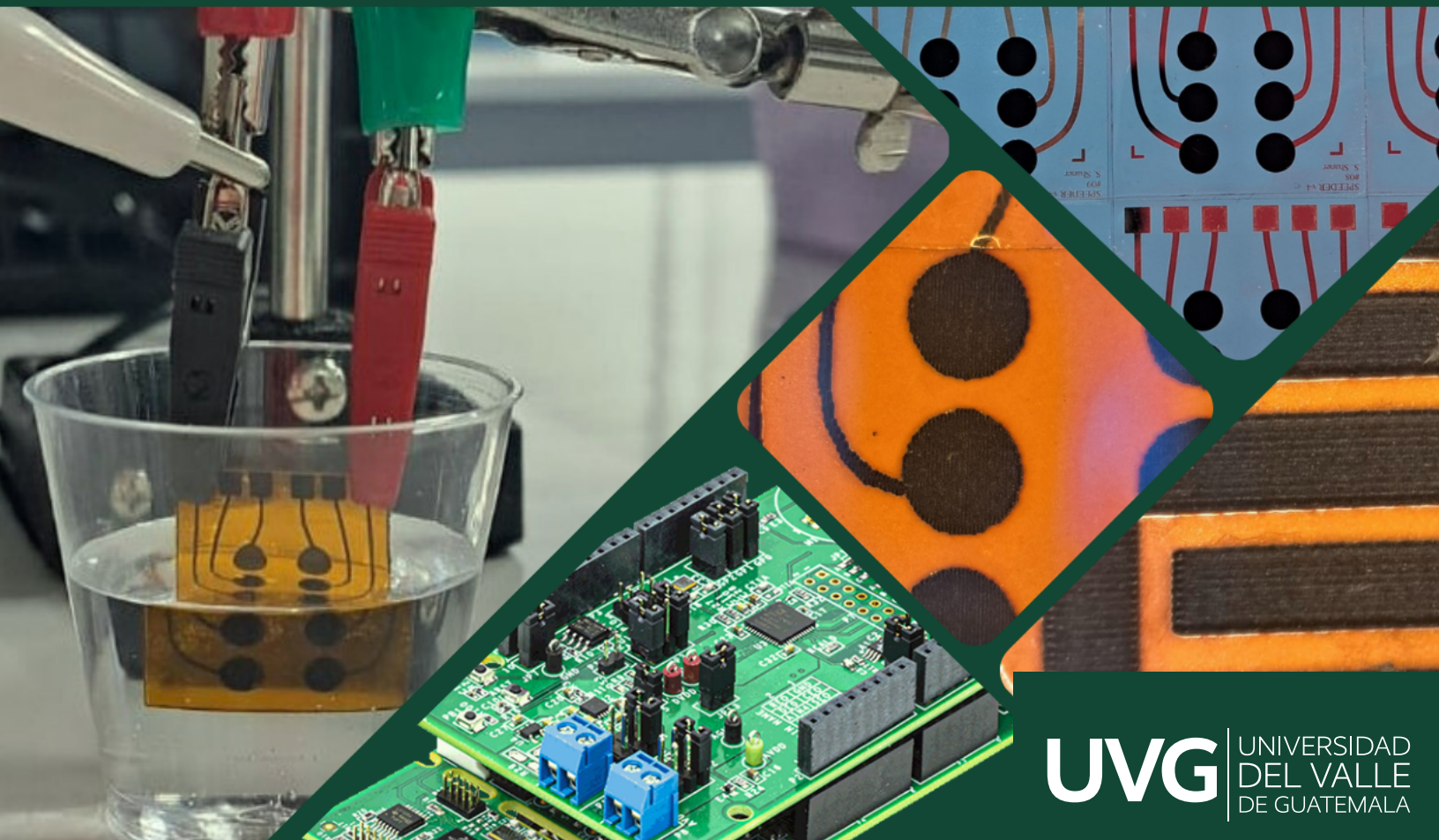

Diseño y fabricación de electrodos de grafeno inducido por láser (LIG) para el monitoreo de hidratación en orina, basado en la espectroscopia de impedancia electroquímica

Ingebor Ayleen Rubio Vasquez



UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería



Diseño y fabricación de electrodos de grafeno inducido por láser (LIG) para el monitoreo de hidratación en orina, basado en la espectroscopia de impedancia electroquímica

Trabajo de graduación presentado por Ingebor Ayleen Rubio Vasquez para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Biomédica

Guatemala,

2024

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA
Facultad de Ingeniería




Diseño y fabricación de electrodos de grafeno inducido por láser (LIG) para el monitoreo de hidratación en orina, basado en la espectroscopia de impedancia electroquímica

Trabajo de graduación presentado por Ingebor Ayleen Rubio Vasquez para optar al grado académico de Licenciado en Ingeniería Biomédica


Guatemala,

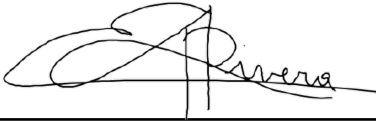
2024

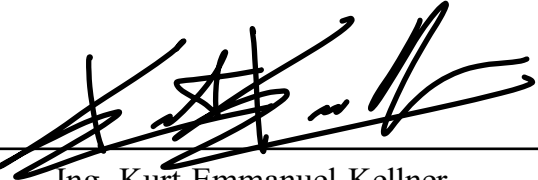
Vo.Bo.:

(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.

Estudiar Ingeniería Biomédica, si bien no estaba en mis planes iniciales, me ha dado una oportunidad única de combinar mi pasión por la ingeniería con el deseo de impactar de manera positiva en el ámbito de la salud para mejorar la vida de las personas a través de la tecnología y la programación. Esta investigación es el resultado de estos intereses, de mucha dedicación, ilusión y muchísimo esfuerzo, no solo mío, también de mi familia y personas cercanas.

Quiero agradecer a mis padres, porque sin ustedes esto jamás hubiera sido posible. Gracias por darme esta increíble oportunidad y esforzarse para que yo pudiera estudiar en una universidad de prestigio, gracias por su apoyo incondicional a lo largo de los años, por su comprensión, motivación, respaldo y por siempre recibirme con mucho amor cada vez que regresaba a casa de visita, esto es por y para ustedes. Gracias a mi hermano, por ser un gran ejemplo a seguir, por enseñarme tantas cosas de la vida y también académicas, gracias por estar en todo momento para mí y siempre estar dispuesto a acompañarme en algún plan repentino para conocer un nuevo lugar o hacer de algo tan simple como ir de compras algo muy divertido, gracias también por estar pendiente de mí a pesar de estar lejos. Gracias a mis abuelos y abuelas por haberme apoyado y alentado a seguir adelante. Gracias por estar pendientes y celebrando mis logros y motivándome en momentos difíciles y gracias por siempre recibirme con comida caliente en casa. A mis amigos les quiero agradecer por compartir tantos momentos de alegría, estrés, penas y muchas risas, ustedes hicieron que esta experiencia fuera más sencilla y divertida.

Un agradecimiento especial a mi asesor de tesis Dr. e Ing. José Leal, quien fue una gran guía para todo el proceso de realizar este trabajo. Gracias por resolver siempre mis dudas y ayudarme a encontrar una solución a todo lo que fue surgiendo. Gracias también a Ph. D. Vanessa Jungbluth, por su guía durante mi proceso de redacción de todo este documento, gracias por siempre dedicar tanto tiempo y por todos sus comentarios y correcciones. Quiero agradecerle al Dr. Luis Rivera por su apoyo en el proceso de inicio de esta tesis y también con todo el tema relacionado a machine learning. Al departamento de Ingeniería Electrónica, Mecatrónica y Biomédica y a todo el personal, por siempre apoyarnos a tener todos nuestros materiales y darnos espacios de trabajo.

Gracias al departamento de Bioquímica y Microbiología por brindarme espacios para

realizar la parte experimental de esta investigación y especialmente al Lic. Andrés Say, por su apoyo, supervisión y guía en lo relacionado al trabajo de laboratorio. También quiero extender un agradecimiento a mis profesores de la Universidad del Valle por todo lo que me enseñaron, ya que gracias a esos conocimientos he llegado hasta donde estoy y me he forjado como la profesional que de pequeña soñé. Por último, especial gracias a los profesores de quienes fui auxiliar, gracias por brindarme la oportunidad y confianza de trabajar a su lado y permitirme ganar experiencia en el mundo laboral y en la enseñanza.

Prefacio	IV
Índice	V
Lista de figuras	VII
Lista de cuadros	IX
Resumen	X
Abstract	XI
1 Introducción	1
2 Antecedentes	2
3 Justificación	4
4 Objetivos	6
4.1 Objetivo general	6
4.2 Objetivos específicos	6
5 Alcance	7
6 Marco teórico	8
6.1 Hidratación	8
6.1.1 Definición	8

6.1.2	Efectos de la deshidratación en la salud	9
6.1.3	Métodos de medición de niveles de hidratación	11
6.2	Electrodos	12
6.2.1	Interfaz electrodo-electrolito	13
6.2.2	Medición de impedancia	14
6.2.3	Tipos de transferencia de carga	14
6.3	Espectroscopía de impedancia electroquímica	14
6.3.1	Principios de la EIS	15
6.4	<i>Laser Induced Graphene (LIG)</i>	16
6.4.1	Propiedades del LIG	17
6.4.2	Usos del LIG	17
6.5	<i>Machine learning</i>	18
6.5.1	Definición	18
6.5.2	Enfoques	18
6.5.3	Aplicaciones prácticas	19
7	Metodología	20
7.1	Diseño y fabricación de electrodos	20
7.1.1	Diseño en Autodesk Inventor	20
7.1.2	Grabado de electrodos inducido por láser	22
7.2	Pruebas preliminares	23
7.2.1	Preparación de diluciones seriales	23
7.2.2	Equipo de <i>hardware</i> y <i>software</i>	23
7.2.3	Mediciones de EIS en soluciones de PBS	25
7.3	Validación de electrodos	27
7.4	<i>Machine learning</i>	28
7.4.1	Recolección de datos	28
7.4.2	Creación de modelo de <i>machine learning</i>	29
7.4.3	Verificación del funcionamiento del modelo	30
8	Resultados	31
8.1	Fabricación de electrodos inducidos por láser	31
8.1.1	Grabado y aislamiento de electrodos	31
8.2	Pruebas preliminares	32
8.2.1	Mediciones de EIS en diluciones seriales de PBS	32
8.3	Validación de electrodos	40
8.4	<i>Machine Learning</i>	42
8.4.1	Creación del modelo de <i>machine learning</i>	42
8.4.2	Verificación del funcionamiento del modelo de <i>machine learning</i>	44
9	Discusión	45
10	Conclusiones	48
11	Recomendaciones	49
12	Bibliografía	51

Figura 1. Comparación del umbral osmótico para la liberación de vasopresina y la estimulación del reflejo de sed.	9
Figura 2. Niveles urinarios y plasmáticos de sodio, potasio, urea y osmolaridad en distintos regímenes de hidratación.	12
Figura 3. Circuito equivalente de Randles simple para una célula electroquímica. . .	13
Figura 4. Pasos para realizar una medición de espectroscopía de impedancia electroquímica.	15
Figura 5. Aplicaciones típicas de materiales a base de grafeno inducidos por láser. .	17
Figura 6. Categorías de algoritmos de machine learning según la naturaleza de los datos de entrenamiento.	19
Figura 7. Esquema de un par de electrodos planares interdigitados.	21
Figura 8. Diseños de electrodos propuestos por el estudiante y electrodo de comparación.	21
Figura 9. Pasos de la estructuración láser de electrodos de grafeno inducido por láser (LIG).	22
Figura 10. Aislamiento de electrodos utilizando cinta Kapton.	23
Figura 11. Kit de evaluación EVAL-AD5940ELCZ.	24
Figura 12. Representación de señales e interpretación gráfica en espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS).	25
Figura 13. Sistema de medición de espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS).	26
Figura 14. Sistema de numeración.	27
Figura 15. Resultados de electrodos inducidos por láser y su aislamiento.	32

Figura 17. Promedio de magnitud de impedancia $ Z $ en función de la frecuencia para electrodos A en soluciones con distintas concentraciones de PBS.	33
Figura 18. Promedio de magnitud de impedancia $ Z $ en función de la frecuencia para electrodos B en soluciones con distintas concentraciones de PBS.	34
Figura 19. Promedio de magnitud de impedancia $ Z $ en función de la frecuencia para electrodos C en soluciones con distintas concentraciones de PBS.	35
Figura 20. Impedancia promedio $ Z $ respecto a frecuencia para electrodos en distintas concentraciones de PBS.	37
Figura 21. Diagramas de caja y bigotes de magnitud de impedancia $ Z $ para electrodos en distintas concentraciones de PBS.	39
Figura 23. Curva de calibración del electrodo LIGE A04.	40
Figura 24. Curva de calibración del electrodo de óxido de iridio.	41
Figura 25. Curva de calibración del electrodo LIGE Z01.	42
Figura 26. Diagrama de respuesta de modelo de regresión exponencial de procesos gaussianos.	43
Figura 27. Diagrama de respuesta de modelo Matern 5/2 de Regresión de Procesos Gaussianos.	44

Lista de cuadros

Cuadro 1.	Signos de deshidratación en niños	10
Cuadro 2.	Parámetros de electrodos	21
Cuadro 3.	Parámetros utilizados en la cortadora láser para grabar los electrodos	22
Cuadro 4.	Configuración EVAL-ADICUP3029	24
Cuadro 5.	Configuración EVAL-AD5940ELCZ	24
Cuadro 6.	Descripción de la conexión de pinzas cocodrilo	24
Cuadro 7.	Configuración de parámetros de impedancia SensorPal	25
Cuadro 8.	Concentraciones de PBS para curva de calibración	28
Cuadro 9.	Soluciones para toma de datos de machine learning en PBS con NaCl agregado	28
Cuadro 10.	Soluciones para toma de datos de machine learning en orina artificial con NaCl agregado	29

La deshidratación se define como la deficiencia de agua corporal cuando la eliminación de líquidos supera la ingesta, lo que provoca una disminución en el proceso cognitivo y rendimiento físico, resultados de salud negativos como fatiga, infecciones y dolor de cabeza. Anualmente, se tiene un alto número de admisiones hospitalarias relacionadas a problemas de hidratación y el hecho de contar con un estado de deshidratación al ser ingresado por cualquier tipo de afección aumenta la morbilidad y mortalidad afectando el curso de la enfermedad y provocando estadías más largas. Por estas razones, el monitoreo de la hidratación es importante para personas de todas las edades, sin embargo, se hace más importante al envejecer ya que la sensación de sed, que usualmente es la razón principal por la que se consume agua, va disminuyendo.

En este trabajo de investigación se diseñó y fabricó un electrodo de grafeno inducido por láser (LIG) para el monitoreo de hidratación en orina sintética, basado en la espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS). Para esto, se utilizó el kit de evaluación EVAL-AD5940ELCZ, realizando el monitoreo de la magnitud de la impedancia correspondiente al nivel de concentración de cloruro de sodio agregado en soluciones de PBS y orina artificial. El electrodo se empleó para realizar mediciones de diferentes concentraciones de NaCl en las soluciones, y se usaron algoritmos de *machine learning* para interpretar los datos obtenidos y crear un modelo capaz de estimar la concentración de NaCl añadido. De esta manera, se obtuvo una raíz de error cuadrático medio (RMSE) de 0.035 para el modelo realizado con soluciones de PBS y 0.20 para el modelo basado en orina artificial, además de un coeficiente de determinación (R^2) de 0.98 y 0.63, respectivamente.

Dehydration is defined as body water deficiency when fluid elimination exceeds intake, which causes a decrease in cognitive process and physical performance, negative health outcomes such as fatigue, infections and headache. A high number of hospital admissions related to hydration problems occur annually, and having a state of dehydration when admitted for any type of condition increases morbidity and mortality, affecting the course of the disease and causing longer hospital stays. For these reasons, hydration monitoring is important for people of all ages, however, it becomes more important as we age since the sensation of thirst, which is usually the main reason for consuming water, decreases.

In this research work, a laser-induced graphene electrode (LIG) was designed and fabricated for hydration monitoring in synthetic urine, based on electrochemical impedance spectroscopy (EIS). For this, the EVAL-AD5940ELCZ evaluation kit was used, monitoring the impedance magnitude corresponding to the level of sodium chloride concentration added in PBS and artificial urine solutions. The electrode was used to perform measurements of different NaCl concentrations in the solutions, and machine learning algorithms were used to interpret the data obtained and create a model capable of estimating the concentration of added NaCl.

La deshidratación es una condición que puede afectar a personas de todas las edades, géneros y estratos sociales. Provoca una disminución en el rendimiento físico e intelectual, y se manifiesta con síntomas como infecciones, fragilidad, confusión, mareos, fatiga o, en casos graves, delirio, coma y muerte. En Guatemala, esta condición afecta principalmente a personas que trabajan en la agroindustria, quienes se ven obligadas a laborar en condiciones exigentes. Esto incrementa el consumo de bebidas energizantes, gaseosas y medicamentos para reducir la sensación de fatiga. El consumo frecuente de estas bebidas favorece la deshidratación, mientras que los medicamentos enmascaran sus síntomas, lo que provoca que un alto porcentaje de esta población desarrolle problemas renales a edades tempranas.

En este trabajo de investigación se diseñó y fabricó un electrodo de grafeno inducido por láser (LIG) con el objetivo de monitorear la hidratación en orina artificial mediante espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS). Para ello, se calibró el sistema de medición usando diferentes soluciones de PBS y orina artificial con concentraciones variables de NaCl añadido, y se entrenó un modelo de *machine learning* encargado de interpretar los datos y estimar la concentración de NaCl en la solución.

En los capítulos 1 y 2 se presentan los antecedentes más relevantes sobre la importancia de la hidratación y los métodos actuales para su monitoreo, así como la justificación para desarrollar herramientas más accesibles y el uso de la EIS. Posteriormente, en el capítulo 3, se exponen los objetivos generales y específicos del proyecto, seguidos por su delimitación en el capítulo 4. Luego, en el capítulo 5, se describe la metodología empleada para el desarrollo de la investigación, seguida de los resultados obtenidos en el capítulo 6 y su respectiva discusión en el capítulo 7. Por último, se presentan las conclusiones (capítulo 8) y recomendaciones (capítulo 9) para trabajos futuros.

