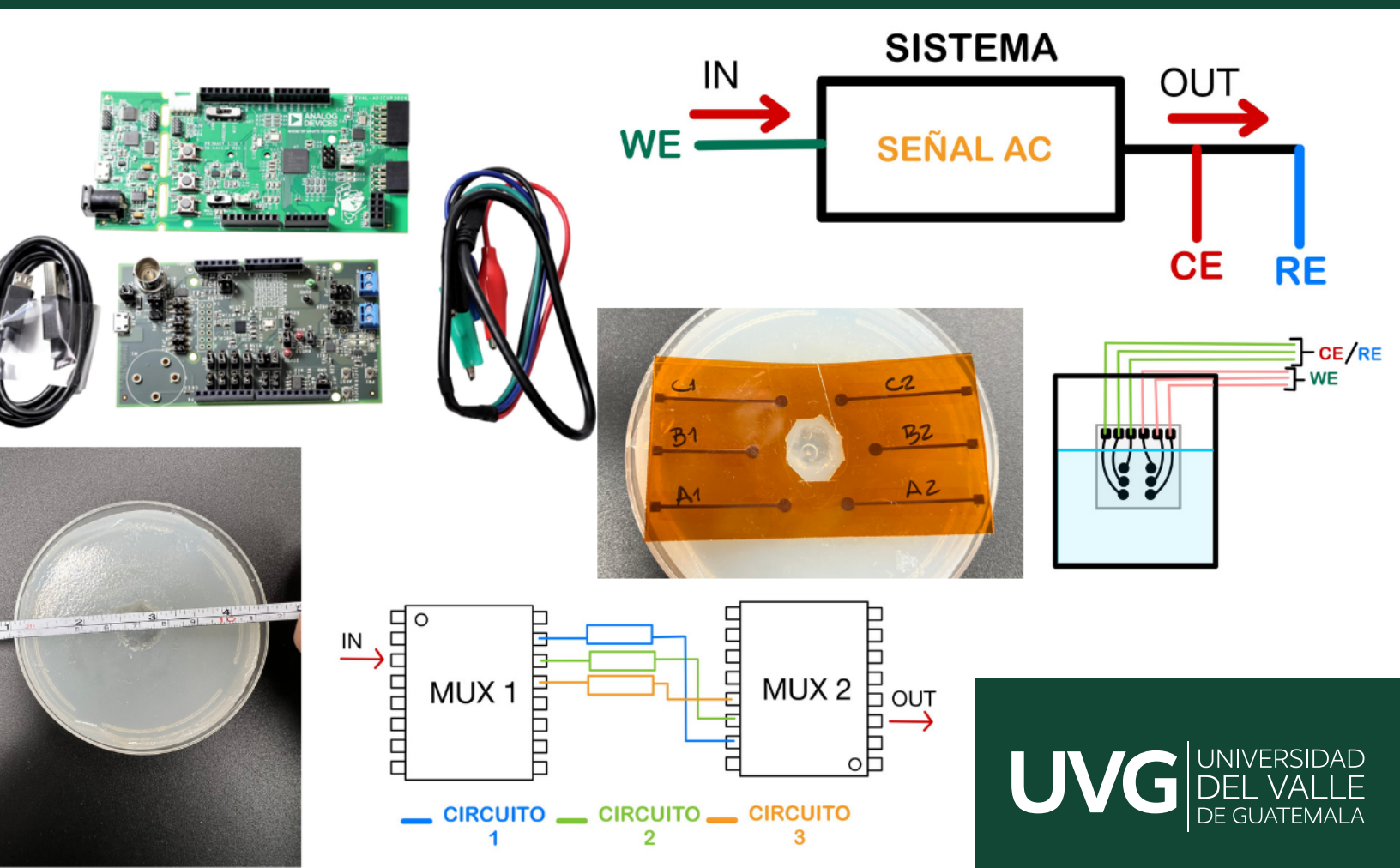


# Desarrollo de sistema multicanal para la medición de espectroscopía de impedancia electroquímica para supervisión de heridas

Sebastián André Barrios Dardón





UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA  
Facultad de Ingeniería




**Desarrollo de sistema multicanal para la medición de  
espectroscopía de impedancia electroquímica para supervisión  
de heridas**

Trabajo de graduación presentado por Sebastián André Barrios Dardón  
para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Biomédica


Guatemala,

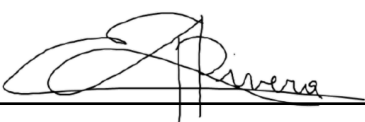
2024

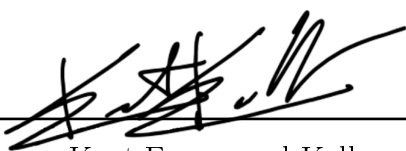
Vo.Bo.:

(f)   
M. Sc. Carlos Esquit

Tribunal Examinador:

(f)   
M. Sc. Carlos Esquit

(f)   
Dr. Luis Alberto Rivera Estrada

(f)   
ing. Kurt Emmanuel Kellner

Fecha de aprobación: Guatemala, 13 de febrero de 2025.

Mi motivación para estudiar esta carrera surge de un interés incomparable por conocer el cuerpo humano, pero también por una voz interna que me incitaba a ser ingeniero, pues es lo que siempre quise toda mi vida. Siempre he tenido afinidad por los trabajos manuales y prácticos, por lo que sabía que una carrera relacionada con la fabricación y mantenimiento de equipo médico era la ideal para mí.

Quiero comenzar por agradecer a Wilma Dardón, querida tía, quien falleció el 26 de septiembre de 2024, persona fundamental en mi vida, ya que sin ella no hubiera tenido la oportunidad de haber estudiado esta carrera. A ella y a su esposo, Jorge Zenteno, dedico mi trabajo de graduación por todo el apoyo y esfuerzo que me brindaron durante estos cinco años de carrera. Quiero agradecer a Dios por ayudarme a mantenerme enfocado en el trayecto y darme fuerzas para seguir durante los tiempos difíciles de la carrera.

Quiero agradecer a mis padres por el amor que me dan, los valores que me inculcaron y las fuerzas que me compartieron cuando sentía que ya no podía más. Agradezco a mis hermanos y demás familia, por apoyarme en este largo recorrido, en las noches de desvelo y en las actividades familiares que me perdía por enfocarme en mi carrera. Agradezco a mis amigos y mi novia por haberme hecho disfrutar de este trayecto mucho más y por haber hecho de estos años los más importantes y emocionantes de mi vida, donde todos los semestres nos apoyábamos para salir adelante como futuros profesionales.

Quiero agradecer a mi asesor Dr.-Ing. José Andrés Leal Ordoñez, por brindarme la inspiración para realizar este trabajo, profesional al que admiro mucho por su pasión y dedicación hacia su trabajo. Agradezco a Dra. Vanessa Wilma Jungbluth, por su apoyo en innumerables ocasiones y por compartir conmigo parte de su conocimiento.

Quiero agradecer a MSc. Carlos Esquit, Director del Departamento de Ingeniería Electrónica.

nica, Mecatrónica y Biomédica, y al propio departamento por estos cinco años de carrera, los cuales nos llenaron de conocimiento. También extendiendo un agradecimiento a Christa Contreras del Departamento de Bioquímica por el apoyo con reactivos. Por último, pero no menos importante, a la Universidad del Valle de Guatemala, la cual fue mi segundo hogar por cinco años, donde pasé incontables horas estudiando y preparándome para mi vida profesional.

<b>Prefacio</b>	<b>IV</b>
<b>Lista de figuras</b>	<b>IX</b>
<b>Resumen</b>	<b>X</b>
<b>Abstract</b>	<b>XI</b>
<b>1. Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2. Antecedentes</b>	<b>3</b>
<b>3. Justificación</b>	<b>5</b>
<b>4. Objetivos</b>	<b>7</b>
4.1. Objetivo general . . . . .	7
4.2. Objetivos específicos . . . . .	7
<b>5. Alcance</b>	<b>8</b>
<b>6. Marco teórico</b>	<b>9</b>
6.1. Heridas . . . . .	9
6.1.1. Definición de una herida aguda y crónica. . . . .	9
6.1.2. Proceso de curación de heridas. . . . .	10
6.1.3. Métodos de supervisión de heridas. . . . .	11
6.1.3.1. Convencionales. . . . .	11
6.1.3.2. Novedosos. . . . .	12
6.2. Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS). . . . .	13
6.2.1. Interfaz electrodo-electrolito. . . . .	14

6.2.2.	Transferencia de carga. . . . .	15
6.2.3.	Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS). . . . .	16
6.2.3.1.	Significado. . . . .	16
6.2.3.2.	Medición. . . . .	17
6.2.3.3.	Interpretación. . . . .	18
6.3.	Bioimpedancia. . . . .	19
6.3.1.	Las células como componentes eléctricos. . . . .	19
6.3.2.	Composición del cuerpo. . . . .	20
<b>7.</b>	<b>Metodología</b>	<b>22</b>
7.1.	Placa EVAL-AD5940ELCZ. . . . .	22
7.2.	Selección de componentes. . . . .	23
7.3.	Mediciones físicas con EVAL-AD5940ELCZ. . . . .	24
7.4.	Comprobación de valores de resistencias. . . . .	25
7.5.	Conexión mux-elemento-mux. . . . .	26
7.5.1.	Circuitos Dummy Cell 2. . . . .	26
7.5.2.	Solución salina tamponada con fosfato (PBS). . . . .	28
7.5.3.	Placas de agar. . . . .	28
<b>8.</b>	<b>Resultados</b>	<b>31</b>
8.1.	Comparación entre multiplexor analógico, multiplexor digital y relevador. . . . .	31
8.1.1.	Multiplexor/data selector SN45S151. . . . .	31
8.1.2.	Relevador HK4100F-DC5V-SHG. . . . .	32
8.1.3.	Multiplexor/demultiplexor analógico CMOS CD4051B. . . . .	33
8.2.	Valores de resistencias según distintos métodos de medición. . . . .	35
8.3.	Mediciones de circuitos de DummyCell 2 replicados de forma física. . . . .	36
8.4.	Medición de Soluciones PBS 1X, 0.5X y 0.1X con electrodos de vidrio. . . . .	37
8.5.	Medición de placas de agar con diferentes geometrías por medio de electrodos de grafeno y análisis de mapas de calor. . . . .	39
<b>9.</b>	<b>Discusión de resultados</b>	<b>42</b>
<b>10.</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>45</b>
<b>11.</b>	<b>Recomendaciones</b>	<b>46</b>
<b>12.</b>	<b>Referencias</b>	<b>47</b>

---

## Lista de figuras

---

1.	Estructura anatómica de la piel. Adaptada de [33] . . . . .	10
2.	Ejemplo de supervisión de heridas por métodos convencionales [51] . . . . .	12
3.	Ejemplos de sensores para la medición de oxigenación en la piel. [53] . . . . .	13
4.	a) Interfaz electrodo-electrolito a nivel anatómico. b) Circuito equivalente del comportamiento de la interfaz electrodo-electrolito. [60] . . . . .	14
5.	Polarización de pieza de Zn para ser cubierta por iones $\text{Cu}^{2+}$ y convertirse en Cu [62] . . . . .	15
6.	Medición de resistencia y fase de la herida [13] . . . . .	16
7.	Representación esquemática de un sistema electroquímico hacia una respuesta de baja amplitud. [66] . . . . .	17
8.	a) Amplitud versus tiempo para la corriente y el voltaje. b) Curva de Lissajous con representación del desfase entre gráficas. [66], [67] . . . . .	18
9.	c) Diagrama de Bode con gráfica de magnitud y fase de la medición de impedancia. d) Diagrama de Nyquist, parte imaginaria de la impedancia en función de la parte real de la impedancia. [67] . . . . .	19
10.	Comportamiento de la membrana celular según el tipo de señal aplicada a la célula. [10] . . . . .	20
11.	Células animales con comportamiento similar a los humanos. a) Células poliédricas conjuntas. b) Células separadas por fluido intracelular [71] . . . . .	20
12.	a) Configuración de switches S2 y S5 placa EVAL-ADICUP3029. b) Configuración de conectores placa EVAL-AD5940ELCZ. . . . .	23
13.	a) Diagrama de conexión de lagartos con sistemas a medir. b) Ejemplificación de conexión de lagartos para medición de componentes analógicos o sistemas más complejos. . . . .	25
14.	a) Demostración de medición sistema relevador con resistencia. b) Demostración de medición sistema multiplexor analógico con resistencia. . . . .	26

15.	Demostración de medición para resistencias con 2 multiplexores/demultiplexores analógicos. . . . .	26
16.	a) Circuito Dummy Cell 2 utilizado para verificar rendimiento y calibración de potencióstatos/galvanostato. b) Circuito Dummy Cell 2 y esquemáticos de circuitos de prueba para validación de multiplexor. . . . .	27
17.	a) Validación con 1 solo multiplexor analógico CD4051B. b) Validación con 2 multiplexores analógicos CD4051B. . . . .	27
18.	a) Electrodo de óxido de iridio sobre un sustrato de Pyrex, aislado con polímero SU8. b) Diagrama de conexión de electrodos con la placa EVAL-AD5940ELCZ . . . . .	28
19.	Diseño de electrodos de grafeno, grabados sobre poliimida tipo Kapton®. . . . .	29
20.	a) Tamaños de orificios realizados sobre la placa de agar. b) Aplicación de solución de PBS a 1x mientras se mide con electrodos de grafeno . . . . .	30
21.	Respuesta de multiplexor digital. . . . .	32
22.	Canal 1, señal generadora a 1 Hz con 96 mV de amplitud. Canal 2, señal saliente del relevador a 1 Hz con 94 mV de amplitud . . . . .	32
23.	a) Señal de salida a 94 mV de amplitud con 12 kHz de frecuencia. b) Señal de salida 56 mV de amplitud con 10.94 MHz de frecuencia. . . . .	33
24.	Señal de 1.16 V, con diferencia de 40 mV en la salida a 1.175 kHz . . . . .	33
25.	a) Señal de entrada y salida a 50 mV de amplitud con 1 Hz de frecuencia. b) Señal de entrada y salida a 1 V de amplitud con 1 Hz de frecuencia. . . . .	34
26.	a) Variación de 25 mV a la señal con frecuencia 100 kHz. b) Desfase de 2 kHz por parte del multiplexor al introducir señal de 1 MHz. . . . .	34
27.	Atenuación de señal por parte del multiplexor. . . . .	35
28.	Comparación de porcentajes de error para valores medidos de resistencias según diferentes métodos . . . . .	35
29.	Comparación de diagramas de Bode para circuitos 1 a 4 entre mediciones al circuito de forma directa y al circuito a través del multiplexor . . . . .	37
30.	a) Mediciones de las soluciones de PBS a distintas concentraciones utilizando la placa EVAL-AD5940ELCZ. b) Medición entre cada pareja respectiva de electrodos con solo placa y electrodos de vidrio. . . . .	38
31.	a) Medición entre electrodo 2A y 1C para solución de PBS. b) Medición entre electrodo 2A y 1B para solución de PBS. c) Medición entre electrodo 2B y 1A para solución de PBS. d) Medición entre electrodo 2B y 1C para solución de PBS. e) Medición entre electrodo 2C y 1A para solución de PBS. f) Medición entre electrodo 2C y 1B para solución de PBS. . . . .	39
32.	a) Mapa de calor para medición de agar sin orificio con EVAL-AD5940ELZ. b) Mapa de calor para medición de agar sin orificio con 1 multiplexor. c) Mapa de calor para medición de agar sin orificio con 2 multiplexores. . . . .	40

33.	a) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 10 mm con EVAL-AD5940ELZ. b) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 10 mm con 1 multiplexor. c) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 10 mm con 2 multiplexores. . . . .	40
34.	a) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 20 mm con EVAL-AD5940ELZ. b) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 20 mm con 1 multiplexor. c) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 20 mm con 2 multiplexores. . . . .	41

Las heridas generadas por alguna lesión, como accidentes o intervenciones quirúrgicas, atraviesan cuatro distintas etapas durante su proceso de sanación: homeostasis, inflamación, proliferación y maduración. Por esto, debe priorizarse el cuidado de las heridas en todo momento, ya que un cuidado inadecuado permite el crecimiento de bacterias incrementando el riesgo de una infección. Una infección en heridas crónicas, como las úlceras de presión o pie diabético, puede representar una alta carga económica y emocional para el paciente, junto con un consumo elevado de recursos tanto humanos como materiales. Asimismo la infección de úlceras en pacientes con diabetes tiende a aumentar el riesgo de amputación de un 15 % a un 30 % más que en pacientes sanos.

Se desarrolló un prototipo de sistema multicanal no invasivo, el cual permite tomar medidas simultáneas para el monitoreo de heridas. Se evaluó la funcionalidad del sistema midiendo distintos circuitos y medios, mientras se incorporaban, uno a uno, multiplexores analógicos para observar el efecto sobre la impedancia. Se observó que para mediciones menores a los 900  $\Omega$ , el cambio de la magnitud era significativo mientras que para mediciones mayores a los 1000  $\Omega$  dejaba de notarse la presencia de los multiplexores en el sistema. Se recomienda el desarrollo de electrodos que abarquen a totalidad el medio para más resolución o precisión de los resultados.

Palabras clave: EIS, bioimpedancia, multiplexor, diagrama de Bode, mapas de calor

Wounds caused by injuries such as accidents or surgical interventions go through four distinct stages during the healing process: hemostasis, inflammation, proliferation, and maturation. Therefore, wound care must be prioritized at all times, as improper care allows bacterial growth, increasing the risk of infection. Infections in chronic wounds, such as pressure ulcers or diabetic foot ulcers, can represent a significant economic and emotional burden for the patient, along with a high consumption of both human and material resources. Moreover, ulcer infections in patients with diabetes tend to increase the risk of amputation by 15 % to 30 % compared to healthy patients.

A prototype of a non-invasive multichannel system was developed, enabling simultaneous measurements for wound monitoring. The functionality of the system was evaluated by measuring different circuits and media, while analog multiplexers were incorporated one by one to observe their effect on impedance. It was observed that for measurements below  $900\Omega$ , the magnitude change was significant, whereas for measurements above  $1,000\Omega$ , the presence of the multiplexers in the system was no longer noticeable. The development of electrodes that fully cover the medium is recommended to improve resolution and precision of the results.

