

Universidad Nacional de Ingeniería

Facultad de Ingeniería Eléctrica y electrónica



TESIS

**Diseño de un dispositivo 'read out' inalámbrico para procesar
potenciales redox con biosensores**

Para obtener el título profesional de Ingeniero Electrónico.

Elaborado por

Rodney Lopez Loja

 [0009-0007-5848-4692](https://orcid.org/0009-0007-5848-4692)

Asesor

Dr. Ing. Carlos Celestino Medina Ramos

 [0000-0001-9747-3928](https://orcid.org/0000-0001-9747-3928)

LIMA – PERÚ

2023

**DISEÑO DE UN DISPOSITIVO READ OUT INALÁMBRICO PARA PROCESAR
POTENCIALES REDOX CON BIOSENSORES**

DEDICATORIA

A mis padres, Euler Enrique y Mery Elizabeth, por su apoyo incondicional y constante durante cada etapa de mi vida, por brindarme sus consejos y guiarme por el camino correcto con valores sólidos e inquebrantables. Por ser mi ejemplo a seguir de perseverancia, respeto y disciplina.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional de Ingeniería, por haberme formado como un profesional de la ingeniería altamente capacitado. A los excelentes profesores, familiares, amigos y compañeros que me acompañaron a lo largo de la carrera.

A mi mentor y asesor el Dr. Ing. Carlos C. Medina Ramos, por toda la ayuda y soporte brindados a lo largo del desarrollo de esta tesis de investigación, asimismo, por la paciencia que ha tenido para resolver cada duda que he tenido durante la redacción de la misma. A mi consejero en Microbiología y Biología Molecular el Dr. Rafael Tapia Limonchi, por su guía y apoyo constantes en el área biológica y electroquímica, que sin duda me hicieron crecer a nivel profesional y humano.

A todos mis amigos del Instituto de Enfermedades Tropicales de la UNTRM, por su apoyo y compañerismo durante el desarrollo de mi Tesis, las largas horas de trabajo y las amanecidas requeridas para poder concluir la. A los doctores Juan Tejedo Huamán y Stella Chenet Carrasco por sus consejos, paciencia y apoyo.

RESUMEN

En la presente Tesis se describe el diseño de un sistema basado en la teoría de mediciones voltamperimétricas, con capacidad de operar con microfluidos y detectar material de ADN a bajas concentraciones, en condiciones de corrientes débiles. Adicionalmente, se comprobó que el dispositivo *read out* tiene la capacidad de establecer una comunicación eficiente con la nube (Cloud) para la administración de los datos que genere con cada lectura.

En este desarrollo se usaron amplificadores operacionales de instrumentación, así como otros elementos de precisión, según los requerimientos en las etapas del circuito. Asimismo, se implementó un algoritmo en lenguaje Python en el IDE Visual Studio Code, sobre una placa Raspberry Pi 4B+, la cual incorpora un módulo de comunicación Wi-Fi.

Al usar el dispositivo en la detección de analitos biológicos, se ha sometido a pruebas con sondas basada en ADN. Las lecturas de voltametría cíclica muestran la capacidad del dispositivo para expresar la dinámica I/V de moléculas biológicas. Adicionalmente, el dispositivo se puede utilizar en biosensores que permitan discriminar cambios biológicos, con o sin patógenos; pero, se debe utilizar en ambientes con la bioseguridad pertinente.

Palabras clave. – *Read out, potencióstato, electrodo serigrafado, ADN, Raspberry Pi, voltametría cíclica, Python, nube.*

ABSTRACT

This Thesis work describes the design of a system based on the theory of voltammetric measurements, with the ability to work with microfluidics and detect DNA material at low concentrations, under weak current conditions. In addition, it was proved that the read-out device has the capacity to establish an efficient communication with the Cloud for the management of the data generated with each reading.

For the work, instrumentation class operational amplifiers were used, as well as other precision elements, according to the requirements of the circuit stages. Additionally, an algorithm in Python language was used in the IDE Visual Studio Code, on a Raspberry Pi 4B+ board, which incorporates a Wi-Fi communication module.

When using the device in the detection of biological analytes, it was tested with DNA-based probes. Cyclic voltammetry readings showed the device's ability to express the I/V dynamics of biological molecules. Moreover, the device can be used in biosensors to discriminate biological changes, with or without pathogens; but, it must be operated in biosecure environments.

Keywords. – *Read out, potentiostat, screen printed electrode, DNA, Raspberry Pi, cyclic voltammetry, Python, cloud.*

ÍNDICE

RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
PRÓLOGO	1
CAPÍTULO I	
INTRODUCCIÓN	3
1.1. Generalidades	3
1.2. Descripción del problema de investigación.....	3
1.2.1. Problema General	4
1.2.2. Variables	5
1.2.3. Problemas Específicos	5
1.3. Objetivos de la Investigación.....	5
1.3.1. Objetivo General	6
1.3.2. Objetivos Específicos	6
1.4. Hipótesis de la Investigación	6
1.4.1. Hipótesis General	6
1.4.2. Hipótesis Específicas	6
1.5. Operacionalización de las variables	7
1.6. Antecedentes de la investigación	7
1.6.1. Antecedentes Nacionales	7

1.6.2. Antecedentes Internacionales.....	8
CAPÍTULO II	
MARCO HISTÓRICO Y FILOSÓFICO DE LA INVESTIGACIÓN.....	14
2.1. Marco Histórico.....	14
2.1.1. Desarrollo del método de la Polarografía.....	15
2.1.2. El potencióstato.....	16
2.1.3. Biosensores.....	17
2.2. Marco Filosófico.....	18
2.2.1. Base Filosófica.....	18
2.2.2. Finalidad Humanística de la Investigación.....	19
2.2.3. Controversias sobre el Humanismo y la Tecnología.....	19
CAPÍTULO III	
MARCO TEÓRICO.....	21
3.1. Bases teóricas del procesamiento de potenciales redox con biosensores, como variable dependiente.....	21
3.1.1. Electroquímica.....	21
3.1.2. Biosensores Electroquímicos.....	22
3.1.3. Técnicas Electroquímicas de Medida.....	23
3.2. Bases teóricas del dispositivo read out, como variable independiente.....	34
CAPÍTULO IV	
MARCO CONCEPTUAL.....	49
CAPÍTULO V	
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	53
5.1. Tipo, nivel y diseño de la investigación.....	53
5.1.1. Tipo.....	53

5.1.2. Nivel	53
5.1.3. Diseño	54
5.2. Ingeniería del Trabajo de Investigación	54
5.2.1. Especificaciones generales.....	54
5.2.2. Sistema analógico.....	64
5.2.3. Sistema digital.....	75
5.2.4. Sistema de alimentación	91
5.3. Metodología de la investigación	94
CAPÍTULO VI	
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	119
6.1. Introducción.....	119
6.2. Contratación de Hipótesis	124
6.2.1. Hipótesis General	124
6.2.2. Hipótesis específicas.....	126
CONCLUSIONES	131
RECOMENDACIONES	132
BIBLIOGRAFÍA	133
ANEXO A MATRIZ DE CONSISTENCIA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN “DISEÑOS DE UN DISPOSITIVO ‘READ OUT’ INALÁMBRICO PARA PROCESAR POTENCIALES REDOX CON BIOSENSORES”.....	140
ANEXO B DIAGRAMA ESQUEMÁTICO Y DE PLACA DEL DISPOSITIVO READ OUT	141
ANEXO C CUADRO DE COEFICIENTES PARA EL FILTRO PASA BAJAS BUTTERWORTH	142

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 5.1: Rangos de operación de los parámetros de la voltametría cíclica.....	56
TABLA N° 5.2: Características y especificaciones de la Raspberry Pi 4 modelo b.....	58
TABLA N° 5.3: Características y especificaciones del MCP4725.....	59
TABLA N° 5.4: Características y especificaciones del ADS1115	60
TABLA N° 5.5: Valores de ganancia programable y escala de conversión del ADC.....	61
TABLA N° 5.6: Datos de calibración del DAC	82
TABLA N° 5.7: Datos de calibración del ADC	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1.1: Diagrama del sistema con la respuesta electroquímica del dispositivo detectando glucosa basado en un microsensar.....	9
Fig. 1.2: Diagrama de bloques del detector electroquímico.....	11
Fig. 1.3: Diagrama de bloques del sistema potenciostato inalámbrico.....	13
Fig. 2.1. Fragmento de la cinta cinematográfica “The Physician” (2013).....	19
Fig. 3.1: Esquema de un analizador de potencial redox.....	22
Fig. 3.2: Estructura de la doble capa.....	27
Fig. 3.3: Representación de la Celda Electroquímica de dos electrodos	28
Fig. 3.4: Representación esquemática de una Celda Electroquímica de 3 Electrodos.	29
Fig. 3.5: Clasificación de los métodos electroquímicos.....	30
Fig. 3.6: Gráficas características de la voltimetría de barrido lineal. (a) Potencial aplicado en función del tiempo, (b) Voltograma de barrido lineal	31
Fig. 3.7: Gráficas de la voltimetría cíclica. (a) Potencial aplicado en función del tiempo, (b) Voltograma cíclico.....	31
Fig. 3.8: Gráficas de la SWV. (a) Potencial aplicado en función del tiempo, (b) Voltograma de SWV	33
Fig. 3.9: Diagrama de un Potenciostato conectado a un electrodo serigrafado.....	34
Fig. 3.10: Vista de una celda electroquímica de tres electrodos como una red de impedancias	35
Fig. 3.11: Diagrama básico de un Potenciostato	36
Fig. 3.12: Amplificador de instrumentación basado en 3-op amp.....	37
Fig. 3.13: Raspberry Pi 4 modelo b	39

Fig. 3.14: Especificación de las características de transmisión de un filtro pasa bajo	40
Fig. 3.15: Etapas para filtros de orden superior.....	41
Fig. 3.16: Respuesta de filtro Butterworth para diferentes n.....	42
Fig. 3.17: Localización de los polos de la función de Butterworth para diferentes grados, las raíces ubicadas en el semi plano izquierdo pertenecen a los polos del filtro correspondiente	43
Fig. 3.18: Arquitectura Sallen-Key general de filtro Pasa Bajo	44
Fig. 3.19: Filtro Pasa Bajo Sallen-Key de ganancia unitaria	45
Fig. 3.20: Conversor DAC con referencia externa	46
Fig. 3.21: DAC de 1 bit como un interruptor de cambio	46
Fig. 3.22: Diagrama de bloques secuencia de conversión analógica a digital.	47
Fig. 5.1: Diagrama de bloques del sistema general.	55
Fig. 5.2: Raspberry Pi 4 modelo b y sus elementos.....	57
Fig. 5.3: Convertidor D/A MCP4725.....	60
Fig. 5.5: Convertidor de tensión CMOS ICL7660.....	62
Fig. 5.6: Amplificador operacional de clase instrumentación AD620.....	62
Fig. 5.7: Amplificador operacional con entrada J-FET TL081.	63
Fig. 5.8: Resistencia de precisión de 5 franjas.	63
Fig. 5.9: Capacitores cerámicos de diferentes valores de capacitancia.	64
Fig. 5.10: Diodo Zener de 3.3 V, 0.5 W.....	64
Fig. 5.11: Diagrama de bloques en cascada Filtro Pasa bajas de cuarto orden.	65
Fig. 5.12: Diagrama esquemático del Filtro Pasa Bajos.	67
Fig. 5.13: Respuesta en magnitud del Filtro Butterworth Pasa Bajos.	67
Fig. 5.14: Respuesta en magnitud del Filtro Pasa Bajos, valor obtenido en dB para la frecuencia de corte establecida.	68
Fig. 5.15: Circuito esquemático del amplificador sumador.	68

Fig. 5.16: Acondicionamiento de la señal de tensión.	69
Fig. 5.17: Diagrama esquemático del circuito de control de tensión del potencióstato.....	70
Fig. 5.18: Diagrama esquemático del circuito amplificador de transimpedancia.	72
Fig. 5.19: Curva del diodo Zener para el sistema potencióstato	73
Fig. 5.20: Flujo de Trabajo general.....	76
Fig. 5.21: Software de configuración de herramientas de la Raspberry Pi	78
Fig. 5.22: Lista de Opciones de protocolos de comunicación de la Raspberry Pi.....	78
Fig. 5.23: Dirección IP asignada a la Raspberry Pi	79
Fig. 5.24: Conexión remota con la Raspberry Pi mediante comandos SSH	79
Fig. 5.25: Activación correcta de la Interfaz I ² C	80
Fig. 5.26: Dirección de interfaz I ² C asignada al DAC MCP4725	80
Fig. 5.27: Dirección de interfaz I ² C asignada al ADC ADS1115	81
Fig. 5.28: Conexiones externas a la Raspberry Pi	85
Fig. 5.29: Diagrama de flujo de la Voltametría Cíclica	86
Fig. 5.30: Diagrama de flujo del proceso triangular_wave	86
Fig. 5.31: Proceso write_data	87
Fig. 5.32. Baterías de 6 V para suministro de energía a los amplificadores operacionales .	91
Fig. 5.33. Diagrama esquemático del IC ICL7660 para la obtención de 5 V negativos.....	92
Fig. 5.34. Asignación de pines a usar en la Raspberry Pi 4 modelo b.....	92
Fig. 5.35: Fuente de alimentación para la placa Raspberry Pi 4	93
Fig. 5.36: Placa electrónica del potencióstato	94
Fig. 5.37: Partes del Electrodo Serigrafiado de Oro	94
Fig. 5.38: Partes del Electrodo Serigrafiado de Oro	95
Fig. 5.39: Buffer de inmovilización.....	96
Fig. 5.40: Sonda Universal.....	97

Fig. 5.41: TCEP HCl.....	97
Fig. 5.42: Mercapto Hexanol.....	98
Fig. 5.43: Pipetas de precisión para microvolúmenes.....	98
Fig. 5.44: Cable adaptador para el SPE de oro.....	99
Fig. 5.45: Diagrama esquemático de la celda muda	100
Fig. 5.46: Celda de prueba para validación de dispositivo de read out	100
Fig. 5.47: Procedimiento de caracterización electroquímica al SPE	101
Fig. 5.48: Agitación de la solución TCEP + USL	102
Fig. 5.49: Electrodo cubiertos por el buffer IB	102
Fig. 5.50: Secado de los electrodos en la incubadora	103
Fig. 5.51: Sistema de read out durante los ensayos experimentales	104
Fig. 5.52: Curva voltamétrica de validación del dispositivo read out	105
Fig. 5.53: Fig. típica de respuesta de la Raspberry Pi a un proceso voltamétrico.....	106
Fig. 5.54: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220BT; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro, y la inferior a la respuesta de corriente.....	107
Fig. 5.55: Curva voltamperimétrica cíclica con ácido sulfúrico para el SPE 220BT. Se superponen los 10 ciclos vistos en la Fig. 5.54	107
Fig. 5.56: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220AT; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro, y la inferior a la respuesta de corriente.....	108
Fig. 5.57: Curva voltamperimétrica cíclica con ácido sulfúrico para el SPE 220AT. Se superponen los 10 ciclos vistos en la Fig. 5.56	108
Fig. 5.58: Curva voltamperimétrica cíclica con ácido sulfúrico para el SPE 220BT del dispositivo de referencia.....	109
Fig. 5.59: Curva voltamperimétrica cíclica con ácido sulfúrico para el SPE 220AT del dispositivo de referencia.....	110

Fig. 5.60: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220BT con Buffer IB; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro y la inferior a la respuesta de corriente.....	111
Fig. 5.61: Curva voltamperimétrica cíclica con Buffer IB para el SPE 220BT. Se superponen los tres ciclos vistos en la Fig. 5.60.....	112
Fig. 5.62: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220AT con Buffer IB; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro y la inferior a la respuesta de corriente.....	112
Fig. 5.63: Curva voltamperimétrica cíclica para el SPE 220AT. Se superponen los tres ciclos vistos en la Fig. 5.62	113
Fig. 5.64: Curva voltamperimétrica cíclica con Buffer IB para el SPE 220BT del dispositivo de referencia.....	113
Fig. 5.65: Curva voltamperimétrica cíclica con Buffer IB para el SPE 220AT del dispositivo de referencia.....	114
Fig. 5.66: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220BT con Buffer IB+USL+MCH; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro, y la inferior a la respuesta de corriente.....	114
Fig. 5.67: Curva voltamperimétrica cíclica para el SPE 220BT. Se superponen los tres ciclos vistos en la Fig. 5.66.	115
Fig. 5.68: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220AT con Buffer IB+USL+MCH; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro y la inferior a la respuesta de corriente.....	115
Fig. 5.69: Curva voltamperimétrica cíclica para el SPE 220BT. Se superponen los tres ciclos vistos en la Fig. 5.68	116
Fig. 5.70: Curva voltamperimétrica cíclica con Buffer IB+USL+MCH para el SPE 220BT del dispositivo de referencia.....	116
Fig. 5.71: Curva voltamperimétrica cíclica con Buffer IB+USL+MCH para el SPE 220AT del dispositivo de referencia.....	117
Fig. 5.72: Imagen del Raspberry Pi al transmitir los datos a la nube	117

Fig. 5.73: Evolución de las señales en el proceso de transmisión Wi-Fi, confirmando la transmisión de todos los parámetros	118
Fig. 5.74: Opción de descarga de datos importados a la nube.	118
Fig. 6.1: Gráfica comparativa de magnitud de potencial para el pico de corriente de reducción del oro entre el dispositivo read out y el dispositivo de referencia	121
Fig. 6.2: Gráfica comparativa de magnitud del potencial de oxidación para el pico de corriente de con Buffer IB entre el dispositivo read out y el dispositivo de referencia.....	121
Fig. 6.3: Gráfica comparativa de magnitud del potencial de reducción para el pico de corriente con Buffer IB entre el dispositivo read out y el dispositivo de referencia	122
Fig. 6.4: Electrodo de trabajo de oro desde una SEM para distintos tipos de temperatura de tinta de curado	124
Fig. 6.5: Pico de corriente para el potencial de reducción del oro del dispositivo comercial de referencia	125
Fig. 6.6: Pico de corriente para el potencial de reducción del oro del dispositivo read out	126
Fig. 6.7: Respuesta del electrodo en forma de corriente a una excitación de potencial provista por el dispositivo potenciostato.....	127
Fig. 6.8: A) Inmovilización de la sonda universal de ADN (Target) en el electrodo oro. B) Reducción en el área de la curva voltamétrica al usar ADN (Target) en comparación con una muestra de control negativo (No Target).....	129
Fig. B.1: Diagrama esquemático del circuito potenciostato completo.	141
Fig. B.2: Diagrama de la placa del circuito potenciostato.	141
Fig. C.1: Coeficientes de los polinomios de Butterworth para filtros pasa bajas.....	142

LISTA DE ACRÓNIMOS

SPE:	Screen Printed Electrodes (Electrodos Serigrafiados)
WE:	Working Electrode (Electrodo de Trabajo)
CE:	Counter Electrode (Electrodo Auxiliar o Contraelectrodo)
RE:	Reference Electrode (Electrodo de Referencia)
CV:	Cyclic Voltammetry (Voltimetría Cíclica)
SWV:	Square Wave Voltammetry (Voltimetría de Onda Cuadrada)
ADC:	Analogue to Digital Converter (Convertidor Analógico a Digital)
DAC:	Digital to Analog Converter (Convertidor Digital a Analógico)
IC:	Integrated Circuit (Circuito Integrado)
I ² C:	Inter-Integrated Circuit (Circuito Inter-Integrado)
SCB:	Single Board Computer (Computadora de Placa Única)
IDE:	Integrated Development Environment (Entorno de Desarrollo Integrado)
API:	Application Programming Interface (Interfaz de Programación de Aplicaciones)
SSH:	Secure Shell (Intérprete de Órdenes Seguro)
HTTP:	Hypertext Transfer Protocol (Protocolo de Tranferencia de Hipertexto)
CC:	Corriente continua.
CA:	Corriente alterna.
GPIO:	General Purpose Input/Output (Entrada/Salida de Propósito General)
LAN:	Local Area Network (Red de Área Local)
SEM:	Scanning Electron Microscope (Microscopio Electrónico de Barrido)

PRÓLOGO

La presente Tesis se enfoca en el diseño de un dispositivo potencióstato basado en las técnicas electroquímicas voltamperimétricas; el cual se encarga de procesar y enviar las señales a una plataforma en la nube para la visualización de las curvas I/V requeridas para los estudios de diagnóstico y detección de virus, bacterias y/o la caracterización de sustancias y compuestos químicos.

Este trabajo tiene carácter multidisciplinario, ya que para su desarrollo fue necesaria la integración con otras áreas del conocimiento; tales como la electroquímica y la biología, para lo cual se trabajó con el asesor en ingeniería electrónica de la Facultad de Ingeniería Eléctrica y Electrónica (FIEE) UNI y el aporte de un consejero, especialista en biología molecular del Instituto de Enfermedades Tropicales de la UNTRM.

La presentación de la tesis guarda relación con el desarrollo de la metodología de la investigación y fue configurada conforme se indica a continuación.

En el capítulo I se describe la realidad problemática al tratar de obtener respuestas virales, bacteriológicas, y otras basadas en la electroquímica. En este sentido, la tesis metodológicamente contiene problemas, objetivos, e hipótesis específicas capaces de confirmar el objetivo e hipótesis general.

En el capítulo II se expone el marco histórico y filosófico de la investigación.

En los capítulos III y IV se presentan el marco teórico y el marco conceptual respectivamente, con las bases teóricas que sustentan la solución de los problemas general y específicos planteados; así como las definiciones de los términos de ingeniería más relevantes del trabajo.

En el capítulo V se presenta la metodología del trabajo de investigación, donde se especifica a detalle el diseño del dispositivo, así como los resultados de los ensayos experimentales.

En el capítulo VI se expone el análisis y discusión de resultados, así como la comprobación de las hipótesis de la investigación.

Finalmente, se analiza y discute los resultados obtenidos en las diferentes pruebas realizadas, mostrando la orientación hacia el mejor desarrollo de los circuitos y que la metodología utilizada en la evaluación de las muestras fueron adecuados para el logro de esta tesis. El reconocimiento de señal de moléculas biológicas también fue evidenciado.

Este trabajo se ha realizado en el Instituto de Enfermedades Tropicales (IET) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas bajo la consejería del Dr. Rafael Tapia Limonchi, y financiado por el proyecto de Prociencia (N° 016–Fondecyt–BM)

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades

La presente Tesis está enfocada en la construcción de un dispositivo ‘Read Out’, basado en potenciostato, para procesar potenciales redox con biosensores, tal dispositivo fue diseñado con un circuito analógico, que posee una fase de acondicionamiento de señal, la cual es recibida por la celda electroquímica, asimismo, tiene la capacidad de controlar la señal de voltaje que se envía hacia el SPE de oro y ejecuta la conversión de señales de corriente a tensión (convertor V/I), provenientes del Electrodo de Trabajo, con la finalidad de poder procesar y transformar las señales dentro del microprocesador. Adicionalmente, el sistema cuenta con un sistema embebido basado en la SCB Raspberry pi 4 modelo b, que se encarga de enviar la señal de voltaje hacia el circuito analógico, cumpliendo con la función de leer la señal de tensión proveniente del convertor V/I analógico, y posteriormente, mediante algoritmos de programación, transformar la tensión leída a un valor de corriente, con una resolución mínima de lectura de señales de corriente del orden de los 20 nanoamperios.

Finalmente, la placa Raspberry Pi se encarga de guardar los datos de tensión generada, corriente leída y el tiempo transcurrido en un archivo de extensión CSV, para luego enviar estos valores hacia la plataforma analítica ThingSpeak donde se obtiene y visualiza la curva Voltamperimétrica cíclica.

1.2. Descripción del problema de investigación

Las enfermedades infecciosas representan un problema importante para la salud pública, que afectan principalmente a las poblaciones más vulnerables que viven en zonas deprimidas y donde la falta de acceso a un diagnóstico rápido y oportuno puede generar retrasos en la toma de decisiones y aplicación de tratamientos eficientes. Este problema toma

relevancia en situaciones epidémicas de patógenos nuevos como aún lo es el virus Sars-Cov-2. Siendo igualmente de alto riesgo en brotes epidemiológicos, como los casos de difteria, influenza, y otros, en los que se requiere capacidades para la implementación de metodologías de diagnóstico que puedan ser prontamente implementadas y transferidas; de manera que sus resultados permitan desarrollar estrategias de control y prevención. En tal sentido, la principal problemática en lo que respecta al diagnóstico de enfermedades infecciosas es no contar con plataformas de diagnóstico altamente sensibles, rápidas, eficaces y de fácil acceso, con la exigencia de ser usadas a nivel nacional y particularmente en regiones remotas del país.

La emergencia sanitaria por COVID-19 ha mostrado que se cuenta con una baja capacidad de respuesta para desarrollar herramientas de diagnóstico frente a casos de brotes epidémicos. Siendo grave la dependencia extranjera para de los kits para ensayos y pruebas de diagnóstico eficaz, así como de pruebas serológicas rápidas que no necesariamente incluyen variantes de los patógenos regionales que circulan en Perú; en consecuencia, no son los ideales para realizar estudios de seroprevalencia y vigilancia.

Por lo expuesto, resulta urgente resolver la necesidad del país de centros especializados, con recursos humanos dedicados a la investigación y experiencia en este tipo de desarrollos tecnológicos, que conozcan la realidad del país, y que tengan la capacidad de implementar estas metodologías de tamizaje masivo para utilizarlas como herramientas eficaces de diagnóstico inmunológico. De esta manera se podrá fortalecer el diagnóstico en puntos de atención al paciente (POCs), y además serán capaces de dar una respuesta adecuada durante eventos de brotes epidémicos como el que se ha vivido en estos últimos años.

En lo particular, se requiere desarrollar elementos de diagnóstico de enfermedades en POCs como en la que está enfocada la presente investigación.

1.2.1. Problema General

Con base en lo expuesto en la descripción del Problema de Investigación, resulta importante el contar con dispositivos que brinden un apoyo al diagnóstico y detección de enfermedades en puntos de atención al paciente. Por lo tanto, se plantea:

¿De qué manera se relaciona el diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico con el procesamiento de los Potenciales Redox con biosensores?

1.2.2. Variables

Las variables de la presente investigación son:

Variable independiente.

- Dispositivo *read out* inalámbrico.

Variable dependiente.

- Potenciales redox con biosensores.

1.2.3. Problemas Específicos

Para resolver el problema general se plantea resolver una serie de problemas específicos que en conjunto contribuyen a explicar y solucionar el problema que se ha planteado como aspecto general en la presente investigación.

- ¿De qué manera el diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico se relaciona con el comportamiento iónico de los compuestos electroquímicos?
- ¿De qué manera el diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico influye en la capacidad de procesamiento de las variables electroquímicas obtenidos por biosensores?
- ¿De qué manera el diseño del dispositivo *read out* inalámbrico influye en la detección de la dinámica de secuencias nucleotídicas mediante el uso de biosensores?
- ¿De qué manera se validan los resultados obtenidos del diseño del dispositivo *read out* al procesar las variables electroquímicas mediante el uso de biosensores?

1.3. Objetivos de la Investigación

Con la finalidad de establecer las fases de la solución del problema planteado, se formulan los siguientes objetivos:

1.3.1. Objetivo General

Diseñar un dispositivo *read out* inalámbrico para el procesamiento de potenciales Redox con biosensores electroquímicos.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Identificar la dinámica iónica de las soluciones (ácidas, alcalinas y neutras) mediante el dispositivo *read out* inalámbrico.
- Diseñar el dispositivo *read out* inalámbrico para procesar las variables electroquímicas obtenidas mediante biosensores.
- Diseñar el dispositivo *read out* inalámbrico capaz de detectar la dinámica de las secuencias nucleotídicas mediante el uso de biosensores.
- Evaluar los resultados del dispositivo *read out* al procesar las variables electroquímicas mediante el uso de biosensores.

1.4. Hipótesis de la Investigación

En correspondencia con el objetivo general y los objetivos específicos, se formulan las siguientes hipótesis:

1.4.1. Hipótesis General

Con el diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico se procesan potenciales redox con biosensores electroquímicos.

1.4.2. Hipótesis Específicas

- Con el diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico se identifica la dinámica iónica de los compuestos electroquímicos usando biosensores.
- Con el diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico se influye significativamente en el procesamiento de las variables electroquímicas aplicando biosensores.
- Con el diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico se permite detectar la dinámica de las secuencias nucleotídicas mediante el uso de biosensores.

- Con la evaluación de los resultados obtenidos del dispositivo *read out* se valida el procesamiento de las variables electroquímicas mediante el uso de biosensores.

1.5. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
V1. Dispositivo <i>read out</i> Inalámbrico	1. Sistemas de Control de Parámetros	1. Tipos
	2. Sistemas de Adquisición de Señales	1. Límites de voltaje y corriente. 2. Relación S/N. 3. Normas.
	3. Sistemas de Transmisión de datos.	1. Tipos y Características. 2. Relación S/N. 3. Normas.
	4. Sistema de Visualización de gráficas.	1. Tipos y Características. 2. Normalización.
V2. Potenciales redox de ácidos nucleicos (en biosensores)	1. Dinámica iónica de los compuestos electroquímicos.	1. Potencial Redox. 2. Concentración de iones hidrógeno.
	2. Variables Electroquímicas obtenidas mediante el uso de biosensores.	1. Voltaje. 2. Amperaje.
	3. Dinámica de secuencias nucleotídicas obtenida por biosensores.	1. ADN de cadena simple. 2. Relación voltaje-corriente.

1.6. Antecedentes de la investigación

Una de las tareas de la ciencia médica y la ciencia electrónica es la de buscar respuestas a los múltiples problemas de salubridad que demanda la sociedad en los tiempos actuales, en tal sentido, se presenta los reportes de investigación más pertinentes al presente estudio.

1.6.1. Antecedentes Nacionales

“Diseño e implementación de un equipo portátil para ensayos electroquímicos de corrosión en campo” [1]

Resumen: Los investigadores propusieron la construcción de un equipo portátil basado en un potenciostato estándar. El equipo trabajó con una celda electroquímica de

corrosión de tres electrodos. Las tareas principales del potenciostato fueron: minimizar el ruido, tanto interno (generado en la celda y por los componentes a usar) como externo (inducido por campos electromagnéticos externos al equipo) y tener la capacidad de ser un sistema autónomo. En resumen, el sistema usó un microcontrolador local, una interfaz máquina-usuario basado en teclado, pantalla de cristal Líquido (LCD) y un módulo de comunicaciones basado en el protocolo RS-232.

Conclusiones: El diseño planteado cumple con los estándares ASTM (American Society for Testing and Materials), sin embargo, la precisión no es de las mejores, aunque los autores hayan querido justificar la pérdida de precisión en aras de la portabilidad. Además, el trabajo remarca que existen diferencias sustanciales entre las condiciones de trabajo en laboratorio y el campo. Los niveles de ruido alcanzaron valores de 0,2 mV p-p, equivalentes a 20 nA en la escala de medición más baja; sin embargo, en las pruebas de campo, el nivel de ruido alcanzó los valores de 0,8 mV p-p.

1.6.2. Antecedentes Internacionales

Miniaturised Electrochemical Analyser for Glucose Determination Based on Chitosan/GOD/Electroreduced Graphene Oxide Sensor” [2]

Resumen: Este trabajo tuvo como objetivo diseñar un analizador electroquímico miniaturizado (MEA) para la determinación de glucosa basado en la integración de quitosano (CS), glucosa oxidasa (GOD) y óxido de grafeno electro-reducido (e-RGO). El front-end analógico programable de bajo consumo LMP91000 y el microcontrolador STM32F103C8T6 se combinaron en el sistema de hardware del MEA. La función de potenciostato del sistema se realizó aplicando el potencial de ajuste en el sensor de tres electrodos. Al establecer la ganancia de transimpedancia, la corriente se puede obtener en un rango de 5 μA a 750 μA . La señal de voltaje se convirtió en la señal de corriente mediante un algoritmo para procesar los resultados experimentales. En la Fig. 1.1 se presenta un esquema gráfico del dispositivo.

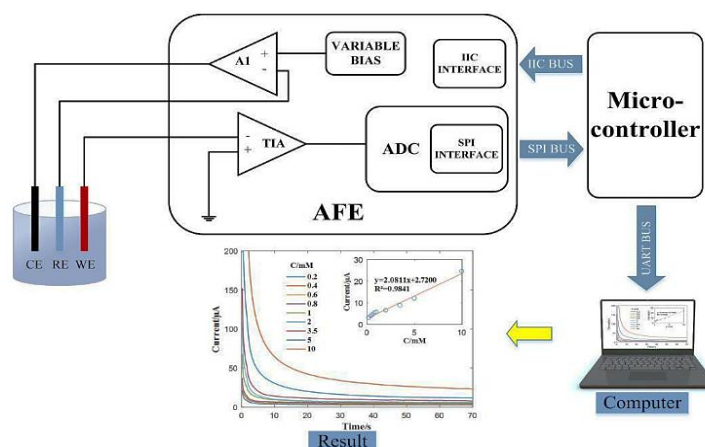


Fig. 1.1: Diagrama del sistema con la respuesta electroquímica del dispositivo detectando glucosa basado en un microsensor [2]

Conclusiones: Se realizaron experimentos crono-amperométricos utilizando el MEA y la estación de trabajo electroquímica. El coeficiente de correlación r de los dos dispositivos alcanzó el valor de 0.9696, lo que verificó la confiabilidad y precisión del dispositivo de detección. La sensibilidad del MEA fue de $169,32 \text{ mA/M}\cdot\text{cm}^{-2}$, y el LoD fue de $0,19 \text{ mM}$ con el cálculo de $3\delta/\text{pendiente}$. Además, GOD-CS/e-RGO/GCE mostró buenos resultados de análisis cuantitativo de glucosa en muestras de sudor artificial; en consecuencia, su aplicabilidad quedó debidamente probada.

“Development of Heavy Metal Potentiostat for Batik Industry” [3]

Resumen: Debido a la necesidad de implementar un sistema de monitoreo de aguas residuales en la fábrica de batik, se diseñó un potenciostato de metales pesados (HMstat). Mediante un diseño a escala de laboratorio, el HMstat consta de un componente de circuito de lectura de potenciostato analógico (PRCC) y un componente de señal de control digital (CSC). El PRCC se basa en componentes fáciles de usar integrados a un controlador NI-myRIO en un CSC. Para este caso, myRIO estaba equipado con componentes integrados de un convertidor analógico-digital (ADC) y un convertidor digital-analógico (DAC).

Conclusiones: La medición de ruido del HMstat fue inferior a 7 nA , y la precisión del HMstat fue superior al 95%. Estos resultados confirmaron que el HMstat está dentro de la tasa de precisión requerida en el estudio. El resultado de la detección mostró que el HMstat era capaz de detectar Cd^{2+} y Pb^{2+} , estos resultados se obtuvieron con voltajes de $-0,25$ y $-0,3 \text{ V}$, respectivamente; lo que concuerda con las respuestas de otros equipos en el mercado.

“Smartphone-based Differential Pulse Amperometry System for Real-time Monitoring of Levodopa with Carbon Nanotubes and Gold Nanoparticles Modified Screen-printing Electrodes” [4]

En esta investigación, los elementos de juicio más relevantes son los que a continuación se detallan:

Resumen: En este estudio, se desarrolló un sistema de detección electroquímica basado en teléfonos inteligentes para el monitoreo rápido de levodopa. El sistema involucró un sensor desechable, un detector electroquímico de mano y un teléfono inteligente con una aplicación diseñada para este fin. Se utilizaron nanotubos de carbono de pared simple y electrodos serigrafiados modificados con nanopartículas de oro para convertir y amplificar las señales de corriente electroquímica ante la presencia de moléculas de levodopa. Los detectores electroquímicos se utilizaron para generar señales de excitación electroquímica y la detección de las corrientes resultantes se realizó mediante una unidad de microcontrolador C8051f005, que controla el convertidor digital-analógico DAC8552 y el uso de un amplificador de transimpedancia OPA2349. La conexión de un teléfono inteligente al detector se utilizó para controlar el detector, calcular los datos y trazar el gráfico en tiempo real, cuya comunicación se realizó mediante el componente Bluetooth HC-06.

Conclusiones: Se desarrolló un sistema de amperometría de pulso diferencial basado en teléfonos inteligentes para el monitoreo en tiempo real de la levodopa. El electrodo serigrafiado se modificó con nanotubos de carbono de pared simple y nanopartículas de oro, que se conectó con el detector para la detección. El detector podría usarse para aplicar señales de excitación y detectar las corrientes resultantes, que estaba conectado al teléfono inteligente a través de Bluetooth. El teléfono inteligente podría usarse para transmitir comandos, calcular datos y trazar la curva. Los resultados mostraron que este sistema podía distinguir levodopa a una concentración tan baja como 0,5 μM . Todos estos resultados indicaron la alta sensibilidad y estabilidad del sistema. Por lo tanto, el sistema mostró un gran potencial en el campo de la POCT para ayudar a controlar la dosis clínica de levodopa.

“Open-Source Potentiostat for Wireless Electrochemical Detection with Smartphones” [5]

Resumen: Este artículo describe el diseño y caracterización de un “detector electroquímico inalámbrico universal” (UWED) de código abierto mediante el uso de

software y hardware Arduino. Este detector interactúa con un teléfono inteligente (o una tableta) utilizando el protocolo "Bluetooth Low Energy"; el teléfono inteligente proporciona: una interfaz de usuario para recibir los parámetros experimentales del usuario y visualizar el resultado en tiempo real, y un proxy para almacenar, procesar y transmitir los datos y los protocolos experimentales.

Conclusiones: Se demuestra la aplicación de UWED en las técnicas electroquímicas de potenciometría más utilizadas: cronoamperometría, voltamperometría cíclica y onda cuadrada voltamperometría, donde los resultados obtenidos por UWED son muy comparables a los obtenidos por un potenciostato de mesa comercial, aunque los rangos operativos de corriente eléctrica y voltaje del UWED ($\pm 1,5$ V, ± 180 μ A) son más limitados que la mayoría de estos.

“A wireless point-of-care testing system for the detection of neuron-specific enolase with microfluidic paper-based analytical devices” [6]

Resumen: Se desarrolló y verificó un sistema inalámbrico de pruebas en el punto de atención (POCT) con medición electroquímica para la detección de Enolasa Específica de Neuronas (NSE). El sistema POCT inalámbrico constaba de dispositivos analíticos de microfluidos basados en papel (μ PAD), un detector electroquímico que fue controlado por ARM STM32 y alimentado por batería o USB y un teléfono inteligente Android. La medición de la voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) se adoptó mediante un detector electroquímico que incluía un potenciostato y un convertidor de corriente a voltaje tal como se muestra en la Fig. 1.2. Los resultados de la detección se almacenaron automáticamente en la memoria EEPROM y se muestran en el teléfono inteligente Android a través de comunicación Bluetooth en tiempo real.

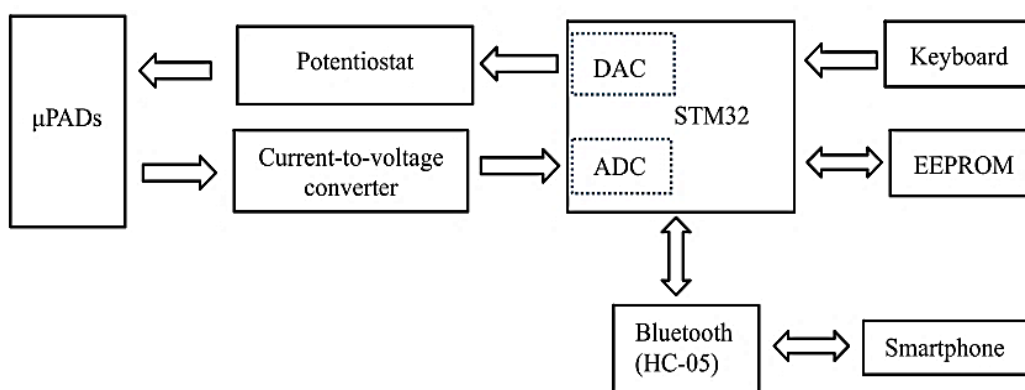


Fig. 1.2: Diagrama de bloques del detector electroquímico [6]

Resultados: Para verificar el rendimiento electroquímico del sistema POCT inalámbrico antes de la detección de NSE, se realizó una medición de DPV en un electrodo de oro desnudo para verificar el funcionamiento del sistema con 1 mM $K_3Fe(CN)_6$ tanto por Autolab PGSTAT302N como por el sistema POCT inalámbrico en el rango de voltaje de $-0,1$ V a $0,4$ V. El promedio de las respuestas de corriente DPV probadas por Autolab PGSTAT302N y el sistema POCT inalámbrico tres veces fue similar, excepto por las diferencias en las corrientes máximas. Los picos de corriente fueron $1,658 \mu A$ y $1,666 \mu A$, respectivamente. Las corrientes máximas diferían solo en 8 nA y los potenciales redox eran ambos de $0,160$ V.

Conclusiones: Los resultados de detección mostraron que la respuesta a la corriente DPV de diferentes concentraciones de NSE mostró una buena linealidad en el rango de concentración de 1 ng mL^{-1} a 500 ng mL^{-1} con el LOD de 10 pg mL^{-1} con la obtención de un coeficiente de correlación de $0,997$. Los resultados de la detección se mostraron en el teléfono inteligente a través de Bluetooth en tiempo real. A través de la medición del contraste, los resultados medidos tuvieron una buena correlación entre el sistema POCT inalámbrico y la estación de trabajo electroquímica comercial Autolab. El sistema POCT inalámbrico tuvo un rendimiento similar al de Autolab. En la aplicación clínica, el sistema POCT inalámbrico también mostró una concordancia aceptable con el método ELISA para muestras de suero humano.

“Towards a Sweat-based Wireless and Wearable Electrochemical Sensor” [7]

Resumen: Se desarrolló la interfaz electrónica para su uso con biosensores adheridos a la piel. Con el propósito de leer las concentraciones de lactato del electrodo, los investigadores presentan el diseño de un circuito miniaturizado para realizar voltamperometría cíclica (CV) para posteriormente transmitir los resultados de forma inalámbrica, mediante el uso de un circuito integrado potencióstato (LMP91000 de Texas Instruments) para introducir una polarización de voltaje entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia, además de generar un voltaje análogo a la corriente a través de los electrodos utilizando el amplificador de transimpedancia incorporado (TIA) junto al uso del convertidor analógico-digital ADS1115 con capacidad de transmisión vía Bluetooth. El sistema funciona con una pequeña batería de polímero de litio de 100 mAh; para obtener el rango de barrido deseado de $-1,2$ V a $1,2$ V, se usó un convertidor elevador de voltaje para aumentar el voltaje regulado de la batería de 3 V a 5 V.

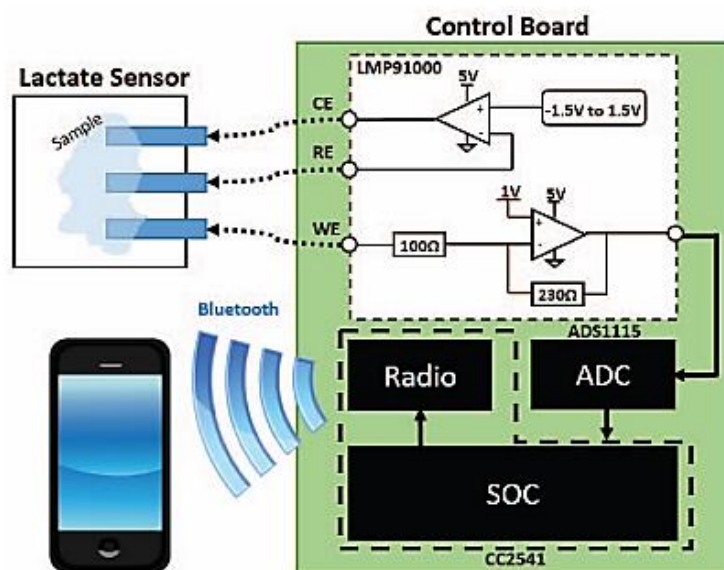


Fig. 1.3: Diagrama de bloques del sistema potenciostato inalámbrico [7]

Resultados: El consumo total de energía del sistema inalámbrico personalizado fue de poco menos de 8 mW, lo que permite un tiempo de ENCENDIDO constante de más de 36 horas con una batería de 100 mAh. El sistema en chip consumió 7,5 mW de la potencia total; el potenciostato 39 μ W y el ADC 0,45 mW. Se realizó un estudio voltamétrico cíclico inicial para establecer la respuesta de referencia del sistema inalámbrico en una muestra de solución salina tamponada con fosfato (PBS) (0.1M, pH = 7.4). La forma del pico obtenido de los voltamogramas cíclicos ilustra de forma correcta el voltamograma cíclico electroquímico clásico de Nernst esperado para el par redox reversible. Con el aumento de la velocidad de escaneo, la magnitud de la corriente máxima aumenta y los picos del potencial redox se amplían y separan.

Conclusiones: Se presenta un sistema que puede realizar voltamperometría cíclica inalámbrica desde -1,2 V a 1,2 V a velocidades de escaneo de 10 mV/s a 500 mV/s y ha mostrado adecuada linealidad en los picos de corriente medidos en PBS a velocidades variables. Además, se ha demostrado la linealidad del sistema entre los estados estacionarios de concentraciones variables de lactato al fijar el voltaje donde se observaron estos picos de corriente. En comparación con el potenciostato de sobremesa, el potenciostato portátil exhibió un rendimiento comparable.

CAPÍTULO II

MARCO HISTÓRICO Y FILOSÓFICO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco Histórico

El desarrollo de nuevas tecnologías y métodos aplicados al sector salud, cuya finalidad es la de brindar mejor calidad de vida al ser humano y hacer frente a las enfermedades de distinta procedencia, han sido el eje central en la búsqueda del conocimiento de la humanidad. En el presente caso, se estudia el uso de las técnicas de medición electroquímica en biosensores, realizadas actualmente a través del dispositivo electrónico conocido como potencióstato, que ha demostrado gran potencial en el ámbito del diagnóstico y detección de enfermedades, razón por la que se exponen los aspectos relevantes de su avance y sus aportes a la salud.

A continuación, se presentan las investigaciones más relevantes sobre los estudios iniciales relacionados con las curvas de corriente-voltaje.

History of Electroanalytical Methods realizada por Lubert Karl-Heiz y Kurt Kalcher, en este trabajo se menciona que los primeros estudios sobre las curvas corriente-voltaje (IV) en electrodos polarizables fueron publicados por Ernst Salomon, en 1896. Posteriormente describió el cálculo y la confirmación experimental de las curvas IV, encontrando la dependencia de la concentración de la corriente residual y verificando su utilización analítica [8].

En años posteriores, Walther Nernst y Edmund Sawyer Merriam, en su artículo “Zur Theorie des Reststroms”, reportaron curvas CV en electrodos en soluciones agitadas y encontraron que la corriente residual en estas soluciones corresponde a la corriente de difusión. Además, estudiaron los cambios de corriente durante la neutralización de ácidos con bases y observaron el curso de las curvas de titulación cerca del punto final. Adicionalmente, Ernst Brunner introdujo el término “Grenzstrom” (corriente límite) que tiene suma importancia para las determinaciones polarográficas, voltamétricas y

amperométricas. Los estudios de Nernst y sus colaboradores establecieron los fundamentos para el análisis amperométrico y voltamperométrico en electrodos estacionarios.