La deshidratación se define como la deficiencia de agua corporal cuando la eliminación de líquidos supera la ingesta, clasificándose como deshidratación leve si se tiene una pérdida del 1-2%, deshidratación moderada si es de 2-5% y deshidratación grave si la pérdida de agua corporal supera el 5%. Los efectos de la deshidratación son visibles a partir de una pérdida del 2%, en la cual se observa una disminución del 20% en el rendimiento físico, así como un bajo rendimiento en actividades que necesitan concentración, psicomotoras y de memoria inmediata [1].

La deshidratación severa provoca una disminución en las funciones generales del cuerpo, así como en la actividad cerebral, el proceso cognitivo, el flujo adecuado de sangre a ciertas áreas del cerebro y provoca resultados de salud negativos como delirio, coma y muerte [1], además de caídas, estreñimiento, infecciones [2], problemas de equilibrio, fatiga y dolor de cabeza [3]. Además de tener efectos físicos, la deshidratación también puede afectar a nivel hormonal, produciendo hormonas de estrés como el cortisol, lo cual se encuentra relacionado con un decremento en la actividad cognitiva [1], [4].

Los grupos más vulnerables a la deshidratación incluyen a niños, personas de la tercera edad, mujeres embarazadas y ciertos atletas; sin embargo, también puede afectar a adultos jóvenes con buena salud y en condiciones no extremas [1], por lo que es importante conocer cómo prevenirla y, de ser necesario, detectarla a tiempo para tratarla.

Entre los marcadores de hidratación se encuentran el control del peso, índices hematológicos, índices urinarios, análisis de impedancia bioeléctrica e índices cardiovasculares. El cambio de peso ha sido utilizado como un índice para medir la hidratación debido a su relación con el sudor y la orina excretados; sin embargo, este cambio puede estar influido por la defecación y el consumo de alimentos y bebidas [5].

Los índices hematológicos utilizados son la concentración de hemoglobina, hematocritos, los niveles de osmolalidad plasmática y la concentración de sodio. Además, estos indicadores son las señales más importantes para estimular la principal hormona reguladora de líquidos, la arginina vasopresina (AVP) plasmática [5].

Los índices urinarios son ampliamente usados debido a su simplicidad en recolección y análisis; para estos estudios se miden la osmolaridad y la gravedad específica, dado que un alto nivel de la hormona AVP está relacionado con un aumento en ambos índices [5]. También se ha estudiado el color de la orina, el cual ha demostrado correlación con índices de plasma y orina, utilizando una escala de ocho colores introducida por Armstrong et al. en 1994 [6]. Sin embargo, el color puede verse afectado por medicamentos, algunos alimentos, suplementos vitamínicos, enfermedades y ejercicio [6]. En un estudio posterior se determinó que el color es capaz de medir los niveles de hidratación tan bien como la osmolalidad, gravedad específica y volumen de la orina, sodio plasmático y proteína plasmática total [7].

Otro método prometedor para el control de la hidratación es el análisis de impedancia bioeléctrica, una técnica no invasiva, rápida, precisa y práctica, aunque aún requiere investigación más profunda antes de ser utilizada para diagnóstico [5].

Una deshidratación mayor al 2% puede ser causa de una disminución del 20% en rendimiento físico, así como un bajo rendimiento en actividades que necesitan concentración, psicomotoras y de memoria inmediata. La deshidratación severa, que se da cuando la pérdida de agua corporal supera el 5%, provoca una disminución en las funciones generales del cuerpo, así como la actividad cerebral y el funcionamiento de ciertos neurotransmisores involucrados en el proceso cognitivo; además, puede llegar a disminuir el flujo adecuado de sangre a ciertas áreas del cerebro y provocar resultados de salud negativos como delirio, coma y muerte [1], estreñimiento, infecciones y fragilidad [8], mareos, confusión y fatiga [5]. También afecta a nivel hormonal, provocando que los niveles de estrés aumenten debido a la segregación de cortisol [1], [4].

La deshidratación puede afectar a personas de todas las edades, principalmente a niños, personas de la tercera edad, mujeres embarazadas e incluso atletas [1]. Los niños tienen un mayor riesgo de deshidratarse debido a que pueden perder una mayor cantidad de agua, y están más propensos a encontrarse en una situación en la que no tengan acceso a agua o no les sea proveída por su tutor o persona encargada [4]. Otra condición existente en infantes es la deshidratación hipernatrémica, la cual se atribuye a un bajo consumo de leche materna y también a la dificultad para detectar la deshidratación. Esto provoca altos niveles de mortalidad asociados a edemas cerebrales, hemorragia intracraneal, hidrocefalia y gangrena [9]. Además, según un estudio realizado por Levine et al., otra de las razones por las que un niño puede sufrir de deshidratación es debido a la diarrea [10].

En el caso de las personas de la tercera edad, se ha demostrado que a pesar de tener la necesidad física de consumir líquidos, no tienen una percepción igual de la sensación de sed como lo es para un adulto joven, lo cual los lleva a un menor consumo de líquidos y, por lo tanto, son más propensos a estar deshidratados [11]. También afectan factores como limitaciones físicas, mala accesibilidad y deterioros cognitivos [8]. Debido a esta mala ingesta de agua y también a la disminución del agua corporal total, la deshidratación es una condición bastante común en los adultos mayores, aumentando la mortalidad, morbilidad y discapacidad. Afecta de un 20% hasta un 30% de esta población, y, a pesar de esto,

usualmente es ignorada y no tratada, por lo que se tiene un alto número de admisiones hospitalarias, estimando un costo anual aproximado de \$5.5 billones [8]. Asimismo, contar con deshidratación al momento de ser admitido a un hospital está asociado con un aumento en la morbilidad y mortalidad, lo que puede afectar el curso de la enfermedad por la que hayan sido admitidos y también puede llegar a provocar que las estadias sean más largas [2].

Existen diferentes métodos para determinar si una persona está deshidratada, entre estos se encuentran el control de peso, el estudio de índices hematológicos, mediciones de presión arterial y pulso cardíaco, análisis de impedancia bioeléctrica y análisis de orina [5]. Los análisis de sangre y orina se encuentran entre los principales exámenes de rutina de la medicina moderna, ya que en ambos se puede encontrar bastante información fisiológica y patológica del cuerpo humano; sin embargo, obtener una muestra de orina es menos invasivo y representa un gasto médico menor [12].

Además de tener una fácil recolección, se pueden obtener diferentes muestras de orina continuamente sin afectar físicamente al paciente en comparación con la obtención de muestras de sangre. La orina almacena una mayor cantidad de información de las enfermedades y se pueden reflejar diversos cambios que ocurren en el cuerpo. También se puede realizar un monitoreo dinámico de enfermedades, obtener muestras en personas que no son aptas para la obtención de muestras de sangre, y las muestras son fáciles de almacenar, manejar y transportar, entre otros aspectos [12], por lo que utilizar este tipo de muestras es viable.

Entre otros métodos recientemente utilizados se encuentra la bioimpedancia eléctrica, método que se basa en la forma en que las células, tejidos o líquidos corporales se oponen al paso de una pequeña corriente eléctrica. Este tiene un bajo costo, es fácil de transportar y manejar, pero necesita de ecuaciones previamente definidas para poder realizar los cálculos de la composición corporal y es posible que los resultados del análisis en un paciente enfermo o con alguna condición muy específica no sean certeros o tengan variabilidad [13].

La espectroscopía de impedancia electroquímica utiliza un potencial de baja amplitud para obtener un valor de impedancia como resultado [14]. El uso de derivados de grafeno en este tipo de análisis ha incrementado a lo largo de los años debido a que ha demostrado tener diversas ventajas, así como su habilidad para proporcionar una alta conductividad con una tasa de transferencia de electrones heterogénea bastante notable [15], alta área superficial, alta transmitancia, alta biocompatibilidad y propiedades mecánicas y estabilidad química [16].

El grafeno inducido por láser tiene las ventajas de que no necesita temperaturas extremadamente altas ni químicos tóxicos para ser producido [16], siendo también fácil de fabricar, de bajo costo y contando con un patrón o forma que puede ser fácilmente personalizable utilizando herramientas de software [15]. Esta es una técnica que no es utilizada comercialmente en Guatemala, por lo que presenta una muy buena oportunidad de investigación y desarrollo para futuros estudios.

4.1. Objetivo general

Diseñar y fabricar un electrodo de grafeno inducido por láser (LIG) para el monitoreo de hidratación en orina, basado en la espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS).

4.2. Objetivos específicos

- Determinar los parámetros necesarios para diseñar y fabricar un electrodo capaz de medir EIS.
- Calibrar el sistema de medición utilizando diversas concentraciones de sodio en orina artificial y soluciones salinas.
- Validar el funcionamiento correcto del sensor por medio de algoritmos de *machine learning*.

El presente trabajo de investigación consiste en el diseño y fabricación de un método de monitoreo de hidratación en orina artificial, el cual se espera que sea preciso, de bajo costo y no invasivo en relación con los métodos existentes. Se utiliza el kit de evaluación EVAL-AD5940ELCZ para emplear la herramienta de espectroscopía de impedancia electroquímica, por medio de la cual se brinda un potencial de baja amplitud para estimular el sistema electroquímico (PBS u orina artificial) a diferentes frecuencias y obtener como resultado un diagrama de Bode que representa la magnitud de impedancia versus la fase.

Para el desarrollo del electrodo LIG, se realizan diferentes diseños y se evalúa su reproducibilidad al hacer pruebas de la consistencia en la impedancia promedio en soluciones con diferentes concentraciones de PBS por medio de gráficos de Bode, gráficos de barras y de caja y bigotes. A su vez, se hace una calibración utilizando una disolución serial para verificar que el diseño escogido sea capaz de detectar variaciones pequeñas en la concentración de una solución.

Por último, se utilizan soluciones de PBS y orina artificial con diferentes porcentajes de NaCl añadido para entrenar modelos de *machine learning* que sean capaces de interpretar los datos y predecir el porcentaje de NaCl añadido en una solución a partir de la información de frecuencia e impedancia obtenidos luego de realizar una EIS.

Con el desarrollo de estos modelos se espera implementar una herramienta de medición capaz de monitorear la concentración de NaCl en una solución de orina artificial y, en un futuro, relacionar este valor con un nivel de hidratación correspondiente.

6.1. Hidratación

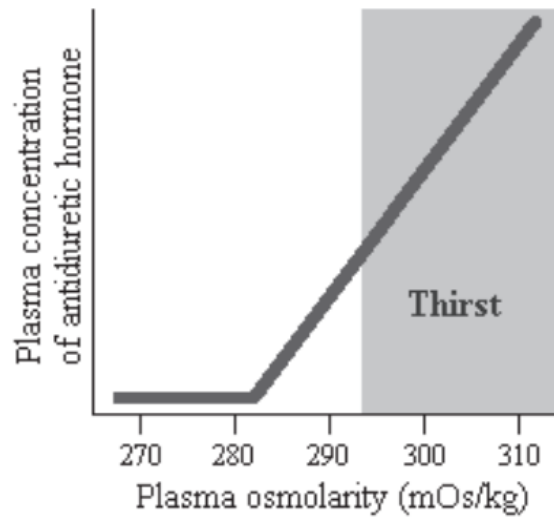
6.1.1. Definición

El agua cumple con diversos fines en el cuerpo humano: funciona como solvente, medio de reacción, reactivo; transporta nutrientes y productos de desecho; desempeña un papel importante en la termorregulación y también funciona como lubricante y amortiguador. Debido a estas razones, la regulación del agua debe ser bastante precisa y se busca que esta siempre se encuentre en un balance adecuado, para lo cual se necesita tanto su ingesta como su pérdida [17].

El acto de consumir agua puede estar relacionado tanto con una necesidad fisiológica, en la que se tiene una sensación de resequedad en la boca o en la garganta, como por hábitos o rituales. Sin embargo, la regulación de la sed es controlada por la presión osmótica y el volumen de los fluidos corporales, los cuales a su vez son regulados por los mecanismos que afectan la reabsorción de agua y solutos en los riñones y controlan la presión arterial central [4].

A pesar de las grandes variaciones en el consumo de agua y sal, los mecanismos homeostáticos mantienen un nivel normal de osmolaridad plasmática entre 275 y 290 mOsm/kg y un nivel normal de sodio entre 135 y 145 mEq/L [4]. Un aumento entre 1% y 2% de la osmolaridad plasmática es suficiente para provocar la sensación de sed (Figura 1).

Figura 1. Comparación del umbral osmótico para la liberación de vasopresina y la estimulación del reflejo de sed.



Nota: Adaptado de Danci et al., 2006 [4].

La necesidad de consumo de agua varía según diferentes factores, como el clima, la actividad física y la dieta; por esta razón, los requerimientos no se basan en la ingesta mínima, sino en los niveles necesarios para mantener un estado de nutrición adecuado [17].

Cuando la pérdida de agua supera la ingesta, ocurre una deficiencia de agua corporal que se define como deshidratación. Si esta pérdida se encuentra entre el 1 y el 2 %, se define como deshidratación leve; entre el 2 y el 5 %, como deshidratación moderada; y si es superior al 5 %, como deshidratación grave [1].

6.1.2. Efectos de la deshidratación en la salud

Una hidratación adecuada aumenta el rendimiento tanto en áreas físicas como mentales; además, mejora la percepción de bienestar y puede afectar los niveles de glicerol en el cuerpo, proporcionando una disponibilidad adecuada de glucosa en el sistema nervioso central, lo cual está relacionado con la mejora en el aprendizaje y la memoria [1]. Por el contrario, un estado de deshidratación puede afectar las capacidades cognitivas e interferir con un rendimiento adecuado en actividades que requieren esfuerzo mental. Dichos efectos negativos pueden ser perceptibles a partir de una pérdida del 2 % de agua corporal, llevando a una disminución del 20 % en el rendimiento físico, bajo rendimiento en actividades psicomotoras y tareas que necesitan concentración, al igual que actividades de memoria inmediata [1].

La deshidratación puede afectar a las personas a un nivel perceptible, como sentir cansancio, dolor de cabeza, estreñimiento [8], mareos y confusión [5]. De la misma manera, puede afectar a niveles difícilmente perceptibles al ojo humano, alterando la actividad cerebral, la actividad de neurotransmisores involucrados en el proceso cognitivo o provocando un flujo sanguíneo irregular en ciertas áreas del cerebro [1].

La producción de cortisol, una hormona del estrés, también se ve afectada por la deshidratación, de tal manera que mientras más hidratada esté una persona, se pueden observar menores niveles de cortisol, es decir, menores niveles de estrés [1], [4]. Un aumento en la osmolaridad plasmática y la activación de osmorreceptores y barorreceptores estimula la producción de vasopresina, la cual actúa en los riñones disminuyendo el volumen de orina y promoviendo la retención de agua; a su vez, su incremento se asocia a una mayor sensación de sed y, por consiguiente, a una mayor ingesta de líquidos [4].

El riesgo de sufrir deshidratación es mayor en niños, personas de la tercera edad, mujeres embarazadas, bebés y atletas [1]. Las personas de la tercera edad presentan un riesgo particular debido a cambios físicos relacionados con la edad, como la disminución de la sensibilidad a la sed, la reducción del agua total corporal, cambios en las funciones renales que provocan que los riñones tengan una menor capacidad para conservar el agua corporal e incluso miedo a la incontinencia [2]. Esto conlleva a caídas, constipación, infecciones y fragilidad; sin embargo, el aspecto más importante y en el que más afecta es que, al momento de que una persona de la tercera edad es ingresada a un hospital en estado de deshidratación, aumenta la morbilidad y mortalidad. Además, la deshidratación puede relacionarse con costos significativos para los sistemas sanitarios como consecuencia de estancias hospitalarias más largas y mayores tasas de reingreso [2].

Los niños pueden tener probabilidades más altas de estar deshidratados que los adultos debido a varias razones. Entre ellas se encuentra que su relación superficie-masa es mayor, por lo que se producen mayores pérdidas de agua a través de la piel. A su vez, los niños son más propensos a enfermedades que causan fiebre o diarrea, lo cual disminuye la cantidad de agua corporal y afecta el balance de electrolitos en el cuerpo [4]. Otra de las principales razones por las que los niños, especialmente los bebés, se encuentran en un mayor riesgo de deshidratación es que aún dependen de un tutor o encargado para que les proporcionen líquidos; sin embargo, estas personas no cuentan con una manera de saber si el bebé a su cuidado tiene sed o está debidamente hidratado, por lo que las posibilidades de no brindarles la cantidad adecuada de agua aumentan [4].

En niños se ha demostrado que una deshidratación leve puede provocar inquietud y un aumento del estado de alerta, mientras que una deshidratación de moderada a severa puede provocar mareos, letargo, agitación, irritabilidad, inquietud y confusión (Cuadro 1). También pueden verse afectados a nivel neurológico, sufriendo hipertonía, hiperreflexia, convulsiones, mielinolisis y hernias cerebrales [4]. En niños, una hipernatremia aguda, provocada por un bajo consumo de fluidos, puede causar una mortalidad de hasta 20 %, de los cuales un 60 % de los sobrevivientes podrían experimentar síntomas neurológicos como consecuencia [4].

Cuadro 1: Signos de deshidratación en niños

Grupo etario	Grado de deshidratación		
	Ninguno o leve	Moderado	Severo
Lactantes	Sediento, alerta, inquieto	Letárgico o somnoliento	Flojo, frío, extremidades cianóticas, puede estar comatoso
Niños mayores	Sediento, alerta, inquieto	Alerta, mareo postural	Aprensivo, frío, extremidades cianóticas, calambres musculares

Nota: Adaptado de [4].

6.1.3. Métodos de medición de niveles de hidratación

Existen diversos métodos para determinar el nivel de hidratación de una persona. Entre estos se encuentran el control de peso, la medición del espesor del pliegue cutáneo, el análisis de bioimpedancia eléctrica (BIA), pruebas de tolerancia ortostática, la medición de parámetros sanguíneos e índices urinarios, siendo estos últimos bastante comunes y eficientes debido a la simplicidad tanto en la recolección de la muestra como en su análisis [5].

Medir los niveles de hidratación por medio del control de peso suele hacerse en estudios de corta duración, es decir, de un par de horas. Este método se aplica cuando la persona ha estado expuesta a estrés por calor, con o sin ejercicio físico, y se asume que existe un cambio de un gramo en el peso por cada mililitro de sudor u orina excretados [5]. El análisis de bioimpedancia eléctrica tiene la ventaja de ser no invasivo, rápido, preciso y práctico para realizar mediciones del peso corporal total [5]. De igual manera, puede estimar el agua corporal total y la densidad corporal en personas bajo condiciones clínicas estandarizadas. Sin embargo, es un método que aún debe ser estudiado y perfeccionado para estimaciones en personas con niveles alterados de hidratación [18].

