

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ
FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA



PONTIFICIA
UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DEL PERÚ

DESARROLLO DE UN BIOSENSOR EN BASE A DOS
CRISTALES DE ONDA ACÚSTICA DE SUPERFICIE A 80 MHz
APLICADA A LA CALIDAD DE PRODUCTOS AGRÍCOLAS

Tesis para optar el Título de Ingeniero Electrónico, que presenta el bachiller:

Frans Erick Tello Rivera

ASESOR: Willy Eduardo Carrera Soria

Lima, febrero del 2012

RESUMEN

El presente documento de tesis con el título: “Desarrollo de un biosensor en base a dos cristales de Onda Acústica de Superficie a 80 MHz aplicada a la calidad de productos agrícolas” del área de bioingeniería, tiene como objetivo principal la implementación del circuito electrónico de un biosensor tomando como sugerencia un diseño previo realizado., para comprobar la validez del diseño y realizar cambios y/o mejoras si fueran pertinentes. Se plantea que este biosensor pueda ser enfocado a mejorar la calidad de los productos alimenticios, siendo el biosensor un dispositivo que facilite el proceso de selección de los productos, identificando si estos productos contienen patógenos en su organismo.

Para el desarrollo de la electrónica de este biosensor se plantea el uso del Cristal de Onda Acústica de Superficie (SAW), pues se usa la propiedad de la piezoelectricidad de los cristales, por la cual miden el cambio directo de masa inducidos por la inserción de un complejo patógeno-antígeno mediante la oscilación de su superficie a determinada frecuencia.

Para la implementación se tomó en cuenta el diseño de los dos osciladores, uno de referencia y uno de prueba, cada lazo conteniendo un cristal “SAW”, una etapa de amplificación de ganancia RF, una etapa divisora de frecuencias, una etapa de desplazamiento de fase y una etapa atenuadora de ganancia. Finalmente a la salida de los lazos osciladores una etapa de resta de frecuencias (resta de frecuencias), con el objetivo de que determine la presencia de patógeno-antígeno, si a la salida de esta etapa presenta un valor distinto a frecuencia cero Hertz. La validez de esta etapa es de suma importancia, en el hecho de que determina si el biosensor cumple su función de selector de productos y que pueda ser usado en el sector de calidad alimentaria. Debemos entender también que este biosensor debe ser tal que pueda detectar oscilaciones de frecuencias en Hertz o KiloHertz, ya que la masa el sustrato que se insertará en el cristal será microscópica oscilando a estas frecuencias.

La validez del desarrollo de la investigación servirá como punto clave para continuar con la investigación, en este caso en el campo químico, donde el dispositivo será de real utilidad en la industria agroalimentaria si es complementada con un estudio químico, partiendo de la investigación acotada en el presente documento.

INTRODUCCIÓN

La biotecnología es usada desde lo antiguos peruanos de manera tradicional usando métodos fermentativos en la preparación de alimentos y otros productos; el uso de materias primas vivas como agentes de reconocimiento ha sido estudiado por muchos años, siendo el resultado de las investigaciones puestas en práctica en las ciencias médicas para detectar agentes infecciosos y combatir así diferentes tipos de enfermedades. El reto nos lleva a buscar nuevas aplicaciones para la biotecnología, retos que produzcan muchos beneficios para un país en franco crecimiento.

El Perú con su enorme biodiversidad, tiene pendiente un conjunto de conocimientos de su flora y fauna para la mejor utilización de las mismas que nos conlleven a decidir y priorizar de mejor manera el uso de sus recursos para ciencia, tecnología e innovación.

El desarrollo de un país viene por el mejor aprovechamiento de sus recursos; en este sentido, el proyecto plantea desarrollar un biosensor de bajo costo y fácil manejo, el cual detecta agentes patógenos en muestras de productos agroindustriales para que estos puedan ser llevados al mercado de una manera más rápida y efectiva, evitando la pérdida del producto y cumpliendo con la demanda existente en el mercado.

CAPITULO 1: SITUACIÓN ACTUAL Y PROBLEMÁTICA DE BIOSENSORES APLICADOS A LA CALIDAD DE LOS PRODUCTOS AGRICOLAS.

1.1 Análisis de factores que regulan la aplicación de la tecnología de investigación en el entorno general.

La percepción de la importancia del cambio tecnológico ha experimentado diferentes cambios en los últimos años, la innovación tecnológica es motivo de creciente interés, en todos los medios no sólo científicos y/o académicos. El cambio tecnológico en lo referido al aspecto económico-social, como en la determinación de los factores que condicionan su evolución, constituye hoy en día un tema de importante indagación.

Este despertar tecnológico aún no influye de manera activa en todos los países del mundo, como en el Perú donde se ha concedido poca importancia al papel tecnológico en sector agroalimentario. Es muy cierto entonces que necesitamos de mucha biotecnología para el mejoramiento de nuestro cultivo, vemos que nuestra agro exportación avanza a ritmos muy acelerados de crecimiento (30% con respecto al 2009) [8] sin hacer uso significativo de ella. Existe además un déficit muy grande de conocimiento básico de nuestras variedades locales y nativas de nuestros productos tradicionales.

Es por tanto debido a lo descrito en el párrafo anterior, que la tecnología se encuentra ampliamente comprometida en el desarrollo de nuevos dispositivos que faciliten y aceleren el crecimiento efectivo de lo anteriormente mencionado.

1.2. Estado actual de la investigación para el desarrollo de la biotecnología en la industria agroalimentaria peruana.

En los cultivos tradicionales como el maíz, arroz, papa, etc., la biotecnología podría contribuir a limpiar la variedad de patógenos, a encontrar variedades resistentes que se puedan adaptar mejor a los problemas de salinidad del suelo y escasez de agua que son tan presentes en nuestros ecosistemas.

La Presidencia del Consejo de Ministros desde el Centro de Planeamiento Estratégico, así como el Ministerio de la Producción y el Ministerio de Agricultura

desde el proyecto INCAGRO, han tomado conciencia de que este Programa Nacional de Biotecnología es impostergable y se pretende dar un aporte para promover el uso integral de las herramientas biotecnológica. El desarrollo de biotecnología en la industria agroalimentaria se centra en el uso de biosensores, cuyo interés radica principalmente en el análisis de la composición de los alimentos, el reconocimiento de patógenos, alérgenos, anti-nutrientes, etc. Por tanto, a continuación mostraremos las características y la clasificación de los biosensores. [7, 8, 9]

1.2.1. Características de Biosensores.

Dentro de las aplicaciones para la industria agroalimentaria es deseable que estos dispositivos cuenten con las siguientes características:

- **Alta sensibilidad** para el análisis de ciertos analitos. Existen unidades capaces de detectar cantidades inferiores a los límites exigidos por la ley en el caso de residuos de plaguicidas.
- **Alta selectividad** para que el dispositivo interaccione exclusivamente con el compuesto de interés y no con otras propiedades similares. Se consigue mediante reconocimientos muy específicos.
- **Alta fiabilidad.** Los sistemas de transducción se diseñan de manera que no puedan ser alterados por la muestra y no tengan problemas de ruidos.
- **Tiempo de vida largo.** La estabilidad química, física y mecánica del elemento de reconocimiento condiciona su duración, evitando sustituciones frecuentes del mismo en la línea de producción de la misma.
- **Bajo costo** de producción, a pesar de la poca disponibilidad de algunos elementos de reconocimiento como enzimas, y la existencia de fases críticas en su construcción.
- **Tiempo de análisis corto** que posibilite una actuación rápida.
- Capacidad de realizar análisis en **tiempo real**. Esta característica es de especial interés para el control de procesos.
- **Portátiles** para facilitar la realización de análisis *in situ*.

- **Automatizables** que permitan facilitar la integración dentro de sistemas que monitorizan los procesos industriales.
- **Miniaturizables.** Reducir las dimensiones de estos dispositivos, con el objetivo de poder realizar varias tareas a la vez donde el tamaño físico o volumen de la muestra son factores limitantes.
- **Pocos requerimientos operativos** y de almacenamiento que faciliten su empleo y no supongan un costo adicional. [8]

Pues bien, actualmente existe una amplia variedad de biosensores, cada uno distinto en su forma de análisis que en su totalidad poseen limitadas características de las mencionadas anteriormente.

1.2.2. Clasificación de los biosensores.

En la figura 1.1 se presenta una tabla con estos dispositivos donde pueden clasificarse 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.

| | |
|--|--|
| Tipo de interacción <ul style="list-style-type: none"> · Biocatalítica. · Bioafinidad. | Detección de la interacción <ul style="list-style-type: none"> · Directa. · Indirecta. |
| Elemento de reconocimiento <ul style="list-style-type: none"> · Enzima. · Orgánulo, tejido o célula completa. · Receptor biológico. · Anticuerpo. · Ácidos nucleicos. · PIM, PNA, aptámero. | Sistema de transducción <ul style="list-style-type: none"> · Electroquímico. · Óptico. · Piezoeléctrico. · Termométrico. · Nanomecánico. |

FIGURA 1.1: Clasificación de los biosensores

(Fuente: Aplicación de biosensores en la industria agroalimentaria) [8]

Apreciando la figura anterior se observa que existen múltiples elementos de reconocimiento y sistemas de transducción, dependiendo del tipo de interacción del sensor con el sustrato a usar, en teoría estos componentes admiten diversas combinaciones que dependen de las características del compuesto a analizar y según lo que se trate de detectar. Es importante recalcar que la elección del transductor (del cual se hablará más adelante) está condicionada por el tipo de elemento de reconocimiento elegido y por el tipo de interacción que tiene.