Keywords: EIS, bioimpedance, multiplexer, Bode diagram, heat maps

Las heridas son ocasionadas cuando los tejidos celulares, como la piel, son dañados. Comúnmente atraviesan cuatro etapas durante el proceso de sanación. Un cuidado inadecuado permite el crecimiento de bacterias, lo que incrementa el riesgo de infección. La infección de úlceras en pacientes con diabetes eleva el riesgo de una amputación a un 30 % más que en pacientes sanos, lo cual puede perjudicar también la salud mental del paciente. La implementación de biosensores ha permitido observar más de cerca factores como el pH y la temperatura, los cuales son clave para evaluar el estado de las heridas de forma no invasiva, especialmente útil para pacientes en países con recursos limitados. En este proyecto, se busca desarrollar un sistema de monitoreo continuo de heridas por medio de bioimpedancia que cuente con varios canales de medición. Las mediciones se hacen por medio de la placa EVAL-AD5940ELCZ, que permite medir impedancia mediante un barrido de frecuencia. Se valida la funcionalidad midiendo resistencias, circuitos analógicos, soluciones de PBS a 100 %, 50 % y 10 %, y, por último, placas de agar. Por cada sistema, se hacen tres mediciones para observar la interferencia del método. Con los resultados de cada medición, se compara la magnitud de la impedancia por medio de diagramas de Bode para determinar si el componente influye en las señales que atraviesan cada sistema. Para las placas de agar, se desarrollan mapas bidimensionales de calor los cuales buscan demostrar si es posible replicar la morfología del agujero en el agar.

En el capítulo 2, se presentan los antecedentes que hablan de los métodos de diagnóstico médico que existen y cómo la bioimpedancia es útil para detectar patologías. Posteriormente, se justifica la importancia de un monitoreo continuo para asegurar una correcta curación (capítulo 3). En el capítulo 4, se definen el objetivo específico y los generales de este trabajo de graduación y, luego, su alcance (capítulo 5). En el siguiente capítulo, se desarrolla el co-

nocimiento previo necesario para entender el proceso del trabajo (capítulo 6). En el capítulo 7, se desglosan por secciones los métodos utilizados y cómo se deben seguir para replicar este proyecto. Los resultados son explicados (capítulo 8) y discutidos (capítulo 9) a detalle de tal forma que se pueda concluir (capítulo 10) acerca del trabajo de graduación y brindar recomendaciones para una expansión del proyecto en el siguiente capítulo 11.

El diagnóstico médico se divide en distintas categorías de procedimientos que abarcan desde invasivos y exploratorios hasta no invasivos [1]. Los métodos de diagnóstico no invasivos (NI) han existido desde el inicio de la medicina y han evolucionado con los años. Inicialmente se realizaban inspecciones visuales de heridas y golpes, el uso del tacto para percibir la temperatura e hinchazón, el oído como instrumento para escuchar respiración y latidos del corazón y la nariz para percibir el olor de las heridas y poder identificar su estado [2].

Con el avance de los años y de la tecnología se han desarrollado nuevos métodos de diagnóstico NI. Estos métodos utilizan distintos tipos de energía para interactuar con la biología generando de esta forma imágenes médicas. Estos métodos pueden ser la ecografía (ultrasonido), rayos-X (medicina radiológica), rayos- $\gamma$  (Rayos gamma, para medicina nuclear), resonancia magnética, endoscopio (luz) o potenciales eléctricos [3]. El avance tecnológico en tecnología de diagnóstico NI conlleva a una reducción en el tiempo de los procedimientos o estudios, un diagnóstico más certero, un mejor control sobre el avance de la enfermedad y hasta una reducción de costos [4]. Otros métodos de diagnóstico NI se basan en la medición de potenciales eléctricos formados dentro del cuerpo. Dependiendo del área donde se realizan estas mediciones es posible captar señales bioeléctricas que muestran el funcionamiento de ciertas partes del cuerpo, como lo son los electrocardiogramas (ECG) o los electroencefalogramas (EEG) [5].

Otra técnica muy utilizada hoy en día es la medición de bioimpedancia en el cuerpo humano. Dicho método brinda la posibilidad de detectar patologías y monitorear procesos fisiológicos así como la hidratación de la piel [6], diferenciación entre tejido sano y canceroso

[7], evaluar funcionamiento pulmonar o cardíaco [8] y hasta detectar isquemia tisular [9]. Todo esto es posible gracias a que los fluidos intra y extracelulares son iónicos y ante todo resistivos [10]. Este principio se puede combinar con la espectroscopia de impedancia electroquímica, EIS por sus siglas en inglés. La EIS es la técnica que permite medir la impedancia de un componente electroquímico ante un potencial eléctrico en corriente alterna dentro de un espectro de frecuencias [11]. Sus aplicaciones en conjunto pueden variar dependiendo el objetivo pero permite determinar el estado de hidratación de un paciente o también la caracterización tisular en ciertas partes del cuerpo así como los cambios fisiológicos que presenta la piel durante el proceso de curación de heridas[12]-[15].

Anteriormente se ha visto el desarrollo de un sistema de electrodos multiplexado que medía impedancia compleja in vivo con el objetivo de encontrar una correlación entre impedancia y daño hacia el tejido [16]. Fueron fabricadas una versión rígida con electrodos chapados en oro y otra versión impresa por inyección con nanopartículas de oro sobre un substrato plástico flexible simulando un vendaje. La versión rígida probó ser útil para la calibración y adaptación del modelo para el arreglo flexible, obteniendo resultados similares entre ambas versiones. Como resultado se encontró una correlación entre la impedancia y el daño al tejido celular mapeando el umbral determinado con la magnitud y fase de la impedancia medida. [16].

Las heridas son ocasionadas cuando tejidos celulares tales como piel, membrana mucosa u órganos son dañados. Estos daños pueden deberse a lesiones, ya sean causadas por un accidente o por alguna intervención médica como las cirugías [17]. Comúnmente las heridas atraviesan cuatro etapas durante el proceso de sanación, que son la homeostasis, la inflamación, la proliferación y la maduración. Estas etapas son señales de que la herida está sana y que no presenta algún riesgo hacia el paciente [18].

El cuidado de las heridas es esencial para que se puedan desarrollar las distintas etapas, asegurando el proceso de curación y cicatrización. Un cuidado inadecuado, por otro lado, retrasa el proceso de curación permitiendo el crecimiento de bacterias, lo que incrementa el riesgo de infección [19]. En heridas crónicas, como úlceras de pie diabético, venosas y de presión, el cuidado tiende a implicar un mayor trabajo que el resto de heridas. Estas heridas consumen un mayor tiempo y recursos, tanto en su monitoreo como en su proceso de sanación. Las úlceras pueden llegar a tomar entre 12 a 13 meses en sanar, pero si no se ve un avance dentro de las primeras 4 semanas se opta por terapias especializadas. Dichas terapias pueden consistir en matrices celulares o factores de crecimiento, así como muchas otras más. Se ha observado que el cuidado y las terapias para este tipo de heridas tiende a abarcar del 2 % al 3 % del presupuesto del cuidado de la salud en países desarrollados [20].

La infección de úlceras en pacientes con diabetes eleva el riesgo de una amputación desde un 15 % hasta un 30 % más que en pacientes sanos [21]. No solo la diabetes presenta un riesgo ante el estado de las heridas, la ineficiencia vascular, la desnutrición y la edad son algunos factores que pueden provocar que heridas superficiales se conviertan en crónicas [22]. Así mismo se ha logrado notar como la gravedad y el estado de las heridas crónicas juegan un

papel importante en la salud mental de los pacientes. La depresión es una de las condiciones mentales más presentes en los pacientes que depende no solo del estado de la herida, si no del tiempo de su curación [23].

Es por esto que el monitoreo de las heridas es de vital importancia, aún más cuando se habla de heridas crónicas en pacientes con patologías extremas que requieren de una mayor atención. Actualmente existe una gran cantidad de opciones para el monitoreo de las heridas. Con biosensores ,algoritmos y electrónica se puede predecir de forma correcta el efecto de distintos factores, como temperatura corporal, temperatura del ambiente, pH corporal e incluso la presión sobre un área, sobre el estado de la herida [24], [25]. La información recolectada de las heridas puede ser analizada por médicos en persona o de forma remota, facilitando así el acceso a asesoría médica de los pacientes con heridas crónicas[26].

Grandes oportunidades pueden observarse en estos métodos para la evaluación de la recuperación de las heridas, pero son monitoreos momentáneos. Por otro lado, el monitoreo continuo de las heridas ha presentado gran importancia ante la evaluación de las mismas. El tipo de monitoreo continuo se ha combinado con métodos como la medición de oxigenación en las heridas y también con la evaluación del área de las heridas. Ambos han presentado prominentes resultados, debido a que permiten tener un mejor control sobre el estado [27]-[29].

Otro método de monitoreo continuo en heridas puede ser por medio de medición de bioimpedancia. La medición de bioimpedancia no es invasiva, requiere considerablemente menor cantidad de equipo y es fácil de replicar. La información recolectada con la bioimpedancia puede proyectar de forma más exacta el proceso de curación de la herida, ya que permiten observar e interpretar el comportamiento celular durante el proceso de sanación [12]. Existe una diferencia significativa en la impedancia del tejido dañado y el tejido sano, donde a menor daño celular mayor será la magnitud de la impedancia en el área.

Las mediciones de bioimpedancia permiten desarrollar diversas aplicaciones para monitorear el progreso de una herida de forma no invasiva y precisa. reduciendo el costo de diagnóstico en comparación con los procesos invasivos. Es por esto por lo que las aplicaciones de la medición de heridas por medio de bioimpedancia presenta una gran opción para pacientes con heridas crónicas en países subdesarrollados o en vías de desarrollo. En este proyecto se busca desarrollar un sistema de monitoreo continuo de heridas por medio de bioimpedancia que cuente con varios canales de medición. El uso de un sistema electrónico para controlar la combinación de canales de medición a utilizar durante el proceso de medición permitirá crear un mapa bidimensional de la impedancia de la herida en un área determinada. La implementación de un espectro frecuencias durante las mediciones de impedancia dará información sobre las diferentes propiedades del tejido a distintas profundidades, ya que las señales eléctricas con distintas frecuencias pueden penetrar más o menos en la piel.[30]

### 4.1. Objetivo general

Desarrollar un prototipo no invasivo, multicanal para el monitoreo de heridas superficiales por medio de la medición de espectroscopia de impedancia electroquímica a través de electrodos superficiales de varios contactos.

### 4.2. Objetivos específicos

- Desarrollar un circuito electrónico que permita realizar la multiplexación de por lo menos 6 electrodos, alternando diversas combinaciones entre ellos.
- Evaluar las capacidades del circuito para la medición de espectroscopia por impedancia electroquímica sin generar distorsiones ni atenuaciones de la señal con ayuda de la placa EVAL-AD5940.
- Validar el funcionamiento del circuito multicanal para mediciones de espectroscopía de impedancia con electrodos a base de grafeno en soluciones salinas con al menos 5 concentraciones distintas y en tres distintos modelos de tejido artificial basado en agar con heridas artificiales de diferentes dimensiones y geometrías.
- Desarrollar un algoritmo de análisis de señales que permita la visualización de la impedancia medida entre electrodos por medio de mapas de calor, comparando los resultados de las distintas heridas artificiales evaluadas.

En este trabajo de graduación se desarrolló un circuito electrónico capaz de realizar la multiplexación de al menos seis electrodos, comparando tres componentes diferentes para identificar el que fuera más eficiente para realizar la multiplexación de la señal con el menor uso de espacio en el diseño final. Esto fue posible gracias a la visualización del comportamiento de los componentes ante señales sinusoidales a un amplio rango de frecuencias. También dicho proceso de selección se realizó a través de pruebas que analizaron la capacidad de cada componente para alternar entre combinaciones de elementos analógicos como resistencias y capacitores sin comprometer la integridad de la señal de espectroscopía de impedancia electroquímica.

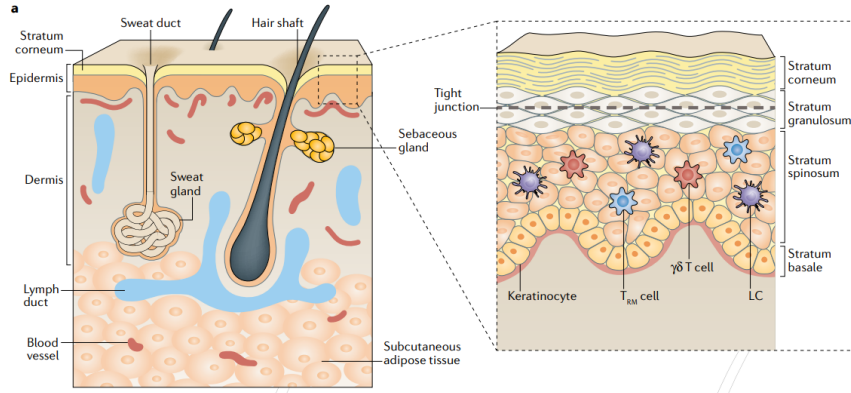
En cuanto a las pruebas de validación del circuito con soluciones salinas, aunque inicialmente se planteó evaluar en cinco concentraciones distintas, se concluyó que la medición en tres soluciones era suficiente, ya que las diferencias de valores de impedancia entre estas concentraciones ofrecieron una claridad adecuada para los fines del estudio. Esto permitió optimizar los recursos y el tiempo de prueba sin perder precisión en los resultados.

Además, se diseñó un algoritmo para graficar la distribución de impedancia en un área específica utilizando mapas de calor. Sin embargo, los mapas de calor generados no resultaron tan representativos como se esperaba, dado que el método de graficación no permitió capturar con exactitud todas las variaciones en la morfología de las heridas artificiales. A pesar de esto, los mapas de calor lograron proporcionar una representación visual general del comportamiento de la impedancia en los modelos de tejido.

### 6.1. Heridas

#### 6.1.1. Definición de una herida aguda y crónica.

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, y también la primera línea de defensa en contra de agresiones químicas, físicas y microbianas [31]. Está compuesta por un grupo de células especializadas las cuales cumplen distintas funciones defensivas, los queratinocitos que contribuyen a durabilidad en la protección mecánica, los melanocitos que protegen de la luz ultravioleta y las células Langerhans que corresponden a la respuesta inmune [32]. Compuesta por 3 capas, epidermis, dermis e hipodermis, la epidermis es la capa más externa la cual está compuesta por los queratinocitos que también permiten la entrada o salida de agua o sustancias solubles en agua (Figura 1)[33].



**Figura 1:** Estructura anatómica de la piel. Adaptada de [33]

Las heridas cutáneas se dan cuando hay algún tipo de daño a cualquiera de las 3 capas de la piel. Comúnmente se define una herida como lesión en el cuerpo causada por algún daño, ya sea que esté afectando la superficie de la piel (epidermis), por debajo de esta (hipodermis) o tanto arriba como abajo de la piel [34]. Varios factores brindan un mejor conocimiento para la precisa evaluación de la herida y su correcta clasificación. Este tipo de información permite proveer un mejor cuidado a la herida para asegurar su apropiada curación [35]. De acuerdo con estas características las heridas pueden ser catalogadas como agudas o crónicas.

Comúnmente se considera que las heridas crónicas y las heridas agudas se diferencian debido al tipo de causa, donde las crónicas en su mayoría se generan por factores internos del cuerpo mientras que las heridas agudas son provocadas por factores externos [36]. Esto da la conclusión de que las agudas pueden ser heridas como cortes o perforaciones, quemaduras o heridas puramente superficiales. Por otro lado, las heridas crónicas serían úlceras por presión, úlceras venosas o úlceras diabéticas. A pesar de esto, el criterio principal para clasificar las heridas entre crónicas y agudas es el tiempo. Las heridas las cuales tardan menos de 6 semanas en sanar son agudas, mientras que las que toman más tiempo son crónicas [37], [38].

### 6.1.2. Proceso de curación de heridas.

Sin importar el origen o clasificación de la herida, todo daño cutáneo debería de atravesar cuatro fases principales de curación las cuales aseguran una reparación y regeneración de la piel adecuadas [17]. La primera etapa es la hemostasis, siguiente es la inflamación, luego se observa la proliferación y se culmina con la maduración o remodelación [39]. Dichas etapas no se desarrollan por separado, si no que se traslapar una con otra, haciendolo de forma secuencial [40].

La primera fase, homeostasis, ocurre inmediatamente después de la creación de una heri-

da. Esta fase asegura un correcto equilibrio y funcionamiento de los sistemas para sobrevivir, o en el caso de las heridas para una correcta curación [41]. La herida provoca un traumatismo en los vasos linfáticos produciendo un lavado por parte de la sangre expulsada por el cuerpo la cual limpia la herida de microorganismos y antígenos. Luego por 5 a 10 minutos los capilares reducen su tamaño lo que evita la pérdida de sangre y así lograr llenar la herida de coágulos de sangre combinado de citocinas y factores de crecimiento [42].

Tiempo después que comienza la primera etapa, se da el proceso de inflamación como segunda etapa. Dicha etapa puede ser dividida en dos tipos de inflamaciones, la temprana y la tardía. La inflamación temprana sucede desde los primeros minutos hasta el día dos, tiempo en el cual leucocitos polimorfonucleares matan y digieren bacterias por medio de enzimas degradantes [43]. La inflamación tardía toma lugar a partir del día tres al día seis y se caracteriza por la formación de costras y la presencia abundante de macrófagos y monocitos. Estas células funcionan como factores de crecimiento y como predecesoras de células epiteliales, respectivamente [44], [45].

En paralelo de la inflamación a partir del día tres hasta la segunda semana se desarrolla la etapa de proliferación. Esta etapa se enfoca en cubrir la herida, recuperar la conexión vascular y formar nuevo tejido, tejido granular. Es por esto por lo que cuando la inflamación comienza a bajar se restablece la permeabilidad vascular [46]. Básicamente se enfoca en la reparación del daño y para esto se desarrolla el proceso de angiogénesis. Dicho proceso es vital para la curación de heridas ya que forma nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos ya existentes. Para terminar, células epiteliales y fibroblastos migran a lo largo de la herida para que pueda cerrarse poco a poco [47].

Como última fase del proceso de curación de las heridas se observa la maduración la cual puede evolucionar desde la primera semana y puede llegar a tomar hasta 2 años. En esta etapa se desarrolla de forma normal el epitelio y madura el tejido cicatricial. La producción de colágeno rehabilita la durabilidad y elasticidad de la piel [48]. Eventualmente las proteínas retoman la estructura original de tejido sano, pero a pesar de esto la integridad del tejido solo alcanza hasta un 50 % en los primeros meses y hasta un 80 % con el paso del tiempo [47].