Voltammetry with stationary microelectrodes of Platinum Wire, fue realizado por Izaak Maurits Kolthoff y Herbert August Laitinen, se introdujo el término voltamperometría, los autores escribieron en su artículo: “Introducimos la palabra voltamperometría para designar la parte de la electroquímica que se ocupa de manera bastante general de la determinación e interpretación de las curvas corriente-voltaje” [9].

2.1.1. Desarrollo del método de la Polarografía

Polarografía es el método analítico basado en las mediciones de potencial de corriente en celdas electroquímicas, y que da fundamentos para el desarrollo de la técnica del potencióstato. En esta técnica, la señal analítica es la corriente del tipo faradaica, que fluye a través de la celda en el transcurso de tiempo que toma lugar la reacción del analito en el electrodo de trabajo con una superficie pequeña; el analito puede ser un catión, un anión o una molécula [10]. El fundador de la polarografía, Jaroslav Heyrovsky, introdujo el llamado dropping mercury electrode como electrodo de trabajo.

En la publicación en *Electrochemistry, Past and Present* (Eds. J. T. Stock, M. V. Orna), ACS Symposium Series, No. 390, American Chemical Society, a principios de 1922, Heyrovsky trató de medir la corriente que pasaba por la celda cuando el dropping electrode estaba polarizado a varios potenciales con respecto al potencial de la capa de mercurio en el fondo de la celda. Se dio cuenta de que, si bien la curva electro capilar idealmente proporcionaría información termodinámica sobre la energía superficial del mercurio, las curvas corriente-voltaje reproducibles podrían proporcionar información sobre la cinética de varios procesos de electrodos [11]. El electrodo consta de un capilar hecho de vidrio fabricado con paredes gruesas, desde el cual el mercurio cae a la solución de muestra bajo condiciones de presión de 1 atm. Heyrovsky, en su artículo *Electrólisis con el cátodo de mercurio de caída*, publicado en 1922, llamó polarogramas a las curvas de corriente-potencial registradas e introdujo el término polarografía [10].

En 1924, para acelerar el trazado de las curvas corriente-voltaje, Heyrovsky y Shikata diseñaron un aparato automático que aumentaba continuamente el voltaje aplicado a los electrodos, y simultáneamente proporcionaba un registro fotográfico de la corriente a medida que cambiaba con el voltaje cambiante. El aparato se introdujo para registrar el curso de la

polarización electroquímica del electrodo de mercurio de caída, el electrodo idealmente polarizable y, por lo tanto, se lo llamó "polarógrafo", y fue el primer instrumento analítico automatizado [11]. Jaroslav Heyrovsky fue condecorado con el premio Nobel de Química debido a su descubrimiento y al desarrollo de los métodos de análisis polarográficos en 1959.

2.1.2. El potencióstato

En relación con la instrumentación para obtener las curvas IV, denominado potencióstato, se presentan las investigaciones que han influido decididamente en el desarrollo de la técnica.

Studies in Electrode Polarization realizada por A. Hickling en 1941, se establecieron los primeros fundamentos de diseño del primer dispositivo potencióstato para tres electrodos, cuya función era mantener el potencial del electrodo de trabajo en un valor regular y continuo con respecto a un electrodo de referencia apropiado e independientemente de los cambios en el electrolito y en el contraelectrodo; el estudio se realizó para la aplicación de la electrólisis en una celda electrolítica [12].

Bibliography of Potentiostat Design, esta investigación de D. R. Gabe menciona que muchos de los primeros circuitos del potencióstato usaban amplificadores que se ensamblaban a partir de los componentes electrónicos individuales (resistencias, condensadores y tubos de vacío) y, por lo tanto, eran muy limitados en especificaciones y capacidad, especialmente en términos de corriente de salida; algunos de los primeros potencióstatos usaban mecanismos servo-mecánicos, lo que significaba que, si bien podían suministrar grandes corrientes de salida, su respuesta era muy lenta. Dado que gran parte del interés inicial se centró en el electroanálisis, no se presentó la necesidad de instrumentos tan versátiles y, por lo tanto, fueron suficientes los métodos servo-mecánicos [13].

Product Review: The Potentiostat: Electrochemistry's Utility Player realizada por James Smith y Vicki Hinson-Smith se menciona que la tecnología digital moderna ha permitido a los diseñadores de instrumentos comercializar una variedad de potencióstatos robustos y fáciles de usar para muchas aplicaciones diversas. Por ejemplo, los estudios electroquímicos de celdas individuales han utilizado microscopía electroquímica de barrido con potencióstatos que tienen sensibilidad del orden de los picoamperios, mientras que algunos estudios de corrosión requieren de un potencióstato con una capacidad de 10 amperios [14].

En el artículo **Point-of-Care Smartphone-based Electrochemical Biosensing** realizado por **Alexander C. Sun** y **Drew A. Hall** se llevó a cabo una revisión de los biosensores de Puntos de Atención al paciente (PoC) a través del uso de los teléfonos inteligentes que permiten la utilización de transductores miniaturizados y económicos cuya comunicación se realiza a través de los puertos periféricos del dispositivo (USB, conector para auriculares de audio) o de forma inalámbrica mediante el uso de la comunicación Bluetooth. Además, los dispositivos cuentan con la implementación de varias técnicas electroquímicas, como amperometría, potenciometría y espectroscopía de impedancia [15].

2.1.3. Biosensores

En la técnica del potencióstato tiene gran importancia la geometría del sensor y el material del que está fabricado; tal como se detalla en las investigaciones siguientes.

Nikhil Bhalla et al, en su artículo **Introduction to biosensors** mencionan que: “la historia de los biosensores se remonta al año 1906, cuando Max Cremer demostró que la concentración de un ácido en un líquido presenta una relación directa al potencial eléctrico que surge entre partes del fluido ubicadas en lados contrarios de una membrana de vidrio. Sin embargo, se considera que el primer biosensor fue desarrollado por Leland C. Clark en el año 1956 con el objetivo de detectar oxígeno; a Clark se le conoce como el "padre de los biosensores", por tal motivo, su invención del primer biosensor lleva su nombre: "Electrodo de Clark" [16]. En 1962 Clark demostró la detección de glucosa mediante el uso de un electrodo enzimático amperométrico, tal innovación fue seguida en 1969 por el desarrollo del primer biosensor potenciométrico, realizado por Guilbault y Montalvo, con el objetivo de detectar urea. Finalmente, en 1975, el primer biosensor comercial fue desarrollado por Yellow Springs Instruments (YSI) [16].

Actualmente, el campo de los biosensores es un área de investigación multidisciplinaria que une los principios de las ciencias básicas, que abarcan áreas como física, química y biología, con los fundamentos de la micro tecnología, nanotecnología, medicina aplicada y la electrónica. En la revisión de **Jazib Ali et al.** titulada “**Biosensors: Their Fundamentals, Designs, Types and Most Recent Impactful Applications: A Review**” se realiza un estudio de los biosensores de los últimos años, que se basan en el fenómeno de las interacciones a nivel molecular que se emplean de diversas formas y a diversas escalas. Por ejemplo, en las aplicaciones biomédicas, debido al creciente número

de personas afectadas por la diabetes mellitus cada año, la demanda de tecnologías de detección de glucosa ha incrementado, lo cual ha llevado al desarrollo de biosensores que utilizan enzimas específicas de la glucosa y nanopartículas como medio de detección [17].

Asimismo, en la ingeniería de tejidos los biosensores cumplen un rol importante, como la fabricación de “chips específicos para órganos” y el mantenimiento de la integridad y configuración 3-D de los cultivos celulares en el medio. Los autores también destacan el uso de biosensores especificados por ADN para el diagnóstico genético y la codificación de ADN, su uso en el medioambiente para la detección de agentes nocivos para los seres humanos y sus aplicaciones en la industria alimentaria, como la detección de patógenos fúngicos y monitoreo de bacterias [17].

Finalmente, podemos anotar que las necesidades de analizar sustancias biológicas y e inorgánicas, han impulsado al desarrollo de estas tecnologías.

2.2. Marco Filosófico

Se exponen los motivos que justifican el desarrollo de la investigación desde la perspectiva de la filosofía de la ciencia.

2.2.1. Base Filosófica

La base filosófica de la presente investigación es el humanismo; porque se presenta como una respuesta a las consecuencias de un mal diagnóstico de enfermedades endémicas a las personas en el mundo. Sobre el particular, en el artículo “*Philosophy of authentic humanism: The only way of curbing conflict and violence* de Eugene Anowai” [18] se precisa que el humanismo es una postura política, filosófica y ética que enfatiza el valor de los seres humanos. Su objetivo final es el bienestar humano; mejorando la vida. Por ello, en esta tesis se postula como criterio general hacer el bien y vivir bien en el aquí y ahora. De esta manera se dejaría el mundo como un mejor lugar para las próximas generaciones.

2.2.2. Finalidad Humanística de la Investigación

En el presente trabajo se plantea el diseño de un dispositivo *read out* que permitirá un diagnóstico efectivo de enfermedades. En tal sentido, el norte es aportar a la optimización de los servicios de salud en materia de detección de enfermedades, sobre todo en lugares remotos y con carencia de personal calificado para la realización de un diagnóstico efectivo y fiable. En concordancia con lo anotado, el autor *E. Schiappacasse* en su investigación *Humanismo y Medicina*, indica que “el objetivo principal de la Medicina es atender al hombre enfermo y, en consecuencia, el conocimiento del hombre constituye la base del saber médico; y la relación médico paciente es el acto esencial para procurar el bien del paciente. En consecuencia, si el acto médico no se orienta a este fin, la Medicina se "deshumaniza" y el hombre es cosificado.” [19]

Al respecto podemos anotar que en el nacimiento de los primeros hospitales llamados *Madrasa* y los médicos denominados *Hakím* el paciente era consultado con respeto y reverencia para ser auscultado; según se ve en las imágenes de la Cinta Cinematográfica *The Physician*; sin embargo, en muchos países, la salud se ha convertido en un negocio y el paciente en un elemento estadístico; por ello en este trabajo se busca acercar de manera eficaz al paciente con soluciones viables y de bajo costo sin eludir un elevado nivel tecnológico.



Fig. 2.1. Fragmento de la cinta cinematográfica “*The Physician*” (2013).

2.2.3. Controversias sobre el Humanismo y la Tecnología

La aplicación de los dispositivos electrónicos *read out* inalámbricos para mejorar el diagnóstico y detección de enfermedades endémicas infecciosas mediante el uso de técnicas electroquímicas a nivel molecular, involucran al investigador en el espíritu humanista; cuya

finalidad es abordar una posición que apoye la solución de la discusión generada entre el uso de la tecnología y las consecuencias que su uso ocasiona sobre el hombre, con el anhelo de que el acuerdo y equilibrio de estos elementos sea el pilar de tecnología y los valores humanos. Profundizando en la perspectiva del respeto a los valores humanos y la tecnología, *José Cepeda* en su artículo *Humanismo, salud y tecnologías de acercamiento*, indica que la relación entre la tecnología y el humanismo no ha expuesto precedentes positivos; relata que “durante la segunda mitad del siglo XX se comenzó a hablar de una cierta deshumanización en la asistencia sanitaria, atribuida en gran parte al imparable avance de la tecnología en el ámbito de la salud y la hiper especialización de los profesionales. Indudablemente estas situaciones han contribuido a la mejora de la salud de las personas, pero del mismo modo han incidido en una pérdida de la visión integral del ser humano, hacia una fragmentación de la asistencia, de tal modo que el modelo biomédico no está orientado al tratamiento de las personas, sino de las enfermedades” [20]. Sin embargo, el autor enfatiza que, así como cualquiera otra herramienta, la tecnología no tiene una razón para ser negativa en sí misma, sino que la visión del uso de esta está ligada principalmente al contexto en el que se encuentra y a la utilización que haga el hombre de ella; por lo tanto, se debe tomar importancia del uso de la tecnología y el contexto en el que se la usa, mas no de la tecnología misma. Asimismo, expone que “existen otros factores que han contribuido a la deshumanización y han generado impacto en la relación de pacientes y médicos, añadiendo barreras y aumentando las distancias entre ambas partes. Dentro de tales factores se identifican factores que involucran aspectos sociales, aspectos organizativos e institucionales, además de factores asistenciales y formativos.” [20]

Uno de los propósitos de este trabajo es conocer el riesgo que puede conllevar una incorrecta detección y/o diagnóstico de una enfermedad endémica, principalmente a las poblaciones más susceptibles que viven en zonas deprimidas, donde la falta de acceso a un diagnóstico rápido y oportuno pueden generar condiciones nocivas para la vida humana. Finalmente, el análisis sobre la filosofía con respecto a la tecnología no está finiquitado, pues los juicios filosóficos que abordan el derecho a la vida son conceptos históricos-culturales, que deben orientar la visión del investigador hacia una posición filosófica de la tecnología y la vida [21].

CAPÍTULO III

MARCO TEÓRICO

En el presente capítulo de esta investigación se exponen los fundamentos teóricos que dan soporte a la Tesis; para lo cual, se muestran los conocimientos particulares relacionados con cada variable, como a continuación se detalla.

3.1. Bases teóricas del procesamiento de potenciales redox con biosensores, como variable dependiente

3.1.1. Electroquímica

La electroquímica es una especialidad de la química enfocada en el estudio de la relación entre la energía eléctrica y la energía química; o la relación entre la electricidad y un cambio químico identificable. El proceso electroquímico se denomina reacción redox (oxidación - reducción) en la cual los electrones se transfieren de una sustancia a otra. Cuando nos referimos a la reacción de oxidación se refiere a la semirreacción que implica perder electrones. Sin embargo, una reacción de reducción es una semirreacción que implica ganar electrones [22].

Una reacción química redox se expresa de la siguiente forma:



Que se puede escribir como:

Reacción de Oxidación:



Reacción de Reducción:



Reacción general:



Como se muestra en la ecuación (2.4), el hidrógeno pierde dos electrones para someterse a la reacción de oxidación y se le conoce con el término de agente reductor o reductor. Por el contrario, el flúor gana dos electrones en el proceso para sufrir una reacción de reducción y se le asigna el término de agente oxidante u oxidante [23].

3.1.2. Biosensores Electroquímicos

Los sensores son instrumentos que detectan una variación en un sistema, la cual puede ser física, química o biológica, luego esta variación es transformada en una señal cuantificable. Este instrumento contiene un componente de reconocimiento que permite la respuesta selectiva a un analito particular o a un conjunto de estos, evitando de esta forma y en la medida posible las interferencias de otros componentes de la muestra. [24]

Los biosensores electroquímicos, una subclase de los sensores químicos, combinan la sensibilidad, la cual está indicada por los límites de detección bajos (LOD), de los transductores electroquímicos, con la alta especificidad de los procesos de reconocimiento biológico; los transductores se encargan de transformar la actividad biológica en una señal eléctrica, e incluyen un procesador de señales que recopila, amplifica, acondiciona y proporciona de forma gráfica dicha señal. Asimismo, los biosensores electroquímicos poseen un componente de verificación biológico, dentro de los cuales se encuentran las enzimas, anticuerpos, proteínas, células, tejidos, ácidos nucleicos, etc., que reaccionan de forma específica con el analito que se tiene por objetivo, del que, consecuentemente se obtiene una señal eléctrica proporcional a la concentración del analito en estudio.

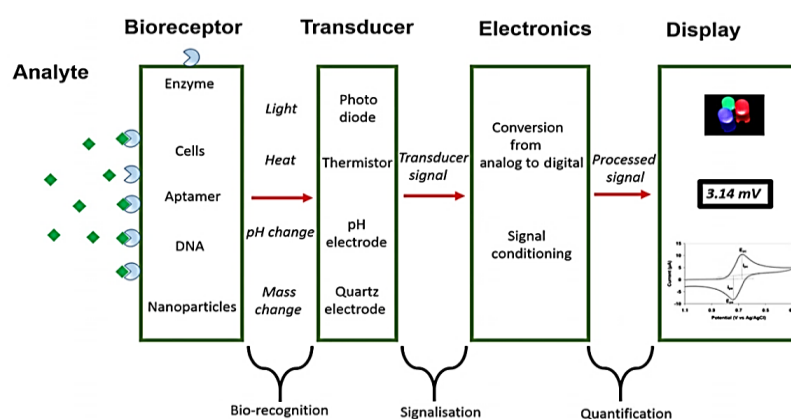


Fig. 3.1: Esquema de un analizador de potencial redox [16]

Los biosensores electroquímicos se clasifican con base en la naturaleza que caracteriza al proceso de reconocimiento biológico; dentro de estos se tienen a los sensores biocatalíticos, que se caracterizan por incorporar enzimas, células completas o cortes de tejido, que identifican el analito objetivo y producen especies electroactivas. A los otros tipos de sensores se les conoce como sensores de afinidad y se basan en la interacción de unión específica entre el analito y un componente biológico (un anticuerpo, ácido nucleico o un receptor) tal como lo expone [25].

3.1.3. Técnicas Electroquímicas de Medida

a). Procesos Electroquímicos

Son aquellos procesos en los que se produce una reacción electroquímica en una solución que contiene iones disueltos (electrolito) al aplicar una diferencia de potencial externa.

b). Celda Electroquímica

Es un sistema cuyo funcionamiento reside en el uso de dos electrodos (un ánodo y un cátodo) que actúan sobre un electrolito [26]. Por su naturaleza, se clasifican en celdas galvánicas y electrolíticas. De acuerdo con el enfoque de esta investigación, el trabajo está enfocado en el análisis a partir del criterio de las células electrolíticas.

c). Celdas Electrolíticas

Las celdas electrolíticas impulsan reacciones redox no espontáneas cuando se aplica un potencial mayor que la tensión de circuito abierto de la celda, una reacción no es espontánea cuando la energía libre de Gibbs (ΔG) es mayor a 0. Esta celda es un sistema apto para producir reacciones químicas mediante la introducción de energía. Por consiguiente, “si se aplica una tensión externa V entre los electrodos, se produce la circulación de una corriente I como respuesta de los procesos electroquímicos que ocurren en la interfaz electrodo-disolución. El origen de esta corriente puede ser debido a dos procesos: Transferencia de carga farádica y no farádica” [27].

c.1). La Transferencia de carga farádica o procesos farádicos

Son procesos donde la carga se transfiere a través de una interfaz metal-solución y se produce la reacción de oxidación o reducción. En estas reacciones, la velocidad de la reacción química suscitada por el flujo de corriente es proporcional a la cantidad de electricidad que transita (Ley de Faraday). En algunas circunstancias, o rangos de

potenciales, la transferencia de carga no ocurrirá porque la reacción es desfavorable termodinámica y cinéticamente [28].

La relación que se obtiene entre la corriente obtenida a consecuencia de la transferencia de carga durante la reacción y el potencial en la interfaz electrodo-disolución viene dada por la ecuación de Buttlar-Volmer [27].

$$i = n \cdot F \cdot A \cdot k^0 \cdot \left[C_0 \cdot e^{-\frac{\alpha \cdot n \cdot F}{R \cdot T} (E - E^{0'})} - C_R \cdot e^{\frac{(1-\alpha) \cdot n \cdot F}{R \cdot T} (E - E^{0'})} \right] \quad (2.5)$$

Donde:

i : Corriente que atraviesa la interfaz electrodo-disolución.

F : Constante de Faraday (96 485,34 C·mol⁻¹).

A : Superficie de contacto entre el electrodo y la disolución.

k^0 : Constante de velocidad de la reacción estándar.

C_0 : Concentración de la especie O en la interfaz.

α : Coeficiente de transferencia.

n : Número de electrones involucrados en la reacción.

R : Constante universal de los gases ideales (8,314472 J·K⁻¹·mol⁻¹).

E : Potencial en la interfaz electrodo-disolución.

$E^{0'}$: Potencial normal del par redox.

C_R : Concentración de la especie R en la interfaz.

Se observa que la ecuación (2.5) muestra la conexión entre las características intrínsecas de la reacción, así como otros factores externos a esta, tales como la temperatura, la superficie de conexión entre el electrodo y la disolución y la concentración de las especies implicadas en la reacción. Por lo tanto, esta ecuación describe el comportamiento vinculado a la transferencia de carga, específicamente en la interfaz electrodo-disolución.

Un caso particular de ecuación de Buttlar-Volmer es cuando la reacción se encuentra en equilibrio y no existe transferencia neta de carga en alguno de los dos sentidos, por lo tanto, no hay circulación de corriente. Para esta situación en particular, el valor del potencial en la interfaz electrodo-disolución puede expresarse como:

$$E = E^{0'} + \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \cdot \ln \left(\frac{C_O}{C_R} \right) \quad (2.6)$$

La ecuación (2.6) es conocida como la ecuación de Nernst, donde E es el potencial de media celda de reducción, $E^{0'}$ es el potencial de media celda de reducción estándar en equilibrio, $R \cdot T$ es la constante universal de gas multiplicada por la temperatura ambiental (en Kelvin), $n \cdot F$ es la cantidad de electrones que son transferidos durante la reacción multiplicada por la constante de Faraday, y $\frac{C_O}{C_R}$ es la proporción entre las concentraciones de los agentes oxidativo y reductor respectivamente [22].

Adicionalmente, se deben tener en cuenta otros fenómenos que proporcionan un mejor entendimiento sobre la celda electroquímica:

- **Transporte de las especies desde la disolución hasta los electrodos**

Este tipo de transporte de materia se designa como transporte de masa y en el caso de sistemas electroquímicos puede ocurrir como consecuencia de tres fenómenos: fenómenos hidrodinámicos, que son producidos por perturbaciones en la disolución, el movimiento rotatorio del electrodo o el flujo forzado de la disolución por el electrodo; fenómeno de migración, que es causado debido a la interacción con un campo eléctrico; o fenómeno de difusión, causado por los gradientes de concentración [27]. La transferencia de masa a un electrodo se rige por la ecuación de Nernst-Planck, escrita para la transferencia de masa unidimensional a lo largo del eje x como:

$$J_i(x) = -D_i \frac{\partial C_i(x)}{\partial x} - \frac{z_i F}{RT} D_i C_i \frac{\partial \phi(x)}{\partial x} + C_i v(x) \quad (2.7)$$

En la ecuación (2.7) J_i es el flujo de los elementos i ($\text{mol cm}^{-1} \text{s}^{-2}$) establecido a una distancia x de la superficie, los tres términos de la parte derecha de la igualdad son la representación de los tres modos de transporte de masa, donde D_i es el coeficiente de difusión ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$), $\frac{\partial C_i(x)}{\partial x}$ es la tasa de cambio de la concentración a una distancia x , $\frac{\partial \phi(x)}{\partial x}$ es el gradiente del potencial, z_i y C_i son carga y concentración (mol cm^{-3}) respectivamente, y $v(x)$ es la velocidad (cm s^{-1}) con la que un elemento de volumen en solución se mueve a lo largo del eje.

- **Procesos de adsorción o desorción**

Es un proceso donde los agentes de transferencia (iones o moléculas) de la disolución se fijan al electrodo, lo que causa la disminución de la superficie útil sobre la cual las

reacciones toman lugar. Se precisa, además, que en este proceso las sustancias adheridas se separan del electrodo.

Adicionalmente, se producen otras reacciones, las cuales pueden suscitarse antes o incluso después de la reacción que da origen a la transferencia de carga.

c.2). La reorganización de las cargas en la interfaz o procesos no farádicos

Son denominados así los procesos que pueden ocurrir en la interfase electrodo-disolución, esto a causa de los iones de otras especies, los cuales no logran llegar a su potencial para que reaccionen, como los procesos de adsorción o desorción. Estos iones, a pesar de que no generan transferencia de carga, llegan a ser atraídos o repelidos por la superficie del electrodo, la magnitud de atracción o repulsión está determinada en función del potencial suministrado, dicho movimiento de carga cuando el potencial cambia da lugar a un comportamiento semejante al de un capacitor, este es un elemento de circuito eléctrico compuesto por dos láminas de metal separadas por un material dieléctrico, cuyo comportamiento se rige por la ecuación (2.8):

$$\frac{q}{E} = C \quad (2.8)$$

donde q es la carga almacenada en el capacitor (en culombios, C), E es el potencial a través del condensador (en voltios, V) y C es la capacitancia (en faradios, F). Cuando se aplica un potencial a través de un condensador, la carga se acumulará en sus placas metálicas hasta que q satisfaga su ecuación, durante este proceso de carga, fluirá una corriente (llamada corriente de carga).

Para el caso de las celdas electroquímicas, en la interfase entre el metal y la solución se conforman dos capas cargadas con signo opuesto donde estas se mantienen a una cierta distancia la una de la otra, se denomina doble capa al conjunto que forman estos dos elementos [29]. La primera capa, llamada capa interna, es la más cercana al electrodo, está constituida de moléculas del solvente y en ciertas ocasiones también de otras especies, los cuales se considera que son específicamente adsorbidos. Esta capa también se denomina capa compacta, capa de Helmholtz o capa de Stern; la capa interna está compuesta por dos planos: el plano interno de Helmholtz (IHP – inner Helmholtz plane), que comprende el lugar geométrico de los centros de los iones específicamente adsorbidos, hasta una determinada distancia x_1 , tal como se muestra en la Fig. 3.2; y el plano externo de Helmholtz (OHP – outer Helmholtz plane), que abarca el lugar geométrico de los centros de los iones

solvatados, los cuales pueden acercarse al metal solo hasta una distancia x_2 , tal como se presenta en la Fig. 3.2, la interacción entre los iones solvatados con el metal cargado es únicamente una interacción electrostática de largo alcance, por ende, estas interacciones son independientes de las propiedades químicas que posean los iones, estos iones son llamados inespecíficamente adsorbidos. Para distancias mayores del rango de alcance del OHP se encuentra la capa difusa, determinada por la distribución de los iones inespecíficamente adsorbido, como consecuencia de la agitación térmica en la solución [30].

Se debe tener en cuenta en algunos casos (especies electroactivas a muy bajas concentraciones) que la corriente de carga puede llegar a ser mayor que la corriente farádica.

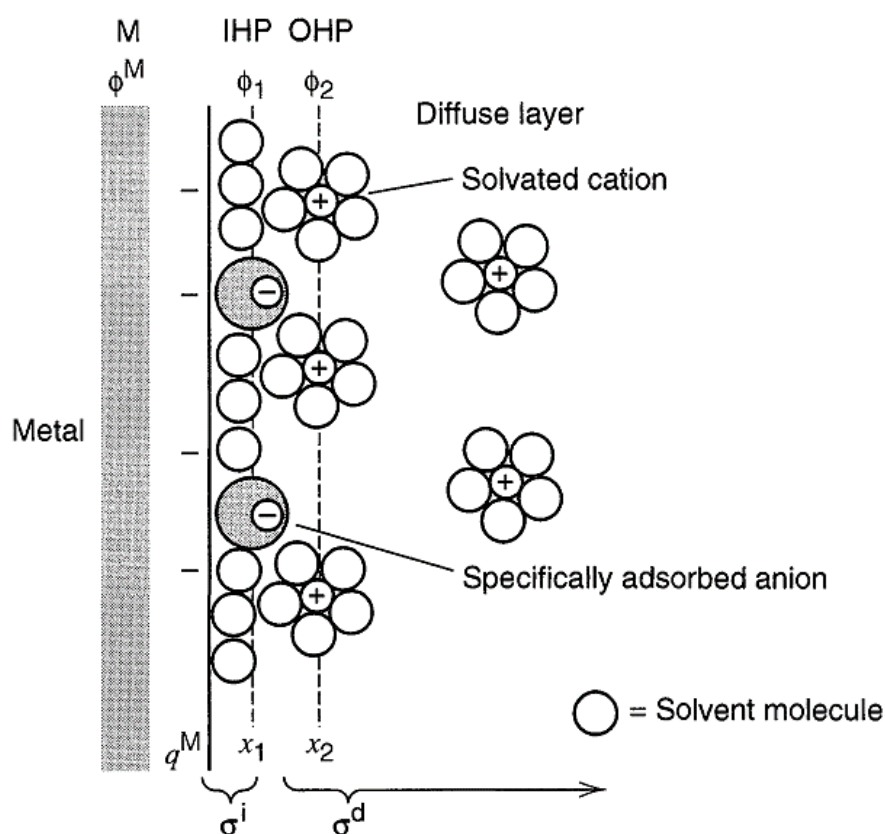


Fig. 3.2: Estructura de la doble capa [30]

d). Configuración de los electrodos

Esta configuración consiste en un electrodo de trabajo (ET) donde ocurre la reacción química de interés y un contraelectrodo, también llamado electrodo auxiliar (EA), que actúa como la otra mitad de la celda. El potencial aplicado se mide entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo y la corriente resultante se mide en el electrodo de trabajo o contraelectrodo.

El contraelectrodo en esta configuración tiene dos funciones: completa el circuito permitiendo que la carga fluya a través de la celda y también mantiene un potencial de interfase constante, independientemente de la corriente, pero el mantener ambas condiciones es una tarea inalcanzable en la mayoría de las situaciones. En un sistema de dos electrodos, es muy complicado mantener un potencial de contraelectrodo constante mientras fluye la corriente. Esto es debido a los cambios potenciales de interfase cuando cambia la corriente. Este hecho, sumado a la falta de compensación por la caída de tensión en la solución encamina a un control deficiente del potencial del electrodo de trabajo con un sistema de dos electrodos.

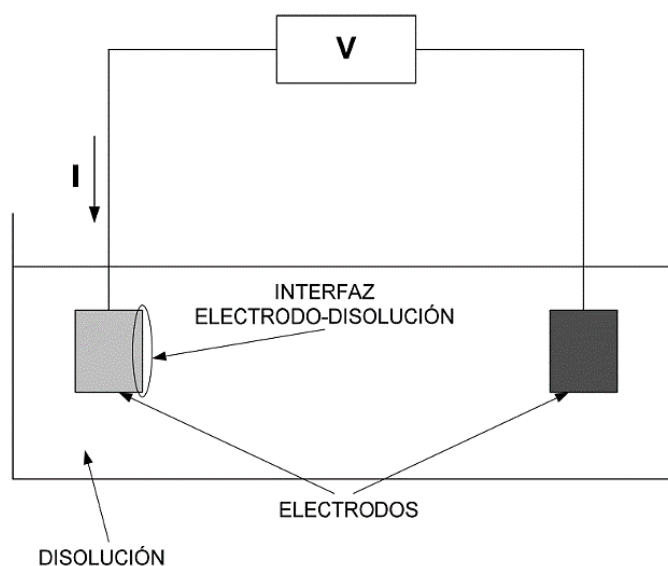


Fig. 3.3: Representación de la Celda Electroquímica de dos electrodos

d.1). Configuración de tres electrodos

La configuración de tres electrodos permite la solución de los inconvenientes que genera el hecho de utilizar una configuración de dos electrodos. Esta configuración consta de un electrodo de trabajo, un contraelectrodo y un electrodo de referencia (ER). La función designada al electrodo de referencia es la de cumplir un papel como punto de potencial de referencia, de tal manera que se pueda medir y controlar el potencial del electrodo de trabajo, por lo que debe contar con un potencial electroquímico estable. Así, una de las características principales que debe presentar un electrodo de referencia, es que no pueda ser polarizado, esto es, que las variaciones que ocurran en la interfase electrodo-disolución no modifiquen su potencial designado. Además, puesto que por el electrodo de referencia fluye una

corriente de valor despreciable, la caída de potencial entre el electrodo de referencia y el de trabajo suele ser muy pequeña.

En consecuencia, mediante el uso de un sistema de tres electrodos, el potencial de referencia es mucho más estable y existe una compensación para esta caída de potencial en la solución, lo que proporciona un mejor control sobre el potencial del electrodo de trabajo. La función que cumple el electrodo auxiliar es la de permitir fluir a través de este electrodo toda la corriente necesaria por el circuito, para así equilibrar la corriente medida en el electrodo de trabajo, el EA está fabricado de un conductor de material inerte, como por ejemplo platino o grafito, y permite además completar el circuito de la celda. El electrodo auxiliar a menudo oscilará a valores de potenciales mucho mayores para realizar esta tarea.

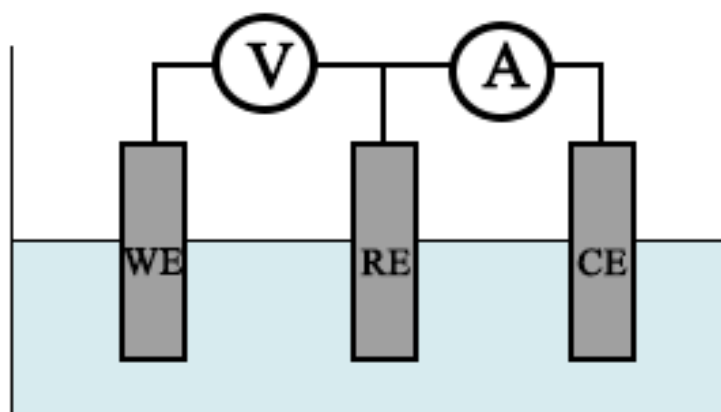


Fig. 3.4: Representación esquemática de una Celda Electroquímica de 3 Electrodos.

De acuerdo con la naturaleza de esta investigación, el trabajo está enfocado en el análisis a partir del uso de la configuración de tres electrodos para la celda electrolítica.

e). **Métodos Electroquímicos**

De acuerdo a la bibliografía consultada, según [31], [32], [33], las técnicas o métodos electroquímicos se orientan ya sea en el estudio de los procesos que se dan en la interfaz entre el electrodo y la disolución o en el estudio de los procesos que tienen lugar en el seno de la disolución. Entre los primeros métodos mencionados, los métodos electroquímicos se subdividen en métodos dinámicos y estáticos.

Los métodos estáticos presentan la característica de generarse en un sistema donde no se encuentra presente la transferencia de cargas, es decir, en un sistema en equilibrio. En cuanto a las técnicas dinámicas, donde existe transferencia de carga, se dividen en aquellas

técnicas direccionadas a controlar la tensión o a controlar la corriente. La Fig. 3.5 presenta las distintas técnicas electroquímicas que se utilizan actualmente.

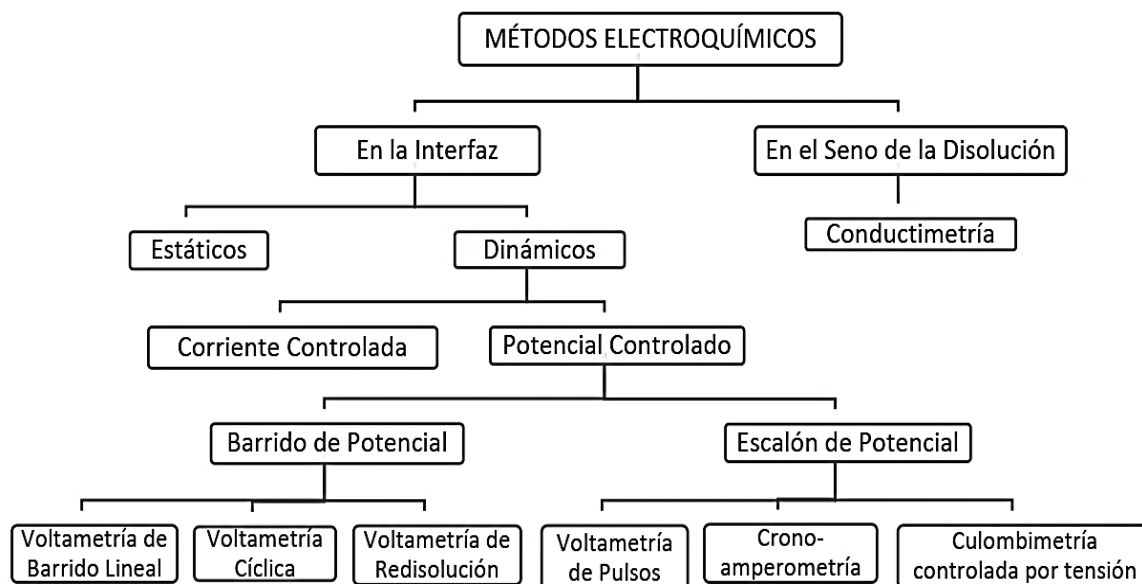


Fig. 3.5: Clasificación de los métodos electroquímicos [34]

Conforma a la naturaleza de esta Tesis, el trabajo está enfocado en el análisis a partir del uso de técnicas donde la variable controlada es el potencial, también conocidas como técnicas voltamétricas.

e.1). Técnicas Voltamétricas

Son aquellas técnicas que tienen por objetivo el control de la tensión aplicada en la interfaz electrodo-disolución durante el proceso electroquímico y la lectura de la corriente generada durante la reacción, en general la lectura de esta corriente se realiza en el electrodo de trabajo. De acuerdo con la Fig. 3.5, existe una gran variedad de métodos voltamétricos, cuya clasificación se realiza tomando en cuenta el tipo de potencial controlado que se aplica.

- **Voltametría de Barrido Lineal (LSV)**

Se inyecta una tensión inicial al electrodo de trabajo, el cual aumenta de forma lineal, teniendo como característica una pendiente constante con valores entre 10mV/s y 10V/s.

Una vez registrados los datos de tensión y corriente, se procede a representar, mediante una gráfica, el desarrollo que exhibe la corriente en función del voltaje aplicado, a este tipo de gráficas se las conoce como voltagrama o voltamograma [27].

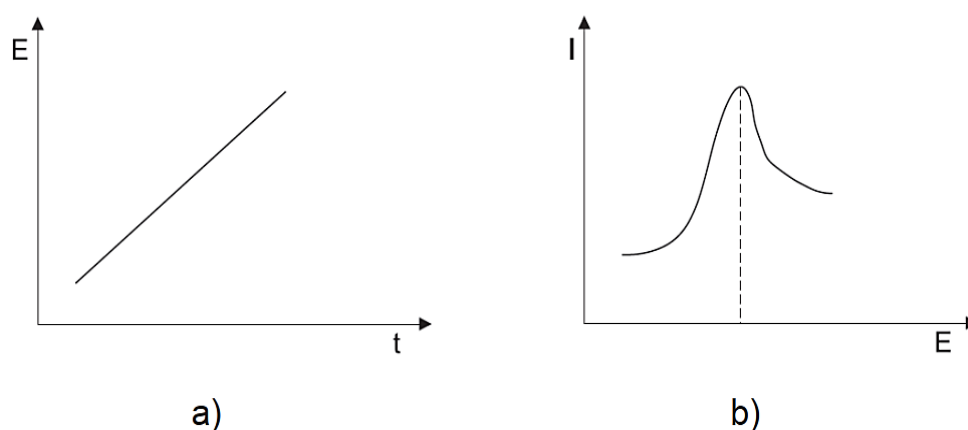


Fig. 3.6: Gráficas características de la voltametría de barrido lineal. (a) Potencial aplicado en función del tiempo, (b) Voltograma de barrido lineal [34]

- **Voltametría cíclica (CV)**

La técnica de voltametría cíclica presenta similitudes con la voltametría lineal, dado que también se aplica un valor de tensión con pendiente constante, a partir de un valor inicial, pero cuando la tensión alcanza un punto establecido como valor máximo, se realiza un nuevo barrido en sentido contrario hasta alcanzar el valor mínimo establecido [27].

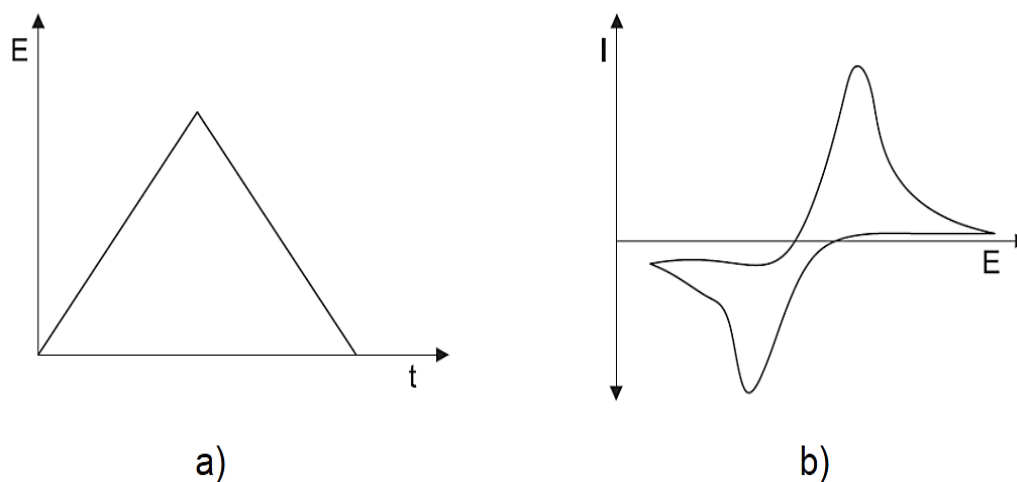


Fig. 3.7: Gráficas de la voltametría cíclica. (a) Potencial aplicado en función del tiempo, (b) Voltograma cíclico [34]

Los parámetros importantes en un voltamograma cíclico son los potenciales máximos (E_{pc} , E_{pa}) y las corrientes máximas (i_{pc} , i_{pa}) de los picos catódico y anódico, respectivamente. “Si el proceso de transferencia de electrones es rápido en comparación con

otros procesos como la difusión, se dice que la reacción es electroquímicamente reversible y la separación de picos de voltaje es: ” [23]

$$\Delta E_p = |E_{pa} - E_{pc}| = 2.303 \frac{RT}{nF} \quad (2.9)$$

El potencial de reducción (E^0) para un par reversible viene dado por:

$$E^0 = \frac{E_{pa} + E_{pc}}{2} \quad (2.10)$$

“Para una reacción reversible, la concentración está relacionada con la corriente máxima mediante la expresión de Randles-Sevcik (a 25 °C)” [35]:

$$i_p = 2.686 \times 10^5 n^{3/2} A c^0 \sqrt{Dv} \quad (2.11)$$

Donde:

i_p : Corriente máxima en amperios.

D : Coeficiente de difusión ($\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$)

A : Área del electrodo (cm^2)

c^0 : Concentración en mol cm^{-3} .

n : Número de electrones involucrados en la reacción redox.

v : Tasa de escaneo (V s^{-1}).

- **Voltametría de redisolución**

Este método electroquímico, a diferencia de la LSV, requiere de tres procesos: primero, se incorpora el analito en la superficie del electrodo mediante una reacción redox aplicando un valor de tensión constante, luego, se procede a una etapa de reposo, y finalmente se aplica el voltaje de barrido lineal con pendiente constante que generará la reacción opuesta a la efectuada en la fase de deposición del analito, retirando de esta manera el analito de la superficie del electrodo, además, para garantizar que la deposición se realice de forma correcta, se necesita realizar una agitación de la solución o también se puede girar el electrodo [34].

- **Voltametría de pulsos**

Técnica en la cual se incrementa la tensión aplicada al electrodo mediante una serie de escalones o pulsos, cuyo nivel de tensión continua aumenta de manera discreta, al mismo tiempo, en cada serie de pulsos, se mide la corriente resultante [27].

De acuerdo con la amplitud del escalón, la técnica se divide en Voltametría de pulsos de pequeña amplitud y Voltametría de pulsos de gran amplitud.

- **Voltametría de onda cuadrada (SWV)**

En esta técnica voltamétrica, la señal de excitación consiste en un pulso simétrico de onda cuadrada, la cual posee una amplitud fija, montado a una forma de onda de escalera con magnitud de escalón fija, donde el pulso con el que avanza la onda cuadrada coincide con el escalón de la onda de escalera. En la SWV, la corriente neta a cuantificar se obtiene de la diferencia entre las corrientes medidas de los pulsos directos e inversos, respectivamente.

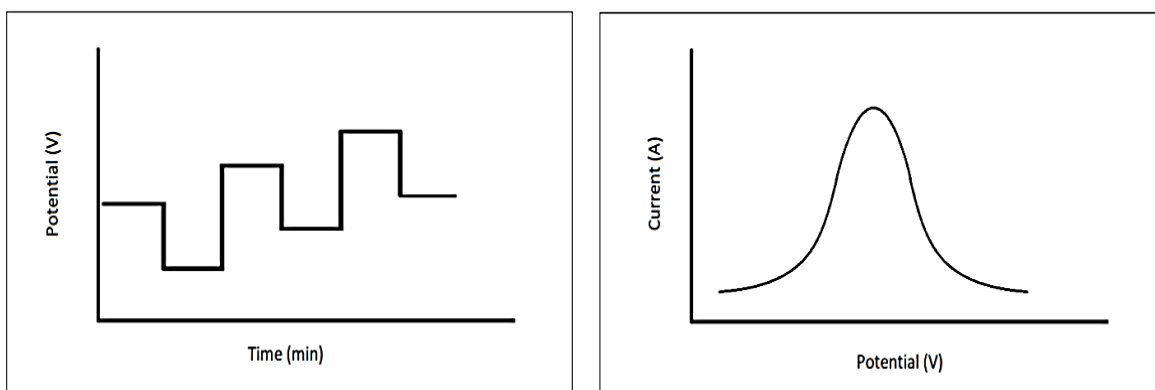


Fig. 3.8: Gráficas de la SWV. (a) Potencial aplicado en función del tiempo, (b) Voltagrama de SWV [23]

La velocidad de exploración de la voltametría de onda cuadrada depende inversamente del tiempo por paso, τ :

$$\text{Velocidad de exploración} \left(\frac{mV}{s} \right) = \frac{E_{paso}(mV)}{\tau(s)} \quad (2.12)$$

Donde:

E_{paso} : Amplitud del voltaje escalonado.

τ : Tiempo por paso.

Durante el escaneo, la corriente se registra al final del pulso de avance y al final del pulso de retroceso, lo que significa que se muestrea dos veces por ciclo, esto se realiza con el fin de evitar involucrar la corriente de carga. La frecuencia (f) utilizada en experimentos voltamétricos de onda cuadrada es generalmente de valores entre 1 a 125 Hz.

El presente trabajo está orientado al uso de la técnica electroquímica de la voltametría cíclica.

3.2. Bases teóricas del dispositivo *read out*, como variable independiente

Potenciostato

El dispositivo electrónico denominado potenciostato, es un dispositivo requerido para controlar una celda electroquímica. Presenta dos funciones principales: [26]

- Controlar la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y el electrodo de referencia, sin llegar a polarizarlo.
- Cuantificar la intensidad de corriente que circula a través del electrodo de trabajo.

La variable independiente en este dispositivo es el potencial de celda electroquímica y la variable dependiente es la corriente de la celda.

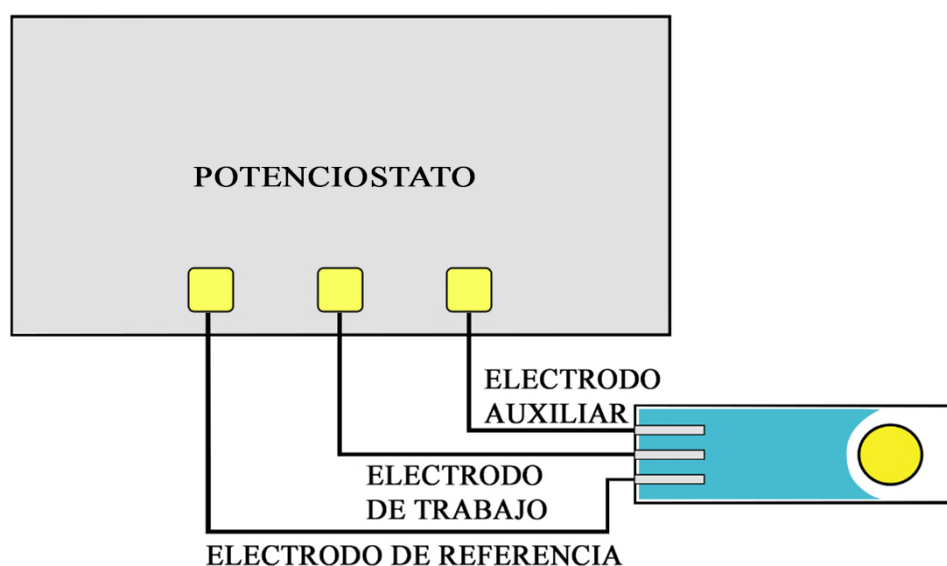


Fig. 3.9: Diagrama de un Potenciostato conectado a un electrodo serigrafado.

a). Representación eléctrica de una celda electroquímica.