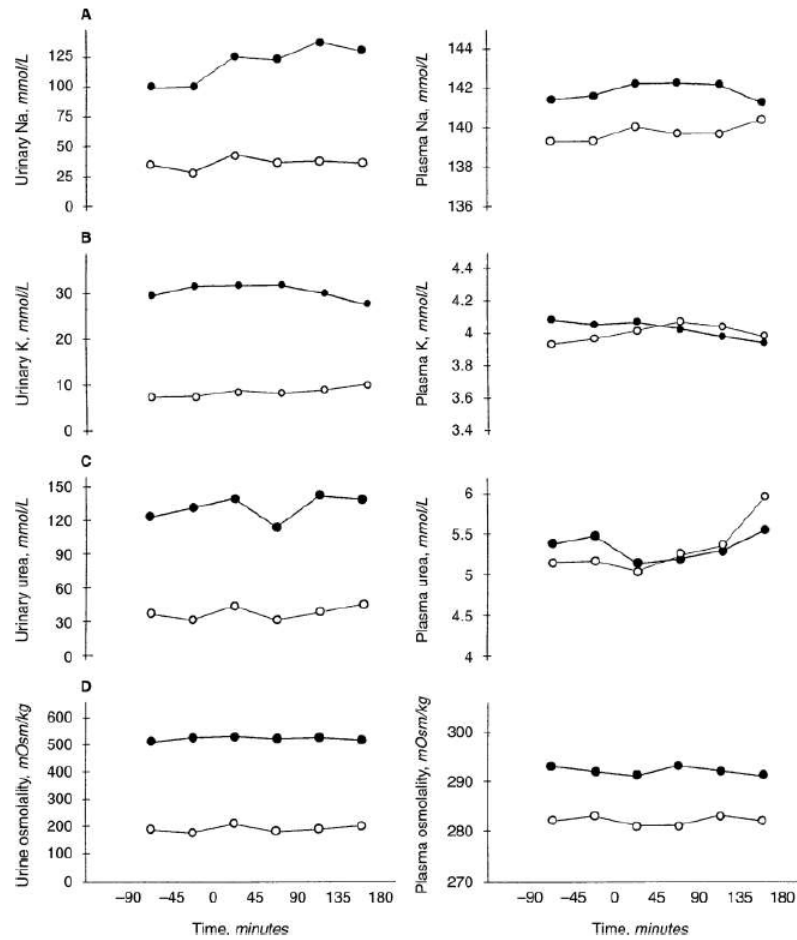
La deshidratación incrementa el ritmo cardíaco tanto en reposo como durante la realización de ejercicio submáximo. Además, induce intolerancia ortostática y provoca cambios en la presión arterial. Estos tres índices también pueden ser utilizados, aunque no brindan suficiente información por sí solos, por lo que se emplean como indicadores complementarios en estudios sobre hidratación [5].

En los estudios sanguíneos se pueden analizar los niveles de osmolaridad y sodio plasmáticos, los cuales aumentan significativamente, especialmente en casos de deshidratación hipertónica por ingesta insuficiente de líquidos. Estos dos indicadores también son los principales estímulos para la secreción de arginina vasopresina, la hormona reguladora de fluidos, la cual se incrementa de manera lineal con la deshidratación y el aumento de la osmolaridad plasmática [5].

La osmolaridad urinaria y la gravedad específica de la orina son comúnmente utilizadas debido a que brindan información certera sobre el estado de hidratación y son fáciles de medir. También se suele utilizar el color de la orina, ya que se ha demostrado que puede reflejar el nivel de hidratación con una precisión comparable a la osmolalidad, la gravedad específica, el volumen urinario, el sodio plasmático y la proteína plasmática total [7]. Para esto, se emplea una escala de ocho colores para determinar el nivel de hidratación o deshidratación. No obstante, es importante considerar que este resultado puede verse influido por alimentos, fármacos o enfermedades [6].

En la orina se pueden identificar diversos marcadores que podrían ser estudiados para evaluar su posible relación con el estado de hidratación, entre ellos el sodio, el potasio y la urea. Según un estudio publicado por Anastasio et al. [19], no se encontró una relación significativa entre los niveles de hidratación y el potasio urinario o la excreción de urea. Sin embargo, sí se observó una relación directa con la excreción urinaria de sodio (Figura 2).

Figura 2. Niveles urinarios y plasmáticos de sodio, potasio, urea y osmolaridad en distintos regímenes de hidratación.



Nota: A) Sodio (Na), B) Potasio (K), C) Urea, D) Osmolaridad, en 12 individuos en regímenes de baja hidratación (●) y alta hidratación (○). Adaptado de Anastasio et al., 2001 [19].

6.2. Electrodo

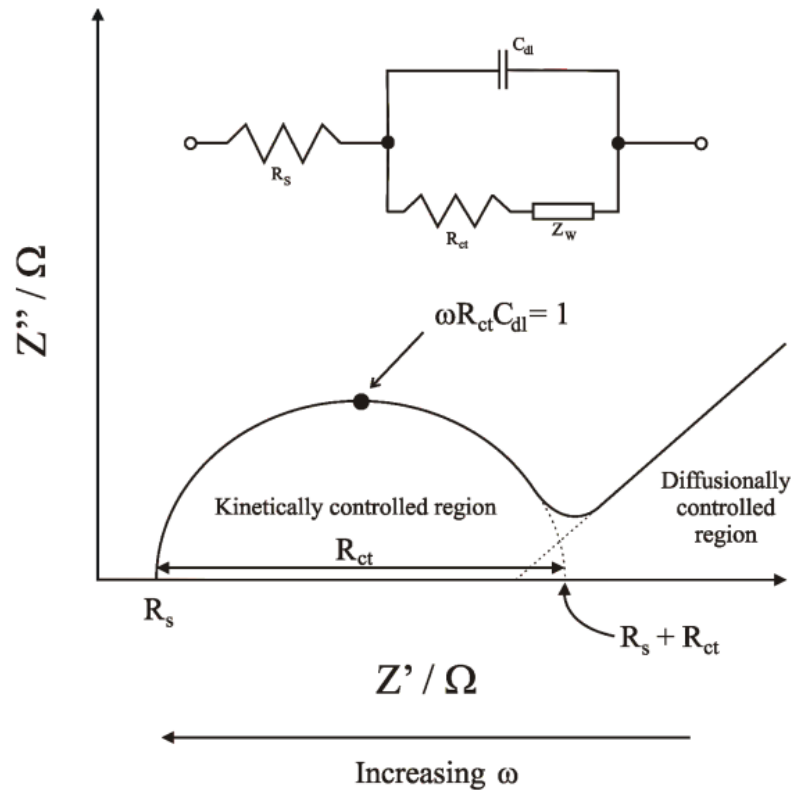
Un electrodo es un conductor eléctrico que transporta carga mediante el movimiento de electrones entre una fase metálica y otra no metálica. Entre los materiales más utilizados para su fabricación se encuentran metales sólidos, metales líquidos, carbón y semiconductores. Existen diversos tipos de electrodos: el electrodo de referencia posee un potencial fijo; el electrodo de trabajo mide los cambios generados por la reacción o medición que se esté llevando a cabo; y el electrodo auxiliar suministra la corriente necesaria para completar el circuito eléctrico [20].

6.2.1. Interfaz electrodo-electrolito

Se define una interfaz electrodo-electrolito cuando un metal se encuentra parcialmente sumergido en un electrolito, estableciendo así un potencial entre ambas fases [21]. La causa más común de esta diferencia de potencial es la separación de cargas debido a la transferencia de electrones a través de la interfaz, lo cual genera un intercambio de carga. Otras causas pueden ser la presencia de grupos tensioactivos en medios ionizables y la orientación de dipolos permanentes o inducidos [21].

Es posible simplificar una interfaz electrodo-electrolito mediante el uso de un circuito de Randles, que está conformado por una resistencia en paralelo y un capacitor en serie con otra resistencia (Figura 3). Este modelo se ha empleado en sistemas electroquímicos de almacenamiento de energía como baterías, celdas de combustible y supercapacitores. Además, ha sido utilizado para modelar interfaces electrodo-tejido en electroencefalografía y en la dinámica de barorreceptores [22].

Figura 3. Circuito equivalente de Randles simple para una célula electroquímica.



Nota: Adaptado de Randviir et al., 2013 [23].

6.2.2. Medición de impedancia

La espectroscopía de impedancia (IS) permite caracterizar las propiedades eléctricas de los materiales y sus interfaces con electrodos conductores eléctricos. Puede ser utilizada para investigar la dinámica de la carga ligada o móvil en la masa o en las regiones interfaciales de cualquier tipo de material, ya sea sólido o líquido. Existen tres tipos de estímulos eléctricos utilizados. En el primero se puede aplicar una función escalonada de voltaje en donde se mide la corriente eléctrica resultante y la impedancia provocada por dicha perturbación en la interfaz electroquímica. Usualmente, la impedancia medida en este caso se refiere a una impedancia dependiente de la frecuencia [24].

El segundo tipo es una señal de voltaje aleatoria compuesta de ruido blanco que se aplica en la interfaz para medir la corriente resultante; en este caso se realiza una transformada de Fourier de los resultados para pasar al dominio de la frecuencia y obtener una impedancia. Por último, la forma más común es medir impedancia aplicando una corriente de frecuencia única a la interfaz, midiendo el desplazamiento de fase y amplitud de la corriente resultante a dicha frecuencia por medio de un circuito analógico o un análisis rápido de Fourier de la respuesta [24].

6.2.3. Tipos de transferencia de carga

En los electrodos ocurren dos tipos de transferencia de carga: farádica y no farádica. En la transferencia de carga farádica, los electrones son transferidos a través de una interfaz metal-solución y ocurre una reacción de oxidación o reducción, en donde la cantidad de reacción química ocurrida debido al flujo de corriente es proporcional a la cantidad de electricidad que ha pasado a través del electrodo. En la transferencia de carga no farádica no ocurren reacciones químicas; sin embargo, pueden darse procesos como adsorción o desorción y, a pesar de que la carga no atraviese la interfaz, existe la posibilidad de que corrientes externas fluyan al haber cambios en el potencial, el área del electrodo o en la composición de la solución [20].

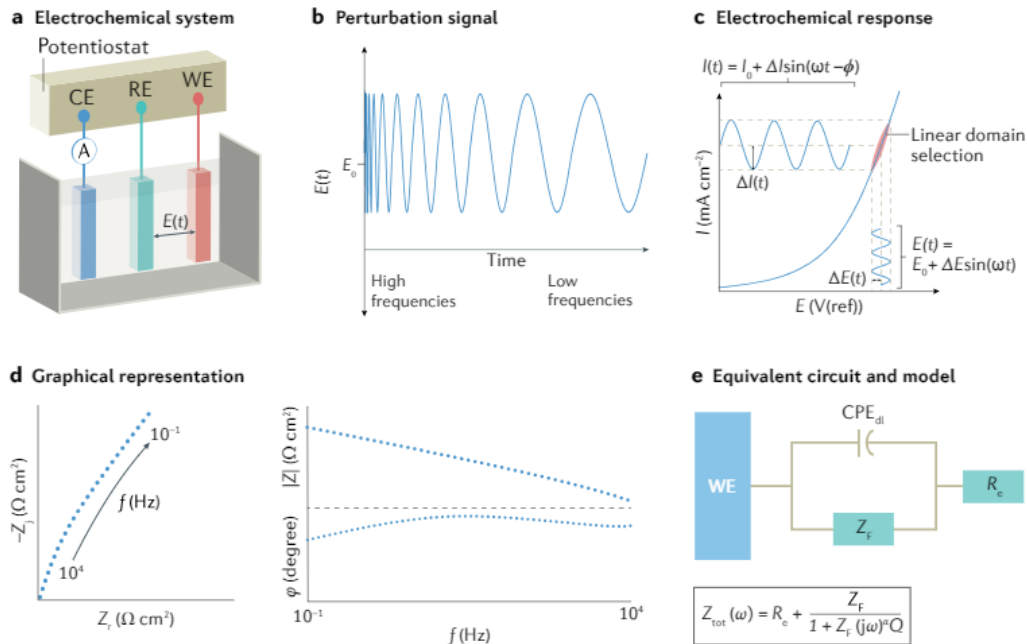
6.3. Espectroscopía de impedancia electroquímica

La espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) es una disciplina desarrollada para estudiar las reacciones electroquímicas. Esta técnica permite el estudio de mecanismos dependientes del tiempo basados en la respuesta, ya sea de corriente o de potencial, del sistema electroquímico recolectado a frecuencias previamente seleccionadas. Además, es capaz de realizar mediciones a diferentes potenciales. Esta técnica permite comprender los mecanismos electroquímicos que se producen en una interfaz electrificada en una sola medición. Dichos mecanismos pueden estar relacionados con baterías comerciales, corrosión de metales y biosensores electroquímicos. Gracias a la EIS también ha sido posible comprender la adsorción intermedia en las superficies de los electrodos [14].

6.3.1. Principios de la EIS

La EIS se utiliza habitualmente en el análisis de sistemas lineales invariantes en el tiempo, donde se emplea un sistema electroquímico conformado por tres electrodos (Figura 4a) y se obtiene como resultado una función de transferencia. Para realizar las mediciones, se utiliza un potencial de baja amplitud o una perturbación periódica de corriente para estimular el sistema electroquímico a diferentes frecuencias (Figura 4b). Luego, es posible medir la respuesta electroquímica (Figura 4c). La función de transferencia obtenida es equivalente a la impedancia del sistema en caso de trabajar con una celda electroquímica [14], la cual se representa en un diagrama de Bode y Nyquist (Figura 4d). Este tipo de sistemas puede ser representado por un circuito equivalente mostrado en la Figura 4e.

Figura 4. Pasos para realizar una medición de espectroscopía de impedancia electroquímica.



Nota: a) Sistema electroquímico con electrodo de trabajo (WE), auxiliar (CE) y de referencia (RE); se aplica un potencial $E(t)$ y se mide la corriente. b) Perturbación aplicada. c) Medición de respuesta electroquímica. d) Diagramas de Bode y Nyquist. e) Circuito equivalente. Adaptado de Wang et al., 2021 [14].

En un sistema de espectroscopía de impedancia electroquímica pueden utilizarse de dos a cuatro electrodos. Un sistema de dos electrodos, compuesto por un electrodo auxiliar y uno de trabajo, se utiliza únicamente cuando es difícil insertar un electrodo de referencia, como en baterías o celdas de combustible. En este caso, la respuesta obtenida representa la suma de todas las contribuciones entre el electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar, lo cual puede complicar la interpretación de la impedancia obtenida. El uso de un electrodo de referencia permite estudiar la respuesta del electrodo de trabajo independientemente del

proceso que se lleva a cabo en el electrodo auxiliar [14].

Para interpretar correctamente los datos obtenidos es necesario utilizar herramientas gráficas, entre las cuales destacan el diagrama de Nyquist, que permite observar la representación de transferencia de masa y comportamiento cinético, y el diagrama de Bode, que representa el comportamiento en función de la frecuencia [4]. También es importante analizar la admitancia para evaluar el comportamiento capacitivo a altas frecuencias y el formato de capacitancia compleja para caracterizar el comportamiento capacitivo en sistemas dieléctricos [14].

Un diagrama de Bode ilustra el cambio de impedancia con la frecuencia utilizando el ángulo de fase y el módulo en función de la frecuencia. Los gráficos de ángulo de fase ajustados a la resistencia óhmica permiten obtener una representación directa del comportamiento de elemento de fase constante o de dispersión de frecuencias [14]. Por su parte, un diagrama de Nyquist representa los valores de impedancia que influyen en la transferencia de masa y las reacciones cinéticas, graficando la parte imaginaria contra la parte real de los datos [14].

La EIS se aplica en diversos sistemas electroquímicos, como almacenamiento y conversión de energía, corrosión, sensores y sistemas biomédicos. Puede utilizarse para proporcionar diagnósticos sencillos del sistema in situ e in operando, para identificar la presencia y evaluar la importancia relativa de diferentes procesos, o para extraer información física y química detallada sobre un proceso de interés [14].

6.4. *Laser Induced Graphene (LIG)*

El grafeno es un nanomaterial a base de carbono formado por un único plano atómico, es decir, cristales bidimensionales (2D) [16], [25]. Uno de los aspectos más importantes y explorados del grafeno son sus propiedades eléctricas, entre ellas su espectro electrónico, la propagación de ondas de electrones a través de una capa de un solo átomo de espesor y su excelente calidad electrónica. Además, los efectos cuánticos del grafeno son robustos y pueden persistir incluso a temperatura ambiente [25].

El grafeno es un material prometedor para múltiples aplicaciones, entre las cuales se considera como posible material base para elementos electrónicos. También podría dominar el área de los transistores analógicos individuales de ultra alta frecuencia [25] y promete grandes ventajas en materiales compuestos, así como en el uso de grafeno en polvo para baterías eléctricas [26].

Existen diversas formas de obtener grafeno. La técnica inicial y más común para investigación básica consiste en dividir mecánicamente el grafito en planos atómicos individuales, obteniendo cristales de alta calidad estructural y eléctrica que pueden alcanzar tamaños milimétricos. Otras técnicas incluyen cortes ultrasónicos, crecimiento de cristales sobre capas de otros materiales y mediante láser [25]. También es posible obtenerlo a partir de polímeros como la poliimida, convirtiéndolo en grafeno usando una máquina láser de CO₂ [16].

6.4.1. Propiedades del LIG

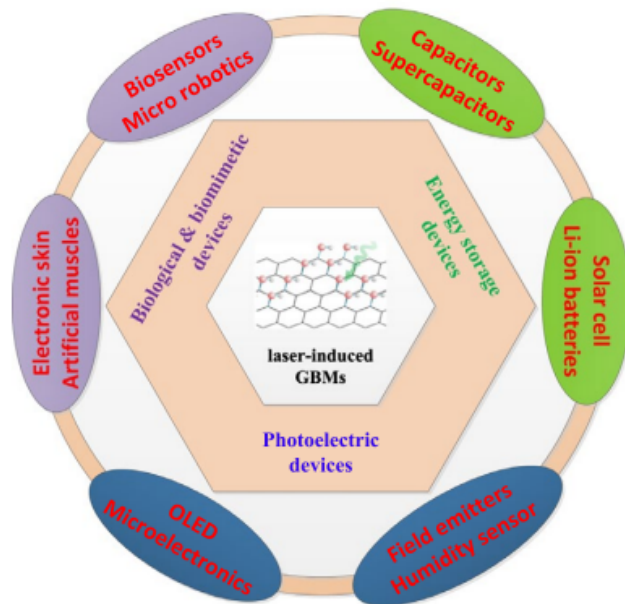
El grafeno inducido por láser (LIG) presenta elevada movilidad de portadores de carga, alta conductividad eléctrica y térmica, transparencia, excelente resistencia mecánica y estabilidad electroquímica. Además, tiene la ventaja de no requerir químicos tóxicos ni temperaturas extremadamente altas para su producción [16]. Es fácil de fabricar, económico [26] y su diseño puede ser modificado fácilmente mediante herramientas de software [15].