### **6.1.3. Métodos de supervisión de heridas.**

#### **6.1.3.1. Convencionales.**

La supervisión sobre las cuatro etapas de curación es clave para asegurar la correcta sanación de la herida y minimizar el riesgo de infección. Durante la homeostasis la infección bacteriana puede provocar daño vascular o una sobreproducción de plaquetas la cual

desarrolle trombosis. Durante la etapa de inflamación una infección puede sobrecargar a los macrófagos lo cual puede retrasar la transición a la etapa de proliferación y alargar el proceso de cicatrización [49]. En la proliferación la proliferación de bacterias puede provocar un desprendimiento de los bordes de heridas quirúrgicas o reducción de las características mecánicas de la piel. Por último, en la maduración un riesgo de infección incrementa el tiempo de maduración de la herida, al mismo tiempo que incrementa el daño interno de la herida [49].

Es por esto que los métodos de supervisión de heridas son de suma importancia durante las diferentes etapas del proceso de curación. De forma convencional una herida puede ser supervisada de diversas maneras por el personal de la salud. La observación es el método más sencillo, aun así, es el más empleado en la medicina para evaluar el estado de una herida. Este tipo de supervisión involucra distintas características que deben apreciarse al momento de la inspección [50]. Por medio de la vista puede notarse el cambio de tamaño en la herida, si hay enrojecimiento, hinchazón o examinar si hay presencia de tejido necrótico o granular. Algunos métodos adicionales utilizados es evaluar el olor de la herida, otra forma es por medio del tacto de forma cuidadosa o también evaluando cambios al exudado que se refiere a cambios de color o secreción de líquidos [50]-[52].

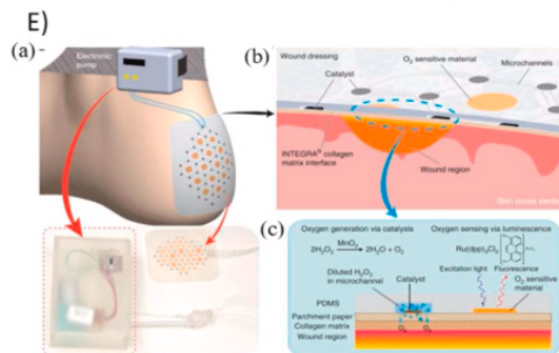


**Figura 2:** *Ejemplo de supervisión de heridas por métodos convencionales [51]*

#### **6.1.3.2. Novedosos.**

La tecnología moderna ha permitido reducir la carga en el paciente y el personal de salud, evitando largos viajes y constantes visitas por la necesidad de chequeos periódicos. Asimismo, el reemplazo constante de los apósitos, los cuales se utilizan para cubrir y proteger la herida, representa un alto costo para el paciente [53]. El monitoreo de heridas por medio de imágenes médicas es una de las ventajas actuales; herramientas como aplicaciones desarrolladas para evaluar imágenes de pies diabéticos o el simple análisis por medio de fotografías demuestra avances prometedores para una correcta supervisión [54].

El análisis electroquímico es otro tipo de metodología que ofrece aplicaciones portátiles debido a su tamaño compacto. Se ha observado que el desarrollo de matrices de ultramicroelectrodos de carbono es capaz de cuantificar marcadores específicos en las heridas como lo son el óxido nítrico y la piocianina. Estos se encuentran presentes durante etapas tempranas de infección [55]. Los biosensores en conjunto con un análisis electroquímico y la portabilidad (Figura 3) presentan una gran ventaja ante el monitoreo de heridas de forma remota. Dicha combinación es capaz de medir el pH, la temperatura y hasta el nivel de oxigenación en la herida, lo que reduce la cantidad de apósitos durante el proceso de curación. El monitoreo continuo por parte de los biosensores mejora la calidad de vida de un paciente, ya que presenta información en tiempo real. Este tipo de monitoreo es de suma importancia por el cambio tan repentino que llega a tener la composición bioquímica de las heridas y sus cambios de rutas metabólicas [53], [55].



**Figura 3:** Ejemplos de sensores para la medición de oxigenación en la piel. [53]

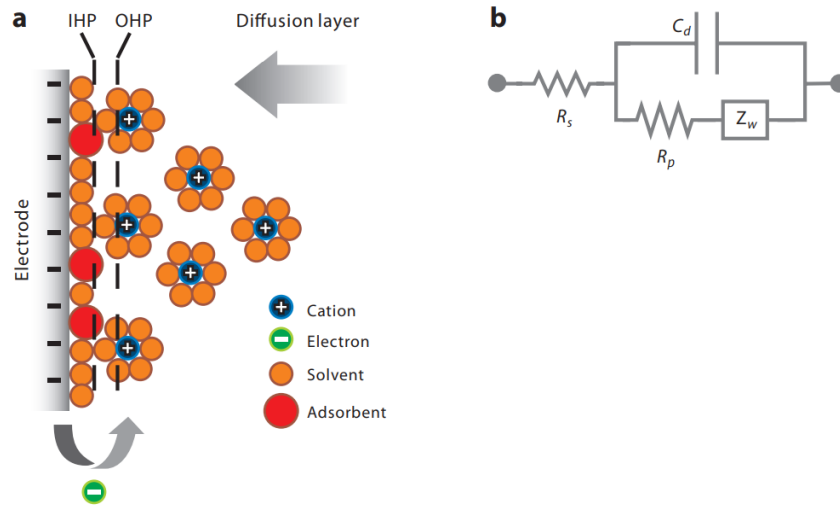
## 6.2. Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS).

La impedancia es un término utilizado para la oposición a la corriente eléctrica alterna. A diferencia del término de resistencia que se utiliza para corriente directa, la impedancia es una cantidad compleja que se compone de una parte real que es la resistencia (R) y una parte imaginaria que es la reactancia (X) de los componentes [56]. La resistencia es la característica de cada material ante el flujo de corriente, mientras que la reactancia es la oposición a la corriente alterna causada por inductores y capacitores dependiendo de la frecuencia [57].

La evaluación del comportamiento puede realizarse para distintos tipos de interfaces, las cuales varían según las características del electrodo, sea metal recubierto o no recubierto, y electrolito, cantidad y tipo de iones dentro de la solución. La medición de impedancia electroquímica se basa en la aplicación de un voltaje en corriente alterna, donde la frecuencia puede variar desde mHz hasta los GHz detectando la corriente [58].

### 6.2.1. Interfaz electrodo-electrolito.

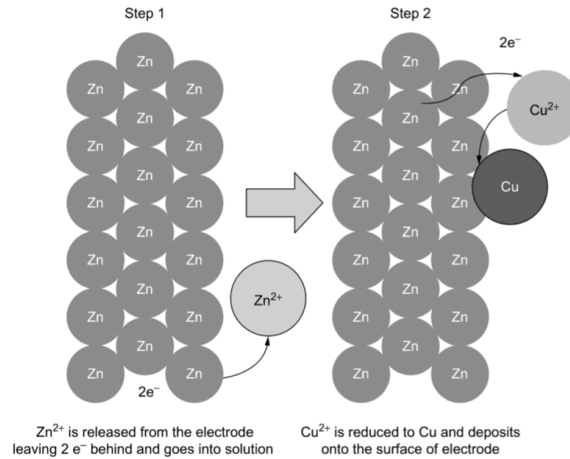
Un electrodo es un conductor de electricidad sólido el cual se encarga de entregar la corriente a un medio, normalmente una solución ionizada, que se encuentra dentro de una celda electroquímica [59]. El electrolito es una sustancia que se descompone en iones una vez se disuelve en algún líquido, generalmente agua, facilitando el paso de la corriente eléctrica. La interfaz entre un metal o semiconductor, electrodo, junto con una solución ionizada, electrolito, se conoce como interfaz electrodo electrolito. Hay forma de replicar este comportamiento por medio de componentes eléctricos y circuitos equivalentes que simulan la reacción de la interfaz ante el paso de la corriente. La resistencia de la solución ( $R_s$ ) representa la resistencia del electrolito, entre menor sea la concentraciones de los iones en el electrolito mayor sera la resistencia. El capacitor ( $C_d$ ) replica la doble capa que sea crea entre el electrodo y el electrolito cuando se atraen los iones. Cualquier reacción química que sucede sobre el electrodo puede ser expresado como una segunda resistencia ( $R_p$ ) y se calcula dependiendo la velocidad a la que se da la reacción. Por último, se incorpora un componente de difusión ( $Z_w$ ) que simula el tiempo que le toma a los iones llegar al electrodo (Figura 4) [60].



**Figura 4:** a) Interfaz electrodo-electrolito a nivel anatómico. b) Circuito equivalente del comportamiento de la interfaz electrodo-electrolito. [60]

En el electrodo se suele dar una reacción reducción-oxidación (redox) la cual es capaz de transformar la materia por medio de un intercambio de electrones. Cuando un elemento pierde uno o más electrones se llama oxidación, mientras que cuando gana electrones se denomina reducción [61]. Este es el tipo de reacción que se desarrolla en la interfaz electrodo electrolito. Un ejemplo de esta reacción en la interfaz es la cubierta de cobre que se produce cuando se introduce un electrodo de zinc (Zn) pulido dentro de una solución cargada de sulfato de cobre ( $Cu^{2+}$ ). Para que esto suceda el electrodo libera iones  $Zn^{2+}$  dejando 2 electrones libres en el electrodo. Esta pérdida polariza al  $Cu^{2+}$  reduciéndolo a Cu (Figura

5) [62].



**Figura 5:** Polarización de pieza de Zn para ser cubierta por iones Cu<sup>2+</sup> y convertirse en Cu [62]

### 6.2.2. Transferencia de carga.

Entre el electrodo y el electrolito se da una transducción de cargas entre las fases de conducción, metal y ion disuelto. El tipo de transferencia de carga entre ambas fases puede darse por dos tipos de interacciones. Existe la transferencia de carga farádica y la no farádica, también llamada capacitiva [63].

Cuando el tipo de transferencia de electrones se involucra con reacciones químicas se refiere al proceso farádico y se debe a que cumple con la ley de Faraday. La ley de Faraday establece que la cantidad de carga transferida es proporcional a la cantidad de la reacción química involucrada. El proceso capacitivo se da a causa de la adsorción y desorción de los iones en el metal, pero no se ve intercambio de electrones entre las fases, lo que se refiere a si el electrodo es capaz de retener a los iones sobre su superficie [64].

La transferencia capacitiva se caracteriza porque no hay transferencia de electrones, pero si una redistribución de especies químicas cargadas dentro de los iones de la solución. Este comportamiento permite ser modelado como un capacitor de doble capa. La transferencia farádica si presenta intercambio de electrones los cuales provocan una reducción u oxidación de las especies químicas en el electrolito. Este tipo de transferencia puede ser reversible o irreversible, esto depende de si el producto se une o dispersa sobre la superficie del electrodo [63], [64].

### 6.2.3. Espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS).

#### 6.2.3.1. Significado.

La espectroscopia por impedancia electroquímica, EIS por sus siglas en inglés, es una de las técnicas más importantes en la electroquímica que permite medir la impedancia de un circuito [11]. Ofrece varias ventajas, como la de ser una técnica de estado estacionario que mide por medio de la aplicación de potenciales eléctricos en corriente alterna dentro de un espectro de frecuencias. La EIS posee la habilidad de medir características esenciales de la materia o procesos con la habilidad de modificar las características capacitivas, inductivas o resistivas de los materiales [11].

Las aplicaciones de la espectroscopia de impedancia electroquímica varían dependiendo el objetivo. Generalmente se aplica a la evaluación de la interacción electrodo electrolito [58]. Esta evaluación brinda la información necesaria la cual permite representar la interacción como un circuito eléctrico equivalente. Con la EIS es posible estudiar la respuesta de circuitos complejos como las baterías o celdas de combustión [65]. También es comúnmente utilizada para medir la corrosión de los materiales metálicos y recientemente se ha implementado en sensores y biosensores. Con este tipo de técnicas es posible observar el cambio de resistencia, reactancia y fase del cuerpo humano en el tiempo (Figura 6). Estas características permiten determinar el estado de hidratación de un paciente, también la caracterización tisular en ciertas partes del cuerpo y así observar los cambios fisiológicos que presenta la piel durante el proceso de curación de heridas [13].

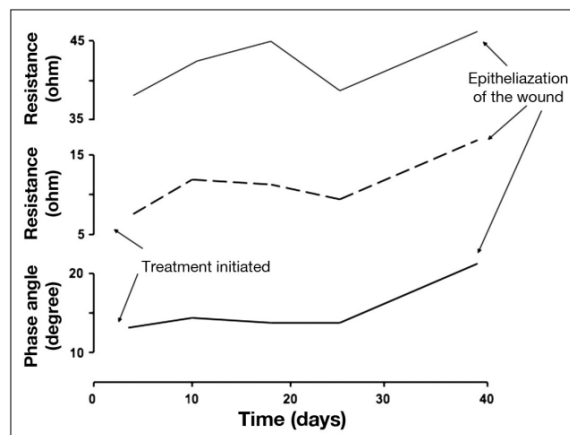
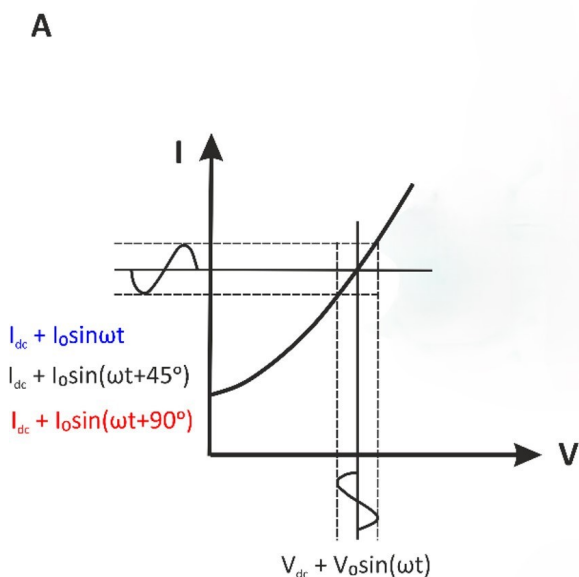


Figura 6: Medición de resistencia y fase de la herida [13]

### 6.2.3.2. Medición.

La espectroscopía de impedancia electroquímica se basa en la inyección de una señal, potencial eléctrico o corriente eléctrica, a baja amplitud a un sistema electroquímico para medir la respuesta del sistema a dicho impulso o señal [66]. Esta respuesta suele ser a señales en un amplio rango de frecuencias a baja amplitud lo que permite asegurar una relación lineal estable entre la señal aplicada y la respuesta del sistema. La baja amplitud se debe a que solo dentro de este rango es posible aproximar un comportamiento lineal, ya que la relación potencial-corriente no tiende a ser lineal (Figura7) [66].

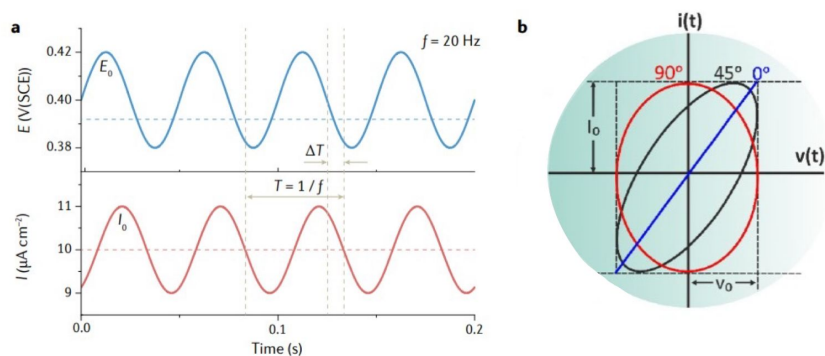


**Figura 7:** Representación esquemática de un sistema electroquímico hacia una respuesta de baja amplitud. [66]

Dicha respuesta puede ser interpretada dependiendo del sistema que la genera. De esta forma, es posible observar el comportamiento principalmente de la interfaz electrodo electrolito. También ayuda a comprender la difusión de los iones dentro de la solución y a través de las membranas. Permite caracterizar materiales como recubrimientos protectores o catalizadores [66], [67]. Para evaluar el estado de las baterías y celdas de combustible se utiliza mucho también esta técnica la cual evalúa la eficiencia y el estado de carga de los sistemas ya mencionados. Por último, recientemente se ha podido utilizar en el desarrollo e implementación de biosensores capacitivos e impedimétricos [66], [67].

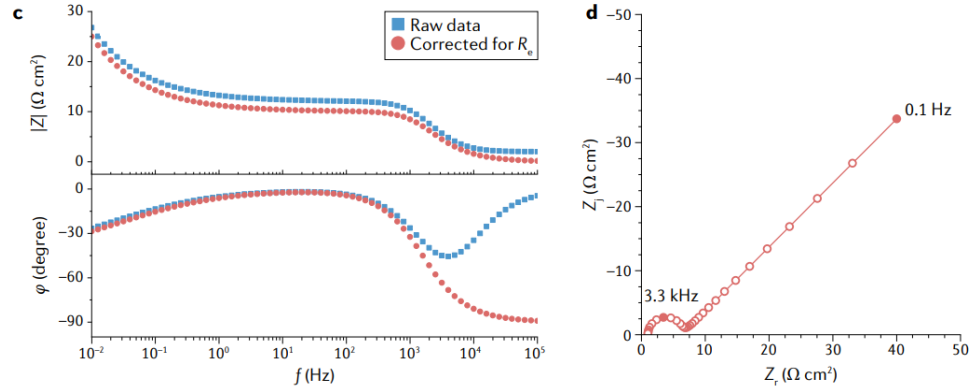
### 6.2.3.3. Interpretación.

La interpretación de los datos en el estudio de la espectroscopía de impedancia electroquímica depende mucho de la representación. Existen diversas formas en las que se puede representar esta información de forma gráfica. La primera forma de interpretar estos resultados es graficando la amplitud de corriente o voltaje contra el tiempo para observar la fase y así obtener información acerca de la impedancia (Figura 8) [67]. Generalmente junto con esta representación se suele graficar las curvas de Lissajous, las cuales dan una mejor interpretación del desfase entre el voltaje, eje horizonte, y la corriente, eje vertical [66].



**Figura 8:** a) Amplitud versus tiempo para la corriente y el voltaje. b) Curva de Lissajous con representación del desfase entre gráficas. [66], [67]

La siguiente forma de representar este tipo de información es por medio de un diagrama de Bode y de Nyquist. A diferencia de las gráficas anteriores, estos diagramas brindan una mejor interpretación de la impedancia del sistema. El diagrama de Bode representa en dos distintas gráficas la magnitud, también referida como el módulo, y la fase. La magnitud se refiere a la cantidad escalar del valor de la impedancia, mientras que la fase es de la respuesta. Estos diagramas se grafican desde un rango de frecuencias para tener una mejor observación del comportamiento del sistema (Figura 9). Por otro lado, el diagrama de Nyquist muestra una comparación entre la parte real y la parte imaginaria de la impedancia [66]. Este último tipo de diagramas tiene la desventaja de que los ejes no presentan una relación directa con el rango de frecuencias utilizado por lo que la interpretación visual no tiende a ser muy clara o afín a sus resultados (Figura 9) [67].



