

Salamanca, Gto., a 7 de Septiembre del 2020.

M. en I. HERIBERTO GUTIÉRREZ MARTÍN
JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
PRESENTE.-

Por medio de la presente, se otorga autorización para proceder a los trámites de impresión, empastado de tesis y titulación al alumno(a) Laura Giselle Martínez Ramírez del **Programa de Maestría en** Ingeniería Eléctrica (Instrumentación y sistemas digitales) y cuyo número de **NUA** es: 755477 del cual soy director. El título de la tesis es: Desarrollo de biosensor inteligente basado en FPGA para la caracterización química de alimentos a través de técnicas de análisis espectral.

Hago constar que he revisado dicho trabajo y he tenido comunicación con los sinodales asignados para la revisión de la tesis, por lo que no hay impedimento alguno para fijar la fecha de examen de titulación.

Dr. Juan Manuel Sierra Hernández
NOMBRE Y FIRMA
DIRECTOR DE TESIS
SECRETARIO

ATENTAMENTE

Dr. Arturo Alfonso Fernández Jaramillo
NOMBRE Y FIRMA
DIRECTOR DE TESIS

Mario A. Ibarra M.
Dr. Mario Alberto Ibarra Manzano
NOMBRE Y FIRMA
PRESIDENTE

David Camarena Martínez
Dr. David Camarena Martínez
NOMBRE Y FIRMA
VOCAL



UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

CAMPUS IRAPUATO – SALAMANCA
DIVISION DE INGENIERIAS

Desarrollo de biosensor inteligente basado en FPGA para
la caracterización química de alimentos a través de
técnicas de análisis espectral.

TESIS PROFESIONAL

Que para obtener el grado de:
Maestro en Ingeniería Eléctrica

PRESENTA:

Ing. Laura Giselle Martínez Ramírez

DIRECTORES:

Dr. Juan Manuel Sierra Hernández
Dr. Arturo Alfonso Fernández Jaramillo

SALAMANCA, GTO.

Agosto, 2020

Agradecimientos

A mi familia, mi madre y hermano por su amor, paciencia y cariño en todo momento de mi vida, de igual manera admiro su dedicación y esfuerzo por brindarme su apoyo siempre, impulsándome a seguir adelante y acompañándome en mis sueños y metas. A mis asesores, el Dr. Juan Manuel por lo consejos, apoyo y paciencia que me ha brindado, por confiar en mi y permitirme seguir trabajando en su equipo, al Dr. Arturo por apoyarme y brindarme de sus consejos y conocimientos durante el desarrollo de este trabajo. A todas aquellas personas importantes que estuvieron a mi lado durante esta etapa, apoyándome con su paciencia, tiempo y cariño. A mis compañeros Cesar, Sigi, Ceci y Alex que terminaron siendo muy buenos amigos, por todos los buenos momentos compartidos durante la maestría.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por apoyarme con la asignación de una beca para concluir mis estudios de un posgrado en Ingeniería Eléctrica.



A la División de Ingenierías Campus Irapuato-Salamanca de la Universidad de Guanajuato, por darme una formación profesional, y a todos los maestros que contribuyeron en mi formación universitaria preparándome para ser un gran profesionalista.

Al posgrado de Ingeniería Eléctrica de la División de Ingenierías Campus Irapuato-Salamanca por brindarme su apoyo durante la realización de mis estudios de maestría, y durante el desarrollo de mi proyecto de investigación.



A la Universidad Politécnica de Sinaloa (UPSIN) por haberme permitido realizar una estancia y brindarme su apoyo, así mismo utilizar sus laboratorios para desarrollar pruebas de mi proyecto de investigación.

Índice general

Agradecimientos.....	2
Agradecimientos.....	3
Índice de figuras	6
Índice de tablas.....	7
Lista de acrónimos.....	8
Capítulo I	9
Introducción General	9
1.1 Antecedentes y Justificación	9
1.2 Planteamiento del problema.....	11
1.3 Hipótesis general.....	12
1.4 Objetivo general.....	12
1.5 Objetivos específicos	12
1.6 Descripción de capítulos	13
Capítulo II	14
Marco Teórico	14
2.1 Biosensor.....	14
2.1.1 Clasificación de biosensores	15
2.1.2 Transductores electroquímicos.....	15
2.2 Bioimpedancia	16
2.2.1 Tipos de Bioimpedancia.....	17
2.2.2 Fuente de Howland	18
2.3 Características bioquímicas en alimentos.....	21
2.4 Papa (<i>Solanum Tuberosum</i>)	22
2.5 Adquisición de Datos	24
2.5.1 Convertidor DAC	24
2.5.2 Convertidor ADC.....	25
2.6 Procesamiento Digital de Señales	26
2.6.1 Transformada de Fourier.....	27
2.6.2 Transformada Wavelet.....	28
2.6.2.1 Algoritmo de Mallat	30

2.7	Análisis espectral.....	31
Capítulo III		32
Metodología		32
3.1	Instrumentación de la fuente de Howland	32
3.2	Instrumentación basada en FPGA	35
3.3	Dispositivo DAQ.....	36
3.4	Tratamiento de la muestra	37
3.3	Análisis gravimétrico.....	38
3.4	Caracterización del biosensor	42
Capítulo IV		45
Resultados y Discusión		45
4.1	Análisis de resultados.....	45
4.2	Procesamiento de señales en mediciones obtenidas	50
4.3	Prueba de repetibilidad.....	58
4.4	Conclusiones	61
Referencias		62

Índice de figuras

FIGURA 1. COMPONENTES DE UN SENSOR.	14
FIGURA 2. DERIVACIÓN GRÁFICA DEL ÁNGULO DE FASE Y SU RELACIÓN CON LA RESISTENCIA (R), LA REACTANCIA(X_C) Y LA IMPEDANCIA (Z) [11].	16
FIGURA 3. CONFIGURACIÓN BÁSICA DE LA FUENTE DE HOWLAND.	19
FIGURA 4. COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA PAPA.	23
FIGURA 5. CONVERSIÓN DE UNA SEÑAL DIGITAL EN UNA SEÑAL ANALÓGICA [30].....	24
FIGURA 6. PROCESO DE UN CONVERTIDOR ANALÓGICO-DIGITAL (A/D) (PROAKIS J. G. ,1996).	25
FIGURA 7. DIAGRAMA DEL ALGORITMO DE MALLAT.....	30
FIGURA 9. RESPUESTA DE CORRIENTE CON CARGA DE 22.5kW.	33
FIGURA 10. RESPUESTA DE CORRIENTE CON CARGA DE 100kW.	33
FIGURA 11. ELECTRODOS [34].....	34
FIGURA 12. DIAGRAMA A BLOQUES DE IMPLEMENTACIÓN EN FPGA.....	35
FIGURA 13. SEÑAL CHIRP.	37
FIGURA 14. CHAROLAS EN ESTUFA DE DESECACIÓN.	39
FIGURA 15. DESECADORES.	39
FIGURA 16. BALANZA DE PRECISIÓN.	40
FIGURA 17. CHAROLA CON MUESTRA DE PAPA.	40
FIGURA 18. MUESTRAS SECAS DE PAPA.	41
FIGURA 19. DIAGRAMA A BLOQUES DE IMPLEMENTACIÓN DEL BIOSENSOR.....	43
FIGURA 20. IMPLEMENTACIÓN DEL BIOSENSOR.....	43
FIGURA 21. MUESTRA DE PAPA EN ELECTRODOS.	44
FIGURA 22. SEÑALES DE REFERENCIA Y SALIDA DE LA MUESTRA.	49
FIGURA 23. FFT DE MEDICIONES OBTENIDAS PARA LA PRUEBA NO.1.	50
FIGURA 25. FFT DE MEDICIONES OBTENIDAS EN ALTAS FRECUENCIAS PARA LA PRUEBA NO.1.....	52
FIGURA 26. ANÁLISIS WAVELET PARA MUESTRAS DE PRUEBA NO.1.	53
FIGURA 27. DETALLE 1 MEDIANTE ANÁLISIS WAVELET.	53
FIGURA 30. ANÁLISIS WAVELET PARA MUESTRAS DE PRUEBA NO.2.....	55
FIGURA 31. DETALLE 1 MEDIANTE ANÁLISIS WAVELET.	56
FIGURA 32. FTT DE MEDICIONES OBTENIDAS PARA LA PRUEBA NO.3.....	56
FIGURA 33. FTT DE MEDICIONES OBTENIDAS EN ALTAS FRECUENCIAS PARA LA PRUEBA NO.3.....	57
FIGURA 34. DETALLE 1 MEDIANTE ANÁLISIS WAVELET.	57
FIGURA 35. PRUEBA DE REPETIBILIDAD CON REGLA DE UNA-SIGMA Y TRES-SIGMA PARA MEDICIONES CON RESPUESTA DE BAJAS FRECUENCIAS.....	59
FIGURA 36. PRUEBA DE REPETIBILIDAD CON REGLA DE UNA-SIGMA Y TRES-SIGMA PARA MEDICIONES CON RESPUESTA DE ALTAS FRECUENCIAS.....	60

Índice de tablas

TABLA 1.- Criterios de clasificación de los biosensores (Rumayor, V. G., 2005).

TABLA 2.- Composición nutricional de la papa (Burgos G, 2020).

TABLA 3.- Especificaciones Delmhorst 30-E/C (Tequipment.net).

TABLA 4.- Material para procedimiento del análisis gravimétrico.

TABLA 5.- Resultados de acuerdo con el análisis gravimétrico.

TABLA 6.- Resultados de análisis gravimétrico para Prueba no.1.

TABLA 7.- Resultados de análisis gravimétrico para prueba no.2.

TABLA 8.- Resultados de análisis gravimétrico para prueba no.3.

TABLA 9.- Resultados de repetibilidad en respuestas de bajas frecuencias.

TABLA 10.-Resultados de repetibilidad en respuestas de altas frecuencias.

Lista de acrónimos

BI	Bioimpedancia.
BIE	Bioimpedancia Eléctrica.
BIS	Bioimpedancia Espectroscópica.
EIE	Espectroscopia de Impedancia Eléctrica.
MEB	Bioimpedancia Eléctrica Multifrecuencia.
ADC	Convertidor Analógico Digital.
DAQ	Data Acquisition System.
DC	Direct Current.
FFT	Fast Fourier Transform.
TDF	Discrete Fourier Transform.
DSP	Digital Signal Processor.
WDT	Wavelet Discrete Transform.
FIR	Finite Impulse Response.
LTI	Lineal Invariante en el Tiempo.

Capítulo I

Introducción General

Un biosensor es un dispositivo que se encarga de convertir la señal interpretada de una muestra biológica a una señal cuantificable. Uno de los casos más utilizados es para medir bioimpedancia, donde es necesario realizar la aproximación del sistema biológico al sistema eléctrico, por sus características el sensor es considerado como un método electroquímico y debido a que, en la industria alimentaria los métodos bioquímicos convencionales son de alto costo y tardados, se desea implementar una nueva forma de medir bioimpedancia.

1.1 Antecedentes y Justificación

El término biosensor comenzó a utilizarse a partir de 1977 cuando se desarrolló el primer dispositivo utilizando microorganismos vivos inmovilizados en la superficie de un electrodo sensible a amonio. Este dispositivo se utilizaba para detectar el aminoácido arginina y sus creadores lo denominaron “sensor bio-selectivo”. Posteriormente para acortar, se denominó “biosensor” y este término ha permanecido desde entonces para designar la unión entre un material biológico y un transductor físico. A partir de ese momento el diseño y las aplicaciones de los biosensores en distintos campos de la química analítica ha continuado creciendo [1].

Debido al aumento en la demanda y el cambio de hábitos alimenticios de la población, la producción masiva de alimentos enfrenta el reto analítico de asegurar su calidad fisicoquímica y microbiológica. La seguridad alimentaria, es el mecanismo que garantiza la trazabilidad de alimentos sanos e inofensivos, constituye el concepto central que relaciona la producción de alimentos y la salud pública. El análisis cualitativo y cuantitativo de alimentos se ha fortalecido por el desarrollo de potentes técnicas instrumentales de análisis; sin embargo, lo complicado de los procedimientos, los largos tiempos de análisis y los altos costos tecnológicos, llaman la atención para plantear estrategias innovadoras paralelas a las técnicas existentes. Por lo cual los biosensores son herramientas que disponen de mecanismos para el análisis de la composición de los alimentos, residuos de agroquímicos, toxinas, alérgenos, presencia de patógenos, materiales antinutrientes, presencia de organismos genéticamente modificados, control de procesos y contaminantes ambientales, entre otros, en tiempo real [2].

A través de la implementación de un biosensor se propone medir humedad en alimentos, en este caso en papa (*Solanum Tuberosum*) debido a que esta se compone aproximadamente de un 75% de agua [3], y es importante la consistencia y frescura del alimento, asegurando su calidad y cumplimiento con las reglas de exportación, incluso para obtener un control preciso en la cocción, es fundamental conocer el porcentaje de humedad.

Los métodos para determinar la humedad en productos agrícolas con elevados contenidos de almidón se clasifican en directos e indirectos. En los métodos directos el agua de la muestra se determina gravimétricamente a través de la pérdida de peso utilizando un equipo como el horno por un tiempo determinado, siendo los hornos de mayor uso: convección forzada, vacío o microondas, este método requiere pequeñas muestras homogéneas y el contenido de humedad puede ser medido en un rango

efectivo de 0,01% a 99,99% de agua [4], sin embargo estos métodos son destructivos, tardados y de alto costo.

Mediante técnicas como la espectroscopia de impedancia eléctrica (EIE) se puede determinar la madurez en frutos, estimar humedad y la densidad aparente, identificar adulteraciones en productos cárnicos y lácteos, determinar propiedades físico-química en todo tipo de matrices alimentarias, incluso para cuantificar microorganismos presentes en alimentos y en superficies de trabajo [5]. Esta técnica permite analizar las propiedades eléctricas de materiales, al inducir señales eléctricas alternas a diferentes frecuencias y medir las señales de respuesta [6]. Incluso resulta ser un método de gran potencial para utilizar en la industria de alimentos, con el fin de monitorear y controlar los procesos de calidad, debido a que es segura, no invasiva, rápida, portátil, de bajo costo y fácil de usar [7].

A través del método mencionado anteriormente para medir bioimpedancia, es posible implementar un biosensor para la identificación de características bioquímicas en la industria alimenticia, siendo una forma no invasiva en los alimentos y más eficaz en la medición en cuanto a tiempo y costos.