Para llevar a cabo este proceso se utiliza una máquina láser de CO₂ en la que se varía el ancho de banda para determinar los diferentes mecanismos de inducción, dado que parámetros incorrectos pueden dañar el grafeno o generar estructuras nanocristalinas, e incluso carbono amorfo hidrogenado en la superficie [16].

6.4.2. Usos del LIG

Gracias al control que brinda el LIG sobre su estructura y composición, los materiales basados en grafeno inducido por láser son prometedores en tres principales áreas: dispositivos optoelectrónicos, dispositivos de almacenamiento de energía y dispositivos biológicos y biomiméticos. Estos materiales pueden usarse en músculos artificiales, biosensores, microrobótica, capacitores, supercapacitores, celdas solares, sensores de humedad y microelectrónica (Figura 5) [16]. Por ejemplo, en dispositivos de almacenamiento de energía son prometedores debido a su alta potencia, electrónica flexible, carga y descarga rápidas, excelente capacidad de ciclo, superficie extraordinariamente elevada, alta conductividad eléctrica y térmica, estabilidad electroquímica y buenas propiedades mecánicas [16].

Figura 5. Aplicaciones típicas de materiales a base de grafeno inducidos por láser.



Nota: imagen adaptada de Wang et al. (2018) [16].

6.5. *Machine learning*

6.5.1. Definición

El *machine learning*, o aprendizaje automático, es una rama de la computación que diseña algoritmos con el objetivo de recrear la inteligencia humana mediante el aprendizaje a partir de un entorno específico. Para lograr este proceso, se realiza un ciclo repetitivo en el que se ingresan datos junto con su resultado deseado, permitiendo que el algoritmo mejore progresivamente su comprensión y capacidad de predicción. Uno de los principales objetivos del aprendizaje automático es automatizar procesos que suelen ser complejos o laboriosos [27].

6.5.2. Enfoques

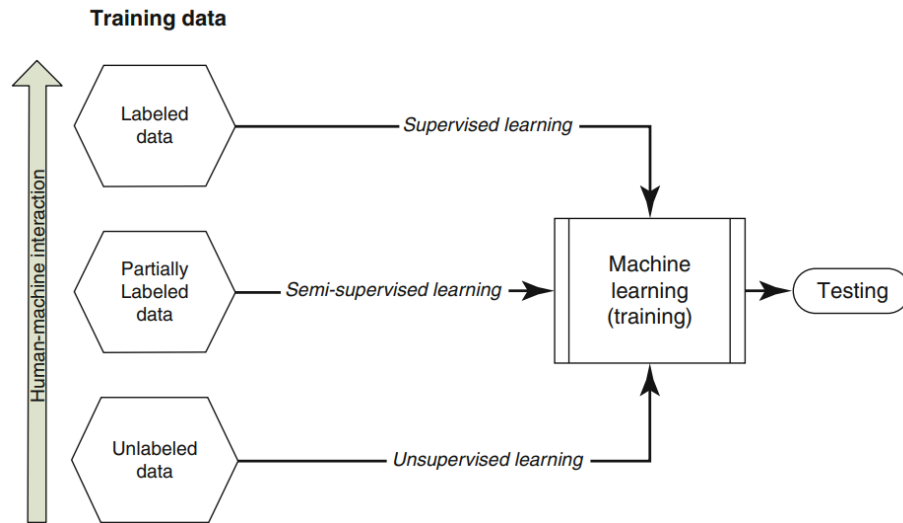
Los algoritmos de *machine learning* pueden clasificarse según diferentes enfoques: supervisado, no supervisado y semisupervisado.

En el aprendizaje supervisado, cada dato de entrenamiento está acompañado de una etiqueta o clase conocida (Figura 6). De esta manera, el algoritmo puede identificar similitudes y diferencias al analizar las variables asociadas a cada objeto, aprendiendo cualidades fundamentales para su clasificación. Un aspecto clave de este enfoque es que, tras el entrenamiento, el algoritmo es capaz de reconocer objetos nuevos —es decir, objetos que no formaron parte del conjunto de entrenamiento— siempre que pertenezcan a alguna de las categorías aprendidas [27].

En el aprendizaje no supervisado, solo se proveen datos de entrada sin etiquetas (Figura 6), por lo que el algoritmo aprende a identificar patrones, realizar agrupaciones y estimar funciones de densidad de probabilidad para predecir resultados [27].

Finalmente, el aprendizaje semisupervisado combina ambos métodos, utilizando un conjunto parcial de datos etiquetados y otro sin clasificar (Figura 6). En este caso, el conocimiento adquirido de los datos etiquetados guía al algoritmo para inferir la clasificación de los datos no etiquetados [27].

Figura 6. Categorías de algoritmos de *machine learning* según la naturaleza de los datos de entrenamiento.



Nota: imagen adaptada de El Naqa et al. (2015) [27].

6.5.3. Aplicaciones prácticas

El *machine learning* suele aplicarse en áreas como el reconocimiento de patrones, ingeniería aeroespacial, finanzas, entretenimiento, biología computacional, biomedicina y medicina. Su característica más destacada es la capacidad de aprender del entorno circundante a partir de los datos de entrada, con o sin supervisión. Por esta razón, uno de los campos donde la implementación de algoritmos de *machine learning* resulta especialmente prometedora es la biomedicina, en la cual puede ser empleado en neurociencia, psicología cognitiva, así como en la detección y diagnóstico de cáncer [27]. En estos casos, el aprendizaje automático facilita la identificación de patrones y elementos de interés, como tumores, que podrían ser imperceptibles al ojo humano en etapas tempranas.

En medicina, el *machine learning* también puede usarse para completar datos faltantes en investigaciones clínicas, identificar qué medicamentos pueden ser efectivos o no según las características individuales de cada paciente, y determinar el tratamiento óptimo con base en la condición clínica y los resultados de evaluaciones previas [28].

7.1. Diseño y fabricación de electrodos

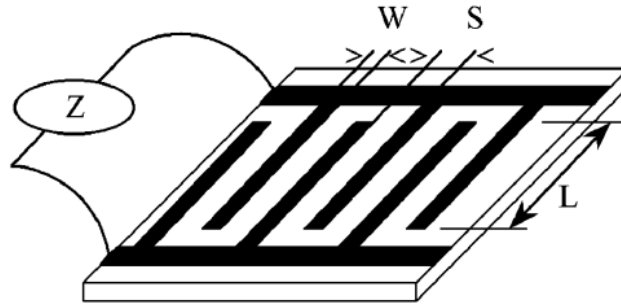
7.1.1. Diseño en Autodesk Inventor

El diseño de los electrodos se realizó utilizando el software Autodesk Inventor (Autodesk Inc., San Francisco, EE.UU.). Para asegurar un funcionamiento óptimo, se siguieron los parámetros descritos por Timmer et al. [29] (Figura 7), con el objetivo de obtener un ancho de banda adecuado mediante una relación óptima entre el ancho del electrodo (W) y la separación entre electrodos (S), denominada S/W , cuyo valor ideal es de 0.5413.

En base a esta relación, se diseñaron tres modelos de electrodos denominados A, B y C (Figura 8 A, B y C), con distintas dimensiones pero que respetan la proporción mencionada (Cuadro 2).

Con el fin de contar con un punto de comparación, se elaboró un cuarto diseño de electrodo (Figura 8 Z), cuyas dimensiones son lo más similares posible a las de un electrodo de óxido de iridio sobre un sustrato de Pyrex, desarrollado por el Dr. e Ing. José Andrés Leal Ordóñez en la Universidad de Freiburg, Alemania.

Figura 7. Esquema de un par de electrodos planares interdigitados.

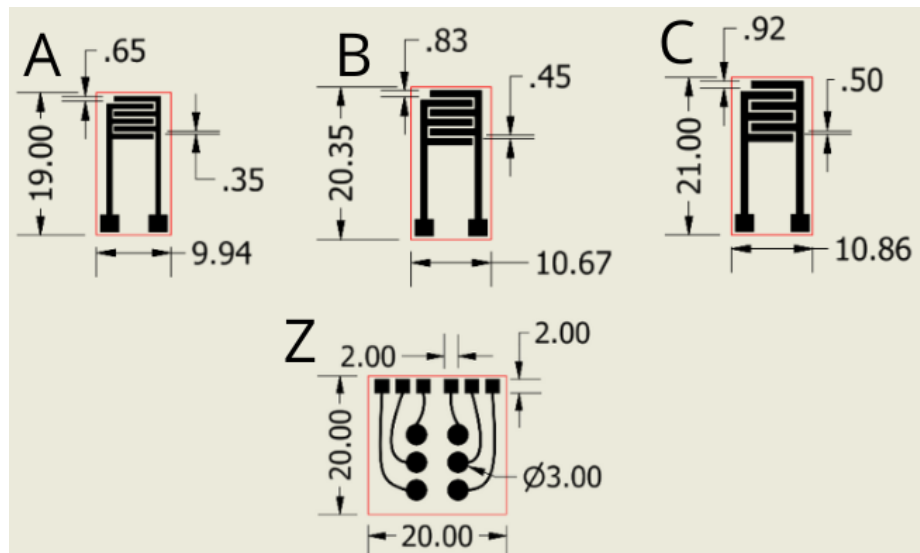


Nota: imagen adaptada de Timmer et al. (2002) [29].

Cuadro 2: Parámetros de electrodos

Electrodo	S (mm)	W (mm)	S/W
A	0.35	0.65	0.54
B	0.45	0.83	0.54
C	0.5	0.92	0.54

Figura 8. Diseños de electrodos propuestos por el estudiante y electrodo de comparación.



Nota: A) Diseño de menor tamaño. B) Diseño de tamaño mediano. C) Diseño de mayor tamaño. Z) Diseño de electrodo para comparación. Todas las dimensiones están en milímetros.

El largo del electrodo se definió según los requerimientos específicos del diseño, mientras que el área inferior fue adaptada en función de la forma y tamaño de la pinza cocodrilo

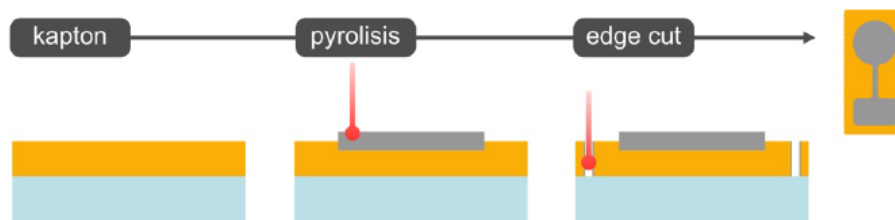
utilizada (Pomona Electronics, Washington, EE.UU.). Para este caso, se empleó una pinza de punta plana, con el objetivo de evitar daños en la superficie del electrodo.

7.1.2. Grabado de electrodos inducido por láser

Para la fabricación de los electrodos se utilizó una hoja individual de Kapton tamaño A4 con un grosor de $75\ \mu\text{m}$ (DuPont, Delaware, EE.UU.), la cual fue adherida a una plancha de acrílico utilizando goma en barra (Pritt), con el fin de mantenerla fija durante el proceso de corte (Figura 9).

El grabado se llevó a cabo utilizando una cortadora láser (Versa Laser 2.30, ULS Inc., Arizona, EE.UU.), modificando las configuraciones de velocidad y potencia conforme a lo indicado en el Cuadro 3.

Figura 9. Pasos de la estructuración láser de electrodos de grafeno inducido por láser (LIG).



Nota: imagen adaptada de Leal et al. (2023) [30].

Cuadro 3: Parámetros utilizados en la cortadora láser para grabar los electrodos

Color	Velocidad	Potencia
Negro	7.50 %	17 %
Rojo	75 %	100 %

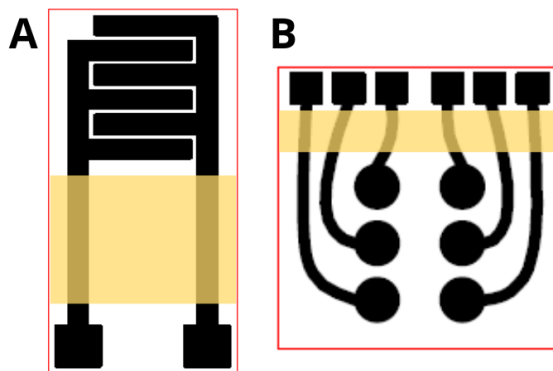
Con el fin de evaluar la reproducibilidad de los electrodos A, B y C, se realizaron diez grabados de cada tipo, obteniendo un total de 30 electrodos. Cada uno fue almacenado individualmente y se le asignó un identificador compuesto por el tipo de diseño y un número secuencial, permitiendo así llevar un control preciso del comportamiento y los resultados obtenidos para cada uno, y facilitar su comparación.

Para el aislamiento de los electrodos se utilizó cinta Kapton (*Kapton Tape*, Bertech, CA, EE.UU.), la cual fue recortada y colocada entre el área activa del electrodo —es decir, la zona destinada a la toma de datos— y la sección donde se conectarían las pinzas cocodrilo (Figura 10A). Se tuvo especial cuidado en evitar que la cinta Kapton entrara en contacto con la piel o con otras superficies contaminantes.

En el caso de los electrodos utilizados como referencia, se fabricó un primer electrodo, denominado Z01, cuyo aislamiento incluía también el conjunto de electrodos más cercano al

área de conexión de las pinzas. Adicionalmente, se fabricaron cinco electrodos más con el identificador F, numerados de forma secuencial, utilizando un aislamiento como el mostrado en la Figura 10B.

Figura 10. *Aislamiento de electrodos utilizando cinta Kapton.*



Nota: A) Aislamiento para electrodos A, B y C. B) Aislamiento para electrodos de comparación Z.

7.2. Pruebas preliminares

7.2.1. Preparación de diluciones seriales

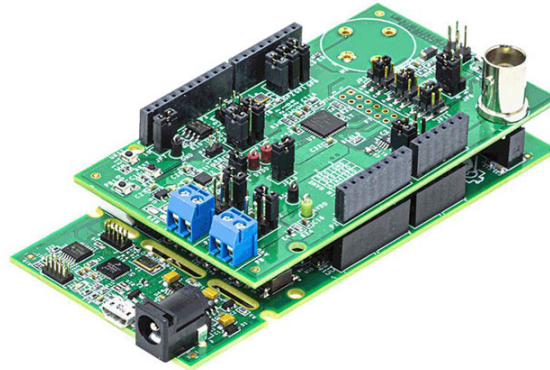
Se preparó una solución de PBS 10x (Merck, Nueva Jersey, EE.UU.) utilizando agua ultrapura. A partir de esta solución madre, se realizaron diluciones seriadas para obtener soluciones de PBS 1x y 1/10x.

7.2.2. Equipo de *hardware* y *software*

Para la realización de las mediciones de espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS, por sus siglas en inglés), se empleó el *kit* de evaluación EVAL-AD5940ELCZ (Analog Devices, MA, EE.UU.), el cual está compuesto por la placa de desarrollo EVAL-ADICUP3029 y la placa analógica EVAL-AD5940ELCZ (Figura 11).

Las configuraciones específicas de ambos dispositivos se presentan en los Cuadros 4 y 5, respectivamente. Además, la conexión entre las pinzas cocodrilo del *kit* y los electrodos se detalla en el Cuadro 6.

Figura 11. *Kit de evaluación EVAL-AD5940ELCZ.*



Nota: fotografía del kit de evaluación proporcionado por Analog Devices.

Cuadro 4: Configuración EVAL-ADICUP3029

<i>Switch</i>	<i>Posición</i>
S4	USB
S5	USB

Cuadro 5: Configuración EVAL-AD5940ELCZ

<i>Conector</i>	<i>Posición</i>
JP4	B
JP5	A
JP6	A
JP9, JP10, JP11	C(5-6)

Cuadro 6: Descripción de la conexión de pinzas cocodrilo

<i>Color</i>	<i>Descripción</i>	<i>Referencia</i>
Rojo	Electrodo Auxiliar	CE0
Azul	Electrodo de Referencia	RE0
Verde	Electrodo de Trabajo	SE0
Negro	No conectado	-

La captura de datos y la generación de gráficos se realizaron utilizando el software SensorPal Graphical User Interface (Analog Devices, MA, EE.UU.). Para ello, se empleó el modo de impedancia con la configuración mostrada en el Cuadro 7.

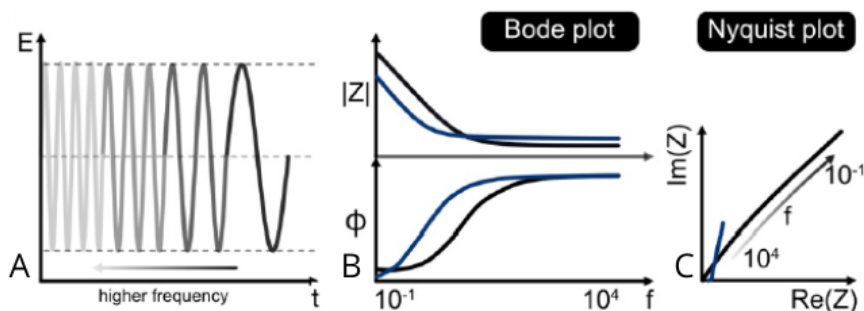
Cuadro 7: Configuración de parámetros de impedancia SensorPal

Parámetros	Valores
Frecuencia inicial	300 Hz
Puntos	200
Amplitud	600 mVpp
DC Bias	1200 mVpp
Frecuencia final	100 kHz
RTIA	200 Ω
RCAL	10 Ω
Logaritmo	1
Barrido de frecuencia	1

7.2.3. Mediciones de EIS en soluciones de PBS

La espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) se emplea para estudiar las reacciones electroquímicas y analizar mecanismos dependientes del tiempo, basados en la respuesta de corriente o potencial del sistema electroquímico a frecuencias previamente seleccionadas. Para realizar las mediciones, se aplica un potencial de baja amplitud que estimula el sistema electroquímico en diferentes frecuencias (Figura 12A). Como resultado, se obtiene un diagrama de Bode, que muestra la magnitud de la impedancia y la fase (Figura 12B), así como un diagrama de Nyquist, que representa la impedancia imaginaria en función de la impedancia real (Figura 12C) [14].