**Figura 9:** c) Diagrama de Bode con gráfica de magnitud y fase de la medición de impedancia. d) Diagrama de Nyquist, parte imaginaria de la impedancia en función de la parte real de la impedancia. [67]

## 6.3. Bioimpedancia.

### 6.3.1. Las células como componentes eléctricos.

Los fluidos intra y extracelulares se encuentran altamente cargados por iones, específicamente de cationes y aniones. El sodio ( $\text{Na}^+$ ) y el cloro ( $\text{Cl}^-$ ) son los iones más presentes dentro del fluido extracelular, mientras que de forma intracelular predomina el potasio ( $\text{K}^+$ ) [68]. Estos son capaces de migrar bajo la presencia de campos eléctricos, debido a que las células cuentan con una abundante cantidad de canales iónicos dentro de su membrana. A este tipo de conductividad se le denomina conductividad iónica. Así mismo, el citoplasma al tener una alta cantidad de proteínas es conductivo. Estas proteínas se encuentran en estado polimerizado y sin polimerizado, cuando están polimerizadas es que presentan propiedades conductivas [69].

Esta peculiaridad iónica vuelve a los fluidos celulares resistivos en su naturaleza. Por otro lado, la membrana celular actúa como una barrera contra la corriente a bajas frecuencias por lo que su comportamiento se asemeja al de un capacitor, mientras que su resistencia disminuye [70]. A medida que la frecuencia aumenta la membrana pierde la capacidad de frenar a la corriente por lo que comienza a haber una filtración hacia el fluido intracelular (Figura 10). [10], [70].

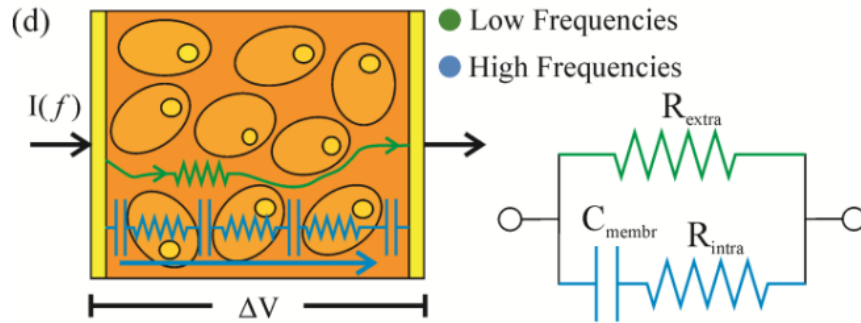


Figura 10: Comportamiento de la membrana celular según el tipo de señal aplicada a la célula. [10]

### 6.3.2. Composición del cuerpo.

El cuerpo humano está compuesto por cuatro distintos tipos de tejidos. Existe el tejido conectivo, el tejido epitelial, el tejido nervioso y el tejido muscular. Cada uno de estos tejidos puede ser diferenciado por su composición y estructura celular. En el tejido epitelial, nervioso y algunos de los tejidos musculares se observan células poliédricas superpuestas entre sí, lo que quiere decir que están estructuradas de forma continua sin separación. Por otro lado, los tejidos conectivos y algunos tipos de tejidos musculares se componen de células espaciadas por fluido intracelular (Figura11) [71].

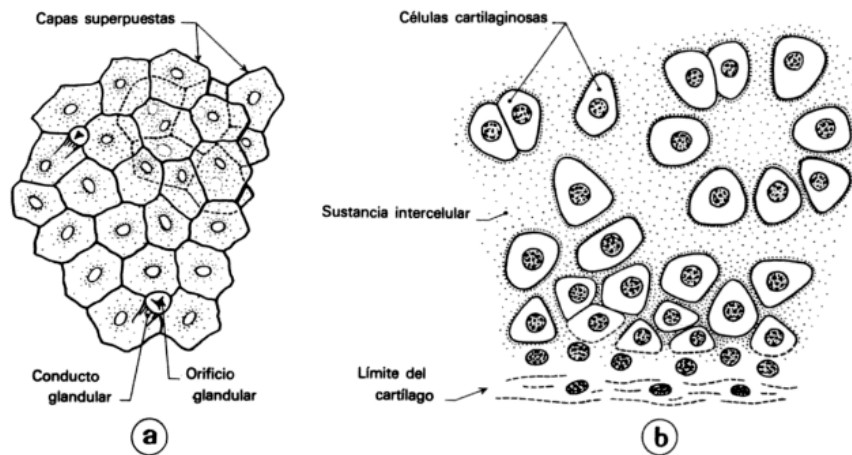


Figura 11: Células animales con comportamiento similar a los humanos. a) Células poliédricas conjuntas. b) Células separadas por fluido intracelular [71]

Cada uno de estos tejidos se compone por células de distintos tamaños con distintas funciones por lo que las características resistivas y conductivas de cada uno de ellos varían entre sí. Se puede apreciar la variación desde los vasos sanguíneos, siendo estos de los más conductivos en el cuerpo, hasta la mielina que rodea las neuronas o el tejido conectivo que soporta estrés mecánico [70]. El tejido muscular es anisotrópico, por lo que la

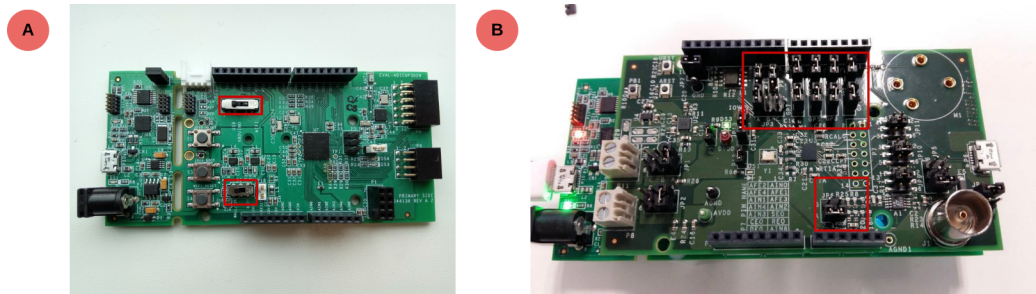
dependencia de la conductividad a la frecuencia varía según la forma en la que se aplica. El tejido nervioso es altamente conductor, a excepción de la mielina que recubre los nervios mielinizados. En el caso del tejido conectivo, varía mucho dependiendo de la perfusión de la sangre hacia este. Por último, el tejido epitelial depende según la unión de las células ya que este tejido está compuesto por capas de células [70]

El tejido epitelial es el que recubre los órganos y al cuerpo y su función es proteger frente a elementos externos, así como absorber nutrientes y hasta la captación de estímulos. Se caracteriza por estar compuesto de células poliédricas superpuestas unas con otras. Este puede ser la piel, el cuero cabelludo o interior de órganos y cavidades [72]. Luego, el tejido conectivo se encarga de sostener y reforzar a otros tejidos, así como también transportar oxígeno y nutrientes a través de la sangre. Este tejido es el más abundante en todo el cuerpo humano. Este tipo de tejido se compone de células y una matriz extracelular. Dentro de este tipo de tejidos se encuentran la sangre y los huesos [73].

El tejido nervioso es aquel que se conforma por neuronas o células de la neuroglia, las cuales conforman el cerebro y la médula espinal. Este tejido se encarga de transmitir los impulsos nerviosos a otros tejidos y gracias a esto el cuerpo humano puede percibir distintas sensaciones. En algunas regiones este tejido es escaso, pero en otras ocupa hasta el 25 % del volumen tisular [74]. Por último, el tejido muscular tiene la función de mantener la postura y generar calor. Este se divide en tres distintos tipos los cuales son el liso, el cardíaco y el esquelético. El tejido muscular liso y cardíaco tienden a ser involuntarios, mientras que el esquelético si tiene un movimiento voluntario. A pesar de esto, todos los tipos de tejido muscular tiene la propiedad de contracción [75].

### 7.1. Placa EVAL-AD5940ELCZ.

La placa EVAL-AD5940ELCZ (Analog Devices, MA, USA) es un dispositivo analógico de alta precisión, el cual es utilizado para la medición de voltaje, corriente o impedancia por medio de técnicas electroquímicas. Todo el sistema está compuesto por dos placas, la primera que es la EVAL-ADICUP3029 la cual es la placa base para realizar la comunicación por medio SPI entre el software y la segunda placa. La siguiente placa que es la EVAL-AD5940ELCZ se encarga de hacer las mediciones electroquímicas. Para poder utilizar la placa de forma correcta debe colocarse los switches S2 y S5 en posición USB. Para poder utilizar la placa de forma correcta debe colocarse los switches S2 y S5 en posición USB. Así mismo, debe asegurarse que los switches de la placa ADICUP3029 y los conectores de la placa AD5940ELCZ estén en la posición adecuada (Figura 12).



**Figura 12:** a) Configuración de switches  $S2$  y  $S5$  placa *EVAL-ADICUP3029*. b) Configuración de conectores placa *EVAL-AD5940ELCZ*.

## 7.2. Selección de componentes.

Para determinar el componente adecuado que permita alternar la corriente entre varios canales, deben hacer pruebas con un generador de funciones, una fuente de voltaje y un osciloscopio. Primero, se utiliza un multiplexor digital SN54S151 (Texas Instruments, TX, USA) para observar su comportamiento ante una señal sinusoidal. Como el voltaje máximo de la *EVAL-AD5940ELCZ* es de 600 mV, se busca replicar una señal sinusoidal con la misma amplitud. Para esto, se utiliza un generador de funciones (B&K PRECISION, CA, USA), modelo 4017A. La configuración se realiza conectando la señal a un osciloscopio TDS 2012 (Tektronix, OR, USA); solo se puede observar cambiar la frecuencia en la pantalla del generador. De esta forma, se busca obtener la señal adecuada para el análisis.

La onda se genera seleccionando una onda sinusoidal en el generador; para obtener un bajo voltaje de 600 mV pk-pk, se debe presionar un botón de -20 dB. Para que la onda tenga la menor cantidad de voltajes negativos, debe agregarse un DC offset entre 200 a 300 mV, según sea necesario. Por último se comienza por el rango de frecuencia más baja para realizar un barrido de frecuencia de forma manual. Cada vez que se alcanza la máxima frecuencia del rango seleccionado se debe avanzar al siguiente. Se comienza desde 1 Hz hasta alcanzar una frecuencia de 10MHz y así observar el comportamiento del componente ante distintas frecuencias.

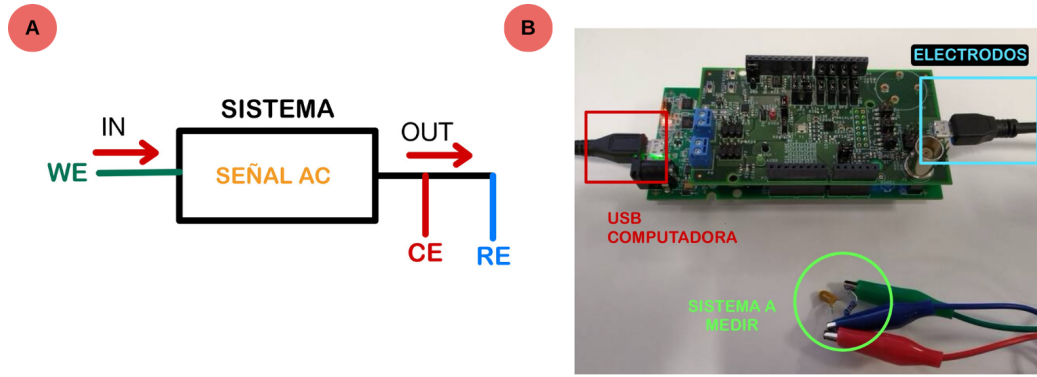
Luego de obtener una señal con las características deseadas, se conecta la salida del generador a cualquiera de las terminales de entrada del multiplexor. Para observar el comportamiento en tiempo real, se utilizan ambos canales del osciloscopio donde el primer canal se conecta en la señal de salida del generador de funciones, mientras que el segundo se conecta a la salida de multiplexor. De esta forma, se observa qué es lo que entra y qué sale. Se hace un barrido de frecuencia en el generador mientras se observa el comportamiento del componente.

Estas pruebas se repiten para el Relevador HK4100F-DC5V-SHG (Ningbo Keke New Era Appliance, China) y el multiplexor/demultiplexor analógico CD4051B (Harris Semiconductor, FL, USA), con la diferencia de que para dichos componentes se utiliza la señal con menor amplitud posible para observar cómo varía. En el caso del multiplexor analógico, se utilizó un generador de funciones AFG1022 (Tektronix, OR, USA) y un osciloscopio TBS 2000B (Tektronix, OR, USA). El procedimiento a seguir es exactamente el mismo: se introduce la señal del generador en la entrada del relé o del multiplexor analógico para observar cómo se ve afectada según la frecuencia.

### 7.3. Mediciones físicas con EVAL-AD5940ELCZ.

La placa permite medir diversas técnicas electroquímicas y bioeléctricas por medio de la interfaz SensorPal (Analog Devices, MA, USA). Primero, se establecen 100 puntos para realizar la medición, junto con la amplitud de la señal con un valor de 600 mV, un DC Bias de 1200 mV. La medición realiza un barrido de frecuencia por lo que permite establecer una frecuencia inicial y final para la medición una vez sea habilitada. En este caso, se establece una frecuencia inicial de 300 Hz y una final de 100 kHz. También debe habilitarse la opción logarítmica, la cual acomoda la gráfica de forma que se aprecien mejor los resultados. El resto de configuraciones se dejan exactamente igual a cómo están predeterminadas por el sensor.

Antes de iniciar la medición se conecta la placa por medio de USB a la computadora, una vez conectado desde la interfaz se selecciona el puerto COM asignado al dispositivo. Para la medición se conecta el cable micro USB con los lagartos a la placa AD5940 para hacer mediciones. El lagarto verde es el electrodo de trabajo, el lagarto azul es el electrodo de referencia y el lagarto rojo es el electrodo auxiliar. El análisis de impedancia se hace conectando el electrodo auxiliar con el electrodo de referencia en un extremo y el electrodo de trabajo en el extremo contrario del componente (Figura 13a). Si fuera un sistema más complejo, la señal sale del electrodo de trabajo hacia el sistema y la salida del sistema se conecta a los electrodos de referencia y auxiliar (Figura 13b).



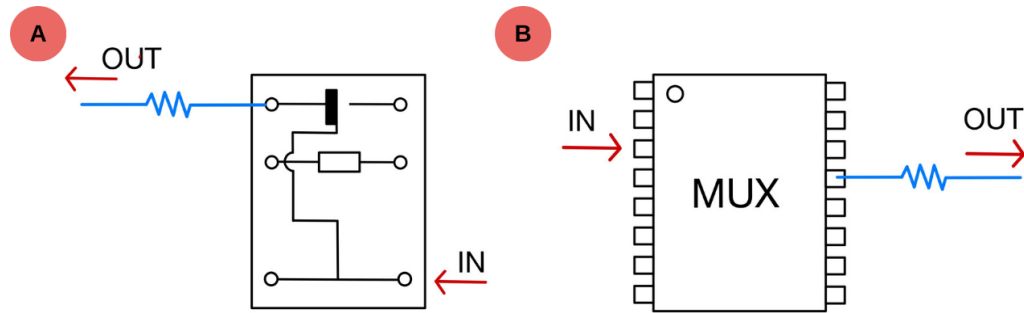
**Figura 13:** a) Diagrama de conexión de lagartos con sistemas a medir. b) Ejemplificación de conexión de lagartos para medición de componentes analógicos o sistemas más complejos.

## 7.4. Comprobación de valores de resistencias.

Para validar el valor de las resistencias utilizando la placa EVAL-AD5940ELCZ se comparan distintos métodos de medición de resistencia. Los valores de las resistencias para utilizar varían desde los  $220 \Omega$ , hasta  $1 \text{ M}\Omega$  (Cuadro 1). Para esto debe medirse primero la resistencia por medio de un multímetro. Luego se mide la misma resistencia con la placa la cual despliega el valor de impedancia. El siguiente paso es medir la impedancia de la resistencia conectada al relevador, para esto se coloca la resistencia en la salida del relé y la señal de la placa EVAL en la terminal de entrada lo que permite medir la impedancia luego de que la señal atraviesa el relé y la resistencia (Figura 14a). También se debe comparar el valor de impedancia cuando se hace la medición a través del multiplexor CD4051B, para esto se debe introducir la señal de la placa por la terminal de entrada. La resistencia se coloca en una de las terminales de salida para medir la impedancia con la señal atravesando el multiplexor y saliendo por la resistencia (Figura 14b). Los valores se grafican para observar la variación entre los distintos sistemas utilizados.

Resistencia	Valor ( $\Omega$ )
R1	220
R2	1,000
R3	10,000
R4	47,000
R5	100,000
R6	1,000,000

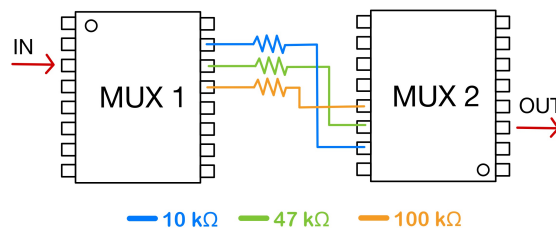
Cuadro 1: Valor de resistencias utilizadas en comprobación con placa, relevador y multiplexor



**Figura 14:** a) *Demostración de medición sistema relevador con resistencia.* b) *Demostración de medición sistema multiplexor analógico con resistencia.*

## 7.5. Conexión mux-elemento-mux.

El sistema debe ser capaz de realizar mediciones en varios puntos y para eso debe utilizarse dos multiplexores/demultiplexores analógicos CD4051B. Para verificar que ambos circuitos integrados son capaces de alternar la señal de medición se conecta en paralelo dos CD4051B los cuales tiene conectados entre diferentes elementos, para medir las respectivas impedancias. Los primeros componentes son tres distintas resistencias. La primera resistencia siendo de  $47\text{ k}\Omega$ , la segunda de  $10\text{ k}\Omega$  y la tercera de  $100\text{ k}\Omega$ . Cada una de las resistencias se conectan a las terminales 1, 2 y 3 de los componentes respectivamente (Figura 15). Para realizar el cambio de las terminales a medir se programa un código en Arduino IDE para compilarlo la placa de desarrollo NUCLEO-F446RE (STMicroelectronics, GE, Suiza) la cual se encarga de encender o apagar tres pines de propósito general para cada integrado. De esta forma, se realiza el cambio de canal de forma automática a solicitud del usuario.