1.2 Planteamiento del problema

Actualmente los estándares de calidad en la industria alimenticia están siendo cada vez más altos. Las reglas de exportación y comercialización cada vez son más rigurosas. Por lo cual se ha generado la necesidad de producir nuevas maneras de comprobar la calidad de estos. Sin embargo, los análisis químicos convencionales normalmente son tardados, de alto costo y destructivos. Por lo cual se necesita la utilización de reactivos y tiempo para implementar las técnicas tradicionales.

Por lo anterior, es necesario generar nuevas técnicas de análisis de propiedades en los alimentos, donde el empleo de bioimpedancia y procesamiento digital de señales sería una respuesta adecuada para la industria alimentaria.

1.3 Hipótesis general

La implementación de una fuente de Howland para bioimpedancia, aunado a técnicas de procesamiento digital de señales integra un sensor inteligente para la cuantificación de contenido de agua en papa (*Solanum tuberosum*).

1.4 Objetivo general

Desarrollar un sensor inteligente de bioimpedancia para la identificación de características bioquímicas en la industria alimentaria, a través del análisis espectral con procesamiento digital de señales.

1.5 Objetivos específicos

- Implementar una fuente de corriente del tipo Fuente de Howland y probar su comportamiento de la corriente respecto a la frecuencia.
- Implementar el sistema de bioimpedancia y adquisición de la respuesta.
- Realizar mediciones por el método gravimétrico para calcular porcentaje de humedad en alimentos para la caracterización del biosensor.
- Realizar las pruebas necesarias para obtener repetibilidad en los resultados.
- Implementar técnicas de procesamiento digital de señales para interpretar los resultados.

1.6 Descripción de capítulos

El capítulo uno consiste en los antecedentes, justificación y el planteamiento del problema, describiendo el avance que han tenido los biosensores. Debido al aumento en la demanda para la industria alimentaria, esto para lograr una seguridad en los alimentos, además se menciona la hipótesis general y objetivos específicos de este trabajo.

El capítulo dos nos muestra la revisión de literatura, mencionando los temas esenciales que describen el funcionamiento de un biosensor, las características bioquímicas del alimento, técnicas de análisis y procesamiento digital de señales, con el objetivo de describir de una forma mas precisa la implementación en el siguiente capítulo.

El capítulo tres describe la metodología que se utilizo para implementar el biosensor basado en la fuente de Howland, además de mostrar la instrumentación, tratamiento de la muestra y caracterización del biosensor mediante el análisis gravimétrico.

Por último, en el capítulo cuatro se muestran los resultados obtenidos, se realiza el análisis y procesamiento de estos, y de igual forma se muestran pruebas realizadas para verificar la repetibilidad en las muestras, finalmente se lleva a cabo la discusión de los resultados.

Capítulo II

Marco Téorico

2.1 Biosensor

Un biosensor se define como el dispositivo que convierte la señal interpretada de un receptor biológico a una señal cuantificable. Este se compone de dos elementos: Bio-receptores y transductores. Los bio-receptores son elementos de reconocimiento biológico que consisten en un biocomponente inmovilizado que puede detectar el analito objetivo específico (por ejemplo, sustrato enzimático, ADN complementario, antígeno). La segunda y más importante parte del biosensor es el transductor, que convierte una señal bioquímica en una señal eléctrica, resultante de la interacción del analito con el bio-receptor. La intensidad de la señal que surge como resultado de la reacción bioquímica es directa o inversamente proporcional a la concentración de analito [8]. El diagrama esquemático de un sensor se muestra a continuación en la Figura 1.

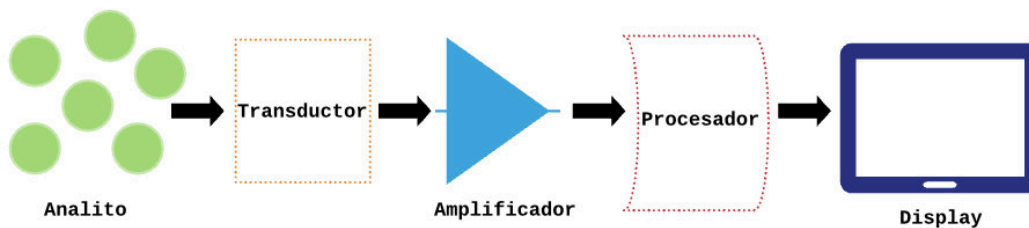


Figura 1. Componentes de un sensor.

2.1.1 Clasificación de biosensores

Los biosensores se pueden clasificar en función de: el tipo de interacción que se establece entre el elemento de reconocimiento y el analito; el método utilizado para detectar dicha interacción; la naturaleza del elemento de reconocimiento; o del sistema de transducción [1], los criterios de clasificación se pueden observar la Tabla 1.

TABLA 1.- Criterios de clasificación de los biosensores [1].

Tipo de interacción	Elemento de reconocimiento	Detección de la interacción	Sistema de transducción
Bioafinidad.	Enzima.	Directa.	Electroquímico.
Biocatalítica.	Orgánulo, tejido o célula completa.	Indirecta.	Óptico.
	Receptor biológico.		Piezoeléctrico.
	Anticuerpo.		Termométrico.
	Ácidos nucleicos.		Nanomecánico.
	PIM, PNA, aptámero.		

2.1.2 Transductores electroquímicos

Estos transductores transforman la señal que se produce por la interacción entre el analito y el sistema de reconocimiento en una señal eléctrica, y proporcionan una información analítica cuantitativa o semicuantitativa. Existen diferentes tipos de biosensores electroquímicos, pudiendo ser conductimétricos, potenciométricos, amperométricos e impedimétricos, en función de si los sistemas transductores detectan cambios en la conductividad, en el potencial, en una corriente generada o en la impedancia [9]. Siendo este el sistema de transducción ideal para implementar en sensores de bioimpedancia.

2.2 Bioimpedancia

La bioimpedancia representa la oposición de un medio biológico al paso de una corriente alterna, y tiene los componentes de resistencia y reactancia. La resistencia está condicionada por la resistividad de los diferentes tejidos a la conducción de la corriente eléctrica: los tejidos graso y óseo son malos conductores y la corriente circula mejor por los fluidos intra y extracelulares, que son soluciones electrolíticas. La reactancia es debida al efecto aislante de las membranas celulares, que se comportan como condensadores que se cargan y descargan al paso de la corriente [10].

La impedancia (Z) está en función de 2 componentes o vectores: resistencia (R) y reactancia (X_c) (Figura. 2). Estos 2 vectores estarían de acuerdo a la ecuación $Z^2 = R^2 + X_c^2$. La R representa la resistencia de los tejidos al paso de una corriente eléctrica y X_c es la oposición adicional debida a la capacitancia de esos tejidos y las membranas celulares (es el llamado componente dieléctrico), y estos valores dependen de la frecuencia de la corriente eléctrica. La reactancia se debe al efecto eléctrico de la carga ofrecida durante períodos cortos, por el componente lipídico de las membranas de la masa celular [11].

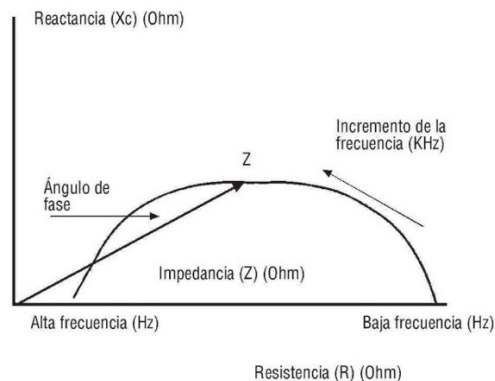


Figura 2. Derivación gráfica del ángulo de fase y su relación con la resistencia (R), la reactancia(X_c) y la impedancia (Z) [11].

2.2.1 Tipos de Bioimpedancia

En función de la frecuencia de la corriente alterna aplicada, la Bioimpedancia Eléctrica (BIE) puede clasificarse en BIE monofrecuencia y BIE multifrecuencia.

La BIE monofrecuencia está basada en la medida de la R, Xc y ángulo de fase a una frecuencia específica, por considerar que, a esta longitud de onda, el ángulo de fase y la reactancia son máximos, los resultados de la impedancia se basan en modelos matemáticos teóricos y ecuaciones empíricas.

La BIE multifrecuencia consiste en la determinación de la resistencia, la reactancia y el ángulo de fase, con frecuencias distintas. Estos sistemas son precisos para diferenciar variaciones en los niveles de hidratación [11].

Con base en lo anterior, disponemos de tres sistemas diferentes para el análisis de BIE: los basados en fórmulas, la impedancia vectorial y espectroscopia de impedancia eléctrica. Los dos primeros están basados en los modelos de monofrecuencia, mientras que la BIS lo hace en el modelo de multifrecuencia [12].

Debido a las características que presenta la BIE multifrecuencia, técnicas como la espectroscopia de impedancia eléctrica (EIE), resultan ser útiles en el área de alimentos, es decir permiten el análisis de las propiedades de los materiales y sistemas, al aplicarles señales eléctricas alternas de diferentes frecuencias (voltaje o corriente) y medir las señales de salida eléctrica correspondientes (corriente o voltaje), esta relación entre el voltaje la corriente de la señal se llama impedancia y depende de la frecuencia [6]. De esta forma se utiliza para caracterizar tejidos de verduras, frutas y cárnicos en los cultivos celulares y procesos de fermentación, con el fin de medir la concentración de biomasa, y para correlacionar propiedades físico-químicas de los alimentos tratados térmicamente [5].

De igual forma, para trabajar con un sistema de análisis de BIE, es fundamental contar con una fuente de corriente, siendo un elemento activo capaz de generar energía, suministrando corriente al material para medir su respuesta, y para aplicaciones de bioimpedancia existen diferentes topologías de fuentes de corriente, sin embargo, la que presenta características suficientes y resulta adecuada es la Fuente de Howland.

2.2.2 Fuente de Howland

La fuente de Howland es una fuente de corriente controlada por tensión, esta utiliza un amplificador operacional con realimentación inversora y no inversora, como se observa en la Figura 3 la configuración básica de la fuente de Howland. Entre otras fuentes, como lo son la fuente basada en espejo de corriente (the current-mirror current source), amplificador inversor de transconductancia, y amplificador no inversor de transconductancia, las que tienen un mejor desempeño son la fuente de Howland y el espejo de corriente, sin embargo, la única diferencia entre estas, es el número de amplificadores que utiliza, por lo que es conveniente implementar una fuente de Howland debido a que solo utiliza un amplificador y el espejo de corriente utiliza tres amplificadores [14].

Además, es importante mencionar que debemos contar con una fuente de corriente con una impedancia relativamente alta, con la finalidad de poder modificar la impedancia de carga y sin que se modifique la corriente.

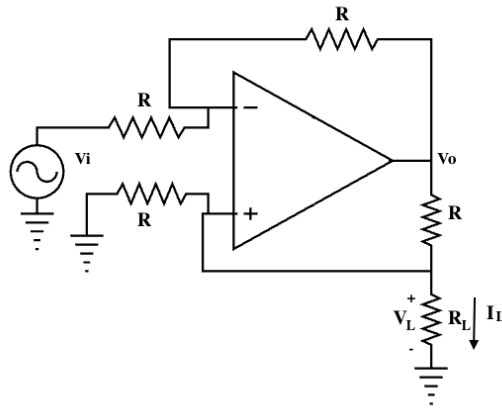


Figura 3. Configuración básica de la fuente de Howland.

Teniendo en cuenta la figura 3, se plantean las siguientes ecuaciones para obtener la ecuación característica de la fuente de Howland (Ecuación 6) donde la corriente de salida esta en función de la tensión que idealmente es independiente de la impedancia de carga (R_L), esta ecuación tiene una relación similar a la ley de ohm [14].

Obteniendo la ecuación del nodo V-:

$$\frac{v - v_i}{R} + \frac{v - v_o}{R} = 0 \quad (1)$$

Despejando la variable v :

$$v = \frac{v_i + v_o}{2} \quad (2)$$

Ahora se obtiene la ecuación del nodo V+:

$$\frac{v}{R} + \frac{v - v_o}{R} + i_L = 0 \quad (3)$$

Sustituyendo la ecuación 2 en la ecuación del nodo V+:

$$\frac{2}{R} \left(\frac{v_i + v_o}{2} \right) - \frac{v_o}{R} + i_L = 0 \quad (4)$$

$$\frac{v_i}{R} + i_L = 0 \quad (5)$$

Obteniendo finalmente la ecuación característica:

$$i_L = -\frac{v_i}{R} \quad (6)$$

2.3 Características bioquímicas en alimentos

La mayoría de los alimentos contienen agua en mayor o menor proporción, esto sin importar el método de industrialización al que hayan sido sometidos. En el caso de los alimentos naturales el contenido varía en un intervalo de 60 a 95% de agua [15]. En los tejidos vegetales y animales, existe en dos formas generales: “agua libre” y “agua ligada”. El agua libre o absorbida, que es la forma predominante, se libera con gran facilidad y el agua ligada se halla combinada o absorbida. Se encuentra en los alimentos como agua de cristalización (en los hidratos) o ligada a las proteínas y a las moléculas de sacáridos y absorbida sobre la superficie de las partículas coloidales [15].

Los métodos analíticos para garantizar la calidad físico-química, microbiológica y sensorial son requeridos por la industria de alimentos. Debido a esto el análisis cualitativo y cuantitativo de alimentos se ha fortalecido por el desarrollo de potentes técnicas instrumentales de análisis, por ejemplo, técnicas analíticas tradicionales, como las determinaciones gravimétricas, volumétricas y colorimétricas presentan complicaciones en los procedimientos debido a que son largos los tiempos de análisis y los altos costos tecnológicos, por lo que es conveniente plantear estrategias innovadoras paralelas a las técnicas existentes [16].

Actualmente uno de los alimentos mas importantes en el consumo diario es la papa (*Solanum tuberosum*), siendo conveniente su análisis debido a su composición, la cual en su mayoría es agua.

2.4 Papa (*Solanum Tuberosum*)

La papa (*Solanum tuberosum*) es una herbácea anual que alcanza una altura de un metro y produce un tubérculo, la papa misma, con un abundante contenido de almidón la papa pertenece a la familia de floríferas de las solanáceas, del género *Solanum*, formado por otras mil especies por lo menos, como el tomate y la berenjena [3].

Actualmente se cultiva en un estimado de 19 millones de hectáreas de tierras a nivel mundial, y la producción de papa en todo el mundo es de 378 millones de toneladas [17]. Siendo el tercer cultivo alimentario más importante del mundo en términos de consumo humano, después del trigo y el arroz [18], incluso sin mencionar la gran producción de productos de papa utilizados para semillas y alimento para animales, por lo que alrededor de 1.300 millones de personas comen papas como alimento básico, lo que representa más de 50 kg por persona al año [19].