1.2.2.1. Tipo de interacción

Está referido a la relación mutua de dos o más elementos; los estudios actuales presentan dos tipos de interacción basadas en reacciones químicas: los sensores biocatalíticos y los sensores de bioafinidad.

Sensores Biocatalíticos: Estos sensores son los mejores conocidos y los más aplicados. Su funcionamiento se basa en la utilización de biocatalizadores, elementos que favorecen la reacción química para la detección de sustratos, orgánulos celulares, células completas o mecanismo de inhibición enzimática que intervienen en el proceso, caracterizados por su capacidad regenerativa que no condiciona la dependencia del proceso de la cantidad del mismo. Existen sustancias tóxicas como insecticidas o herbicidas que inhiben la actividad de determinados sistemas enzimáticos de manera selectiva, de modo que estos sistemas se utilizan para detectar su presencia. Estos elementos de reconocimiento pueden acoplarse a distintos tipos de transductores como los electroquímicos, ópticos, termométricos y acústicos. [8, 9]

Entre los elementos de reconocimiento típicos de este tipo de interacciones, se destacan las enzimas, son moléculas inmovilizadas de naturaleza proteica o ribozimica, altamente específicas, eficientes y regulables, acoplables a transductores de los tipos anteriormente mencionados.

Entre otros elementos de reconocimiento con el mismo tipo de interacción se encuentran: Las células completas o sometidas a procesos metabólicos que permiten monitorear metabolitos primario o secundario, aunque no de forma muy específica y con limitaciones de permeabilidad. Se pueden utilizar para detectar la presencia de compuestos relacionados con el crecimiento como vitaminas, azúcares, o bien para detectar compuestos que inhiben la respiración microbiana como contaminantes ambientales o sustancias tóxicas [8, 9]. Orgánulos encargados de las producciones energéticas e implicadas en el metabolismo de xenobióticos específicos, convirtiéndose en indicadores ambientales de contaminación por agentes como pesticidas y contaminantes industriales.

Existen determinados tejidos que debido a su función fisiológica en el organismo son una fuente de determinadas enzimas o sistemas enzimáticos para el control de calidad mediante la determinación de productos de descomposición. [8]

Sensores de Bioafinidad: Los sensores de Bioafinidad se basan en la interacción del analito de interés con el elemento de reconocimiento, sin que exista

transformación catalítica, sino que produce una reacción de equilibrio en la que se forma un complejo analito-receptor. Presentan una gran ventaja en cuanto a sus aplicaciones para la detección de residuos de pesticidas, agentes microbianos y alérgenos en alimentos. [8]

Pueden utilizarse también un sistema de detección directa de la interacción entre el receptor y el analito basándose en los cambios que se producen en la masa de la superficie, o bien por los cambios en las propiedades de la luz que se producen como consecuencia de esta unión. Se pueden utilizar para la detección del material genético de microorganismos, para detectar la presencia de patógenos o pesticidas o cualquier tipo de sustancias que causen una respuesta inmune. Existen distintos tipo de receptores de bioafinidad como:

Los receptores moleculares, existen dentro de las membranas celulares y que pueden aislarse e inmovilizarse en diferentes superficies y utilizarse como elementos de reconocimiento asociados a diversos transductores. Pueden ser utilizados para determinar compuestos tóxicos que ejercen su acción en los organismos mediante la unión a moldes específicos como el caso de los gangliósidos que se utilizan como receptores para detectar la toxina colérica.

Los anticuerpos, son proteínas que se unen de manera selectiva a una molécula complementaria denominada antígeno, cada antígeno requiere la producción de un anticuerpo particular, su aislamiento y en ocasiones su purificación. La especificidad y la sensibilidad del inmunosensor así como la posibilidad de regeneración, de manera que para alcanzar una alta sensibilidad se necesita que el complejo tenga una afinidad alta.

A estos se suman los biosensores para el análisis de ADN se basan en el proceso de hibridación, que es la unión de una cadena de ADN con su cadena complementaria. Estos biosensores, también conocidos como “gene chips” son usados para el reconocimiento y cuantificación de ADNs molde en muestras de interés, además pueden utilizarse para la detección de organismos modificados genéticamente y microorganismo patógenos.

Uno de los sensores de afinidad más conocidos son los polímeros de impresión molecular o PIMs, tienen la capacidad de reconocer e interactuar de forma específica con determinados compuestos. Esto polímeros con “memoria” selectiva cuentan con una serie de características muy interesantes para las tecnologías de los biosensores. Su gran potencial como sustitutos de las estructuras de origen biológico se ha materializado en el desarrollo de los primeros dispositivos que incorporan PIMs como elementos de reconocimiento, por ejemplo, para la detección de plaguicidas, fármacos o toxinas marinas. [8, 9]

Los ácidos nucleicos peptídicos o PNAs son otro tipo de moléculas sintéticas que mimetizan al ADN-ARN. De hecho, su estructura es muy similar a la de estos ácidos. La principal ventaja de estas moléculas biomiméticas frente a sus análogos naturales es su gran afinidad para establecer enlaces con cadenas ADN. Este elemento de reconocimiento se utiliza en la detección de microorganismos patógenos.

Finalmente se encuentran los Aptámetros, son capaces de reconocer diversas moléculas molde con una afinidad y especificidad elevadas. Tienen una similitud con los anticuerpos, pues se pliegan en el espacio y adquieren una conformación con determinadas regiones a las que puede unirse el analito. Entre sus ventajas se encuentra que: son estables en comparación con los elementos biológicos, su inmovilización es sencilla en las superficies y su producción a gran escala genera un bajo costo, en el otro sentido su principal desventaja es que tiene constantes de afinidad pequeñas [8, 9].

1.3. Estudio de la producción agrícola peruana.

El sector agrícola del Perú, presenta indicadores distintos a los dados en América Latina, pues mientras el PBI agropecuario creció en el período 1990 – 2000 en América Latina a una tasa promedio de 2,6 por ciento anual, en el Perú la tasa promedio anual llegó a un 6,0 por ciento. De acuerdo a la producción del año 2002, los principales cultivos peruanos según el volumen anual de producción son la Caña de azúcar, el arroz en cáscara, el plátano, el Maíz amarillo duro y la yuca.

Por otro lado, según el valor de la producción, los principales cultivos peruanos en el 2002 son la papa, el Arroz cáscara, el azúcar, el café, el plátano, el Maíz amarillo duro y la yuca. Según Oficina de Estudios Económicos y Estadísticos (OEEE) del Minag se viene dando una evolución positiva en el sector agrícola con un crecimiento de 2.8 por ciento, respecto al registro anterior. Los productos que registraron un mayor incremento dentro del subsector agrícola fueron el mango, piña, papa y palta; y en menor medida el maíz amarillo duro, zapallo, cacao, arveja grano verde, café y tuna [14].

1.4. Estudio de la biotecnológica aplicada en estos productos.

Aplicaciones de la biotecnología en arroz: El mejoramiento genético del arroz hace uso de plantas dihaploides obtenidas principalmente por cultivos de anteras; las líneas haploides incrementan la eficiencia de selección de caracteres de origen poligénico y facilitan la detección de mutaciones recesivas. También hay numerosos trabajos en los que usando la transgénesis, logran variedades de mayor calidad nutritiva; es el caso del arroz dorado (“golden rice”) que produce niveles incrementados de provitamina A y otras variedades con mayores contenido de hierro que están en elaboración. Ninguna de estas metodologías ha sido implementada en el Perú. [8, 9]

Aplicaciones de la Biotecnología a la Caña de Azúcar: En este cultivo hay algunas aplicaciones básicas de la biotecnología como son el cultivo de tejidos a partir de meristemos para la obtención de vitroplantas o super elite (plantas sanas y limpias de patógenos); la producción de semilla registrada, por el método de extracción de yemas, con tratamientos hidrotérmicos y químicos. Este es el primer paso para erradicar la bacteria del raquitismo que junto a la escaldadura foliar, son las enfermedades que más afectan en la producción de la caña de azúcar. Estas metodologías no han sido implementadas en el Perú. [8, 9]

Aplicaciones de la biotecnología en maíz: El maíz siendo uno de los cultivos más difundidos y utilizados en el mundo, es sujeto de muchas investigaciones y desarrollos tecnológicos y en particular biotecnológicos. Es importante reiterar la importancia del maíz “Bt” de gran difusión entre los países que ya han decidido admitir y gestionar el riesgo como cultivo transgénico. En el Perú no ha habido mayores desarrollos en esta área. Otras aplicaciones biotecnológica que si se han implementado en el país es el uso de marcadores moleculares para evaluar diversidad y desarrollar un modelo para describir esta diversidad así como un modelo para predecir la erosión genética. [8, 9]

1.4.1. Factores laborales en el uso de la biotecnología en el Perú.

El ingreso mensual promedio por agricultor es de 214 soles. El departamento de Arequipa tiene los mayores ingresos promedio por agricultor, mientras que el departamento Ucayali tiene los menores ingresos. Esto se explica por la cantidad de productores agrícolas en las zonas de referencia. Donde existen grandes

productores agrícolas los ingresos son mayores. Por el contrario, departamentos donde predominan los pequeños agricultores, tienen ingresos por lo general, por debajo del promedio nacional. Uno de los factores que explica este hecho es la falta de confianza de los agricultores en las organizaciones estatales y comunales, en tal sentido, si un agricultor utiliza fertilizantes y su vecino de parcela no lo hace, las plagas pueden afectar las plantaciones del primero, y por tanto, reducir sus ingresos. Esto se observa incluso en departamentos que sobresalen como grandes productores, como es el caso de Puno, primer productor de papa a nivel nacional donde gran parte del valor de su producción agrícola se destina a autoconsumo, por lo cual, las ganancias son incluso menores [14].