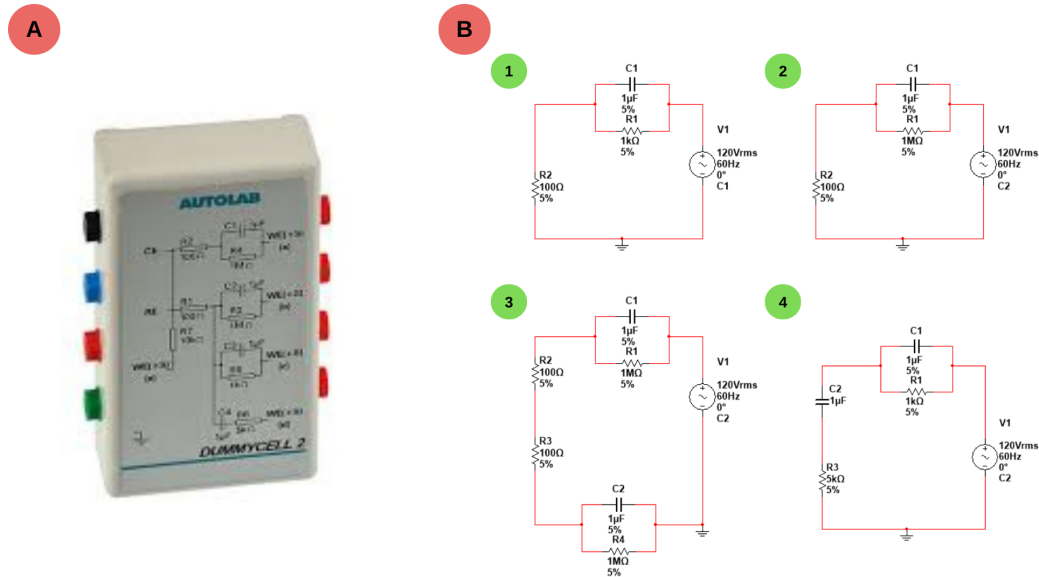


**Figura 15:** *Demostración de medición para resistencias con 2 multiplexores/demultiplexores analógicos.*

### 7.5.1. Circuitos Dummy Cell 2.

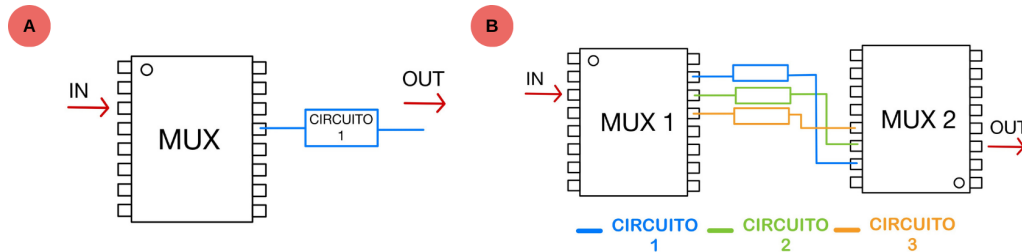
Un segundo método de validación es utilizar componentes resistivos y capacitivos para así poder medir su impedancia alternando la conexión de dichos componentes. Esto se hace replicando 4 distintos circuitos del Sistema Dummy Cell 2 (Metrohm Autolab, UT, Países

Bajos) (Figura 16a), para medir el comportamiento de forma real. Los cuatro diferentes circuitos se diferencian por tener distintos valores de componentes al igual que distintas combinaciones entre estos mismos. (Figura 16b). La comprobación de la medición para estos circuitos se realizó tomando el electrodo de trabajo como la terminal positiva de la fuente de voltaje y los electrodos de referencia y auxiliar como la terminal negativa de la misma.



**Figura 16:** a) *Circuito Dummy Cell 2 utilizado para verificar rendimiento y calibración de potencióstatos/galvanostato.* b) *Circuito Dummy Cell 2 y esquemáticos de circuitos de prueba para validación de multiplexor.*

Para estos circuitos se utiliza el mismo método de validación que se utilizó con las resistencias. Primero, se mide la impedancia de cada circuito directamente con la placa, luego se mide con un Mux analógico (fig 17a) y por último se mide con dos multiplexores/demultiplexores (fig 17b). Para cada medición de los circuitos y sistemas se grafican diagramas de bode.



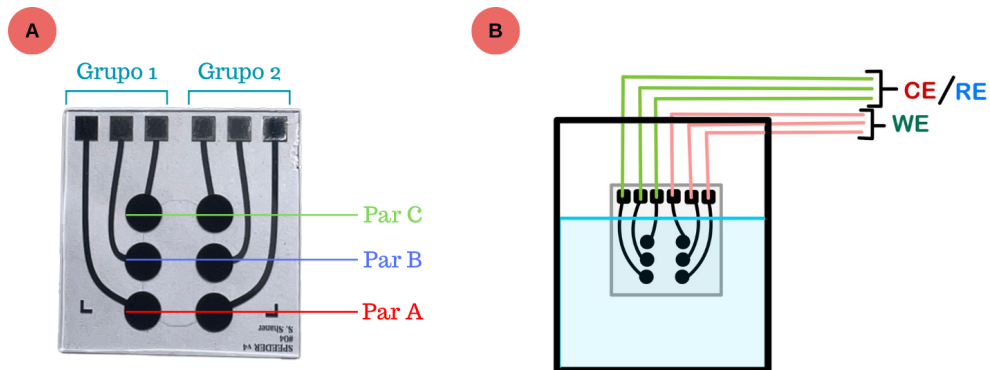
**Figura 17:** a) *Validación con 1 solo multiplexor analógico CD4051B.* b) *Validación con 2 multiplexores analógicos CD4051B.*

### 7.5.2. Solución salina tamponada con fosfato (PBS).

Para el siguiente método de validación se utiliza 3 diferentes soluciones salinas tamponadas con fosfato de calcio (PBS) a diferentes concentraciones para evaluar el valor de la impedancia. Se utiliza PBS debido a que mantiene un pH constante, mientras que el pH de la solución salina tiende a variar. Para esto debe disolverse 1 tableta de PBS (Merck KGaA, DA, Alemania) en 1 litro de agua ultrapura, esta mezcla devuelve una concentración de 1x (100 % de PBS). Para obtener 0.5 x o 50 % de PBS se mezcla una parte de solución 1x con una parte de agua ultrapura. Por último, se crea una solución a 0.1x o 10 % mezclando 1 parte de la solución al 50 % con 4 partes de agua ultrapura.

Para medir dichas soluciones se prueba primero con la placa EVAL-AD5940ELCZ directamente con dos jumpers para medir la impedancia directa de la solución. Luego se utiliza un electrodo de Oxido de Iridio con un diámetro de 3 mm sobre un substrato de Pyrex, aislados con el polímero SU8 (Figura 18a) fabricados por José Andrés leal en la Universidad de Freiburg, Alemania. Este electrodo permite ser sumergido en las soluciones y realizar mediciones entre los distintos puntos, las mediciones se hacen de la misma forma que las anteriores.

Primero, se debe medir el electrodo conectado de forma directa a la placa EVAL, luego a un solo multiplexor/demultiplexor analógico CD4051B y por último en medio de dos multiplexores. Todas las mediciones se hicieron con el electrodo de trabajo conectado al grupo 2 y los electrodos de referencia y de trabajo conectados al grupo 1 (Figura 18b).

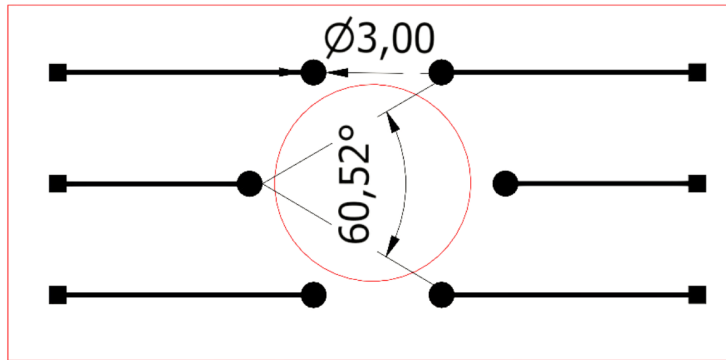


**Figura 18:** a) *Electrodos de óxido de iridio sobre un substrato de Pyrex, aislado con polímero SU8.*  
b) *Diagrama de conexión de electrodos con la placa EVAL-AD5940ELCZ*

### 7.5.3. Placas de agar.

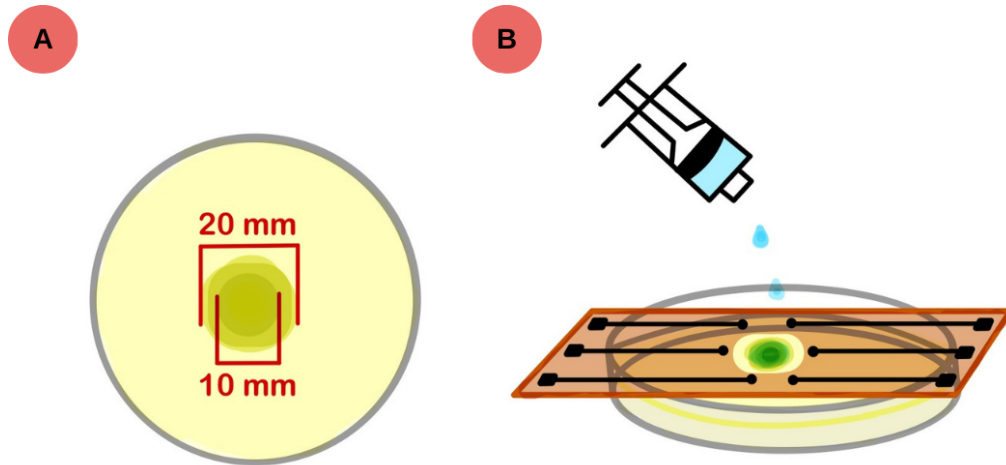
El último método de validación se realiza por medio de mediciones en placas de agar. Para la preparación de estas placas se debe diluir 450 mg de Cloruro de sodio en 50 ml

de agua ultrapura. Una vez bien disuelto, se procede a agregar 1.5 g de agar en el mismo recipiente y se deja reposar para que se hidrate por cinco minutos. Pasado ese tiempo se calienta la mezcla y se agita constantemente para lograr homogeneizar todos los compuestos hasta que se comienza a observar cómo el agar se va solidificando. Una vez ya haya espesado la mezcla se vierte sobre una placa de Petri para dejar enfriar aproximadamente por cuatro horas en el refrigerador. Pasado ese tiempo se procede a retirar de la refrigeradora para comenzar con las mediciones. Para lograr unas mediciones adecuadas en la placa se deben fabricar 6 electrodos de grafeno, que para ello se utilizó una hoja de poliimida tipo Kapton® con un grosor de  $75 \mu\text{m}$  (DuPont, EE.UU). Dichos electrodos se fabrican en una cortadora laser VLS2.30 (Universal Laser System, NM, USA), las dimensiones de los electrodos son de tres mm de diámetro, cada electrodo, colocados sobre una circunferencia de 15 mm de radio. Estos se encuentran espaciados de forma uniforme en intervalo de  $60^\circ$  a lo largo de dicha circunferencia (Figura 19).



**Figura 19:** *Diseño de electrodos de grafeno, grabados sobre poliimida tipo Kapton®.*

Las mediciones se hacen aislando el carril del electrodo con cinta adhesiva Kapton y haciendo contacto sobre la placa de agar. Estas mediciones se hacen de igual forma, donde primero, se mide conectando la placa de forma directa a los electrodos, luego con un multiplexor CD4051B y por último con dos multiplexores. Luego de tomar todas las mediciones se elabora un agujero sobre la superficie del agar de aproximadamente 10 mm de diámetro y cinco mm de profundidad, a este agujero se le agregan alrededor de tres gotas de solución PBS 100 % y se procede a repetir el proceso de validación de mediciones para el agar. Por último, el agujero se expande a aproximadamente 20 mm de diámetro para nuevamente rellenarlo con PBS 100 % y así poder realizar todas las mediciones una vez más 20. Con los valores de la magnitud extraídos se realiza un mapa de calor en MATLAB (MathWorks, MA, USA) para poder tener una representación del entorno de la mediciones. Estos mapas se realizan graficando el valor de impedancia cuando la frecuencia es de 1 kHz para tener el un punto intermedio de la medición. En este mapa de calor se le asigna una escala de color a los valores de impedancia, por lo que cada mapa sera diferente.



**Figura 20:** a) *Tamaños de orificios realizados sobre la placa de agar.* b) *Aplicación de solución de PBS a 1x mientras se mide con electrodos de grafeno*

## **8.1. Comparación entre multiplexor analógico, multiplexor digital y relevador.**

### **8.1.1. Multiplexor/data selector SN45S151.**

El primer componente que se probó fue el multiplexor digital SN45S151, para el cual se utilizó la señal descrita en (Metodología 7) . Este componente deformo completamente la señal producida por el generador de funciones. El canal 2, señal azul, era la señal del generador, mientras que el canal 1, señal amarilla, correspondía a la salida del multiplexor. La señal de entrada se saturada al alcanzar los 1.32 V, mientras que la señal de salida eran pulsos generados por el multiplexor, donde se pudo observar el incremento del ciclo de trabajo del pulso cuando la señal de entrada alcanzaba su máximo valor. La señal utilizada para esta medición no sobrepaso los 10 Hz establecidos en el generador, a pesar de que el osciloscopio midió 9.6 Hz (figura 21).

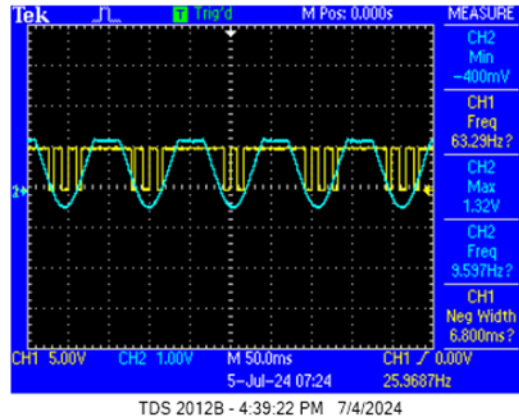


Figura 21: Respuesta de multiplexor digital.

### 8.1.2. Relevador HK4100F-DC5V-SHG.

El siguiente componente evaluado fue el relé el cual recibió la señal del generador y fue capaz de entregar la misma señal sin alterarla. Para esta medición la señal de entrada era el canal 1 y la salida del relé era el canal 2 como se aprecia en la figura 22. El osciloscopio no fue capaz de detectar la frecuencia de la primera medición, pero esta figura corresponde a 1 Hz. El valor máximo de la señal de entrada fue medido a 96 mV mientras que el de salida 94 mV.

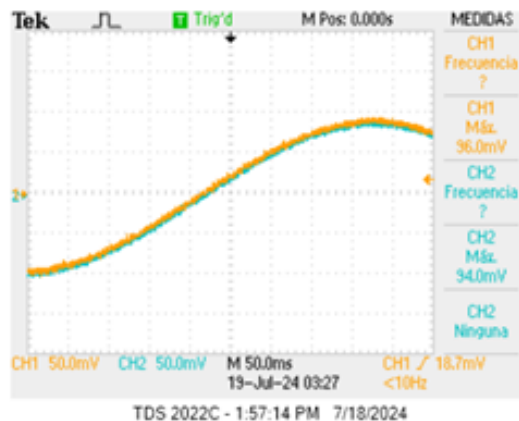
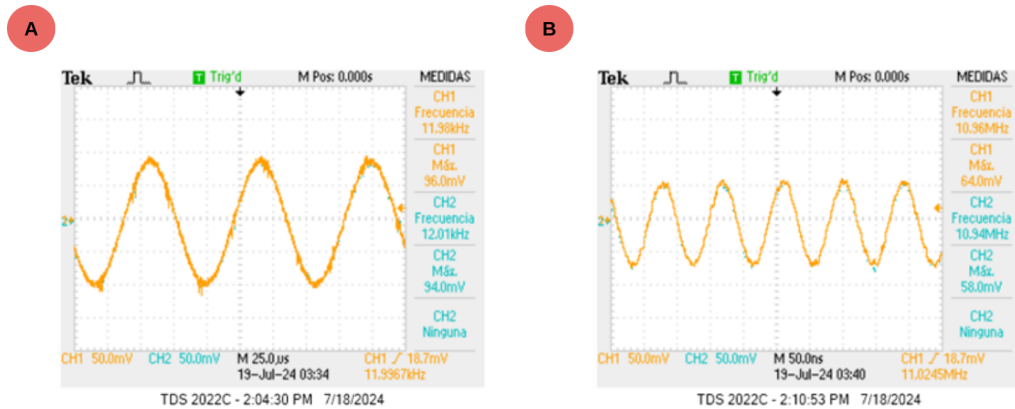


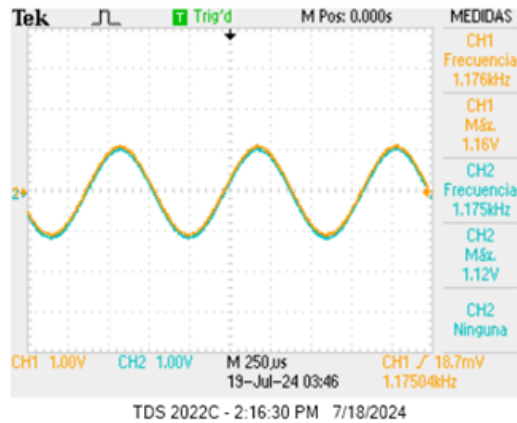
Figura 22: Canal 1, señal generadora a 1 Hz con 96 mV de amplitud. Canal 2, señal saliente del relevador a 1 Hz con 94 mV de amplitud

Al superar los 10 kHz el relé siguió dejando pasar la señal sin alguna atenuación visible, el generador entregaba 12.01 kHz con el mismo valor de voltaje que al inicio. Luego se alcanzaron los 10 MHz, el cual era el máximo entregable por el generador y con un valor medido de 10.94 MHz la señal si demostró una ligera atenuación donde paso a medir 64 mV en la entrada y 58 mV en la salida (Figura 23).



**Figura 23:** a) Señal de salida a 94 mV de amplitud con 12 kHz de frecuencia. b) Señal de salida 56 mV de amplitud con 10.94 MHz de frecuencia.