De igual forma la papa ha contribuido a la dieta humana durante miles de años, debido a esto es importante conocer su composición nutricional (TABLA 2), la cual tiene un rango de variación independiente del color de la pulpa y al igual que otros alimentos vegetales se ve afectada por diferentes condiciones, en la pre-cosecha son: el medio ambiente, prácticas culturales, madurez en la cosecha, estrés biótico y abiótico, etc. y en la post-cosecha: en el procesamiento, almacenamiento, transporte, etc. [20].

TABLA 2.- Composición nutricional de la papa [20].

Energía:	93 a 123 Kcal	Magnesio:	16 a 40mg
Almidón:	16 a 20g	Hierro:	0.29 a 0.69mg
Proteína:	1.76 a 2.95g	Zinc:	0.29 a 0.48mg
Lípidos:	0.1 a 0.5g	vitamina C:	7.8 a 20.6mg
fibra dietética:	1.8g a 2.1g	vitamina B6:	0.299mg
Potasio:	150 a 1386mg	ácido clorogénico:	19 a 399mg
Fósforo:	42 a 120mg	Glicoalcaloides:	0.7 a 18.7mg

La composición nutricional de la papa se resume en la Figura 4, y consiste en su mayoría en agua con un aproximado de 75% [3], por lo cual resulta conveniente conocer dicha composición en la industria alimentaria, debido a que, en procesos como secado de papa, la calidad final del alimento y optimización del proceso está fuertemente influenciado por el contenido de humedad del alimento [21].

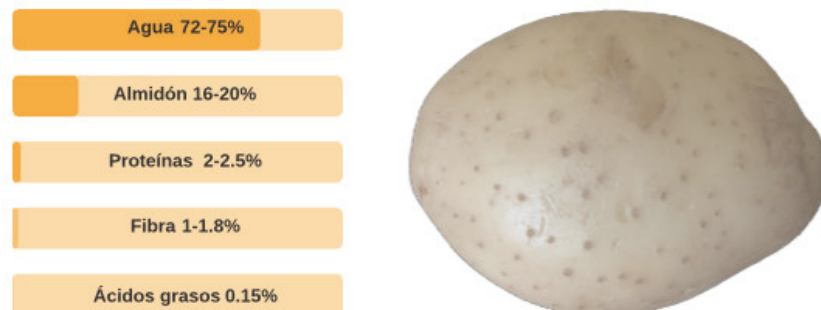


Figura 4. Composición química de la papa.

2.5 Adquisición de Datos

A través del sistema de BIE mencionado anteriormente para implementar como biosensor y así determinar la humedad en alimentos, es necesario emplear un sistema de adquisición de datos (DAQ), este se utiliza para adquirir información de algunos fenómenos físicos y su proceso principal es muestrear las señales que convierten el valor analógico (señal eléctrica) del sensor en uno digital y ser manipulado por una computadora [29]. Por lo tanto, convertidores DAC y ADC son fundamentales para generar y adquirir la señal de respuesta del biosensor.

2.5.1 Convertidor DAC

El convertidor Digital-Analógico recibe como entrada señales eléctricas que corresponden a una palabra binaria la cual como salida produce una tensión o corriente que es proporcional al valor de la palabra binaria, las operaciones básicas en la conversión de una señal digital en una señal analógica se muestran en la Figura 5 [30].

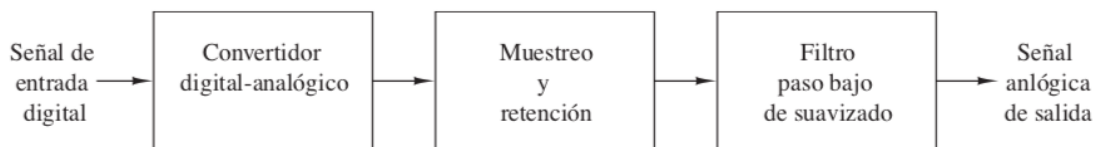


Figura 5. Conversión de una señal digital en una señal analógica [30].

2.5.2 Convertidor ADC

La mayor parte de las señales, como señales de voz, biológicas, sísmicas, de radar, de sonar y las diversas señales de comunicación como las de audio y vídeo, son analógicas. Por lo cual para procesar las señales analógicas a través de medios digitales es importante primero convertirlas a formato digital. Este procedimiento llamado *conversión analógica-digital (A/D)*, convierte la señal en una secuencia de números con una precisión finita [30]. La conversión analógica-digital como se observa en la Figura 6, se realiza con un proceso de 3 pasos, los cuales son muestreo, cuantificación y codificación. En el muestreo mediante la toma de muestras de la señal en tiempo continuo, se convierte la señal de tiempo continuo a tiempo discreto. Para la cuantificación se convierte la señal con valores continuos en tiempo discreto a una señal con valores discretos en tiempo discreto, y finalmente el codificador es donde la señal con valores y tiempo discreto se representan en una secuencia de números binarios.

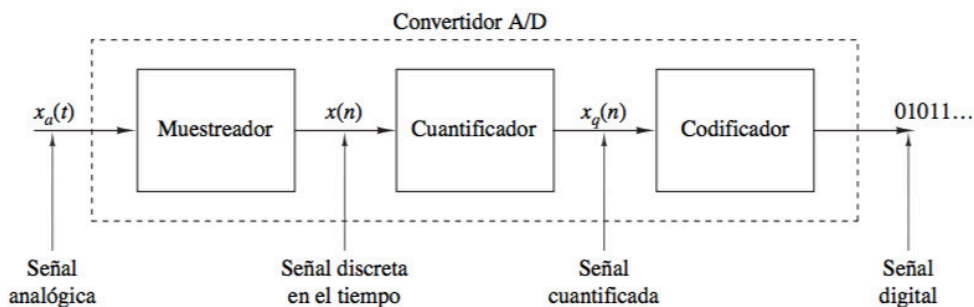


Figura 6. Proceso de un convertidor analógico-digital (A/D) (Proakis J. G. ,1996).

Posteriormente con las señales obtenidas mediante la adquisición de datos con los dispositivos DAC Y ADC, es fundamental utilizar herramientas de procesamiento digital de señales, siendo útiles para el análisis de la respuesta de salida.

2.6 Procesamiento Digital de Señales

El procesamiento digital de señales o DSP (sigla en inglés de digital signal processing) es la representación matemática, los algoritmos y las técnicas para transformar o mejorar una señal con algún objetivo, en la mayoría de los casos, estas señales se originan como datos sensoriales del mundo real: vibraciones sísmicas, imágenes visuales, ondas de sonido, etc. Después de convertir las señales a un formato digital, se obtiene alguna mejora tales como: imágenes visuales, reconocimiento y generación de voz, compresión de datos para almacenamiento y transmisión, etc. [22].

La técnica más importante en el procesamiento digital de señales es la convolución, la cual es una forma matemática de combinar dos señales para formar una tercera señal, la Ecuación 7 define el producto de convolución de dos funciones. Usando la estrategia de descomposición por impulso, los sistemas se describen mediante una señal llamada respuesta al impulso. Esta técnica es importante porque relaciona las tres señales de interés: la señal de entrada, la señal de salida y la respuesta al impulso [22].

$$(f * g)(t) = \int_{-\infty}^{\infty} f(x)g(t - x)dx \quad (7)$$

Otra parte del procesamiento digital de señales es el filtrado digital el cual involucra el proceso de una señal para obtener otra señal. El diseño consta de sintetizar e implementar un filtro digital de tal manera que la señal de salida cumpla con las especificaciones prescriptas como atenuar o resaltar ciertas características. Los filtros digitales deben cumplir con las siguientes propiedades: invariancia en el tiempo, causalidad y linealidad [23].

La Series Fourier y la Transformada de Fourier resultan útiles para estos fines ya que permiten ver la distribución de frecuencias de la señal, esto discretiza la señal permitiendo que se almacenen digitalmente los valores de frecuencias para cada tiempo determinado, luego mediante un DAC (siglas de “Digital-to-Analog Converter”, conversor digital a analógico en inglés) se leen estos datos y se logra reproducir la señal original [24].

2.6.1 Transformada de Fourier

La transformada de Fourier es el procedimiento matemático que descompone una función en las frecuencias que le forman de la misma manera que un prisma descompone la luz en los diferentes colores y longitudes de onda. La función que inicialmente se define en el tiempo $f(t)$ es la transformada al dominio de la frecuencia $F(w)$. Esta nueva función $F(w)$ se llama la Transformada de Fourier o Serie de Fourier cuando la función es Periódica. Fourier determinó que era posible expresar una función como la suma de Senos y Cosenos de diferentes frecuencias y amplitudes hasta lograr determinar la función original. Este procedimiento fue implementado inicialmente para funciones periódicas, pero se puede extender a funciones no periódicas haciendo tender a infinito su período T [25].

Existe un algoritmo que eficientiza la implementación de la transformada discreta de Fourier en el procesamiento digital de señales llamada transformada rápida de Fourier (FFT por sus siglas en inglés de Fast Fourier Transform), la cual es una alternativa mucho más rápida a transformada discreta, y se basa en la solución de ecuaciones lineales de manera simultánea por el método de la correlación. Siendo una alternativa que a menudo mejora la eficiencia de los tiempos de procesamiento en el orden de los cientos de veces. Esta implementación se llevo a cabo debido al artículo

“An Algorithm for the Machine Calculation of Complex Fourier Series” [26]. Para comprender esta técnica es necesario entender que en una notación compleja, el dominio del tiempo y la frecuencia está contenida en una señal de N números complejos. Cada uno de estos puntos, mencionados anteriormente, están compuestos por una parte real y una parte imaginaria. La FFT opera descomponiendo una señal de dominio del tiempo de N puntos en N señales de dominio de tiempo, cada una compuesta por un solo punto. El segundo paso es el cálculo de N puntos del espectro de la frecuencia correspondiente a esos N puntos de la señal en el dominio del tiempo. Finalmente, El espectro es sintetizado a un solo espectro de frecuencia [22].

La principal desventaja de esta técnica es la de perder toda la información respecto al tiempo; es decir, que se puede saber que frecuencias son las que están presentes en una señal, mas no se puede saber cuándo se están presentando, sin embargo mediante otra técnica como la transformada Wavelet, se mantiene la componente temporal.

2.6.2 Transformada Wavelet

Permite realizar análisis localizados en el tiempo de una gran señal, brindando la posibilidad de encontrar discontinuidades o picos de corta duración que de otra manera seria complicado detectar y tratar. El análisis FFT por si solo no detecta estos eventos y debe recurrir a la transformada corta quien a través de la selección de una ventana de ancho adecuado permiten el estudio de manera aceptable. El análisis Wavelet es capaz de mostrar aspectos de los datos que con otras técnicas del análisis de señales no pueden ser apreciadas y se dejan pasar por alto, como son: la tendencia, puntos de ruptura y discontinuidades en las derivadas de orden superior [25].

A diferencia de Fourier, en donde las funciones base son senos y cosenos de duración infinita, las Wavelets son funciones basadas en la Transformada Wavelet, las cuales son generadas a partir de una función Wavelet madre, mediante traslaciones y dilataciones que son funciones localizadas en frecuencia y tiempo. Estas funciones permiten reconstruir la señal original a través de la Transformada Wavelet inversa [27].

La Transformada Wavelet de una función $f(t)$, es la descomposición de $f(t)$ en un conjunto de funciones $\psi_{s,\tau}(t)$, que forman una base y son llamadas las “Wavelets” [28].

La Transformada Wavelet se define como:

$$W_f(s, \tau) = \int f(t)\psi_{s,\tau}^*(t)dt. \quad (8)$$

Dentro de los usos de esta poderosa herramienta podemos nombrar, además del análisis local de señales no estacionarias, el análisis de señales electrocardiográficas, sísmicas, de sonido, de radar, así como también es utilizada para la compresión y procesamiento de imágenes y reconocimiento de patrones [28].

2.6.2.1 Algoritmo de Mallat

En aplicaciones de sistemas digitales, se considera la técnica de la Transformada Wavelet de la manera discreta, llamada por las siglas WDT (Wavelet Discrete Transform) y esta es descrita por la Ecuación 9 [25].

$$Wc_{j,k} = \sum_N x(n) \overline{h_{j,k}(n)} \quad (9)$$

Esta tecnica es representada por el algoritmo Mallat, que mediante una serie de filtros del tipo FIR (Finite Impluse Response), descompone la señal en niveles llamados aproximación y detalle, las frecuencias bajas de la señal se encuentran en la señal de aproximación y las frecuencias altas en el detalle, en la Figura 7 se muestra el diagrama a bloques del algoritmo de Mallat. Incluso esta tecnica se puede aplicar en compresión de datos, debido a que disminuye el numero de muestras de la señal, con el submuestreo que se genera en la descomposicion de cada nivel.

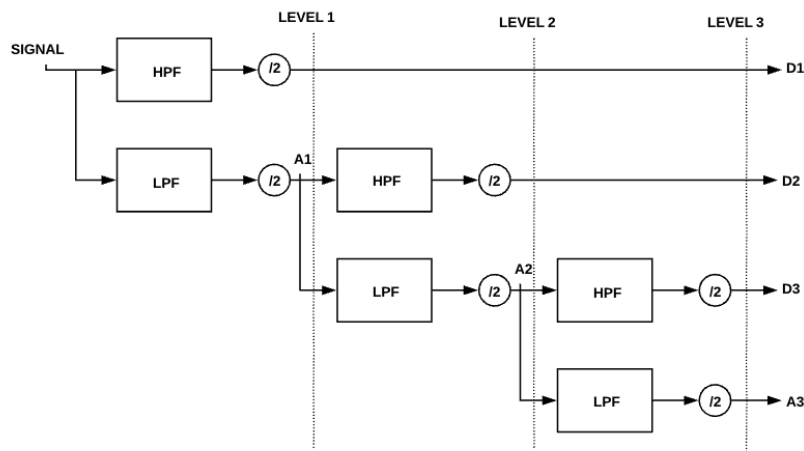


Figura 7. Diagrama del algoritmo de Mallat.

2.7 Análisis espectral

El análisis espectral encuentra aplicaciones en muchos campos distintos, debido a que su objetivo es descomponer una señal digital en sus diversas componentes dentro del dominio frecuencial, este resulta ser ampliamente utilizado como en el monitoreo de vibraciones, en el cual el contenido espectral de las señales medidas proporciona información sobre el desgaste y otras características de las partes mecánicas. En economía, meteorología, astronomía y varios otros campos, el análisis espectral puede revelar "periodicidades ocultas" en los datos estudiados, que deben asociarse con el comportamiento cíclico o procesos recurrentes. En los sistemas de radar y sonar, el contenido espectral de las señales recibidas proporciona información sobre la ubicación de las fuentes (u objetivos) situados en el campo de visión. En medicina, el análisis espectral de varias señales medidas desde un paciente, como las señales de electrocardiograma (ECG) o electroencefalograma (EEG), puede proporcionar material útil para el diagnóstico. En sismología, el análisis espectral de las señales registradas antes y durante un evento sísmico (como una erupción de un volcán o un terremoto) brinda información útil sobre el movimiento del suelo asociado con tales eventos y puede ayudar a predecirlos [22].