Desde el punto de vista electrónico, una celda electroquímica puede considerarse como una red de impedancias como las que se muestran en el circuito equivalente de la Fig. 3.10 donde Z_c y Z_{wk} hacen referencia a las impedancias interfaciales en los respectivos electrodos. R_u representa la resistencia no compensada mientras que R_c la resistencia compensada; esto es debido a las asimetrías del conjunto. Además, la distancia entre los electrodos y la conductividad de la solución determinan el valor de cada resistor. La presencia de esta resistencia no compensada evita que el circuito proporcione un control preciso sobre el verdadero potencial del electrodo de trabajo con respecto a la referencia debido a la caída de potencial y las pérdidas que ocasiona, pero en muchos casos, esta pérdida $i \times R_u$ puede volverse insignificanemente pequeña colocando de forma cuidadosa el Electrodo de Referencia.

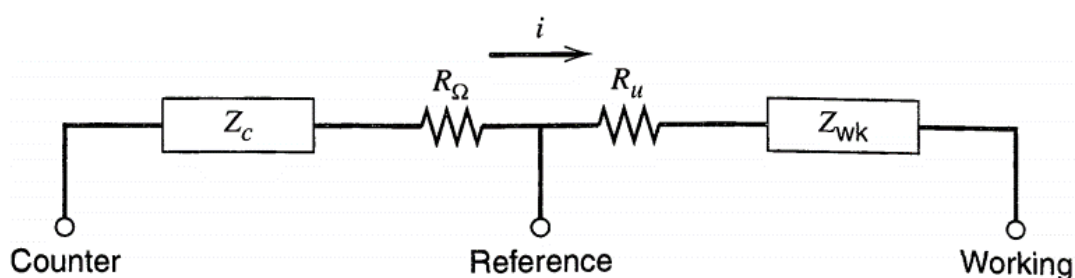


Fig. 3.10: Vista de una celda electroquímica de tres electrodos como una red de impedancias [30]

Z_{wk} es un funcional de la actividad iónica entre los electrodos de referencia y de trabajo; como sigue:

$$Z_{wk} = f(C_i, T, \text{Concentraciones, etc.})$$

Por lo tanto, Z_{wk} es un sistema variante en el tiempo; el mismo análisis aplica para Z_c , por lo cual, de la misma forma se tiene:

$$Z_c = f(C_i, T, \text{Concentraciones, etc.})$$

b). Circuito Potenciostato Simple

La Fig. 3.11 muestra el diagrama esquemático un potenciostato básico, en este sistema, el amplificador operacional A es el amplificador de control que suministra la señal de entrada (nivel de CC, rampa de voltaje, etc.) a la celda, el amplificador operacional B es un seguidor de voltaje no inversor de alta impedancia, de ganancia unitaria, mientras que el

amplificador operacional C es un seguidor de corriente (o amplificador de transimpedancia) de ganancia variable que sirve para mantener el electrodo de trabajo a cero voltios (tierra virtual) y proporcionar una salida proporcional a la corriente polarográfica.

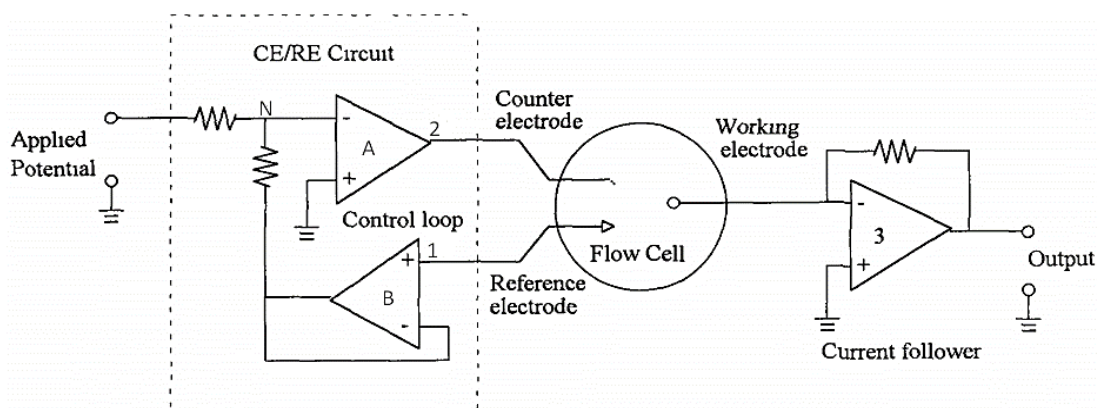


Fig. 3.11: Diagrama básico de un Potenciostato [36]

La condición estable para el bucle que contiene los amplificadores operacionales A y B es cuando la salida del amplificador operacional B es igual en magnitud, pero opuesta en polaridad a la suma de los voltajes de entrada (ley de nodos). Lo cual significa que el voltaje en el punto N (el nodo de unión) siempre será el equivalente al de la tierra virtual. Por consiguiente, el voltaje medido en el punto 1 debe ser siempre el mismo que el aplicado al punto N, y si momentáneamente no lo es, el voltaje en el punto 2 aumentará de forma automática para mantener el punto 1 igual en magnitud de tensión al punto N, de este modo, aunque el potenciostato debe controlar la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y de referencia, el potencial se mide solamente en el electrodo de referencia.

El potenciostato de tres electrodos compensa automáticamente la resistencia de la solución entre los electrodos auxiliar y de referencia. Esto hace posible el uso de disolventes no acuosos de alta resistencia y electrolitos acuosos bastante diluidos. Por lo cual, la distorsión de la forma de onda y la pendiente de la señal de corriente-voltaje es mucho menos pronunciada.

c). **Amplificadores Operacionales de Clase Instrumentación**

Un amplificador de instrumentación es un bloque de ganancia de bucle cerrado que tiene una entrada diferencial y una salida de un solo extremo con respecto a un terminal de referencia. Comúnmente, las impedancias de los dos terminales de entrada del amplificador están balanceadas y tienen valores altos, con valores típicos de $10^9 \Omega$ o valores mayores. Las

corrientes de polarización de entrada también deben ser bajas, normalmente de 1 nA a 50 nA. Al igual que con los amplificadores operacionales, la impedancia de salida es muy baja, nominalmente en la escala de mili ohmios ($m\Omega$), a bajas frecuencias [37].

A diferencia de un amplificador operacional, cuya ganancia de circuito cerrado está determinada por resistencias externas conectadas entre su entrada inversora y su salida, un amplificador de instrumentación emplea una red de resistencias de retroalimentación interna que está aislada de sus terminales de entrada de señal. Con la señal de entrada aplicada a través de las dos entradas diferenciales, la ganancia está preestablecida internamente o la puede configurar el usuario (a través de los pines del IC) mediante una resistencia de ganancia interna o externa, que también está aislada de las entradas de señal.

Es un dispositivo que amplifica la diferencia entre dos voltajes de señal de entrada mientras rechaza cualquier señal que sea común a ambas entradas. El amplificador de entrada, por lo tanto, proporciona la función muy importante de extraer pequeñas señales de los transductores y otras fuentes de señales [38].

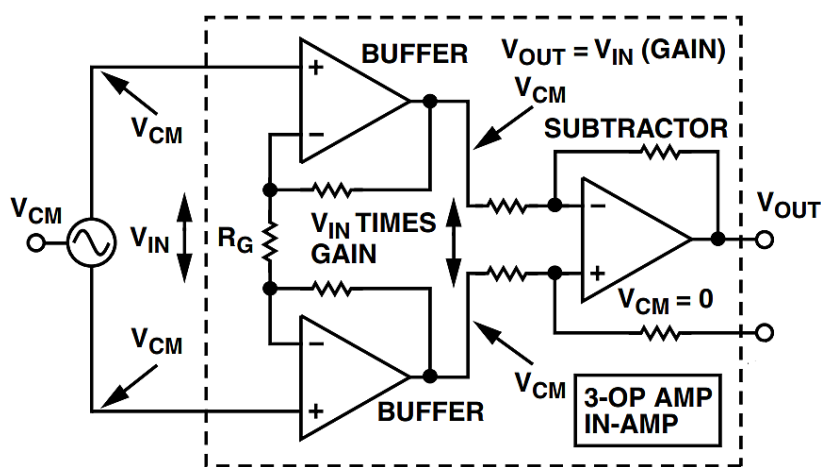


Fig. 3.12: Amplificador de instrumentación basado en 3-op amp [29]

El Rechazo de modo común (CMR), que es la propiedad de cancelar cualquier señal que sea común (la misma tensión en ambas entradas), mientras se amplifica cualquier señal que sea diferencial (una diferencia de tensión entre las entradas), es la función más importante que proporciona un amplificador de instrumentación. Tanto el rechazo de modo común de CC como de CA son especificaciones importantes en el amplificador. Sin embargo, un CMR de CA inadecuada provoca un gran error que varía en el tiempo que a menudo cambia mucho con la frecuencia y, por lo tanto, es difícil de eliminar en la salida

del amplificador de instrumentación. Afortunadamente, la mayoría de los amplificadores IC monolíticos modernos brindan un excelente rechazo de modo común de CA y CC.

La ganancia de modo común (A_{CM}) es la relación entre el cambio en el voltaje de salida y el cambio en el voltaje de entrada del modo común, y está relacionada con el rechazo del modo común. Es la ganancia neta (o atenuación) de entrada a salida para voltajes comunes a ambas entradas.

La ganancia de modo diferencial o normal (A_D) es la ganancia entre la entrada y la salida para tensiones aplicadas diferencialmente, o entre las dos entradas. La relación de rechazo de modo común (CMRR) es simplemente la relación entre la ganancia diferencial, A_D , y la ganancia de modo común.

$$CMRR = A_D \left(\frac{V_{CM}}{V_{OUT}} \right) \quad (2.13)$$

Donde:

A_D : es la ganancia diferencial del amplificador.

V_{CM} : es la tensión de modo común presente en las entradas del amplificador.

V_{OUT} : es la tensión de salida presente cuando se aplica una señal de entrada de modo común al amplificador.

Para ser efectivo, un amplificador de instrumentación debe poder amplificar señales de nivel de microvoltios mientras rechaza la tensión de modo común en sus entradas. Es particularmente importante que el amplificador de instrumentación pueda rechazar señales de modo común en el ancho de banda de interés.

d). Computadora de placa única

“Una computadora de placa única (SBC) se ha descrito como una computadora completa construida en una sola placa de circuito, que cuenta con un microprocesador o un grupo de microprocesadores, con memoria, puertos de entrada/salida (E/S) y otras características requeridas de una computadora funcional” [39].

Estos dispositivos tienen la capacidad de adquirir información de su entorno mediante sensores, ya sea integrados en ellos, o conectados a ellos. Por lo general, estas computadoras no tienen ranuras de extensión como las Computadora Personales (PC) y los procesadores que se utilizan en ellas suelen ser de bajo costo, aun así, algunos dispositivos

cuentan con puertos USB e interfaces de tarjetas de memoria. Adicionalmente, los dispositivos SBC pueden ejecutar versiones de Sistema Operativo Linux e incluso de Windows [40].

d.1). Raspberry Pi

Una de las series SBC más conocidas son las placas de Raspberry Pi, el cual es un ordenador de bajo costo con capacidades similares a las de una PC, ya que permite navegar por Internet, reproducir juegos, reproducir y trabajar con videos en alta definición, y trabajar con aplicaciones de procesamiento de texto y hojas de cálculo. La Raspberry Pi puede adquirir información de los sensores e interactuar con los actuadores, además se pueden conectar accesorios estándar de PC como monitor, teclado y mouse [40]. Asimismo, cuenta con soporte en el lenguaje interpretado Python, brindado por la comunidad y cuenta con un sistema operativo oficial GNU/Linux con la distribución Raspberry Pi OS.



Fig. 3.13: Raspberry Pi 4 modelo b. Fuente: eduboticsperu.com.

e). Filtros Analógicos

En el presente trabajo nos enfocaremos en los filtros activos, ya que se va a trabajar en rangos menores de 1 MHz, por consiguiente, la realización de filtros pasivos RLC no es muy adecuada para tales rangos de frecuencia. En consecuencia, según [41] se implementarán estas redes utilizando elementos activos.

Las señales con las que trabaja nuestro sistema son del orden de los nanoamperios, por lo cual se dará relevancia a la respuesta máximamente plana en la zona pasa banda [42]; aun sacrificando la banda de transición que significaría mayor índice de ruido si lo comparamos con los filtros hiperbólicos.

La función de transferencia de un filtro en el dominio de la frecuencia, siendo $s = j\omega$, es la relación entre la señal de salida con respecto a la señal de entrada:

$$H(s) = \frac{V_o(s)}{V_i(s)} \quad (2.14)$$

Esta relación se puede expandir de forma polinomial:

$$H(s) = \frac{a_m s^m + \dots + a_2 s^2 + a_1 s + a_0}{s^n + b_{n-1} s^{n-1} + b_{n-2} s^{n-2} + \dots + b_1 s + b_0}, n \geq m \quad (2.15)$$

Los coeficientes de la función de transferencia se determinan de forma que cumplan con las especificaciones de filtrado deseadas. Por lo antes indicado y por la necesidad de operación, se decidió trabajar con filtros activos con funciones de transferencia sujetas a los polinomios Butterworth.

e.1). Filtro Butterworth Pasa Bajo

Es conocido que este tipo de redes se puede construir con las llamadas Celdas de Rauch [43] que demandan comportamientos de elevada ganancia y mínima corriente de bias; a diferencia de las Celdas Sallen-Key [44] en las que la ganancia no depende de los elementos de sintonía y es previamente fijada antes de construir el filtro. En este caso, el requerimiento es sobre la minimización de la corriente de bias.

El filtro Pasa Bajo permite el paso de frecuencias desde la frecuencia f_c hasta una frecuencia de corte f_c y atenúa las frecuencias superiores a este valor.

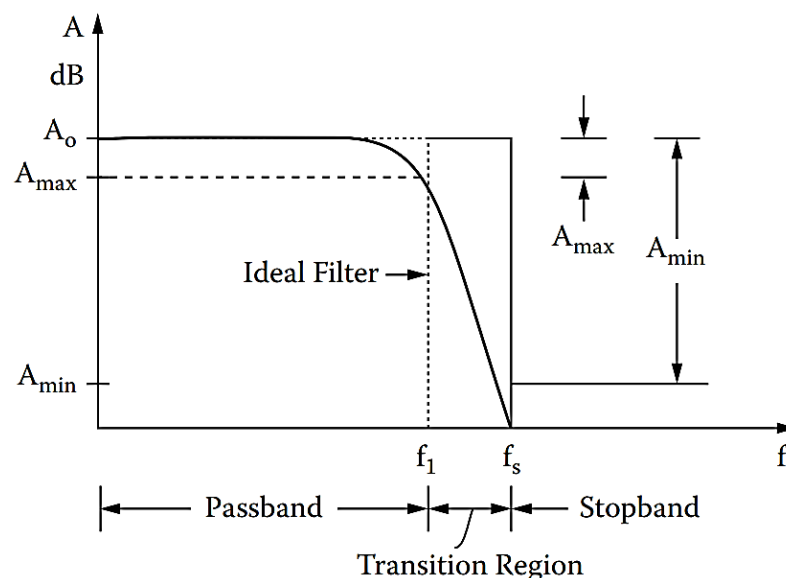


Fig. 3.14: Especificación de las características de transmisión de un filtro pasa bajo [42]

La función general de transferencia para filtros Pasa Bajos tiene la forma:

$$H(s) = \frac{H_0}{\prod_i(1+a_i s+b_i s^2)} \quad (2.16)$$

Donde H_0 es la ganancia pasa banda en dc y a_i con b_i son los coeficientes del filtro, estos definen la ubicación de los polos en el plano complejo [45].

La Fig. 3.15 muestra la cascada de etapas de filtrado hasta el sexto orden.

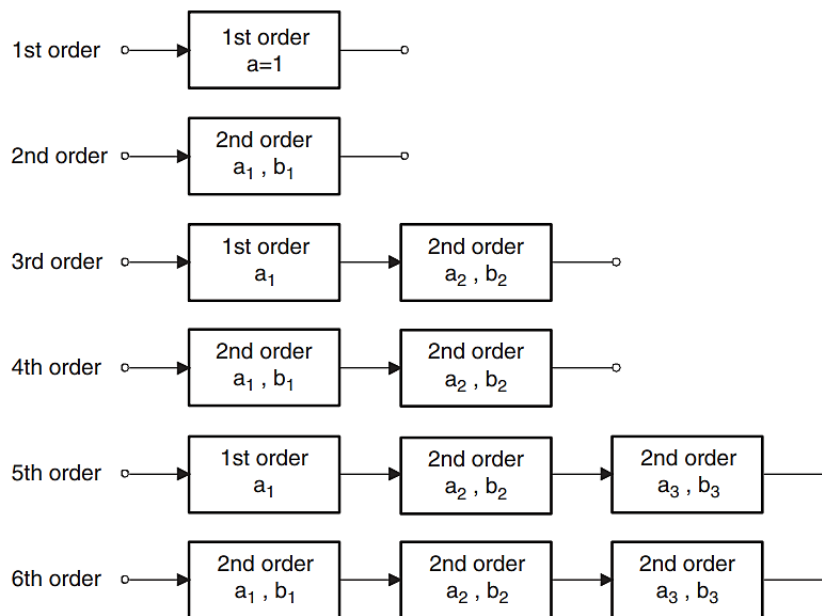


Fig. 3.15: Etapas para filtros de orden superior [45]

- **Filtro de segundo orden**

Todas las funciones de segundo orden se pueden expresar de la forma:

$$H(s) = \frac{H_0 \omega_n^2}{s^2 + (\omega_n/Q)s + \omega_n^2} \quad (2.17)$$

Donde $Q = \frac{1}{2\zeta}$, ζ es el factor de amortiguamiento y ω_n es la frecuencia natural del filtro.

En adición, la relación $Q = \frac{\sqrt{b_i}}{a_i}$ es definida como la calidad del polo, a mayor valor de Q , el filtro se vuelve más inestable.

La ecuación general para la respuesta de amplitud de un filtro Butterworth es:

$$|H(j\omega)| = \frac{K}{\sqrt{1 + \epsilon^2 \left(\frac{\omega}{\omega_c}\right)^{2n}}} \quad (2.18)$$

donde n es el grado del filtro y puede ser un número entero positivo, ω_c es la frecuencia de corte a -3dB de la ganancia de amplitud del filtro, ϵ es una constante que determina los cambios máximos de la zona pasa banda y K es la ganancia dc del filtro. Este tipo de respuesta, conocida como Respuesta Butterworth, tiene las siguientes propiedades: [46]

- $|H(j0)| = K$ para todos los valores de n , es decir, la ganancia en voltaje de dc cuando $\omega = 0$.
- $|H(j\omega_c)| = 1/\sqrt{2}$, para todos los valores de n , que es la ganancia de voltaje a la frecuencia de corte.
- $|H(j\omega)|$ es monótonamente decreciente con el aumento de la relación $\frac{\omega}{\omega_c}$.

Además, las primeras $2n-1$ derivadas de $|H(j\omega)|$ son cero en el punto $\omega = 0$, lo que indica una curva lo más plana posible en dicho punto, por lo cual, se conoce a la curva Butterworth como máximamente plana. Dicha curva se vuelve algo redondeada cerca al punto ω_c , y se reduce a una tasa final de $-20n$ /dB en la banda de rechazo [47].

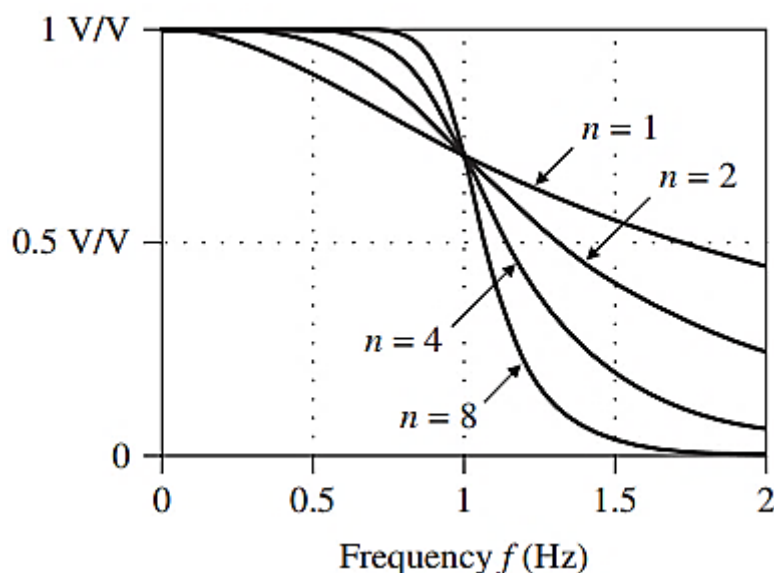


Fig. 3.16: Respuesta de filtro Butterworth para diferentes n [47]

e.2). Funciones Butterworth

Al sustituir $\omega = s/j$ en la ecuación general para la respuesta de amplitud del filtro, y con la consideración de que $\epsilon = 1$ y $K = 1$, se obtiene:

$$|H(s)|^2 = \frac{1}{\sqrt{1+(-1)^n \left(\frac{s}{\omega_c}\right)^{2n}}} \quad (2.19)$$

$$|H(s)|^2 = \frac{1}{\sqrt{D(s)D(-s)}} \quad (2.20)$$

Donde $D(s)$ es un polinomio en s , y todas sus raíces tienen una parte real negativa. Además, se cumple que:

$$|D(s)| = |D(-s)| \quad (2.21)$$

Asumiendo que $\omega_c = 1$, los polos están dados por la solución de la ecuación:

$$1 + (-1)^n (s)^{2n} = 0 \quad (2.22)$$

Las correspondientes partes real e imaginarias de los polos son:

$$s_k = \sigma_k + j\omega_k = -\operatorname{sen}\left(\frac{2k-1}{n}\pi\right) + j\cos\left(\frac{2k-1}{n}\pi\right) \quad (2.23)$$

Para $k = 1, 2, \dots, 2n$.

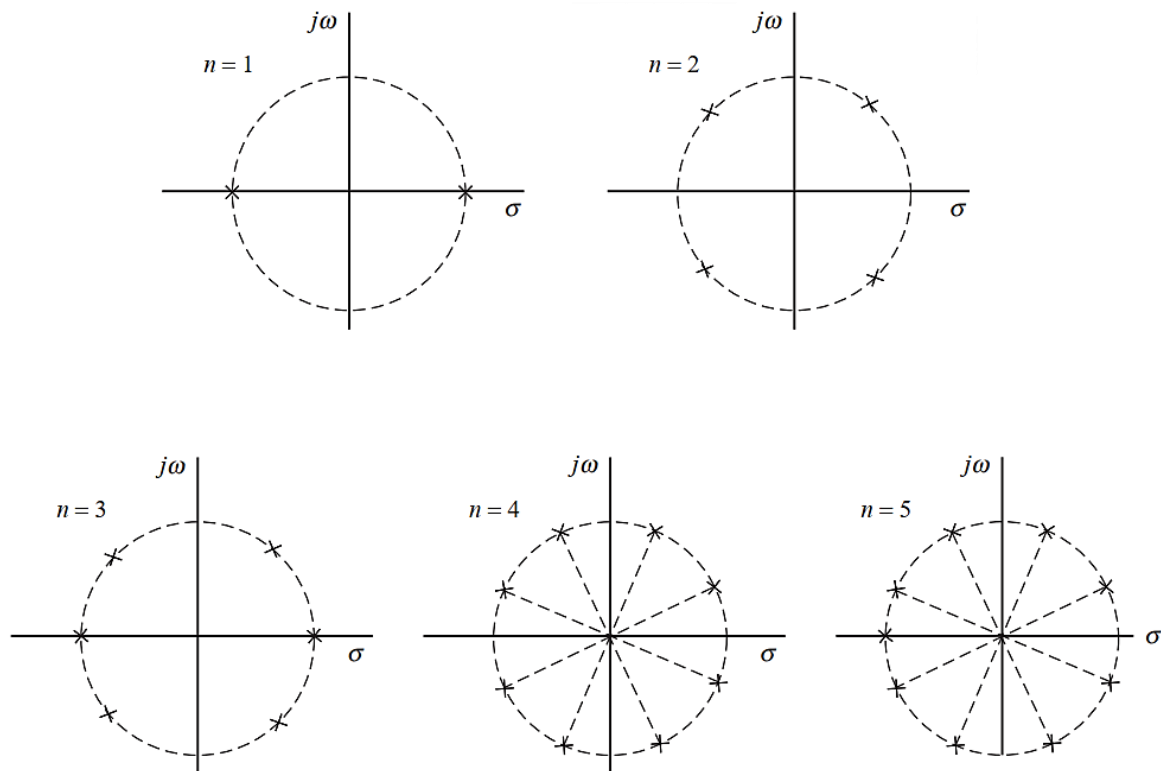


Fig. 3.17: Localización de los polos de la función de Butterworth para diferentes grados, las raíces ubicadas en el semi plano izquierdo pertenecen a los polos del filtro correspondiente [46]

e.3). Redes Sallen-Key

La topología Sallen-Key es una topología de filtro electrónico utilizada para implementar filtros activos valorada por su elevada impedancia y simplicidad. Es una forma degenerada de una topología de filtro de fuente de tensión por tensión (VCVS), que utiliza un amplificador de tensión de ganancia unitaria con elevada impedancia diferencial y reducida impedancia de salida para implementar una respuesta bipolar de paso bajo, paso alto, pasa banda, etc. [48]

Una de las razones para usar la topología Sallen-Key es que esta topología expone la mínima dependencia que tiene el rendimiento del filtro, con respecto al rendimiento de los amplificadores operacionales. Esto se debe al hecho de que el amplificador operacional es independiente de la red del filtro, lo que minimiza los requisitos de ancho de banda de ganancia por parte del amplificador operacional. Los términos de frecuencia y Q son parcialmente independientes, pero son altamente sensibles al parámetro de ganancia. Adicionalmente, la topología Sallen-Key es muy sensible al Q para los valores de los elementos, especialmente para las secciones de alto Q [49].

Para el circuito de la Fig. 3.18, que muestra la topología general Sallen-Key, su función de transferencia es:

$$H(s) = \frac{H_o}{1 + \omega_c [C_1(R_1 + R_2) + (1 - H_o)R_1C_2]s + \omega_c^2 R_1R_2C_1C_2s^2} \quad (2.24)$$

Donde:

$$H_o = 1 + \frac{R_4}{R_3} \quad (2.25)$$

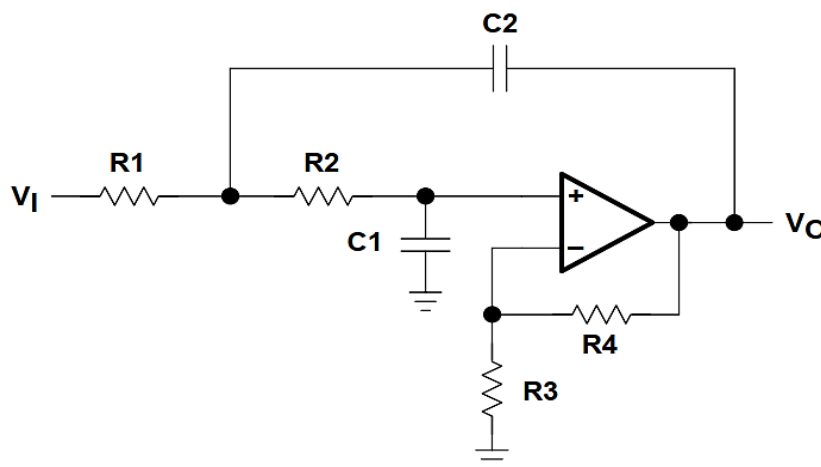


Fig. 3.18: Arquitectura Sallen-Key general de filtro Pasa Bajo [50]

Para el circuito de ganancia unitaria de la Fig. 3.19, su función de transferencia está dada por:

$$H(s) = \frac{1}{1 + \omega_c [C_1(R_1 + R_2)]s + \omega_c^2 R_1 R_2 C_1 C_2 s^2} \quad (2.26)$$

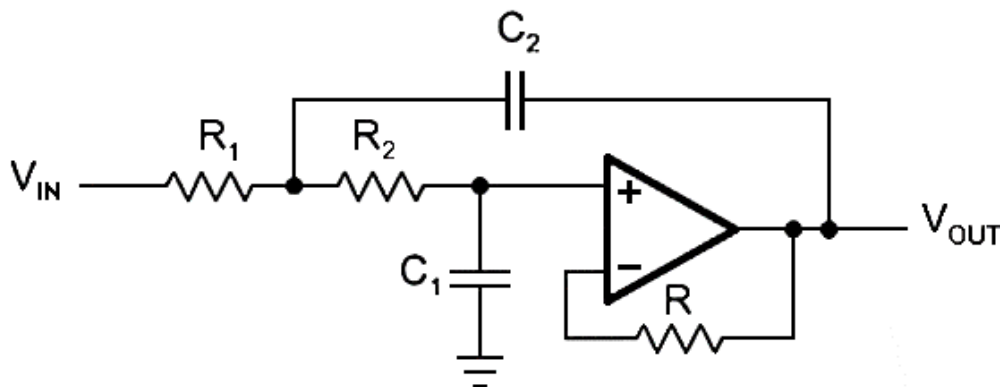


Fig. 3.19: Filtro Pasa Bajo Sallen-Key de ganancia unitaria [50]

Para obtener filtros de mayor orden ($n > 3$), se coloca en cascada dos o más etapas. El presente trabajo se orienta a trabajar con los filtros pasa bajos tipo red Sallen-Key de ganancia unitaria dado que la magnitud de las señales con las que se trabaja no debe ser alterada.

e). Conversores

e.1). Conversor Digital Analógico (DAC)

Un DAC es un dispositivo cuya función es convertir señales digitales, compuestas por datos binarios, en datos de señal de voltaje o de corriente, calificadas como señales analógicas. Es preciso además resaltar que la salida analógica depende de la presencia de tal entrada analógica conocida como referencia, y la precisión de la referencia es casi siempre el factor limitante de la precisión absoluta de un DAC. Algunos DAC usan referencias externas, tal como se aprecia en la Fig. 3.20, y cuentan con un terminal de entrada de referencia, en cambio, otros tienen una salida a partir de una referencia interna [51].

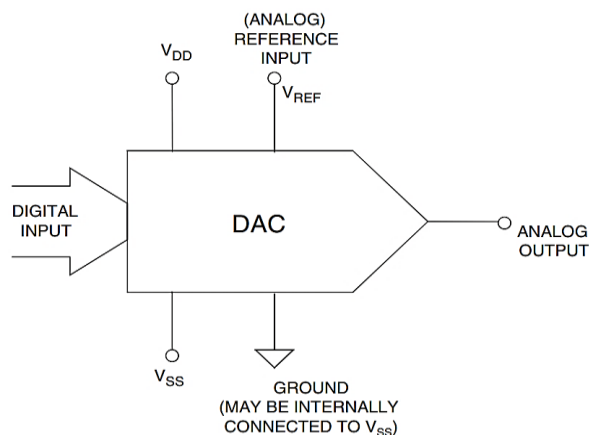


Fig. 3.20: Conversor DAC con referencia externa [51]

El DAC cuenta con algunas características presentadas en la hoja de datos del fabricante que resultan importantes al momento de escoger una aplicación de uso, tales características son: [52]

- La resolución o el tamaño del paso define el cambio de voltaje o corriente más pequeño posible para la señal de salida del DAC. La resolución se mide en bits.
- El tiempo de estabilización es el tiempo necesario para que la salida del DAC se establezca en el 99,5 % de su nuevo valor.
- La precisión es un parámetro que se usa para señalar el valor de señal a la salida del DAC, con respecto al valor esperado, medido en porcentaje. Por lo general, la precisión es del 50% del tamaño del paso.

Un DAC de 1 bit se puede considerar como un interruptor de cambio, tal como se visualiza en la Fig. 3.21, que cambia una salida entre una referencia y tierra o entre voltajes de referencia positivos y negativos iguales. Asimismo, existen muchas estructuras de DAC tales como: El modulador por Ancho de Pulsos (PWM), DAC de sobre muestreo como el DAC Delta-Sigma, DAC de Ponderado Binario, DAC Escalera R2R, DAC Híbrido, etc.

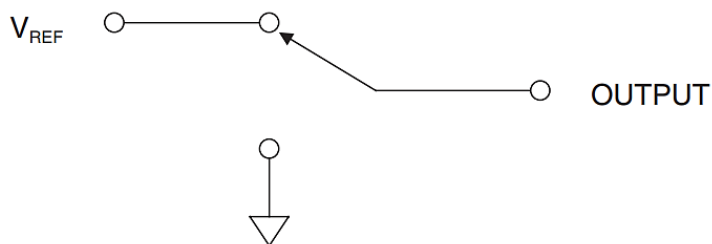


Fig. 3.21: DAC de 1 bit como un interruptor de cambio [51]

e.2). Conversor Analógico Digital (ADC)

Un conversor de señal analógica a digital (ADC) es un dispositivo con la función de convertir una señal analógica, ya sea esta una señal de tensión o de corriente, en una señal digital, la cual se codifica y se obtiene como resultado un código binario en particular. Este código es la representación unívoca de los elementos cuantificados, de este modo, cada valor numérico binario hace correspondencia a un único valor de la señal de tensión o de corriente. [53]

El diagrama de bloques de la Fig. 3.22 expone el proceso de conversión de un sistema físico hacia la obtención del código binario.

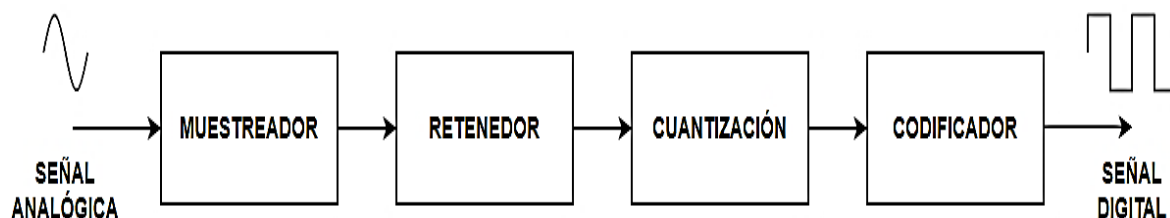


Fig. 3.22: Diagrama de bloques secuencia de conversión analógica a digital.

- **Muestreo**

En esta etapa, se obtienen valores discretos de la señal analógica a una determinada frecuencia de muestreo, lo cual es idéntico a multiplicar la señal analógica por una secuencia de impulsos de período constante. Como resultado de esta operación se obtiene un tren de impulsos cuya amplitud de cada uno está limitada por la envolvente de la señal analógica.

$$x_s(t) = x(t) \sum_{k=0}^n P(t - kT_s) = \sum_{k=0}^n x(kT_s) P(t - kT_s) \quad (2.27)$$

Donde:

$x_s(t)$: es la señal muestreada.

$\sum_{k=0}^n P(t - kT_s)$: es el tren de impulsos con un período de muestreo T_s .

$x(t)$: es la señal que será muestreada.

Para garantizar una toma de muestra adecuada, es importante la frecuencia a la que se realiza el muestreo. El teorema de Nyquist describe la manera de muestrear una señal sin perder información durante el proceso; establece que, para muestrear una señal, se requiere

realizar su muestreo con una frecuencia mayor al doble de la frecuencia máxima contenida en la señal, como se expone en la ecuación (2.8).

$$f_{muestreo} \geq 2f_{m\acute{a}x} \quad (2.28)$$

De forma alternativa, se define la frecuencia de Nyquist basada en una determinada frecuencia de muestreo:

$$f_{Nyquist} = \frac{1}{2}f_{muestreo} \quad (2.29)$$

Cualquier señal que posea frecuencias más altas que la frecuencia de Nyquist no se puede reconstruir a partir de la señal muestreada y, por lo tanto, se denomina señal sub muestreada. Al tratar de reconstruir la señal, se está obteniendo una señal de una frecuencia más baja, dicho efecto es denominado aliasing. Si la señal contiene frecuencias menores a la frecuencia de Nyquist, se puede reconstruir de forma correcta la señal originalmente muestreada, y se considera una señal sobremuestreada. Por último, si la señal está limitada en la banda de frecuencia igual a la de la frecuencia de Nyquist, se denomina una señal críticamente muestreada [54].

- **Retención**

Esta etapa cumple la función de mantener la amplitud de la señal muestreada mediante un circuito de retención, hasta el momento en que se toma la siguiente muestra. Por consiguiente, el valor de retención permanece sin cambios hasta el siguiente dato muestreado.

- **Cuantización**

Es la etapa encargada de convertir la sucesión de muestras con señal de amplitud analógica en una señal con amplitud discreta; este proceso se realiza dentro de un margen de niveles preestablecidos, que permiten la obtención del valor más aproximado a la amplitud de la señal analógica. La diferencia entre el valor cuantizado y el valor de entrada se denomina error de cuantización que, como tal, queda determinado del mismo modo en función a la resolución que posee el convertidor.

- **Codificación**

El bloque de codificación se encarga de asignar el código binario a la señal de amplitud discreta obtenida en el proceso de cuantización.

CAPÍTULO IV

MARCO CONCEPTUAL

En el presente capítulo se exponen las definiciones que esclarecen los conceptos teóricos abordados en el marco teórico del proyecto realizado.

1) Ánodo:

Por definición, “ánodo es el electrodo en una celda galvánica sobre el cual ocurre el proceso de oxidación” [22].

2) Amplificador operacional:

También llamado op amp. Es un subsistema eléctrico activo de acoplamiento directo que tiene ganancia de potencia, con el objetivo de ser generalmente usado en un circuito de retroalimentación. Manipula una variable de salida o variables en respuesta a una variable de entrada local o variables derivadas de una estructura de caracterización asociada a una red [55].

3) Cátodo:

Por definición, “cátodo es el electrodo en una celda galvánica sobre el cual ocurre el proceso de reducción” [22].

4) Concentración:

La concentración de una solución “es la cantidad de soluto presente en una determinada cantidad de solución. La unidad comúnmente usada para cuantificar la concentración es la molaridad (M) o concentración molar, la cual se define como el número de moles de soluto por litro de solución” [22].

5) Corriente de polarización de entrada:

Se define como “el promedio de las corrientes de entrada CC hacia las entradas del amplificador operacional” [56].

6) Potencial Redox:

También “denominado como Potencial de Oxidación-Reducción. Es el valor potencial en el que ocurre la oxidación en el ánodo, y la reducción ocurre en el cátodo de una celda electroquímica” [57].

7) Diodo:

Un diodo es un dispositivo semiconductor de dos terminales. Ofrece una baja resistencia del orden de miliohmios en una dirección y una alta resistencia del orden de Gigaohmios en la otra dirección. Así, un diodo permite un fácil flujo de corriente en una sola dirección. [46]

8) Electrodo:

“Representa un conductor/semiconductor eléctrico en una celda electroquímica; en electroquímica, es la fase conductora donde se produce la transferencia de electrones; puede ser un ánodo o un cátodo.” [58]

9) Electrodo inerte:

Se denomina electrodo inerte a la condición que tiene el electrodo cuando no ocasiona reacción ni interferencia con la celda electroquímica.

10) Factor de calidad:

También denominado factor Q . Representa “una medida de la agudeza de la resonancia o selectividad de frecuencia de un sistema mecánico o eléctrico. Asimismo, también se define como una medida de la relación entre la energía almacenada y la tasa de disipación en ciertos elementos, estructuras o materiales eléctricos” [55].

11) Filtro:

Un filtro es un dispositivo permite el paso de señales eléctricas en ciertas frecuencias o rangos de frecuencia mientras atenúa la magnitud de aquellas fuera del rango de frecuencia establecido [45].

12) Hardware:

Conjunto de todos los componentes físicos del equipo que conforman un sistema informático, por ejemplo, dispositivos mecánicos, magnéticos, eléctricos o electrónicos. [55]

13) Impedancia:

La impedancia se define como la razón entre el voltaje de CA y la corriente de CA en un punto dado de una red [46]. De este modo, la impedancia es una resistencia aparente al flujo de una corriente eléctrica alterna, una vez impuesta una tensión alterna. En general, la impedancia está compuesta por dos partes: una parte resistiva y una reactiva.

14) Molécula:

“Una molécula es un agregado de al menos dos átomos en un arreglo definido que se mantiene unido por fuerzas químicas (también llamados enlaces químicos). Una molécula puede contener átomos del mismo elemento o átomos de dos o más elementos unidos en una proporción fija, de acuerdo con la ley de las proporciones definidas.” [22]

15) Nube:

La computación en la nube es un término utilizado para describir tanto una plataforma como un tipo de aplicación. Una plataforma de computación en la nube abastece, configura, reconfigura y desabastece servidores dinámicamente según sea necesario. Los servidores en la nube pueden ser máquinas físicas o máquinas virtuales. La computación en la nube también describe aplicaciones que se amplían para ser accesibles a través de Internet [59].

16) Python:

Python es un lenguaje de programación creado por Guido van Rossum a principios de los años 90. Se trata de un lenguaje interpretado o de script, además, se caracteriza por poseer un tipado dinámico, fuertemente tipado, ser multiplataforma y estar orientado a objetos.

17) Polo:

“Son las raíces del denominador polinomial establecido para la función de transferencia de una red” [41].

18) Software:

Conjunto de programas informáticos, procedimientos, reglas y documentación relacionada con el funcionamiento de un sistema de procesamiento de datos, por ejemplo, computadoras, monitores, editores, programas de utilidad [55].

19) Tasa de escaneo:

Es la razón con la que cambia el valor de la tensión en un valor de tiempo determinado. Sus unidades se expresan en V/s [60].

20) Tensión de compensación de entrada:

La tensión de compensación de entrada es la tensión de entrada diferencial que existe entre dos terminales de un amplificador operacional sin ninguna entrada externa aplicada [46].

CAPÍTULO V

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

En el presente capítulo se expone el desarrollo del trabajo de investigación, donde se incluyen el tipo, nivel y diseño que posee la tesis. Se detallan además las etapas que conforman el sistema diseñado y los elementos útiles que llevaron a cabo su desarrollo. Asimismo, se especifican las características y el diseño de hardware y software del dispositivo de *read out*.

5.1. Tipo, nivel y diseño de la investigación

La presente investigación se relaciona básicamente con el diseño de un dispositivo *read out*, el cual ha sido ensayado con múltiples probetas y contrastado con un dispositivo patrón.

5.1.1. Tipo

La investigación realizada en la presente tesis consiste en el diseño y desarrollo de un dispositivo de *read out* que influya en el procesamiento de potenciales redox en biosensores, cuya implementación es realizada mediante elementos de clase instrumentación en conjunto con la programación de los algoritmos con lenguaje Python en una SCB. Por lo tanto, la naturaleza de la investigación presentada en este trabajo es de tipo aplicada casi experimental.

5.1.2. Nivel

Considerando que la presente tesis de investigación resuelve el problema presentado en el capítulo I, el nivel que se le atribuye a esta investigación es aplicado. Con la implementación del dispositivo de *read out*, la investigación realizada fue capaz de procesar potenciales redox en biosensores. El modelo de dispositivo diseñado emplea solamente elementos explicados en el Capítulo III, para realizar el procesamiento de los potenciales redox en biosensores, ofreciendo así solución al problema planteado de la investigación.

5.1.3. Diseño

El diseño de la tesis de investigación realizada es de tipo aplicado. Esto con base en la naturaleza del funcionamiento de los circuitos analógicos y digitales que conforman el sistema de *read out*, así como el diseño del sistema requerido. Asimismo, el diseño de la investigación es de carácter preexperimental, ya que la variable independiente (Dispositivo de *read out*) es manipulada y su efecto sobre la variable dependiente (potenciales redox en biosensores) es medido.

5.2. Ingeniería del Trabajo de Investigación

5.2.1. Especificaciones generales

Se definen las especificaciones del diseño del dispositivo de acuerdo a las necesidades que deberán ser cubiertas por el sistema que, como tal, será dividido en 3 partes para su desarrollo:

- Sistema analógico.
- Sistema digital.
- Sistema de alimentación.

El hardware del dispositivo potencióstato es el encargado de cumplir con las funciones de generación, acondicionamiento, control y cuantificación de las señales de tensión y corriente emitidas por el sistema en la configuración de tres electrodos durante el experimento electroquímico. Por otra parte, el software es el encargado del guardado y procesamiento tanto de los datos emitidos como recibidos del circuito analógico, con el objetivo final de transmitir la data hacia una plataforma en la nube. Por último, el sistema de alimentación será el encargado de proveer la energización requerida para el correcto funcionamiento de los sistemas analógico y digital.

La Fig. 5.1 presenta el diagrama de bloques general que conforman el dispositivo potencióstato.

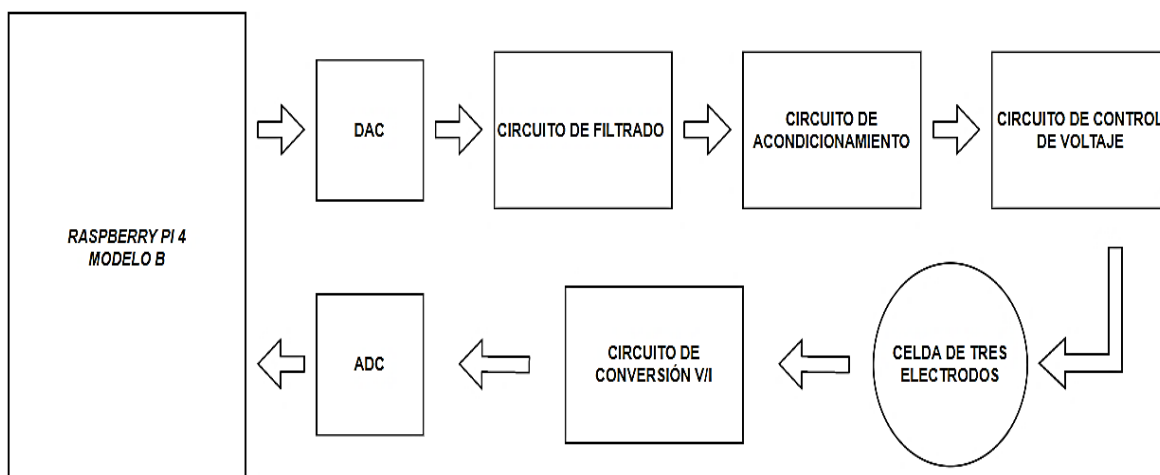


Fig. 5.1: Diagrama de bloques del sistema general

a). Componentes Electrónicos

Se precisan aquellos elementos necesarios para la construcción del dispositivo potencioestado:

a.1). Elementos activos

- Amplificador Operacional.
- Convertidores de Voltaje.
- Conversor Digital-Analógico (DAC).
- Conversor Analógico-Digital (ADC).
- Computadora de Placa Única (SBC).

a.2). Elementos pasivos

- Resistencias.
- Capacitores.
- Diodos.

b). Técnicas Electroquímicas Implementadas

De forma preliminar al diseño del sistema analógico, es necesario tener conocimiento de las técnicas electroquímicas que se van a implementar en el dispositivo, así como sus características y parámetros.

b.1). Voltametría Cíclica

Es una técnica fundamental en el análisis y caracterización de compuestos electroquímicos, como se expuso en el Capítulo III, y trata con los siguientes parámetros:

- Potencial de inicio. Primer valor de la onda desde el que se comienza la lectura voltamétrica.
- Potencial alto. Máximo valor del voltaje de la onda.
- Potencial bajo. Mínimo valor del voltaje de la onda.
- Velocidad de barrido. Es la variación del voltaje por segundo, se mide en V/s.
- Número de ciclos. Cantidad de veces que se repetirá la curva voltamétrica con los anteriores parámetros ingresados.