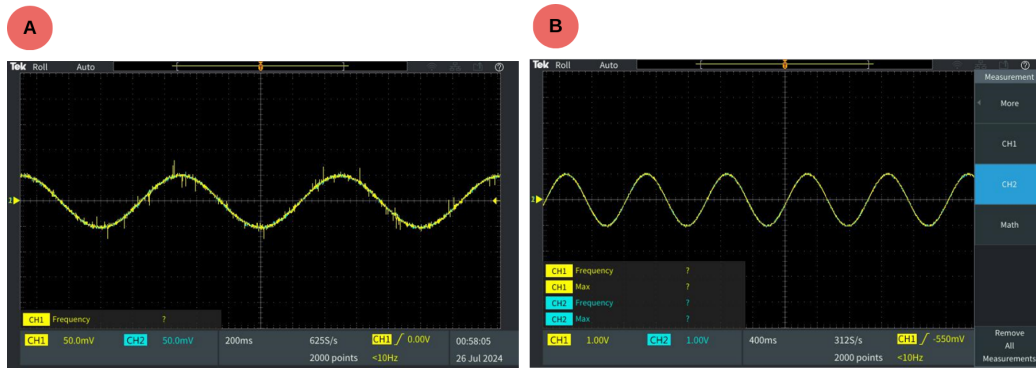
Con el valor máximo de voltaje entregado por el generador de funciones solo se ve cómo el voltaje varió 40 mV (Figura 24), Esto con el propósito de observar la capacidad del relé a altos voltajes.



**Figura 24:** Señal de 1.16 V, con diferencia de 40 mV en la salida a 1.175 kHz

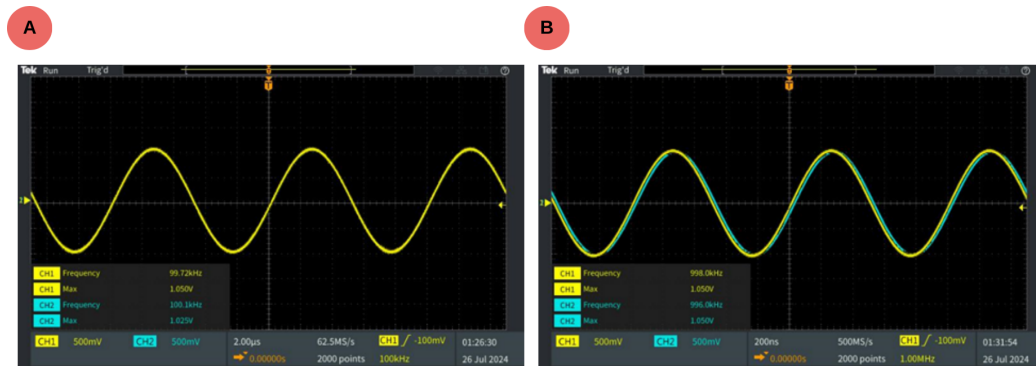
### 8.1.3. Multiplexor/demultiplexor analógico CMOS CD4051B.

El último componente para probar fue el multiplexor analógico el cual demostró ser capaz de manipular señales a bajo voltaje. La salida del multiplexor entregó la misma señal que se introdujo en la entrada a 1 Hz. En la misma figura se puede observar que el incremento del voltaje a 2 V pk-pk no hace que el multiplexor deforme la señal (Figura 25).



**Figura 25:** a) Señal de entrada y salida a 50 mV de amplitud con 1 Hz de frecuencia. b) Señal de entrada y salida a 1 V de amplitud con 1 Hz de frecuencia.

A medida que se fue aumentando la frecuencia, se observa cómo el multiplexor fue capaz de alcanzar los 100 kHz sin modificar la señal (Figura 26) . El voltaje máximo de entrada fue medido en 1.05 V, mientras que el de salida fue de 1.025 V como máximo. Al momento de alcanzar 1 MHz se empieza a notar una atenuación de la señal. El mayor cambio se observa en una disminución de 2 kHz en la frecuencia de la señal de salida (Figura 26b).



**Figura 26:** a) Variación de 25 mV a la señal con frecuencia 100 kHz. b) Desfase de 2 kHz por parte del multiplexor al introducir señal de 1 MHz.

Al alcanzar los 10 MHz se ve la mayor deformación de la señal donde se introduce un voltaje máximo de 1.45 V y la salida entrega 200 mV, con una diferencia aproximada de 155 kHz (Figura 27)

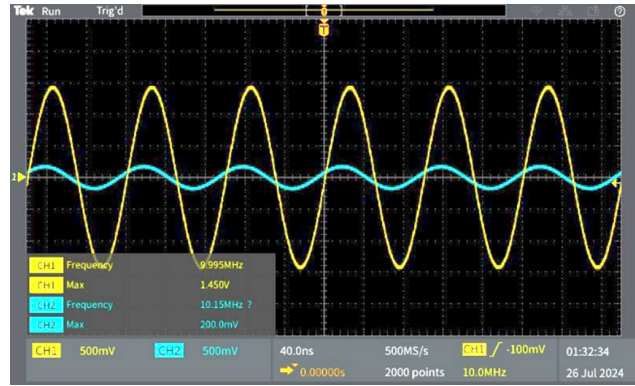


Figura 27: Atenuación de señal por parte del multiplexor.

## 8.2. Valores de resistencias según distintos métodos de medición.

Se compararon los valores medidos de las resistencias por cada método y se obtuvo su porcentaje de error respecto al valor teórico. La columna negra simboliza el valor teórico de la resistencia. El multímetro demostró ser el método con el menor porcentaje de error con un máximo del 2% para todos los valores de las resistencias. El método con el porcentaje más alto fue la medición con la placa AD5940 y el multiplexor analógico alcanzando un porcentaje de error de hasta el 92%, el más alto de todas las mediciones. Por último, se observa que a partir de los 47 k $\Omega$  la placa no fue capaz de medir el valor correcta de las resistencias reflejando para el resto de las mediciones un valor alrededor de los 75 k $\Omega$  (Figura 28).

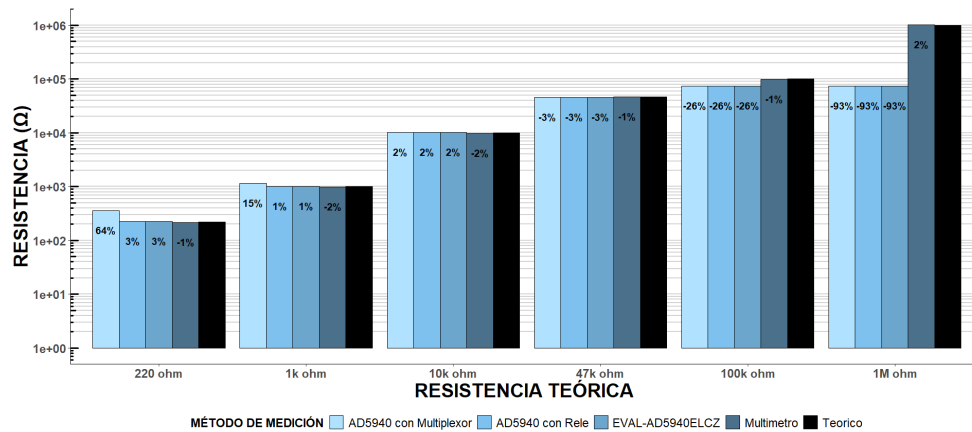


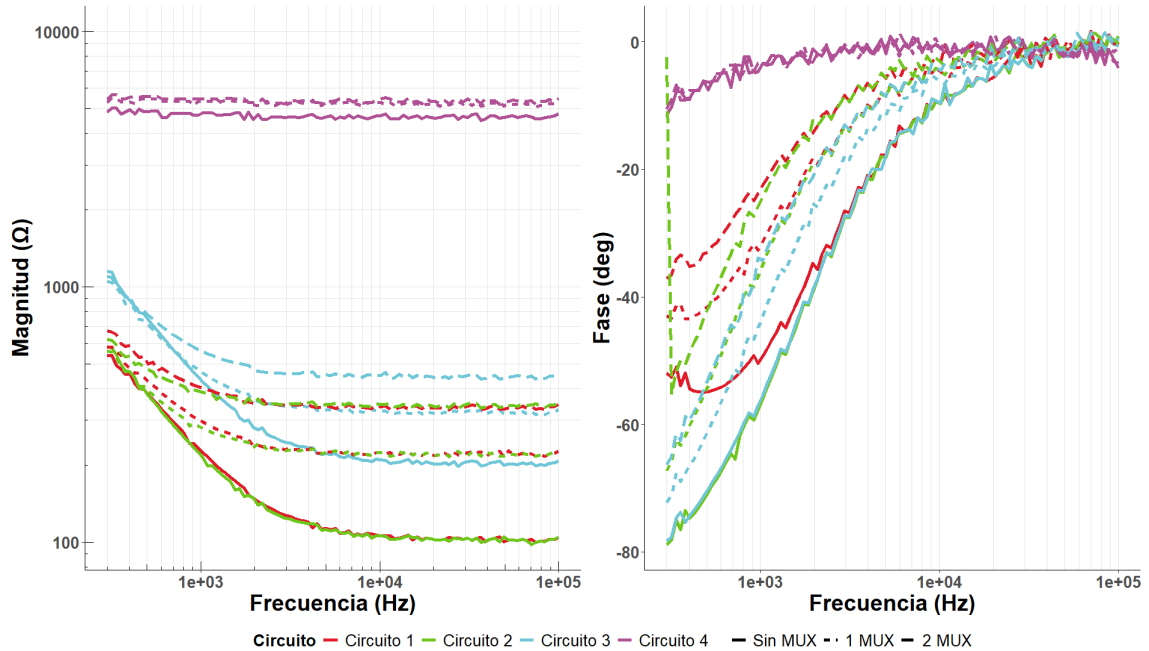
Figura 28: Comparación de porcentajes de error para valores medidos de resistencias según diferentes métodos

### 8.3. Mediciones de circuitos de DummyCell 2 replicados de forma física.

En los diagramas de bode, correspondientes a las mediciones de los circuitos del DummyCell2 recreados de forma física, se compararon de forma simultanea las mediciones sin multiplexor, con multiplexor y con dos multiplexores. Las gráficas de líneas continuas representan las mediciones sin multiplexor, las líneas punteadas son las mediciones con multiplexor y las otras son mediciones con ambos multiplexores. La gráfica del lado izquierdo refleja la magnitud de la impedancia de cada circuitos. En esta se observa que el circuito 4 fue el que obtuvo la mayor medición de impedancia para ambas mediciones. Este circuito tuvo en promedio una magnitud de 4.6 k $\Omega$ .

A medida que se va incrementando la impedancia del sistema, en este caso los circuitos, se disminuye la variación entre mediciones. El circuito uno y dos son los que mayor incremento tiene entre mediciones, aumentando hasta más de 120  $\Omega$  en cada medición o un error del 100 % hasta el 200 %. Una vez se sobrepasa el valor de los 1000  $\Omega$  se nota cómo el cambio causado por el valor de impedancia de cada multiplexor CD4051B comienza a ser insignificante, lo que consigue acortar la brecha entre mediciones disminuyendo el porcentaje de error a un 11 % hasta un 14 % (Figura 29).

En cuanto a la fase, se ve que tiene un comportamiento similar al de la magnitud, donde el circuito cuatro es el que menor variación tiene. La diferencia de este diagrama es que el circuito dos y tres fueron los que mayor variación tuvieron, cambiando en hasta casi 20° su valor durante los primero 1000 Hz del barrido de frecuencia. Luego, la fase comienza a tener un comportamiento estable acercándose cada vez más a los 0 grados (Figura 29).

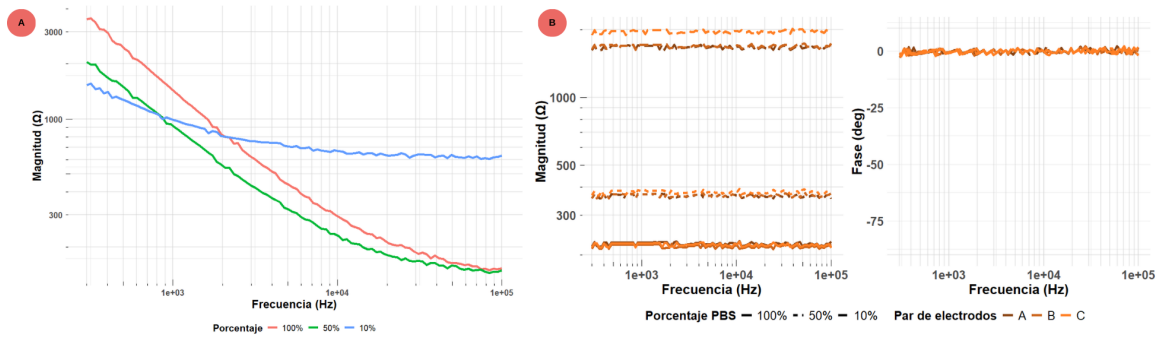


**Figura 29:** Comparación de diagramas de Bode para circuitos 1 a 4 entre mediciones al circuito de forma directa y al circuito a través del multiplexor

#### 8.4. Medición de Soluciones PBS 1X, 0.5X y 0.1X con electrodos de vidrio.

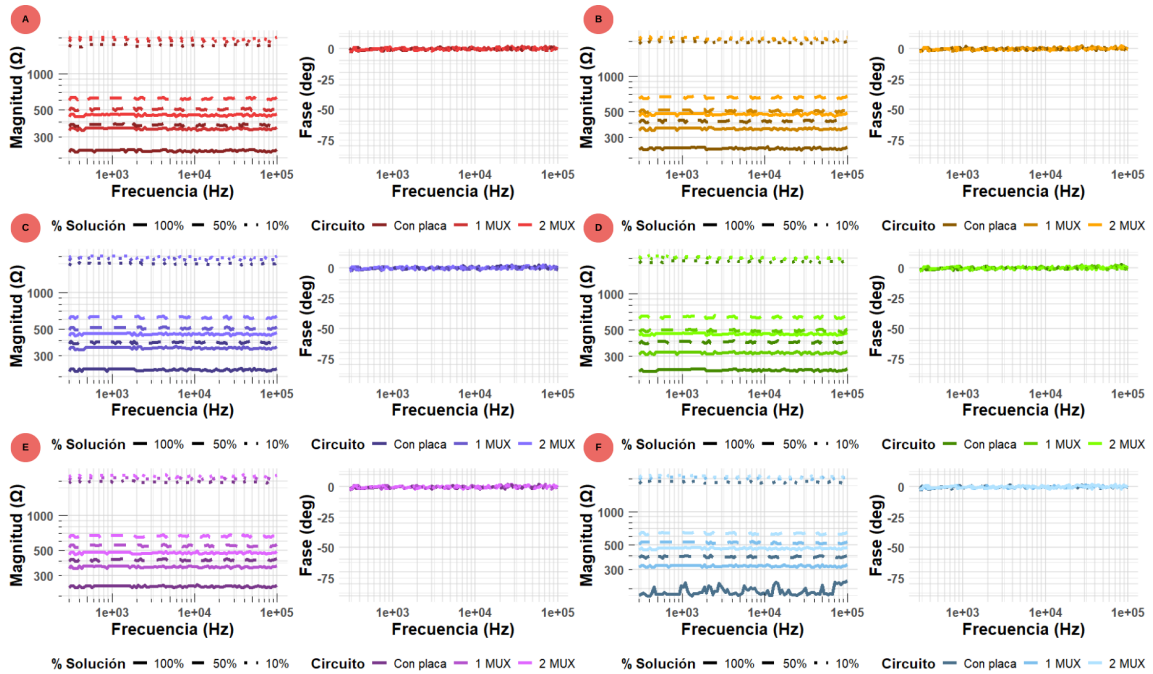
Las mediciones preliminares de PBS demostraron que a concentraciones de 1X y 0.5X la impedancia disminuye a razón del incremento de la frecuencia. El PBS a 50 % demuestra tener valores más bajos de impedancia que PBS a 100 %. Es así como a una concentración de 0.1X se observa un comportamiento más estable, donde la impedancia varía alrededor de 900  $\Omega$ , mientras que en las otras mediciones la impedancia varía al rededor 1000  $\Omega$ , entre el valor final y el inicial (Figura 30a).

En cuanto a la medición entre cada par de electrodos se ve cómo a medida que la concentración disminuye la impedancia aumenta, imitando un comportamiento inversamente proporcional. Se ve cómo la medición entre el par A, B y C tienen valores similares entre cada concentración. La única excepción fue del par C para la solución 0.1X de PBS donde se observa un aumento de alrededor de 260  $\Omega$  a comparación del par A y B. De la solución 1X a 0.5X hay un cambio mayor a 130  $\Omega$  y de la solución 0.5X a 0.1X aumentan más de 1100  $\Omega$  (Figura 30b).



**Figura 30:** a) Mediciones de las soluciones de PBS a distintas concentraciones utilizando la placa EVAL-AD5940ELCZ. b) Medición entre cada pareja respectiva de electrodos con solo placa y electrodos de vidrio.

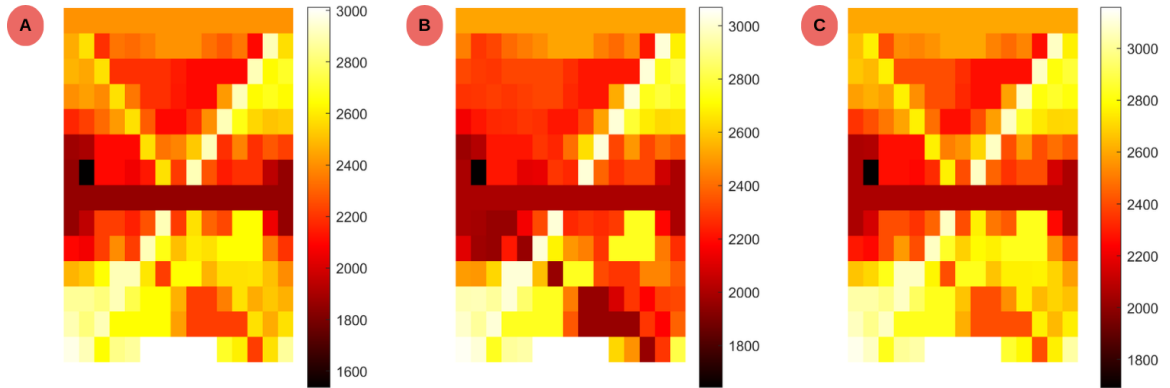
Las mediciones entre las diferentes combinaciones de electrodos presentaron comportamiento similares entre ellas. Para estos nuevos resultados, la impedancia incrementa una vez más con la disminución de concentración, pero también aumenta a medida que se introduce un multiplexor CD4051B al sistema de medición. Los cambios son mas notorios entre mayor es la concentración de PBS en el agua ultra pura. Al inicio, para 100 %, se pudo apreciar más el salto significativo entre las mediciones, donde 2 multiplexores siempre tuvieron la mayor magnitud de impedancia con un porcentaje de error desde 51 % hasta el 98 %. Una vez más, la adición de las impedancias parasitarias deja de ser relevante a medida que el valor de impedancia supera los 1 k $\Omega$ , donde el error se disminuye hasta un rango entre 8 % y 14 %. Por último, la única señal que tuvo el menor comportamiento estable fue cuando se medio la combinación 2C1B en la solución 100 % solo con la placa (Figura 31).