1.5. Proceso de desarrollo del proyecto.

1.5.1 Descripción del proceso.

El desarrollo del prototipo debe ser tal que el transductor disponible aproveche al máximo la propiedad de la piezoelectricidad, en tal sentido se ha visto conveniente usar una configuración diferencial en alta frecuencia de modo que el diferencial de frecuencia (Δf) entre el oscilador de referencia y el oscilador de prueba sea procesada por el bloque restador, como se muestra en la figura 1.2. La ventaja de trabajar con dos osciladores se basa en que podemos saber mediante el diferencial de frecuencias si existe o no un cambio en la masa de la muestra de manera más rápida, precisa y además que se cuentan con los equipos para obtener este resultado, de hecho sería difícil notar si solo usáramos un lazo oscilador, ya que al trabajar en alta frecuencia en unidades de MHz el cambio de frecuencia será casi imperceptible en unidades de Hz o KHz y complicando así la obtención del resultados. Cabe recalcar que debido a que nuestro asunto de estudio no es el diseño del prototipo sino el desarrollo del mismo, nuestro esfuerzo se centrará en llevar a la práctica el anterior diseño verificando y/o optimizando lo que se plantea como diseño, como se muestra en la figura 1.2

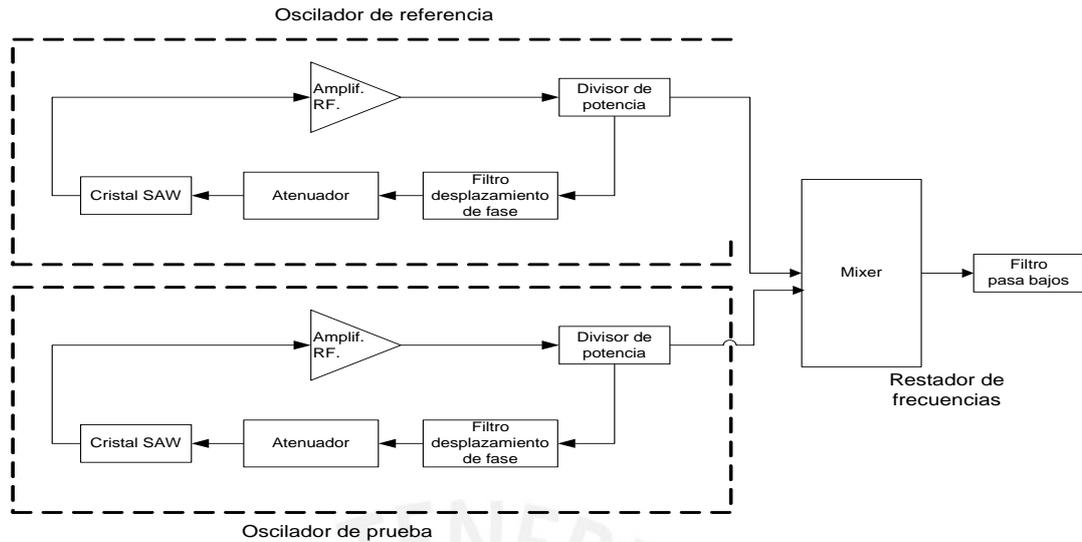


Figura 1.2 Circuito completo de los lazos osciladores que componen el biosensor

1.6. Objetivos del proyecto.

1.6.1. Objetivo general.

Desarrollar un dispositivo basado en un oscilador SAW que oscile a 80MHz. para la medición rápida del cambio de frecuencias al ser sometido a diferentes muestras, obteniendo como resultado la detección de presencia de agentes patógenos en muestras tomadas en productos agrícolas posiblemente infectados.

1.6.2. Objetivos específicos.

- 1) Implementar un restador de frecuencias que tenga como entrada la salida de los lazos osciladores y como salida una señal mucho más fácil de medir.
- 2) Implementar un amplificador RF que permita obtener una ganancia equivalente a las pérdidas que se generan a través del lazo oscilador.
- 3) Implementar un atenuador que permita restringir el nivel de ganancia del lazo oscilador, producto de la acción de los dos amplificadores en cascada.
- 4) Implementar un filtro de desplazamiento de fase de tal modo que se evite el desfaseamiento de la señal.
- 5) Implementar un divisor de potencia con el propósito de conservar el nivel de impedancia determinado en el modelo en todos los trayectos de las señales y obtener a su salida la oscilación deseada en el lazo.

1.7. Declaración del marco problemático.

El concepto de seguridad alimentaria implica garantizar la producción y comercialización de alimentos que no supongan un riesgo potencial para la salud del consumidor. En este campo los biosensores se utilizan para el control de calidad, seguridad alimentaria, control de procesos, etc. El sistema de desarrollo agroindustrial sienta sus bases en el desarrollo tecnológico con la que se implementan las fábricas de productos agrícolas. Sin embargo la implementación de estas tecnologías de última generación tiene un alto costo, investigaciones como la que planteamos nos abren las puertas a un desarrollo acorde con la realidad actual de nuestro país.

El hecho que el desarrollo de biosensores esté inmerso en la industria y el comercio nos exige que el proceso de implementación sea confiable, por ende nuestro principal problema se centrará establecer un buen criterio de estabilidad en la implementación, ubicando las zonas estables e inestables. Otro factor importante a tener en cuenta es la técnica de medición para no obtener resultados imprecisos ni distorsionados, por tanto no se pueden considerar sólo una sola variable para todo el sistema ya que esto me lleva a imprecisión e inexactitud, tanto el oscilador de referencia como el de prueba tendrán que someterse a un proceso de calibración estático continuo. Del mismo modo, el dispositivo debe ser capaz de obtener los mismos resultados para un mismo tipo de ensayo al realizarse sucesivamente a las mismas condiciones y a cortos intervalos de tiempo. Las condiciones de respuesta no pueden ser las mismas al cambio de la propiedad de medida por unidad de concentración, es decir que para diferentes cantidades en las condiciones en la muestra la respuesta no puede ser la misma, este es un factor importante a considerar ya que el dispositivo a desarrolla mide mínimas diferencias en los cambios de masa, es ahí donde basa su principio de acción.

CAPÍTULO 2: CONSIDERACIONES EN EL PROCESO DE IMPLEMENTACIÓN EN ALTA FRECUENCIA.

2.1. Estado del arte.

2.1.1. Presentación del asunto de estudio

El Perú es un país de extraordinaria variedad de recursos vivos y ecosistemas, siendo estos de gran importancia para el mundo moderno en la cual el Perú juega un rol decisivo. En esta perspectiva, la ingeniería ha contribuido a que la industria agroalimentaria peruana haya alcanzado cierto grado de madurez y modernización, basado en dos ejes fundamentales: la seguridad y la calidad de los alimentos, pero aún no es suficiente. Se necesita que la calidad de los alimentos tengan características fundamentales que enriquezcan su valor nutricional, y a la vez están libres de la presencia de bacterias, hongos y demás microorganismos; es en este campo donde el desarrollo y la implementación de biosensores juega un papel importante, teniendo como función el de ser los indicadores de calidad.

Actualmente los biosensores suponen potentes herramientas de análisis en diversas aplicaciones en la industria agroalimentaria, apoyándose en la instrumentación biotecnológica y los resultados obtenidos en la investigación postgenómica. Las principales características de estos dispositivo que lo convierten como muy buenas opciones, para su uso en la industria agroalimentaria son: su alta sensibilidad, su bajo costo, su especificidad, su corto tiempo de análisis, su fácil automatización, su fácil inclusión en sistemas integrados, la capacidad que tienen para trabajar en tiempo real su versatilidad que permite el diseño de diferentes variantes con la misma función, entre otras. [7, 9, 11]

El presente asunto de estudio expone el análisis de las diferentes tecnologías de biosensores aplicables a la industria agroalimentaria, clasificándolos según su tipo de interacción entre el elemento de reconocimiento y el sistema de transducción; para así englobarlos en su aplicabilidad en agroalimentación (seguridad alimentaria, calidad alimentaria, control de procesos, etc).

