisier, and E. Csöregi, “Biosensors for detection of mercury in contaminated soils,” *Environmental Pollution*, vol. 131, no. 2, pp. 255–262, 2004.

- 
- [37] Y. Hui, Z. Huang, M. E. E. Alahi, A. Nag, S. Feng, and S. C. Mukhopadhyay, “Recent advancements in electrochemical biosensors for monitoring the water quality,” *Biosensors*, vol. 12, no. 7, 2022.
- [38] K. Oldham and J. Myland, *Fundamentals of Electrochemical Science*. Elsevier Science, 2012.
- [39] G. Maruccio and J. Narang, *Electrochemical Sensors: From Working Electrodes to Functionalization and Miniaturized Devices*. Woodhead Publishing Series in Electronic and Optical Materials, Elsevier Science, 2022.
- [40] J. Yoon, *Introduction to Biosensors: From Electric Circuits to Immunosensors*. Springer New York, 2012.
- [41] S. B. Dulay, *Development of electrochemical biosensors for the detection of biological warfare agents*. Department of Chemical Engineering-Universitat Rovira I Virgili, 2014.
- [42] P. Gründler, “Chemical sensors: An introduction for scientists and engineers,” 2007.
- [43] C. Thirstrup and L. Deleebeeck, “Review on electrolytic conductivity sensors,” *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, vol. 70, pp. 1–22, 2021.
- [44] C. Alexander and M. Sadiku, *Fundamentos de circuitos eléctricos*. 5a ed., 2013.
- [45] S. Brosel-Oliu, N. Abramova, N. Uria, and A. Bratov, “Impedimetric transducers based on interdigitated electrode arrays for bacterial detection – a review,” *Analytica Chimica Acta*, vol. 1088, pp. 1–19, 2019.
- [46] D. A. Harrington, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*. Norwegian University of Science and Technology, 2014.
- [47] W. Y. Chung, S. C. Cheng, C. C. Chuang, and F. R. G. Cruz, “A wide current range readout circuit with potentiostat for amperometric chemical sensors,” in *13th International Conference on Biomedical Engineering*, (Berlin, Heidelberg), pp. 543–546, Springer Berlin Heidelberg, 2009.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- [48] M. Ordonez, M. O. Sonnaillon, J. E. Quaiocoe, and M. T. Iqbal, “An embedded frequency response analyzer for fuel cell monitoring and characterization,” *IEEE Transactions on Industrial Electronics*, vol. 57, no. 6, pp. 1925–1934, 2010.
- [49] L. Duy Dam, T. Nguyen, T. Doan, T. Dang, and C. Dang, “Fabrication of interdigitated electrodes by inkjet printing technology for application in ammonia sensing,” *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 7, 2016.
- [50] N. S. Mazlan, M. M. Ramli, M. M. A. B. Abdullah, D. S. C. Halin, S. S. M. Isa, L. F. A. Talip, N. S. Danial, and S. A. Z. Murad, “Interdigitated electrodes as impedance and capacitance biosensors: A review,” *AIP Conference Proceedings*, vol. 1885, no. 1, 2017.
- [51] Q. Fang, H. Chao, L. Y. Dong, I. A. N., O. T. J., B. R. H., C. C. J., E. H. A., S. D. A., B. A. M., L. Ronglih, L. F. C., K. K. S., and W. E. K., “Simultaneous electrical recording of cardiac electrophysiology and contraction on chip,” *Lab Chip*, vol. 17, pp. 1732–1739, 2017.
- [52] C. D. Mario, “Principios básicos de electroforesis capilar: técnica analítica de separación de analitos,” vol. 1, no. 2, pp. 86–89, 2012.
- [53] F. KJ and do Lago CL, “A compact and high-resolution version of a capacitively coupled contactless conductivity detector,” vol. 30, no. 19, 2009.
- [54] M. Jaanus, A. Udal, V. Kukk, K. Umbleja, J. Gorbatoeva, and L. Molder, “Improved c5d electronic realization of conductivity detector for capillary electrophoresis,” *Elektronika ir Elektrotechnika*, vol. 22, 06 2016.
- [55] S. Fu, B. Wang, H. Ji, Z. Huang, and H. Li, “A contactless conductivity sensor based on capacitively coupled principle,” in *2011 International Conference on Electrical and Control Engineering*, 2011.
- [56] H. Ji, Z. Li, B. Wang, Z. Huang, H. Li, and Y. Yan, “Design and implementation of an industrial c4d sensor for conductivity detection,” *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 213, pp. 1–8, 2014.