Figura 12. Representación de señales e interpretación gráfica en espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS).



Nota: A) Señal sinusoidal de perturbación de frecuencia variable. B) Diagrama de Bode con magnitud de impedancia $|Z|$ y fase ϕ . C) Diagrama de Nyquist con componente real $Re(Z)$ frente a la imaginaria $Im(Z)$. Imagen adaptada de Leal et al. (2023) [30].

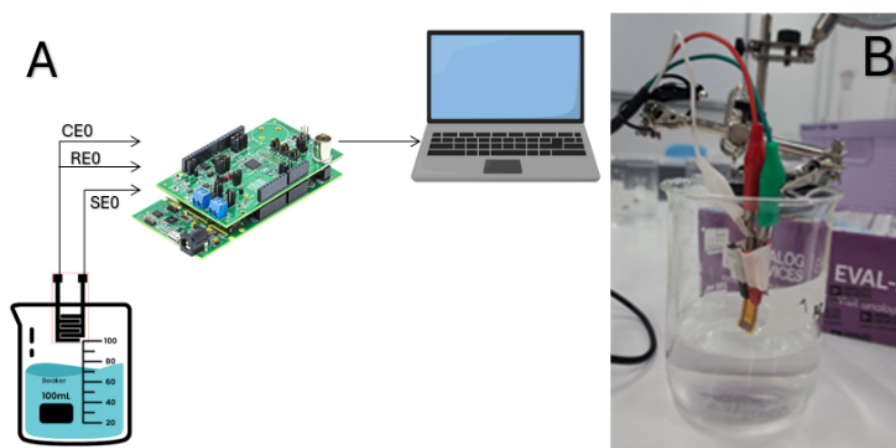
Para realizar las mediciones se seleccionaron al azar tres electrodos de cada diseño, correspondientes a los electrodos A02, A03, A04, B01, B03, B08, C01, C02 y C03. Para evaluar la reproducibilidad, se llevaron a cabo pruebas preliminares utilizando las tres soluciones preparadas (10x, 1x y 1/10x).

Cada electrodo se sumergió en las tres soluciones, esperando entre 12 y 15 segundos después de sumergirlo para estabilizar la señal, y se realizaron tres mediciones de impedancia por cada inmersión. De esta manera, se obtuvieron nueve mediciones por electrodo y un total de 81 mediciones. Posteriormente, se promediaron los triplicados y se comparó la magnitud de la impedancia en función de la frecuencia para cada solución y electrodo.

Después de cada solución, los electrodos se lavaron con agua ultrapura, la cual se renovaba después de cada lavado, antes de sumergirlos en la siguiente solución para repetir el procedimiento.

La configuración del sistema de medición se presenta en la Figura 13, tanto en diagrama esquemático (Figura 13A) como en la imagen tomada durante la medición (Figura 13B).

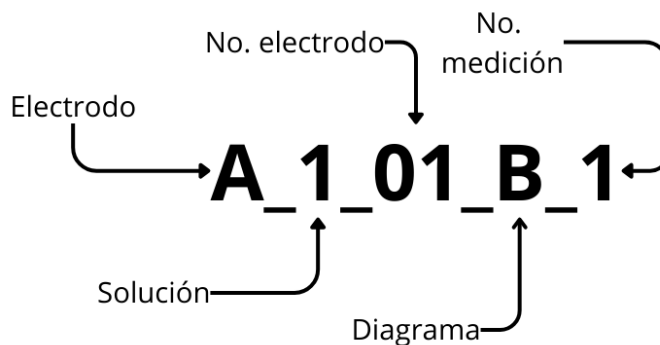
Figura 13. Sistema de medición de espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS).



Nota: A) Diagrama de medición en solución de PBS. B) Sistema de medición de EIS.

Para llevar un control adecuado de los datos obtenidos de cada una de las mediciones se adoptó un sistema de numeración el cual está formado por la letra correspondiente al electrodo (A, B, C), el número de la solución (1 - 3), el número de electrodo (01 - 10), el tipo de diagrama (B para Bode) y el número de medición (1 - 3) (Figura 14).

Figura 14. *Sistema de numeración.*



Nota: esquema utilizado para identificar la posición de cada electrodo dentro del sistema.

Para evaluar el electrodo a utilizar, se realizó primero un diagrama de magnitud de impedancia *vs* frecuencia para cada uno de los electrodos A02, A03, A04, B01, B03, B08, C01, C02 y C03. Para esto, se calculó el promedio del valor de la impedancia para cada electrodo en cada una de las soluciones. También se realizaron gráficos de barras en los que se comparó el promedio de la impedancia en cada una de las soluciones en tres valores específicos de frecuencia, 1 kHz, 10 kHz y 100 kHz. Para esto, se obtuvo un promedio general para cada electrodo A, B y C. Finalmente, se realizó un gráfico de caja y bigotes para cada solución en el que se comparó el comportamiento del promedio de la impedancia para cada electrodo A, B y C.

7.3. Validación de electrodos

Para la validación inicial del funcionamiento de los electrodos se utilizó el diseño de electrodos A y se realizó una curva de calibración. Para esto se prepararon diluciones de PBS 10.00x, 9.50x, 9.03x, 8.57x, 8.15x, 7.74x, 7.35x, 6.98x, 6.63x, 6.30x, 5.99x, 5.69x, 5.40x, 5.13x, 4.88x (Cuadro 8) y se tomaron datos en triplicado en cada una de ellas por medio de EIS.

Cuadro 8: Concentraciones de PBS para curva de calibración

Solución	Concentración PBS (x)
1	10.0
2	9.5
3	9.0
4	8.6
5	8.2
6	7.7
7	7.4
8	7.0
9	6.6
10	6.3
11	6.0
12	5.7
13	5.4
14	5.1
15	4.9

Se realizaron las mismas mediciones con un electrodo de óxido de iridio y con el electrodo Z01; en el caso del primero, fue necesario soldar dos cables en las terminales que se utilizarían. De esta manera, se obtuvieron valores de referencia con los que comparar los valores obtenidos del electrodo A04 y el Z01.

7.4. *Machine learning*

7.4.1. Recolección de datos

Para la recolección de datos para hacer un modelo de *machine learning*, primero se realizaron cinco distintas soluciones de 15 ml de PBS 1x con NaCl agregado para el entrenamiento (0.1 %, 0.3 %, 0.5 %, 0.7 %, 0.9 %) y se realizaron otras tres soluciones para agregar a las pruebas (0.2 %, 0.6 %, 1.0 %) (Cuadro 9).

Cuadro 9: Soluciones para toma de datos de machine learning en PBS con NaCl agregado

Solución	NaCl agregado (mg)	% NaCl en solución (p/v)	Concentración NaCl (mM)
1	1.5	0.1	1.7
2	3.0	0.2	3.4
3	4.5	0.3	5.1
4	7.5	0.5	8.6
5	9.0	0.6	10.3
6	10.5	0.7	12.0
7	13.5	0.9	15.4
8	15.0	1.0	17.1

A continuación, para el entrenamiento, se hizo la recolección de datos por medio de EIS en cada una de las soluciones con dos pares de electrodos de cada dispositivo, obteniendo así ocho mediciones por solución y un total de 40 mediciones. Para la toma de los datos de prueba, se utilizó un único electrodo y se tomaron tres mediciones por solución, obteniendo así 24 mediciones en total, teniendo como objetivo que se tuviera como mínimo la mitad de cantidad de datos que en el entrenamiento. Esto se realizó de la misma manera que en las pruebas preliminares, en donde se colocó el electrodo en cada solución, se esperó de 12–15 segundos y luego se realizó la medición de impedancia. Al momento de cambiar de solución, se realizó un lavado del electrodo con agua ultrapura.

Para realizar la recolección de datos para el modelo de *machine learning* en orina artificial (Merck, Nueva Jersey, USA), se prepararon tres distintas soluciones de 10 ml de dicha orina con NaCl agregado para el entrenamiento (0.1 %, 0.5 %, 0.9 %) y otras dos soluciones adicionales para utilizarse como pruebas (0.7 %, 1.0 %) (Cuadro 10).

Cuadro 10: Soluciones para toma de datos de machine learning en orina artificial con NaCl agregado

Solución	NaCl agregado (mg)	% NaCl en solución (p/v)	Concentración NaCl (mM)
1	1.0	0.1	1.7
2	5.0	0.5	8.6
3	7.0	0.7	12.0
4	9.0	0.9	15.4
5	10.0	1.0	17.1

Luego, para el entrenamiento, se realizó la recolección de datos por medio de EIS en cada una de las soluciones utilizando un solo electrodo, obteniendo ocho mediciones por solución y un total de 24 mediciones. Para las mediciones correspondientes a los datos de prueba se utilizó también un solo electrodo, realizando tres mediciones por solución y obteniendo un total de 15 mediciones. Este procedimiento se llevó a cabo de manera análoga a las pruebas preliminares: se colocó el electrodo en cada solución, se esperó entre 12 y 15 segundos, y luego se realizó la medición de impedancia. Al cambiar de solución, se lavó el electrodo con agua ultrapura.

7.4.2. Creación de modelo de *machine learning*

Para la creación del modelo de *machine learning* con los datos recolectados en las soluciones de PBS, se construyó un conjunto de datos en el que se organizaron los promedios de la impedancia medida para las soluciones utilizadas en el entrenamiento (0.1 %, 0.3 %, 0.5 %, 0.7 % y 0.9 %). En dicho conjunto se establecieron como predictores la frecuencia y la impedancia, y como variable objetivo el porcentaje de NaCl añadido. Posteriormente, esta información se procesó en la herramienta *Regression Learner* de Matlab, donde se entrenaron todos los modelos de regresión lineal disponibles. Se seleccionó el modelo que describiera con mayor precisión el comportamiento de los datos, evaluando principalmente la raíz del error cuadrático medio (RMSE) —buscando el valor más bajo posible— y el coeficiente de determinación (R^2) —buscando un valor cercano a 1.

De manera análoga, para la creación del modelo utilizando los datos obtenidos a partir de orina artificial, se generó un conjunto de datos que contenía la información de la magnitud de impedancia y su frecuencia en cada una de las soluciones seleccionadas para el entrenamiento (0.1 %, 0.5 % y 0.9 %). En este conjunto, la frecuencia y la impedancia actuaron como predictores, mientras que el porcentaje de NaCl añadido fue la variable objetivo. Los datos se ingresaron en *Regression Learner* y se entrenaron diversos modelos de regresión lineal, seleccionando finalmente el modelo que mostró mejor rendimiento en términos de baja RMSE y alto R^2 .

7.4.3. Verificación del funcionamiento del modelo

Para verificar el funcionamiento del modelo desarrollado para PBS, se utilizó el electrodo F02 y se recolectaron datos mediante EIS en las cinco soluciones utilizadas previamente para el entrenamiento, así como en tres soluciones adicionales diseñadas para evaluar la capacidad de extrapolación del modelo (0.2 %, 0.6 % y 1.0 % de NaCl añadido). En total se obtuvieron 24 muestras aleatorias. Una vez recolectados los datos de impedancia en función de la frecuencia, estos fueron procesados por el modelo entrenado, obteniendo una predicción sobre la concentración de la solución correspondiente. Con base en estos resultados, se determinó el porcentaje de acierto del modelo.

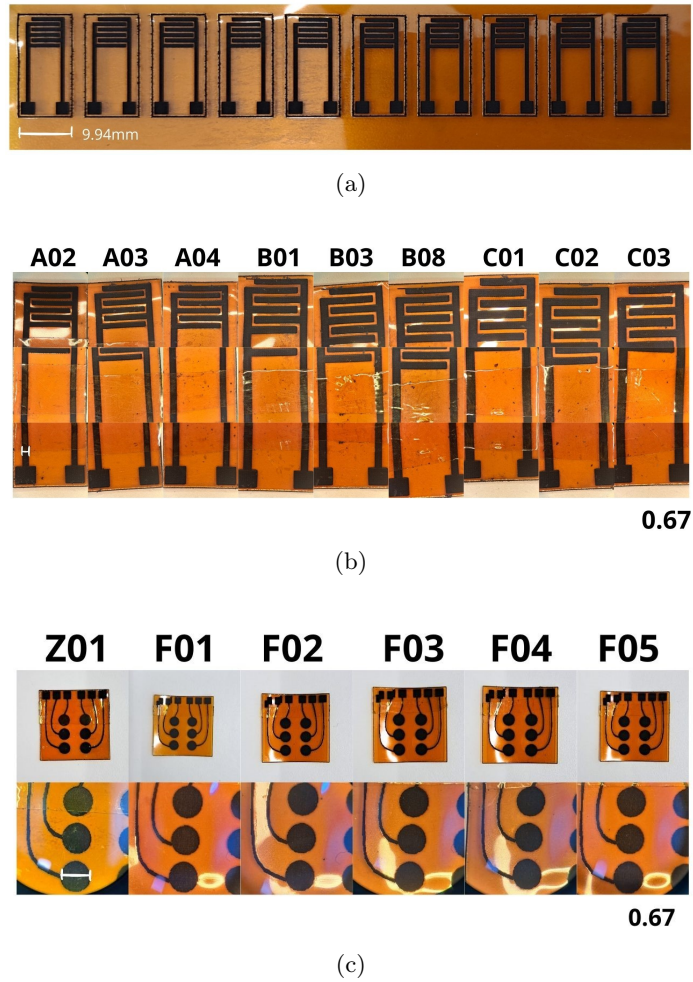
Para verificar el funcionamiento del modelo desarrollado para orina artificial, también se utilizó el electrodo F02 y se recolectaron datos por medio de EIS en las tres soluciones empleadas durante el entrenamiento, así como en dos soluciones adicionales (0.7 % y 1.0 % de NaCl añadido). En total se recolectaron 15 muestras aleatorias. Posteriormente, se procesaron los datos a través del modelo correspondiente y se generaron predicciones sobre la concentración de NaCl en cada muestra, lo cual permitió calcular el porcentaje de acierto del modelo.

8.1. Fabricación de electrodos inducidos por láser

8.1.1. Grabado y aislamiento de electrodos

Se obtuvieron los electrodos inducidos por láser a partir del uso de una cortadora láser (Figura 9). De los diseños A, B y C se realizaron 10 copias de cada uno para evaluar la reproducibilidad y, posteriormente, se seleccionaron al azar tres electrodos de cada diseño para realizar las pruebas preliminares. Adicionalmente, se fabricaron seis electrodos de comparación, correspondientes a los electrodos Z01 y F01–F05 (Figura 10C). El aislamiento de los electrodos se llevó a cabo utilizando Kapton *Tape*. En la Figura 10B se puede observar, mediante microscopía con aumento de 0.67x, las distintas secciones que componen los electrodos: la sección superior, utilizada para las mediciones; la sección central; y la sección inferior, donde se conectaron las pinzas cocodrilo.

Figura 15. Resultados de electrodos inducidos por láser y su aislamiento.



Nota: (a) Electrodo inducido por láser diseño A. (b) Aislamiento de electrodos (escala 0.65 mm). (c) Electrodo inducido por láser, análogo de electrodo de óxido de iridio (escala 3 mm).

8.2. Pruebas preliminares

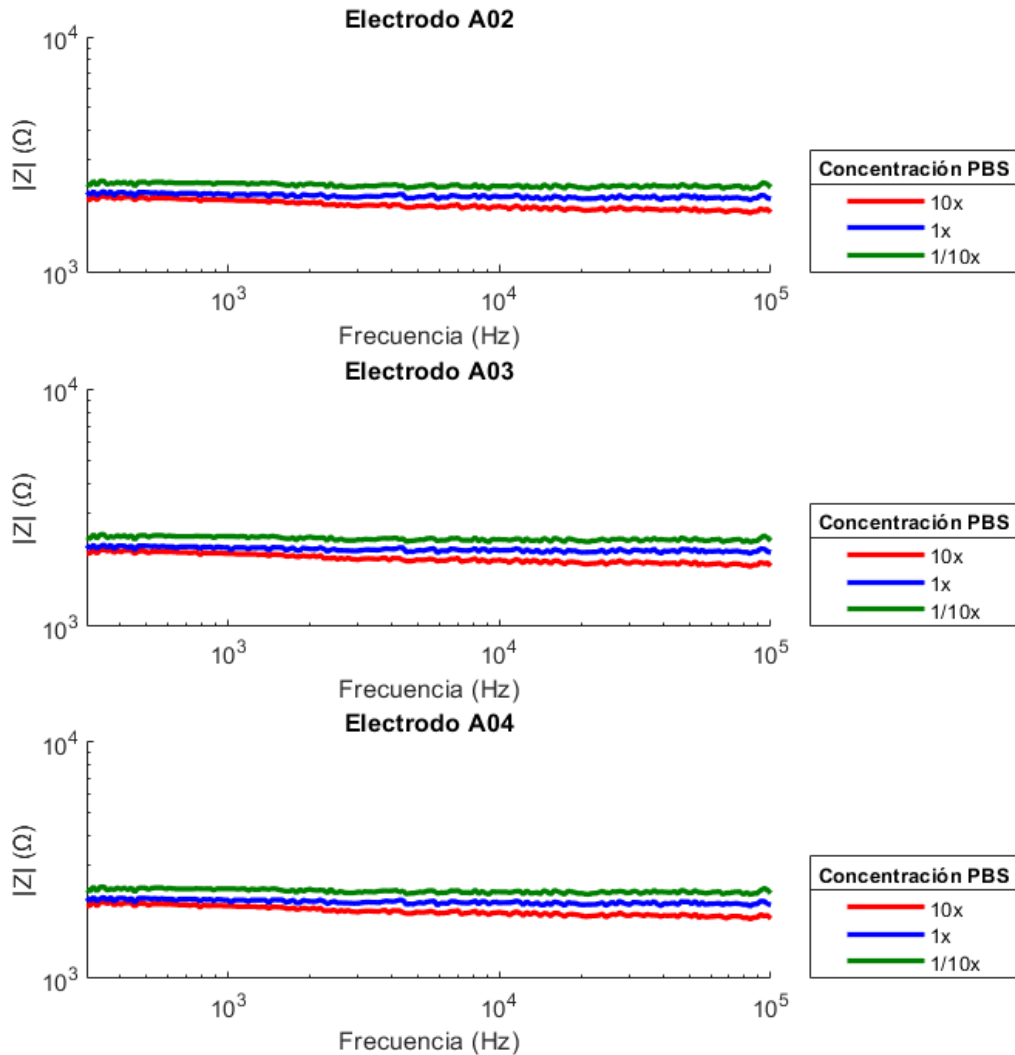
8.2.1. Mediciones de EIS en diluciones seriales de PBS

Se realizaron mediciones de EIS para cada uno de los electrodos con el fin de verificar su reproducibilidad, comparando la magnitud de la impedancia en cada una de las soluciones utilizadas.