Técnicas de procesamiento digital de señales como lo son Transformadas de Fourier resultan útiles para estos fines ya que permiten ver la distribución de frecuencias de la señal, y la Transformada Wavelet que son muy adecuadas para aproximación de datos con variaciones o con discontinuidades abruptas. Con el objetivo de aplicar estas técnicas para identificar las modificaciones del contenido espectral de la señal obtenida en las muestras químicas.

Capítulo III

Metodología

En este capítulo se explicará como fue el diseño e implementación del biosensor basado en la fuente de Howland, la cual consiste en primero obtener una referencia del porcentaje de humedad en las muestras de alimento a través del análisis gravimétrico, así mismo realizar las mediciones con el biosensor y mediante la adquisición de datos obtener las respuestas de salida para proceder con el análisis espectral y así la caracterización de nuestro sistema.

3.1 Instrumentación de la fuente de Howland

La implementación de la fuente de corriente, fue basada en la Fuente de Howland, debido a que sus características son suficientes para aplicaciones de bioimpedancia. Como se puede observar en el diagrama de la fuente en la Figura 8, en el cual se utilizó un amplificador operacional LF412CN, y también se hizo indispensable utilizar resistencias de precisión y condensadores para evitar oscilaciones no deseadas en el circuito.

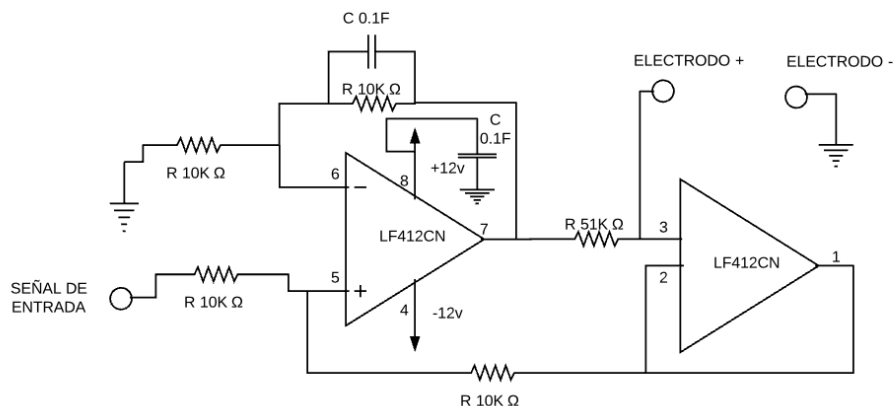


Figura 8. Diagrama de la fuente de Howland.

A través de un modelo con componentes de resistencia en serie, paralelo y un capacitor, se obtuvo una impedancia de prueba, y así se realizó la calibración y verificación de la fuente de Howland. En la figura 9 y 10 se puede observar la respuesta de corriente con diferentes cargas, con la carga de 22.5kW la corriente varía de 46 μ A en 100Hz y 13.4 μ A en 500kHz, así mismo con la carga de 100kW la corriente varía de 46.4 μ A en 100Hz y 13.8 μ A a 500kHz. Sin embargo, en las dos respuestas la corriente permanece constante en el intervalo de 10 a 100kHz

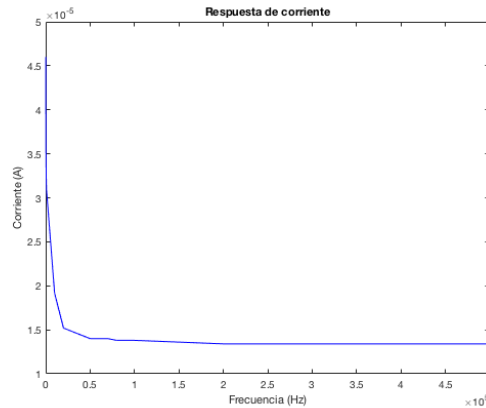


Figura 9. Respuesta de corriente con carga de 22.5kW.

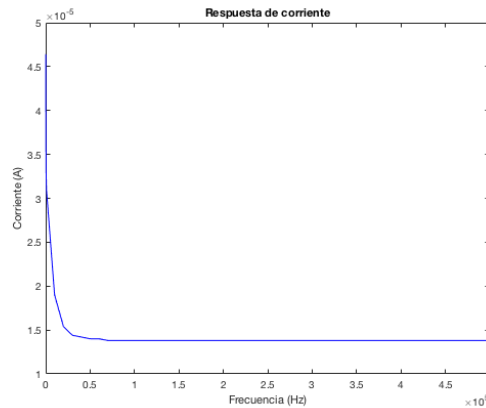


Figura 10. Respuesta de corriente con carga de 100kW.

Los electrodos empleados en la salida del circuito de la Fuente de Howland, se pueden observar en la Figura 11, estos se utilizaron para realizar las pruebas en las muestras de alimento, los cuales están compuestos de dos pines aislados y cuentan con las siguientes especificaciones:

TABLA 3.- Especificaciones Delmhorst 30-E/C [34].

Marca	Delmhorst
Modelo	30-E/C
Altura	5 cm
Ancho	10 cm
Longitud	20 cm
Longitud Pines	24 cm

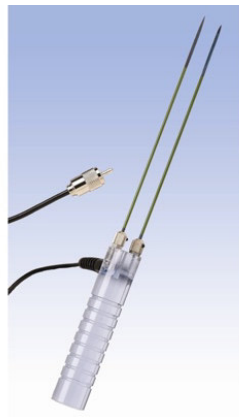


Figura 11. Electrodos [34].

3.2 Instrumentación basada en FPGA

Con la finalidad de implementar una forma de onda para excitar el sistema, se realizó uno de los aportes principales de este trabajo, el cual fue la síntesis digital de señales, como se observa el diagrama a bloques en la Figura 12, este se implementó con una tarjeta FPGA que cuenta con un chip Altera Cyclone II EP2C35F672C6, para esto se llevó a cabo el desarrollo de un script en Matlab, el cual tiene la capacidad de generar archivos y códigos de descripción de Hardware VHDL y así generar la señal que se guardara en un módulo RAM de la tarjeta FPGA.

Además, para excitar nuestro sistema fue necesario convertir la señal generada por la FPGA a una señal analógica, debido a esto fue indispensable contar con un Convertidor Digital-Analógico (DAC7565), el cual es un convertidor de 12 bits y cuenta con 4 canales.

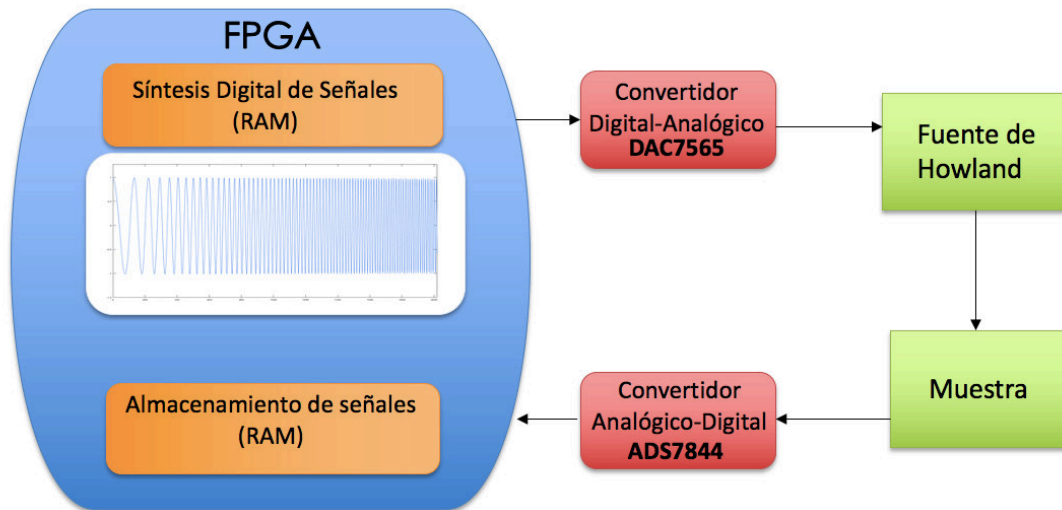


Figura 12. Diagrama a bloques de implementación en FPGA.

Por otra parte, siendo una de las ventajas el paralelismo en la FPGA, donde puede realizar distintos procesos a la vez, era necesario convertir la señal analógica obtenida a una señal digital para analizar la señal de respuesta del biosensor, y de igual forma mediante la tarjeta FPGA se implementó un Convertidor Analógico-Digital (ADS7844), el cual es un convertidor de 12 bits y 8 canales.

Finalmente se adquirió la señal de respuesta del biosensor, esta se envió a través de un controlador del puerto serial en la FPGA, permitiendo recibir los datos de la señal en una computadora, y así almacenarla en un archivo CSV (comma-separated values) para su posterior procesamiento y análisis.

3.3 Dispositivo DAQ

La generación y adquisición de datos se realizó mediante un dispositivo DAQ, por lo cual se utilizó el Digilent Analog Discovery 2, debido a que funciona como un instrumento multifuncional, osciloscopio USB y analizador lógico que permite medir, visualizar, generar, registrar y controlar circuitos de señales mixtas de todo tipo [35].

A través del software WaveForms que proporciona la página de Digilent, se generó la señal de entrada de la Fuente Howland, la cual fue una forma de onda tipo “chirp”, esta señal presenta una frecuencia variable con el tiempo, como se observa en la Figura 13. Sin embargo, para obtener mayor resultado de análisis en las pruebas, se generaron señales con diferente amplitud en bajas y altas frecuencias. Así mismo mediante el osciloscopio del Analog Discovery se obtuvo la señal de respuesta del sensor, y se almaceno en un archivo tipo CSV (comma-separated values) para su posterior análisis.

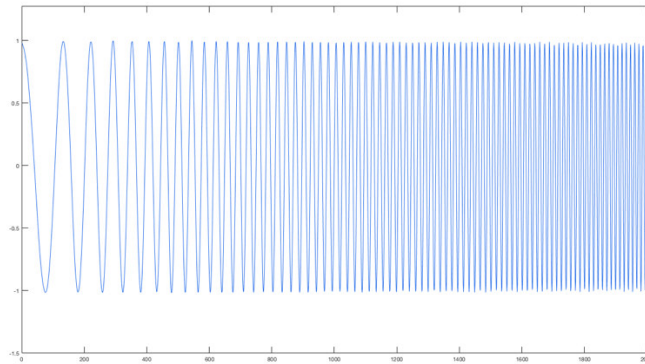


Figura 13. Señal chirp.

3.4 Tratamiento de la muestra

Como se menciono anteriormente, todos los alimentos contienen agua en mayor o menor proporción. El hecho de conocer este contenido es de gran importancia y poder modificarlo tiene aplicaciones inmediatas: saber cuál es la composición centesimal del producto, controlar las materias primas en la industria y facilitar su elaboración, prolongar su conservación impidiendo el desarrollo de microorganismos y otras reacciones de deterioro químicas o enzimáticas indeseables, mantener su textura y consistencia, frenar los intentos de fraude y adulteración si el producto no cumple los límites fijados por la normativa vigente, etc. [15].

El agua se encuentra en los alimentos en dos formas: agua libre y agua ligada. El agua libre es la forma predominante, se libera con facilidad por evaporación o por secado. El agua ligada está combinada o unida en alguna forma química a las proteínas y a las moléculas de sacáridos y adsorbida en la superficie de las partículas coloidales [15].

Los métodos de secado son los más comunes para valorar el contenido de humedad en los alimentos; se calcula el porcentaje en agua por la pérdida en peso debida a su eliminación por calentamiento bajo condiciones normalizadas. Aunque estos métodos dan buenos resultados que pueden interpretarse sobre bases de comparación, es preciso considerar que algunas veces es difícil eliminar por secado toda la humedad presente, incluso a cierta temperatura el alimento es susceptible de descomponerse con lo que se volatilizan otras sustancias además de agua [31].

3.3 Análisis gravimétrico

El análisis gravimétrico es una técnica utilizada para determinar masa o concentración de una sustancia midiendo un cambio en la masa, por lo tanto, el contenido de humedad en la papa (*Solanum tuberosum*) se obtuvo mediante este análisis, y el material utilizado se puede observar en la TABLA 4.

TABLA 4.- Material para procedimiento del análisis gravimétrico.

Material
Estufa de desecación
Balanza de precisión
Desecadores provisto de gel de sílice
Pinzas
Charolas de aluminio

El procedimiento que se llevo a cabo, siguiendo las normas de la AOAC [32], es el que se muestra a continuación:

- Secar las charolas en la estufa, a 105° C durante 24 horas para eliminar humedad y dejar en peso constante.

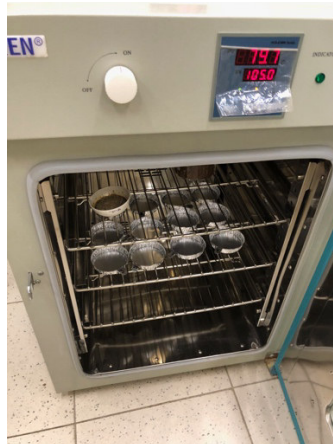


Figura 14. Charolas en estufa de desecación.

- Situar charolas en desecadores para enfriar a temperatura ambiente y posteriormente pesar en la balanza de precisión.



Figura 15. Desecadores.



Figura 16. Balanza de precisión.

- Preparar las muestras de papa, cortándolas con las medidas (2cm x 4cm x 0.7cm), en seguida colocar las muestras en las charolas para pesar en la balanza de precisión.



Figura 17. Charola con muestra de papa.

- Colocar las muestras en la estufa de desecación a 50.5 °C, durante 24 horas.
- Se retiran las muestras de la estufa y se colocan en desecadores durante 20 minutos para enfriar a temperatura ambiente.

- Pesar la charola con muestra seca en la balanza de precisión.



Figura 18. Muestras secas de papa.

- Realizar el calculo del porcentaje de humedad mediante la formula de análisis gravimétrico:

$$\%Humedad = \left(\frac{(\text{Peso de la charola} + \text{Muestra}) - (\text{Peso de la charola} + \text{Muestra seca})}{\text{Peso de la Muestra}} \right) * 100$$

En la siguiente tabla se muestran los resultados del análisis gravimétrico para el cálculo de porcentaje de humedad.