En esta perspectiva, el asunto de estudio se concentrará en la implementación de un oscilador de onda acústica (SAW por sus siglas en inglés) en alta frecuencia,

como base para su posterior aplicabilidad como biosensor en la industria agroalimentaria peruana puesto que es relativamente económico y sobre todo de fácil difusión en el medio peruano, teniendo en cuenta que el factor costo es gravitante en la toma de decisiones.

2.1.2 Estado de la investigación

Partiendo del hecho que la biotecnología tiene la potencialidad de salvar vidas, crear trabajo, incentivar la economía, etc. Podríamos preguntarnos ¿porqué el avance biotecnológico en el pasado ciclo no fue acelerado? La biotecnología es una tecnología crítica para la sostenibilidad de la conservación del medio ambiente, por lo que se encuentra inmersa en un debate social. La novedad de los transgénicos ha supuesto que existieran dificultades para determinar los efectos que tales organismos pueden tener sobre la estabilidad ecológica o sobre la salud del hombre o los animales, a pesar de ello a lo largo de los últimos 50 años se hicieron los esfuerzos por desarrollar técnicas que generen cambios genéticos positivos, de hecho los proponentes de la biotecnología argumentan que esta tecnología puede ayudar a reducir el empleo de herbicidas o plaguicidas, al conseguir plantas resistentes o al obtener plantas dotadas de mecanismos de defensa contra insectos o plagas, contribuyendo así a la productividad. [7, 9, 11, 19]

Los biosensores representan por tanto de manera extensa a la biotecnología mencionada en el párrafo anterior. El notable avance en los últimos años de la tecnología de biosensores se debe fundamentalmente al desarrollo de dispositivos aplicados al área biomédica. En el campo agroalimentario, su interés se centra en el análisis de la composición de los alimentos, en la seguridad alimentaria y en el control de procesos on-line. Este interés se ve reflejado en el número de publicaciones científicas, revisiones y patentes sobre biosensores desarrollados en los últimos años.

2.1.2.1 Sistemas de transducción.

La naturaleza de la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito constituye el factor determinante para la selección del sistema de transducción, sin el cual no es posible obtener, amplificar, registrar, sistematizar, almacenar e interpretar las señales producto de la interacción entre estos.

Existen varios tipos de transductores entre los que tenemos:

Transductores electroquímicos: Se caracterizan por su capacidad de convertir la señal obtenida en una señal eléctrica, son utilizados en sistemas de reconocimiento biocatalíticos, ya que las reacciones enzimáticas generan aparición de sustancias electroactivas, cambios en el pH o en el potencial. Los biosensores más comúnmente utilizados son los de tipo conductimétrico, potenciométrico, amperométrico e impedimétrico [8, 9, 19]. En la figura 2.1 se muestra la principal característica de este tipo de transductores.

| <i>Transductor electroquímico</i> | <i>Tipo de medida</i> | <i>Ventajas</i> | <i>Inconvenientes</i> |
|-----------------------------------|---|---|--|
| Conductímetro | Variación de conductividad del medio. | | |
| Potenciométrico | Diferencia de potencial eléctrico. | Simplicidad de operación. Pequeño tamaño. | Menor sensibilidad que amperométricos. Unión inespecífica a otras iones presentes en la muestra. Para muestras con gran cantidad de analito. |
| Amperométrico | Corriente generada por la reducción u oxidación de especies electroactivas. | Pequeños y robustos. Sensibles. Rápidos. Económicos. Fácil para ensayos de campo. | Pueden tener baja selectividad. |
| Impedimétrico | Incremento de conductancia. | | |

Figura 2.1: Tipo de transductores electroquímicos.

(Fuente: Aplicación de biosensores en la industria agroalimentaria – Fundación para el conocimiento Madri+d) [8].

Transductores ópticos: Estos se basan en la medición de las variaciones que se producen en las propiedades de la luz como consecuencia de la interacción física o química entre el analito a detectar y el elemento de reconocimiento del biosensor. Existen diferentes tipos de transductores ópticos, como los sensores de **fibra óptica**, el cual inmoviliza en uno de sus extremos el elemento de reconocimiento y

en el otro el elemento de detección. Como consecuencia de la interacción entre el analito y el elemento de reconocimiento se produce un cambio detectable en el marcador que se propaga por la fibra óptica hacia el detector. Otro tipo de transductor óptico es el de **resonancia de plasmones superficiales (SPR)**, en los cuales los electrones de conducción de un metal oscilan simultáneamente; los plasmones son oscilaciones colectivas de los electrones de conducción de un metal ante la exposición a un haz de luz polarizada y la medición del ángulo de resonancia, el cual da información acerca de la concentración real del analito. Una variación de este tipo de transductor es el transductor de **resonancia de espejos** en la cual se utilizan filtros polarizados para bloquear la luz reflejada internamente. Consiste en una capa de silicio de bajo índice de refracción tapizado con un material de alto índice de refracción. Finalmente en esta misma línea existen los transductores de **onda evanescente (EW)** que se fundamentan en la reflexión interna total de fluorescencia por la absorción y emisión de fotones. La concentración del analito de interés se relaciona con los cambios en las características de luz propagada a través de la guía de ondas. Es necesario el utilizar el marcaje con moléculas con propiedades fluorescentes. [8, 9, 19]. En figura 2.2 se muestra las principales características de los transductores ópticos.

| <i>Transductor</i> | <i>Ventajas</i> | <i>Inconvenientes</i> |
|---|---|---|
| Optrodos (Fibra óptica) | Flexibilidad. Bajo coste. Análisis <i>in situ</i> remoto. Análisis en tiempo real. Fácil miniaturización. | Requiere marcaje. Señal proporcional a la cantidad de analito. Vida limitada del componente biológico. |
| Resonancia de plasmones superficiales (SPR) | Fáciles de usar. Detección directa. Detección en tiempo real. Elevada sensibilidad. Muestras sin purificar. | Sensibles a temperatura. Ineficaz para diluidos (requiere preenriquecimiento). Ineficaz para pequeño tamaño. Elevado coste. (21) |
| Resonancia de espejos | Mayor sensibilidad que SPR. | Elevado coste. (21) |
| Onda evanescente (EW) | Detección directa, rápida y selectiva del analito. | Requiere marcaje. |

Figura 2.2: Características de los distintos transductores ópticos.

(Fuente: Aplicación de biosensores en la industria agroalimentaria – Fundación para el conocimiento Madri+d) [8].

Transductores Piezoeléctricos: Conocidos también con el nombre de sistemas de transducción másicos, gravimétricos o acústicos, son los que constituyen un material piezoeléctrico (cristales), miden cambios directos de masa inducidos por la formación del complejo antígeno-anticuerpo. Estos materiales piezoeléctricos entran en resonancia por la aplicación de un campo eléctrico alterno externo. El elemento de reconocimiento que usualmente interactúa con este tipo de transductor es el de **biofinidad**. La frecuencia de oscilación viene determinada por la masa del cristal, que varía cuando produce la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito y da lugar a una variación en la frecuencia de oscilación. Se diferencian dos tipos principales de transductores piezoeléctricos:

- **Surface acoustic wave (SAW):** ondas acústicas de superficie, se componen de dos ondas, una de compresión y la otra de cizallamiento, confinando en la superficie del cristal la energía de las ondas acústicas de superficie. Esta compresión y cizallamiento, como es sabido producirán en el substrato cristalino piezoeléctrico, una onda electrostática asociada a las anteriores. Esto es lo que permite con facilidad la excitación y/o detección de la onda acústica.
- **Bulk acoustic wave (BAW):** paquetes de onda acústica, mide el cambio de frecuencia en un cristal de cuarzo resonador efectuando la resonancia en toda la masa del cristal. Dicha resonancia se ve perturbada por la adición o eliminación de una pequeña masa. [2, 4, 8]

Las principales ventajas de los transductores piezoeléctricos se encuentran que: tienen detección directa en tiempo real de la reacción de unión, permite varios formatos de inmunoensayo, son fáciles de usar y de bajo costo; y entre sus principales inconvenientes que: no son muy selectivos, tiene problemas con la regeneración de la superficie del cristal, puede haber dificultades para recubrir los cristales al inmovilizar el elemento de reconocimiento y es necesaria la calibración de cada cristal. [8, 9]

Transductores Termométricos: Se basan en la detección del calor generado en las reacciones enzimáticas exotérmicas, en las cuales la transferencia de calor se puede relacionar con la concentración del analito de interés. Estos cambios de temperatura normalmente se determinan por medio de termistores a la entrada y a la salida del dispositivo en el que se encuentran inmovilizadas las enzimas. El

principal inconveniente que presentan es que pueden existir pérdidas de calor por irradiación, conducción o convección.

Transductores Nanomecánicos: Constituidos por una microplaca de silicio que se sumerge en una muestra líquida donde se inmoviliza el elemento de reconocimiento biológico (anticuerpos): la determinación se efectúa por medio del cambio en la tensión superficial del líquido y la micropalanca sufriendo una respuesta de tipo nanomecánico que consiste en un cambio de la deflexión y/o de la frecuencia de resonancia. Trabajos recientes han demostrado que esta técnica puede detectar errores de hibridación de una sola base en oligonucleótidos y pequeños contenidos de proteínas antígenas con gran sensibilidad.