De acuerdo a lo requerido en el Protocolo del laboratorio de Biosensores del Instituto de Enfermedades Tropicales (IET) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas y con base en el experimento electroquímico de Voltametría Cíclica, desarrollado en la tesis doctoral “*A Universal Electrochemical Biosensor for the Detection of Nucleic Acids based on a Four-Way Junction Structure*” de Dawn M. Mills [61], los rangos determinados de trabajo de los parámetros de la voltametría cíclica se muestran en la TABLA 5.1.

PARÁMETRO	RANGO
Potencial de inicio	-1.5 V a 1.5 V
Potencial alto	-1.5 V a 1.5 V
Potencial bajo	-1.5 V a 1.5 V
Velocidad de barrido	100 mV/s
Número de ciclos	1 a 10

TABLA N° 5.1: Rangos de operación de los parámetros de la Voltametría Cíclica.

c). Selección de componentes

c.1). Computadora de Placa Única

Debido a los requerimientos del sistema, se optó por la computadora de placa única Raspberry Pi 4 modelo b, que se muestra en la Fig. 5.2.

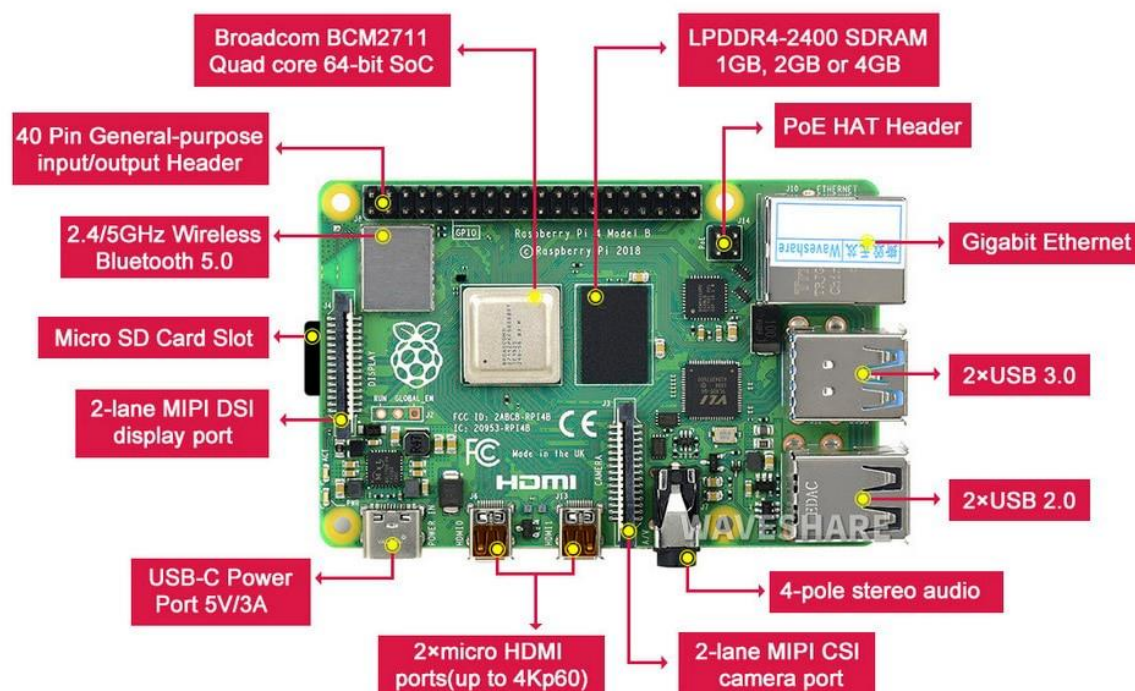


Fig. 5.2: Raspberry Pi 4 modelo b y sus elementos.

En la TABLA 5.2 se muestran sus características principales.

CARACTERÍSTICAS	ESPECIFICACIONES
Procesador	Broadcom BCM2711, Quad core Cortex-A72 (ARM v8) 64-bit SoC @ 1.5GHz
Memoria RAM	1GB, 2GB, 4GB, 8GB LPDDR4-3200 SDRAM (depende del modelo)
GPIO	Cabecera GPIO estándar de 40 pines
Conectividad	2.4 GHz and 5.0 GHz IEEE 802.11ac wireless, Bluetooth 5.0, BLE Gigabit Ethernet
Puertos USB	2 puertos USB 3.0; 2 puertos USB 2.0.
Soporte para video y sonido	2 puertos micro-HDMI que admiten pantallas de 4K a 60Hz a través de HDMI

	2.0, 1 puerto de pantalla MIPI DSI, 1 puerto de cámara MIPI CSI, salida estéreo de 4 polos y puerto de vídeo compuesto
Soporte para tarjeta SD	Ranura para tarjeta micro SD para cargar el sistema operativo y almacenamiento de datos
Alimentación	5V DC via USB-C connector (mínimo 3A) 5V DC via GPIO header (mínimo 3A) Alimentación a través de Ethernet (PoE) – habilitado (requiere PoE HAT separado)
Temperatura de Operación	0 – 50° C

TABLA N° 5.2: Características y especificaciones de la Raspberry Pi 4 modelo b.

c.2). Selección de conversores

Para un correcto funcionamiento del dispositivo potencióstato, se requiere que el software cumpla con la función de generar señales analógicas hacia la celda electroquímica, del mismo modo, la señal de corriente obtenida es una señal analógica, la cual debe ser leída e interpretada por el sistema embebido; por tal motivo, es preciso que el sistema embebido a usar disponga de la facilidad de producir tales señales analógicas. Dado que la SCB Raspberry Pi no posee un ADC o un DAC integrados a su placa, se tomó como consideración los siguientes aspectos para la elección de los conversores:

- Alta resolución.
- Voltaje de alimentación de 3.3 V o 5 V.
- Interfaz I2C.
- Bajo consumo de energía.

- **Conversor Digital Analógico (DAC)**

Se seleccionó el DAC MCP4725, el cual posee las siguientes características según la TABLA N° 5.3:

CARACTERÍSTICAS	ESPECIFICACIONES
Resolución	12 bits
Memoria	Memoria no volátil integrada (EEPROM)
Interfaz I2C	Ocho direcciones disponibles Estándar (100 kbps), Rápida (400 kbps) y Modo de alta velocidad (3,4 Mbps)
Tiempo de asentamiento	6 μ s (típico)
Alimentación	Operación de suministro único de 2.7 V a 5.5 V
Consumo	Bajo consumo de energía

TABLA N° 5.3: Características y especificaciones del MCP4725

Al contar con una resolución de 12 bits, y establecida un rango de salida máxima para el DAC MCP4725 de 0V a 5V, se cuenta con la fórmula para la resolución de conversión de tensión:

$$\frac{V_{FSR}}{2^n - 1} \quad (5.1)$$

Donde:

V_{FSR} : Voltaje en rango de escala completa.

n: número de bits de resolución.

Así, para 5V como V_{FSR} y $n = 12$, se tiene:

$$Resolución = \frac{5V}{4096 - 1} = 1.22 mV \quad (5.2)$$

Lo cual significa que el DAC MCP4725, mostrado en la Fig. 5.3, convierte los valores en tamaños de paso con un mínimo de 1.22 mV, esto permitirá la generación de una señal lo suficientemente precisa para el alcance del experimento. Además, mediante la interfaz I2C se puede configurar la velocidad de transmisión entre los valores de 100 Kbps, 400 Kbps y 3.4 Mbps. Para el alcance de la investigación, el valor establecido de transmisión de datos, a una velocidad 100 Kbps, es suficiente.

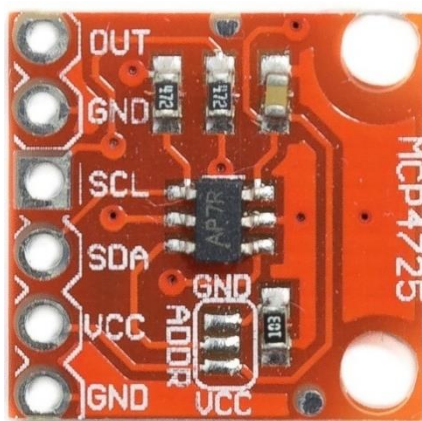


Fig. 5.3: Convertidor D/A MCP4725.

- **Convertor Analógico Digital (ADC)**

Se seleccionó el ADC ADS1115, el cual posee las siguientes características según la Tabla 5.4:

CARACTERÍSTICAS	ESPECIFICACIONES
Resolución	16 bits (1 bit para el signo)
Interfaz I2C	Cuatro direcciones seleccionables por pin
Velocidad de datos	Programable de 8 SPS hasta 860 SPS
Alimentación	Amplio rango de suministro de 2.0 V a 5.5 V
Consumo de corriente	Bajo consumo de 150 uA (En modo de conversión continua)

TABLA N° 5.4: Características y especificaciones del ADS1115.

El convertidor ADS1115 cuenta con un amplificador de ganancia programable o PGA, que establece el valor de referencia para el convertidor. Por lo tanto, con base en la ganancia escogida por el ADS1115, se establece la escala de lectura de voltajes de acuerdo a su resolución de 16 bits. La TABLA 5.5 muestra los valores de ganancia programable que posee el ADS1115, así como su escala en mV.

PGA	Referencia (V)	Escala (mV)
2/3	6.144	0.1875
1	4.096	0.1250
2	2.048	0.0625
4	1.024	0.0312

8	0.512	0.0156
16	0.256	0.0078

TABLA N° 5.5: Valores de Ganancia Programable y escala de conversión del ADC.

Los valores de escala son calculados en función a la resolución que posee el ADS1115, que, como tal cuenta con 15 bits de resolución de conversión, más 1 bit que determina el signo. Para el propósito del proyecto, el ADC es alimentado con una tensión del valor de 3.3 V, y una PGA que establece una tensión de referencia de 4.096 V. Así, para una tensión de referencia de 4.096 V como V_{SFR} y $n = 15$, de la ecuación 5.1, se tiene:

$$Resolución = \frac{4.096 V}{2^{15}} = 0.1250 mV \quad (5.3)$$

Lo cual significa que el ADC ADS1115, mostrado en la Fig. 5.4, permite lecturas por paso de amplitud de hasta 0.1250 mV provenientes del sistema analógico, permitiendo una lectura precisa de la señal de corriente.

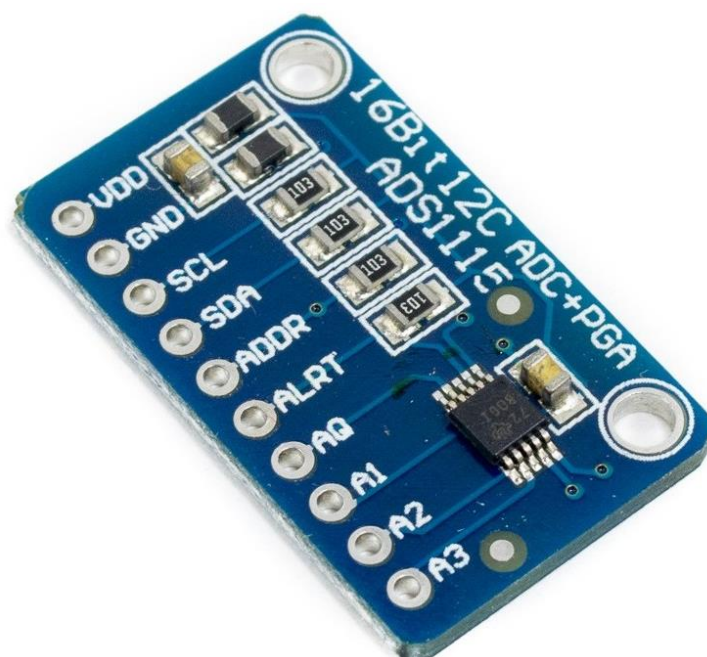


Fig. 5.4: Convertidor A/D ADS1115.

- **Convertor de Voltaje**

Se escogió el Circuito Integrado ICL7660 SCPAZ, del fabricante RENESAS, el cual es un convertidor de voltaje CMOS con la capacidad de generar voltajes complementarios a entradas de tensión positiva en el rango de 1.5 V a 12 V. Tal característica permite obtener una alimentación de tensión negativa para la adquisición de datos en sistemas de

instrumentación. Adicionalmente, de acuerdo a sus características, puede ser usado como multiplicador o divisor de tensiones. En la Fig. 5.5 se muestra una imagen del circuito integrado en encapsulado DIP.



Fig. 5.5: Convertidor de tensión CMOS ICL7660.

c.3). Amplificadores Operacionales y componentes pasivos

Para precisar un control adecuado de la tensión de entrada al sistema de la celda electroquímica, es necesario contar con Amplificadores Operacionales que cuenten con las siguientes características: bajo voltaje de compensación, baja corriente de deriva y bajo ruido, por lo tanto, se escogió el amplificador operacional de clase instrumentación AD620, de ANALOG DEVICES, que cuenta con 50 μ V como máximo voltaje de compensación, 1 nA como máxima corriente de polarización y 100 dB de CMRR.



Fig. 5.6: Amplificador operacional de clase instrumentación AD620.

Para obtener mediciones de baja corriente y alta precisión se requiere de amplificadores con corriente de polarización muy pequeña y bajo ruido. Con base en los requerimientos establecidos, se escogió el amplificador operacional de clase instrumentación

con entrada J-FET TL081CP de Texas Instruments, que posee una amplia tensión de suministro (± 18 V), cuenta con pines que permiten anular la tensión de compensación, así como con una corriente de polarización muy baja, que alcanza valores máximos de 200 pA, posee un bajo consumo de energía y una Distorsión Armónica Total (THD) del 0.003 % según especificaciones del fabricante. La Fig. 5.7 presenta una imagen del amplificador operacional a utilizar. Además, el sistema debe contar con valores precisos de las resistencias, condensadores, potenciómetros y diodos.

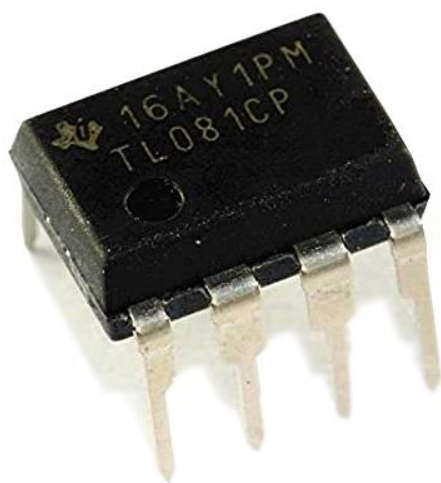


Fig. 5.7: Amplificador operacional con entrada J-FET TL081.

Para el caso de los valores de los elementos pasivos se usaron resistencias de precisión de 5 franjas, en la Fig. 5.8 se observa una resistencia de precisión de 0.25 W.



Fig. 5.8: Resistencia de precisión de 5 franjas.

De acuerdo a los valores de diseño en el circuito analógico, se escogieron condensadores cerámicos, tal como lo presenta la Fig. 5.9.

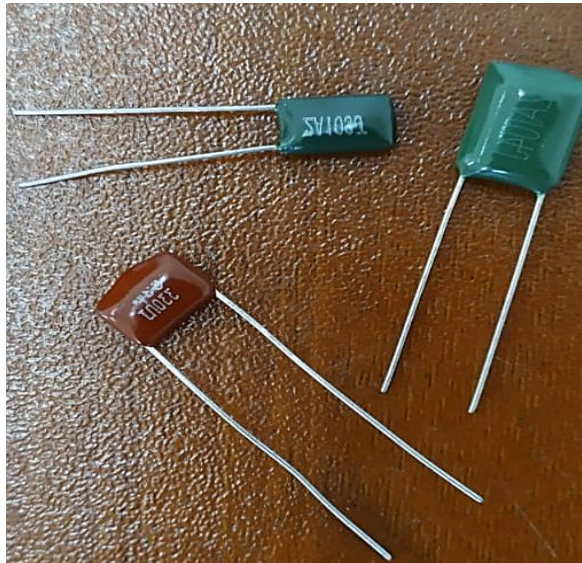


Fig. 5.9: Capacitores cerámicos de diferentes valores de capacitancia.

Adicionalmente, se usaron diodos Zener BZX55B3V3-TR de 0.5 W con 2 % de error en precisión, en la Fig. 5.10 se expone la imagen de un Diodo Zener.



Fig. 5.10: Diodo Zener de 3.3 V, 0.5 W.

5.2.2. Sistema analógico

El sistema analógico debe cumplir con las siguientes funciones:

- Controlar la diferencia de potencial entre los electrodos de trabajo y el electrodo de referencia, sin llegar a polarizar el electrodo de referencia.
- Medir la intensidad de corriente que circula en el electrodo de trabajo.

En consecuencia, el diseño del sistema analógico es fundamental para un control efectivo y la lectura correcta de los valores de corriente y tensión; con ello, se distribuye el sistema analógico en 4 etapas.

a). Etapa de filtrado

En esta etapa el diseño se centra en atenuar el ruido en altas frecuencias mediante el diseño de un Filtro Pasa Pajo Butterworth de cuarto orden con topología Sallen-Key, esto debido a que el filtro Butterworth presenta la respuesta máximamente plana durante su banda de paso y la facilidad de implementación de la topología Sallen-Key. En adición, el filtro poseerá ganancia unitaria para no distorsionar el paso mínimo del convertidor para su adquisición de datos.

Dado que la topología Sallen-Key es usada para implementar filtros activos de segundo orden, se utiliza un sistema de bloques en cascada para obtener un orden superior, de modo que, el diseño planteado sigue de la siguiente manera:

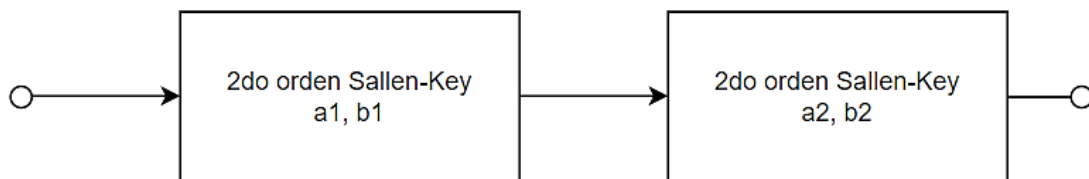


Fig. 5.11: Diagrama de bloques en cascada Filtro Pasa bajas de cuarto orden.

La frecuencia de corte se escoge con un valor de 3.2 KHz.

De acuerdo con los valores que toman los coeficientes del Filtro (ANEXO C), tal como muestra la Fig. 5.11, se diseñan dos etapas en cascada para obtener el Filtro Butterworth Pasa Bajo de cuarto orden.

a.1). Primera etapa

Sean los valores de los coeficientes y el factor de calidad Q :

$$a_1 = 1.8478 \quad (5.4)$$

$$b_1 = 1 \quad (5.5)$$

$$Q = 0.541 \quad (5.6)$$

De acuerdo a la disposición esquemática mostrada en la Fig. 2.19, y relacionando las ecuaciones 2.16 y 2.26, se tiene:

$$H_0 = 1 \quad (5.7)$$

$$a_1 = \omega_c C_1 (R_1 + R_2) \quad (5.8)$$

$$b_1 = \omega_c^2 R_1 R_2 C_1 C_2 \quad (5.9)$$

Dados C_1 y C_2 , los valores de R_1 y R_2 se calculan como:

$$R_{1,2} = \frac{a_1 C_2 \mp \sqrt{a_1^2 C_2^2 - 4b_1 C_1 C_2}}{4\pi f_c C_1 C_2} \quad (5.10)$$

Por consideraciones de diseño:

$$C_2 \geq C_1 \frac{4b_1}{a_1^2} \quad (5.11)$$

Al reemplazar con los valores de a_1 y b_1 :

$$C_2 \geq 1.1715 C_1 \quad (5.12)$$

Se escogen de este modo los valores:

$$C_1 = 10 \text{ nF} \quad (5.13)$$

$$C_2 = 100 \text{ nF} \quad (5.14)$$

Se reemplazan los valores escogidos en la ecuación 5.10, con lo cual se obtiene:

$$R_1 = 277.545 \Omega \quad (5.15)$$

$$R_2 = 8.913 \text{ K}\Omega \quad (5.16)$$

a.2). Segunda etapa

De forma análoga a la primera etapa, se tienen los valores:

$$a_2 = 0.7654 \quad (5.17)$$

$$b_2 = 1 \quad (5.18)$$

$$Q = 1.306 \quad (5.19)$$

Tomando como valores los capacitores:

$$C_1 = 10 \text{ nF} \quad (5.20)$$

$$C_2 = 100 \text{ nF} \quad (5.21)$$

Al reemplazar en la ecuación 5.10, se obtienen los valores:

$$R_1 = 831.365 \Omega \quad (5.20)$$

$$R_2 = 2.975 K\Omega \quad (5.21)$$

Una vez calculados los valores que conforma el sistema de cuarto orden, se realiza la simulación en el software NI Multisim 14 para corroborar los resultados obtenidos.

La Fig. 5.12 muestra el circuito esquemático del filtro implementado, y la Fig. 5.13 muestra su respuesta en Magnitud por la simulación en el software.

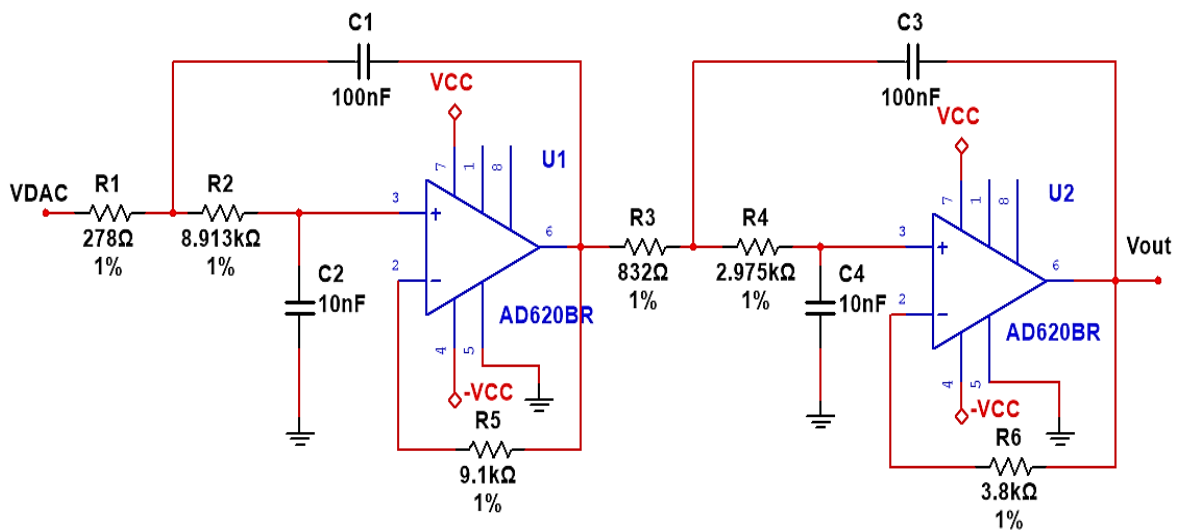


Fig. 5.12: Diagrama esquemático del Filtro Pasa Bajos.

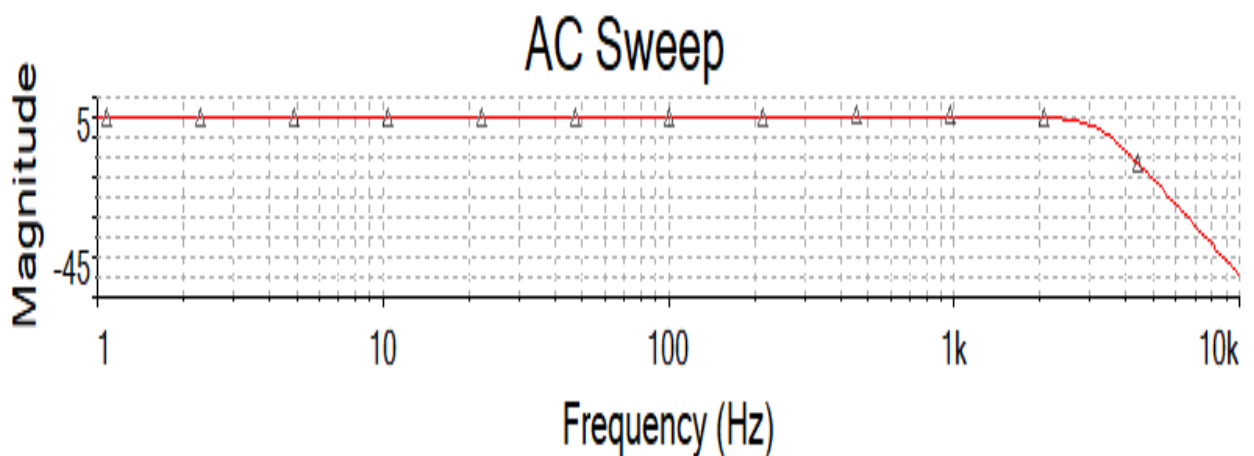


Fig. 5.13: Respuesta en magnitud del Filtro Butterworth Pasa Bajos.

En la Fig. 5.14 se aprecia el valor de atenuación en dB para una frecuencia de 3.2 kHz, lo cual va acorde a lo diseñado.

	$V(7)$
	$V(PR1)$
x1	3.2060k
y1	-3.0481

Fig. 5.14: Respuesta en magnitud del Filtro Pasa Bajos, valor obtenido en dB para la frecuencia de corte establecida.

b). Etapa de acondicionamiento de la señal

Una vez atenuados los componentes de ruido de alta frecuencia, se procede a diseñar el sistema que adecúe la tensión de acuerdo a los requerimientos de la Voltimetría cíclica.

El rango de tensión requerido, mostrado en la TABLA 5.1, varía desde el valor de -1.5 V hasta 1.5 V; dado que el rango de voltaje generado por el DAC MCP4725 varía desde 0 V a 5 V, se utiliza por consiguiente la configuración de un amplificador operacional sumador para cumplir con los requerimientos planteados.

La Fig. 5.15 presenta el circuito esquemático del amplificador sumador diseñado.

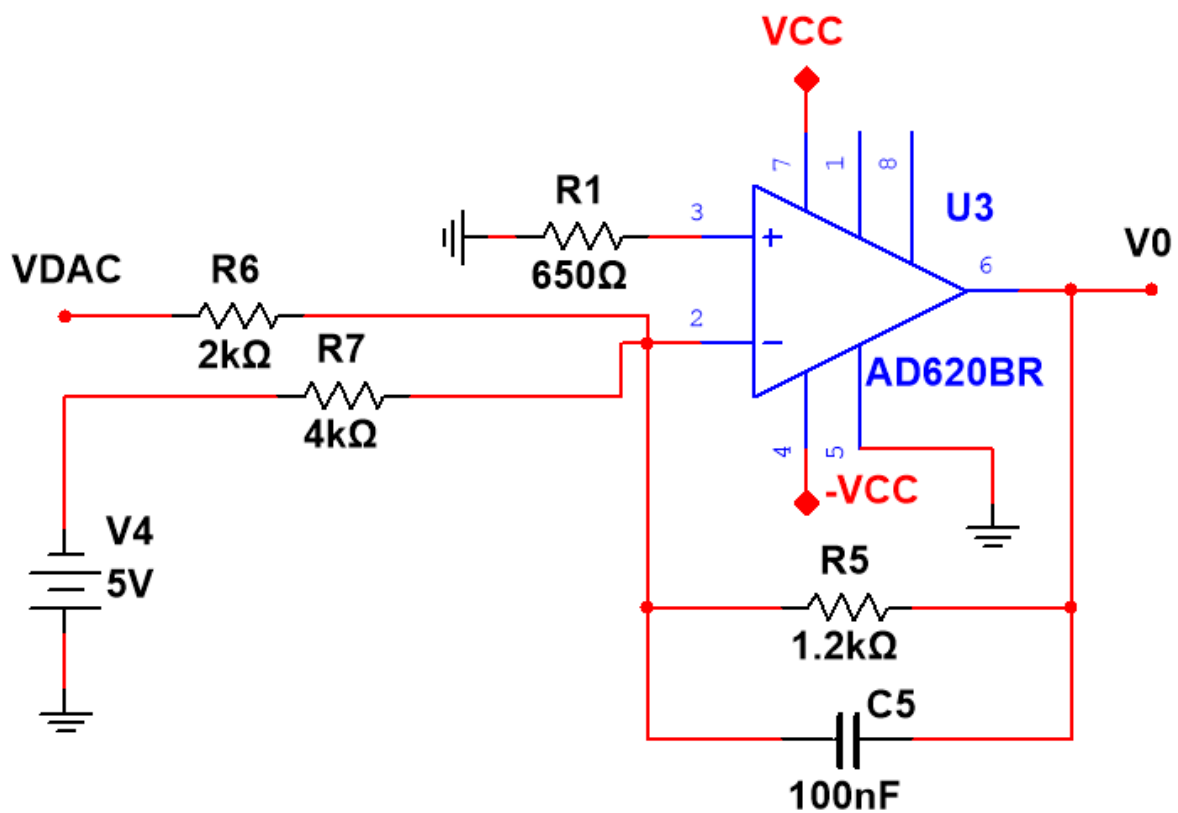


Fig. 5.15: Circuito esquemático del amplificador sumador.

La tensión de salida se rige por la ecuación:

$$V_0 = -1.2 \times \left(\frac{V_{DAC}}{2} - 1.25 \right) \quad (5.22)$$

Así, el valor de tensión, para la generación de una onda triangular, es obtenido de forma invertida a su entrada, tal como se muestra en la Fig. 5.16.

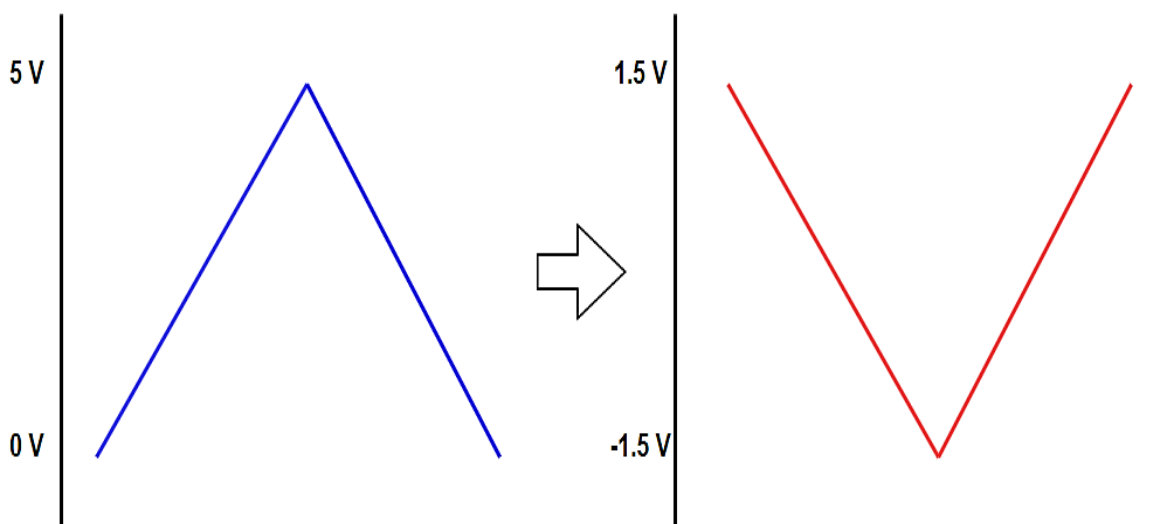


Fig. 5.16: Acondicionamiento de la señal de tensión.

Además, se añadió un capacitor cerámico del valor de 100nF en paralelo con la resistencia R_5 , lo cual establece una frecuencia de corte de:

$$f_c = \frac{1}{2\pi \times 100 \times 10^{-9} \times 1.2 \times 10^3} = 1.326 \text{ KHz} \quad (5.23)$$

c). **Etapa de control de tensión eléctrica**

El sistema de control analógico es el que cumple la función de interactuar con la celda electroquímica para que se realice la reacción electroquímica de forma adecuada.

Como se presentó en el Capítulo II, la configuración típica de un potencióstato se representa por un circuito realimentado, que compensa las caídas de voltaje generadas entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia [30] [62] [63]. De este modo, se muestra en la Fig. 5.17 el diagrama esquemático del circuito analógico de control de tensión.

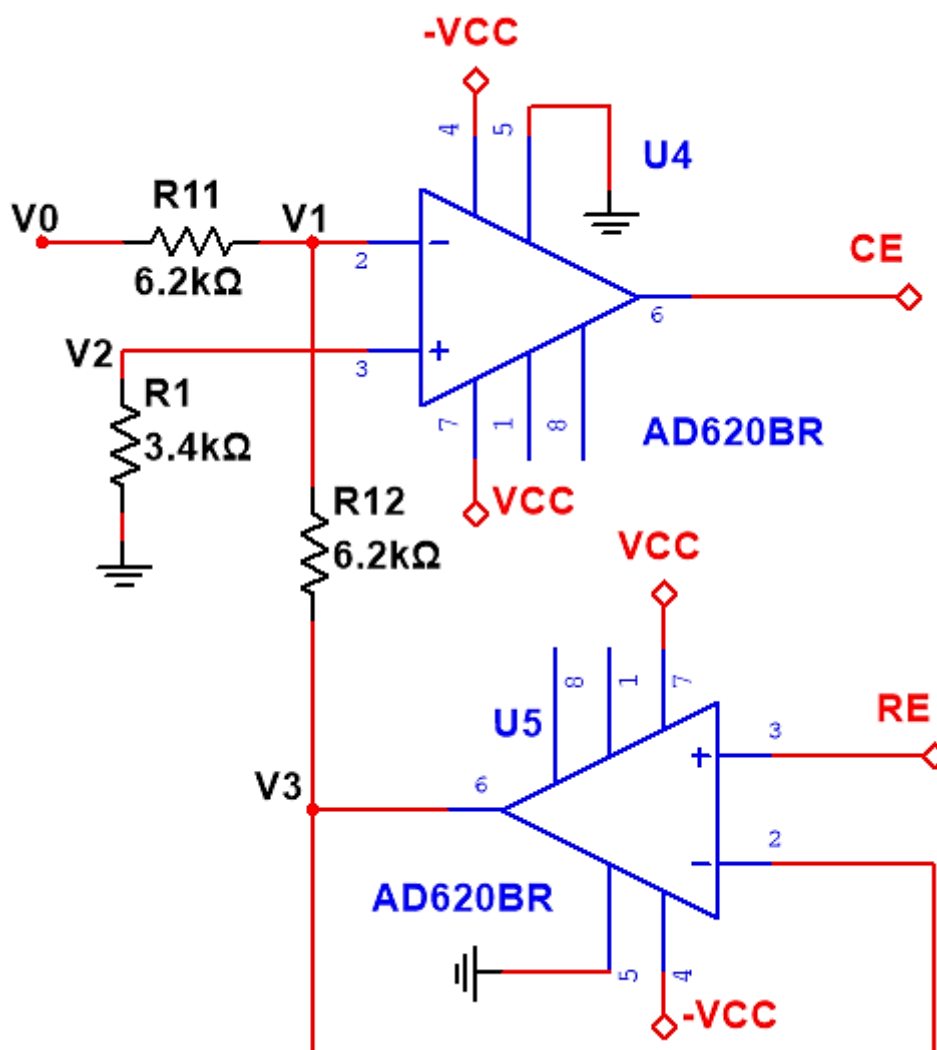


Fig. 5.17: Diagrama esquemático del circuito de control de tensión del potencióstato.

El amplificador operacional U5 ofrece una alta impedancia de entrada a la conexión del Electrodo de Referencia, evitando de esta manera que circule la corriente a través de este y, por lo tanto, no se polarice. Adicionalmente, U5 está configurado en el modo seguidor de tensión, para cumplir con la función de realimentar la tensión de error a través de la resistencia R₁₂, de tal forma que a su salida se tiene como sigue:

$$V_3 = V_0 \quad (5.24)$$

La entrada V₀, que es la señal acondicionada proveniente del opamp en configuración de sumador de tensiones, recibe la señal acondicionada por el circuito analógico de la Fig. 5.15; tomando en consideración que la tensión en V₁, que es el potencial de la entrada diferencial del opamp U4, es igual al potencial de la tierra virtual; además, se recalca que las resistencias R₁₁ y R₁₂ poseen el mismo valor, se aplica la Ley de nodos en el punto V₁, y

tomando en cuenta que a través de la entrada inversora de U4 la corriente de polarización es insignificante para los valores de trabajo, se tiene:

$$\frac{V_0 - V_1}{R_{11}} = \frac{V_1 - V_{RE}}{R_{12}} \quad (5.25)$$

En adición, se tiene la consideración que:

$$V_1 = V_2 = 0 \text{ V} \quad (5.26)$$

Por lo tanto, al reemplazar el valor de 5.26 en la ecuación 5.25, se observa que:

$$V_0 = -V_{RE} \quad (5.27)$$

El voltaje medido en el punto del Electrodo de Referencia (RE) es de igual magnitud y signo apuesto al punto en V_{DAC} , y si momentáneamente no lo es, el voltaje en el punto del Electrodo Auxiliar (CE) aumentará automáticamente para mantener la condición de estabilidad.

La operación apropiada del dispositivo potencióstato depende de las condiciones en las que se encuentren las sustancias en contacto con los electrodos. Una mala conductividad entre el electrodo auxiliar con el electrodo de referencia, o el paso de una corriente excesiva a través del electrodo de trabajo, requerirá un mayor valor de tensión entre el electrodo auxiliar y de referencia para lograr la condición de estabilidad, lo que puede inducir a los amplificadores operacionales a trabajar en su región de saturación. [64]

d). Etapa de conversión V/I

Debido que, en el sistema embebido propuesto, la SCB Raspberry Pi, solo es capaz de realizar lecturas de señales de tensión en sus pines, se diseñó un sistema capaz de convertir la señal de corriente a señal de tensión utilizando circuitos y resistencias estables. Para cumplir con el objetivo establecido, el sistema consiste en un amplificador operacional con la configuración de un amplificador de transimpedancia [26] [30] [15], tal como muestra la Fig. 5.18.

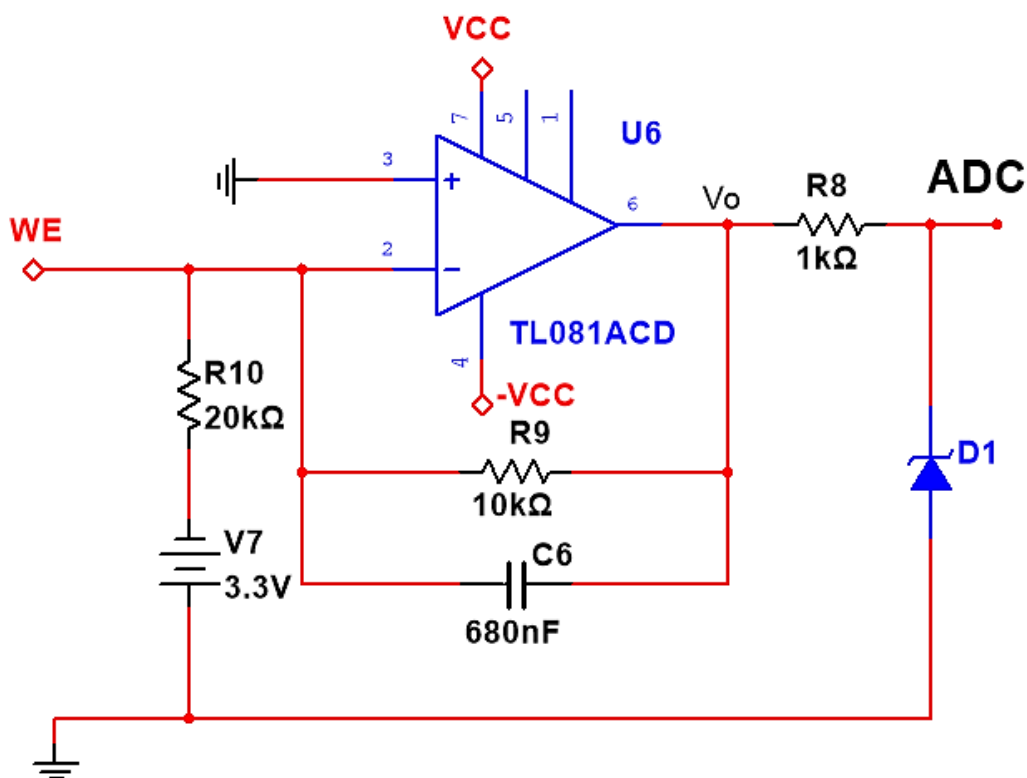


Fig. 5.18: Diagrama esquemático del circuito amplificador de transimpedancia.

La entrada inversora del amplificador usado está conectada directamente al electrodo de trabajo (WE), y a su vez a una fuente de -5 V conectada a una resistencia de 24 kΩ, esta configuración permite obtener a su salida un voltaje gobernado por la siguiente ecuación.

$$V_o = 3.3 V \times \frac{10 K\Omega}{20 K\Omega} - i_{WE} \times 10 K\Omega \quad (5.28)$$

Mediante la ecuación (5.28), se genera un voltaje de compensación con un valor aproximado de 1.66 V, esto se implementa con el objetivo de obtener señales de corriente tanto positivas como negativas, lo cual significa que la obtención de valores por encima o debajo de este valor representan un valor corriente en magnitud positiva o negativa, respectivamente. La ganancia del amplificador de transimpedancia así viene efectuada por la resistencia de realimentación de 10 kΩ, por lo tanto, la salida de voltaje obtenida es proporcional a la corriente que circula por la resistencia de realimentación.

Adicionalmente, el convertor V/I posee otra función: fijar el potencial del Electrodo de trabajo, lo cual ocurre debido a que el WE está conectado directamente a una de las entradas del amplificador de transimpedancia, y en virtud de las características intrínsecas de un amplificador, el valor de ambos voltajes, tanto para la entrada inversora como no

inversora, son casi idénticos. Esta condición y el valor de la tensión en el punto de la tensión RE en el circuito de control, establecen que la diferencia de potencial entre los electrodos de referencia y de trabajo, los cuales una vez han sido establecidos, es constante.

Para evitar superar la tensión permitida por el ADC ADS1115, el cual según especificaciones de diseño soporta 0.3 V superiores a su tensión de alimentación, siendo así que la alimentación proporcionada por el Raspberry Pi al ADC es de 3.3 V, se conecta un Diodo Zener de 3.3 V con un error del 2 %, esto con la finalidad de prevenir un daño en el ADC. Lo que significa que el diodo Zener actúa como un regulador de tensión y, además va conectado con una resistencia de valor de 1 k Ω , lo que provoca una pérdida de tensión entre sus bornes; dado que se necesita el valor correcto de tensión que se obtiene a la salida del amplificador de transimpedancia, se realiza un estudio característico de la curva del diodo Zener, que se expone en la Fig. 5.19.

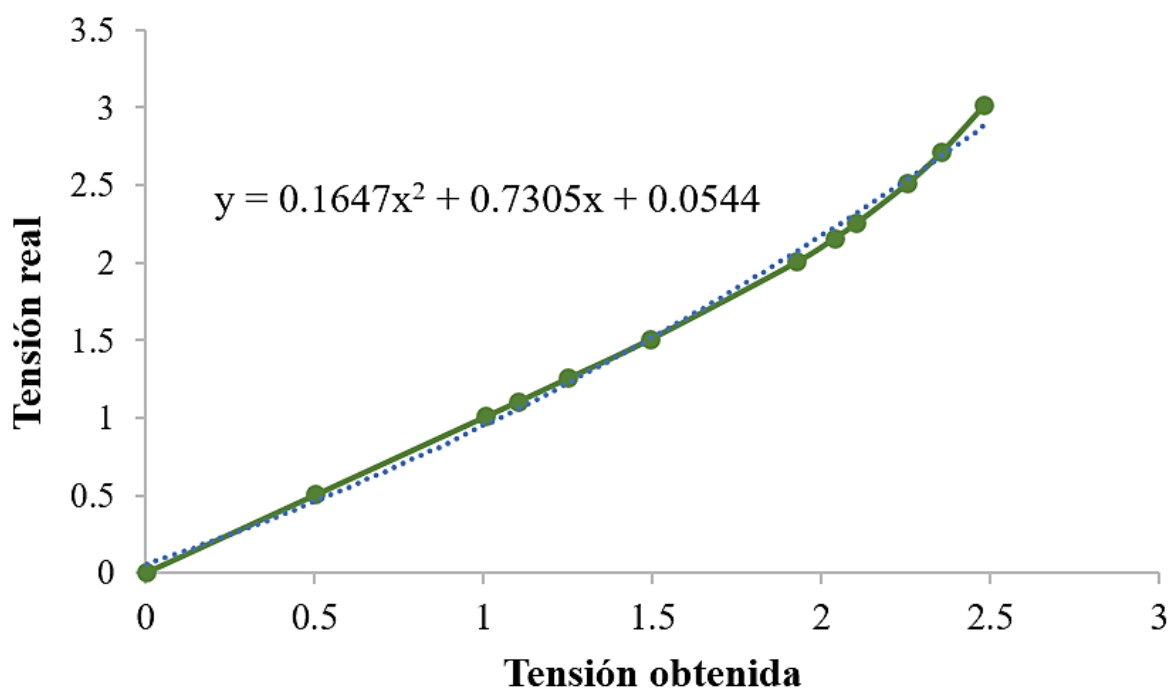


Fig. 5.19: Curva del diodo Zener para el sistema potencióstato

Al tomar en consideración una aproximación polinomial de segundo grado, se obtiene la ecuación cuadrática:

$$y = 0.1647x^2 + 0.7305x + 0.0544 \quad (5.29)$$

Se aplica la métrica del coeficiente de correlación, obteniendo así un valor de $R = 0.9927$.

Por lo tanto, se aplica la ecuación cuadrática para obtener el valor real al momento de procesar los datos que se obtienen del ADC.

$$V_o = 0.1647V_{ADC}^2 + 0.7305V_{ADC} + 0.0544 \quad (5.30)$$

Donde.

V_o : es la tensión real que se obtiene del amplificador de transimpedancia.

V_{ADC} : es la tensión obtenida en el ADC tras la caída de potencial en el diodo Zener y la resistencia de 1 k Ω .