TABLA 5.- Resultados de acuerdo con el análisis gravimétrico.

MUESTRA	PESO CHAROLA (G)	MUESTRA (G)	MUESTRA SECA (G)	AGUA TOTAL (G)	G AGUA/G PAPA	% HUMEDAD
1	1.763	5.455	1.241	4.214	0.772502291	77.25022915
2	1.79	5.813	1.243	4.57	0.786168932	78.61689317
3	1.789	6.441	1.222	5.219	0.810277907	81.02779072
4	1.813	6.364	1.47	4.894	0.769013199	76.90131992
5	1.758	6.842	1.544	5.298	0.77433499	
			Promedio	4.839	0.782459464	78.44905824

3.4 Caracterización del biosensor

A través del procedimiento mencionado para realizar el análisis gravimétrico, se obtuvo el porcentaje total de humedad en 5 muestras de papa (*Solanum tuberosum*) como se observa en la TABLA 5, las cuales permanecieron más tiempo en la estufa para retirar completamente la humedad, y así obtener una referencia para las siguientes mediciones, estas se realizaron en 130 muestras, durante distintos días para obtener repetibilidad en los resultados.

Las muestras se median con diferentes intervalos de tiempo en el que permanecían en la estufa, para así obtener distintos porcentajes de humedad y caracterizar el biosensor basado en la fuente de Howland. Incluso fue esencial que, al finalizar cada medición del análisis gravimétrico inmediatamente se realizaran las pruebas con el biosensor, con el fin de mantener las muestras con el porcentaje exacto sin perder o ganar humedad.

Las pruebas del biosensor se realizaron a través de la implementación del siguiente diagrama a bloques (Figura 19). Primero la fuente DC se utilizó para alimentar la fuente de Howland como se observa en la Figura 20, en la cual se conectaron los electrodos con la muestra de papa (*Solanum tuberosum*) en distintas formas, estas fueron cuatro caras de la muestra, como se observa en la Figura 21.

Después mediante un software se implementó síntesis digital de señales, generando diferentes señales de bajas y altas frecuencias mediante el dispositivo DAQ para excitar el sistema, esto para obtener mayor resultado de análisis y así posteriormente implementar técnicas de procesamiento digital de señales con la finalidad de encontrar modificaciones del contenido espectral de la señal obtenida,

para finalmente caracterizar mediante la discriminación de acuerdo con su porcentaje de humedad en las muestras.

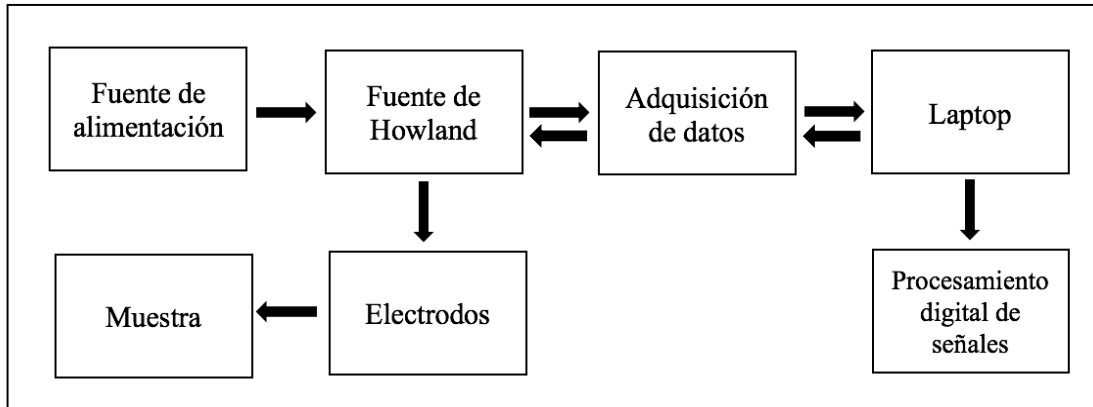


Figura 19. Diagrama a bloques de implementación del biosensor.

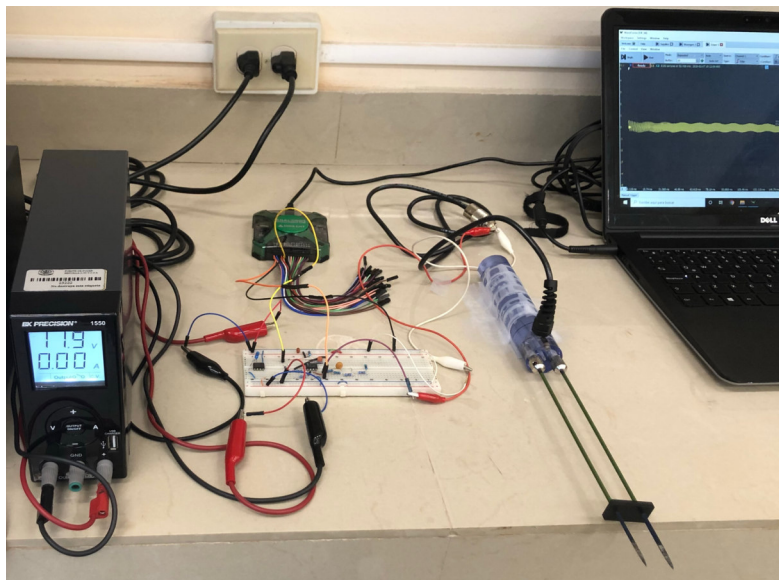


Figura 20. Implementación del biosensor.

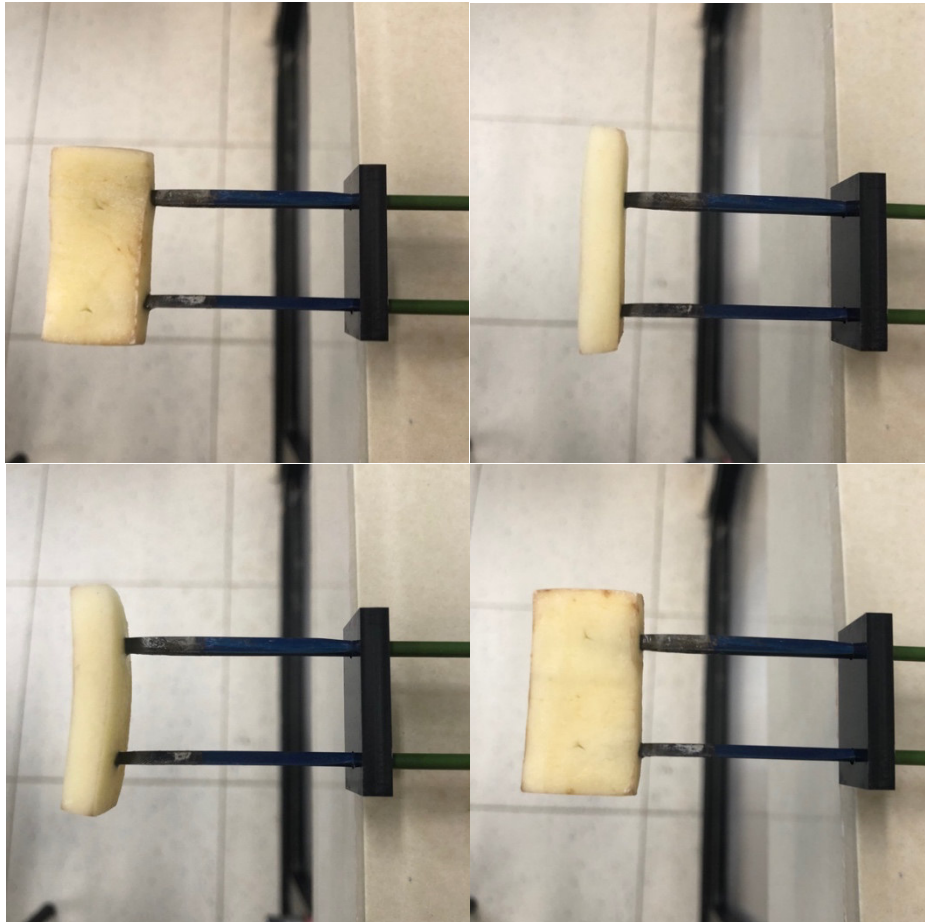


Figura 21. Muestra de papa (*Solanum tuberosum*) en electrodos.

Capítulo IV

Resultados y Discusión

En este capítulo se presentan los resultados y conclusiones obtenidas a través del biosensor basado en la Fuente de Howland, el cual se implementó para la medición de humedad en la papa (*Solanum Tuberosum*), y el análisis espectral que se realizó mediante técnicas de procesamiento digital de señales como lo son la Transformada Rápida de Fourier y Wavelets.

4.1 Análisis de resultados

Como se mencionó anteriormente para la caracterización del biosensor fue necesario contar con suficientes mediciones, las cuales se realizaron en 130 muestras de papa (*Solanum Tuberosum*), estas fueron medidas en diferentes días con el fin de obtener una repetibilidad en los resultados y con distintos intervalos de tiempo en la estufa para obtener variedad en los porcentajes de humedad.

A continuación, se observarán los resultados para las pruebas del análisis gravimétrico y las respuestas de salida de las mediciones con el biosensor aplicando técnicas de procesamiento digital de señales. Los resultados de análisis mostrados son de los tres últimos días de prueba, los cuales nombraremos prueba no.1, no.2 y no.3, es importante mencionar que las primeras pruebas no fueron descartadas para el análisis, estas fueron de utilidad para la calibración del biosensor, debido a las correcciones en la medición.

Para el análisis de la prueba no.1, mediante el análisis gravimétrico se obtuvo el resultado del porcentaje parcial de humedad de 20 muestras de papa, para realizar el cálculo fue necesario tomar la referencia de las primeras muestras en las cuales se obtuvo el promedio de agua total y porcentaje total de humedad, en la TABLA 6, se puede apreciar el intervalo de porcentaje de humedad parcial, y ordenando los resultados se observa un mínimo en la muestra 19 con 36.60 % de humedad parcial y un máximo en la muestra 5 con 64.50% .

TABLA 6.- Resultados de análisis gravimétrico para la Prueba no.1.

Tratamiento	Peso Charola (g)	Muestra (g)	Muestra Seca (g)	Agua Evaporada	Agua total - Agua evaporada	% Humedad Parcial
1	1.8323	7.455	6.2947	1.1603	3.6787	59.6384688
2	1.779	6.784	5.71	1.074	3.765	61.03754996
3	1.766	6.731	5.653	1.078	3.761	60.97270263
4	1.781	5.478	4.457	1.021	3.818	61.89677709
5	1.782	5.844	4.979	0.865	3.974	64.42582299
6	1.768	7.001	5.246	1.755	3.084	49.99729192
7	1.78	6.024	4.51	1.514	3.325	53.90434359
8	1.768	6.233	4.661	1.572	3.267	52.9640573
9	1.797	6.547	5.053	1.494	3.345	54.22858025
10	1.748	6.242	4.763	1.479	3.36	54.47175774
11	1.794	6.218	3.955	2.263	2.576	41.76168093
12	1.821	6.053	3.726	2.327	2.512	40.72412364
13	1.805	6.025	3.682	2.343	2.496	40.46473432
14	1.806	6.012	3.744	2.268	2.571	41.68062177
15	1.804	5.593	3.37	2.223	2.616	42.41015424
16	1.792	5.411	3.155	2.256	2.583	41.87516376
17	1.789	5.956	3.578	2.378	2.461	39.89732018
18	1.809	5.831	3.338	2.493	2.346	38.03295942
19	1.794	6.371	3.79	2.581	2.258	36.60631815
20	1.795	6.384	3.91	2.474	2.365	38.34098424

Para la Prueba no.2, se realizaron mediciones en 25 muestras de papa como se muestra en la TABLA 7, con el fin de obtener un mayor intervalo en los porcentajes, sin embargo, se obtuvo un mínimo de porcentaje de humedad parcial en la muestra 18 con el 30% y un máximo para la muestra 5 con 68.5%, porcentajes similares a la prueba anterior.

TABLA 7.- Resultados de análisis gravimétrico para prueba no.2.

Tratamiento	Peso Charola (g)	Muestra (g)	Muestra Seca (g)	Agua Evaporada	Agua total - Agua evaporada	% Humedad Parcial
1	1.798	6.41	5.726	0.684	4.155	67.3601647
2	1.783	5.328	4.543	0.785	4.054	65.7227696
3	1.764	5.596	4.848	0.748	4.091	66.32260741
4	1.764	5.385	4.737	0.648	4.191	67.94379068
5	1.785	5.643	5.034	0.609	4.23	68.57605215
6	1.768	5.805	4.517	1.288	3.551	57.56821777
7	1.755	5.769	4.377	1.392	3.447	55.88218718
8	1.748	6.507	5.219	1.288	3.551	57.56821777
9	1.766	6.536	5.256	1.28	3.559	57.69791244
10	1.753	6.004	4.802	1.202	3.637	58.96243538
11	1.776	5.536	3.809	1.727	3.112	50.45122324
12	1.79	6.166	4.32	1.846	2.993	48.52201515
13	1.795	6.18	4.108	2.072	2.767	44.85814097
14	1.794	6.022	4.421	1.601	3.238	52.49391415
15	1.785	5.823	4.015	1.808	3.031	49.13806479
16	1.774	5.999	3.835	2.164	2.675	43.36665236
17	1.806	6.115	3.49	2.625	2.214	35.89299751
18	1.792	6.252	3.294	2.958	1.881	30.49445723
19	1.774	6.114	3.947	2.167	2.672	43.31801687
20	1.753	6.219	3.885	2.334	2.505	40.61064081
21	1.762	6.101	3.605	2.496	2.343	37.98432392
22	1.761	5.201	2.819	2.382	2.457	39.83247284
23	1.8	5.735	3.266	2.469	2.37	37.2407291
24	1.757	5.972	3.578	2.394	2.445	39.63793085
25	1.757	5.516	3.123	2.393	2.446	39.65414269

Por ultimo, para el análisis de la prueba no.3 se obtuvieron los resultados de la TABLA 8. Y de igual forma que en las pruebas anteriores los resultados fueron en intervalos similares, esto resulta favorable para comparar los resultados del análisis en las respuestas de salida del biosensor.

TABLA 8.- Resultados de análisis gravimétrico para Prueba no. 3.