En la Figura 17 se presentan los resultados obtenidos con los electrodos A02, A03 y A04, donde se graficó el comportamiento de la impedancia en función de la frecuencia para cada una de las soluciones. En los tres casos se observó un comportamiento muy similar:

la impedancia más baja se obtuvo en la solución PBS 10x, seguida de una impedancia mayor en la solución PBS 1x, y finalmente, la impedancia más alta se registró en la solución PBS 1/10x. Esta diferencia en la magnitud de la impedancia es más notoria en el rango de frecuencias comprendido entre 10 kHz y 100 kHz.

Figura 17. Promedio de magnitud de impedancia $|Z|$ (Ω) vs. frecuencia (Hz) para electrodos A en soluciones con diferentes concentraciones de PBS: 10x, 1x y 1/10x ($n = 3$).

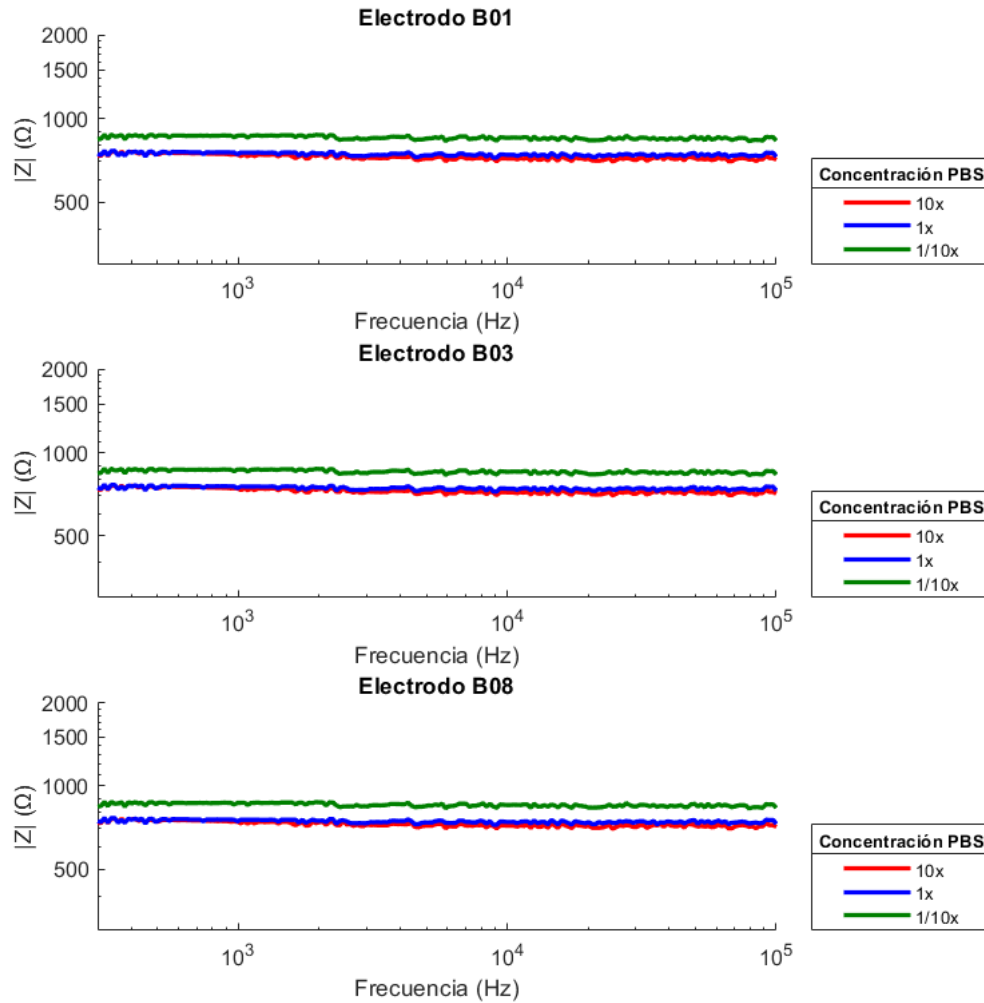


Nota: los datos representan el promedio de tres mediciones ($n=3$) para cada concentración.

Se obtuvieron los resultados correspondientes a los electrodos B01, B03 y B08, en los cuales se graficó el comportamiento de la impedancia en función de la frecuencia para cada una de las soluciones (Figura 18). En los tres casos se observó un comportamiento similar; sin embargo, en este diseño la diferencia entre las soluciones PBS 10x y PBS 1x no fue tan evidente en el rango de 300 Hz a 10 kHz. A partir de ese punto, se aprecia una diferencia mínima que indica una menor impedancia para la solución PBS 10x en comparación con la

PBS 1x. En contraste, la solución PBS 1/10x presentó consistentemente la impedancia más alta en el rango de 300 Hz a 100 kHz.

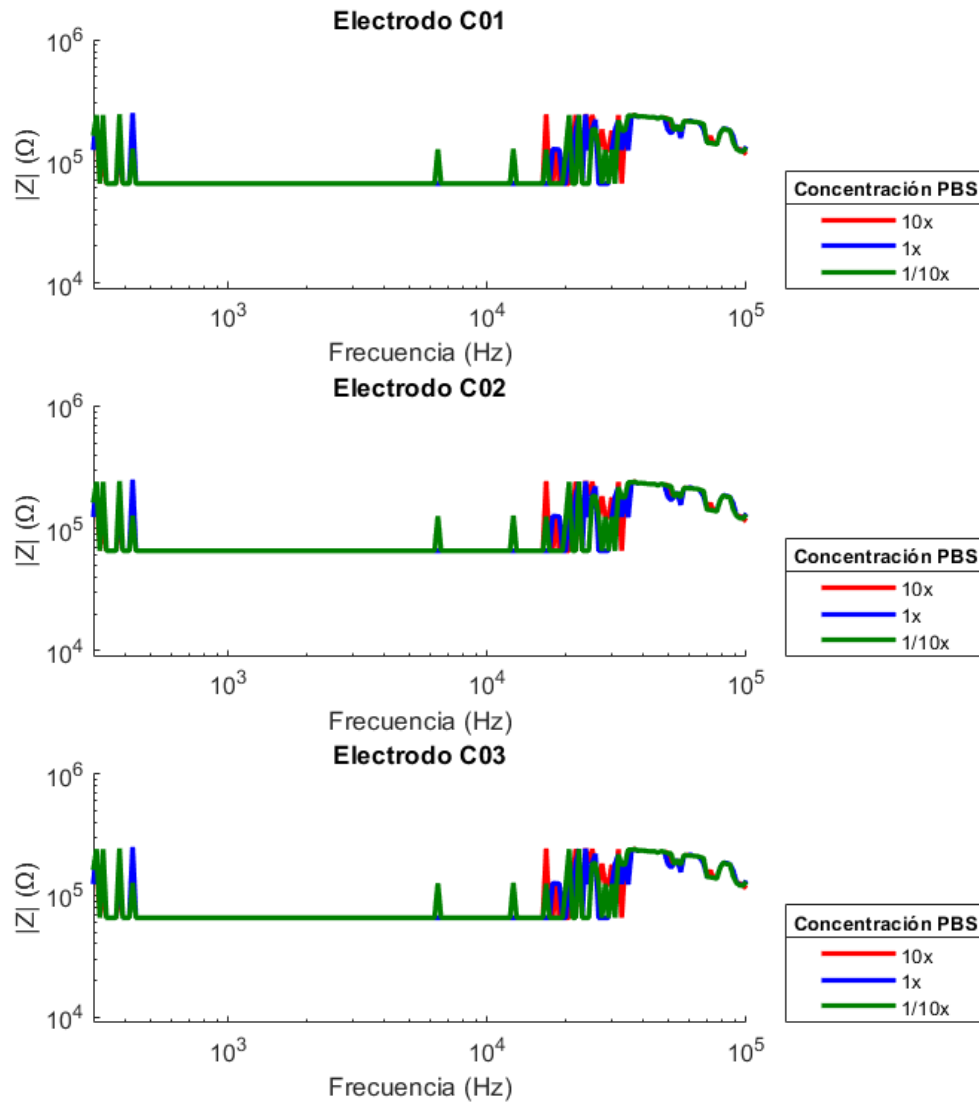
Figura 18. Promedio de magnitud de impedancia $|Z|$ (Ω) vs. frecuencia (Hz) para electrodos B en soluciones con diferentes concentraciones de PBS: 10x, 1x y 1/10x ($n = 3$).



Nota: los datos representan el promedio de tres mediciones ($n=3$) para cada concentración.

Se obtuvieron los resultados correspondientes a los electrodos C01, C02 y C03, en los cuales se graficó el comportamiento de la impedancia en función de la frecuencia para cada una de las soluciones (Figura 19). En los tres electrodos se observó un comportamiento similar, en donde no fue posible identificar una diferencia clara entre las magnitudes de impedancia de las distintas soluciones. Además, a partir de los 10 kHz se evidenció un comportamiento similar al ruido, lo que sugiere una pérdida de estabilidad o sensibilidad del sistema en ese rango de frecuencia.

Figura 19. Promedio de magnitud de impedancia $|Z|$ (Ω) vs. frecuencia (Hz) para electrodos C en soluciones con diferentes concentraciones de PBS: 10x, 1x y 1/10x ($n = 3$).



Nota: los datos representan el promedio de tres mediciones ($n=3$) para cada concentración.

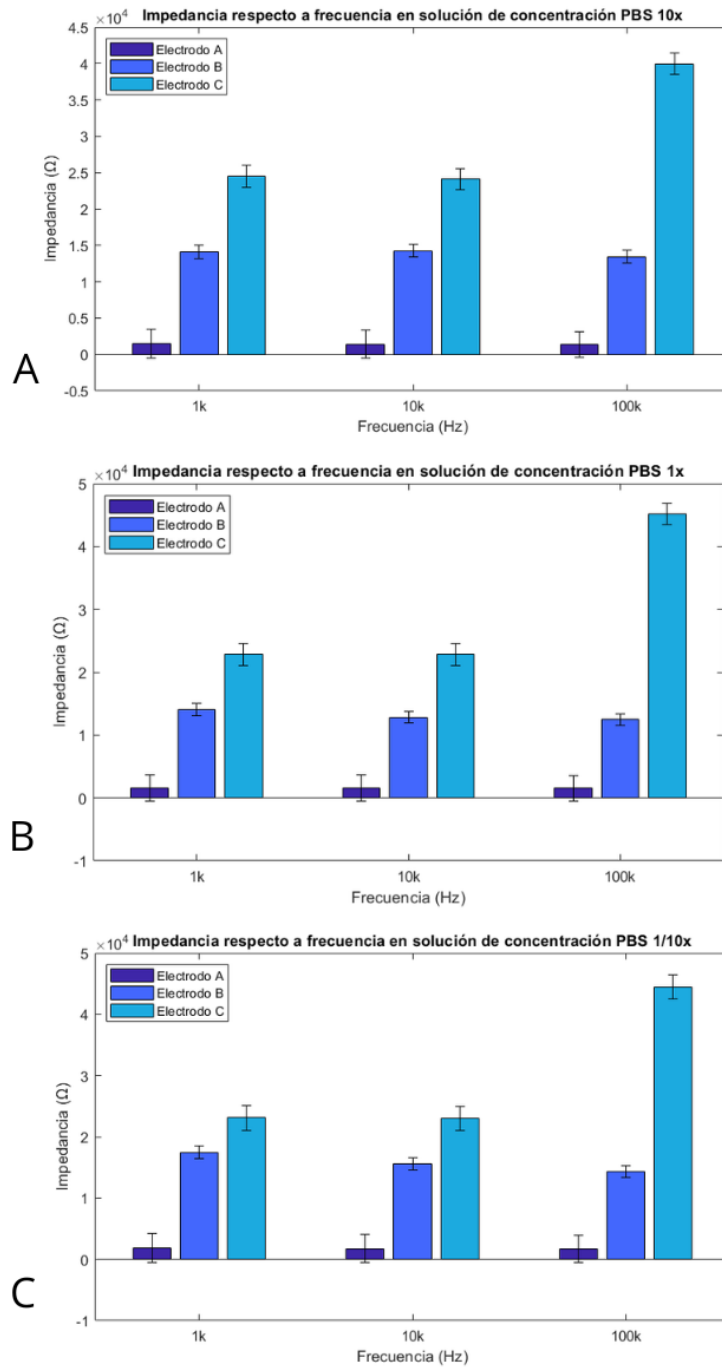
Se midió el valor promedio de la impedancia obtenida en las diferentes soluciones para cada uno de los electrodos, específicamente en las frecuencias de 1 kHz, 10 kHz y 100 kHz. Para la solución de PBS 10x (Figura 20A), a 1 kHz los electrodos A, B y C presentaron impedancias promedio de 1.6 k Ω , 14.0 k Ω y 24.5 k Ω , respectivamente; a 10 kHz, se obtuvieron 1.4 k Ω , 14.3 k Ω y 24.1 k Ω ; y a 100 kHz, los valores fueron de 1.4 k Ω , 13.5 k Ω y 40.0 k Ω .

Para la solución de PBS 1x (Figura 20B), a 1 kHz los valores fueron 1.6 k Ω , 14.0 k Ω y 22.8 k Ω para los electrodos A, B y C, respectivamente; a 10 kHz, se observaron impedancias de 1.6 k Ω , 12.8 k Ω y 22.8 k Ω ; y a 100 kHz, se registraron 1.5 k Ω , 12.4 k Ω y 45.1 k Ω .

Finalmente, para la solución de PBS 1/10x (Figura 20C), las impedancias obtenidas a 1 kHz fueron 1.8 k Ω , 17.5 k Ω y 23.1 k Ω ; a 10 kHz, se registraron 1.7 k Ω , 15.5 k Ω y 23.1 k Ω ; y a 100 kHz, se obtuvieron 1.7 k Ω , 14.3 k Ω y 44.5 k Ω para los electrodos A, B y C, respectivamente.

En general, los valores de impedancia en las tres frecuencias evaluadas fueron consistentemente menores en los electrodos del tipo A, intermedios en los del tipo B y mayores en los del tipo C. Este comportamiento se repite en las tres soluciones evaluadas. Cabe destacar que los valores de impedancia del electrodo tipo C fueron aproximadamente entre 20 y 45 veces mayores que los del tipo A, además de presentar una mayor variabilidad.

Figura 20. Impedancia promedio $|Z|$ (Ω) vs frecuencia (Hz) para electrodos ($n = 9$).

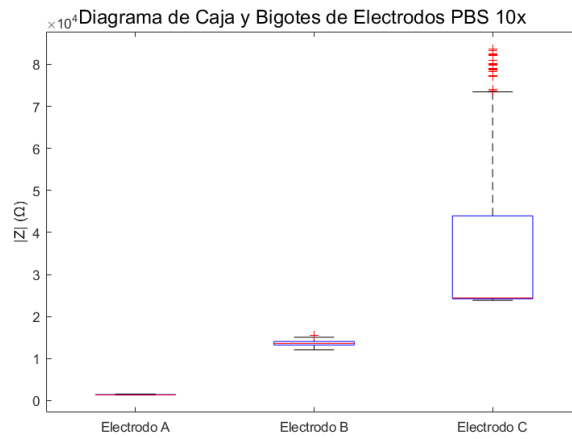


Nota: A) PBS 10x. B) PBS 1x. C) PBS 1/10x.

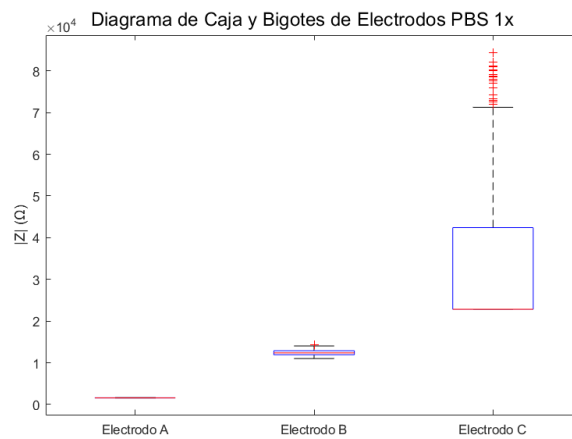
Se elaboró un diagrama de caja y bigotes para representar la impedancia promedio medida por cada uno de los electrodos en cada una de las soluciones (Figura 21). En dicho gráfico se observa el mismo comportamiento previamente descrito, en el que los electrodos

del tipo C presentan valores de impedancia notablemente mayores que los electrodos de los tipos A y B. No obstante, también se evidencia que el conjunto de datos correspondiente a los electrodos tipo C presenta una mayor dispersión, así como una cantidad considerable de datos atípicos (outliers), lo que sugiere una menor reproducibilidad o mayor sensibilidad a variaciones experimentales en este diseño de electrodo.

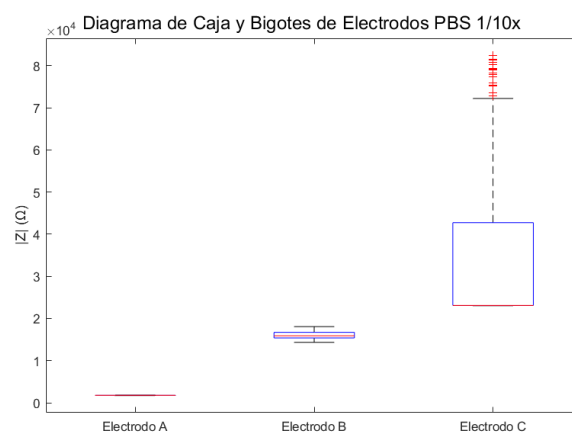
Figura 21. Diagramas de caja y bigotes de magnitud de impedancia $|Z|$ (Ω) de electrodos ($n = 9$).