Para la obtención de la señal de corriente, es como sigue:

$$i_{WE} = \frac{1}{10 \text{ K}\Omega} (V_o - 1.66) \text{ A} \quad (5.29)$$

El rango de corriente queda determinado por la máxima tensión que puede ser leída por el ADS 1115, la cual ya ha sido anteriormente limitada a un valor de 3.3 V, no obstante, en vista de que se trabaja con un voltaje de compensación, se cuenta con dos rangos máximos de corriente que se pueden obtener, como sigue.

d.1). Corriente en sentido positivo

Para obtener el máximo valor de corriente en sentido positivo, se realiza el cálculo en el valor límite de 3.3 V, como la tensión de compensación es de 1.66 V, entonces el valor de la máxima corriente queda determinado por el valor siguiente.

$$i_{max} = \frac{(3.3-1.66) \text{ V}}{10 \text{ K}\Omega} = 166 \mu\text{A} \quad (5.31)$$

Por lo tanto, el máximo valor de corriente positiva que el dispositivo es capaz de leer es de 166 μA , para valores superiores, el dispositivo entra en saturación debido al afecto característico de límite de tensión por parte del diodo Zener.

d.2). Corriente en sentido negativo

Para obtener el máximo valor de corriente en sentido negativo, se realiza el cálculo en el valor mínimo de 0 V, como la tensión de compensación obtenida usando el amplificador en configuración de sumador es de 1.66 V, entonces el valor de la máxima corriente negativa queda determinado por el valor siguiente.

$$i_{max} = \frac{(0-1.66) \text{ V}}{10 \text{ K}\Omega} = -166 \mu\text{A} \quad (5.32)$$

Por lo tanto, el máximo valor de corriente negativa que el dispositivo es capaz de detectar es de $-166 \mu A$, para valores que superen este rango de lectura, el dispositivo no detectará las lecturas dado que el voltaje de compensación no lo permite.

d.3). Filtro Pasa Bajos

Se conecta un capacitor en paralelo a la resistencia de realimentación, para así atenuar las señales de altas frecuencias que puedan filtrarse a través de los componentes, de este modo:

$$f_c = \frac{1}{2\pi \times 680 \times 10^{-9} \times 10 \times 10^3} = 23.41 \text{ Hz} \quad (5.33)$$

Con un filtro Pasa Bajos de primer orden implementado, se obtiene una frecuencia de corte de 23.41 Hz.

5.2.3. Sistema digital

El sistema digital debe cumplir con las siguientes funciones:

- Generar y enviar la señal voltamétrica establecida previamente por los parámetros de entrada mediante la programación del DAC MCP4725 a través la interfaz I2C en Python hacia el circuito analógico y, por consiguiente, hacia la celda electroquímica.

- Adquirir los datos de voltaje del ADC ADS1115 a través de la interfaz I2C obtenidos del amplificador de transimpedancia, para luego convertir estos datos, mediante algoritmos de programación en Python, al valor correspondiente de corriente.

- Guardar en un archivo .CSV la información de los datos emitidos y recibidos, como lo son los datos de voltaje, corriente, y el tiempo.

- Transmitir hacia la plataforma analítica ThingSpeak de MathWorks los datos de tensión generados hacia la celda electroquímica, así como los datos de corriente recibidos del ADC.

a). Diagrama de flujo y transmisión de datos

En la Fig. 5.20 se presenta el flujo de trabajo general sobre el que se realizará la comunicación entre el Hardware y el Software para la generación, lectura, guardado y envío a la nube de los datos del tiempo, así como las señales de tensión y corriente.

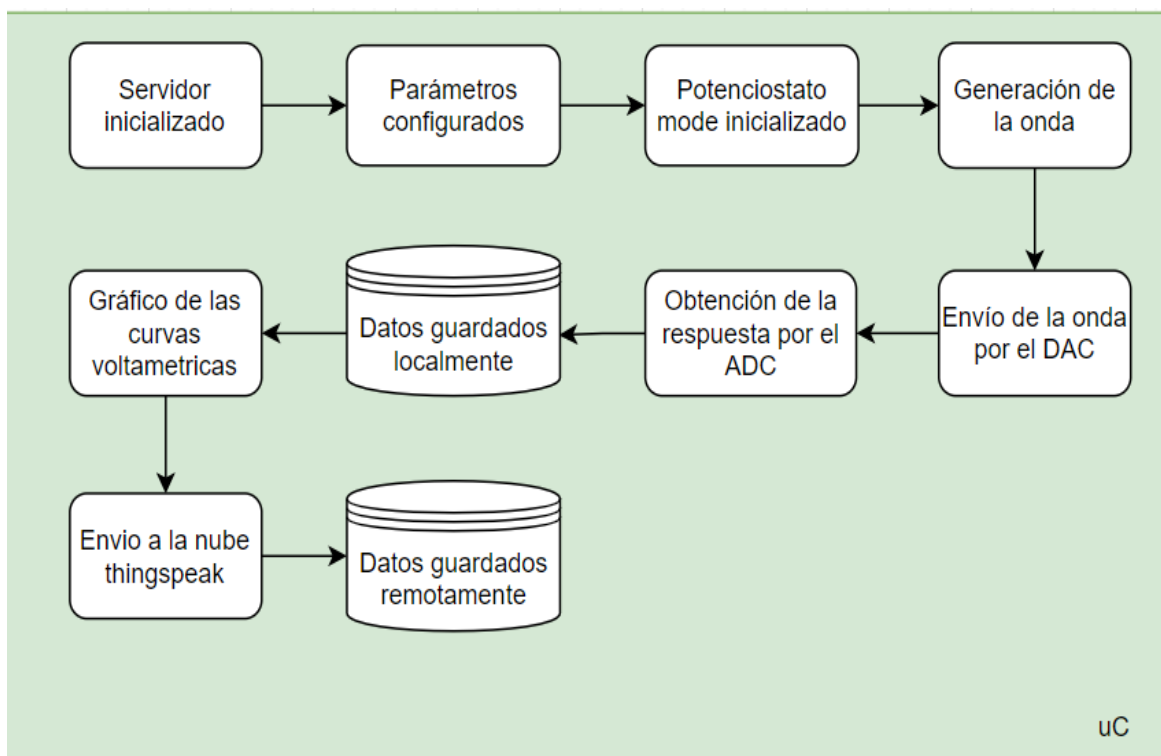


Fig. 5.20: Flujo de Trabajo general.

b). Software necesario

b.1). Windows Subsystem for Linux (WSL)

Software que permite el acceso a herramientas y aplicaciones de Linux desde el SO de Windows.

b.2). Lenguaje de programación Python

Es un lenguaje de programación de propósito general, que cuenta con soporte y librerías para su uso y programación en la Raspberry Pi. Se instaló la versión 3.7.3, como se muestra:

```
pi@raspberrypi:~ $ python3 --version
Python 3.7.3
```

b.3). Visual Studio Code

Es el entorno de desarrollo interactivo (IDE) para la programación en el lenguaje Python.

b.4). Sistema Operativo Raspbian

Es el sistema operativo oficial para la Raspberry Pi, que puede ser instalado con o sin entorno gráfico, además cuenta el lenguaje de comandos Bash, necesario para el establecimiento de parámetros en la SCB, así como la instalación de paquetes, creación de carpetas, etc. Se instaló el sistema operativo Raspbian GNU/Linux 10.

c). Protocolos de comunicación

Se describen los protocolos de comunicación utilizados, los cuales permiten la comunicación de manera remota con la Raspberry Pi, la comunicación de la Raspberry Pi y sus componentes periféricos, la comunicación de la SCB con el dispositivo potenciostato y la comunicación con la plataforma analítica ThingSpeak para la transmisión de datos de forma inalámbrica.

c.1). Protocolo SSH

El uso del protocolo SSH permite el acceso remoto a la placa Raspberry Pi mediante una conexión de red local. El acceso se realizó desde un ordenador portátil conectado a la misma red local, para lo cual se instaló el software WSL a través del ingreso del siguiente comando en Windows PowerShell, ejecutado como administrador:

```
Windows PowerShell
Copyright (C) Microsoft Corporation. Todos los derechos reservados.

Prueba la nueva tecnología PowerShell multiplataforma https://aka.ms/powershell

PS C:\Windows\system32> wsl --install
```

De forma previa, en la Raspberry Pi se debe activar el módulo que permite la comunicación mediante el protocolo SSH, por lo cual se ejecuta el siguiente comando:

```
pi@raspberrypi: ~
pi@raspberrypi:~ $ sudo raspi-config
```

El comando *sudo raspi-config* permite acceder a la configuración de herramientas de la Raspberry Pi mediante el atributo de super usuario, la cual se muestra en la Fig. 5.21.

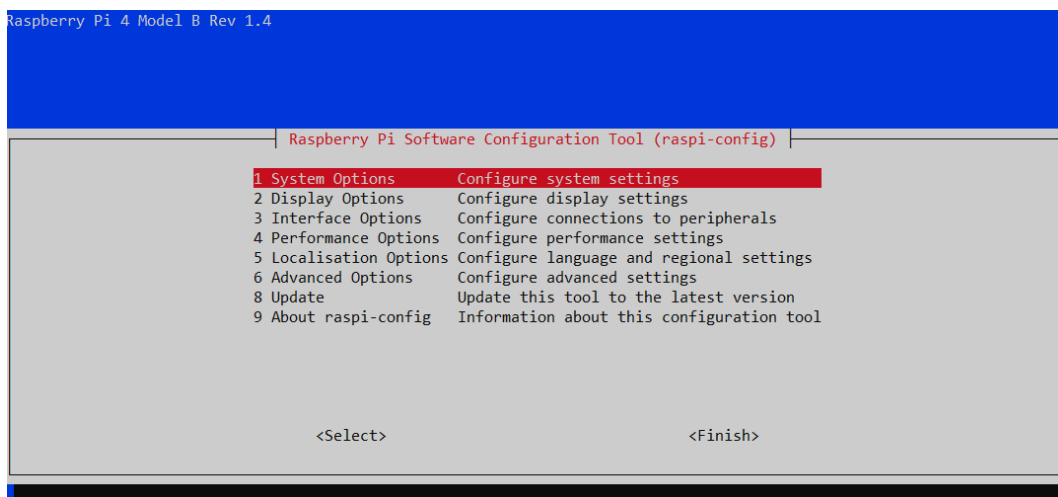


Fig. 5.21: Software de configuración de herramientas de la Raspberry Pi.

Luego, se accede a *Interface Options*, donde aparece una lista de opciones, como lo muestra la Fig. 5.22.

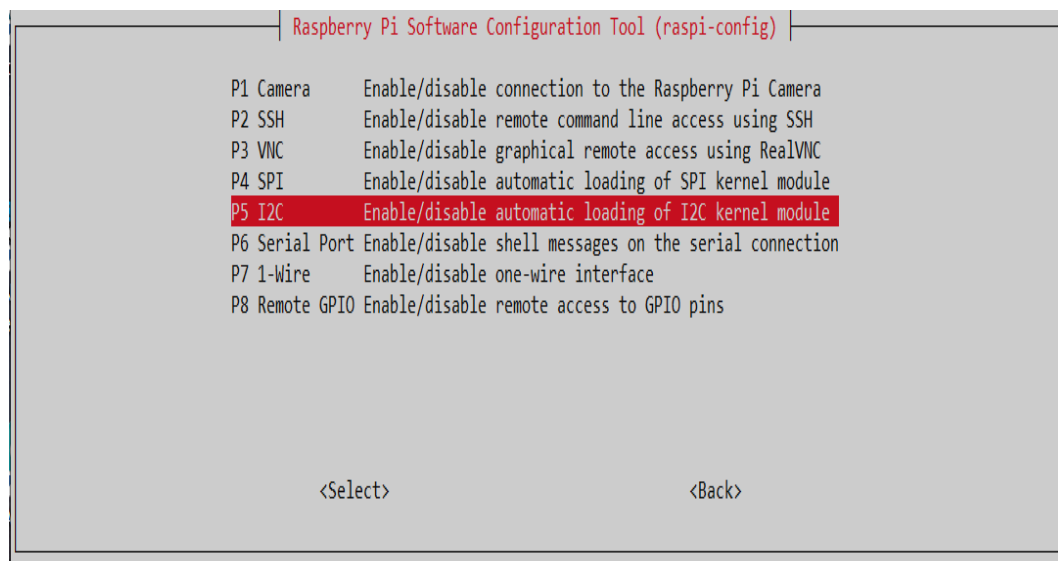


Fig. 5.22: Lista de Opciones de protocolos de comunicación de la Raspberry Pi.

Se procede con la activación del acceso remoto mediante el protocolo SSH, lo que finalmente muestra una confirmación de activación para la opción escogida.

Luego de haber activado el Protocolo SSH, se prosigue a conectar de forma remota la Raspberry Pi con la PC, para ello se busca un punto de acceso de red local, que puede ser obtenido mediante la conexión a un enrutador o mediante la creación de un punto de acceso desde un teléfono móvil. Luego de haber conectado ambos dispositivos a una red local, es necesario obtener la dirección IP a la cual está conectada la Raspberry Pi, esto se realiza a

través del comando *ifconfig*, que cuenta con la propiedad de mostrar todas las conexiones pertenecientes a las SCB. En la Fig. 5.23 se observa la dirección IP a la que ha sido asignada las Raspberry, una vez conectada a la red local escogida.

```

pi@raspberrypi: ~
pi@raspberrypi:~ $ ifconfig
eth0: flags=4099<UP,BROADCAST,MULTICAST> mtu 1500
    ether dc:a6:32:bb:66:3a txqueuelen 1000 (Ethernet)
    RX packets 0 bytes 0 (0.0 B)
    RX errors 0 dropped 0 overruns 0 frame 0
    TX packets 0 bytes 0 (0.0 B)
    TX errors 0 dropped 0 overruns 0 carrier 0 collisions 0

lo: flags=73<UP,LOOPBACK,RUNNING> mtu 65536
    inet 127.0.0.1 netmask 255.0.0.0
    inet6 ::1 prefixlen 128 scopeid 0x10<host>
    loop txqueuelen 1000 (Local Loopback)
    RX packets 5 bytes 284 (284.0 B)
    RX errors 0 dropped 0 overruns 0 frame 0
    TX packets 5 bytes 284 (284.0 B)
    TX errors 0 dropped 0 overruns 0 carrier 0 collisions 0

wlan0: flags=4163<UP,BROADCAST,RUNNING,MULTICAST> mtu 1500
    inet 192.168.43.16 netmask 255.255.255.0 broadcast 192.168.43.255
    inet6 fe80::68b0:387a:187d:c94b prefixlen 64 scopeid 0x20<link>
    ether dc:a6:32:bb:66:3b txqueuelen 1000 (Ethernet)
    RX packets 250 bytes 34081 (33.2 KiB)
    RX errors 0 dropped 0 overruns 0 frame 0
    TX packets 102 bytes 15159 (14.8 KiB)
    TX errors 0 dropped 0 overruns 0 carrier 0 collisions 0

```

Fig. 5.23: Dirección IP asignada a la Raspberry Pi

Una vez identificada la dirección IP asociada a la Raspberry Pi, se conecta de forma remota el ordenador personal, a través de la aplicación WSL, mediante el comando de conexión SSH. La Fig. 5.24 muestra la conexión realizada con la SCB.

```

pi@raspberrypi: ~
rodney15@DESKTOP-579P5M3:~$ ssh pi@192.168.43.16
pi@192.168.43.16's password:
Linux raspberrypi 5.10.17-v7l+ #1421 SMP Thu May 27 14:00:13 BST 2021 armv7l

The programs included with the Debian GNU/Linux system are free software;
the exact distribution terms for each program are described in the
individual files in /usr/share/doc/*/copyright.

Debian GNU/Linux comes with ABSOLUTELY NO WARRANTY, to the extent
permitted by applicable law.
Last login: Fri Jun 24 12:57:25 2022
pi@raspberrypi:~ $

```

Fig. 5.24: Conexión remota con la Raspberry Pi mediante comandos SSH

c.2). Interfaz I²C

Para efectuar la comunicación entre la placa con los conversores analógico digital y digital analógico, se utiliza el bus de comunicaciones I²C. Dado que cada convertor posee una única dirección, se procede a identificar la dirección de cada convertor.

De manera análoga a los pasos seguidos para la activación del protocolo SSH, en la Raspberry Pi se debe activar el módulo para permitir la comunicación mediante la interfaz I²C. La Fig. 5.25 presenta la imagen de activación correcta de la interfaz I²C.

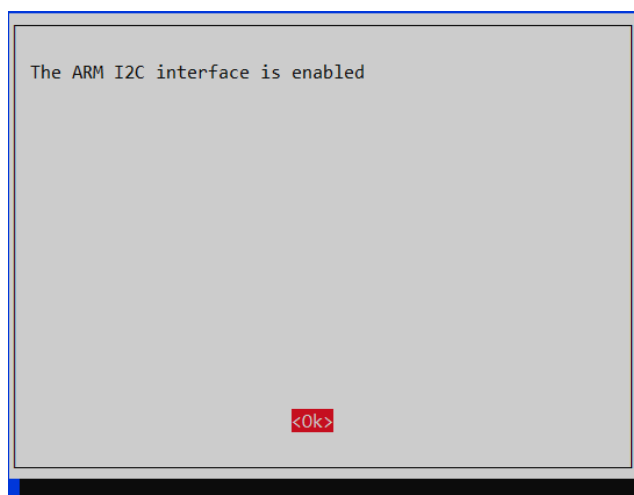


Fig. 5.25: Activación correcta de la Interfaz I²C

Una vez activada la interfaz I²C, se procede a identificar las direcciones asociadas a cada convertor, en la Fig. 5.26 se muestra, mediante programación remota en la Raspberry, la dirección asignada al convertidor MCP4725 y la Fig. 5.27 muestra la dirección asignada al convertidor ADS1115.

```
pi@raspberrypi:~$ i2cdetect -y 1
   0  1  2  3  4  5  6  7  8  9  a  b  c  d  e  f
00:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
10:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
20:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
30:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
40:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
50:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
60: 60  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
70:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
pi@raspberrypi:~$
```

Fig. 5.26: Dirección de interfaz I²C asignada al DAC MCP4725

```

pi@raspberrypi:~ $ i2cdetect -y 1
    0  1  2  3  4  5  6  7  8  9  a  b  c  d  e  f
00:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
10:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
20:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
30:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
40:  --  --  --  --  --  --  --  48  --  --  --  --  --  --  --
50:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
60: 60  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --
70:  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --  --

```

Fig. 5.27: Dirección de interfaz I²C asignada al ADC ADS1115

Por lo tanto, la dirección asignada al DAC es la dirección hexadecimal 0x60, y la dirección asociada con el ADC es la dirección hexadecimal 0x48.

Para inicializar el uso de las GPIO de la Raspberry Pi, así como requerir del uso de las librerías que permiten la conexión de las direcciones proporcionadas a través de Python, se importan las siguientes librerías, proporcionadas tras la instalación de CircuitPython:

```

import board
import busio

```

Para establecer y activar la interfaz I²C, se usa el siguiente comando:

```

self.i2c = busio.I2C(board.SCL, board.SDA)

```

- **Configuración del DAC**

Se utiliza la librería del conversor MCP4725 proporcionada por Adafruit, la cual trabaja de manera simultánea con la librería CircuitPython. Su instalación se realiza mediante el comando:

```

pi@raspberrypi:~ $ sudo pip3 install adafruit-circuitpython-mcp4725

```

Luego de instalada la librería, se necesita importar todos los parámetros definidos por esta, para lo cual se usa el siguiente código:

```

import adafruit_mcp4725

```

Para establecer la comunicación del DAC mediante Python, a través de la interfaz I²C, y asimismo declarar los parámetros a introducir para la generación de tensión de Voltimetría cíclica, se utiliza la siguiente función:

```
def set_dac(self,dac_param):

    ## Se inicializa el MCP4725.
    self.dac = adafruit_mcp4725.MCP4725(self.i2c)

    self.scan_rate = dac_param["SCAN_RATE"]
    self.step = dac_param["STEP"]
    self.n_period = dac_param["NUMBER_OF_LOOPS"]
    self.initial_value = dac_param["CURVE_PARAMETER"]["initial_value"]
    self.max_value = dac_param["CURVE_PARAMETER"]["max_value"]
    self.min_value = dac_param["CURVE_PARAMETER"]["min_value"]
```

- **Calibración del DAC**

Con base en el rango de tensión de trabajo configurado para el DAC, se realiza la calibración tomando en cuenta el valor teórico y experimental, a lo cual se añadió un factor de escalamiento de 0.95172.

Valor Teórico (V)	Valor Experimental (V)
0.00	0.003
0.10	0.107
0.50	0.507
1.00	1.010
1.50	1.512
2.00	2.010
2.50	2.507
3.00	3.007
3.50	3.506
4.00	4.002
4.50	4.496
5.00	4.996

TABLA N° 5.6: Datos de calibración del DAC

Se utilizó la métrica del coeficiente de correlación para cuantificar la relación lineal.

$$r = \frac{\sum[(x_i - \bar{x}) \times (y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2 \times \sum(y_i - \bar{y})^2}} \quad (5.33)$$

Donde:

x_i : Valor de la variable x .

y_i : Valor de la variable y .

\bar{x} : Valor de la media de x .

\bar{y} : Valor de la media de y .

Al realizar el cálculo se obtiene un valor de $r = 0.999957$.

- **Configuración del ADC**

Se utiliza la librería del conversor ADS1115 proporcionada por Adafruit, que trabaja de manera simultánea con la librería CircuitPython. La instalación de la librería se realiza mediante el comando:

```
pi@raspberrypi:~ $ sudo pip3 install adafruit-circuitpython-ads1x15
```

Una vez instalada la librería, se importan los parámetros requeridos para la realizar una configuración adecuada del ADC, mediante los siguientes códigos de programación:

```
import adafruit_ads1x15.ads1115 as ADS
from adafruit_ads1x15.ads1x15 import Mode
from adafruit_ads1x15.analog_in import AnalogIn
```

De forma análoga a la configuración realizada para el DAC, para permitir la comunicación a través de la interfaz I²C con Python, y además establecer el modo de lectura para el ADC, se usa la siguiente función:

```
def set_adc(self):
    # Creación del objeto ADS115 por la interfaz I2C
    self.ads = ADS.ADS1115(self.i2c)
    # Definición de la entrada A0
    self.chan0 = AnalogIn(self.ads, ADS.P0)
    # Configuración
    if self.wave_type == "triangular":
        # Modo de lectura del ADC
        self.ads.mode = Mode.CONTINUOUS
```

- **Calibración del ADC**

De forma análoga a la calibración realizada para el DAC, se realiza la calibración del ADC tomando en cuenta el valor teórico y el valor experimental, esta calibración se realiza considerando el rango de trabajo predefinido para el ADC, el cual varía desde 0 V hasta 3.3 V.

Valor Teórico (V)	Valor Experimental (V)
0.00	0.0037
0.30	0.3086
0.50	0.5080
0.70	0.7111
1.00	1.0120
1.20	1.2110
1.50	1.5140
1.80	1.8140
2.00	2.0140
2.30	2.3110
2.50	2.5080
2.70	2.7120
3.00	3.0100
3.30	3.3090

TABLA N° 5.7: Datos de calibración del ADC

De acuerdo a la ecuación 5.33, el valor obtenido del coeficiente de correlación lineal es $r = 0.999997$.

c.3). Conexiones externas: Bus USB y HDMI

Se emplea la comunicación USB para la conexión de dispositivos periféricos, tales como:

- Un teclado marca Evang, Modelo N° K809N.
- Un ratón Microsoft Basic Operational Mouse v2.0.

En adición, se utiliza la conexión HDMI desde una pantalla LED LG 22MP57HQ hacia el puerto micro HDMI con en el que cuenta la Raspberry, de tal modo que se pueda interactuar con el sistema operativo gráfico Raspbian OS. En la Fig. 5.28 se visualizan las conexiones externas de la placa Raspberry Pi.



Fig. 5.28: Conexiones externas a la Raspberry Pi

c.4). Protocolo HTTP

Es el protocolo de transmisión de información hacia la red que utiliza la librería de Python llamada *thingspeak*. Esta librería permite la comunicación con la API ThingSpeak para el almacenamiento, envío y recuperación de datos mediante Internet o usando una red LAN.

d). Desarrollo del algoritmo

Una vez realizada la correcta comunicación de los dispositivos con la placa Raspberry Pi, se implementa el algoritmo para la generación y lectura de las curvas voltamétricas, así como para el procesamiento, guardado, visualización y transmisión de los datos hacia la nube.

- **Diagrama de Flujo de la Voltametría Cíclica**

En la Fig. 5.29 se detalla el esquema secuencial del algoritmo implementado.

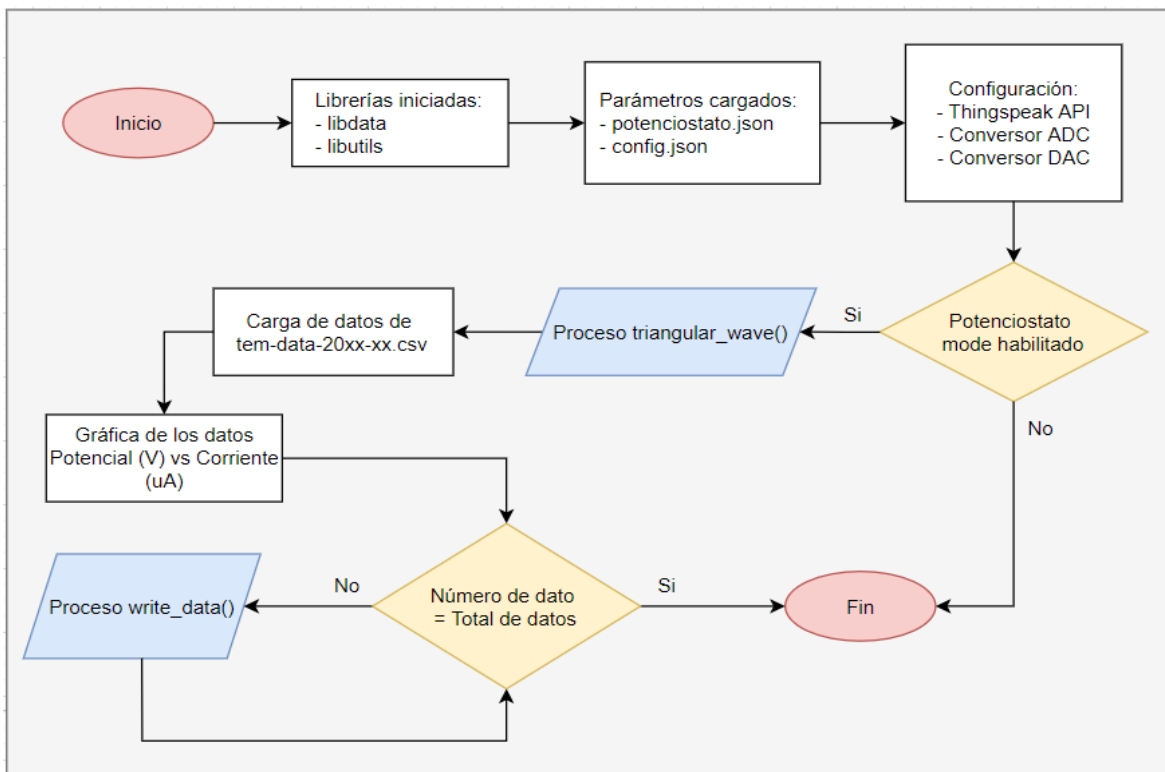


Fig. 5.29: Diagrama de flujo de la Voltametría Cíclica

Dentro del diagrama de flujo general de la Voltametría cíclica, se hace énfasis en el proceso *triangular_wave*, del que se presenta un diagrama detallado en la Fig. 5.30.

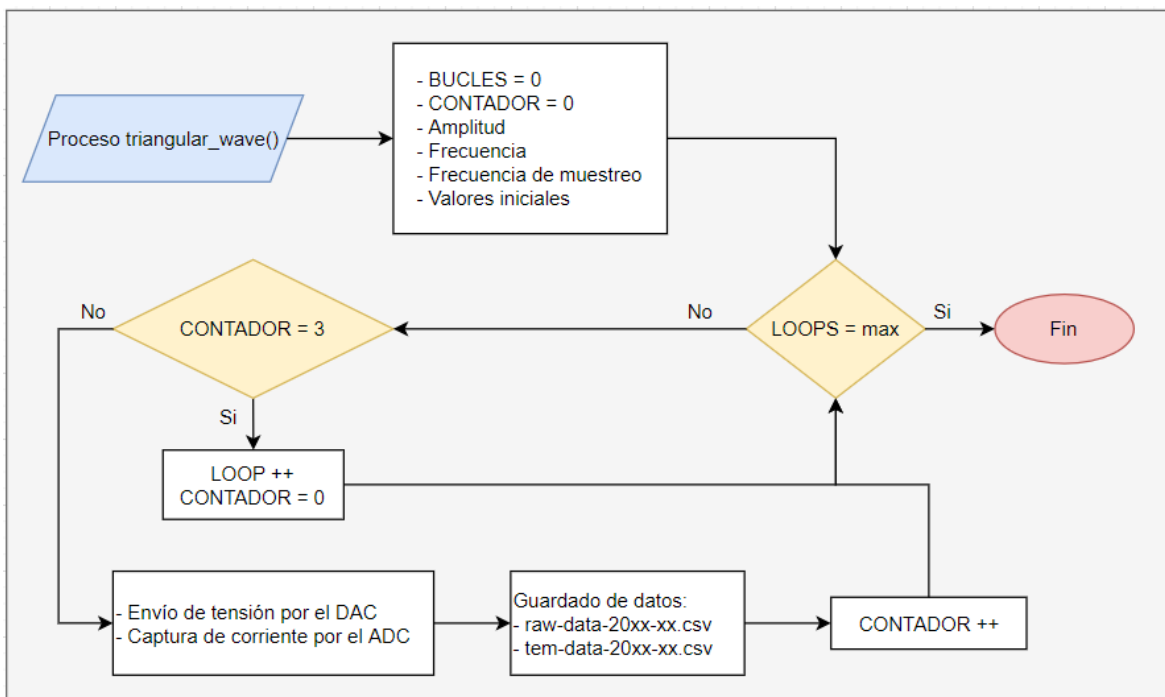


Fig. 5.30: Diagrama de flujo del proceso *triangular_wave*

Finalmente, en la Fig. 5.31 se expone el modo de funcionamiento del proceso secuencial *write_data*.

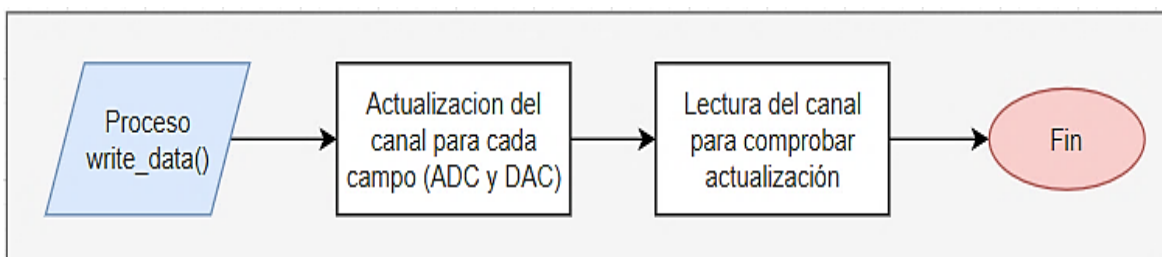


Fig. 5.31: Proceso *write_data*.

- **Implementación de librerías**

Para una correcta y ordenada estructuración del algoritmo, se implementaron dos librerías principales, dentro de las cuales se plantean las funciones sobre las cuales se rige el funcionamiento y establecimiento de los parámetros para el dispositivo de *read out*.

La librería *libdata.py* es la encargada de la configuración e iniciación de los parámetros para los convertidores ADC y DAC, además, cumple con la implementación de las funciones de guardado, limpieza, procesamiento y visualización de los datos, para lo cual se apoya en el uso de otras librerías proporcionadas por Python.

```

import pandas as pd
import logging
import time
import json
from datetime import datetime

import seaborn as sns
import matplotlib.pyplot as plt

import board
import busio
  
```

La librería *libutils.py* es la encargada de la transmisión de datos hacia la API ThingSpeak.

```

import thingspeak
import logging
  
```


- **Establecimiento de parámetros**

Se lleva a cabo la estructuración de los datos, en formato JSON, que permite la inicialización de los procesos de funcionamiento del dispositivo *read out*, para lo cual se implementan dos diccionarios en Python. El primero se encarga de las variables requeridas para la transmisión de los datos hacia la nube, mediante el uso de números de serie, conocidos como *keys*, los cuales son proporcionados por la misma plataforma, además permite la configuración del período de envío de datos en segundos y un número de identificación de canal, también proporcionado por ThingSpeak.

```
"SENDER_PROCESS":{
  "PERIOD": 20,
  "CHANNEL_ID": 1771605,
  "WRITE_KEY": "TL2SQ8QAKQ2UMGHF",
  "READ_KEY": "YELTAF76LQZ3SNCN"
},
"POTENCIOSTATO_PROCESS":{
  "ENABLE": 1
}
```

El segundo diccionario permite la configuración de las variables de funcionamiento para la Voltametría Cíclica.

```
"DAC":{
  "TRIANGULAR":{
    "ENABLE": 0,
    "STEP":0.0125,
    "SCAN_RATE": 0.1,
    "NUMBER_OF_LOOPS": 1,
    "CURVE_PARAMETER":{
      "initial_value": 0.25,
      "max_value": 1.2,
      "min_value": -0.1
    }
  }
}
```

- **Visualización de las gráficas**

Las gráficas de las curvas voltamperimétricas son del tipo corriente vs potencial, por lo tanto, los valores que se grafican corresponden a los generados por el DAC y los valores obtenidos por el ADC en la Raspberry Pi. De acuerdo a la configuración establecida para cada convertidor, los puntos a graficar por el algoritmo dependen de los datos que han sido muestreados durante la ejecución del programa, por consiguiente, estos datos dependen del período de muestreo configurado para cada convertidor.

Luego de haber obtenido los datos crudos que provienen del ADC, se realiza una conversión de valores mediante el uso de la ecuación 5.29, que permite la transformación de los valores de tensión a corriente, que son requeridos para las gráficas de las curvas voltamperimétricas.

```
# Ecuación del diodo
volt_in_fixed = 0.1647*vol_in*vol_in+0.7305*vol_in+0.0544
```

Se hace uso del filtro de la media móvil, que usa como datos los valores ponderados exponencialmente y aplica además un factor de alisamiento de valor 5. Con la finalidad de obtener una curva de datos más suave y con menos ruido al momento de graficar los valores correspondientes.

```
df_inter = df_inter.ewm(com=filter_factor).mean()
```

```
# Graficar datos
libconvensor.load_data(libconvensor.temporal_file_name)
log.info(f"table:\n{libconvensor.signal_df}")
libconvensor.plot_data(libconvensor.wave_type,5)
```

Finalmente, para la realización de las gráficas correspondientes, se hace uso de las librerías *seaborn* y *matplotlib*. Por lo cual, se implementa la función *plot_data* que permite graficar lo requerido.

```
import seaborn as sns
import matplotlib.pyplot as plt
```

```
def plot_data(self,type_wave,filter_factor):

    df = self.signal_df

    sns.set(style="darkgrid", context = "paper", rc={'figure.figsize':(10,8)})
    fig, (ax1, ax2) = plt.subplots(2, 1, sharex=True)

    if type_wave == "triangular":
        sns.lineplot(data = df, x = df.index, y = "DAC", ax = ax1)
        sns.lineplot(data = df, x = df.index, y = "ADC", ax = ax2)
        plt.tight_layout()
        plt.show()

    df = df.ewm(com=filter_factor).mean()
    g = sns.lineplot(data = df, x="DAC", y="ADC", sort=False, lw=1, estimator=None)
    plt.xlabel("Potencial (V)")
    plt.ylabel("Corriente (uA)")
    plt.tight_layout()
    plt.show()
```

- **Guardado de datos**

Se implementa la función *save_json* y *save_data*, que permite guardar los datos en formato JSON y luego usar el diccionario formado para crear el archivo de datos guardados respectivamente. Esto se realiza de forma local, es decir en la misma placa Raspberry Pi, gracias a que esta cuenta con una memoria externa Micro SD de 32 GB de capacidad.

```
def save_json(self,data):
    """
    Establecer datos en formato JSON
    """
    json_data ={
        "device": "RodStat-bb663b",
        "timestamp": data[0],
        "sensors":{
            "DAC": data[1],
            "ADC": data[2]
        }
    }
    self.json_data = json_data
    log.debug(f"Data: {self.json_data}")

def save_data(self,filename):
    """
    Realiza un append de datos en la ultima fila del archivo
    """
    file = open(filename, "a")
    json.dump(self.json_data,file)
    file.write("\n")
    file.close()

def clear_data(self, filename):
    open(filename, 'w').close()
```

Finalmente, los datos aparecen guardados en un archivo de formato CSV.

```
data >  tem-data-2022-06.csv
```

- **Transmisión de datos a ThingSpeak**

Para la transmisión de los datos guardados de manera local hacia la nube, se importa la librería *thingspeak* mediante el siguiente comando:

```
import thingspeak
```

El envío de los datos recolectados se implementa mediante la función *write_data*, la cual actualiza el canal que recibe los datos en función a un período de tiempo establecido.

```

def set_channel(self,channel_id,write_key):
    #Se define el canal de envío y recepción de datos
    self.channel = thingspeak.Channel(id=channel_id, api_key=write_key)

def write_data(self,adc,dac):

    try:
        # escritura
        response = self.channel.update({'field1': adc, 'field2': dac})
        log.info(f"Send ---> field1: {adc}, field2: {dac}")
        # lectura
        read = self.channel.get({})
        log.debug(f"Read: {read}")

    except Exception as e:
        log.info(e)
        log.info("connection failed")

```

Los parámetros que aparecen en la función se relacionan directamente al valor de las variables configuradas previamente en un archivo de formato JSON, que incluye el período de envío de datos y las credenciales de acceso al canal privado de la plataforma en la nube.

5.2.4. Sistema de alimentación

Para el suministro de energía de los amplificadores operacionales, se usaron baterías OPALUX DH640 6V/4Ah. De este modo se consigue proveer tanto los voltajes positivos como negativos requeridos por los amplificadores, y, mediante el uso de baterías, se evita la interferencia de ruido, que frecuentemente proviene de la red de alimentación y llega al circuito a través de los distintos elementos que forman parte.



Fig. 5.32. Baterías de 6 V para suministro de energía a los amplificadores operacionales

Para la sección del circuito de acondicionamiento en el sistema analógico, así como para el suministro de tensión de compensación en el amplificador de transimpedancia, se requiere de una fuente constante de -5 V, para lo cual se utiliza el IC ICL7660. De esta manera se obtiene el voltaje complementario que cumpla con lo requerido. La Fig. 5.33 muestra el diagrama esquemático del ICL7660 junto con los capacitores que atenúan la oscilación de la señal convertida.

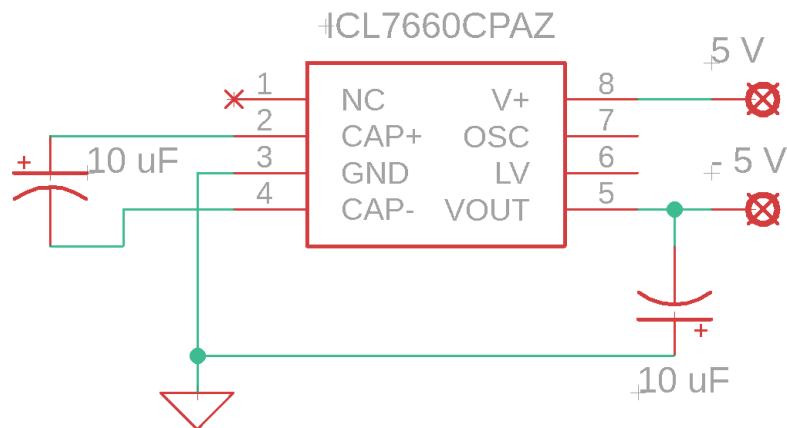


Fig. 5.33. Diagrama esquemático del IC ICL7660 para la obtención de 5 V negativos

Debido a que el IC ICL7660 requiere de una entrada de 5 V para su correcto funcionamiento y, por lo tanto, la obtención del voltaje complementario de -5 V, se utilizan los pines de alimentación de la SCB Raspberry Pi para suministrar de los 5 V al IC; dado que la Raspberry Pi cuenta con reguladores de tensión internos a su placa, se garantiza la alimentación continua hacia el ICL7660. La Fig. 5.34 muestra la asignación de los pines a usar y sus características para la SCB Raspberry Pi 4 modelo b.

PIN	NAME		NAME	PIN
01	3.3V DC Power	Red square	5V DC Power	02
03	GPIO02 (SDA1, I ² C)	Blue circle	5V DC Power	04
05	GPIO03 (SDL1, I ² C)	Blue circle	Ground	06
07	GPIO04 (GPCLK0)	Green circle	GPIO14 (TXD0, UART)	08
09	Ground	Black circle	GPIO15 (RXD0, UART)	10
11	GPIO17	Green circle	GPIO18 (PWM0)	12
13	GPIO27	Green circle	Ground	14

Fig. 5.34. Asignación de pines a usar en la Raspberry Pi 4 modelo b. Fuente:

<https://linuxhint.com>

Para alimentar a los conversores ADC y DAC se utiliza igualmente los pines de alimentación de 5 V y 3.3 V propios de la SCB Raspberry Pi, respectivamente. De este modo el rango de conversión del DAC MACP4725 va desde los 0 V hasta los 5 V, y el rango de conversión del ADS1115 va desde los 0 V hasta los 3.3 V.

La SCB Raspberry Pi es energizada mediante el uso de la Fuente de Alimentación Oficial proporcionada por la misma empresa, la cual cuenta con las siguientes características:

- Tensión de entrada: AC 100-240 V a 50/60 Hz.
- Tensión de salida: 5.1 V a 3 A.
- Máxima potencia de salida: 15.3 W.
- Cable: 1.5 mm, 18 AWG.
- Conector de salida: USB-C.

En la Fig. 5.35 se observa la imagen de la fuente de alimentación usada para la placa Raspberry Pi.



Fig. 5.35: Fuente de alimentación para la placa Raspberry Pi 4

Finalmente, se realiza el diseño de la PCB en el Software EAGLE versión 9.6.2, de AUTODESK. Se realizó el diseño con la suficiente separación entre las pistas que conectan los pines de cada elemento con el fin de evitar las capacitancias parásitas en el circuito; asimismo, se evitó el uso de ángulos rectos en el diseño de las pistas. La placa de circuito impreso se presenta en la Fig. 5.36.

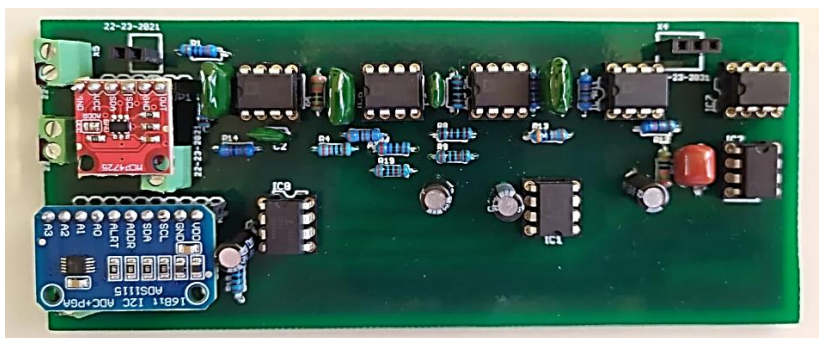


Fig. 5.36: Placa electrónica del potenciostato

5.3. Metodología de la investigación

La metodología empleada para la presente tesis de investigación consiste en realizar la lectura de las curvas de Voltametría cíclica aplicada a los Electrodo Serigrafiados (SPE) de Oro, que es ideal para el trabajo con microvolúmenes.

Fases de la metodología

Se detalla a continuación los materiales utilizados, así como la fase experimental, tal como sigue:

a). Materiales y Reactivos

Para el desarrollo de la fase experimental de la presente tesis de investigación, se hace uso de los siguientes materiales, los cuales están presentes en el Protocolo del Laboratorio de Biosensores, establecido por el Instituto de Enfermedades Tropicales de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM).

a.1). Electrodo Serigrafiado de Oro (Screen Printed Electrodes (SPEs)).

Para la realización de los ensayos experimentales se utilizaron dos tipos de SPEs de la empresa DROPSSENS (España): el primer SPE con código 220BT (impreso a temperaturas bajas) y el segundo con código 220AT (impreso a temperaturas altas).



Fig. 5.37: Partes del Electrodo Serigrafiado de Oro

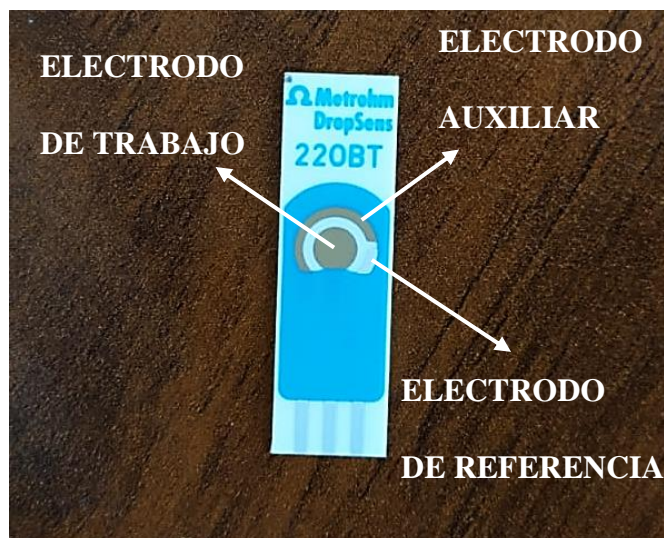


Fig. 5.38: Partes del Electrodo Serigrafiado de Oro

De acuerdo a la Fig. 5.38, ambos SPEs consisten de:

- Un electrodo de trabajo de oro, con una dimensión de 4mm de diámetro.
- Un electrodo auxiliar de oro.
- Un electrodo de referencia de platino.

a.2). **Ácido Sulfúrico.**

Reactivo líquido de fórmula química H_2SO_4 , con una concentración del 98%, proveniente de la empresa MERCK (Alemania), con peso molecular de 98.08 g/mol, código de producto 112080.

a.3). **Agua de Grado Biomolecular**

Agua libre de nucleasas, en envases de plástico de volumen de 500 ml, código de producto ML024-500ML, fabricado por HIMEDIA (India).

a.4). **Buffer de Inmovilización**

El Buffer de inmovilización es preparado con los siguientes componentes:

- **Cloruro de Sodio**

Reactivo sólido, Con presentación en un frasco de plástico, proveniente de la empresa ENSURE®, con código K50705604843, con fórmula química NaCl y posee un peso molecular de 58.44 g/mol.

- **Fosfato monosódico monohidratado**

Reactivo sólido con una presentación en frasco de plástico de 500 g, producto de la empresa Fermont, con código de producto 35942, con una concentración de 98.1%, fórmula química $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y posee un peso molecular 137.99 g/mol.

- **Hidrogeno Fosfato di-sódico**

Reactivo sólido, con su presentación en frasco de plástico de 1 Kg, proveniente de la empresa EMSURE®, con código de producto F2094186950, de fórmula química Na_2HPO_4 y posee un peso molecular de 141.96 g/mol.