Tratamiento	Peso Charola (g)	Muestra (g)	Muestra Seca (g)	Agua Evaporada	Agua total - Agua evaporada	% Humedad Parcial
1	1.796	6.712	5.813	0.899	3.94	63.87462068
2	1.782	5.687	4.926	0.761	4.078	66.11185359
3	1.776	6.587	5.752	0.835	4.004	64.91217797
4	1.764	6.092	5.359	0.733	4.106	66.5657849
5	1.785	6.052	5.333	0.719	4.12	66.79275056
6	1.767	5.99	4.543	1.447	3.392	54.99053638
7	1.753	5.863	4.516	1.347	3.492	56.61171965
8	1.748	6.038	4.63	1.408	3.431	55.62279785
9	1.765	6.369	4.884	1.485	3.354	54.37448674
10	1.776	5.874	4.488	1.386	3.453	55.97945817
11	1.776	5.916	3.866	2.05	2.789	45.21480129
12	1.79	6.325	4.209	2.116	2.723	44.14482033
13	1.794	6.026	4.153	1.873	2.966	48.08429567
14	1.794	6.272	4.458	1.814	3.025	49.0407938
15	1.784	5.63	3.874	1.756	3.083	49.98108009
16	1.772	6.433	3.87	2.563	2.276	36.89813113
17	1.803	5.841	3.486	2.355	2.484	40.27019233
18	1.783	6.009	3.482	2.527	2.312	37.48175711
19	1.773	6.101	3.521	2.58	2.259	36.62252998
20	1.753	6.129	3.71	2.419	2.42	39.23263504

Posteriormente para las mediciones con el biosensor basado en la Fuente de Howland, en la cual se utilizaron señales chirp de bajas y altas frecuencias, en el intervalo de 0 a 500 Hz y 500 a 5 kHz, respectivamente. Como se observa en la Figura 22, la señal referencia y la señal de respuesta obtenida del biosensor colocando una de las muestras de papa (*Solanum Tuberosum*), en esta se observa un cambio de amplitud en distintos instantes de tiempo, por lo cual se implementarán técnicas de procesamiento digital de señales para obtener un mayor análisis en las respuestas de salida.

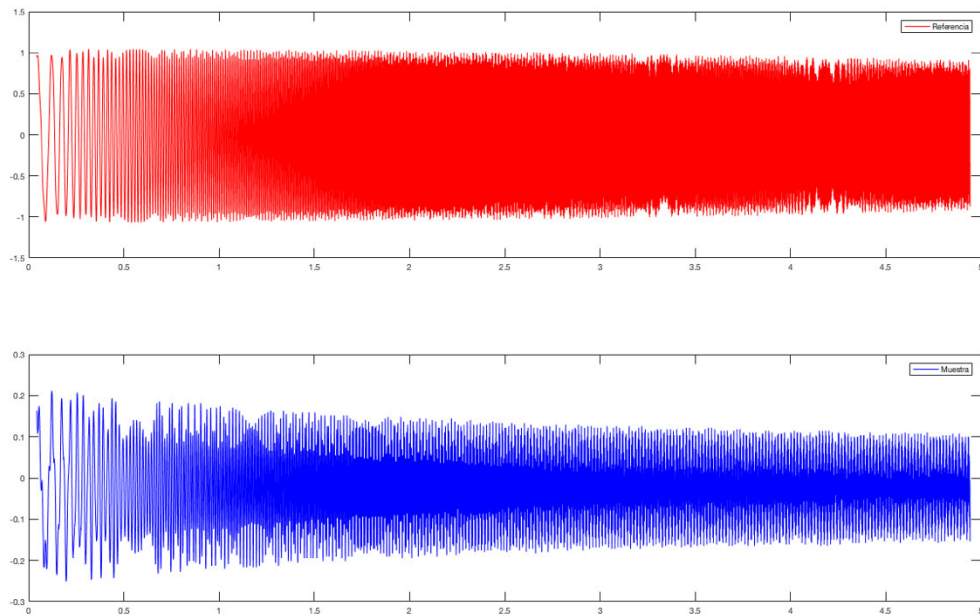


Figura 22. Señales de referencia y salida de la muestra.

4.2 Procesamiento de señales en mediciones obtenidas

A continuación, se implementaron técnicas de procesamiento digital de señales, las cuales fueron la *transformada rápida de Fourier* (FFT) y *Transformada Wavelet*. Aplicando la FFT a las señales de salida para las mediciones obtenidas del biosensor, en las 20 muestras de la Prueba no.1, las cuales se ordenaron de acuerdo con su porcentaje parcial de humedad anteriormente calculado y se graficaron en grupos de muestras que contenían 30, 40, 50 y 60% de humedad parcial. Como se observa en la Figura 23, se obtuvo una tendencia favorable en los resultados, debido a que, dependiendo el porcentaje de humedad parcial los espectros de salida obtenidos se situaban en cierta amplitud.

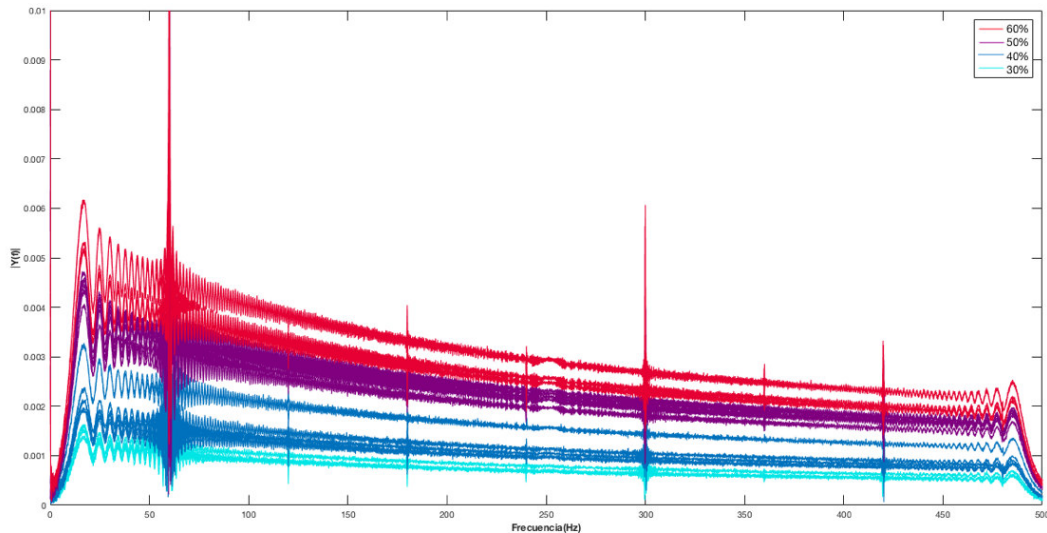


Figura 23. FFT de mediciones obtenidas para la Prueba no.1.

Analizando los espectros en un cierto intervalo de frecuencias, como se observa en la Figura 24, desde 180 a 235Hz se puede apreciar mejor la discriminación en los espectros de salida de acuerdo con su porcentaje parcial de humedad.

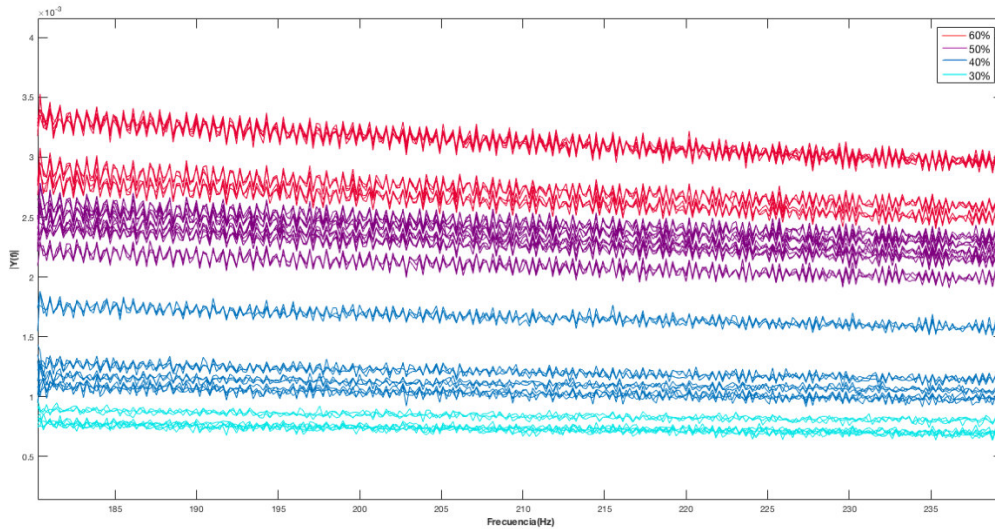


Figura 24. FFT de las mediciones obtenidas para la Prueba no.1, en intervalo de 180 a 235Hz.

Después se realizó el análisis para las mismas muestras, sin embargo, estas mediciones en el biosensor fueron con una señal chirp de altas frecuencias. De igual manera que en el análisis anterior se aplicó la FFT a las mediciones obtenidas y se graficó de acuerdo con el porcentaje de humedad parcial calculado.

Así mismo se logró una tendencia favorable en los resultados, como se observa en la Figura 25, mostrando los espectros de salida graficados del 30, 40, 50 y 60% de humedad parcial, donde los espectros de las muestras que contenían 30% de humedad tenían menor amplitud y esta iba incrementando de acuerdo con su porcentaje.

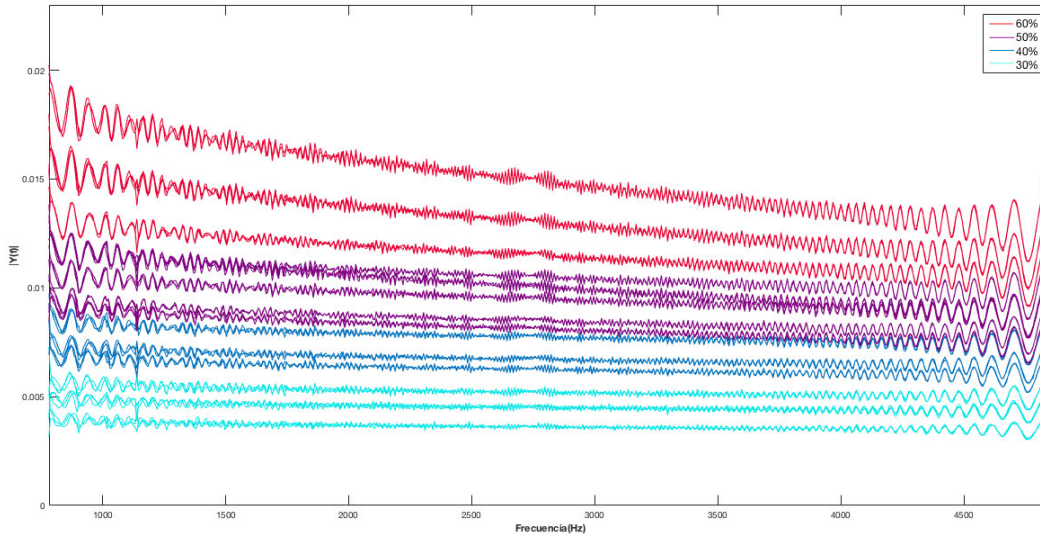


Figura 25. FFT de mediciones obtenidas en altas frecuencias para la Prueba no.1

Posteriormente se realizó el análisis a través de la Transformada Wavelet, como se observa en la Figura 26, esto mediante la selección de una función de la familia de Wavelets ortogonales, con la ondoleta llamada “db6” que pertenece a las wavelets de Daubechies, se separó en diferentes niveles llamados aproximación y detalles, en los cuales se encuentran las frecuencias bajas y altas, respectivamente.

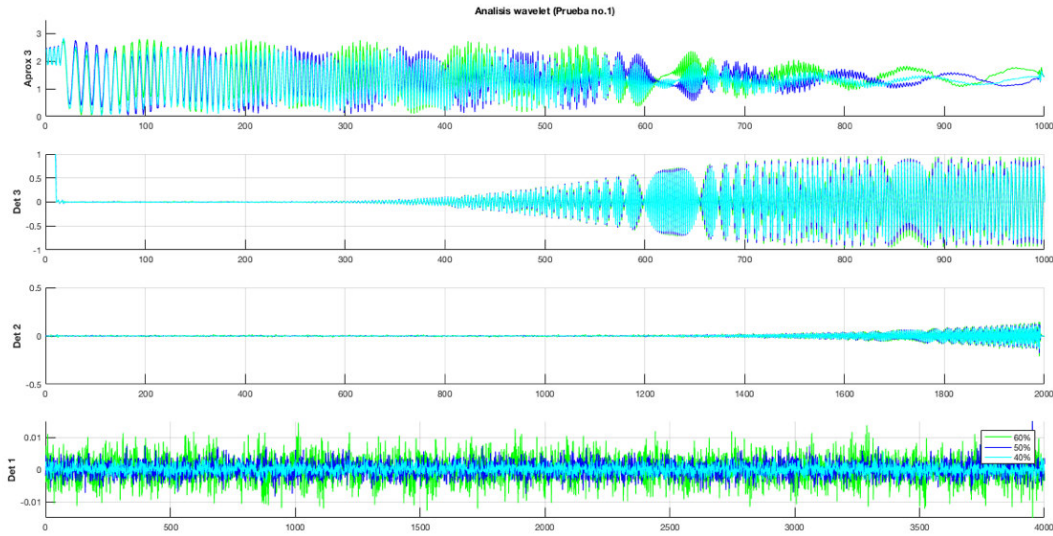


Figura 26. Análisis Wavelet para muestras de Prueba no.1.

En cambio, analizando el Detalle 1 donde se encuentra las frecuencias altas se presenta una diferencia más evidente entre las respuestas de las muestras de 60, 50 y 40% de humedad parcial, como se observa en la Figura 27.

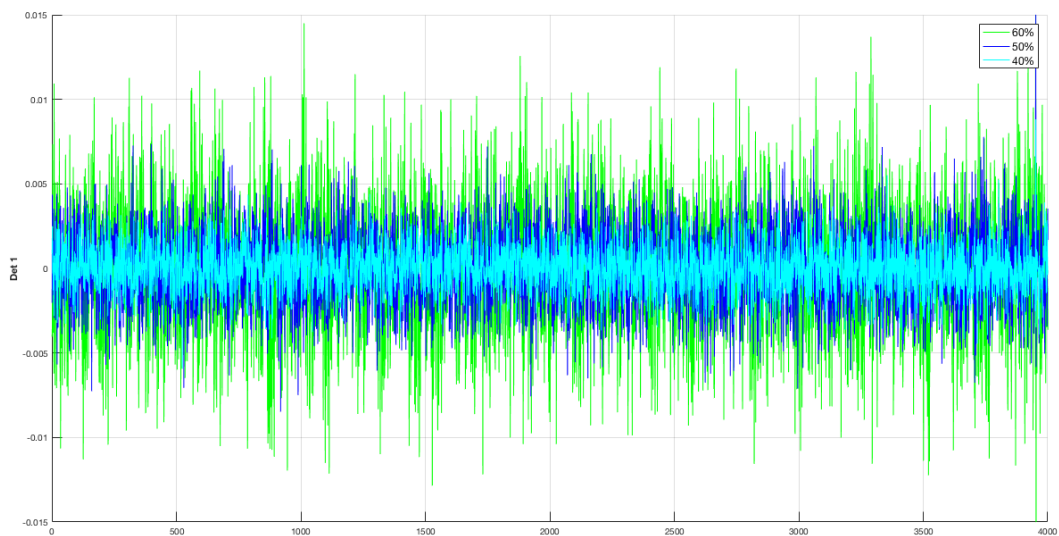


Figura 27. Detalle 1 mediante análisis Wavelet.