Transductores potenciométricos de luz direccionada (LAPS): Es una combinación entre sistemas de transducción óptico y electroquímico. Son sensores químicos constituidos por un electrolito, un aislante y un semiconductor de silicio, sensibles a cambios de pH en las disoluciones, lo que se puede aplicar en la monitorización de algunas reacciones enzimáticas o alteraciones celulares que producen variaciones en el pH del medio. [8, 9]

Finalmente el análisis de este conjunto de investigaciones, nos permiten ubicarnos según las ventajas y desventajas tanto de los elementos de reconocimiento como de los sistemas transductores en el desarrollo de nuevas tecnológicas para el avance en la industria agroalimentaria, aunque inicialmente el desarrollo de la tecnología de biosensores fue de aplicación química clínica su versatilidad ha permitido incursionar en el análisis de compuesto orgánicos e inorgánicos. En matrices alimentarias se destacan en el análisis de la composición, compuestos xenobióticos como pesticidas, dioxinas, fármacos, aditivos, hidrocarburos poliaromáticos; patógenos y toxinas de origen bacteriano, determinación de organismos genéticamente modificados, alérgenos, antinutrientes, control de procesos y estabilidad.

En las figuras 2.3 y 2.4 se mostrarán diferentes sistemas de transducción usados para el reconocimiento de patógenos.

| Análito | Tipo de interacción | Elemento de reconocimiento | Sistema de transducción |
|--------------------------------|---------------------|---|--------------------------------|
| Plaguicidas | | | |
| Paration | Biocatalítica | Paration hidrolasa | Amperométrico |
| Propoxur y carbaril (37) | Biocatalítica | Acetilcolinesterasa | Fibra óptica |
| Diazinón y diclorvós | Biocatalítica | Tirosinasa | Amperométrico |
| Paraoxón | Biocatalítica | Fosfatasa alcalina | Óptico |
| DDT (24) | Bioafinidad | Anticuerpo | Nanomecánico |
| Terbutilazina (38) | Bioafinidad | Anticuerpo | LAPS |
| Atrazina | Bioafinidad | Anticuerpo | Amperométrico |
| Atrazina y 2, 4-D | Bioafinidad | PIMs | Electroquímico |
| Fertilizantes | | | |
| Nitrato | Biocatalítica | Nitrato reductasa | Amperométrico |
| Nitrito | Biocatalítica | Nitrito reductasa | Óptico |
| Fosfato | Biocatalítica | Polifenol oxidasa y fosfatasa alcalina Fosforilasa A, fosfoglucomutasa y glucosa-6-fosfato deshidrogenasa | Amperométrico |
| Contaminantes orgánicos | | | |
| Precursos de dioxinas* (41) | Bioafinidad | Anticuerpo | SPR |
| PCBs | Bioafinidad | Anticuerpo | Electroquímico Fibra óptica |
| HAPs | Bioafinidad | Anticuerpo | Electroquímico |
| BETX | Biocatalítica | <i>E. coli</i> recombinante | Óptico |
| Compuestos fenólicos** | Biocatalítica | Tirosinasa | Amperométrico |

Figura 2.3 Sistemas de transducción utilizados en la detección de plaguicidas, fertilizantes y otros contaminantes [8]

| Sistema de transducción | Elemento de reconocimiento | Microorganismo |
|--|------------------------------------|--|
| Electroquímico | Anticuerpos | <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> 0157:H7 <i>Campylobacter</i> , <i>S. aureus</i> |
| Light-addressable potentiometric sensor (LAPS) | Anticuerpos | <i>S. typhimurium</i> , <i>E. coli</i> 0157:H7 <i>B. subtilis</i> , <i>Y. Pestis</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Brucella melitensis</i> |
| Impedimétrico | | <i>Salmonella</i> , <i>Proteus vulgaris</i> |
| Piezoelectrónico tipo QCM | Anticuerpos, receptores proteína A | <i>Vibrio cholerae</i> , <i>S. enteritidis</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Campylobacter</i> ; <i>E. coli</i> , <i>Shigella dysenteriae</i> , <i>Yersinia pestis</i> , <i>Proteus</i> , <i>Serratia</i> , <i>Klebsiella</i> |
| Piezoelectrónico tipo SAW | Anticuerpos | <i>E. coli</i> , <i>Legionella</i> , <i>Salmonella</i> |
| Nanoelectromecánico | Anticuerpos | <i>E. coli</i> 0157:H7 |
| SPR | Anticuerpos | <i>E. coli</i> 0157:H7, <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>B. subtilis</i> |
| Resonancia de espejos | Anticuerpos | <i>S. aureus</i> |
| Bioluminiscencia | | <i>Mycobacterium avium</i> , <i>M. paratuberculosis</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Listeria</i> |
| FIA (Fluorescent immunoassays) | Anticuerpos | <i>S. typhimurium</i> , <i>Yersinia</i> , <i>V. cholerae</i> , <i>E. coli</i> |
| Interferometría óptica | Anticuerpos | <i>Salmonella typhimurium</i> |
| Fibra óptica | Anticuerpos | <i>E. coli</i> 0157:H7, <i>S. aureus</i> |

Figura 2.4. Sistemas de transducción utilizados en la detección de microorganismos patógenos [8]

2.1.3 Síntesis del asunto de estudio.

De lo anteriormente expuesto, cabe notar que para cada tipo de analito o elemento de reconocimiento tienen distintas características, ventajas y desventajas que lo llevan a ser analizados por distintos tipos de sistemas de transducción. Es importante tener en cuenta que tanto el elemento de reconocimiento como los sistemas de transducción se caracterizan por un determinado tiempo de respuesta, requerimientos de sensibilidad u otros factores determinantes al momento de elegir con que sistema de transducción se puede trabajar tal o cual analito de reconocimiento, con el objetivo de conseguir solucionar el problema propuesto. El hecho de llevar la implementación de estos biosensores en el Perú se centra en conseguir el objetivo de encontrar un elemento de análisis de bajo costo totalmente fiable y que pueda ser usado a gran escala, de fácil uso y lo más importante que la utilidad de estos no sólo sea para hacer análisis en laboratorios sino sea extendido para toda la industria agroalimentaria.

Según los requerimientos planteados anteriormente teniendo en cuenta que el bajo costo y la inversión en materiales es un factor gravitante para el medio donde nos encontramos, proponemos la construcción de un “Sensor de Onda Acústica” (SAW) basado en el sistema de transducción piezoeléctrico pues su realización es factible, considerando estudios realizados en Reino Unido y Alemania por ejemplo, se aprecia la sensibilidad que puede tener al momento de detectar pequeñas cantidades de sustancias, debido a que el análisis se hace a altas frecuencias. Por tanto las ventajas de construir este sensor son suficientes para determinar si una es apta o no para el consumo y si es de buena calidad, dando así un gran aporte al avance de la biotecnología en el Perú. [4, 5, 10, 11]

3.4 Conceptualizaciones Generales.

Biotecnología: Actividad multidisciplinaria que comprende la aplicación de los principios científicos y de la Ingeniería al procesamiento de materiales por agentes biológicos para proveer bienes y servicios [14].

Biosensor: Dispositivo compacto de análisis que incorpora un elemento de reconocimiento biológico (ácido nucleico, enzima, anticuerpo, receptor, tejido, célula) o biomimético (PIMs, aptámeros, PNAs) asociado a un sistema de transducción que permite procesar la señal producida por la interacción entre el elemento de reconocimiento y el analito [8, 9].

Transductor: Es un dispositivo capaz de transformar o convertir un determinado tipo de energía de entrada, en otra de diferente a la salida. El nombre del transductor ya nos indica cual es la transformación que realiza (p.e. electromecánica, transforma una señal eléctrica en mecánica o viceversa), aunque no necesariamente la dirección de la misma [17].

Piezoeléctricidad: Es un fenómeno presentado por determinados cristales que al ser sometidos a tensiones mecánicas adquieren una polarización eléctrica en su masa, apareciendo una diferencia de potencial y cargas eléctricas en su superficie. Este fenómeno también se presenta a la inversa, esto es, se deforman bajo la acción de fuerzas internas al ser sometidos a un campo eléctrico. El efecto piezoeléctrico es normalmente reversible: al dejar de someter los cristales a un voltaje exterior o campo eléctrico, recuperan su forma. [5, 16]

Sensores SAW: Son sensores que hacen uso del efecto piezoeléctrico, ellos dependen del cambio de masa en la superficie de un cristal oscilante, que traslada la frecuencia central de oscilación. Siendo estos de dos tipos; filtros SAW y resonadores SAW. [5, 6]

Filtros SAW: Se obtienen por medio de una construcción física que produce la propagación de la energía acústica en una sola dirección, evitando las pérdidas que produce una configuración de propagación bidireccional. La salida es una señal de tiempo, finita en longitud y no tiene realimentación. [2, 6, 10, 11, 12]

Resonadores SAW: Su acción se basa en dos dispositivos de reflexión entre los IDTs de modo que la onda resultante, choque una y otra vez con estos reflectores. [10, 11]

Osciladores SAW: Son osciladores de cristal, el cual se caracterizan por su estabilidad de frecuencia y pureza de fase, dada por el resonador. La frecuencia es estable frente a variaciones de la tensión de alimentación. La dependencia con la temperatura depende del resonador, pero un valor típico para cristales de cuarzo es de 0'005% del valor a 25 °C, en el margen de 0 a 70 °C. [10, 11, 12].