- **Hidróxido de Sodio**

Con presentación en frasco de 1 Kg, proveniente de la empresa EMPLURA®, con código de producto 106462, de fórmula química NaOH y peso molecular de 40 g/mol. Se realiza la mezcla de los componentes, para obtener con cada uno una concentración molar de 150 mM, usando como solvente Agua de Grado de Biología Molecular. Finalmente, se agrega Hidróxido de Sodio, el cual es disuelto a una concentración de 1 M, para obtener un pH de 7.4 en la solución final, denominada como Buffer de Inmovilización.

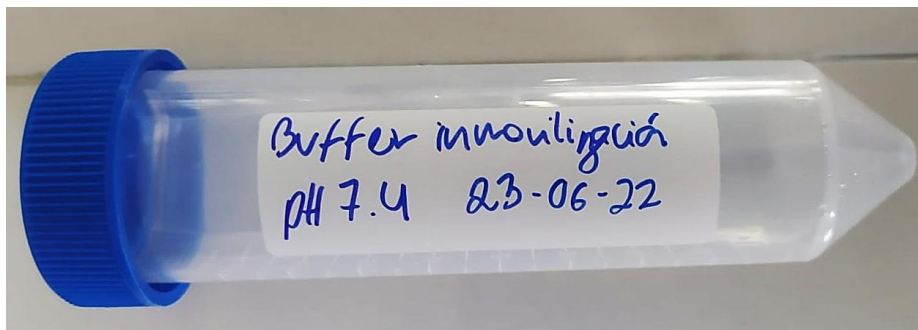


Fig. 5.39: Buffer de inmovilización

a.5). Sonda Universal de ADN – USL

Se utiliza una secuencia de ácidos nucleicos. Reportada en el artículo de D. M. Mills, P. Calvo-Marzal, J. M. Pinzon, S. Armas, D. M. Kolpashchikov, and K. Y. Chumbimuni-Torres [65], esta sonda lleva unida una molécula de Tiol en su extremo 5'. La secuencia de la sonda fue enviada para su síntesis a la empresa MERCK (Estados Unidos). La sonda universal presenta la siguiente secuencia:

5'-S-S-(CH_2)₆-TTTTTTTTTCGCGTTAACATACAATAGATCGCG- 3'



Fig. 5.40: Sonda Universal

a.6). Clorhidrato de Tris (2-carboxietil) fosfina (TCEP HCl)

Reactivo en polvo que viene con una presentación en frasco de vidrio pequeño de 10 g, de la empresa SIGMA-ALDRICH (Estados Unidos), código de producto C4706-10G, con un peso molecular de 286.65 g/mol y de fórmula química $C_9H_{15}O_6P.HCl$.



Fig. 5.41: TCEP HCl

a.7). Mercapto Hexanol (MCH)

Reactivo líquido con pureza del 97 %, viene con una presentación en frasco de vidrio de 25 ml, de la empresa SIGMA-ALDRICH (Estados Unidos), código de producto 451088-25ML, con un peso molecular de 134.24 g/mol y tiene por fórmula química $HS(CH_2)_6OH$.



Fig. 5.42: Mercapto Hexanol

a.8). Micropipetas de diferentes volúmenes

Para llevar a cabo el protocolo experimental, se utilizan dos pipetas de precisión. La primera pipeta posee un rango de volumen de uso desde 10 μL hasta 100 μL . La segunda pipeta posee un rango de volumen de uso desde 100 μL hasta 1000 μL .



Fig. 5.43: Pipetas de precisión para microvolúmenes

b). Conexión del SPE de oro con el sistema potenciostato

La conexión se realiza mediante un cable adaptador CAC de la empresa Dropsens (España) con entrada para los pines del SPE. Este cable cuenta con conexión independiente para cada pin del SPE y además cuenta con un cable de conexión a tierra.

Para garantizar la estabilidad de posición del electrodo durante los ensayos experimentales, se hace uso un soporte universal metálico.



Fig. 5.44: Cable adaptador para el SPE de oro

c). Fase experimental

De acuerdo al protocolo establecido por el Laboratorio de Biosensores del Instituto de Enfermedades Tropicales de la UNTRM, la fase experimental para la presente tesis de investigación consta de tres pasos secuenciales.

- La caracterización electroquímica de los SPE con ácido sulfúrico a 0.5 M.
- La inmovilización de la sonda universal en los SPE con buffer de inmovilización.
- Ensayos de detección de señal voltamétrica desde los SPEs.

c.1). Celda de prueba o celda muda

Antes de iniciar con la fase experimental, se requiere validar el funcionamiento del dispositivo *read out*, que se realiza mediante el uso de una Celda Muda, la cual simula el comportamiento de una celda electroquímica mediante el uso de resistencias. Por lo tanto, se espera un comportamiento lineal con base en la ley de Ohm al momento de realizar la

lectura de la curva voltamétrica. En la Fig. 5.45 se presenta el esquema de la celda muda, para la cual se usó dos resistencias en serie de valor de $200\text{ k}\Omega$.

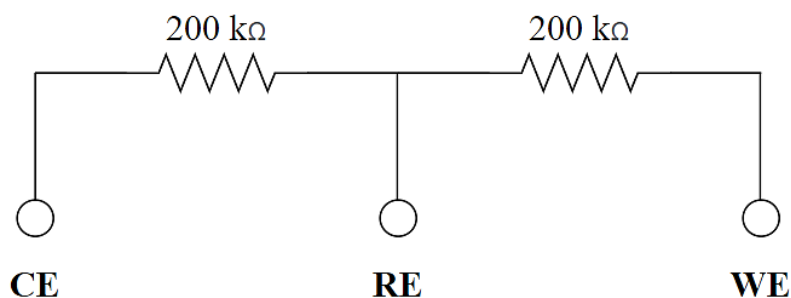


Fig. 5.45: Diagrama esquemático de la celda muda

Seguidamente, se realiza la implementación de la celda muda mediante el uso de dos resistencias de precisión de $200\text{ k}\Omega$ y un conector de tres entradas independientes, ambos soldados sobre una pieza de baquelita perforada, la como se presenta en la Fig. 5.46.

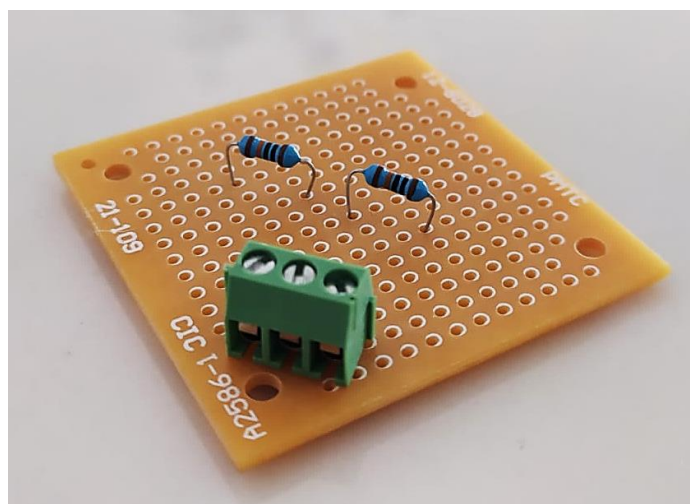


Fig. 5.46: Celda de prueba para validación de dispositivo de read out

c.2). Caracterización electroquímica y preparación del SPE con la solución de ácido sulfúrico.

Se cubre la superficie de electrodo con $100\ \mu\text{L}$ de solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) disuelto a una concentración de $0.5\ \mu\text{M}$, usando como solvente agua de grado biomolecular. La solución es agregada al electrodo con el uso de una pipeta de precisión para microvolúmenes, de esta forma el electrodo queda totalmente cubierto por la solución.

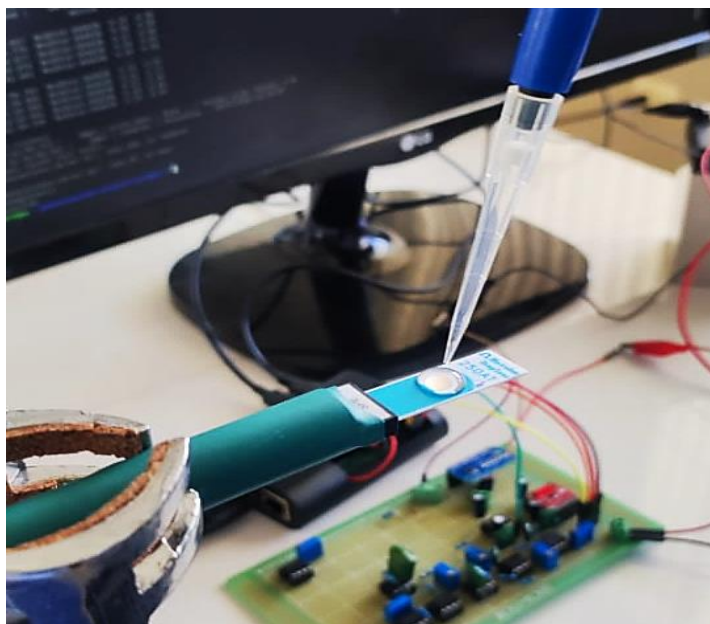


Fig. 5.47: Procedimiento de caracterización electroquímica al SPE

Luego de cubrir el SPE con la solución de ácido sulfúrico, se aplica la técnica de voltametría cíclica con los siguientes parámetros establecidos:

- Potencial de inicio: 0.25 V.
- Rango máximo de tensión: 1.2 V.
- Rango mínimo de tensión: - 0.1 V.
- Tasa de escaneo de tensión: 0.1 V/s.
- Número de ciclos: 10 ciclos.

c.3). Inmovilización de la Sonda Universal (USL) en los SPE.

Al terminar el proceso de caracterización electroquímica del electrodo, se lava el electrodo con un volumen de 400 μL de agua de grado biomolecular; luego se realiza un enjuague con 50 μL de etanol en grado biomolecular; después se deja secar a temperatura ambiente.

Para constatar los resultados positivos del proceso de inmovilización de la sonda USL, se introduce un elemento de control negativo, que en el presente experimento es otro electrodo, el cual también ha sido caracterizado electroquímicamente con ácido sulfúrico, pero con la diferencia que solo se cubrirá su superficie con buffer IB.

Se realiza la dilución del TCEP para alcanzar una concentración de 1 mM con la sonda USL, que inicialmente se encuentra a una concentración molar de 0.5 μ M. Posteriormente a ello, se agita la solución durante 1 hora para romper los enlaces disulfuro contenidos en la sonda universal, esto con el fin de facilitar la unión del Tiol con el oro.



Fig. 5.48: Agitación de la solución TCEP + USL

Culminado el período de agitación, se realiza una nueva dilución de la muestra agitada, usando como solvente al Buffer de Inmovilización, con el objetivo de reducir la concentración de la solución a 0.05 μ M. Luego se cubre el electrodo de trabajo del SPE con un volumen de 15 μ L de la solución final, tras ello se deja los SPE en reposo en una placa Petri durante 30 minutos a temperatura ambiente.



Fig. 5.49: Electrodos cubiertos por el buffer IB

Culminado el tiempo de espera, se realiza un lavado con Buffer IB a cada electrodo utilizando una pipeta de precisión, el volumen utilizado en el lavado es de 800 μL . Luego se colocan los electrodos en una incubadora, en la cual se realiza su proceso de secado durante 12 minutos, la temperatura de la incubadora se establece a 38 ° C.

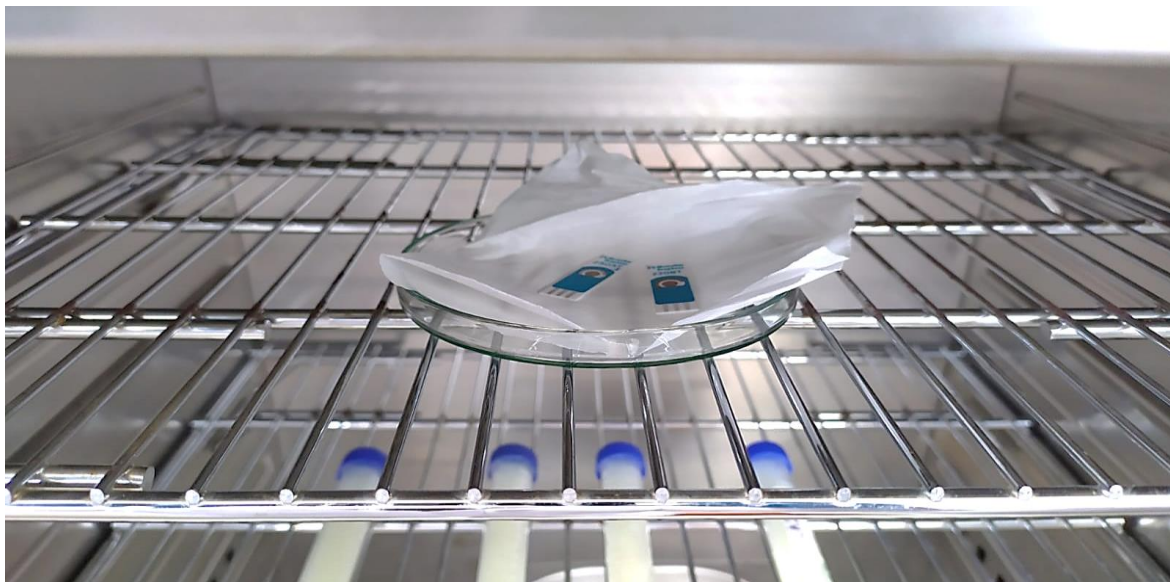


Fig. 5.50: Secado de los electrodos en la incubadora

Retirados los electrodos de la incubadora, se colocan en una placa Petri, y se introduce un volumen 15 μL de MCH en cada electrodo, con el objetivo de eliminar las inespecificidades restantes durante la inmovilización de la sonda, asegurando que el electrodo de trabajo esté completamente cubierto por la solución. Luego se espera un tiempo de 30 minutos.

Transcurrido el tiempo de espera, se realiza la lectura voltamétrica para cada electrodo, con los siguientes parámetros introducidos:

- Potencial de inicio: 0.25 V.
- Rango máximo de tensión: 1.2 V.
- Rango mínimo de tensión: - 0.1 V.
- Tasa de escaneo de tensión: 0.1 V/s.
- Número de ciclos: 3 ciclo.

d). Resultados de los ensayos realizados

Se presentan los resultados obtenidos a partir de ensayos realizados en el Laboratorio de Biosensores del Instituto de Enfermedades Tropicales de la UNTRM, siguiendo los protocolos previamente definidos.

Los ensayos se realizaron según la disposición de los dispositivos electrónicos y celda electroquímica conforme a la siguiente imagen.

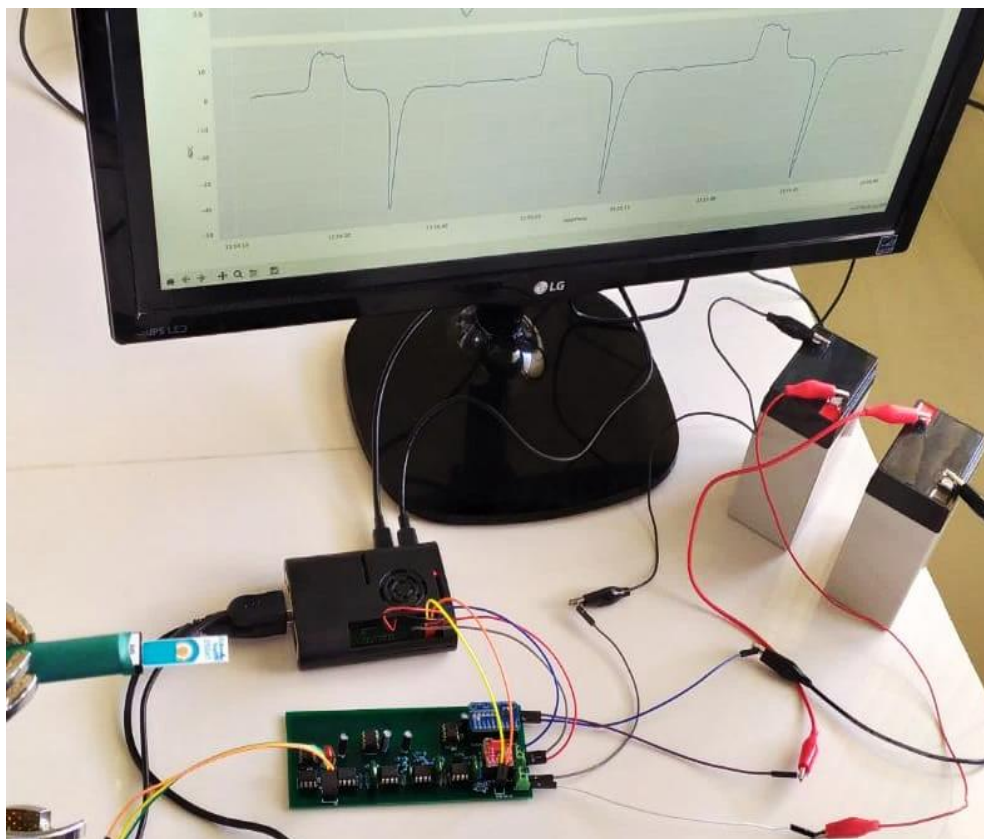


Fig. 5.51: Sistema de read out durante los ensayos experimentales

d.1). Validación del dispositivo *read out*.

Se realizó la validación del dispositivo de *read out* con los siguientes parámetros, cuya respuesta se presenta como sigue.

- Potencial de inicio: 0.05 V.
- Rango máximo de tensión: 1.2 V.
- Rango mínimo de tensión: 0.05 V.
- Tasa de escaneo de tensión: 0.1 V/s.

- Número de ciclos: 1 ciclo.

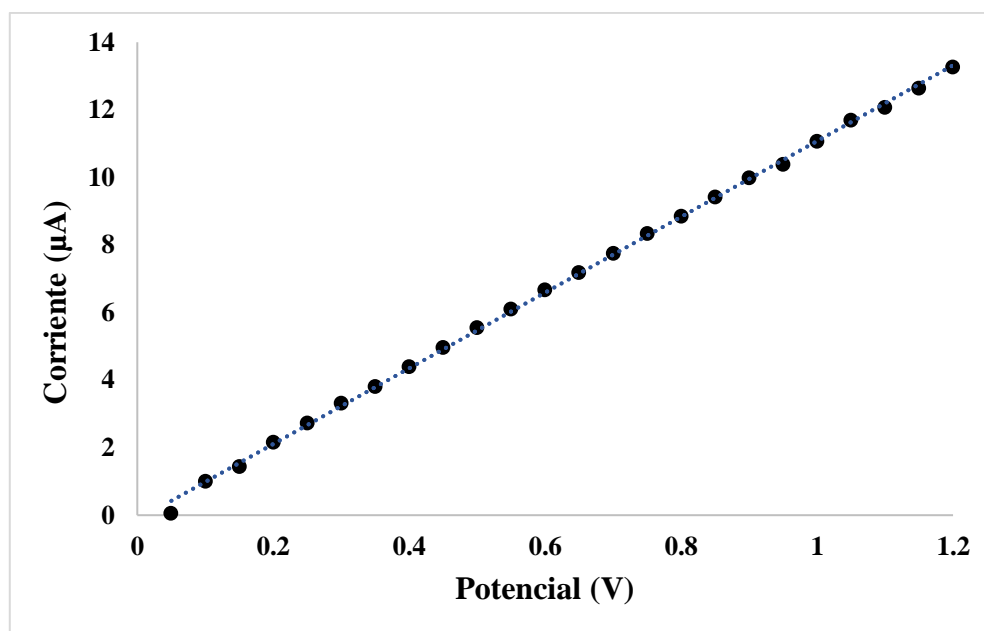


Fig. 5.52: Curva voltamétrica de validación del dispositivo read out

Al aplicar la métrica de coeficiente de correlación lineal, se obtiene un valor de:

$$R = 0.99965 \quad (5.34)$$

d.2). Resultados de la caracterización electroquímica de los SPE con H₂SO₄ a una concentración de 0.5 M.

De los ensayos realizados a los reactivos químicos, aplicando la metodología expuesta en la Sección b del Capítulo V, se obtuvieron los resultados como curvas voltamperimétricas, que fueron procesadas según el Protocolo establecido por el Instituto de Enfermedades Tropicales de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

Una vez finalizada la cantidad de ciclos establecidos por el dispositivo potenciostato, se presenta en la pantalla de la consola la respuesta típica, que incluye el tipo de curva voltamétrica utilizada, la fecha, la cantidad de ciclos que componen a la curva y finalmente los valores respectivos de corriente para un potencial establecido.

```

pi@raspberrypi:~/potenciostato-project/scripts $ python3 potenciostato_
2022-07-19 12:36:40,650 | INFO | main | ##### Starting Potenciosta
2022-07-19 12:36:40,656 | INFO | set_dac | =====
2022-07-19 12:36:40,656 | INFO | set_dac | =====
2022-07-19 12:36:40,656 | INFO | main | Potenciostato mode is enab
2022-07-19 12:37:07,630 | INFO | triangular_wave | Loop number 1...
2022-07-19 12:37:34,591 | INFO | triangular_wave | Loop number 2...
2022-07-19 12:38:01,432 | INFO | triangular_wave | Loop number 3...
2022-07-19 12:38:28,273 | INFO | triangular_wave | Loop number 4...
2022-07-19 12:38:55,115 | INFO | triangular_wave | Loop number 5...
2022-07-19 12:39:21,951 | INFO | triangular_wave | Loop number 6...
2022-07-19 12:39:48,789 | INFO | triangular_wave | Loop number 7...
2022-07-19 12:40:15,628 | INFO | triangular_wave | Loop number 8...
2022-07-19 12:40:42,463 | INFO | triangular_wave | Loop number 9...
2022-07-19 12:41:09,298 | INFO | triangular_wave | Loop number 10...
2022-07-19 12:41:09,540 | INFO | main | table:
                                device  DAC  ADC
DateTime
2022-07-19 12:36:40.657 RodStat-bb663b  0.25  0.36
2022-07-19 12:36:40.775 RodStat-bb663b  0.26  0.58
2022-07-19 12:36:40.877 RodStat-bb663b  0.27  0.56
2022-07-19 12:36:40.978 RodStat-bb663b  0.28  0.63
2022-07-19 12:36:41.101 RodStat-bb663b  0.29  0.59
...
2022-07-19 12:41:08.782 RodStat-bb663b  0.21  0.97
2022-07-19 12:41:08.885 RodStat-bb663b  0.22  1.77
2022-07-19 12:41:08.988 RodStat-bb663b  0.23  1.41
2022-07-19 12:41:09.091 RodStat-bb663b  0.24  0.61
2022-07-19 12:41:09.195 RodStat-bb663b  0.25  0.63

```

Fig. 5.53: Fig. típica de respuesta de la Raspberry Pi a un proceso voltamétrico

En la Fig. 5.54 se presenta la curva voltamperimétrica cíclica en función del tiempo, tanto para el potencial triangular generado, como la corriente leída cuando se ensayó una muestra electroquímica de ácido sulfúrico en los electrodos 220BT, según el Protocolo establecido. La Fig. 5.55 expone la curva voltamétrica de Potencial vs Corriente, una vez aplicado el filtro digital.

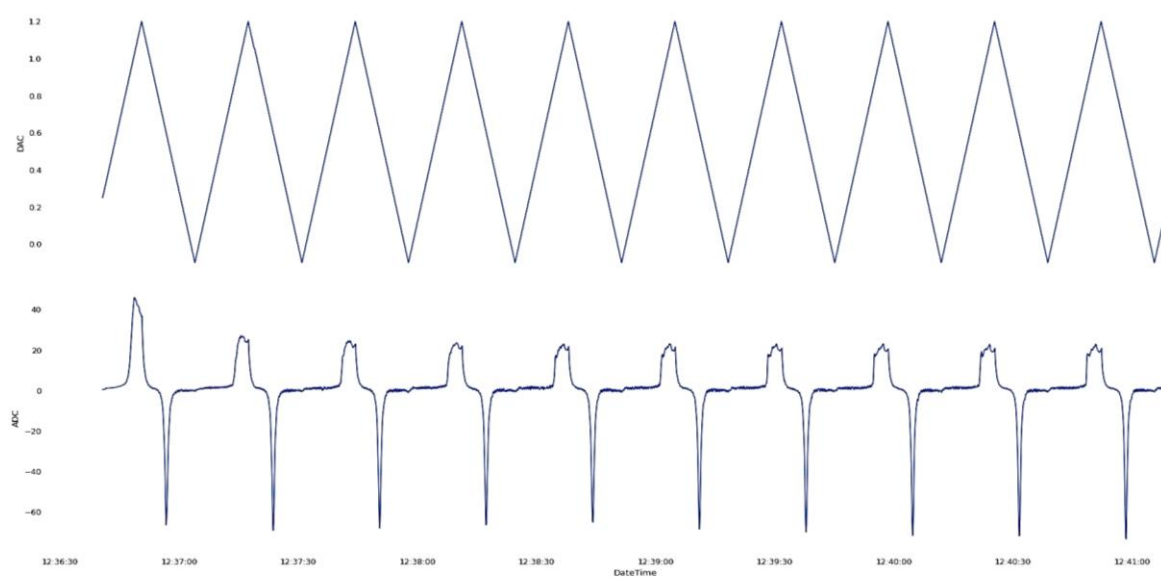


Fig. 5.54: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220BT; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro, y la inferior a la respuesta de corriente

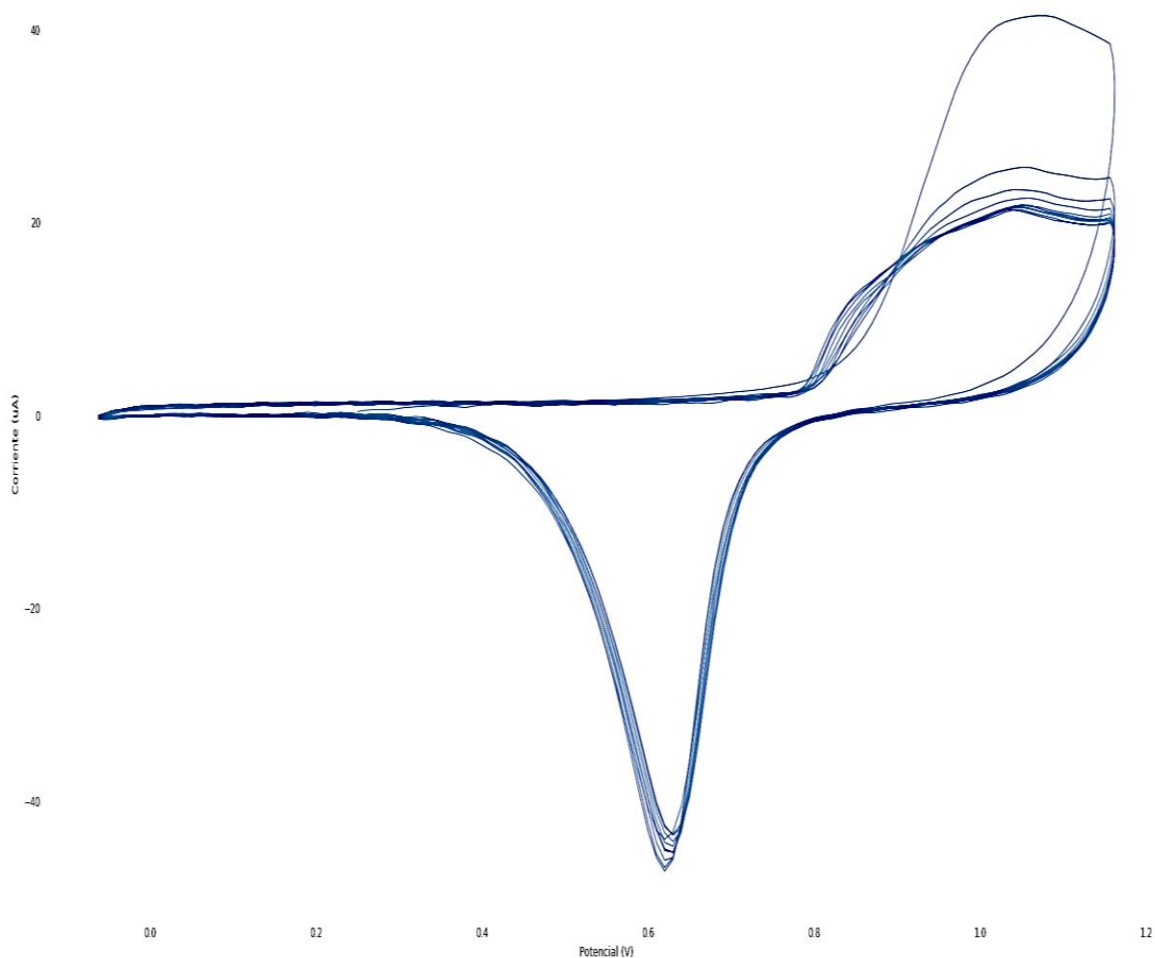


Fig. 5.55: Curva voltamperimétrica cíclica con ácido sulfúrico para el SPE 220BT. Se superponen los 10 ciclos vistos en la Fig. 5.54

De forma análoga, se presentan los resultados de la caracterización electroquímica para el electrodo 220AT, tal como se observa en la Fig. 5.56 y 5.57.

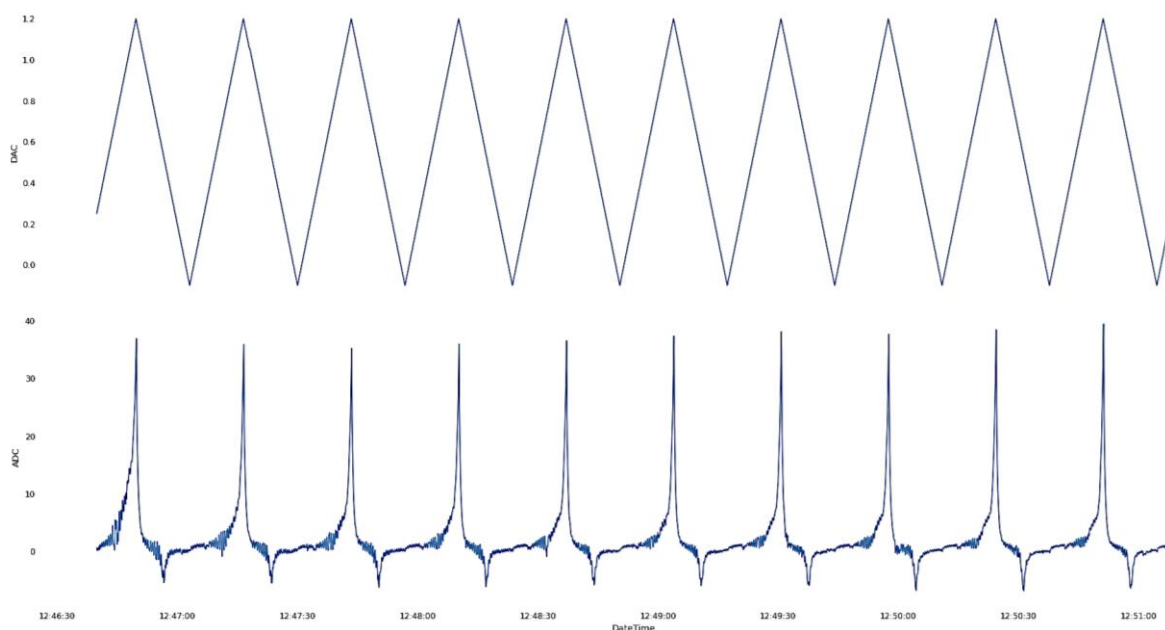


Fig. 5.56: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220AT; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro, y la inferior a la respuesta de corriente

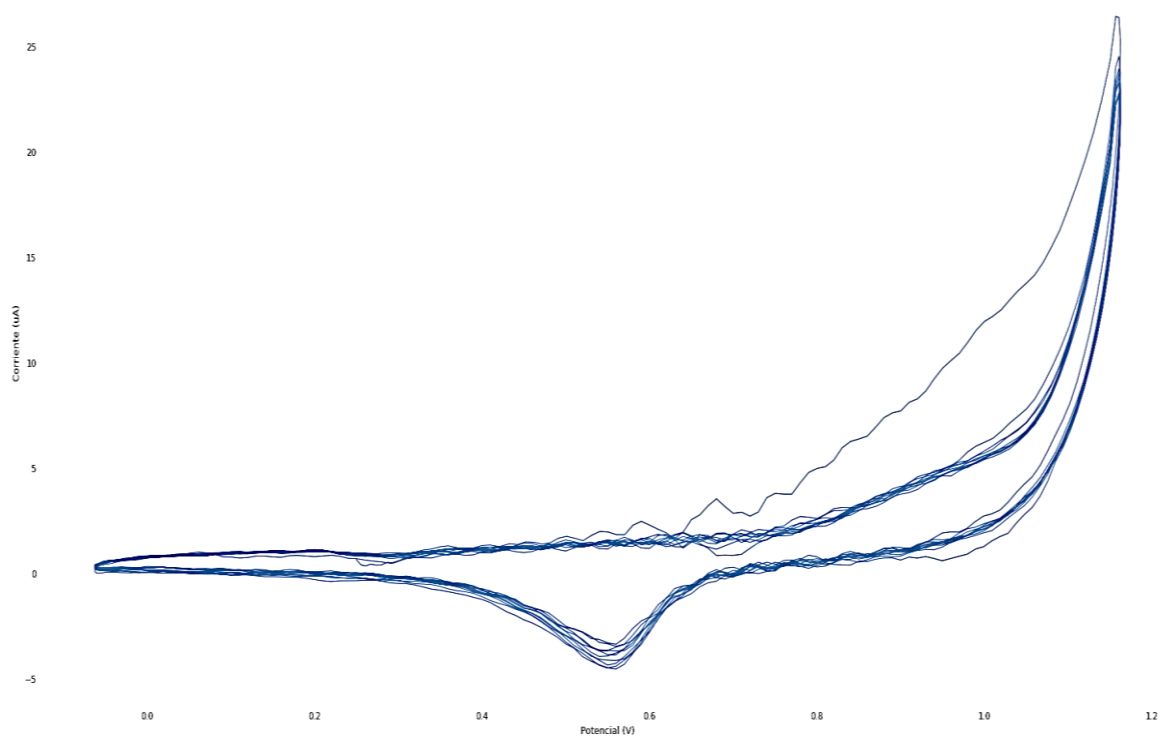


Fig. 5.57: Curva voltamperimétrica cíclica con ácido sulfúrico para el SPE 220AT. Se superponen los 10 ciclos vistos en la Fig. 5.56

Con el objetivo de contrastar los valores obtenidos, se utilizó un instrumento de referencia, previamente configurado de la misma manera que el dispositivo *read out*, el cual brindó una respuesta como se muestra a continuación. Para la respuesta de voltamperometría cíclica del electrodo 220BT, el dispositivo presenta la siguiente gráfica según la Fig. 5.58. Del mismo modo, en la Fig. 5.59 se observa la respuesta gráfica del electrodo 220AT.

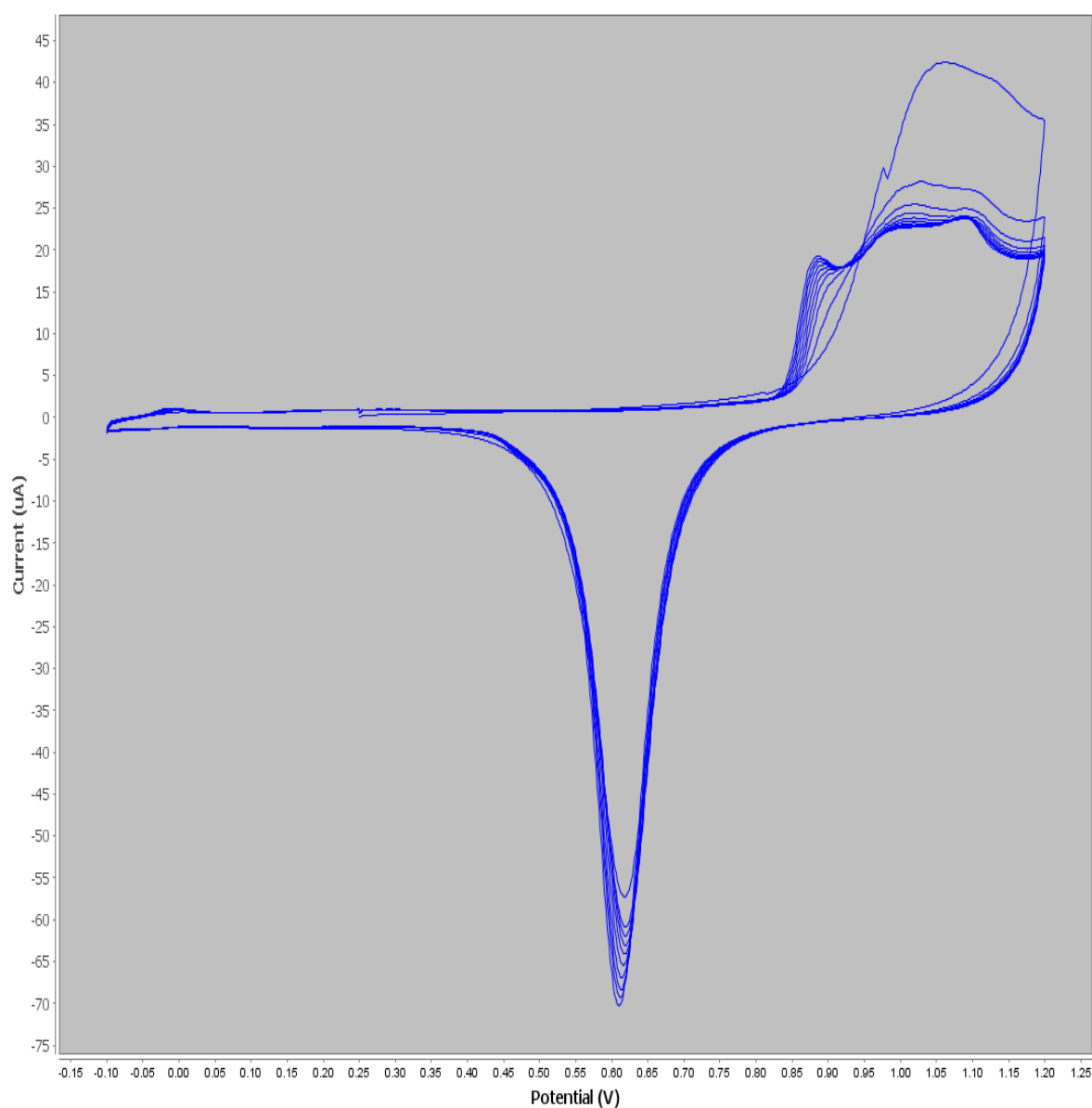


Fig. 5.58: Curva voltamperimétrica cíclica con ácido sulfúrico para el SPE 220BT del dispositivo de referencia

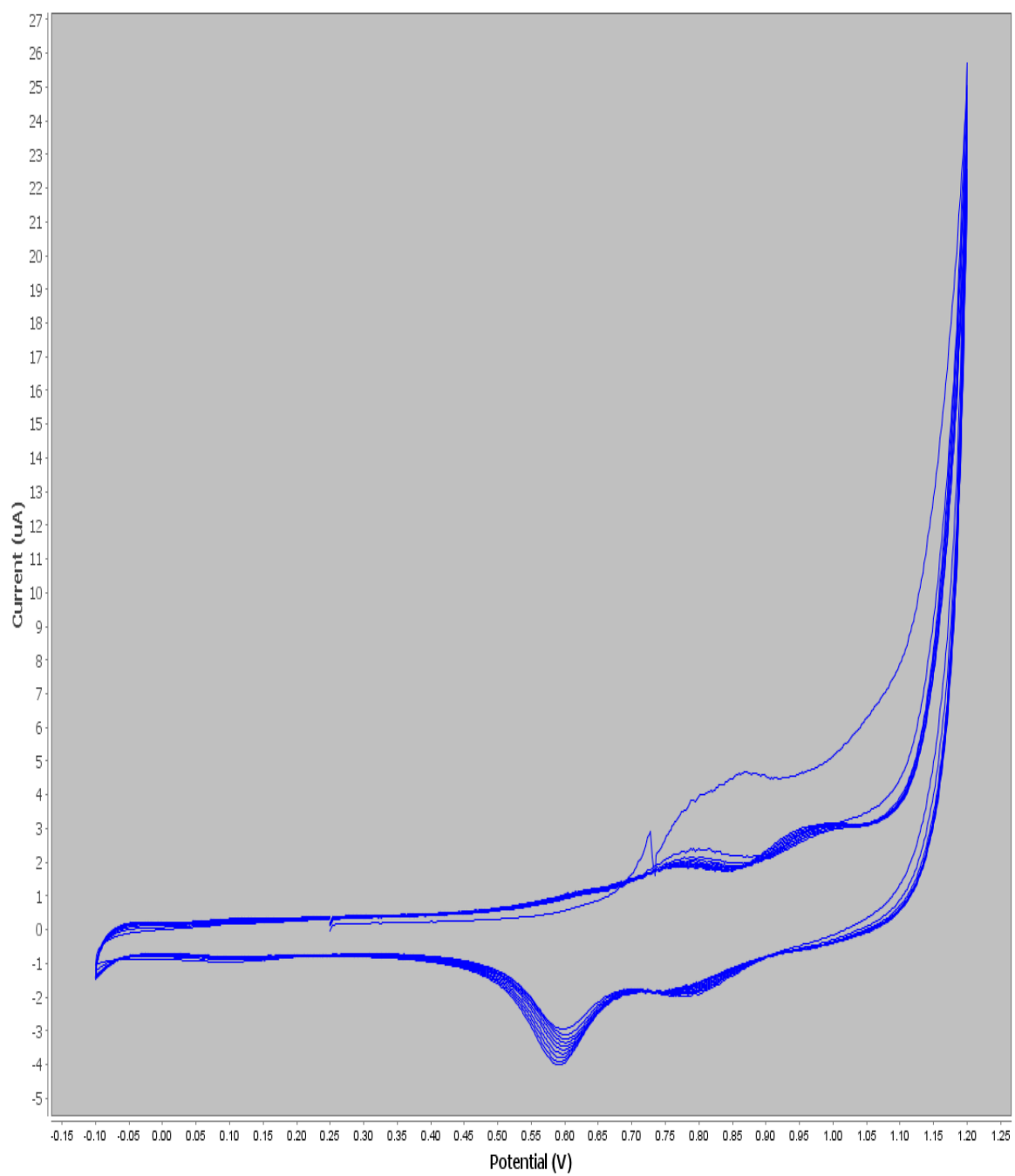


Fig. 5.59: Curva voltamperimétrica cíclica con ácido sulfúrico para el SPE 220AT del dispositivo de referencia

d.2). Resultados de la inmovilización de la Sonda USL sobre los SPE.

Del ensayo experimental realizado, aplicando la metodología expuesta en la Sección c.2 del Capítulo V, se obtuvieron los resultados como gráficas de las curvas voltamperimétricas, que fueron obtenidas según los ensayos experimentales basados en el Protocolo establecido por el Instituto de Enfermedades Tropicales de la UNTRM.

- **Electrodos de control negativo**

En la Fig. 5.60 se expone la gráfica de la curva voltamperimétrica cíclica en función del tiempo y al número de ciclos para los electrodos 220BT, la cual se ensayó para la detección de la Sonda Universal inmovilizada. La Fig. 5.61 presenta la voltametría cíclica del Potencial vs Corriente. De la misma forma, para el electrodo 220AT, en la Fig. 5.62 se visualiza las variables de potencial y corriente en función del tiempo, para todos los ciclos, y la Fig. 5.63 presenta la curva voltamétrica de potencial vs corriente.