Analizando las muestras de la Prueba no.2, donde igualmente se grafican en grupos de acuerdo con su porcentaje. Sin embargo observando en la Figura 28, en un intervalo de frecuencia de 305 a 355Hz donde se aprecia que existe menos discriminación en los espectros de las mediciones con el 30 y 40 % de humedad. No obstante, los resultados del análisis gravimétrico como se muestra en la Tabla 6, en el cual se obtienen porcentajes de humedad del 39.83%, 39.63% y 39.65%, los cuales podrían considerarse en el grupo de 40% de humedad parcial.

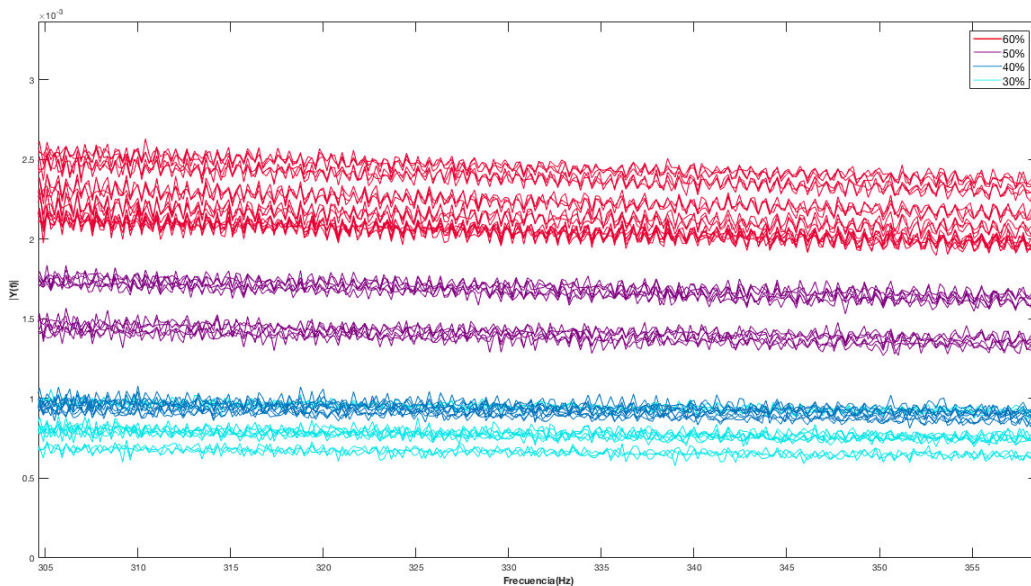


Figura 28. FFT de las mediciones obtenidas para la Prueba no.2, en intervalo de 305 a 355Hz.

En la respuesta para altas frecuencias, como se observa en la Figura 29, se obtuvo un resultado más favorable comparado con las respuestas de bajas frecuencias, siendo mas evidente el cambio de amplitud de acuerdo con el porcentaje de humedad. Y mediante el análisis Wavelet en la Figura 30, se obtiene una diferencia en el Detalle 1 como se aprecia en la Figura 31, para las muestras con porcentaje de 40, 50 y 60 de humedad, similar a la Prueba no.1.

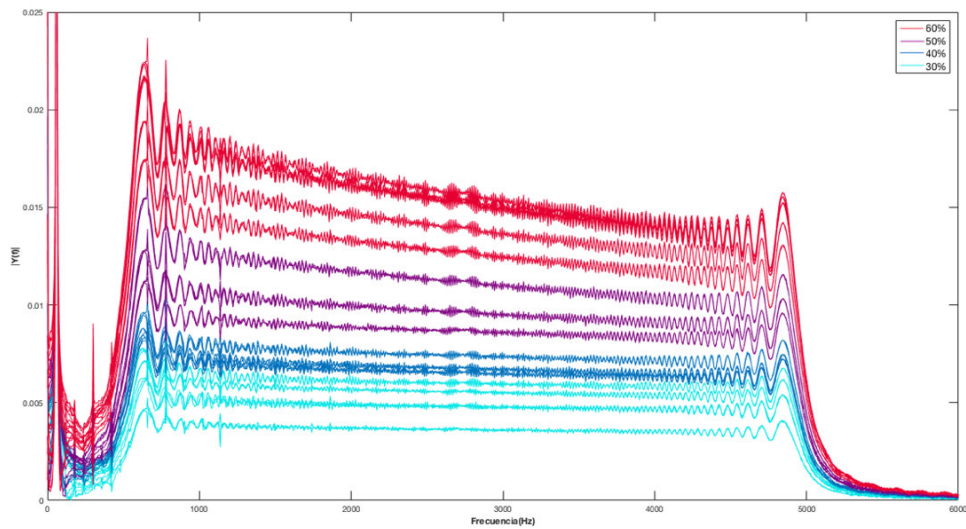


Figura 29. FFT de mediciones obtenidas en altas frecuencias para la Prueba no.2

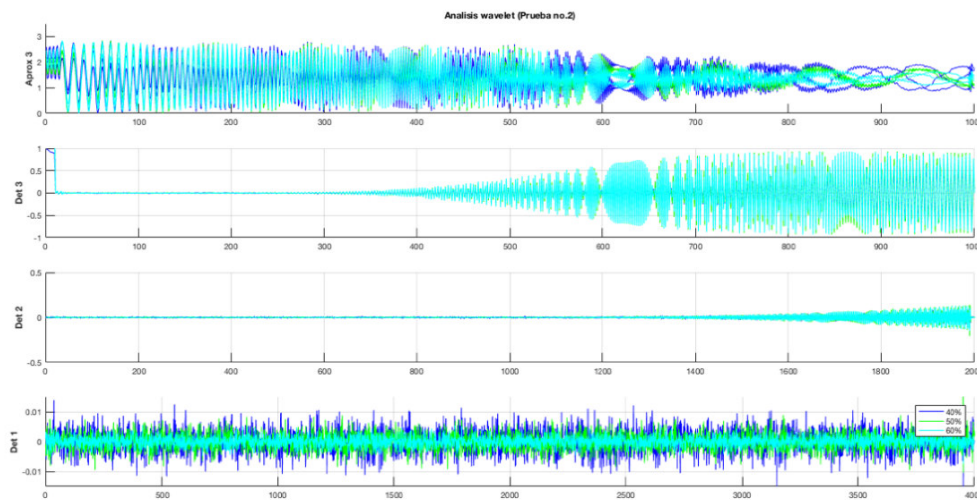


Figura 30. Análisis Wavelet para muestras de prueba no.2

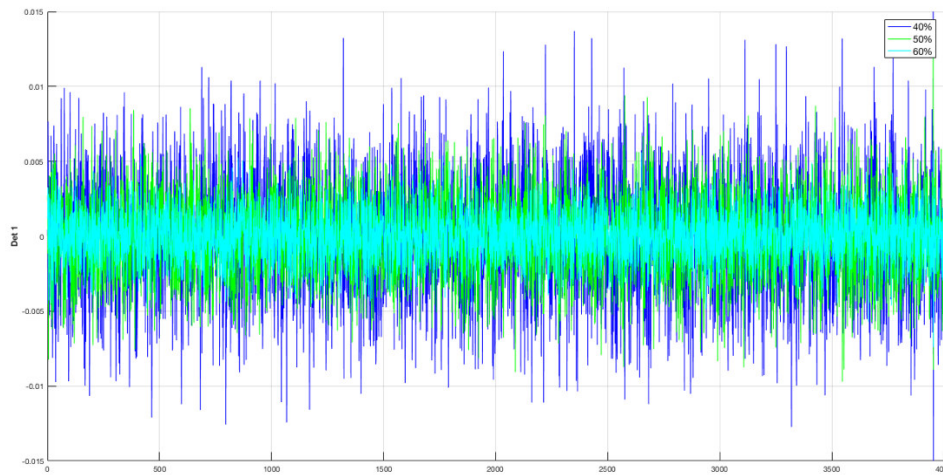


Figura 31. Detalle 1 mediante análisis Wavelet.

Por ultimo, para el análisis de la Prueba no.3, mediante la FFT en los espectros de salida, como se observa en la Figura 32, en un intervalo de frecuencia de 185 a 235Hz se puede apreciar que existe menos discriminación entre porcentajes de las muestras.

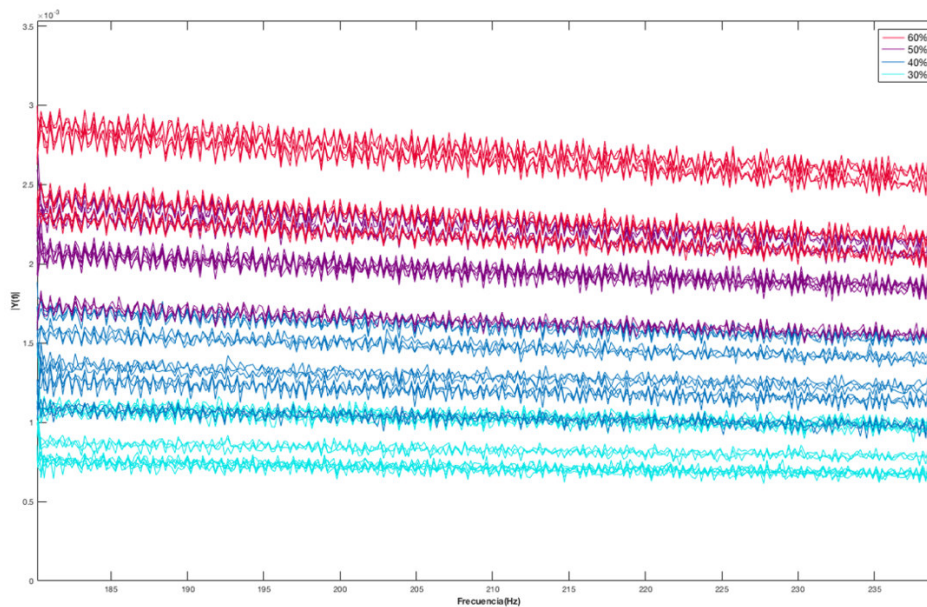


Figura 32. FTT de mediciones obtenidas para la Prueba no.3

Sin embargo, para el análisis de respuesta en altas frecuencias se observan mejores resultados al obtener mayor discriminación en los intervalos de amplitud como se observa en la Figura 33.

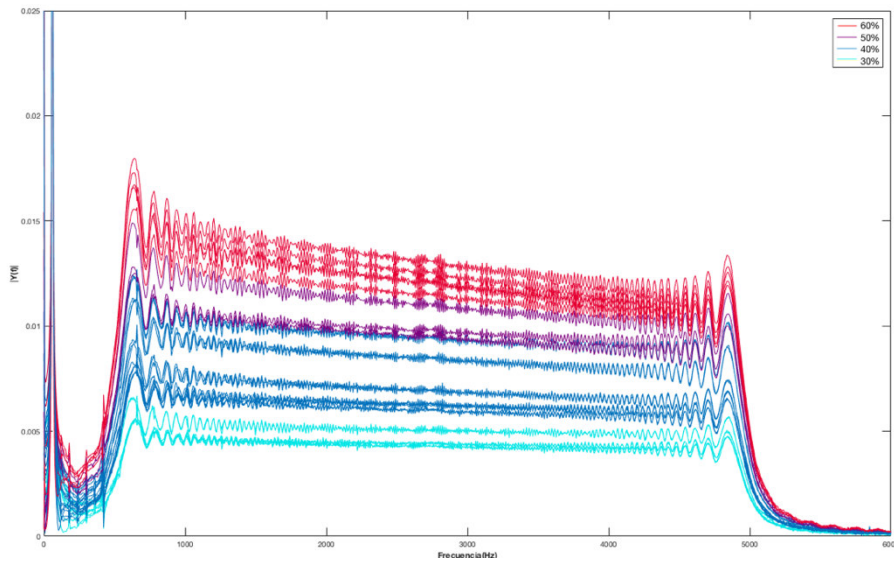


Figura 33. FTT de mediciones obtenidas en altas frecuencias para la Prueba no.3.

Así mismo, a través del análisis Wavelet para la Prueba no.3, resulta una diferencia en el Detalle 1, entre muestras de 39, 51 y 56% de humedad parcial, como se observa en la Figura 34.

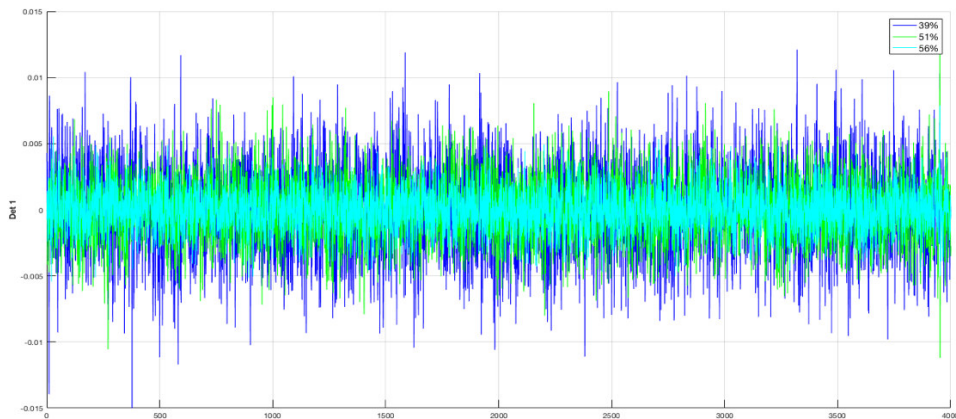


Figura 34. Detalle 1 mediante análisis Wavelet.

4.3 Prueba de repetibilidad

Después de realizar el análisis de las mediciones, se hizo una comparación entre estas para verificar la repetibilidad en los resultados, agrupando de acuerdo con su porcentaje de humedad en los tres días de prueba, esto a través de la regla de tres-sigma.