2.3. Modelo teórico: Dispositivo de oscilación SAW DL801.

Como se dijo en el párrafo anterior el oscilador SAW se caracteriza por su estabilidad de frecuencia y pureza de fase, dada por el resonador. Esta característica es importante, pues fue la base para una investigación previa ya existente.

En el cuadro 2.1 se presentan las características correspondientes a la hoja técnica del cristal, es importante dar a conocer que el cristal fue medido mediante analizadores adaptados a 50 Ohms Y 23°C. En la figura 2.5 se muestra la tabla técnica.

Cuadro 2.1 Características del sensor SAW DL 801.

| Description | Value | Unit |
|---|--------------------------|--------|
| Center frequency (f_0) | ~ 80 | MHz |
| Passband width (3dB) | ≥ 1.0 | MHz |
| Insertion loss at f_0 Reference level for the following data | 22 | dB |
| Relative attenuation | | |
| lower sidelobe $75 \div (f_0 - 4.5)$ MHz | ≥ 15 | dB |
| upper sidelobe $(f_0 + 4.5) \div 85$ MHz | ≥ 15 | dB |
| Distance between ITDs (d) | 12.0 | Mm |
| Freq. temp. coefficient (FTC) | -50 | ppm/°C |
| Substrate material | 41°YX LiNbO ₃ | |

(Fuente: Ficha técnica del cristal SAW DL801)

- 1 – Entrada a tierra L1
- 2 - Entrada L1
- 11 – Salida L1
- 12 – Salida a tierra L1
- 13 – Salida a tierra L2
- 14 - Salida L2
- 23 – Entrada L2
- 24 – Entrada a tierra L2
- 25 – Tierra

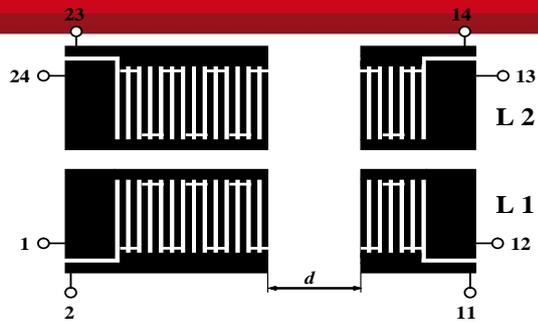


Figura 2.5. Cristal SAW DL 801
 (Fuente: Ficha técnica del cristal SAW DL801)

2.4. Definiciones operativas: El sensor SAW.

Para un correcto funcionamiento del sistema se tomara en cuenta ciertas variables durante todo el proceso.

Frecuencia central: es el valor de frecuencia del punto medio del analizador y la que se tomara como referencia, esta frecuencia debe mantenerse consta a 80 MHz en el oscilador de referencia.

Ancho de banda: es la longitud medida en Hz, del rango de frecuencias en el que se concentra la mayor parte de la potencia de la señal. El rango de frecuencias se establece con el criterio de los 3 decibelios, para nuestros análisis el ancho de banda será mayor a 1MHz.

Pérdidas por inserción: son las pérdidas de potencia de señal debido a la inserción del cristal, el valor de estas pérdidas son de 18 dB por especificaciones del sensor SAW DL 801.

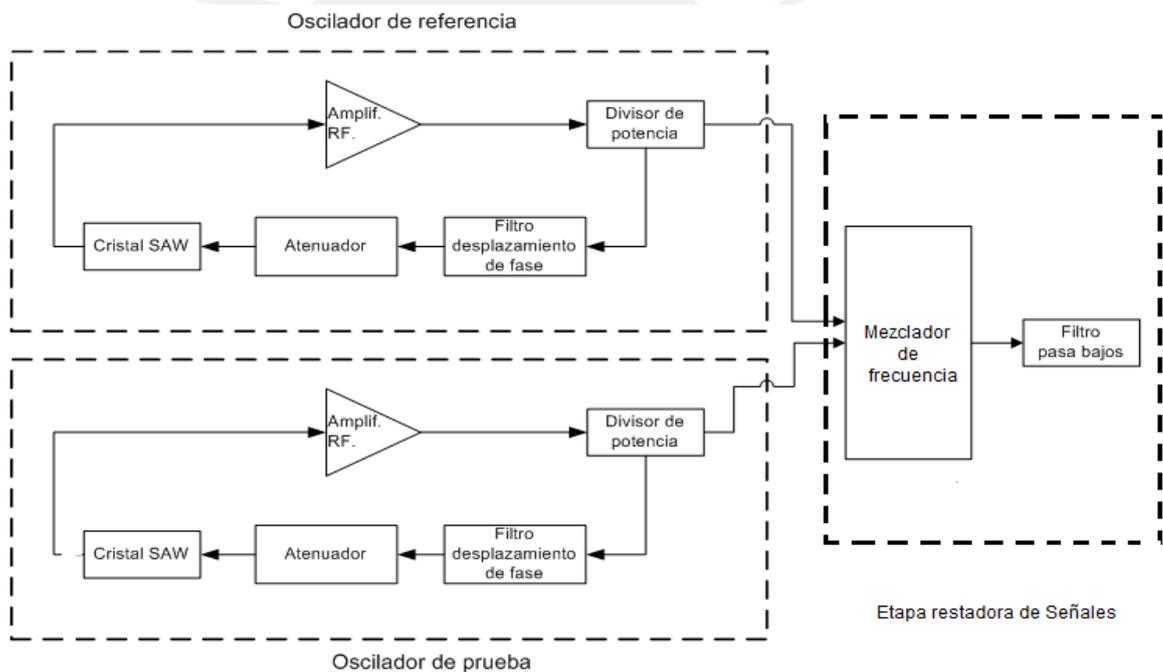
Atenuación relativa: se denomina a la pérdida de potencia sufrida por la misma al transitar por el rango de frecuencias de análisis. Este será mayor igual a 15 MHz del valor medido.

Temperatura de trabajo: la temperatura a la cual se realizará el análisis será de 23 °C.

CAPÍTULO 3: CONSTRUCCIÓN DEL OSCILADOR Y MEZCLADOR DE SEÑALES.

3.1. Estructura de la electrónica del biosensor.

El presente capítulo tiene como objetivo explicar cada una de las etapas que se deben considerar para la implementación de los lazos osciladores y de la etapa restadora de señales, para esto es necesario incluir diferentes tipos de especificaciones relacionadas a técnicas de diseño utilizadas, componentes utilizados en las etapas, esquema eléctrico de cada una de las sub-etapas y técnicas de diseño que fueron tomadas en investigaciones anteriores para la realización de los osciladores y mezclador mencionados [3, 10]. Como punto de referencia tomaremos como base para la construcción del biosensor el diagrama de



bloques, mostrado en la figura 3.1.

FIG. 3.1 DIAGRAMA DE BLOQUES DE LOS LAZOS QUE COMPONEN LA ELECTRÓNICA BIOSENSOR

Como apreciamos del diagrama de bloques mostrado, será necesaria la construcción de un oscilador, que oscile valga la redundancia 80MHz el cual llamaremos oscilador de referencia y replicar el mismo sistema para el oscilador de

prueba con la diferencia que este oscilará a un valor diferente de frecuencia dependiendo del sustrato que se le pueda suministrar.

Siguiendo el método de realimentación, el oscilador consistirá de: el cristal SAW, el cual será adaptado (para obtener la máxima transferencia de potencia) irá en el lazo que contiene a la etapa amplificadora de RF, etapa divisora de frecuencia, etapa de desplazamiento de fase (muy posible debido a que el desfase del lazo es distinto a cero o a un múltiplo de 2π) y la etapa atenuadora de frecuencia.

Es importante mencionar que la adecuada elección de los dispositivos en cada una de las etapas dependerá básicamente del nivel de atenuación y del posible ruido que haya en el cristal.

3.2. Etapa del Cristal SAW.

Como se mencionó en el capítulo 2 se usará el cristal SAW DL801, sin embargo queremos hacer la consideración que el uso de este cristal es debido a que se dispone de él actualmente.

3.2.1 Construcción de la adaptación de impedancias del cristal SAW DL801.

El objetivo de adaptar impedancias en el cristal SAW DL801, se debe a que este dispositivo es el único componente en el cual sus puertos no están adaptados a 50Ω resistivos. Esta adaptación se realiza para lograr una máxima transferencia de potencia, que es traducida en una mínima atenuación de la señal.

Por tanto fue necesario analizar el cristal en el Analizador de Redes (VNA) de dos puertos para obtener datos de impedancia de entrada y salida, magnitud y fase del cristal, el analizador VNA Anritsu M646 contiene la Carta de Smith que es el medio para obtener los valores de impedancia requeridos y obtener los parámetros de Scattering (cada parámetro representa coeficientes de reflexión o transmisión). Decimos que un puerto tiene su salida adaptada cuando está conectado una impedancia de carga que no produce onda reflejada, análogamente el puerto tiene su entrada adaptada cuando no existe onda saliente del puerto. Ver figura 3.2.