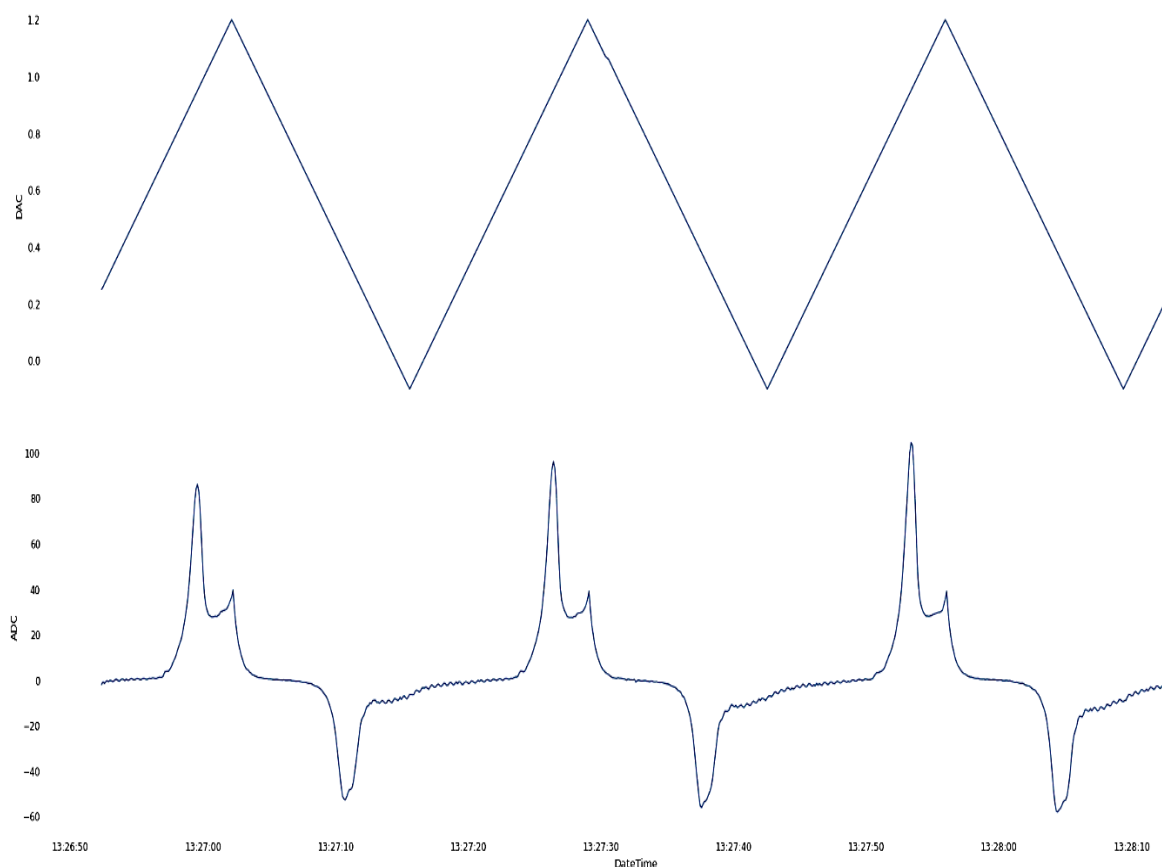


Fig. 5.60: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220BT con Buffer IB; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro y la inferior a la respuesta de corriente

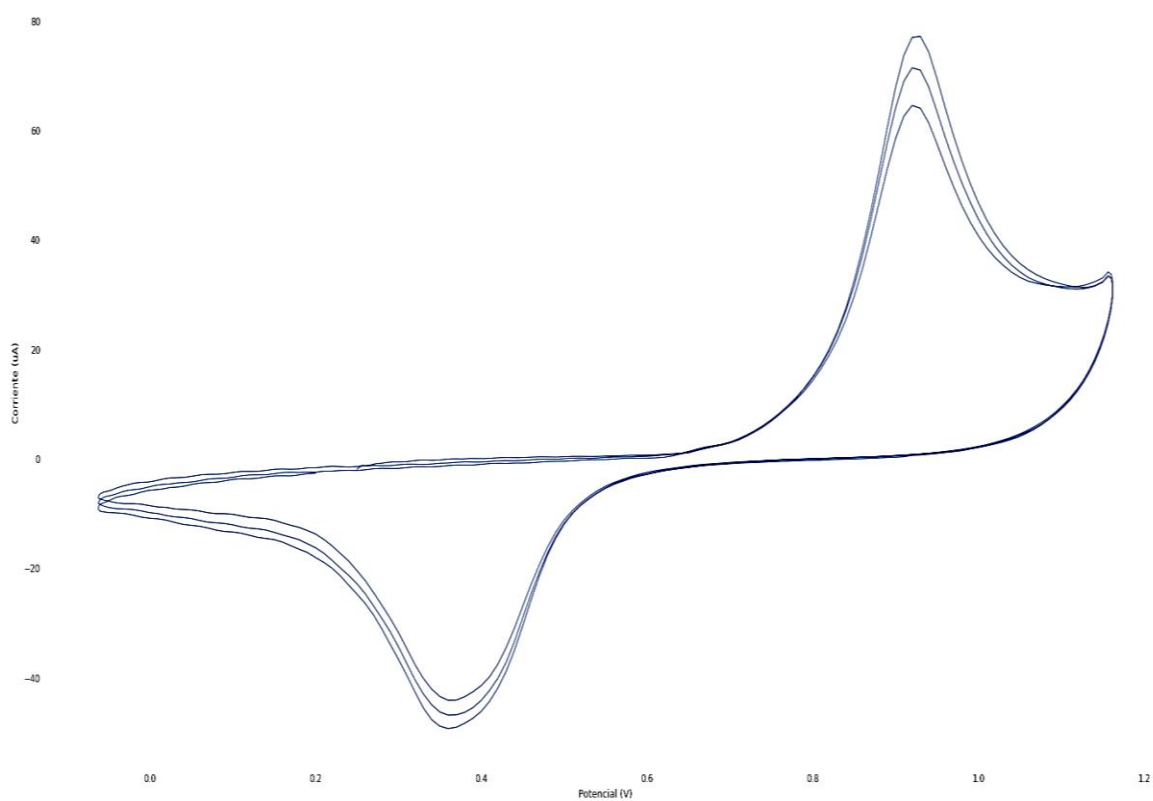


Fig. 5.61: Curva voltamperimétrica cíclica con Buffer IB para el SPE 220BT. Se superponen los tres ciclos vistos en la Fig. 5.60

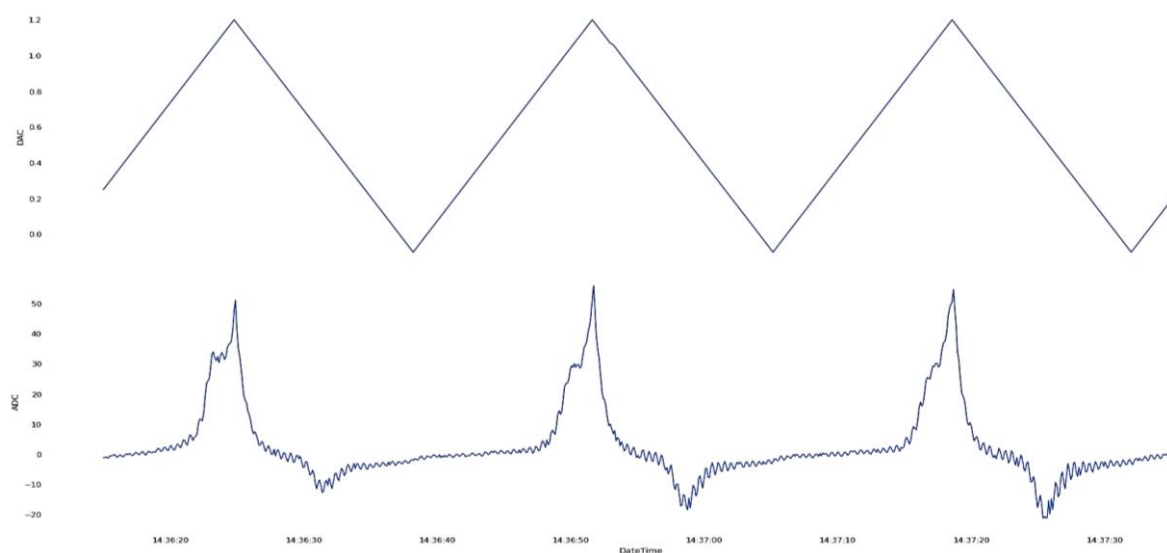


Fig. 5.62: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220AT con Buffer IB; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro y la inferior a la respuesta de corriente.

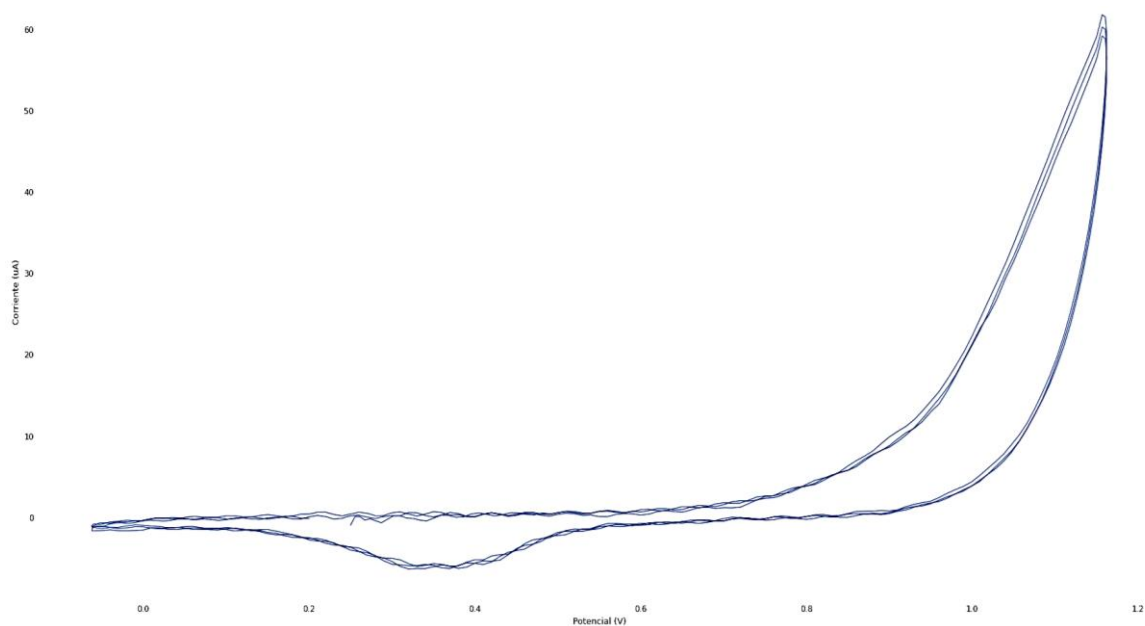


Fig. 5.63: Curva voltamperimétrica cíclica para el SPE 220AT. Se superponen los tres ciclos vistos en la Fig. 5.62.

Se corrobora los valores obtenidos con el dispositivo de referencia, cuyos resultados gráficos se muestran a continuación.

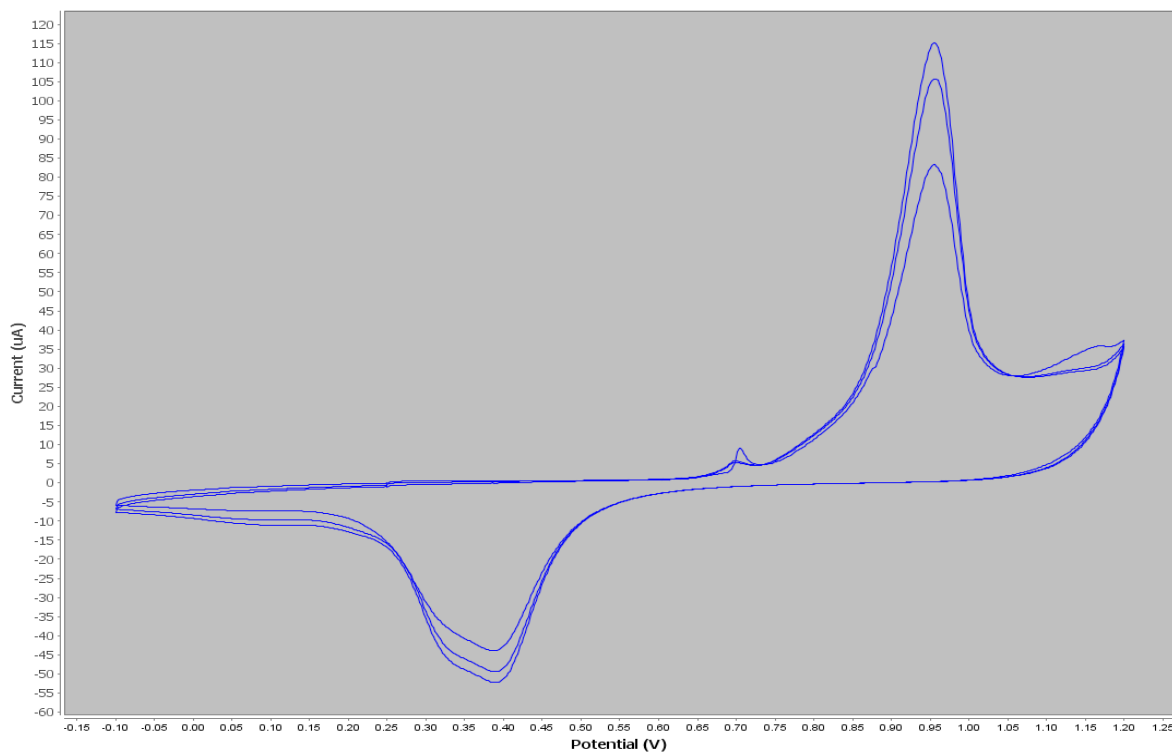


Fig. 5.64: Curva voltamperimétrica cíclica con Buffer IB para el SPE 220BT del dispositivo de referencia

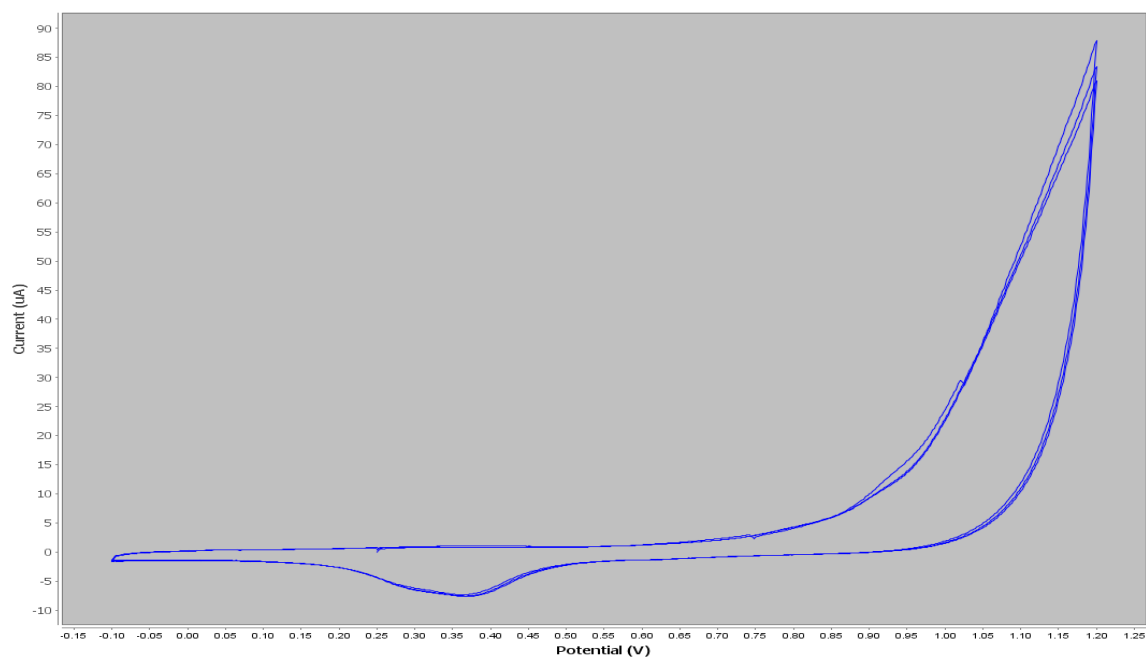


Fig. 5.65: Curva voltamperimétrica cíclica con Buffer IB para el SPE 220AT del dispositivo de referencia

- **Electrodos con la sonda universal inmovilizada**

En la Fig. 5.66 se expone la gráfica de la curva voltamperimétrica cíclica en función del tiempo y al número de ciclos para los electrodos 220BT, la cual se ensayó para la detección de la Sonda Universal inmovilizada. La Fig. 5.67 presenta la voltametría cíclica del Potencial vs Corriente.

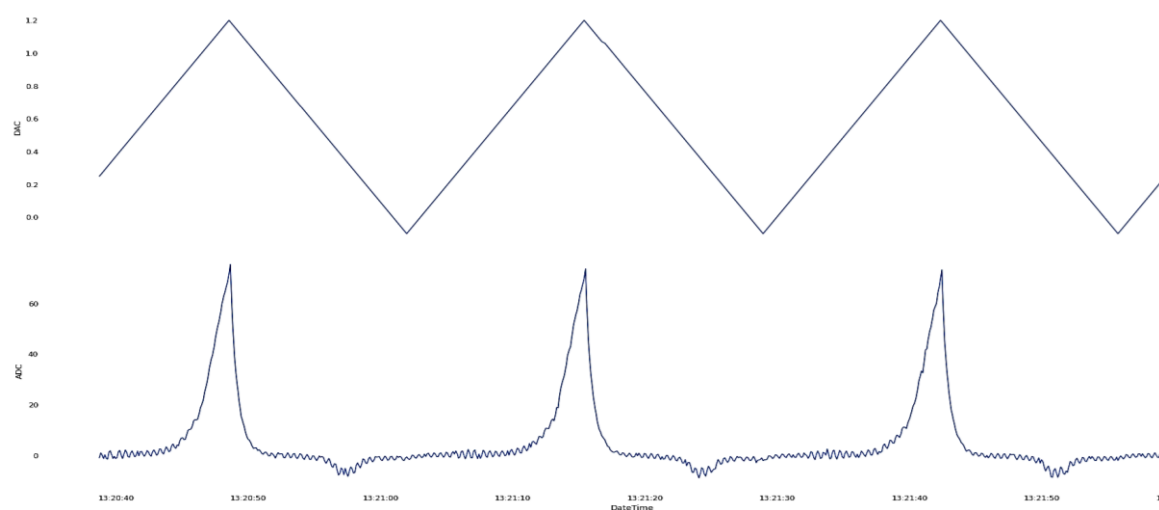


Fig. 5.66: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220BT con Buffer IB+USL+MCH; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro, y la inferior a la respuesta de corriente

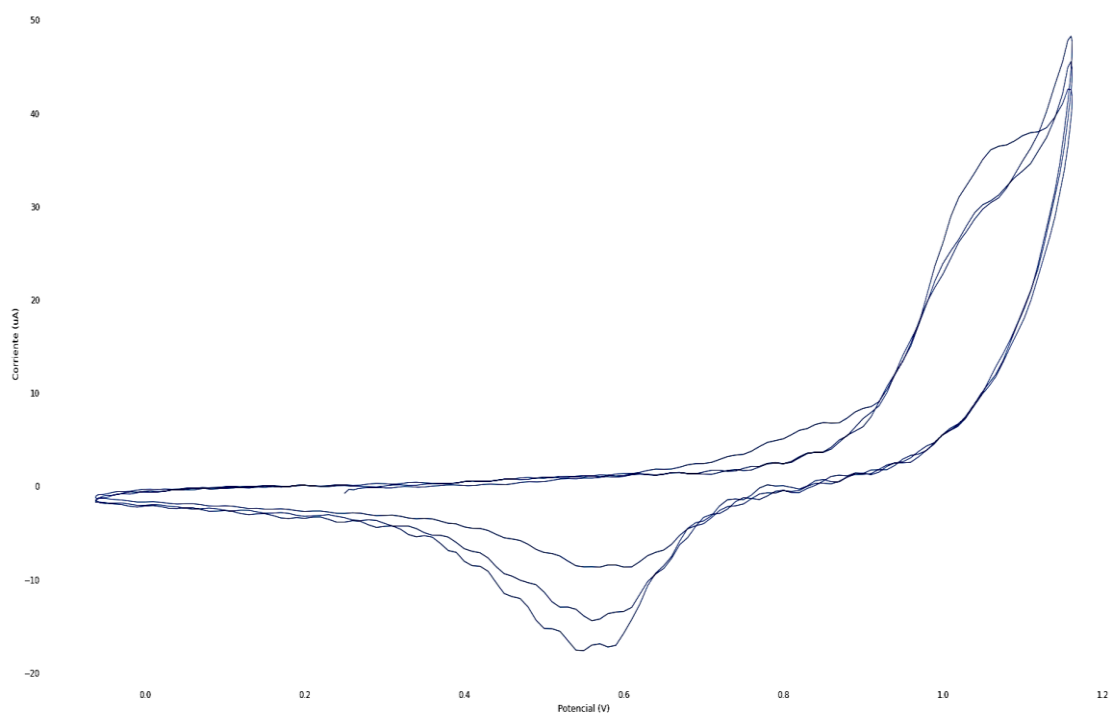


Fig. 5.67: Curva voltamperimétrica cíclica para el SPE 220BT. Se superponen los tres ciclos vistos en la Fig. 5.66

Para el electrodo 220AT, en la Fig. 5.68 se presenta las variables de potencial y corriente en función del tiempo, y en la Fig. 5.69 se observa la curva voltamétrica de potencial vs corriente.

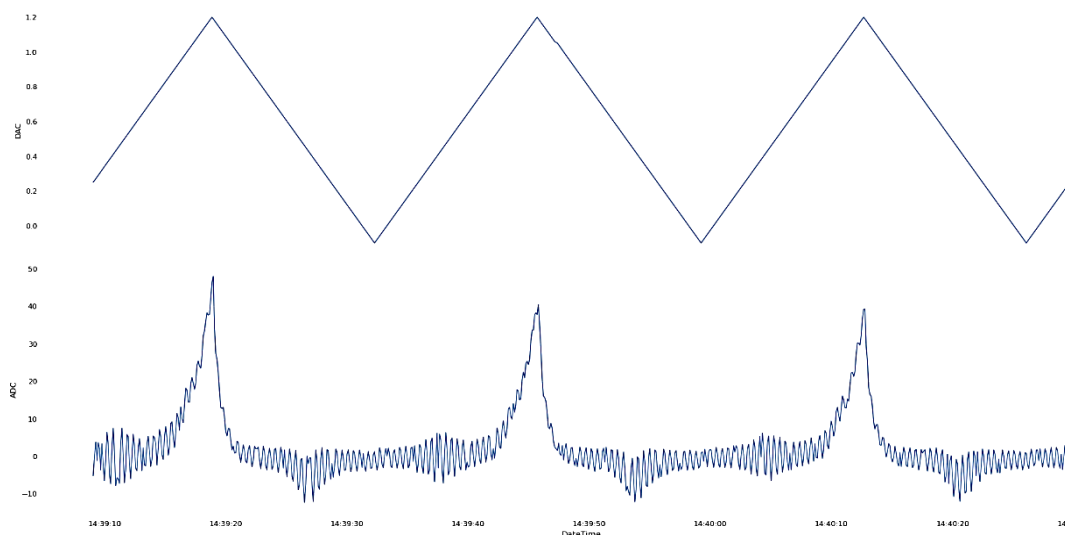


Fig. 5.68: Gráficas en el dominio del tiempo para el SPE 220AT con Buffer IB+USL+MCH; la de la parte superior corresponde a la excitación en el SPE de oro y la inferior a la respuesta de corriente

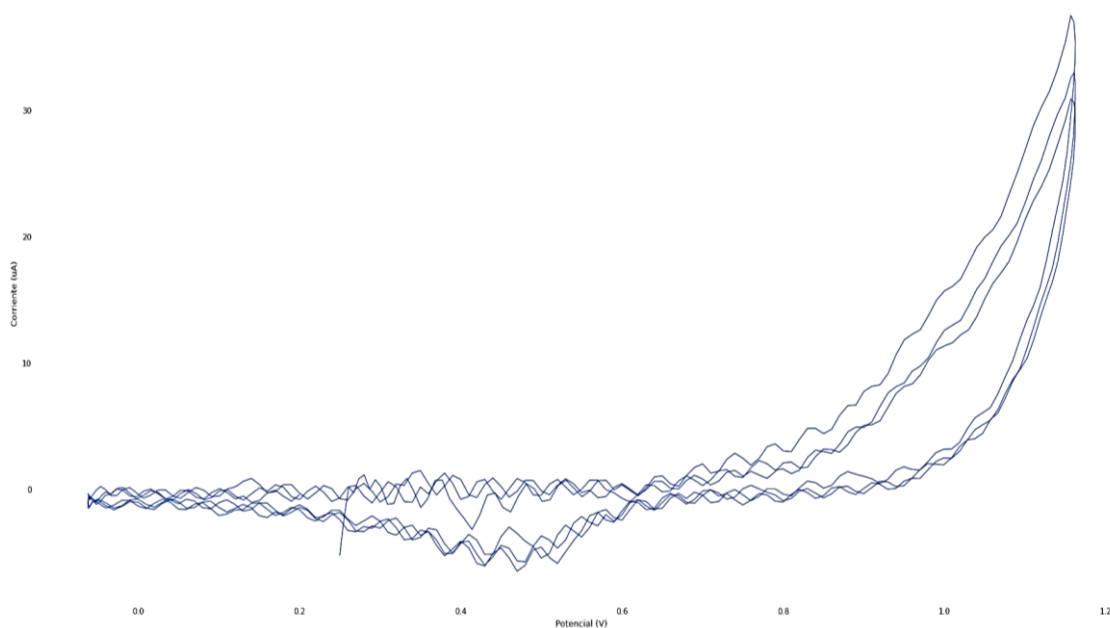


Fig. 5.69: Curva voltamperimétrica cíclica para el SPE 220AT. Se superponen los tres ciclos vistos en la Fig. 5.68

Para el contraste de los valores obtenidos, se utilizó el instrumento de referencia, tal como se expone a continuación.

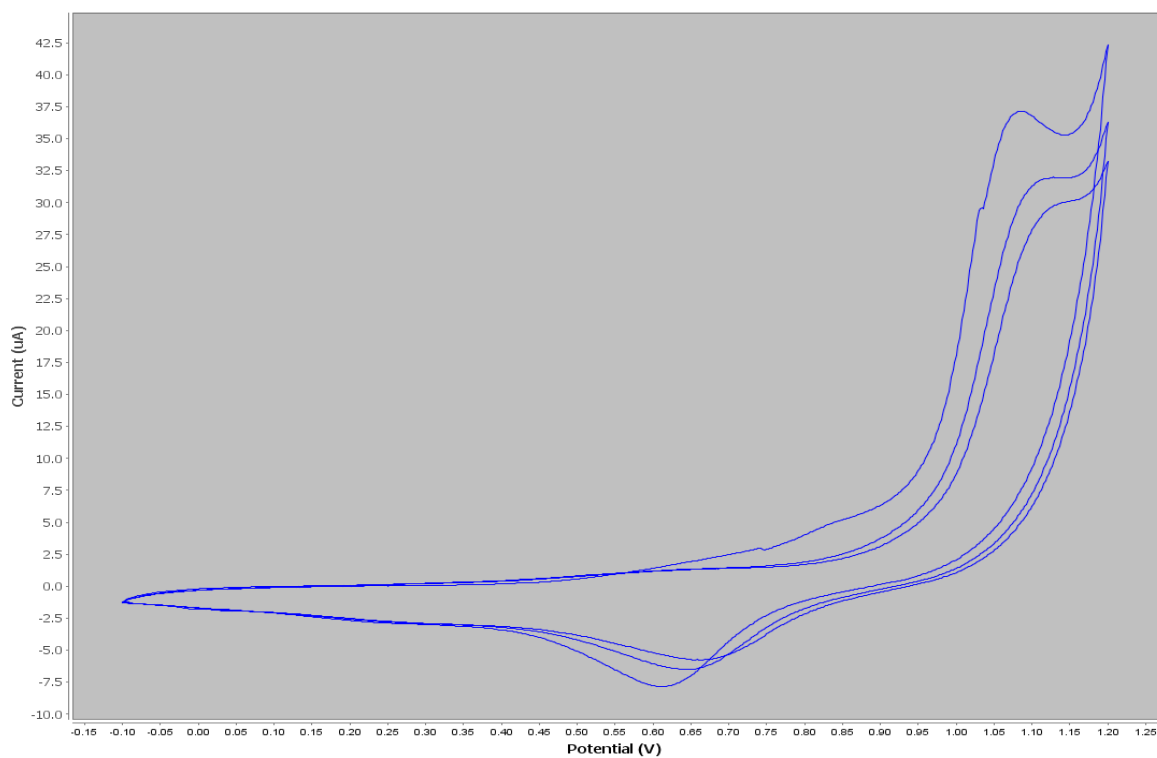


Fig. 5.70: Curva voltamperimétrica cíclica con Buffer IB+USL+MCH para el SPE 220BT del dispositivo de referencia

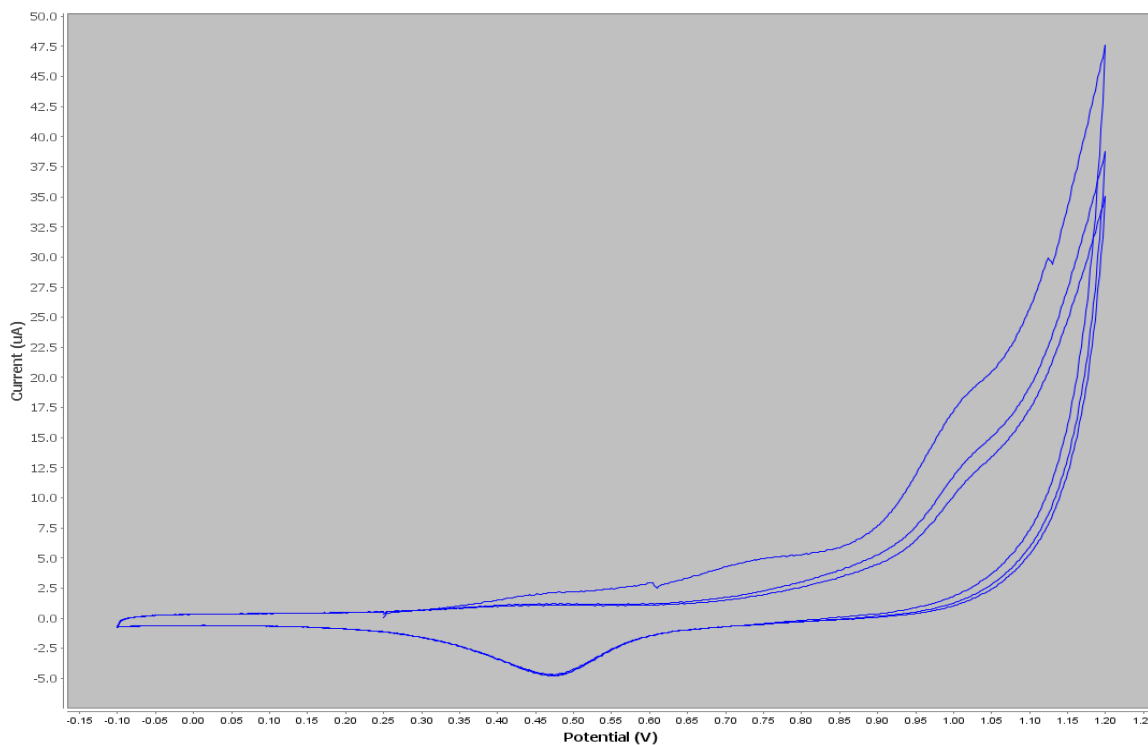


Fig. 5.71: Curva voltamperimétrica cíclica con Buffer IB+USL+MCH para el SPE 220AT del dispositivo de referencia

d.3). Transmisión de datos a la Plataforma analítica ThingSpeak

Una vez obtenida la curva voltamétrica con los parámetros establecidos, el dispositivo de *read out* envía los datos hacia la plataforma ThingSpeak. Los datos obtenidos se guardan de manera local en la Raspberry Pi, por lo cual el usuario puede enviar los datos a la nube en el momento que también lo requiera.

```
pi@raspberrypi:~/potenciostato-project $ python3 send_data.py
device      RodStat-bb663b
DAC         0.25
ADC         0.36
Name: 2022-07-19 12:36:40.657000, dtype: object
device      RodStat-bb663b
DAC         0.26
ADC         0.58
Name: 2022-07-19 12:36:40.775000, dtype: object
device      RodStat-bb663b
DAC         0.27
ADC         0.56
Name: 2022-07-19 12:36:40.877000, dtype: object
device      RodStat-bb663b
DAC         0.28
ADC         0.63
Name: 2022-07-19 12:36:40.978000, dtype: object
device      RodStat-bb663b
DAC         0.29
ADC         0.59
```

Fig. 5.72: Imagen del Raspberry Pi al transmitir los datos a la nube

De acuerdo con los parámetros establecidos, la placa envía los datos a la nube conforme al período configurado, que ha sido configurado cada 20 segundos.

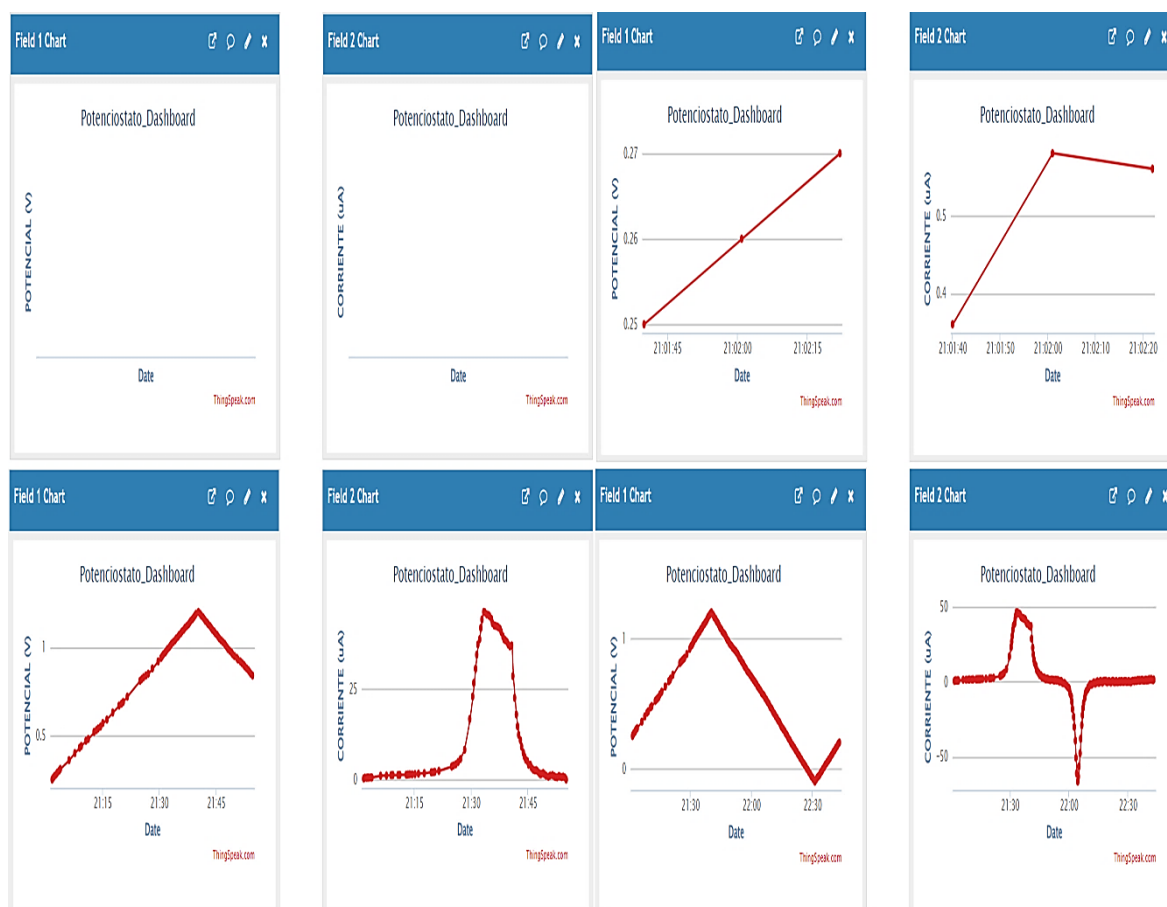


Fig. 5.73: Evolución de las señales en el proceso de transmisión Wi-Fi, confirmando la transmisión de todos los parámetros

Al terminar la transmisión de datos, el usuario puede descargar los datos de la nube, en formato CSV, a través de las opciones que ofrece la plataforma ThingSpeak.

Export

Download all of this Channel's feeds in CSV format.

Time Zone

(GMT+00:00) UTC

Download

Fig. 5.74: Opción de descarga de datos importados a la nube

CAPÍTULO VI

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Introducción

El diseño de un dispositivo de *read out* resultó adecuado para procesar señales de cambios en el potencial redox de biosensores. El dispositivo detecta los picos de corriente en el rango de potencial adecuado del analito incluso a concentraciones bajas, llegando a niveles de concentración de nano molar, tal como se muestra en la detección de la sonda universal a concentraciones de 50 nM. Asimismo, se realizó la validación del dispositivo diseñado, que como tal, según la gráfica de la Fig. 5.52, presenta un comportamiento lineal con pendiente positiva, característico de la Ley de Ohm, esto como resultado del uso de una celda muda, basada en el uso de resistencias de precisión. En la gráfica presentada se aprecia algunas variaciones y dispersión de valores, generadas por agentes externos que introducen ruido en el sistema, sin embargo, con base a la ecuación 5.34, se observa que el dispositivo de *read out* posee un excelente coeficiente de correlación lineal, con valor de 0.999453, que es considerado un valor válido; pero resulta importante contrastar estos logros con otras propuestas formuladas por otros investigadores, tal como se expone a continuación.

1. Para la contrastación de los resultados obtenidos, se utilizó un instrumento de referencia, el cual es un potenciostato comercial de la empresa Metrohm DROPSSENS, que cuenta con las siguientes características.

- Nombre del dispositivo: μ Stat-i 400.
- Alimentación: Batería Li-ion (2300 mAh).
- Interfaz de PC: Comunicación USB.
- Rango de Potencial: ± 4 V.
- Rango de Corriente: ± 1 nA hasta ± 10 mA (8 rangos).

Al comparar las gráficas voltamperimétricas obtenidas por el dispositivo diseñado y el dispositivo comercial, de acuerdo con la forma de las gráficas y el rango de potencial para la identificación de los picos de corriente, se cumple con los objetivos de esta investigación. Además, debido a que la magnitud de la corriente en la curva es dependiente de distintas variables, tal como lo son el tiempo, concentración del analito, o temperatura, etc. las curvas voltamperimétricas son sensibles a pequeños cambios de algunas de estas variables, en consecuencia, es posible que cambie el valor del pico y un mínimo porcentaje de error con el potencial de trabajo. Por lo tanto, para mejor comparación, las mediciones de las curvas voltamétricas son realizadas sobre un mismo electrodo por ambos dispositivos, dado que la lectura sobre otro electrodo implica la probabilidad de obtención de curvas diferentes. Es frecuente la realización de ensayos experimentales esperando una respuesta de un pico de corriente dentro de un rango de potencial esperado, que permite decidir si la lectura voltamétrica es correcta o no.

A través de la voltametría cíclica con ácido sulfúrico se realiza la caracterización electroquímica del SPE y este proceso representa el paso previo a la inmovilización de la sonda universal, se realizaron las lecturas con electrodos diferentes, tanto para el dispositivo diseñado, como para el dispositivo comercial. Así, en la respuesta de ambos dispositivos se observa una única curva que difiere en la forma, o la tendencia a las otras nueve curvas que conforman la voltametría cíclica de 10 ciclos según el protocolo. Esta curva corresponde al primer ciclo de la voltametría cíclica, y presenta esta forma debido al comportamiento transitorio que tiene la solución junto con el electrodo, ya que se forma una capa de comportamiento capacitivo, la cual, en sus condiciones iniciales representa análogamente a un capacitor descargado.

Por cuanto no se puede realizar una comparación directa entre las magnitudes de corriente de ambos dispositivos, se realiza el cálculo del error porcentual del dispositivo de *read out* con respecto al dispositivo comercial usando como criterio el potencial que proporciona el pico de corriente de la curva voltamétrica.

La Fig. 6.1 expone la comparación de las 10 curvas voltamétricas cíclicas, procedentes de la caracterización electroquímica mediante ácido sulfúrico.

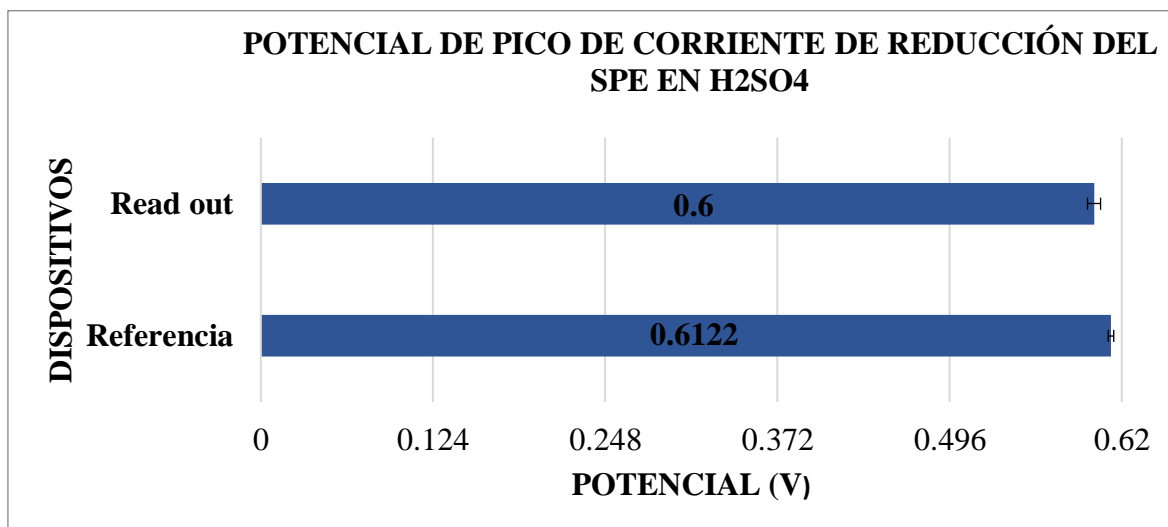


Fig. 6.1: Gráfica comparativa de magnitud de potencial para el pico de corriente de reducción del oro entre el dispositivo read out y el dispositivo de referencia

Del valor del gráfico, se determina el error porcentual mediante la fórmula:

$$Error (\%) = \left| \frac{Valor_{verdadero} - Valor_{aproximado}}{Valor_{verdadero}} \right| \times 100\% \quad (6.1)$$

Al usar la ecuación 6.1, se obtiene un error porcentual de 1.9928 %, que como tal, para los propósitos de la tesis de investigación, y los ensayos experimentales del laboratorio, es un valor admisible.

De forma análoga, se realiza la comparación de los potenciales en el ensayo experimental con buffer IB.

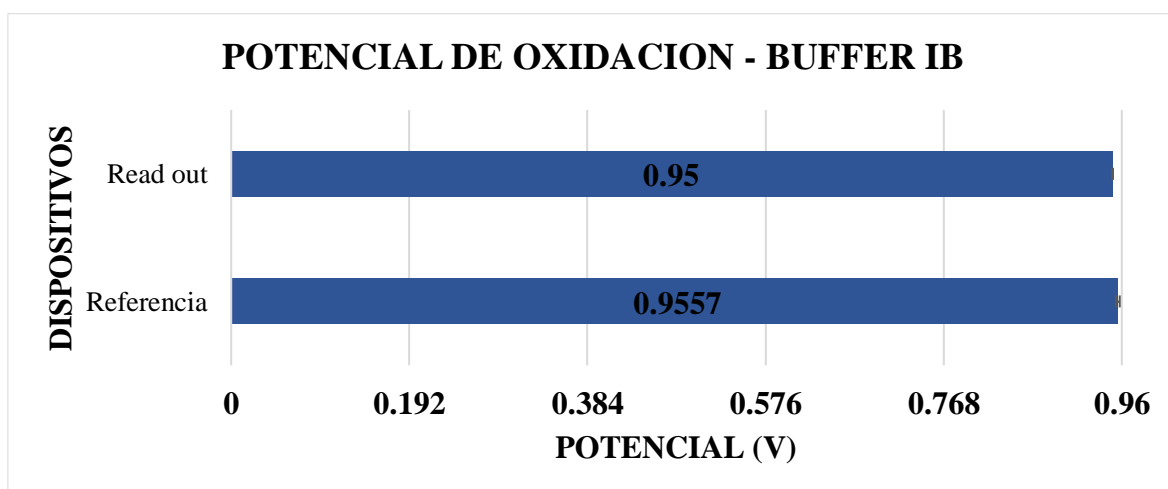


Fig. 6.2: Gráfica comparativa de magnitud del potencial de oxidación para el pico de corriente de con Buffer IB entre el dispositivo read out y el dispositivo de referencia

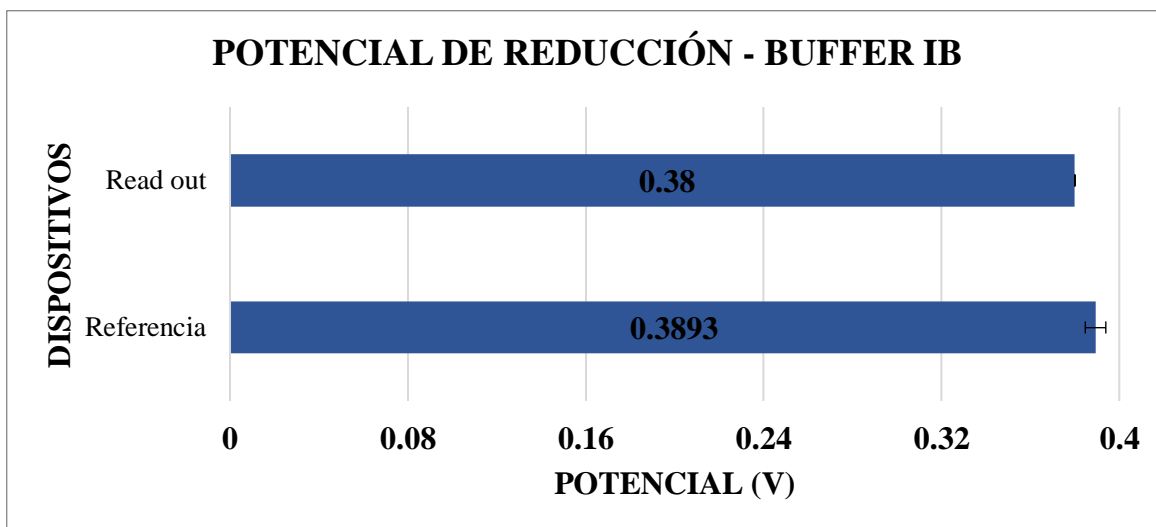


Fig. 6.3: Gráfica comparativa de magnitud del potencial de reducción para el pico de corriente con Buffer IB entre el dispositivo read out y el dispositivo de referencia

Al aplicar la ecuación 6.1 para el cálculo del error porcentual de ambas gráficas, se tiene:

- Potencial de oxidación: 0.5964 %.
- Potencial de reducción: 2.3964 %.

Ambos errores presentan valores aceptables para los ensayos experimentales de laboratorio y, por lo tanto, para la presente tesis de investigación. Asimismo, se resalta que cuando los electrodos están polucionados se deteriora la sensibilidad.

Finalmente, el dispositivo diseñado cuenta con la facilidad de la transmisión inalámbrica de datos vía Wi-Fi, sin la necesidad de contar con una pantalla conectada directamente al dispositivo para la visualización de las curvas voltamperimétricas, en comparación con el dispositivo de referencia, que muestra las gráficas solo a través de una pantalla de PC, mediante la interfaz USB.

2. El dispositivo desarrollado en contraste con el diseño de A. Cantasini [66] en ambos casos se utiliza un tipo de SCB Raspberry Pi para el desarrollo del algoritmo usando lenguaje Python y los conversores analógico digital y digital analógico, pero difiere con el diseño desarrollado en esta investigación en lo que corresponde al diseño de los filtros y la selección de los amplificadores operacionales para la implementación del sistema potencioµo, ya que dicha propuesta usa un solo tipo de amplificador para cada etapa de sistema analógico, que en esta investigación es el opamp OP77. Asimismo, ambos diseños difieren en el modo de

presentación de las gráficas voltamétricas resultantes, sobre el cual Cantasini optó por no hacer uso de algún tipo de filtro digital, caso contrario al dispositivo diseñado en la presente tesis, donde se utiliza un filtro de media móvil con un factor de alisamiento de 5. Finalmente, las pruebas de voltametría cíclica se han realizado en ambas situaciones sobre electrodos de oro, pero con distintos reactivos químicos, debido a las diferencias en los protocolos establecidos por los laboratorios de las instituciones. Sin embargo, en los resultados expuestos se aprecia que el dispositivo de la presente tesis posee mayor sensibilidad y capacidad de detección de concentraciones más bajas en comparación con las concentraciones usadas por Cantasini, que son concentraciones variables de etanol (10, 20 y 30 %) en un medio de NaOH a 0.1 M.

3. Al comparar los criterios expuestos por J. Dieffenderfer [7], en lo referente al diseño del sistema potenciostato y su modo de transmisión de datos, esta investigación hace uso de un dispositivo potenciostato comercial LMP91000 de Texas Instruments, al cual incorporan un ADC y un chip de transmisión Bluetooth. En tal sentido, los resultados de este trabajo son concordantes con lo expuesto por Dieffernderfer por cuanto el dispositivo tiene el objetivo de detectar muestras biológicas mediante la técnica de voltametría cíclica a una concentración determinada y luego comparar las gráficas voltamétricas resultantes con las obtenidas por un dispositivo comercial de referencia, lo cual, para la investigación Dieffenderfer tiene como muestra objetivo una muestra de lactato, que alcanza los valores de concentración de 0.1 mM. Para la presente tesis de investigación se detecta la sonda universal de ADN a una concentración de 50 nM y de la misma forma se hace la comparación respectiva con un dispositivo de referencia, de lo cual se concluye que el dispositivo de la presente investigación tiene mayor sensibilidad.

Asimismo, se recalca el hecho de la diferencia marcada entre las gráficas resultantes de los dos tipos de electrodos serigrafados utilizados, que son el 200AT y el 220BT. Esto es debido a la temperatura de la tinta de curado que se utiliza sobre cada tipo de electrodo, donde las siglas AT se refieren al uso de altas temperaturas de tinta de curado y BT al uso de bajas temperaturas, lo cual genera un ordenamiento y apilamiento diferente de las partículas de oro para cada electrodo, las cuales son perceptibles a escala microscópica, tal como se presenta en la Fig. 6.4.