Primero se realizaron las pruebas en las muestras con respuesta en bajas frecuencias, como anteriormente se mostro en la Figura 23, estas fueron para en un intervalo específico de 185 a 235 Hz, tomando en cuenta todas las mediciones de las pruebas numero 1, 2 y 3, en las cuales se obtuvieron 64 mediciones y se agruparon de acuerdo con su porcentaje de humedad. A continuación, en la TABLA 9 y en la Figura 35 se muestran los resultados de repetibilidad, donde los cuatro grupos cumplen con la regla de tres-sigma, debido a que el 100% de las mediciones se encuentran dentro del rango de esta, incluso se cumple para la regla de una-sigma puesto que los resultados se obtuvieron mayores del 70% y para cumplirla al menos el 68% de las mediciones tienen que estar en este rango.

TABLA 9.- Resultados de repetibilidad en respuestas de bajas frecuencias.

% de Humedad	Media	Desviación Estándar	% Dentro de una-sigma
60	0.0024	3.6918×10^{-4}	78.58
50	0.0023	2.9307×10^{-4}	76.47
40	0.0011	2.2492×10^{-4}	78.94
30	8.7561×10^{-4}	2.0715×10^{-4}	71.42

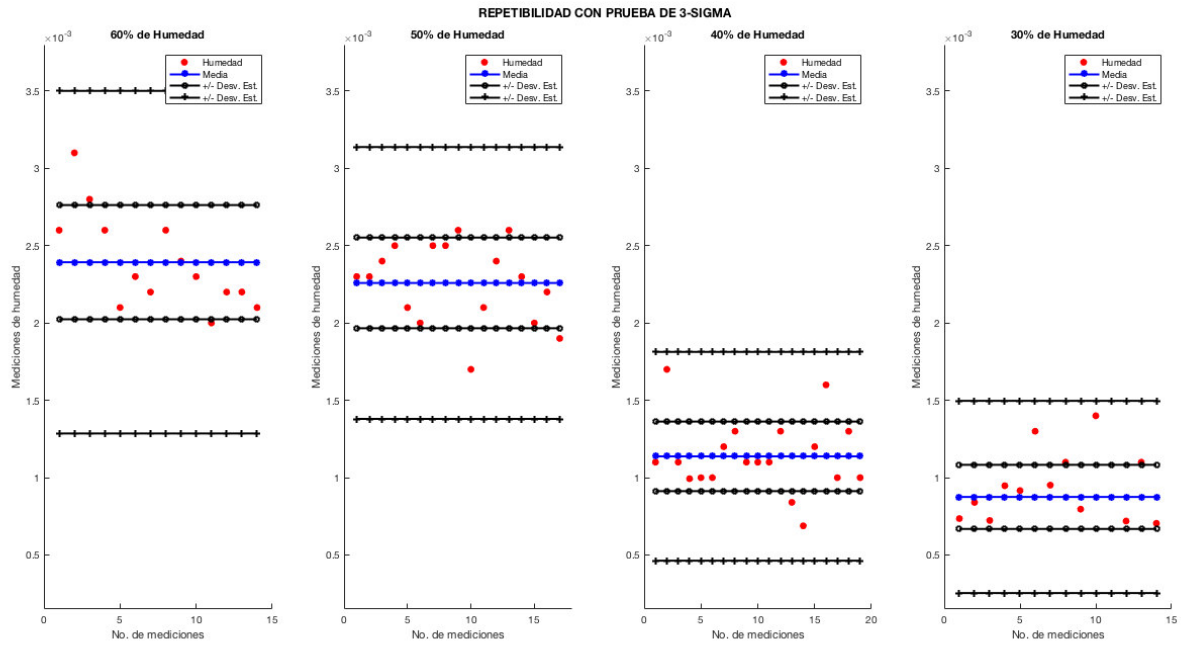


Figura 35. Prueba de repetibilidad con regla de una-sigma y tres-sigma para mediciones con respuesta de bajas frecuencias.

De igual forma se realizó la prueba de repetibilidad para las muestras con respuesta en altas frecuencias, esto para 63 mediciones obtenidas de las pruebas 1, 2 y 3, en un intervalo de 1.5 a 3 kHz, como se muestra en la TABLA 10 y en la Figura 36, igualmente se logran resultados favorables con la regla de una-sigma obteniendo un porcentaje mayor a 70 el cual cumple con el rango de esta, y con la regla de tres-sigma obteniendo un 100% en las mediciones.

TABLA 10.- Resultados de repetibilidad en respuestas de altas frecuencias.

Humedad	Media	Desviación Estándar	% Dentro de una-sigma
60%	0.0133	0.0014	85.72
50%	0.0124	0.0020	76.47
40%	0.0066	0.0016	71.43
30%	0.0050	0.0004968	72.72

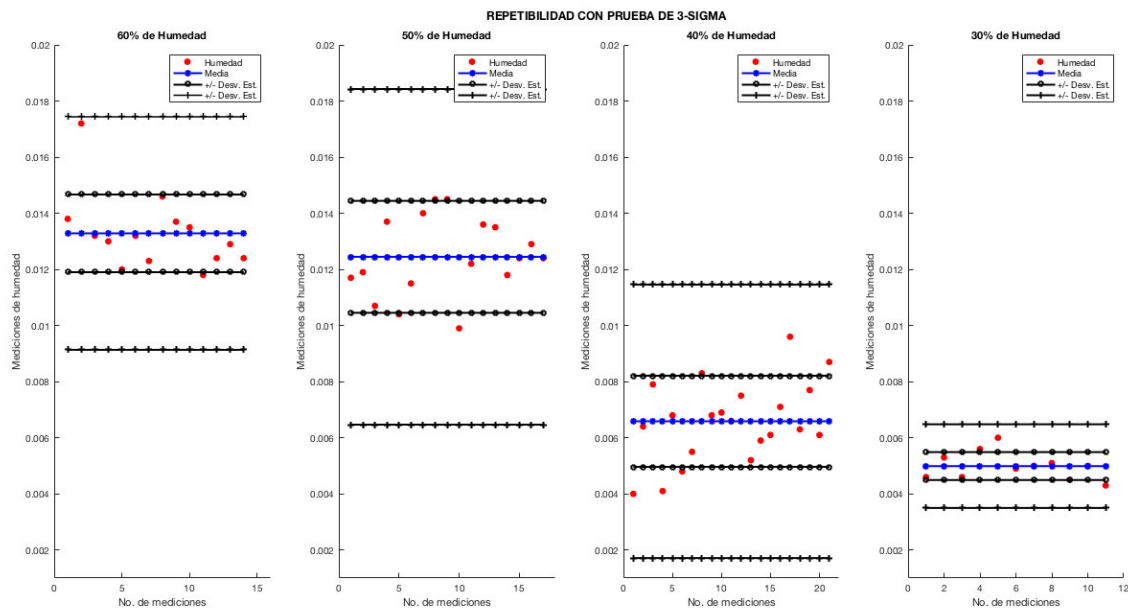


Figura 36. Prueba de repetibilidad con regla de una-sigma y tres-sigma para mediciones con respuesta de altas frecuencias.

4.4 Conclusiones

En relación con lo antes expuesto, se puede deducir el aporte que tienen nuevas técnicas para el análisis de alimentos, siendo la bioimpedancia eléctrica una herramienta que se adecua para este tipo de aplicaciones, al inyectar una corriente a la muestra y midiendo su respuesta en tensión, se hace indispensable una fuente de corriente, y la fuente de Howland presenta características suficientes para estas aplicaciones. Este tipo de fuente también permite generar un enriquecimiento espectral al momento de realizar mediciones de bioimpedancia. Por lo anterior, técnicas de procesamiento digital de señales son esenciales para el análisis del contenido espectral de los resultados obtenidos, al identificar modificaciones que son útiles para la caracterización del biosensor.

Debido a esto, se comprobó que mediante la implementación de un biosensor basado en la Fuente de Howland se puede identificar la humedad de la papa, esto a través del análisis espectral y técnicas de procesamiento digital de señales, obteniendo respuestas favorables excitando nuestro sistema con señales de bajas y altas frecuencias en intervalos de 0 a 500 Hz y 500 a 5000 Hz.

Además mediante la prueba de repetibilidad con la regla de una-sigma y tres-sigma, se obtuvo resultados favorables tanto en mediciones con respuesta de bajas y altas frecuencias, por lo que se comprobó la repetibilidad en las mediciones para cada grupo de acuerdo con cierto porcentaje de humedad, en distintos días de prueba.

Por lo tanto, plantear este tipo de técnicas en el análisis alimentario, permiten estrategias innovadoras y con una amplia aplicación en la industria alimentaria, dando la posibilidad de investigar e implementar biosensores con la finalidad de facilitar el análisis en la producción y calidad alimenticia.

Referencias.

1. Rumayor, V. G., Iglesias, E. G., Galán, O. R., & Cabezas, L. G. (2005). Aplicaciones de biosensores en la industria agroalimentaria. *Informe de Vigilancia Tecnológica. Madrid*.
2. Jiménez, C. (2009). Biosensores: Aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios. *Vitae*, 16(1), 144-154.
3. Greenfiel, H., & Southgate, D. A. (2009). *Nueva luz sobre un tesoro enterrado: año Internacional de la Papa 2008-Reseña de fin de año* (No. V330). FAO,.
4. Ruiz, R. E. (2001). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Gravimetric Measurements of Water*.
5. Pérez-Esteve, E., Fuentes, A., Grau, R., Fernández-Segovia, I., Masot, R., Alcañiz, M., & Barat, J. M. (2014). Use of impedance spectroscopy for predicting freshness of sea bream (*Sparus aurata*). *Food Control*, 35(1), 360-365.
6. Fernández-Segovia, I., Fuentes, A., Aliño, M., Masot, R., Alcañiz, M., & Barat, J. M. (2012). Detection of frozen-thawed salmon (*Salmo salar*) by a rapid low-cost method. *Journal of Food Engineering*, 113(2), 210-216.
7. Caicedo-Eraso, J. C., Díaz-Arango, F. O., & Osorio-Alturo, A. (2020). Espectroscopia de impedancia eléctrica aplicada al control de la calidad en la industria alimentaria. *Ciencia & Tecnología Agropecuaria*, 21(1), 1-20.
8. Malhotra, B. D. (2017). *Biosensors: fundamentals and applications*. Smithers rapra.
9. Leonard, P., Hearty, S., Brennan, J., Dunne, L., Quinn, J., Chakraborty, T., & O'Kennedy, R. (2003). Advances in biosensors for detection of pathogens in food and water. *Enzyme and Microbial Technology*, 32(1), 3-13.
10. Sánchez-Iglesias, A., Fernández-Lucas, M., & Teruel, J. L. (2012). Fundamentos eléctricos de la bioimpedancia. *Nefrología (Madrid)*, 32(2), 133-135.
11. Alvero-Cruz, J. R., Gómez, L. C., Ronconi, M., Vázquez, R. F., & i Manzanido, J. P. (2011). La bioimpedancia eléctrica como método de estimación de la composición corporal: normas prácticas de utilización. *Revista Andaluza de medicina del deporte*, 4(4), 167-174.

12. López-Gómez, J. M. (2011). Evolución y aplicaciones de la bioimpedancia en el manejo de la enfermedad renal crónica. *Nefrología (Madrid)*, 31(6), 630-634.
13. ORTIZ, O. A. A., Vergara, O. J. B., & Mercado, D. A. M. (2007). Criterios de diseño de la fuente de corriente howland. *Revista UIS Ingenierías*, 6(1), 59-68.
14. Fierro, A. S. (2010). Diseño y realización de una fuente de corriente para dispositivos optoelectrónicos de semiconductor.
15. Hart, F. L., Gonzalez, B., Justino, T., & Fisher, H. J. (1991). *Análisis moderno de los alimentos*. Acribia,.
16. Jiménez, C. (2009). Biosensores: Aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios. *Vitae*, 16(1), 144-154.
17. FAOSTAT, F. (2017). Food and agriculture data. *Food and Agriculture Organization*.
18. FAO, S. (2013). FAOSTAT database. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*.
19. Devaux, A., Goffart, J. P., Petsakos, A., Kromann, P., Gatto, M., Okello, J., ... & Hareau, G. (2020). Global Food Security, Contributions from Sustainable Potato Agri-Food Systems. In *The Potato Crop* (pp. 3-35). Springer, Cham.
20. Burgos, G., Zum Felde, T., Andre, C., & Kubow, S. (2020). The Potato and Its Contribution to the Human Diet and Health. In *The Potato Crop* (pp. 37-74). Springer, Cham.
21. Amjad, W., Crichton, S. O., Munir, A., Hensel, O., & Sturm, B. (2018). Hyperspectral imaging for the determination of potato slice moisture content and chromaticity during the convective hot air-drying process. *Biosystems Engineering*, 166, 170-183.
22. Smith, S. W. (1997). The scientist and engineer's guide to digital signal processing.
23. Friedrich, M. G. R. (2002). Introducción al procesamiento digital de señales. *Técnicas Digitales III*.
24. Carrizo, M. ,(2014). Fourier y el procesamiento digital de señales.
25. Cortés, J. A., Garzón, H. B. C., & Chaves, J. A. (2007). Del análisis de Fourier a las Wavelets-transformada continua wavelet (CWT). *Scientia et technica*, 1(37).

26. Cooley, J. W., & Tukey, J. W. (1965). An algorithm for the machine calculation of complex Fourier series. *Mathematics of computation*, 19(90), 297-301.
27. Nieto, N., & Orozco, D. M. (2008). El uso de la transformada wavelet discreta en la reconstrucción de señales senosoidales. *Scientia et technica*, 14(38), 381-386.
28. Sheng, Y. (1996). The Transforms and Applications Handbook, Ed. by AD Poularikas.
29. Di Paolo Emilio, M. (2013). Data acquisition systems: from fundamentals to applied design.
30. Proakis, J. G. (1996). Dimitris G. manolakis' Digital Signal Processing' Tird edition.
31. García Martínez, E. M., & Fernández Segovia, I. (2012). Determinación de la humedad de un alimento por un método gravimétrico indirecto por desecación.
32. AOAC. Garfield, F. M. (1991). *Quality assurance principles for analytical laboratories*.
33. Ando, Y., Mizutani, K., & Wakatsuki, N. (2014). Electrical impedance analysis of potato tissues during drying. *Journal of Food Engineering*, 121, 24-31.
34. TEquipment, <https://www.tequipment.net/Delmhorst/30-E/C/General-Accessories/#reviews>.
35. Analog Discovery 2 Reference Manual, <https://reference.digilentinc.com/reference/instrumentation/analog-discovery-2/reference-manual>.