**Figura 31:** a) Medición entre electrodo 2A y 1C para solución de PBS. b) Medición entre electrodo 2A y 1B para solución de PBS. c) Medición entre electrodo 2B y 1A para solución de PBS. d) Medición entre electrodo 2B y 1C para solución de PBS. e) Medición entre electrodo 2C y 1A para solución de PBS. f) Medición entre electrodo 2C y 1B para solución de PBS.

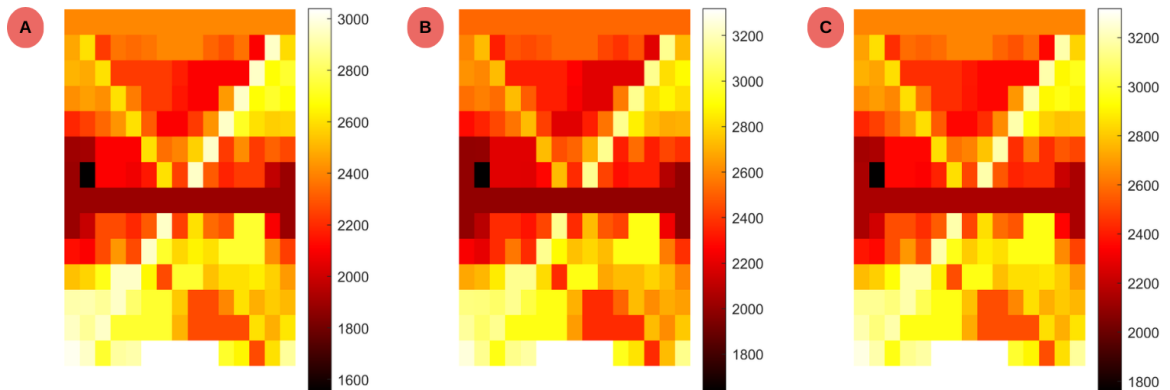
## 8.5. Medición de placas de agar con diferentes geometrías por medio de electrodos de grafeno y análisis de mapas de calor.

Todas las mediciones muestran las áreas de alta impedancia representadas en colores fríos, mientras que las áreas de baja impedancia se muestran en colores cálidos. La primera medición para la placa de agar sin ningún tipo agujero obtuvo resultados similares en los 3 diferentes sistemas de medición (Figura 32). Se ve cómo en general para esta medición el rango de magnitud de impedancia va desde los 1.6 kΩ hasta más de los 3 kΩ. Los mapas también reflejan que la corriente siguió una línea recta entre cada par de electrodo para todas las mediciones. En lo mapas de calor se puede observar cómo el cambio más representativo fue cuando se midió solamente con 1 multiplexor (Figura 32b). Este mapa demuestra zonas con menor valor de impedancia, mientras que la medición con 2 multiplexores muestra algunas regiones con valores ligeramente mayores, aunque mantiene mucha similitud con la medición sin multiplexores (Figura 32c).



**Figura 32:** a) Mapa de calor para medición de agar sin orificio con EVAL-AD5940ELZ. b) Mapa de calor para medición de agar sin orificio con 1 multiplexor. c) Mapa de calor para medición de agar sin orificio con 2 multiplexores.

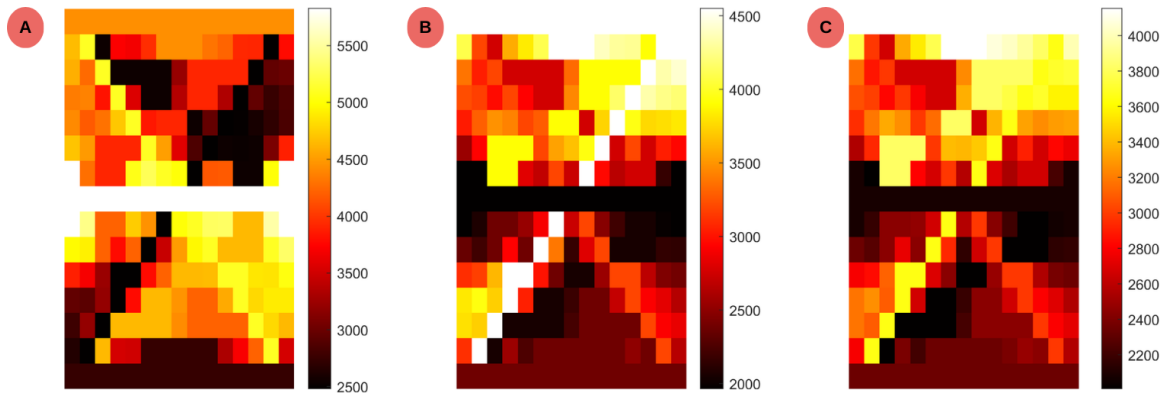
Posteriormente la placa con un agujero de 10 mm mostró comportamientos similares a las mediciones anteriores, incluso en el rango de impedancia. El rango de impedancia abarca desde los 1.6 k $\Omega$  hasta los 3.2 k $\Omega$ . Estas mediciones si tuvieron más marcado el incremento de impedancia al momento de incorporar a los multiplexores, tanto individual como en conjunto (Figura 33). A simple vista, no se observa una diferencia significativa entre los mapas, simplemente una disminución de impedancia en la parte superior de la medición del sistema con un multiplexor (Figura 33b).



**Figura 33:** a) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 10 mm con EVAL-AD5940ELZ. b) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 10 mm con 1 multiplexor. c) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 10 mm con 2 multiplexores.

Por último, las mediciones de la placa con el orificio de 20 mm muestran un incremento significativo en el rango de impedancia, con un valor mínimo de 2 k $\Omega$  y un máximo de 5.5 k $\Omega$  (Figura 34). Cuando se mide solo con la placa se ve cómo la impedancia es más alta justo en el centro del mapa de calor (Figura 34a). Por otro lado, para la medición con los multiplexores hubo mayor impedancia en la parte superior del mapa, mientras que en el centro fue la región con menor impedancia. Los resultados de las mediciones entre un

multiplexor y dos multiplexores no tuvieron mayor variación, más que del electrodo 2C y el 1A hubo mucho más impedancia cuando se midió con un CD4051B que con dos multiplexores analógicos (Figura 34B y Figura 34c).



**Figura 34:** a) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 20 mm con EVAL-AD5940ELZ. b) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 20 mm con 1 multiplexor. c) Mapa de calor para medición de agar con herida simulada de 20 mm con 2 multiplexores.

---

## Discusión de resultados

---

Este trabajo de graduación buscaba desarrollar un prototipo de medición no invasivo para el monitoreo de heridas superficiales. Para esto era importante validar el funcionamiento de varios componentes electrónicos, los cuales debían cumplir la tarea de multiplexar una señal analógica proveniente de la placa EVAL-AD5940ELCZ. De los tres componentes evaluados, el multiplexor/data selector SN45S151 resultó ser el menos indicado debido a que solo acepta rangos lógicos, los cuales rondan desde los 0 V hasta un voltaje máximo que es dictaminado por el voltaje de alimentación [76]. Por otro lado, el multiplexor/demultiplexor analógico CMOS CD4051B demostró tener todas las capacidades necesarias para realizar la multiplexación, no solo por sus rangos de trabajo de voltaje, si no que también su funcionalidad en cuanto a tamaño comparado del Relevador HK4100F-DC5V-SHG. Esto permite desarrollar prototipos de menor escala para el uso en pacientes.

Para la validación mediante la medición de los circuitos físicos Dummy Cell 2 se ve en promedio un aumento mayor a  $100 \Omega$  con forme se introduce otro multiplexor, llegando a variar hasta  $220 \Omega$  cuando se involucran dos multiplexores de forma simultanea. Esto se debe propiamente a la impedancia del CD4051B, la cual puede llegar a ser de  $125 \Omega$  a un voltaje de alimentación de 18V [77]. Por otro lado, la variación de la fase se debe a la incorporación de componentes reactivos, como los son los capacitores, los cuales influyen sobre la fase. Así mismo, se ha observado cómo la construcción de los circuitos, en serie o paralelo, afecta en la fase de la respuesta del sistema [78].

Se utilizó PBS para las mediciones de impedancia a distintas concentraciones ya que

mantiene un pH más estable, esto beneficia las mediciones debido a que cambios en el pH demuestran variación en la medición de impedancia [79], [80]. Las soluciones de PBS a diferentes concentraciones mostraron cómo la conductividad de la solución depende de la concentración de iones disponibles. Al comparar las diferentes soluciones a 100 %, 50 % y 10 %, se observa que la impedancia es inversamente proporcional a la concentración de la solución. Esto se debe a que, en soluciones con mayor concentración de PBS se reduce la resistencia al flujo eléctrico. Este comportamiento se relaciona al aumento en la cantidad de iones facilitando el transporte de carga y reduciendo la oposición al paso de la corriente [80]. Cabe recalcar que la validación solo se hizo para tres concentraciones debido a que se observo un cambio lo suficientemente significativo entre las soluciones preparadas como para hacer mediciones en más concentraciones.

Además, el uso de electrodos de vidrio mostró estabilidad en las mediciones sin una interferencia significativa de reacciones de transferencia de carga en el electrodo [60], lo cual es beneficioso para obtener una representación precisa de la impedancia en función de la concentración iónica. Sin embargo, pequeñas variaciones en las mediciones pueden atribuirse a factores como el contacto del electrodo y las fluctuaciones de temperatura [81]. De igual forma, el electrodo no podía ser sumergido completamente debido a su tamaño lo que implica un posible cambio en la impedancia del fondo de la solución debido a la difusión [82]. Gracias a esto, puede notarse cómo el utilizar dos multiplexores analógicos reflejan un cambio más drástico en las soluciones de mayor concentración. Es por esto por lo que para mediciones mayores a  $1\text{ k}\Omega$  no se evidencia una variación significativa entre los sistemas.

Para medir las placas de agar usando electrodos de grafeno y analizar los datos con mapas de calor, no es posible establecer una relación directa y sencilla entre los electrodos y las áreas de impedancia en el mapa. Esto ocurre porque los mapas de calor muestran conexiones aparentes y directas entre cada par de electrodos, cuando no hay una forma de asegurar la linealidad del paso de la corriente a través la placa de agar. Esto se deba a que de acuerdo con la ley de Ohm, a medida que haya menor impedancia, abra más corriente [57].

A pesar de que si se evidencian variaciones en los valores de impedancia , no se fue capaz de desarrollar un mapa de calor preciso que lograra imitar la geometría del agujero, por lo que es incorrecto asumir qué zonas tuvieron un valor mayor o menor de magnitud de impedancia. Así mismo, cabe recalcar que para las mediciones fue necesario apoyarse de un objeto externo para realizar presión sobre los electrodos y así asegurar un contacto adecuado entre la superficie y estos mismos. Debido a que el objeto no fue diseñado propiamente para generar presión uniforme sobre una superficie de 3 cm de diámetro, no puede determinarse si el contacto con los electrodos fue el optimo. Principalmente por que si se observo variación en la medición en las ocasiones que los electrodos se despegaban de la superficie. Cómo una observación adicional, uno de los grandes retos al realizar las mediciones fue hacer la

medición a los agujeros con la solución de PBS a 1x. Al momento de aplicar presión en el agar su porosidad permitió el paso de la solución hacia la superficie de contacto entre el electrodo y el agar. Esta es otra de las razones por las que no puede asumirse que el comportamiento de la corriente fue lineal entre cada electrodo. Agregado a esto, al no tener suficiente data para representar cada punto de la placa de agar se necesitó hacer una interpolación entre los datos. Para asignarle un valor a un punto sin información se calculó el promedio de los valores reales medidos por la placa que se encontraban a su alrededor. De tal forma se lograba encontrar un promedio más exacto, ya que habían regiones donde no había información al rededor de los puntos. Estos puntos imprecisos fueron una fuente significativa de error para observar el comportamiento de la impedancia.

En cuanto a los multiplexores analógicos CD4051B Estos resultados no mostraron variación alguna entre las tres mediciones para cada modelos de agar. El único cambio significativo fue observado entre la medición de la placa EVAL-AD5940ELZ hacia el agar con un agujero de 20 mm, contra la medición donde se integra un solo multiplexor para medir la misma placa (Figura 34). En esta pareciera que los valores de las mediciones se intercambian ya que la mayor impedancia esta en medio para la primer medición, cuando la menor impedancia es la misma región en la segunda medición. Por último, la utilización de electrodos de grafeno para medir placas de agar con diferentes geometrías, junto con el análisis de mapas de calor, demuestra ser una herramienta efectiva para entender la distribución de impedancia en medios complejos. Este tipo de análisis, permite identificar patrones y áreas específicas de interés, los cuales serían difíciles de identificar con un análisis tradicional como las gráficas de barras o líneas. En aplicaciones biomédicas, estos mapas de calor podrían ayudar a identificar irregularidades o anomalías en tejidos o estructuras celulares cuando se aplica esta metodología a medios más complejos que el agar [54].

En resumen, la implementación de multiplexores CD4051B resulta viable para la medición de impedancia en distintos medios. Se observa cómo a bajas impedancias los resultados sufren alteraciones por la integración de dichos componentes al sistema de medición, pero a medida que van subiendo esta alteración se vuelve menos significativa. Para el desarrollo de un sistema que a futuro mida impedancia en la piel resulta favorable, puesto que la impedancia de la piel suele variar entre 4 k $\Omega$  hasta el rango de los M $\Omega$ , valor que varia según parámetros fisiológicos de cada quien y la frecuencia de la señal [83], [84].

- El multiplexor/demultiplexor analógico CMOS CD4051B demostró ser el componente más eficiente y preciso para la manipulación de la señal proveniente de la placa EVAL-AD5940 a un rango de frecuencias de 300 Hz a 100 kHz.
- Las mediciones de los circuitos de prueba del Dummy Cell 2 mostraron un incremento promedio de  $100 \Omega$  cada vez que se introducía un multiplexor al sistema de medición. A valores de impedancias mayores a  $1 \text{ k}\Omega$ , no se aprecia interferencia alguna o modificación de la señal de medición de los circuitos. Esto demuestra una capacidad de procesamiento adecuada para la señal por parte del CD4051B.
- La concentración de PBS y la impedancia reflejaron un comportamiento inversamente proporcional entre ellas. Los multiplexores agregaron hasta  $220 \Omega$  en conjunto a cada medición, donde el cambio menos significativo se apreció en la solución a 0.1X de PBS. Tres amplios rangos de concentración fueron necesarios para obtener resultados satisfactorios.
- La medición de impedancia utilizando electrodos de grafeno sobre las placas de agar y la demostración de los datos por medio de mapas de calor probaron ser efectivas para la validación de la integración de los multiplexores al método de medición. Estas mediciones enfrentan desafíos significativos debido a la distribución no lineal de la corriente, la variabilidad en el contacto de los electrodos, la porosidad del agar que altera las condiciones de medición y la necesidad de interpolar datos insuficientes, lo que limita la precisión y confiabilidad de los resultados.

---

## Recomendaciones

---

- Se recomienda fabricar y utilizar electrodos de diferentes materiales para comparar el efecto del material sobre las mediciones en los diferentes medios.
- Se considera probar el sistema en cultivos celulares, observando la variación de las mediciones según el tipo de célula, mientras se varían diferentes parámetros fisiológicos (pH, temperatura y humedad).
- Garantizar una presión uniforme sobre la superficie de la placa de agar para optimizar el contacto entre los electrodos y el sustrato. Esto puede lograrse mediante el uso de dispositivos calibrados o sistemas de presión controlada, lo que contribuirá a mejorar la reproducibilidad y precisión de las mediciones electroquímicas.
- Para futuros trabajos, se recomienda mejorar y aumentar la cantidad de puntos de medición dentro del arreglo. De esta forma, se obtendrían mapas de calor con más representación de datos, lo que suavizaría la resolución y presentaría un mejor resultado.
- A futuro, se debe probar el sistema en modelos de cultivos celulares, específicamente células epiteliales, conectivas y adipocitos. Esto permitiría validar el funcionamiento del sistema y observar la variación de las mediciones según las células y variaciones en el procedimiento seguido para las evaluación del tejido.
- Es recomendable evaluar un sistema de electrodos que puedan ser introducidos en el sistema, como el agar o las células, y que demuestren el comportamiento de las capas profundas de la piel. De esta forma, se aseguraría que la corriente atravesase las partes internas de la herida y se pueda tener un análisis más directo y preciso para los mapas de calor.

- 
- [1] M. Sánchez, *Definiciones internacionales de Procedimiento*, nov. de 2017.
- [2] R. Northrop, *Non/Invasive Instrumentation and Measurement in Medical Diagnosis, Second Edition*, 2nd. CRC Press, oct. de 2017, págs. 1/526, ISBN: 9781315117690. DOI: 10.1201/9781315117690.
- [3] P. Pérez, J. García y J. Ibáñez, *Ingeniería biomédica. Imágenes médicas*, 1.<sup>a</sup> ed., C. Vázquez, ed. Servicios de Publicaciones de La Universidad de Castilla/La Mancha, 2006, págs. 1/183.
- [4] P. A. G. Delgado, F. I. C. Díaz, D. C. N. España y V. N. M. D. Saltó, «Beneficios médicos de la imagenología no invasiva,» *RECIAMUC*, vol. 6, págs. 11/20, 4 nov. de 2022, ISSN: 25880748. DOI: 10.26820/reciamuc/6.(4).octubre.2022.11/20.
- [5] R. M. Fish y L. A. Geddes, «Conduction of electrical current to and through the human body: a review.,» *Eplasty*, vol. 9, e44, oct. de 2009, ISSN: 1937/5719.
- [6] X. Huang, H. Cheng, K. Chen et al., «Epidermal Impedance Sensing Sheets for Precision Hydration Assessment and Spatial Mapping,» *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 60, págs. 2848/2857, 10 oct. de 2013, ISSN: 0018/9294. DOI: 10.1109/TBME.2013.2264879.
- [7] S. Abdul, B. H. Brown, P. Milnes y J. A. Tidy, «The use of electrical impedance spectroscopy in the detection of cervical intraepithelial neoplasia,» *International Journal of Gynecologic Cancer*, vol. 16, págs. 1823/1832, 5 sep. de 2006, ISSN: 1048/891X. DOI: 10.1136/ijgc/00009577/200609000/00016.