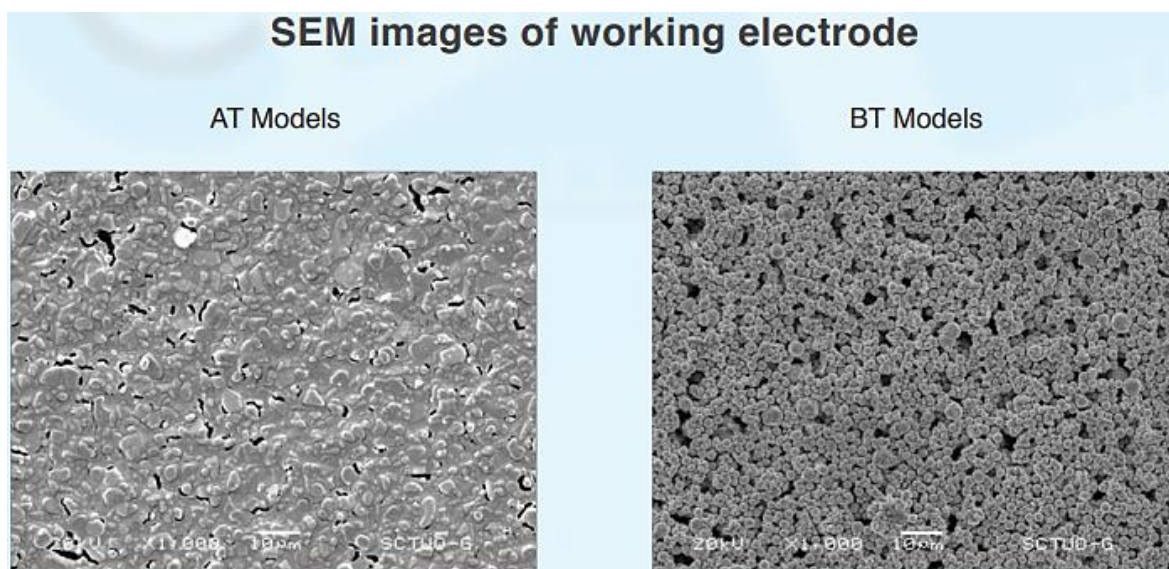


Fig. 6.4: Electrodo de trabajo de oro desde una SEM para distintos tipos de temperatura de tinta de curado. Fuente: <https://www.dropsens.com>.

De este modo, los SPE pueden tener distintas propiedades dependiendo del tipo de aplicación a utilizar, esto se debe principalmente a las fuerzas de Van der Waals en los procesos de adsorción y desorción del material, lo cual es análogo al efecto de las fuerzas de Van der Waals en las partículas de carbón activado.

En general, la aplicación de la metodología materia de esta investigación ha resultado de gran utilidad para sentar las bases del diseño e implementación de dispositivos de detección y diagnóstico en puntos de atención al paciente en el país, por lo cual ha resultado factible su desarrollo. En comparación a la propuesta de otras investigaciones, tanto por el principio de funcionamiento, sensibilidad y costo de implementación.

6.2. Contrastación de Hipótesis

6.2.1. Hipótesis General

Con el diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico se procesan potenciales redox con biosensores electroquímicos.

H₁: Con el diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico se procesan potenciales redox con biosensores electroquímicos.

H₀: Con el diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico no se procesan potenciales redox con biosensores electroquímicos.

Vistos los resultados voltamperimétricos según el Protocolo de biosensores, se observa la presencia de los picos de oxidación y/o reducción según el reactivo utilizado en los experimentos. Al respecto, al contrastar los resultados con los obtenidos por el dispositivo comercial, se encontró una aproximación con un error máximo calculado de 2.3964 % que, para estas pruebas, se considera un valor admisible. En consecuencia, *se acepta la hipótesis alterna y se descarta la hipótesis nula.*

En la Fig. 6.5, para una de las curvas de voltametría cíclica, se observa el pico de reducción del oro con su valor de potencial respectivo, por parte del dispositivo comercial, que establece el máximo valor en el punto de 0.608 V, este valor de pico de reducción es obtenido de la caracterización electroquímica para el electrodo 220BT con ácido sulfúrico, en la sección c.1 del Capítulo V. Por otro lado, en la Fig. 6.6 se visualiza el pico de corriente obtenido por el dispositivo de *read out* diseñado, que establece el pico máximo en un valor de potencial de 0.6 V.

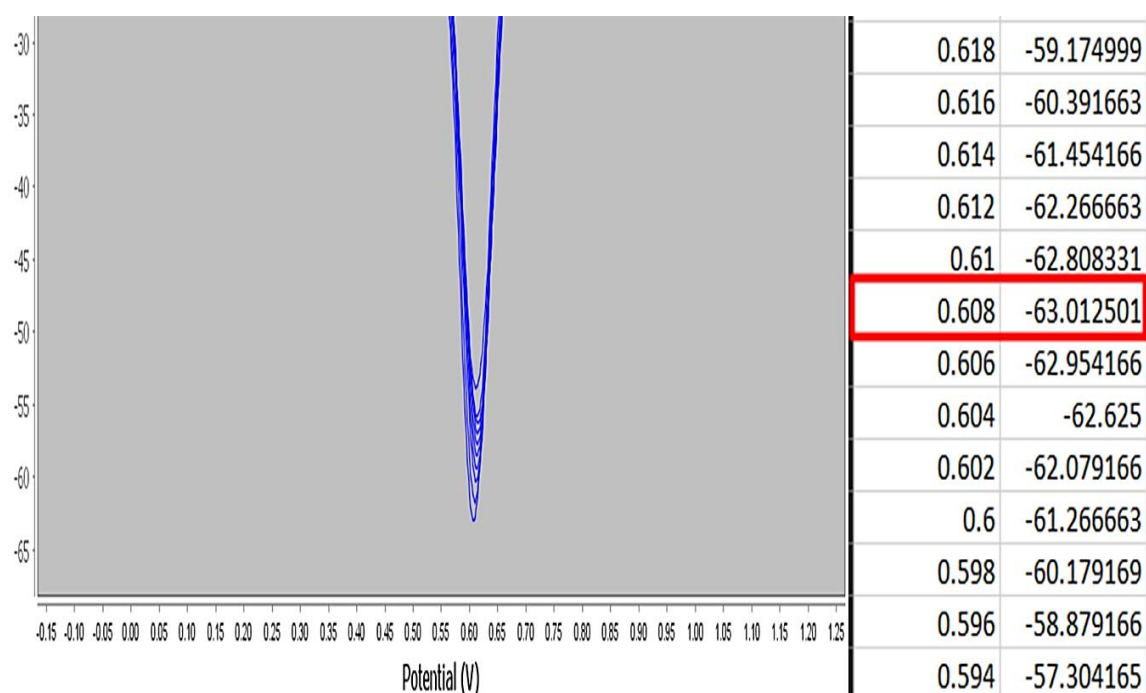


Fig. 6.5: Pico de corriente para el potencial de reducción del oro del dispositivo comercial de referencia

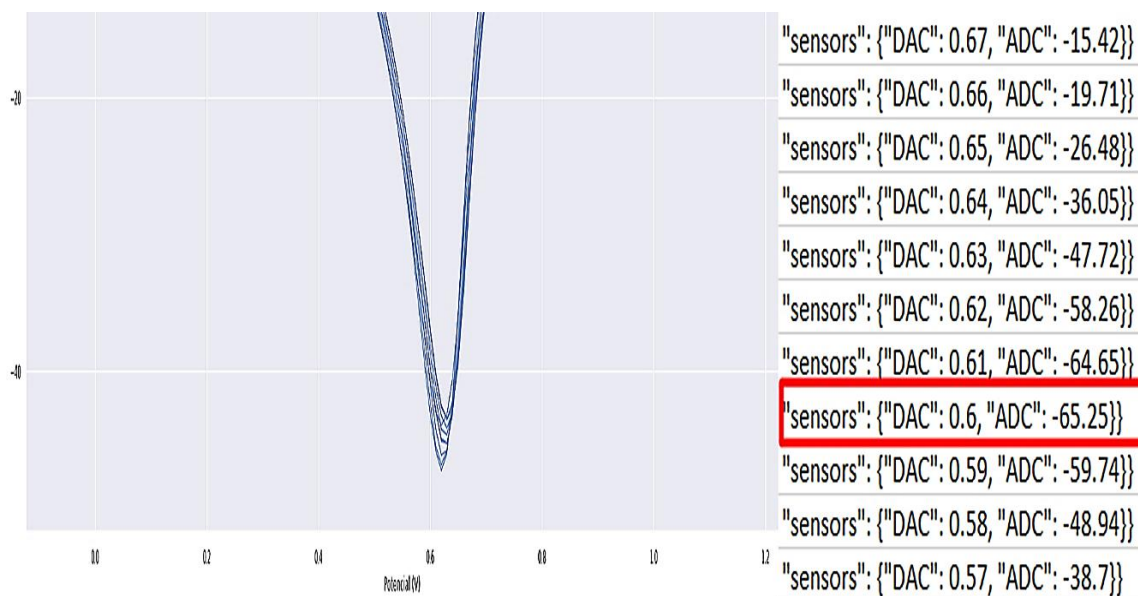


Fig. 6.6: Pico de corriente para el potencial de reducción del oro del dispositivo read out

Dado a que el dispositivo cuenta un filtro analógico de cuarto orden para evitar la interferencia de señales no deseadas de alta frecuencia, la magnitud de la variable de la corriente se ve atenuada, aun cuando se ha tomado en cuenta el diseño de los filtros Butterworth de ganancia unitaria para una respuesta máximamente plana, el sistema proporciona atenuación para la salida de este. Además, se hace uso de un filtro digital de media móvil para realizar un alisamiento de la curva final mostrada, la cual toma como salida el promedio ponderado de la media de los valores vecinos a un punto dado, lo cual genera un desplazamiento en el eje x del pico de corriente con respecto al potencial real.

6.2.2. Hipótesis específicas

a). **Con el diseño de un dispositivo read out inalámbrico se identifica la dinámica iónica de los compuestos electroquímicos usando biosensores.**

H₁: Con el diseño de un dispositivo read out inalámbrico se identifica la dinámica iónica de los compuestos electroquímicos usando biosensores.

H₀: Con el diseño de un dispositivo read out inalámbrico no se identifica la dinámica iónica de los compuestos electroquímicos usando biosensores.

Interpretación: La generación de una curva voltamétrica, como la curva de voltametría cíclica, establece la necesidad de producir un potencial continuo en una celda electroquímica con la finalidad de obtener una corriente en respuesta a la magnitud del potencial establecido en un determinado período. La ecuación 2.11

describe el comportamiento de la corriente en función a distintos parámetros, como la tasa de escaneo de potencial, la concentración del analito, el coeficiente de difusión y el número de electrones transferidos, que depende directamente del potencial redox.

$$i_p = 2.686 \times 10^5 n^{3/2} A c^0 \sqrt{Dv}$$

Tal comportamiento está estrictamente relacionado con la transferencia de carga farádica y no farádica, que explican el movimiento y transferencia de cargas en las distintas partes de la celda. *Consecuentemente se descarta la hipótesis nula*, y por tanto es válido considerar que el dispositivo de *read out* inalámbrico influye directamente en el comportamiento iónico de los compuestos electroquímicos, del mismo modo como se muestra en la Fig. 6.7, que expone el comportamiento iónico de la solución analito a través de una respuesta de corriente dada una excitación de potencial.

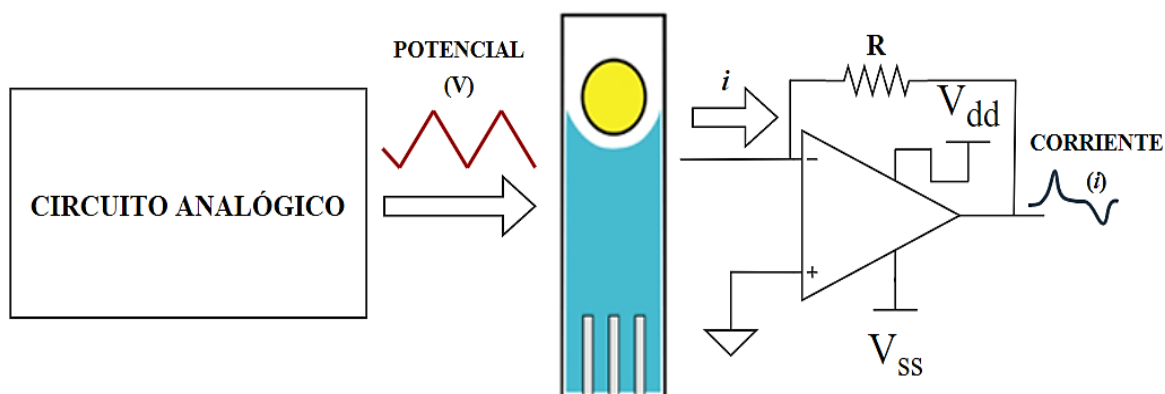


Fig. 6.7: Respuesta del electrodo en forma de corriente a una excitación de potencial provista por el dispositivo potencioestado

b). El diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico influye significativamente en el procesamiento de las variables electroquímicas aplicando biosensores.

H₁: El diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico influye significativamente en el procesamiento de las variables electroquímicas aplicando biosensores.

H₀: El diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico no influye significativamente en el procesamiento de las variables electroquímicas aplicando biosensores.

Interpretación: Los parámetros electroquímicos obtenidos por los biosensores utilizados corresponden a los resultados de los potenciales redox traducidos en las

señales voltamperimétricas de la celda, esto es debido al tipo de técnica electroquímica escogida durante la metodología de trabajo de la presente tesis de investigación, la cual corresponde a la técnica voltamétrica cíclica, que establece como variable de entrada (hacia el SPE) un potencial de forma escalonada y toma como variable de salida la corriente de respuesta del electrodo de trabajo. Por lo tanto, usando como referencia la Fig. 6.7 se expone el uso del amplificador de transimpedancia como elemento encargado del procesamiento de la corriente, la cual es convertida de forma proporcional a la resistencia de realimentación del amplificador a una tensión (en V), que es leída por el ADC, para su posterior procesamiento mediante algoritmos en lenguaje Python en la placa Raspberry Pi; del mismo modo, la SCB se encarga de generar la tensión en forma triangular con el uso del DAC, la cual excita al electrodo de oro, y cumple la función de guardar cada valor generado de tensión, así como cada dato de tensión leída por el ADC para posteriormente transformar dicho valor en su valor respectivo de corriente (en μA) y luego ser almacenados en un archivo de extensión CSV, para presentar su respectiva gráfica voltamétrica y su correcta transmisión de datos hacia la nube. *Esta evidencia es suficiente para rechazar la hipótesis nula y aceptar la hipótesis alterna.*

c). El diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico permite detectar la dinámica de las secuencias nucleotídicas mediante el uso de biosensores.

H₁: El diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico permite detectar la dinámica de las secuencias nucleotídicas mediante el uso de biosensores.

H₀: El diseño de un dispositivo *read out* inalámbrico no permite detectar la dinámica de las secuencias nucleotídicas mediante el uso de biosensores.

Interpretación: Al someter el sistema a pruebas para determinar y detectar ADN, específicamente la secuencia nucleotídica de la sonda universal, se observa que:

i) Inicialmente se realiza una voltametría cíclica del escaneo de la superficie del electrodo como control negativo o blanco. Este control contiene una solución tampón basada en fosfato de sodio, y presenta una gráfica voltamperimétrica normal, presentada en la Fig. 5.61, así también se aprecia homogeneidad y cobertura de la superficie del electrodo. Por otro lado, al realizar la inmovilización del fragmento de ADN (sonda USL) sobre la superficie del electrodo, se permite un efecto de bloqueo

de la transferencia de electrones debido a la molécula de ADN que se une al electrodo. Esto genera una disminución en la corriente voltamétrica, tal como se observa en un estrechamiento de la Fig. 5.67 y una disminución de la altura del área total de la curva voltamperimétrica, lo cual sugiere ser proporcional a la concentración del ADN en el biosensor. Esto permite detectar la presencia de secuencias nucleotídicas en el electrodo, así como la posibilidad de buscar un método de cuantificación en función del área disminuida, en comparación con la gráfica del control negativo, por lo cual *se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna*. Para mayor fundamento de lo anotado, en la investigación de M. Pellitero [67] se establece el empleo de la voltametría cíclica como una herramienta útil para la caracterización de sensores basados en ADN, así como su utilidad para determinar la concentración superficial de cadenas simple y doble de ADN, la cual depende en gran medida de la arquitectura del mecanismo de detección. En la Fig. 6.8 se visualiza la unión de la sonda universal inmovilizada sobre el electrodo de oro mediante los enlaces disulfuro que contiene el enlace Tiol, por consiguiente, la sonda universal se presenta como molécula diana experimental, y en la curva voltamétrica se aprecia una reducción de magnitud después de un evento vinculante con una secuencia de ADN, tal como lo describe la investigación de Pellitero.

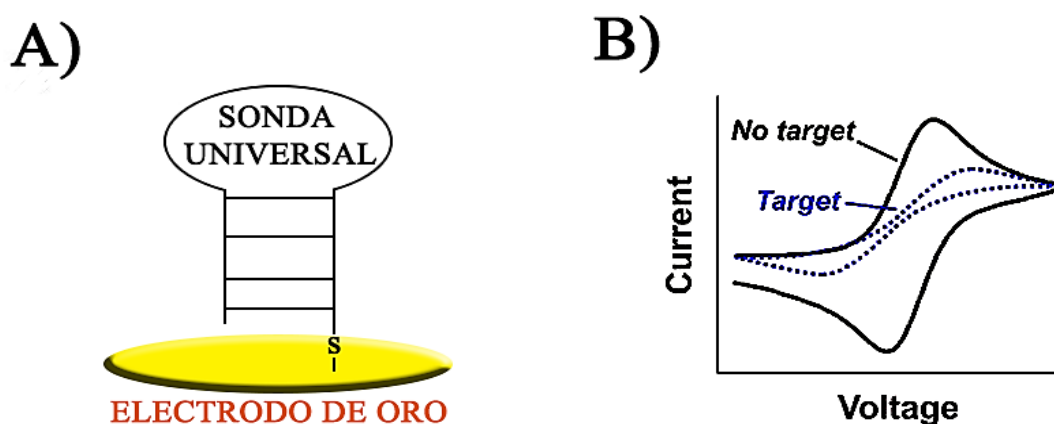


Fig. 6.8: A) Inmovilización de la sonda universal de ADN (Target) en el electrodo oro. B) Reducción en el área de la curva voltamétrica al usar ADN (Target) en comparación con una muestra de control negativo (No Target) [67]

d). Con la evaluación de los resultados obtenidos del dispositivo read out se valida el procesamiento de las variables electroquímicas mediante el uso de biosensores.

H₁: Con la evaluación de los resultados obtenidos del dispositivo read out se valida el procesamiento de las variables electroquímicas mediante el uso de biosensores.

H₀: Con la evaluación de los resultados obtenidos del dispositivo read out no se valida el procesamiento de las variables electroquímicas mediante el uso de biosensores.

Interpretación: El dispositivo *read out* implementado se sometió a pruebas establecidas según el Protocolo de biosensores desarrollado en el Laboratorio de biosensores de la UNTRM, que está basado en la tesis doctoral de *D. Mills* [61]; según el protocolo se establecieron los rangos de tensión a usar en las pruebas voltamétricas sobre un grupo de reactivos escogidos. La validación de los resultados mostrados en las figuras del Capítulo V se contrastó con los resultados de un equipo potenciostato μ Stat-i 400 de la empresa Metrohm DROPSSENS usado como instrumento patrón. Tomando como referencia los resultados de las pruebas y los resultados obtenidos del instrumento patrón, se valida el procesamiento de las variables electroquímicas obtenidas mediante biosensores. En consecuencia, *se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alterna.*

CONCLUSIONES

1. El diseño y desarrollo de un dispositivo de *read out* inalámbrico permitió detectar las secuencias nucleotídicas, usando como celda electroquímica los electrodos serigrafiados de oro, consiguiendo la caracterización electroquímica y detección de secuencias nucleotídicas, con un error máximo de 2.3964 %.
2. El dispositivo de *read out* inalámbrico ha permitido identificar la dinámica iónica de las soluciones, a través de los potenciales de oxidación y reducción característicos de cada reactivo en las curvas voltamétricas.
3. El dispositivo de *read out* inalámbrico influye significativamente en el procesamiento de las variables electroquímicas obtenidas mediante biosensores, con un error máximo en el potencial redox de 2.3964 %.
4. La detección de la dinámica de las secuencias nucleotídicas obtenidas mediante biosensores es acertada, concluyendo así que el diseño del dispositivo de *read out* propuesto e implementado influye de forma significativa en ello.
5. El dispositivo de *read out* obtenido permitió discriminar señales de potencial redox entre una muestra control (sin ácido nucleico) y una muestra conteniendo ácido nucleico (sonda universal), lo cual evidencia su potencial para generar sistemas de diagnóstico o detección de biomoléculas.
6. Debido a su portabilidad y bajo costo, el dispositivo de *read out* se presenta como una opción viable para el diseño de dispositivos que puedan ser usados en puntos de atención al paciente.
7. La portabilidad del dispositivo implementado lo convierte en una propuesta apropiada para ser utilizado en zonas remotas y de difícil acceso.

RECOMENDACIONES

1. Debido al trabajo con material biológico, se recomienda operar siguiendo normas de bioseguridad para evitar riesgos de contaminación que podrían alterar tanto los resultados del experimento, así como influir de forma perjudicial en la salud de los operadores.
2. Durante el trabajo electrónico, es recomendable disponer de una pulsera antiestática, conectada a tierra, para que no fluya ruido desde el operador al sistema.
3. Se recomienda utilizar un gráfico de tendencias, como optimizador para eliminar el ruido en las gráficas voltamétricas cuando se requiere mayor sensibilidad de la celda.
4. Para eliminar valores atípicos de la curva, es recomendable implementar un filtro digital que se encargue de reconocer y eliminar tales valores, asimismo, es recomendable calibrar los filtros digitales utilizados tomando en cuenta si los electrodos están polutos.
5. En sistemas de reconocimiento basados en ADN es importante conocer sobre biología molecular y conceptos de hibridación de ADN, dado que, si no existe un diseño específico y robusto por parte del sistema de reconocimiento por complementariedad, se podrían generar resultados falsos negativos.
6. Se requiere desarrollar un protocolo para la limpieza de los electrodos, con el objetivo de eliminar las películas que se forman en su superficie durante el tiempo de inactividad.
7. Se recomienda evaluar el desarrollo de un prototipo beta para mejorar sus prestaciones y aumentar el número de funciones de reconocimiento con el dispositivo *read out*, y confrontarlo con diferentes biosensores basados en ADN, para fortalecer la viabilidad comercial y escalamiento de producción.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] R. M. Salazar Pancorbo and N. Rodriguez Fuentes, “Diseño e implementación de un equipo portátil para ensayos electroquímicos de corrosión en campo,” Pontificia Universidad Católica del Perú, 2003.
- [2] Z. Zhang, H. Wu, Y. Gao, L. Huang, H. Pan, and M. Du, “Miniaturised electrochemical analyser for glucose determination based on Chitosan/GOD/Electroreduced graphene oxide sensor,” *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 15, no. 3, pp. 2458–2469, 2020, doi: 10.20964/2020.03.28.
- [3] S. N. H. Umar, M. N. Akhtar, E. A. Bakar, N. M. Kamaruddin, and A. R. Othman, “Development of heavy metal potentiostat for batik industry,” *Appl. Sci.*, vol. 10, no. 21, pp. 1–12, 2020, doi: 10.3390/app10217804.
- [4] D. Ji *et al.*, “Smartphone-based differential pulse amperometry system for real-time monitoring of levodopa with carbon nanotubes and gold nanoparticles modified screen-printing electrodes,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 129, pp. 216–223, 2019, doi: 10.1016/j.bios.2018.09.082.
- [5] A. Ainla *et al.*, “Open-Source Potentiostat for Wireless Electrochemical Detection with Smartphones,” *Anal. Chem.*, vol. 90, no. 10, pp. 6240–6246, 2018, doi: 10.1021/acs.analchem.8b00850.
- [6] Y. Fan *et al.*, “A wireless point-of-care testing system for the detection of neuron-specific enolase with microfluidic paper-based analytical devices,” *Biosens. Bioelectron.*, pp. 60–66, 2017, doi: 10.1016/j.bios.2017.04.003.
- [7] J. Dieffenderfer, M. Wilkins, C. Hood, E. Beppler, M. A. Daniele, and A. Bozkurt, “Towards a sweat-based wireless and wearable electrochemical sensor,” *Proc. IEEE Sensors*, pp. 5–7, 2017, doi: 10.1109/ICSENS.2016.7808470.

- [8] K. H. Lubert and K. Kalcher, "History of electroanalytical methods," *Electroanalysis*, vol. 22, no. 17–18, pp. 1937–1946, 2010, doi: 10.1002/elan.201000087.
- [9] V. With and S. Ary, "Voltammetry With Stationary Microelectrodes," *Doctor*, no. 18, pp. 1061–1079, 1940.
- [10] G. DRYHURST, "Theory and Instrumentation," *Electrochem. Biol. Mol.*, pp. 6–70, 1977, doi: 10.1016/b978-0-12-222650-2.50006-9.
- [11] M. Heyrovsky, L. Novotny, and I. Smoler, "Past and future of the dropping electrode," *ACS Symp. Ser.*, no. 390, pp. 370–379, 1989, doi: 10.1021/bk-1989-0390.ch024.
- [12] A. Hickling, "Studies in electrode polarisation," *Trans. Faraday Soc.*, pp. 27–33, 1941.
- [13] D. R. Gabe, "Bibliography of potentiostat design," *Br. Corros. J.*, pp. 236–238, 1972, doi: 10.1179/000705972798322810.
- [14] J. Smith and V. Hinson-Smith, "Product Review: The Potentiostat: Electrochemistry's Utility Player," *Anal. Chem.*, vol. 74, no. 19, pp. 539 A-541 A, 2002, doi: 10.1021/ac022130r.
- [15] A. C. Sun and D. A. Hall, "Point-of-Care Smartphone-based Electrochemical Biosensing," *Electroanalysis*, vol. 31, no. 1, pp. 2–16, 2019, doi: 10.1002/elan.201800474.
- [16] N. Bhalla, P. Jolly, N. Formisano, and P. Estrela, "Introduction to biosensors," *Essays Biochem.*, vol. 60, no. 1, pp. 1–8, 2016, doi: 10.1042/EBC20150001.
- [17] J. Ali, J. Najeeb, M. Asim Ali, M. Farhan Aslam, and A. Raza, "Biosensors: Their Fundamentals, Designs, Types and Most Recent Impactful Applications: A Review," *J. Biosens. Bioelectron.*, vol. 08, no. 01, 2017, doi: 10.4172/2155-6210.1000235.
- [18] E. Anowai and Stephen Chukwujekwu, "Philosophy of Authentic Humanism: the Only Way of Curbing Conflict and Violence," *Int. J. Hist. Philos. Res.*, vol. 7, no. 1, pp. 1–11, 2019.

- [19] E. Schiappacasse, "Humanismo y medicina," *Rev. Educ. en Ciencias la Salud*, vol. 1, pp. 14–20, 2004.
- [20] J. M. C. Díez, "Humanismo, salud y tecnologías de acercamiento," *Index Enferm.*, vol. 23, no. 4, p. 3, 2015, doi: 10.4321/S1132-12962014000300001.
- [21] C. C. Medina Ramos, "APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE ADSORCIÓN DE FORMALDEHIDO CON CHORRO ANULAR DE AGUA Y LA BIOSEGURIDAD EN EL ÁREA DE MANUFACTURA DE RESINA FENÓLICA EN LA FÁBRICA PISOPAK PERÚ," Inca Garcilaso de la Vega, 2019.
- [22] R. Chang, *GENERAL CHEMISTRY: THE ESSENTIAL CONCEPTS*, 5th ed. McGraw-Hill, 2008.
- [23] G. Karthk, "PORTABLE ELECTROCHEMICAL SENSING PLATFORM: FROM HARDWARE TO SOFTWARE," University of Texas at Arlington, 2020.
- [24] N. J. Ronkainen, H. B. Halsall, and W. R. Heineman, "Electrochemical biosensors," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 39, no. 5, pp. 1747–1763, 2010, doi: 10.1039/b714449k.
- [25] J. Wang, *Analytical Electrochemistry*. New Jersey, USA: Hoboken, 2006.
- [26] L. Ortiz Fuentes, "Desarrollo de un potenciostato para la adquisición y tratamiento de la señal de biosensores enzimáticos," Universidad Autónoma de Madrid, 2013.
- [27] M. Alcañiz Fillol, "Diseño de un sistema de lengua electrónica basado en técnicas electroquímicas voltamétricas y su aplicación en el ámbito agroalimentario," 2011.
- [28] C. Brown, "Design of Electronics for Wearable Electrochemical Sensors," UNIVERSITY OF CALIFORNIA SAN DIEGO, 2019.
- [29] R. D. Cuadrado Martínez, M. del R. Del Valle Alonso, and Y. del C. Aramendiz Quiroz, "Diseño y construcción de un equipo trazador de curvas potencioestáticas y potenciodinámicas para pruebas de laboratorio que determinen el comportamiento de materiales en medios corrosivos," CORPORACIÓN UNIVERSITARIA TECNOLÓGICA DE BOLÍVAR, 2003.
- [30] A. J. Bard and L. R. Faulkner, *ELECTROCHEMICAL METHODS Fundamentals and Applications*, 2nd ed. John Wiley & Sons, 2001.

- [31] G. Denuault, M. Sosna, and K. J. Williams, "Classical experiments," *Handb. Electrochem.*, pp. 431–469, 2007, doi: 10.1016/B978-044451958-0.50024-0.
- [32] D. (DePauw U. Harvey, "Modern analytical chemistry," *McGraw-Hill High. Educ.*, pp. 461–542, 2000.
- [33] A. J. Bard and L. R. Faulkner, *ELECTROCHEMICAL METHODS: Fundamentals and Applications*, 2nd ed. John Wiley & Sons, 2001.
- [34] T. A. Arévalo Ramirez and C. S. Castillo Torres, "Implementación de un potenciostato y de un nuevo software para el control y visualización de señales eléctricas generadas en experimentos electroquímicos," Escuela Politécnica Nacional, 2016.
- [35] P. H. Rieger, *Electrochemistry*, 2nd ed. New York: Chapman & Hall, 1993.
- [36] T. Fang and B. Eng, "DEVELOPMENT OF A COMPUTER CONTROLLED APPLICATIONS WITH FLOWING SOLUTION ANALYSIS," Dublin City University, 1994.
- [37] C. Kitchin and L. Counts, "In-Amp Basics," *A Des. Guid. To Instrum. Amplifiers*, pp. 1–9, 2006.
- [38] J. W. Jaquay, "Designers Guide To: Instrumentation Amplifiers.," *Edn*, vol. 18, no. 9, pp. 40–43, 1973.
- [39] S. J. Johnston *et al.*, "Commodity single board computer clusters and their applications," *Futur. Gener. Comput. Syst.*, vol. 89, pp. 201–212, 2018, doi: 10.1016/j.future.2018.06.048.
- [40] U. Isikdag, "Enhanced building information models: Using IoT services and integration patterns," *Enhanc. Build. Inf. Model. Using IoT Serv. Integr. Patterns*, pp. 1–121, 2015, doi: 10.1007/978-3-319-21825-0.
- [41] A. Sedra and K. Smith, *Microelectronic Circuits*, 7th ed. New York: Oxford University Press, 2015.
- [42] S. A. Pactitis, *ACTIVE FILTERS - Theory and Design*. New York: CRC Press, 2007.

- [43] M. De Matteis, S. D'Amico, and A. Baschirotto, "Power-minimization design procedure for Rauch biquadratic cells," *PRIME 2006 2nd Conf. Ph.D. Res. Microelectron. Electron. - Proc.*, pp. 141–144, 2006, doi: 10.1109/rme.2006.1689916.
- [44] R. P. Sallen and E. L. Key, "A practical method of designing RC active filters," *IRE Trans. Circuit Theory*, vol. 2, no. 1, pp. 74–85, 1955, doi: 10.1109/tct.1955.6500159.
- [45] T. Kugelstadt, *Active Filter Design Techniques*, 3rd ed. Elsevier Inc., 2009.
- [46] M. H. Rashid, *Microelectronic Circuits Analysis and Design*, 2nd ed. Cengage Learning, 2011.
- [47] S. Franco, *Design with Operational Amplifiers and Analog Integrated Circuits*, 4th ed. San Francisco: McGraw-Hill, 2015.
- [48] O. B. Olalekan and O. V. Toluwani, "Sallen-Key Topology, MFB and Butterworthy in Bandpass Design for Audio Circuit Design," vol. 6, no. 1, pp. 23–28, 2017.
- [49] H. Uhrmann, R. Kolm, and H. Zimmermann, "Analog Filters," *Springer Ser. Adv. Microelectron.*, vol. 45, 2014, doi: 10.1007/978-3-642-38013-6_2.
- [50] J. Karki, "Application Report Active Low-Pass Filter Design," *Texas Instruments, Inc*, no. September, pp. 1–24, 2002, [Online]. Available: <http://www.ti.com/lit/an/sloa049b/sloa049b.pdf>.
- [51] Analog Devices, *The Data Conversion Handbook*. Newnes, 2005.
- [52] M. Rabiee, "Analog to digital (ADC) and digital to analog (DAC) converters," *ASEE Annu. Conf. Proc.*, 1998, doi: 10.18260/1-2--6916.
- [53] R. S. Castro Rios, "Estudio E Implementación De Un Convertidor Analógico Digital Y Digital Analógico Sigma Delta," no. October, p. 223, 2015, [Online]. Available: http://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/89044/ramiro.saito.castro_111839.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
- [54] E. Por, M. Van Kooten, and V. Sarkovic, "Nyquist – Shannon sampling theorem," no. May, pp. 1–7, 2019.
- [55] R. F. Graf, *Modern dictionary of electronics*, 7th ed. Newnes, 1999.

- [56] E. Phillip and A. Laplante, *Electrical Engineering Dictionary*. CRC Press LLC, 2002.
- [57] T. V. Suslow, "Oxidation-Reduction Potential (ORP) for Water Disinfection Monitoring, Control, and Documentation," *Oxidation-Reduction Potential Water Disinfect. Monit. Control. Doc.*, 2004, doi: 10.3733/ucanr.8149.
- [58] J. C. Rosenwald and A. Nahum, "Fundamentals," *Handb. Radiother. Phys. Theory Pract.*, pp. 1–3, 2007, doi: 10.1201/9781420012026.pta.
- [59] I. Mohammad, "Cloud Computing," *Webpage*, p. 18, 2007, [Online]. Available: https://en.wikipedia.org/wiki/Cloud_computing#/media/File:Cloud_computing.svg %0Ahttps://www.it24hrs.com/2015/cloud-computing-and-cloud-definition/.
- [60] G. Leftheriotis, S. Papaefthimiou, and P. Yianoulis, "Dependence of the estimated diffusion coefficient of Li_xWO_3 films on the scan rate of cyclic voltammetry experiments," *Solid State Ionics*, vol. 178, no. 3–4, pp. 259–263, 2007, doi: 10.1016/j.ssi.2006.12.019.
- [61] D. Mills, "A Universal Electrochemical Biosensor for the Detection of Nucleic Acids based on a Four-Way Junction Structure," University of Central Florida, 2017.
- [62] A. A. Rowe *et al.*, "Cheapstat: An open-source, 'do-it-yourself' potentiostat for analytical and educational applications," *PLoS One*, vol. 6, no. 9, 2011, doi: 10.1371/journal.pone.0023783.
- [63] C. Brown, "Design of Electronics for Wearable Electrochemical Sensors," University of California, 2019.
- [64] F. D. Morales, "DESARROLLO DE UNA RED INALÁMBRICA DE BIOSENSORES PARA LA DETECCIÓN DE CONTAMINANTES TÓXICOS EN AGUAS," Universidad de Antioquia, 2019.
- [65] D. M. Mills, P. Calvo-Marzal, J. M. Pinzon, S. Armas, D. M. Kolpashchikov, and K. Y. Chumbimuni-Torres, "A Single Electrochemical Probe Used for Analysis of Multiple Nucleic Acid Sequences," *Electroanalysis*, vol. 29, no. 3, pp. 873–879, 2017, doi: 10.1002/elan.201600548.

- [66] A. B. Cantasini, “DESENVOLVIMENTO DE UM MINI POTENCIOSTATO PARA ANÁLISES VOLTAMÉTRICAS E AMPEROMÉTRICAS,” INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA GOIANO, 2019.
- [67] M. A. Pellitero, A. Shaver, and N. Arroyo-Currás, “Critical Review—Approaches for the Electrochemical Interrogation of DNA-Based Sensors: A Critical Review,” *J. Electrochem. Soc.*, vol. 167, no. 3, p. 037529, 2020, doi: 10.1149/2.0292003jes.

ANEXO A

MATRIZ DE CONSISTENCIA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN “DISEÑOS DE UN DISPOSITIVO ‘READ OUT’ INALÁMBRICO PARA PROCESAR POTENCIALES REDOX CON BIOSENSORES”.

Problema General	Objetivo General	Hipótesis General	Variables	Dimensiones
¿De qué manera se relaciona el diseño de un dispositivo <i>read out</i> inalámbrico con el procesamiento de los potenciales redox con biosensores?	Diseñar un dispositivo <i>read out</i> inalámbrico para el procesamiento de potenciales redox con biosensores electroquímicos.	Con el diseño de un dispositivo <i>read out</i> inalámbrico se procesan potenciales redox con biosensores electroquímicos.	V1. Dispositivo <i>read out</i> inalámbrico.	1. Sistema de control de parámetros. 2. Sistema de adquisición de señales. 3. Sistema de transmisión de datos. 4. Sistema de visualización de gráficas.
			V2. Potenciales redox con biosensores.	1. Dinámica iónica de los compuestos electroquímicos. 2. Variables electroquímicas obtenidas por biosensores. 3. Dinámica de las secuencias nucleotídicas obtenida mediante biosensores.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos		Hipótesis Específicas	
1. ¿De qué manera el diseño de un dispositivo <i>read out</i> inalámbrico se relaciona con el comportamiento iónico de los compuestos electroquímicos?	1. Identificar la dinámica iónica de las soluciones (ácidas, alcalinas y neutras) mediante el dispositivo <i>read out</i> .		1. Con el diseño de un dispositivo <i>read out</i> inalámbrico se identifica la dinámica iónica de los compuestos electroquímicos usando biosensores.	
2. ¿De qué manera el diseño de un dispositivo <i>read out</i> inalámbrico influye en la capacidad de procesamiento de los parámetros electroquímicos obtenidos por biosensores?	2. Diseñar el dispositivo <i>read out</i> inalámbrico para procesar las variables electroquímicas obtenidas mediante biosensores.		2. Con el diseño de un dispositivo <i>read out</i> inalámbrico se influye significativamente en el procesamiento de las variables electroquímicas obtenidas por biosensores.	
3. ¿De qué manera el diseño del dispositivo <i>read out</i> inalámbrico influye en la detección de la dinámica de secuencias nucleotídicas mediante el uso de biosensores?	3. Diseñar el dispositivo <i>read out</i> inalámbrico capaz de detectar la dinámica de las secuencias nucleotídicas mediante el uso de biosensores.		3. Con el diseño de un dispositivo <i>read out</i> inalámbrico se permite detectar la dinámica de las secuencias nucleotídicas mediante el uso de biosensores.	
4. ¿De qué manera se validan los resultados obtenidos del diseño del dispositivo <i>read out</i> al procesar las variables electroquímicas mediante el uso de biosensores?	4. Evaluar los resultados del dispositivo <i>read out</i> al procesar las variables electroquímicas mediante el uso de biosensores.		4. Con la evaluación de los resultados obtenidos del dispositivo <i>read out</i> se valida el procesamiento de las variables electroquímicas mediante el uso de biosensores.	

ANEXO B

DIAGRAMA ESQUEMÁTICO Y DE PLACA DEL DISPOSITIVO READ OUT

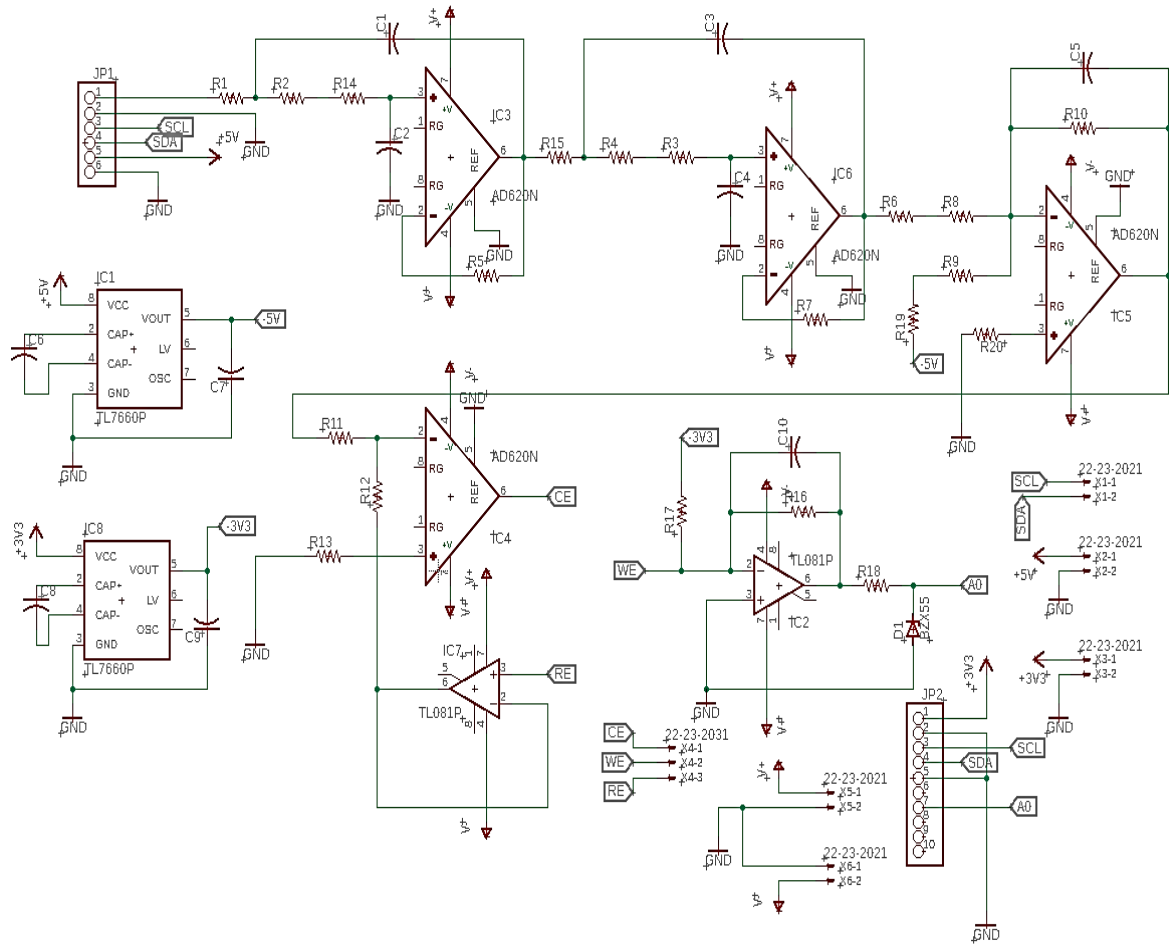


Fig. B.1: Diagrama esquemático del circuito potenciostato completo.

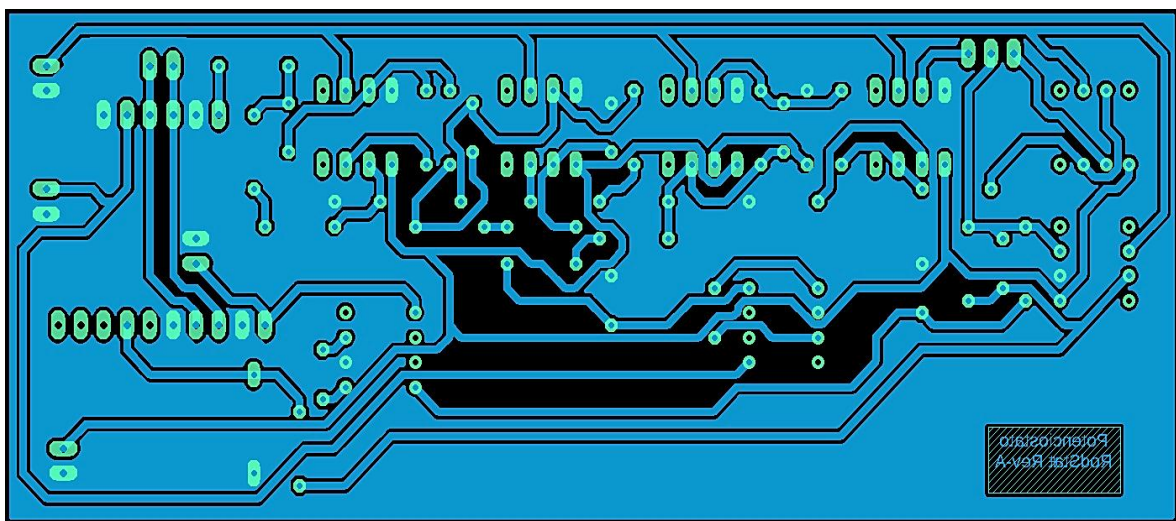


Fig. B.2: Diagrama de la placa del circuito potenciostato.

ANEXO C
CUADRO DE COEFICIENTES PARA EL FILTRO PASA BAJAS
BUTTERWORTH

n	i	a_i	b_i	$k_i = f_{ci}/f_c$	Q_i
1	1	1.0000	0.0000	1.000	—
2	1	1.4142	1.0000	1.000	0.71
3	1	1.0000	0.0000	1.000	—
	2	1.0000	1.0000	1.272	1.00
4	1	1.8478	1.0000	0.719	0.54
	2	0.7654	1.0000	1.390	1.31
5	1	1.0000	0.0000	1.000	—
	2	1.6180	1.0000	0.859	0.62
	3	0.6180	1.0000	1.448	1.62
6	1	1.9319	1.0000	0.676	0.52
	2	1.4142	1.0000	1.000	0.71
	3	0.5176	1.0000	1.479	1.93
7	1	1.0000	0.0000	1.000	—
	2	1.8019	1.0000	0.745	0.55
	3	1.2470	1.0000	1.117	0.80
	4	0.4450	1.0000	1.499	2.25
8	1	1.9616	1.0000	0.661	0.51
	2	1.6629	1.0000	0.829	0.60
	3	1.1111	1.0000	1.206	0.90
	4	0.3902	1.0000	1.512	2.56
9	1	1.0000	0.0000	1.000	—
	2	1.8794	1.0000	0.703	0.53
	3	1.5321	1.0000	0.917	0.65
	4	1.0000	1.0000	1.272	1.00
	5	0.3473	1.0000	1.521	2.88

Fig. C.1: Coeficientes de los polinomios de Butterworth para filtros pasa bajas [45]