(a)



(b)



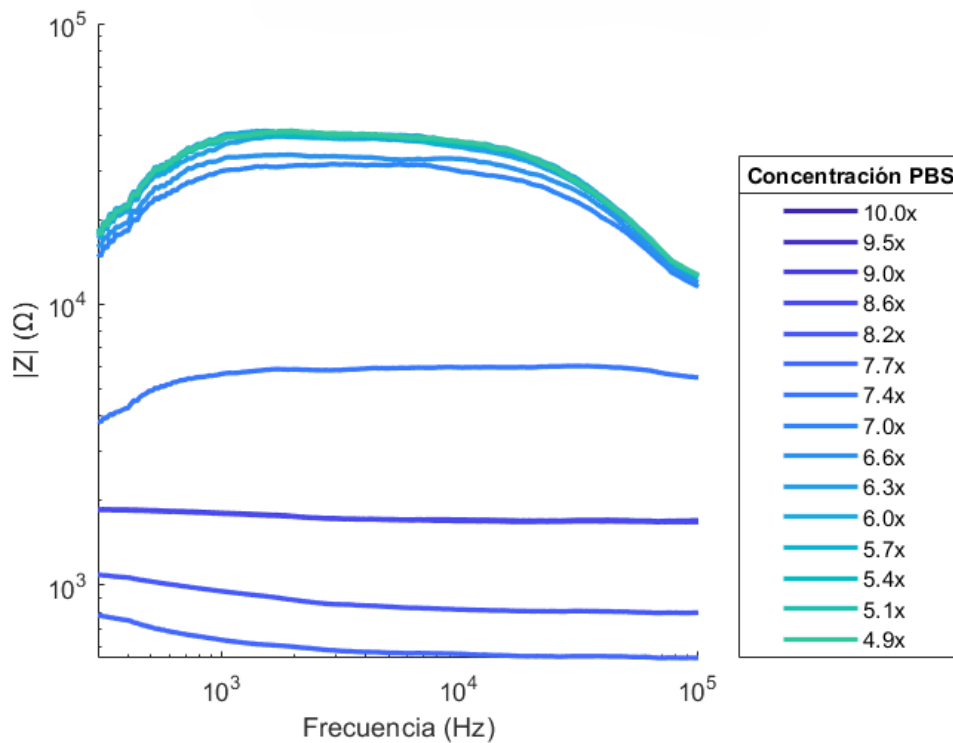
(c)

Nota: (a) PBS 10x. (b) Solución 1x. (c) Solución 1/10x.

8.3. Validación de electrodos

Se realizó una curva de calibración utilizando el electrodo LIG A04 (Figura 23), en la cual se representaron las diferentes concentraciones de PBS mediante una escala de colores, donde el color más oscuro corresponde a la concentración de 10.0x y el más claro a la de 4.9x. Sin embargo, la curva obtenida no muestra un comportamiento ideal (Figura 12), ya que no es posible distinguir de manera clara las 15 concentraciones evaluadas, o al menos la mayoría de ellas. Esto indica una baja resolución del sistema de medición en el rango evaluado, lo que podría atribuirse a una respuesta no lineal del electrodo, solapamiento en los valores de impedancia, o limitaciones en la sensibilidad del diseño del electrodo.

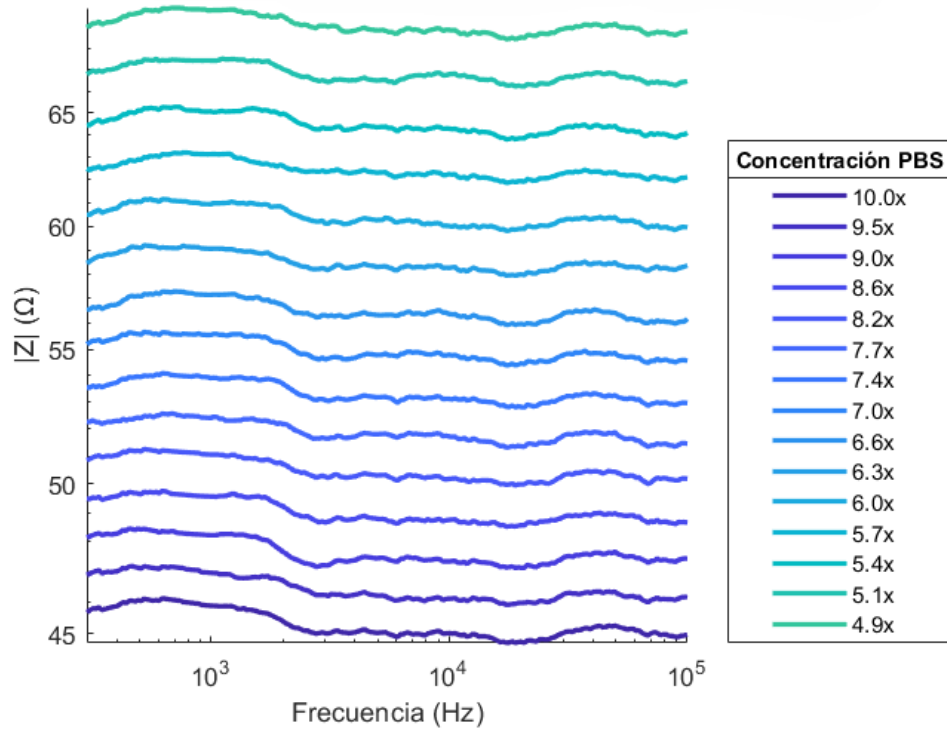
Figura 23. Curva de calibración del electrodo LIGE A04, magnitud de impedancia $|Z|$ (Ω) promedio vs. frecuencia (Hz) ($n = 3$).



Nota: promedio de tres mediciones ($n=3$).

Con el objetivo de establecer un punto de referencia, se realizó una curva de calibración utilizando un electrodo de vidrio. Como se muestra en la Figura 24, este permitió diferenciar de manera clara y definida las 15 concentraciones evaluadas, en contraste con el comportamiento observado en el electrodo LIG A04.

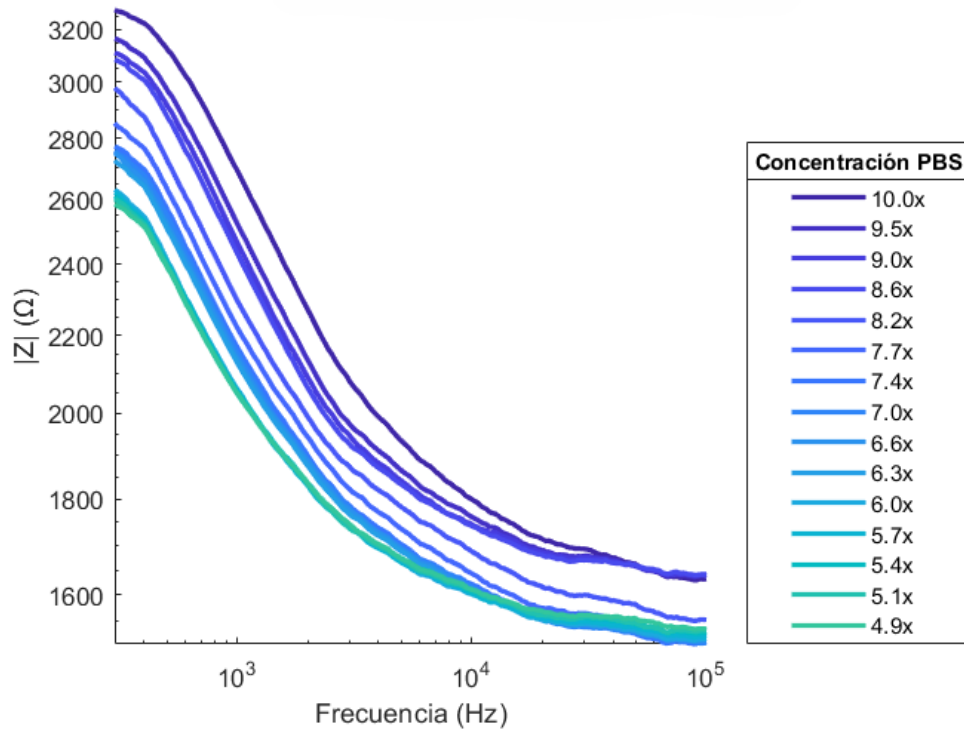
Figura 24. Curva de calibración del electrodo de óxido de iridio, magnitud de impedancia $|Z|$ (Ω) promedio vs. frecuencia (Hz) ($n = 3$).



Nota: promedio de tres mediciones ($n=3$).

De igual manera, se realizó una curva de calibración para el electrodo LIG Z01. En la Figura 25 se observa que, en comparación con la Figura 23, este electrodo permite una mejor diferenciación entre las mediciones de impedancia correspondientes a la mayoría de las concentraciones evaluadas. Además, la gráfica presenta un comportamiento más acorde con el modelo esperado descrito por Leal (Figura 12).

Figura 25. Curva de calibración del electrodo LIGE Z01, magnitud de impedancia $|Z|$ (Ω) promedio vs. frecuencia (Hz) ($n = 3$).



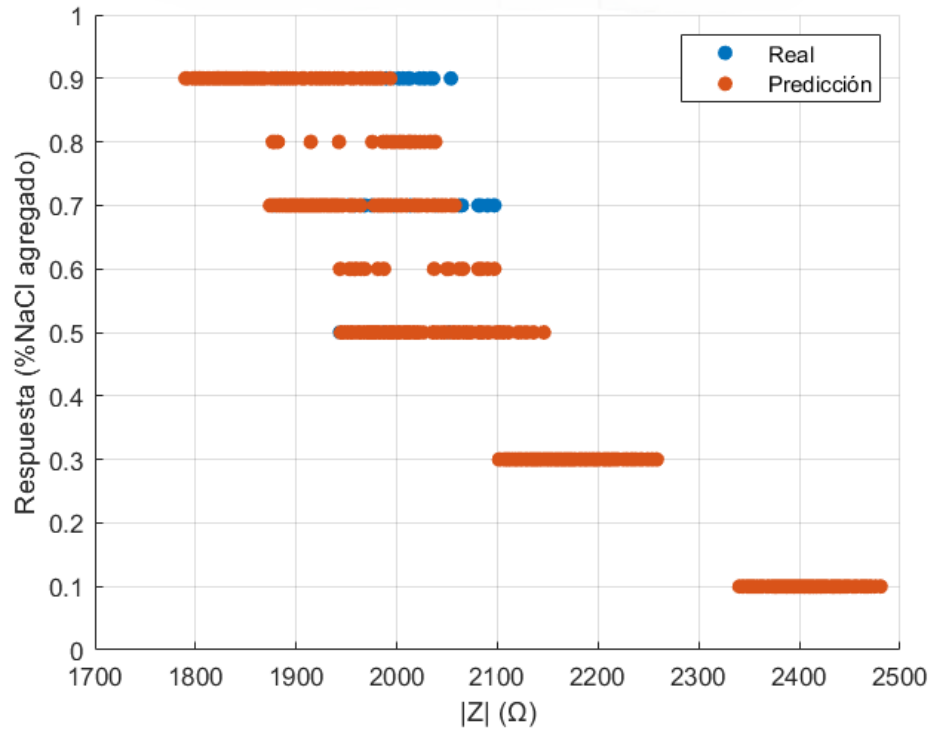
Nota: promedio de tres mediciones ($n=3$).

8.4. Machine Learning

8.4.1. Creación del modelo de machine learning

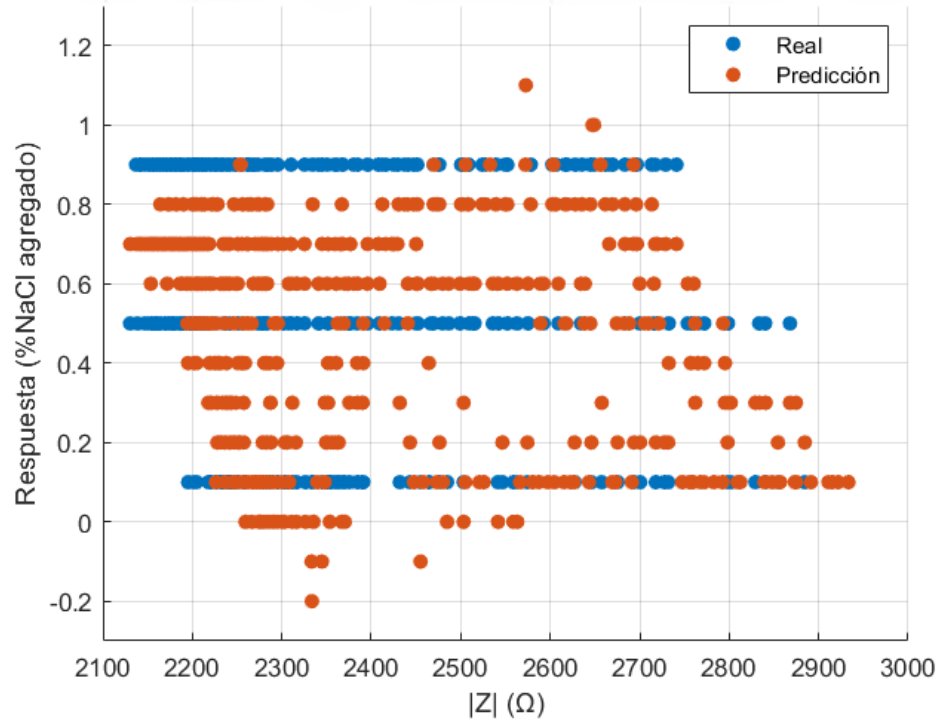
Para el análisis de PBS se utilizó un modelo de regresión exponencial basado en procesos gaussianos, el cual presentó un desempeño destacado con una raíz del error cuadrático medio (RMSE) de 0.035 y un coeficiente de determinación (R^2) de 0.98. Este modelo mostró la mejor correlación entre los valores reales y las predicciones, representados respectivamente en color azul y rojo en la Figura 26. Sin embargo, se observaron algunas discrepancias puntuales donde las predicciones no coincidieron exactamente con los valores reales.

Figura 26. Diagrama de respuesta de modelo de regresión exponencial de procesos gaussianos.



Se utilizó el modelo de regresión de procesos gaussianos con núcleo Matérn 5/2 para el análisis de orina artificial. Este modelo presentó un desempeño moderado, con una raíz del error cuadrático medio (RMSE) de 0.20 y un coeficiente de determinación (R^2) de 0.63. Aunque fue el modelo con mejor ajuste dentro de los evaluados para este conjunto de datos, los resultados muestran una diferencia considerable entre los valores predichos y los valores reales, lo cual se puede observar en la Figura 27, donde las predicciones (en rojo) se desvían significativamente de los valores reales (en azul) en varios casos.

Figura 27. Diagrama de respuesta de modelo Matern 5/2 de regresión de procesos gaussianos.



8.4.2. Verificación del funcionamiento del modelo de *machine learning*

Una vez entrenado el modelo de *machine learning* con los datos de PBS, se procedió a evaluar su capacidad de predicción utilizando un conjunto de datos de prueba que incluyó también datos de extrapolación. Esta evaluación permitió determinar el porcentaje de acierto al predecir correctamente la concentración de PBS con diferentes porcentajes de NaCl agregado. El modelo logró una precisión del 12.5 %, es decir, únicamente el 12.5 % del total de los datos fue clasificado correctamente en cuanto a la concentración correspondiente.

De manera análoga, se realizó la validación del modelo entrenado con datos de orina artificial, utilizando también un conjunto de prueba que incluyó datos de extrapolación. En este caso, el porcentaje de acierto fue del 12.9 %, evidenciando una baja capacidad predictiva al intentar estimar correctamente la concentración de NaCl en la orina artificial a partir de los datos de impedancia.

La deshidratación es una condición fisiológica que puede desencadenar desde síntomas leves como mareos, fatiga y deterioro cognitivo, hasta complicaciones severas como delirio, coma e incluso la muerte. Afecta a personas de todas las edades, siendo especialmente crítica en poblaciones vulnerables como niños y adultos mayores. En Guatemala, por ejemplo, se ha documentado una crisis relacionada con enfermedades renales, atribuida al consumo excesivo de bebidas azucaradas y energizantes en entornos laborales demandantes, lo cual conlleva a estados severos de deshidratación y, en muchos casos, a enfermedad renal crónica incluso en jóvenes [31].

Dada la importancia de una herramienta de monitoreo precisa y continua del estado de hidratación, este estudio se enfocó en el diseño y validación de un electrodo de grafeno inducido por láser (LIG) para la detección de niveles de hidratación a través del análisis de impedancia en orina artificial. La medición se realizó mediante espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) y se complementó con técnicas de *machine learning* para interpretar los datos y predecir las concentraciones de NaCl, como marcador del estado de hidratación. Esta estrategia representa un avance hacia el desarrollo de dispositivos no invasivos y de bajo costo para el monitoreo en tiempo real.

Al comparar el desempeño de los diferentes diseños de electrodos (A, B y C) en el rango de frecuencia de 300 Hz a 100 kHz (Figuras 17, 18, 19), así como en los diagramas de barras (Figura 20) y diagramas de caja y bigotes (Figura 21), se identificó que el diseño A, con dimensiones más pequeñas, presentó un comportamiento más consistente y menor variabilidad. Este resultado sugiere que la menor área del electrodo contribuye a una mayor capacitancia, lo cual reduce la influencia de esta sobre la impedancia total y permite una medición más confiable de la resistencia de acceso, como se espera en un modelo clásico de EIS [14].

Sin embargo, al realizar la curva de calibración del electrodo A04 con soluciones de PBS

de diferentes concentraciones (Figura 23), se observó que este no permitía distinguir adecuadamente entre las distintas concentraciones, ni mostraba el comportamiento esperado según el modelo propuesto por Leal [30] (Figura 12). En contraste, al utilizar un electrodo de vidrio recubierto con dióxido de iridio como control (Figura 24), se logró una separación clara entre las concentraciones, con una respuesta coherente: menor impedancia para concentraciones más altas de electrolitos, y mayor impedancia para concentraciones más bajas [32], [33].

Debido a estos hallazgos, se diseñó un electrodo LIG análogo al electrodo de control, y al realizar la curva de calibración correspondiente (Figura 25), se obtuvo una mejora notable con respecto al diseño original. Si bien la separación entre concentraciones no fue tan marcada como con el electrodo de vidrio, los resultados indicaron un comportamiento más acorde con lo esperado. Esta diferencia puede atribuirse a la reproducibilidad aún limitada del proceso de fabricación de electrodos LIG en la Universidad del Valle, en contraste con los métodos más estandarizados utilizados para los electrodos comerciales de óxido de iridio.