- [8] Y. Wu, D. Jiang, A. Bardill, S. de Gelidi, R. Bayford y A. Demosthenous, «A High Frame Rate Wearable EIT System Using Active Electrode ASICs for Lung Respiration and Heart Rate Monitoring,» *IEEE Transactions on Circuits and Systems I: Regular Papers*, vol. 65, págs. 3810/3820, 11 nov. de 2018, ISSN: 1549/8328. DOI: 10.1109/TCSI.2018.2858148.
- [9] J. Wtorek, L. Jozefiak, A. Polinski y J. Siebert, «An averaging two/electrode probe for monitoring changes in myocardial conductivity evoked by ischemia,» *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 49, págs. 240/246, 3 mar. de 2002, ISSN: 00189294. DOI: 10.1109/10.983458.
- [10] P. Kassanos, «Bioimpedance Sensors: A Tutorial,» *IEEE Sensors Journal*, vol. 21, págs. 22190/22219, 20 oct. de 2021, ISSN: 1530/437X. DOI: 10.1109/JSEN.2021.3110283.
- [11] H. S. Magar, R. Y. A. Hassan y A. Mulchandani, «Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS): Principles, Construction, and Biosensing Applications,» *Sensors*, vol. 21, pág. 6578, 19 oct. de 2021, ISSN: 1424/8220. DOI: 10.3390/s21196578.
- [12] A. Kekonen, M. Bergelin, J. Eriksson, A. Vaalasti, H. Ylänen y J. Viik, «Bioimpedance measurement based evaluation of wound healing,» *Physiological Measurement*, vol. 38, págs. 1373/1383, 7 jun. de 2017, ISSN: 1361/6579. DOI: 10.1088/1361/6579/aa63d6.
- [13] H. C. Lukaski y M. Moore, «Bioelectrical Impedance Assessment of Wound Healing,» *Journal of Diabetes Science and Technology*, vol. 6, págs. 209/212, 1 ene. de 2012, ISSN: 1932/2968. DOI: 10.1177/193229681200600126.
- [14] C. Castaño y S. Galvis, «Usos de la bioimpedancia en la determinación del estado de hidratación en pacientes hospitalizados,» págs. 1/14, 2023.
- [15] M. Gracia, «Uso de la espectroscopía de impedancia bioeléctrica para la caracterización tisular de la rodilla sometida a tracción,» págs. 1/150, ago. de 2018.
- [16] S. L. Swisher, M. C. Lin, A. Liao et al., «Impedance sensing device enables early detection of pressure ulcers in vivo,» *Nature Communications*, vol. 6, pág. 6575, 1 mar. de 2015, ISSN: 2041/1723. DOI: 10.1038/ncomms7575.
- [17] T. F. Herman y B. Bordoni, *Wound Classification*. 2024.
- [18] S. Bowers y E. Franco, *Chronic Wounds: Evaluation and Management*, 2020. dirección: [www.aafp.org/afp](http://www.aafp.org/afp).
- [19] R. G. Wilkins y M. Unverdorben, «Wound Cleaning and Wound Healing,» *Advances in Skin & Wound Care*, vol. 26, págs. 160/163, 4 abr. de 2013, ISSN: 1527/7941. DOI: 10.1097/01.ASW.0000428861.26671.41.
- [20] R. G. Frykberg y J. Banks, «Challenges in the Treatment of Chronic Wounds,» *Advances in Wound Care*, vol. 4, págs. 560/582, 9 sep. de 2015, ISSN: 2162/1918. DOI: 10.1089/wound.2015.0635.

- [21] Q. S. Sadriwala, B. S. Gedam y M. A. Akhtar, «Risk factors of amputation in diabetic foot infections,» *International Surgery Journal*, vol. 5, pág. 1399, 4 mar. de 2018, ISSN: 2349/3305. DOI: 10.18203/2349/2902.isj20181118.
- [22] M. S. Brown, B. Ashley y A. Koh, *Wearable technology for chronic wound monitoring: Current dressings, advancements, and future prospects*, abr. de 2018. DOI: 10.3389/fbioe.2018.00047.
- [23] R. Renner y C. Erfurt/Berge, «Depression and quality of life in patients with chronic wounds: ways to measure their influence and their effect on daily life,» *Chronic Wound Care Management and Research*, vol. Volume 4, págs. 143/151, nov. de 2017. DOI: 10.2147/cwcmr.s124917.
- [24] H. Sattar e I. S. Bajwa, «An IoT/Based Intelligent Wound Monitoring System,» *IEEE Access*, vol. 7, págs. 144500/144515, 2019, ISSN: 21693536. DOI: 10.1109/ACCESS.2019.2940622.
- [25] N. Mehmood, A. Hariz, R. Fitridge y N. H. Voelcker, «Applications of modern sensors and wireless technology in effective wound management,» *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, vol. 102, págs. 885/895, 4 mayo de 2014, ISSN: 1552/4973. DOI: 10.1002/jbm.b.33063.
- [26] H. M. Kim, J. C. Lowery, J. B. Hamill y E. G. Wilkins, «Accuracy of a Web/based System for Monitoring Chronic Wounds,» *Telemedicine Journal and e/Health*, vol. 9, págs. 129/140, 2 jun. de 2003, ISSN: 1530/5627. DOI: 10.1089/153056203766437471.
- [27] P. Mostafalu, W. Lenk, M. R. Dokmeci, B. Ziaie, A. Khademhosseini y S. R. Sonkusale, «Wireless Flexible Smart Bandage for Continuous Monitoring of Wound Oxygenation,» *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, vol. 9, págs. 670/677, 5 oct. de 2015, ISSN: 19324545. DOI: 10.1109/TBCAS.2015.2488582.
- [28] A. A. Mehl, B. Schneider, F. K. Schneider y B. H. K. D. Carvalho, «Measurement of wound area for early analysis of the scar predictive factor,» *Revista Latino/Americana de Enfermagem*, vol. 28, págs. 1/9, 2020, ISSN: 15188345. DOI: 10.1590/1518/8345.3708.3299.
- [29] A. Iqbal, A. Jan, M. A. Wajid y S. Tariq, «Management of Chronic Non/healing Wounds by Hirudotherapy,» *World journal of plastic surgery*, vol. 6, págs. 9/17, 1 ene. de 2017, ISSN: 2228/7914.
- [30] Y. Maruyama, H. Kamata, S. Watanabe, R. Kita, N. Shinyashiki y S. Yagihara, «Electric-field penetration depth and dielectric spectroscopy observations of human skin,» *Skin Research and Technology*, vol. 26, págs. 255/262, 2 mar. de 2020, ISSN: 0909/752X. DOI: 10.1111/srt.12788. dirección: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/srt.12788>.
- [31] A. Rad, *Integumentary system*, sep. de 2023.

- [32] R. S. Bressler y C. H. Bressler, «Functional Anatomy of the Skin,» *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery*, vol. 6, págs. 229/246, 2 abr. de 1989, ISSN: 08918422. DOI: 10.1016/S0891/8422(23)00321/X.
- [33] K. Kabashima, T. Honda, F. Ginhoux y G. Egawa, «The immunological anatomy of the skin,» *Nature Reviews Immunology*, vol. 19, págs. 19/30, 1 ene. de 2019, ISSN: 1474/1733. DOI: 10.1038/s41577/018/0084/5.
- [34] A. C. Society, *Cicatrices y heridas*, 2020. dirección: <https://www.cancer.org/es/cancer/como/sobrellevar/el/cancer/efectos/secundarios/piel/cabello/unas/cicatrices/y/heridas.html>.
- [35] N. J. Percival, «Classification of Wounds and their Management,» *Surgery (Oxford)*, vol. 20, págs. 114/117, 5 mayo de 2002, ISSN: 02639319. DOI: 10.1383/surg.20.5.114.14626.
- [36] M. Irfan/maqsood, «Classification of Wounds: Know before Research and Clinical Practice,» *Journal of Genes and Cells*, vol. 4, pág. 1, ene. de 2018, ISSN: 2410/6887. DOI: 10.15562/gnc.61.
- [37] G. S. Lazarus, D. M. Cooper, D. R. Knighton et al., «Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing,» *Wound Repair and Regeneration*, vol. 2, págs. 165/170, 3 jul. de 1994, ISSN: 1067/1927. DOI: 10.1046/j.1524/475X.1994.20305.x.
- [38] B. C. Nwomeh, D. R. Yager e I. K. Cohen, «Physiology of the Chronic Wound,» *Clinics in Plastic Surgery*, vol. 25, págs. 341/356, 3 jul. de 1998, ISSN: 00941298. DOI: 10.1016/S0094/1298(20)32468/8.
- [39] S. Guo y L. DiPietro, «Factors Affecting Wound Healing,» *Journal of Dental Research*, vol. 89, págs. 219/229, 3 mar. de 2010, ISSN: 0022/0345. DOI: 10.1177/0022034509359125. dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2903966/>.
- [40] M. O. Kangal y J. Regan, *Wound Healing*. StatPearls Publishing, 2023.
- [41] I. N. del Cáncer, *Homeostasis*, 2023. dirección: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario/cancer/def/homeostasis>.
- [42] J. Reinke y H. Sorg, «Wound Repair and Regeneration,» *European Surgical Research*, vol. 49, págs. 35/43, 1 2012, ISSN: 0014/312X. DOI: 10.1159/000339613.
- [43] S. Enoch y D. J. Leaper, «Basic science of wound healing,» *Surgery (Oxford)*, vol. 26, págs. 31/37, 2 feb. de 2008, ISSN: 02639319. DOI: 10.1016/j.mpsur.2007.11.005.
- [44] L. Braiman/Wiksmán, I. Solomonik, R. Spira y T. Tennenbaum, «Novel Insights into Wound Healing Sequence of Events,» *Toxicologic Pathology*, vol. 35, págs. 767/779, 6 oct. de 2007, ISSN: 0192/6233. DOI: 10.1080/01926230701584189.

- [45] G. Hosgood, «Stages of Wound Healing and Their Clinical Relevance,» *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, vol. 36, págs. 667/685, 4 jul. de 2006, ISSN: 01955616. DOI: 10.1016/j.cvsm.2006.02.006.
- [46] N. X. Landén, D. Li y M. Ståhle, «Transition from inflammation to proliferation: a critical step during wound healing,» *Cellular and Molecular Life Sciences*, vol. 73, págs. 3861/3885, 20 oct. de 2016, ISSN: 1420/682X. DOI: 10.1007/s00018/016/2268/0.
- [47] D. Harper, A. Young y C. McNaught, «The physiology of wound healing,» *Surgery (Oxford)*, vol. 32, págs. 445/450, 9 sep. de 2014, ISSN: 02639319. DOI: 10.1016/j.mpsur.2014.06.010.
- [48] W. evolution, *The Four Stages of Wound Healing*. dirección: <https://www.woundevolution.com/blog/the/four/stages/of/wound/healing/>.
- [49] M. O. Wynn, «The impact of infection on the four stages of acute wound healing : an overview,» *Wounds UK*, vol. 17, págs. 26/32, 2 2021, ISSN: 1746/6814.
- [50] J. Delgado, «Valoración, Identificación y Evaluación de las Heridas Crónicas. Manejo del apósito adecuado.,» *Revista Ene de Enfermería*, vol. 7, 2 2013. dirección: <http://ene/enfermeria.org/ojs/index.php/ENE/article/view/311>.
- [51] J. E. Grey, S. Enoch y K. G. Harding, «Wound assessment,» *BMJ*, vol. 332, págs. 285/288, 7536 feb. de 2006, ISSN: 0959/8138. DOI: 10.1136/bmj.332.7536.285.
- [52] S. Nagle, K. Stevens y S. Wilbraham, *Wound Assessment*, jun. de 2023. dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482198/>.
- [53] K. Youssef, A. Ullah, P. Rezai, A. Hasan y A. Amirfazli, «Recent advances in biosensors for real time monitoring of pH, temperature, and oxygen in chronic wounds,» *Materials Today Bio*, vol. 22, pág. 100 764, oct. de 2023, ISSN: 25900064. DOI: 10.1016/j.mtbio.2023.100764.
- [54] K. S. Chan y Z. J. Lo, «Wound assessment, imaging and monitoring systems in diabetic foot ulcers: A systematic review,» *International Wound Journal*, vol. 17, págs. 1909/1923, 6 dic. de 2020, ISSN: 1742/4801. DOI: 10.1111/iwj.13481.
- [55] O. Simoska, J. Duay y K. J. Stevenson, «Electrochemical Detection of Multianalyte Biomarkers in Wound Healing Efficacy,» *ACS Sensors*, vol. 5, págs. 3547/3557, 11 nov. de 2020, ISSN: 2379/3694. DOI: 10.1021/acssensors.0c01697.
- [56] Electricity/magnetism, *¿Que es la impedancia?* Dirección: <https://www.electricity/magnetism.org/es/que/es/la/impedancia/>.
- [57] D. D. Traficante, «Impedance: What it is, and why it must be matched,» *Concepts in Magnetic Resonance*, vol. 1, págs. 73/92, 2 oct. de 1989, ISSN: 1043/7347. DOI: 10.1002/cmr.1820010205.

- [58] U. P. Morales, Á. M. Camargo y J. J. O. Flórez, «Impedancia Electroquímica/Interpretación de diagramas típicos con circuitos equivalentes,» *Dyna*, vol. 77, págs. 69/75, 164 2010. dirección: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0012/73532010000400008&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0012/73532010000400008&script=sci_arttext).
- [59] N. Sato, *Electrochemistry at metal and semiconductor electrodes*. Elsevier, 1998.
- [60] B. Chang y S. Park, «Electrochemical Impedance Spectroscopy,» *Annual Review of Analytical Chemistry*, vol. 3, págs. 207/229, 1 jun. de 2010, ISSN: 1936/1327. DOI: 10.1146/annurev.anchem.012809.102211.
- [61] C. Lefrou, P. Fabry y J. Poignet, *Electrochemistry: the basics, with examples*. Springer Science & Business Media, 2012.
- [62] W. R. Browne, *Electrochemistry*. Oxford University Press, 2018.
- [63] D. R. Merrill, «The Electrochemistry of Charge Injection at the Electrode/Tissue Interface,» en 2010, págs. 85/138. DOI: 10.1007/978/0/387/98120/8\_4.
- [64] U. E. N. de Minas (Colombia), E. U. N. de Colombia. Sede de Medellín. Facultad Nacional de Minas. y C. O. OTÁLORA, *Dyna*. 2006, Revista DYNA, 2010, vol. 77, págs. 13/19. dirección: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0012/73532010000200002&lng=en&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0012/73532010000200002&lng=en&nrm=iso&tlng=es).
- [65] D. D. Macdonald, «Reflections on the history of electrochemical impedance spectroscopy,» *Electrochimica Acta*, vol. 51, págs. 1376/1388, 8/9 ene. de 2006, ISSN: 00134686. DOI: 10.1016/j.electacta.2005.02.107.
- [66] A. C. Lazanas y M. I. Prodromidis, «Electrochemical Impedance Spectroscopy: A Tutorial,» *ACS Measurement Science Au*, vol. 3, págs. 162/193, 3 jun. de 2023, ISSN: 2694/250X. DOI: 10.1021/acsmeasuresciau.2c00070.
- [67] S. Wang, J. Zhang, O. Gharbi, V. Vivier, M. Gao y M. E. Orazem, «Electrochemical impedance spectroscopy,» *Nature Reviews Methods Primers*, vol. 1, pág. 41, 1 jun. de 2021, ISSN: 2662/8449. DOI: 10.1038/s43586/021/00039/w.
- [68] J. Terry, «The major electrolytes: sodium, potassium, and chloride,» *Journal of Infusion Nursing*, vol. 17, págs. 240/247, 5 1994.
- [69] J. A. Tuszynski, «The Bioelectric Circuitry of the Cell,» en Springer International Publishing, 2019, págs. 195/208. DOI: 10.1007/978/3/030/21293/3\_11.
- [70] O. G. Martinsen y A. Heiskanen, *Bioimpedance and bioelectricity basics*. Elsevier, 2023.
- [71] P. Vincent, *El cuerpo humano*. Reverte, 1980.
- [72] M. E. Diessler, J. E. Falcón y C. G. Barbeito, «Tejido epitelial,» *Libros de Cátedra*, 2022.
- [73] P. Kamrani, G. Marston y A. Jan, «Anatomy, connective tissue,» 2019.

- [74] C. G. Barbeito, J. E. Falcón, V. Magallanes y M. E. Diessler, «Tejido nervioso y sistema nervioso,» *Libros de Cátedra*, 2022.
- [75] H. Tagliaferri, *Tipos de tejido muscular*, 2019.
- [76] T. Instruments, *SN74LS151 data selectors/multiplexers*, Datasheet, 2024.
- [77] Texas Instruments Incorporated, *CD4051B, CD4052B, CD4053B CMOS Analog Multiplexers/Demultiplexers with Logic Level Conversion*, Data sheet, oct. de 2003. dirección: <https://www.ti.com/lit/ds/symlink/cd4051b.pdf>.
- [78] Lic. José Marcos Ricsi, *Circuitos AC*, Documento técnico sobre principios y parámetros de circuitos de corriente alterna, Departamento de Electricidad, I.E. Industrial N<sup>o</sup> 32, 2013. dirección: </mnt/data/circuitos-ac.pdf>.
- [79] Cytion, *Solución salina tamponada con fosfato (PBS)*, Accedido: 2024-11-12, 2024. dirección: <https://www.cytion.com/es/PBS/860015>.
- [80] H. Company, *¿Qué es la conductividad?* Documento técnico sobre conductividad electrolítica y sus principios, 2024. dirección: </mnt/data/Que-s-la-conductividad-Final.pdf>.
- [81] Electricity and Magnetism. «¿Cómo afecta la temperatura a la resistencia eléctrica?» Accessed: 2024-11-11. (2024), dirección: <https://www.electricity-magnetism.org/es/como-afecta-la-temperatura-a-la-resistencia-electrica/>.
- [82] Bioted, *Difusión y Ósmosis*, Documento técnico para experimentos de difusión y ósmosis en educación, 2024. dirección: </mnt/data/DIFUSION-OSMOSIS.pdf>.
- [83] J. Rosell, J. Colominas, P. Riu, R. Pallas-Areny y J. Webster, «Skin impedance from 1 Hz to 1 MHz,» *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. 35, págs. 649-651, 8 1988, ISSN: 00189294. DOI: 10.1109/10.4599.
- [84] S. Revista, M. De, A. Lizarde y M. Guerrero, *ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN ORIGINAL*, 2007. dirección: [www.medigraphic.com](http://www.medigraphic.com).