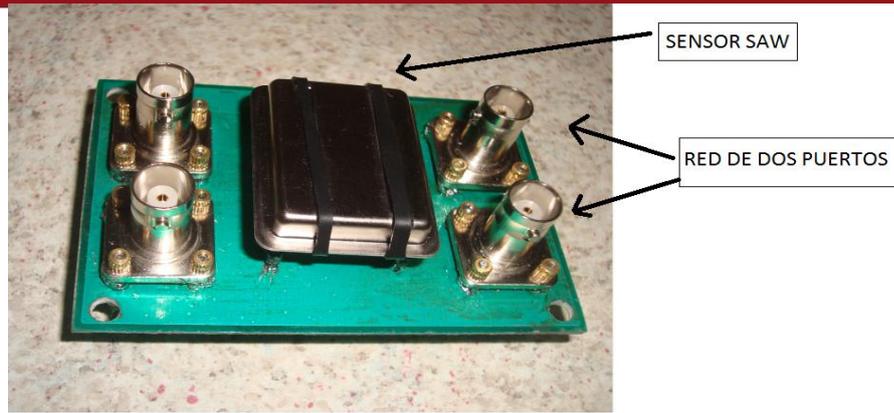


FIG. 3.2 CIRCUITO DEL CRISTAL SAW

La red de adaptación elegida es la red “ Π ”, elegida con ayuda del software “Genesys” de Agilent, principalmente por la capacidad de elegir el factor de ganancia Q [9].

El modelo de la red “ Π ” a diseñar se visualiza en la figura 3.3.

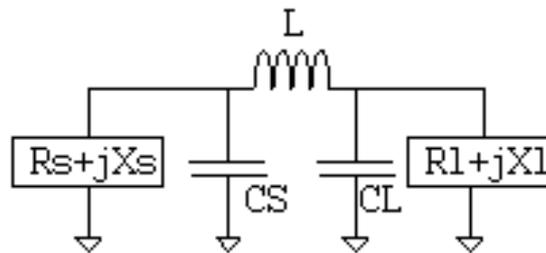


FIG 3.3 RED DE ADAPTACIÓN DE IMPEDANCIAS “ Π ”

Los parámetros obtenidos del dispositivo SAW que fueron medidos con el analizador de redes VNA, son los siguientes.

CUADRO 3.1 IMPEDANCIA DE ENTRADA Y SALIDA A 80 MHz

(Fuente: elaboración propia)

| PARAMETRO | VALOR |
|--------------|--------------------------|
| $R_s + jX_s$ | 36.137 - 35.496 Ω |
| $R_l + jX_l$ | 52.605 - 40.326 Ω |

Según los datos obtenidos del cristal, pasaremos a realizar la selección de los elementos concentrados, utilizando para esto el software ya antes mencionado, es importante tratar de ser lo más exacto posible al obtener la medición para que la red de impedancias este bien adaptada, la ventaja del este software es que nos permite elegir el factor de ganancia Q que deseamos obtener de la red. En la figura 3.4 y 3.5 se muestra el diseño de la red “ Π ” para la entrada y la salida del cristal.

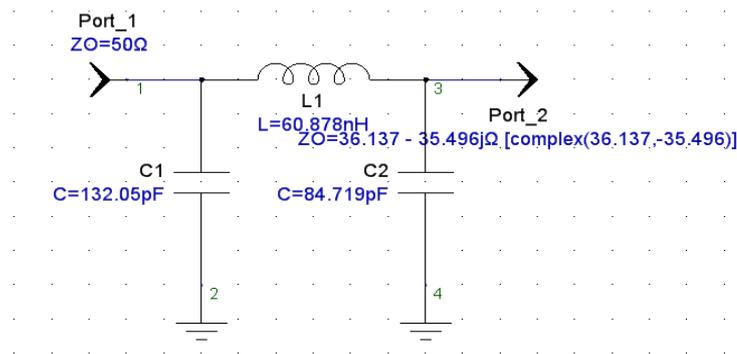


FIG. 3.4 DISEÑO DE LA RED “ Π ” DE LA ENTRADA DEL CRISTAL CONECTADO AL ANALIZADOR DE REDES.

(Fuente: *Software Genesys Agilent 2009.04*)

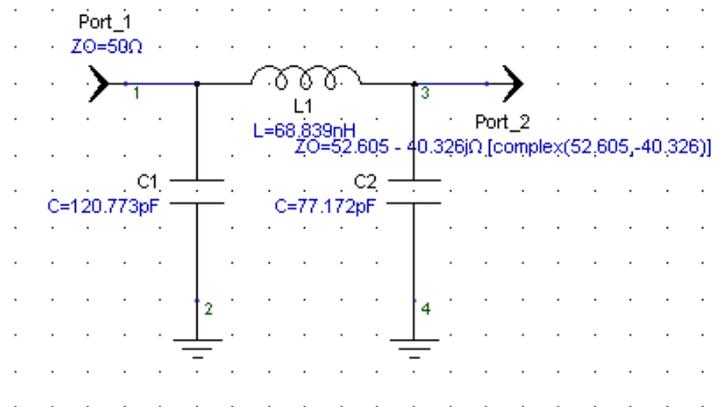


FIG. 3.5 DISEÑO DE LA RED “ Π ” DE LA SALIDA DEL CRISTAL CONECTADO AL ANALIZADOR DE REDES.

(Fuente: *Software Genesys Agilent 2009.04*)

Ajustando los valores de los componentes obtenidos en el diseño, por componentes de valores cercanos y comerciales obtenemos:

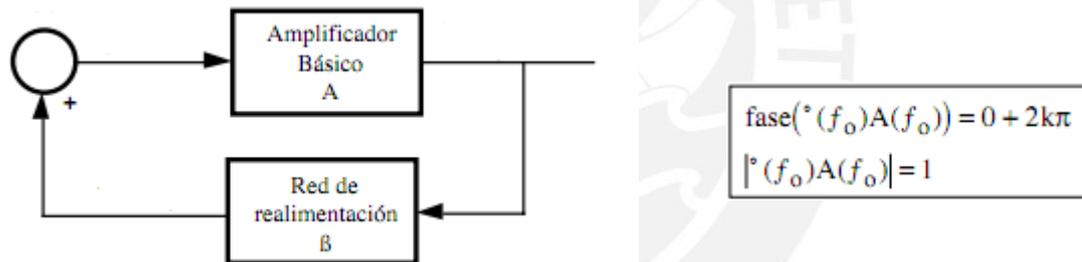
CUADRO 3.2: VALORES DE LOS COMPONENTES PARA LAS REDES DE ENTRADA Y SALIDA.

| ENTRADA | | SALIDA | |
|------------|---------|------------|---------|
| Componente | Valor | Componente | Valor |
| L | 68 nH. | L | 68 nH. |
| C1 | 130 pF. | C1 | 130 pF. |
| C2 | 82 pF. | C2 | 80 pF. |

(Fuente: elaboración propia)

3.3. Etapa Amplificador RF.

Para Que el circuito oscile “la ganancia del bloque amplificador iguala a las pérdidas a través de todo el lazo” (Criterio de Barkhausen), además a las pérdidas del lazo se deberán añadir las pérdidas por inmersión del sustrato al cristal oscilador. El objetivo es conseguir un oscilador manteniendo los polos en el eje imaginario, de esta manera evitaremos distorsiones en la onda de salida y armónicos en la frecuencia fundamental [13]. En la figura 3.6 se muestra esquemáticamente el criterio de Barkhausen enunciado en este párrafo.



Donde $\beta(f_0)$ es β .

FIG. 3.6 ESTABILIDAD DEL LAZO. [16] (Criterio de Barkhausen)

Si la ganancia total es excesivamente mayor a las pérdidas totales, la etapa amplificadora trabajará muy alejada de su región no lineal y consecuentemente existirá distorsión en la salida, produciendose armónicos de la frecuencia fundamental de oscilación. Es fundamental entonces para asegurar un buen funcionamiento obtener una ganancia total unitaria. Sin embargo, para asegurar el trabajo en la región de saturación se considerará un margen mayor a 6dB sobre el criterio de Barkhausen. [3]

Por tanto para cumplir el criterio de Barkausen, debemos amplificar toda la atenuación del lazo oscilador dado por los 6 dB para la región de saturación, 18 dB de inserción de cristal y los 5 dB dibdo a la adaptación, lo que da un total de 29 dB.

De acuerdo con esto y las especificaciones hechas en una investigación anterior [10], se utilizará un amplificador de RF con circuito integrado con entradas adaptadas a 50 Ohm de las siguientes características.

CUADRO 3.3 CARACTERÍSTICAS DEL AMPLIFICADOR INTEGRADO

| Descripción | Característica |
|-------------------------|--------------------|
| Circuito Integrado | ABA-32563 |
| Fabricante | Avago Technologies |
| Frecuencia de Operación | 2.5 GHz |
| Ganancia | 19 Db |
| Atenuación | 3 VCD |

En la siguiente figura 3.7 se muestra los pines del circuito amplificador.