Se sugiere que los diseños iniciales de los electrodos no fueron tan eficientes en comparación con el electrodo análogo basado en dióxido de iridio, posiblemente debido a la complejidad geométrica de sus estructuras. Esta complejidad podría haber generado un campo eléctrico menos uniforme y un flujo de corriente menos controlado. Adicionalmente, otros factores podrían haber influido negativamente en el rendimiento de los electrodos LIG. Por ejemplo, el láser utilizado podría no haber estado correctamente calibrado o incluso contaminado, ya que también se emplea en el corte de otros materiales como acrílico o MDF (*medium density fiberboard*), lo cual podría haber afectado la calidad del grafeno inducido.

En el caso del modelo entrenado con soluciones de PBS, se utilizó la herramienta *Regression Learner* de MATLAB para seleccionar el algoritmo con mejor rendimiento. El modelo que presentó mejores resultados fue la regresión exponencial de procesos gaussianos, el cual alcanzó un coeficiente de determinación $R^2 = 0.98$, lo que indica que explica el 98 % de la varianza en los datos de entrenamiento (Figura 26). Además, obtuvo una raíz del error cuadrático medio (RMSE) de 0.035, lo que indica una baja dispersión de los errores de predicción.

No obstante, al validar este modelo con datos de prueba —que incluían tanto concentraciones utilizadas durante el entrenamiento como tres soluciones nuevas para evaluar su capacidad de extrapolación— se observó un porcentaje de acierto de solo 12.5 %. Este bajo rendimiento puede explicarse por discrepancias notables entre los valores de impedancia registrados durante el entrenamiento y los obtenidos en las pruebas. Por ejemplo, para la solución con 0.1 % de NaCl añadido, los valores de entrenamiento se situaban en torno a 2.4k Ω , mientras que los datos de prueba mostraron un promedio de 12.3k Ω ; para la concentración de 0.3 % de NaCl, los valores de entrenamiento estaban alrededor de 2.2k Ω , pero los de prueba rondaban los 10.4k Ω .

Además, los datos de prueba no siguieron el patrón esperado, según el cual la impedancia debería disminuir con el aumento en la concentración de NaCl. Las soluciones de prueba con concentraciones de 0.1 %, 0.2 %, 0.3 %, 0.5 %, 0.6 %, 0.7 %, 0.9 % y 1.0 % mostraron valores promedio de 12.3k Ω , 7.8k Ω , 10.4k Ω , 9.0k Ω , 7.5k Ω , 8.7k Ω , 8.9k Ω y 7.5k Ω , respectivamente, sin una tendencia clara. Estas inconsistencias podrían deberse a múltiples factores. Primero, las mediciones de entrenamiento y prueba se realizaron en días y ubicaciones distintas, lo que implica posibles variaciones de temperatura, parámetro crí-

tico en mediciones electroquímicas, ya que afecta directamente la conductividad iónica y la respuesta de impedancia [14]. Segundo, una distribución no uniforme del campo eléctrico podría haber distorsionado la respuesta del sistema. Por último, la acumulación de residuos o la cristalización de PBS en los electrodos, así como su degradación mecánica por el uso repetido con pinzas, podrían haber introducido ruido o variabilidad en los datos.

Asimismo, se utilizó *Regression Learner* para entrenar un modelo con datos obtenidos de orina artificial con diferentes concentraciones de NaCl. En este caso, el mejor desempeño lo presentó el modelo de regresión de procesos gaussianos con núcleo Matern 5/2, que logró un $R^2 = 0.63$ y un RMSE de 0.20 (Figura 27). Aunque estas métricas reflejan un rendimiento aceptable, son inferiores a las obtenidas con soluciones de PBS, lo que puede atribuirse a la limitada cantidad de datos de entrenamiento (24 observaciones) y a un conjunto restringido de concentraciones (0.1 %, 0.5 % y 0.9 %).

Durante la validación, que incluyó dos nuevas concentraciones para evaluar la extrapolación del modelo, se obtuvo un porcentaje de acierto de 12.9 %, similar al del modelo anterior. Esta baja capacidad predictiva puede deberse a la falta de robustez del modelo, así como a la posible presencia de residuos de PBS o degradación parcial de los electrodos LIG, los cuales ya habían sido utilizados en múltiples mediciones previas. La reutilización frecuente de los electrodos puede causar desprendimientos de grafeno, contaminación de las soluciones o alteraciones en la interfaz electrodo-electrolito.

Pese a estos desafíos, los resultados sugieren que los electrodos de grafeno inducido por láser (LIG) tienen potencial como herramienta para el monitoreo de concentración de sodio en soluciones salinas como el PBS, y eventualmente en orina artificial. Estos hallazgos coinciden con estudios previos, como el de Fajardo et al., en el que se emplearon electrodos LIG para predecir la osmolaridad de orina mediante un sistema de EIS portátil, mostrando la viabilidad de esta tecnología para aplicaciones biomédicas no invasivas [32].

Para mejorar la consistencia y reproducibilidad de los resultados, se recomienda realizar las mediciones en condiciones controladas de temperatura y ambiente, preferiblemente en un mismo lugar y en un periodo continuo, a fin de evitar efectos asociados a la degradación de los electrodos o a la contaminación cruzada entre mediciones [14].

Dado que los modelos de *machine learning* mostraron limitaciones en cuanto a precisión y robustez, se recomienda ampliar el conjunto de datos en futuros trabajos, incluyendo una mayor variedad de concentraciones y un número mayor de observaciones. Además, sería conveniente implementar un protocolo de fabricación más estandarizado para los electrodos LIG, ya que actualmente existen variaciones incluso entre dispositivos producidos bajo las mismas condiciones.

Una vez se optimicen estos aspectos, los electrodos LIG, en combinación con modelos predictivos mejor entrenados, podrían convertirse en una alternativa económica, portable y viable para el monitoreo continuo del estado de hidratación, con aplicaciones en contextos clínicos, deportivos o de autocontrol en poblaciones vulnerables.

- Se diseñó y fabricó un electrodo de grafeno inducido por láser (LIGE) con dimensiones de 20.0 mm de ancho y alto, y un diámetro de 3.0 mm para el contraelectrodo y el electrodo de trabajo. Estos electrodos fueron creados sobre una hoja de Kapton utilizando una cortadora láser, logrando así la formación del grafeno. El electrodo LIG con estos parámetros fue capaz de realizar mediciones de espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS) en soluciones de PBS y orina artificial.
- Se empleó el electrodo de grafeno inducido por láser para realizar mediciones de la respuesta de impedancia en soluciones salinas (PBS) y orina artificial con diferentes concentraciones de NaCl añadido, lo que permitió calibrar el sistema de medición.
- Se aplicaron algoritmos de *machine learning* basados en la impedancia y frecuencia medida en la solución para predecir el porcentaje de NaCl añadido. En el modelo realizado con soluciones de PBS, se obtuvo una raíz de error cuadrático medio (RMSE) de 0.035 y un coeficiente de determinación (R^2) de 0.98. Por otro lado, en el modelo basado en orina artificial, se obtuvo un RMSE de 0.20 y un R^2 de 0.63.
- Es necesario establecer un proceso de desarrollo estandarizado para los electrodos inducidos por láser, con el fin de asegurar su reproducibilidad. Una vez alcanzada esta estandarización y desarrollo de un dispositivo basado en este diseño, sería posible utilizarlo en contextos clínicos y de autocontrol para monitorear el estado de hidratación en tiempo real, especialmente en poblaciones vulnerables, debido a su portabilidad y bajo costo de producción.

- Estandarizar el proceso de fabricación de los electrodos inducidos por láser es recomendable para asegurar la reproducibilidad de los resultados obtenidos utilizando una máquina láser específica cada vez que se realicen electrodos nuevos y asegurarse que el láser se encuentre limpio y calibrado.
- Hacer un estudio más profundo acerca del diseño de los electrodos y modificarlo acorde a las herramientas que se tengan disponibles para la medición y así asegurar una toma de datos adecuada. Se sugiere ajustar el diseño al tamaño de las pinzas que se conectarán a este para que no haya interferencias entre grupos de electrodos y colocar un área más amplia para colocar el aislamiento para asegurarse que el Kapton *Tape* no tenga contacto con las soluciones. Además, el tamaño del electrodo de trabajo podría diseñarse de un menor tamaño que del contraelectrodo para minimizar su contribución a la impedancia del dispositivo.
- Realizar el diseño de un dispositivo que pueda sostener el electrodo durante las mediciones para disminuir la posibilidad de degradación de este por el contacto e intercambio entre electrodos. Este dispositivo debe permitir que el electrodo esté sujeto de manera precisa y estable, evitando presiones o movimientos innecesarios que puedan afectar la integridad del grafeno.
- Realizar las mediciones de espectroscopía de impedancia electroquímica en un ambiente con temperatura controlada y, para la recolección de datos de entrenamiento y prueba para un modelo de *machine learning*, se recomienda realizar la toma de datos en un mismo día y con un electrodo que no haya sido utilizado con anterioridad.
- Realizar un gráfico de contorno de precisión con cada combinación de electrodos y cables que represente los niveles de precisión de la magnitud y el ángulo de fase de la impedancia en función de la frecuencia y la magnitud de la impedancia para determinar si la muestra de ensayo de interés cae en el área con la precisión adecuada.
- Ampliar el número de muestras entre 50 y 100 para el entrenamiento de ambos modelos de machine learning con el objetivo de que tenga una mayor robustez y que este pueda

predecir el comportamiento de los datos con mayor precisión. También es recomendable tomar una mayor cantidad de muestras para la validación de los modelos de *machine learning*.

- Hacer pruebas tanto añadiendo cloruro de sodio a las soluciones como potasio, para así determinar la relevancia de ambos electrolitos en los niveles de hidratación y verificar si uno es más importante que otro o si podrían utilizarse combinados.

-
- [1] A. Adan, “Cognitive Performance and Dehydration,” *Journal of the American College of Nutrition*, vol. 31, págs. 71-78, abr. de 2012. DOI: 10.1080/07315724.2012.10720011.
 - [2] C. J. Edmonds, E. Foglia, P. Booth, C. H. Fu y M. Gardner, “Dehydration in older people: A systematic review of the effects of dehydration on health outcomes, health-care costs and cognitive performance,” *Archives of Gerontology and Geriatrics*, vol. 95, pág. 104380, jul. de 2021. DOI: 10.1016/j.archger.2021.104380.
 - [3] A. Patel, J. Mihalik, A. Notebaert, K. Guskiewicz y W. Prentice, “Neuropsychological Performance, Postural Stability, and Symptoms After Dehydration,” *Journal of Athletic Training*, vol. 42, págs. 66-75, 2007. dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1896077/> (visitado 03-04-2024).
 - [4] K. E. D’Anci, F. Constant e I. H. Rosenberg, “Hydration and cognitive function in children,” *Nutrition reviews*, vol. 64, págs. 457-64, 2006. DOI: 10.1301/nr.2006.oct.457-464. dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17063927>.
 - [5] S. A. Kavouras, “Assessing hydration status,” *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, vol. 5, págs. 519-524, sep. de 2002. DOI: 10.1097/00075197-200209000-00010.
 - [6] L. E. Armstrong, C. M. Maresh, J. W. Castellani et al., “Urinary Indices of Hydration Status,” *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, vol. 4, págs. 265-279, sep. de 1994. DOI: 10.1123/ijnsn.4.3.265. dirección: <https://journals.humankinetics.com/view/journals/ijnsnem/4/3/article-p265.xml>.
 - [7] L. E. Armstrong, J. A. Herrera Soto, F. T. Hacker, D. J. Casa, S. A. Kavouras y C. M. Maresh, “Urinary Indices during Dehydration, Exercise, and Rehydration,” *International Journal of Sport Nutrition*, vol. 8, págs. 345-355, dic. de 1998. DOI: 10.1123/ijnsn.8.4.345.
 - [8] H. J. Miller, “Dehydration in the Older Adult,” *Journal of Gerontological Nursing*, vol. 41, págs. 8-13, sep. de 2015. DOI: 10.3928/00989134-20150814-02. dirección: <https://journals.healio.com/doi/10.3928/00989134-20150814-02>.

- [9] I. A. Laing y C. M. Wong, "Hypernatraemia in the first few days: is the incidence rising?" *Archives of Disease in Childhood - Fetal and Neonatal Edition*, vol. 87, F158-F162, nov. de 2002. DOI: 10.1136/fn.87.3.F158. dirección: <https://fn.bmj.com/content/87/3/F158>.
- [10] A. C. Levine, S. P. Shah, I. Umulisa et al., "Ultrasound Assessment of Severe Dehydration in Children With Diarrhea and Vomiting," *Academic Emergency Medicine*, vol. 17, págs. 1035-1041, oct. de 2010. DOI: 10.1111/j.1553-2712.2010.00830.x.
- [11] B. J. Rolls y P. A. Phillips, "Aging and disturbances of thirst and fluid balance," *Nutrition Reviews*, vol. 48, págs. 137-144, mar. de 1990. DOI: 10.1111/j.1753-4887.1990.tb02915.x. dirección: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2406645>.
- [12] Z. Zhang, J. Liu, Y. Cheng, J. Chen, H. Zhao y X. Ren, "Urine Analysis has a Very Broad Prospect in the Future," *Frontiers in Analytical Science*, vol. 1, feb. de 2022. DOI: 10.3389/frans.2021.812301.
- [13] A. S. Jaeger y M. A. Barón, "Uso de la bioimpedancia eléctrica para la estimación de la composición corporal en niños y adolescentes," *Anales Venezolanos de Nutrición*, vol. 22, págs. 105-110, dic. de 2009.
- [14] S. Wang, J. Zhang, O. Gharbi, V. Vivier, M. Gao y M. E. Orazem, "Electrochemical impedance spectroscopy," *Nature Reviews Methods Primers*, vol. 1, págs. 1-21, jun. de 2021. DOI: 10.1038/s43586-021-00039-w. dirección: <https://www.nature.com/articles/s43586-021-00039-w>.
- [15] K. Settu, P.-T. Chiu e Y.-M. Huang, "Laser-Induced Graphene-Based Enzymatic Biosensor for Glucose Detection," *Polymers*, vol. 13, pág. 2795, ago. de 2021. DOI: 10.3390/polym13162795.
- [16] F. Wang, K. Wang, B. Zheng et al., "Laser-induced graphene: preparation, functionalization and applications," *Materials Technology*, vol. 33, págs. 340-356, mar. de 2018. DOI: 10.1080/10667857.2018.1447265.
- [17] E. Jéquier y F. Constant, "Water as an essential nutrient: the physiological basis of hydration," *European journal of clinical nutrition*, vol. 64, págs. 115-23, sep. de 2009. DOI: 10.1038/ejcn.2009.111.
- [18] C. O'Brien, A. J. Young y M. N. Sawka, "Bioelectrical Impedance to Estimate Changes in Hydration Status," *International Journal of Sports Medicine*, vol. 23, págs. 361-366, jul. de 2002. DOI: 10.1055/s-2002-33145.
- [19] P. Anastasio, M. Cirillo, L. Spitali, A. Frangiosa, R. M. Pollastro y N. G. De Santo, "Level of hydration and renal function in healthy humans," *Kidney International*, vol. 60, págs. 748-756, ago. de 2001. DOI: 10.1046/j.1523-1755.2001.060002748.x.
- [20] A. L. Bard y L. R. Faulkner, *Electrochemical methods: Fundamentals and applications*. 2.^a ed. John Wiley Sons, 2001.
- [21] S. Srinivasan, "Electrode/Electrolyte Interfaces: Structure and Kinetics of Charge Transfer," *Fuel Cells*, págs. 27-92, 2006. DOI: 10.1007/0-387-35402-6_2.
- [22] M. Mahdi, A. Mahdi, S. J. Payne y D. A. Howey, "Identifiability of Generalized Randles Circuit Models," *IEEE Transactions on Control Systems and Technology*, vol. 25, págs. 2112-2120, nov. de 2017. DOI: 10.1109/tcst.2016.2635582.

- [23] E. P. Randviir y C. E. Banks, “Electrochemical Impedance Spectroscopy: An Overview of Bioanalytical Applications,” *Analytical Methods*, vol. 5, pág. 1098, 2013. DOI: 10.1039/c3ay26476a.
- [24] J. R. Macdonald y W. B. Johnson, “Fundamentals of Impedance Spectroscopy,” *Impedance Spectroscopy*, págs. 1-20, mar. de 2018. DOI: 10.1002/9781119381860.ch1.
- [25] A. K. Geim, “Graphene: Status and Prospects,” *Science*, vol. 324, págs. 1530-1534, jun. de 2009. DOI: 10.1126/science.1158877.
- [26] A. K. Geim y K. S. Novoselov, “The rise of graphene,” *Nature Materials*, vol. 6, págs. 183-191, mar. de 2007. DOI: 10.1038/nmat1849.
- [27] I. El Naqa y M. J. Murphy, “What Is Machine Learning?” *Machine Learning in Radiation Oncology*, vol. 1, págs. 3-11, 2015. DOI: 10.1007/978-3-319-18305-3_1. dirección: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-319-18305-3_1.
- [28] T. J. Cleophas y A. H. Zwinderman, *Machine Learning in Medicine Part Two*. Dordrecht Springer Netherlands, 2013.
- [29] B. Timmer, W. Sparreboom, W. Olthuis, P. Bergveld y A. van den Berg, “Optimization of an electrolyte conductivity detector for measuring low ion concentrations,” *Lab on a Chip*, vol. 2, pág. 121, 2002. DOI: 10.1039/b201225a.
- [30] J. Leal, “Supercapacitive electrodes for direct current stimulation: development, characterization, and application in cellular electrotaxis,” Tesis doct., Universidad Albert-Ludwigs de Friburgo de Brisgovia, 2023.
- [31] A. Andres, *Raptor y tramadol: la “bomba” en la agroindustria que daña los riñones*, No Ficción, oct. de 2024. dirección: <https://no-ficcion.com/hasta-que-los-riñones-aguanten/>.
- [32] *Laser-induced Graphene Electrodes for Urine Osmolarity Estimation through Electrochemical Impedance Spectroscopy*, 2024 IEEE Latin American Electron Devices Conference (LAEDC), IEEE, mayo de 2024, págs. 1-4. DOI: 10.1109/laedc61552.2024.10555736.
- [33] S. F. Cogan, “Neural Stimulation and Recording Electrodes,” *Annual Review of Biomedical Engineering*, vol. 10, págs. 275-309, ago. de 2008. DOI: 10.1146/annurev.bioeng.10.061807.160518.