- 
- [57] Z. Huang, W. Jiang, X. Zhou, B. Wang, H. Ji, and H. Li, “A new method of capacitively coupled contactless conductivity detection based on series resonance,” *Sensors and Actuators B Chemical*, vol. 143, 2009.
- [58] H. Ji, Y. Lyu, B. Wang, Z. Huang, H. Li, and Y. Yan, “An improved capacitively coupled contactless conductivity detection sensor for industrial applications,” *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 235, 2015.
- [59] B. Wang, M. Chai, H. Ji, Z. Huang, and H. Li, “Capacitively coupled contactless conductivity detection based on phase-sensitive demodulation principle,” in *2013 10th IEEE International Conference on Control and Automation (ICCA)*, 2013.
- [60] N. Chantipnamee, T. Sonsa-ard, N. Fukana, K. Kotakanok, T. Mantim, P. Wilairat, P. Hauser, and D. Nacapricha, “Contactless conductivity detector from printed circuit board for paper-based analytical systems,” *Talanta*, vol. 206, 08 2019.
- [61] L. C. Duarte, F. Figueredo, L. E. Ribeiro, E. Cortón, and W. K. Coltro, “Label-free counting of escherichia coli cells in nanoliter droplets using 3d printed microfluidic devices with integrated contactless conductivity detection,” *Analytica Chimica Acta*, vol. 1071, pp. 36–43, 2019.
- [62] N. Fukana, T. Sonsa-ard, N. Chantipnamee, P. Hauser, P. Wilairat, and D. Nacapricha, “Contactless conductivity sensor as detector for microfluidic paper-based analytical device with application to unique rapid method for quantifying sulfite preservative,” *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 339, 03 2021.
- [63] K. Sereenonchai, S. Teerasong, S. Chan-Eam, P. Saetear, N. Choengchan, K. Uraisin, N. Amornthammarong, S. Motomizu, and D. Nacapricha, “A low-cost method for determination of calcium carbonate in cement by membraneless vaporization with capacitively coupled contactless conductivity detection,” *Talanta*, vol. 81, no. 3, pp. 1040–1044, 2010.
- [64] S. Zhang, S. Bi, and X. Song, *Nucleic Acid Amplification Strategies for Biosensing, Bioimaging and Biomedicine*. 01 2019.
- [65] Y. Zhao, F. Chen, Q. Li, L. Wang, and C. Fan, “Isothermal amplification of nucleic acids,” *Chemical reviews*, vol. 115, 11 2015.

## BIBLIOGRAFÍA

---

- [66] T. Notomi, H. Okayama, H. Masubuchi, T. Yonekawa, K. Watanabe, N. Amino, and T. Hase, “Loop-mediated isothermal amplification of dna,” *Nucleic acids research*, vol. 28, p. E63, 07 2000.
- [67] A. L. Barragan, “Puertos USB - Bus Serie Universal y descripción de la norma IEEE 1394,” *Dpto. Electricidad-Elca I.E.S*, 2003.
- [68] A. S. C. Pérez, G. Águila Rodríguez, and R. P. Gómez, “Diseño de un filtro digital pasa bajas de primer y segundo orden a partir de circuito RC,” *Pistas Educativas, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Celaya*, 2016.
- [69] G. Valls, J. López, and J. Marí, *Fundamentos de electrónica analógica*. Publicaciones de la Universidad de Valencia, 2006.
- [70] C. Millahual, *Descubriendo Arduino*. RedUsers, 2020.
- [71] J. R. Osorio, L. Antonini, W. Aróztegui, and J. A. Rapallini, “Descripción general de un microcontrolador: módulos de comunicación,” *CeTAD - Facultad de Ingeniería - UNLP*, 2011.
- [72] R. Coughlin and F. Driscoll, *Operational Amplifiers & Linear Integrated Circuits*. Prentice Hall, 1998.
- [73] T. Instruments, “Transimpedance amplifier circuit,” *Analog Engineer’s Circuit: Amplifiers*, 2019.
- [74] C.-Y. Shih, W. Li, S. Zheng, and Y.-C. Tai, “A resonance-induced sensitivity enhancement method for conductivity sensors,” in *SENSORS, 2006 IEEE*, pp. 271–274, 2006.
- [75] H. Zhang, Y. Yao, and Y. Shi, “Performance enhancement of interdigital electrode-piezoelectric quartz crystal (ide-pqc) salt concentration sensor by increasing the electrode area of piezoelectric quartz crystal (pqc),” *Sensors*, vol. 18, no. 10, 2018.
- [76] B. C. Baker, “How delta-sigma adcs work, part 1,” *Texas Instruments Incorporated*, 2011.
- [77] N. Cabrera, *Fundamentos de química analítica básica. Análisis cuantitativo*. Cuadernos de investigación (Universidad de Caldas): Ciencias exactas y naturales, Editorial Universidad de Caldas, 2007.

- [78] W. Wentworth and S. Ladner, *Fundamentos de química física*. Reverté, 1975.
- [79] A. Shrivastava, V. B. Gupta, *et al.*, “Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods,” *Chron. Young Sci*, vol. 2, no. 1, pp. 21–25, 2011.
- [80] Denovix, “Denovix qfx fluorometer vs. thermo fisher qubit™ fluorometer comparison,” 2019.
- [81] T. F. Scientific, “Rna/dna quantification,” 2022.