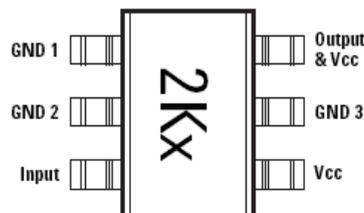


Fig. 3.7 DIAGRAMA DE PINES DEL CIRCUITO INTEGRADO.
(Fuente: Avago Technologies)

Finalmente como la atenuación total de todo el lazo oscilador es de 29 dB y el amplificador tiene una ganancia de 19 dB, entonces es necesario añadir otro amplificador en cascada para cubrir los 29 dB de atenuación señalada anteriormente. Pero poner dos amplificadores en cascada provoca otra dificultad, la probabilidad que la ganancia exceda el nivel de atenuación.

3.4. Etapa Divisora De Potencia.

Esta etapa tiene como objetivo de conservar la impedancia de 50 Ohm en todos los trayectos de las señales, puesto que al trabajar en rangos de alta frecuencia e valor de la impedancia característica de las pistas de las pistas de los circuitos impresos se ven alterados debido a las capacitancias e inductancias parásitas que se forman. En este sentido para que el lazo conserva la impedancia de 50 Ohm se considera un red de dos vías, una para la realimentación del lazo y otra para la salida del oscilador.

Según un estudio hecha anteriormente [10], se procedió a escoger el siguiente dispositivo.

CUADRO 3.4 CARACTERÍSTICAS DEL DIVISOR DE POTENCIA

| Descripción | Características |
|---------------------------|-----------------|
| Código del componente | SPA-0701-25 |
| Fabricante | Premier Device |
| Impedancia Característica | 50 Ohm |
| Frecuencia de Trabajo | 1 - 650 MHz |

(Fuente: Hoja técnica del divisor de frecuencia SPA-0701-25)

3.5. Etapa Atenuadora.

Como lo mencionamos en el subcapítulo de etapa amplificadora, el uso de dos amplificadores de cascada trae como consecuencia el exceso de ganancia, por tanto el objetivo principal de esta etapa es restringir el nivel de ganancia del lazo oscilador, para que el circuito trabaje en la zona lineal muy cerca a la región de saturación, en el punto de compresión de 1 dB. En esta etapa se debe tener en cuenta que al energizar el circuito oscilador, se tiene un estado transitorio de corta duración, en el cual los amplificadores llegarán a la región de saturación cuando la ganancia ya no cumpla con la linealidad de cada dispositivo. Esta región se da a partir de una potencia límite de entrada, fijada en un punto de compresión a 1 dB mencionada anteriormente. Luego de esto el circuito llegará al estado estable de funcionamiento. Por lo tanto es indispensable hallar el punto de compresión del sistema a 1 dB (P_{1dB})

Para hallar el P_{1dB} del sistema se utilizará la siguiente fórmula [20]:

$$\frac{1}{P_{1dB_{sys}}} = \frac{1}{P_{1dB_1 G_2}} + \frac{1}{P_{1dB_2}}$$

Donde:

- $P1dB_{sys}$: Punto de compresión a 1dB. de todo el sistema.
- $P1dB_i$: Punto de compresión a 1dB. del amplificador $i:1,2 = 12dB$.
- G_2 : Ganancia del amplificador 2. = 19dB.

Así, después de realizar esta operación, el $P1dB_{sys}$ resulta igual a 11.25dB.

Es comprensible entonces considerar un margen de ganancia de solo 6 dB para poder asegurar la ganancia estable de la sub-etapa amplificadora en medio del lazo de realimentación, pues si pretendiera tener un margen de ganancia mayor, cercana a las 11.25 dB lo que sucedería es que la salida se satura y se vuelve completamente cuadrada, lo que no es conveniente para el buen funcionamiento del oscilador

Según la hoja técnica para el bloque amplificador en cascada en su región lineal se tendrá una ganancia de 41 dB [20]. Entonces la atenuación total del lazo deberá ser de 41dB para cumplir de esta manera con el criterio de Barkhausen; sin embargo como se mencionó anteriormente el lazo atenúa 29 dB (producto de la atenuación por el margen de saturación de 6dB, la inserción del sustrato al cristal de 18 dB y la atenuación por la adaptación a 50 Ω de 5 dB), por lo que se debe añadir un circuito atenuador de 12dB, para cumplir el criterio antes mencionado. Por tanto el circuito atenuador que cumple los requerimientos establecidos en el párrafo es el LAT-12+ de Mini Circuits.

CUADRO 3.5. CARACTERÍSTICAS DEL ATENUADOR DE SEÑAL.

| Descripción | Características |
|---------------------------|-----------------|
| Circuito Integrado | LAT-12+ |
| Fabricante | Mini Circuits |
| Impedancia Característica | 50 Ohm |
| Atenuación | 12 Db |

(Fuente: Hoja técnica del atenuador LAT-12+ de Minicircuits)

3.6. Etapa De Desplazamiento De Fase.

Esta etapa tiene como objetivo principal de lograr que la fase sea igual a 0° en la frecuencia de resonancia (80MHz), para estos es necesario saber las medidas de amplitud y fase de los componentes que forman el lazo oscilador.

Los componentes en el lazo oscilador que afectan en magnitud y fase son: el cristal SAW y la etapa amplificadora RF.

- Cristal SAW DL801
 - Magnitud: -17.144 Db
 - Fase: 198.59°
- Amplificador ABA-32563
 - Magnitud: 21.073 dB
 - Fase: 354.45°.

Sumando las fases de las dos etapas, recordemos que la etapa amplificadora consta de dos amplificadores en cascada.

$$\text{Fase resultante: } 354.45^\circ * 2 + 198.56^\circ = 907.46^\circ = 187.46^\circ$$

Por tanto, para que la señal quede adaptada a 50 Ohm, se necesita Que la fase sea de 0° por lo que se necesita un desplazamiento de fase de 172.54° (360° - 187.46°).

Para desfasar la cantidad mencionada en el párrafo anterior se decidió usar la topología de red Π , por lo que es conveniente diseñar cuatro redes en cascada, tres fijos de 45° y uno variable (idealmente a 37.54°) que se ajustará con un condensador variable, este último con el objetivo de tener mayor control sobre el circuito ya que pueden aparecer capacitores e inductancias parásitas. Para esto usamos el software *TPI*net, como se muestra en la figura 3.8.

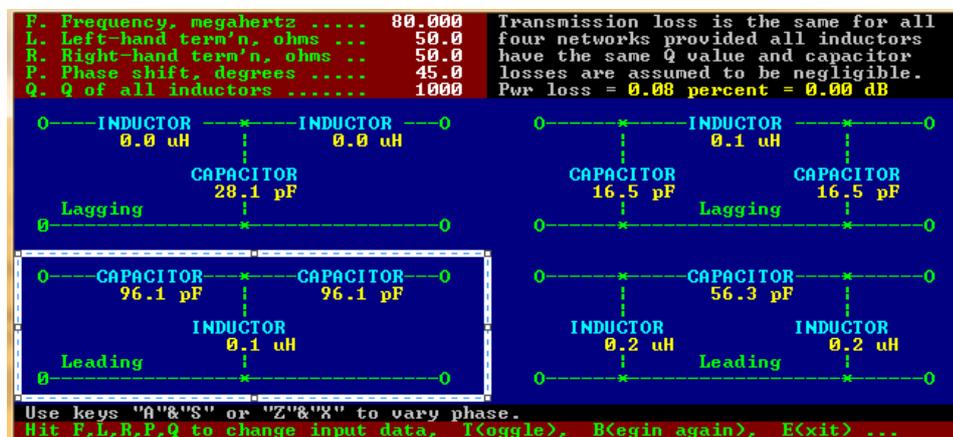


FIG. 3.8 CÁLCULO DE LA RED DE DESFASAJE

(Fuente: Software TPI net)

Luego haciendo algunos ajustes en alta frecuencia para obtener valores comerciales se tendrán los siguientes valores para cada red tipo T:

CUADRO 3.6 VALORES DE LOS COMPONENTES DE DESPLAZAMIENTO DE FASE

| | |
|--------------------|--------|
| Capacitor 1 | 100 pF |
| Capacitor 2 | 100 pF |
| Inductor 1 | 150 nH |

(Fuente: Elaboración propia)

3.6. Etapa Restadora De Frecuencias.

Esta etapa tiene como objetivo, mezclar tanto la señal de referencia como la señal de prueba, haciéndolas pasar por un filtro pasa-bajo de primer orden para obtener a la salida la resta de las dos señales. Esta etapa es de mucha importancia, pues como el trabajo es realizado el alta frecuencia se presenta la dificultad de poder medir con un osciloscopio de uso común, pues se tendría que usar un analizador mucho más costoso provocando precios elevados en el uso de prototipo presentado.

Con el método de resta de frecuencias, se adquiere una gran ventaja para la obtención del resultado final. Mediante el software “*Matching Network Designer*” se calculó los componentes a usar para el diseño del filtro pasa-bajo, el cual está compuesto por una inductancia y dos resistencias como se muestra en la figura 3.9.

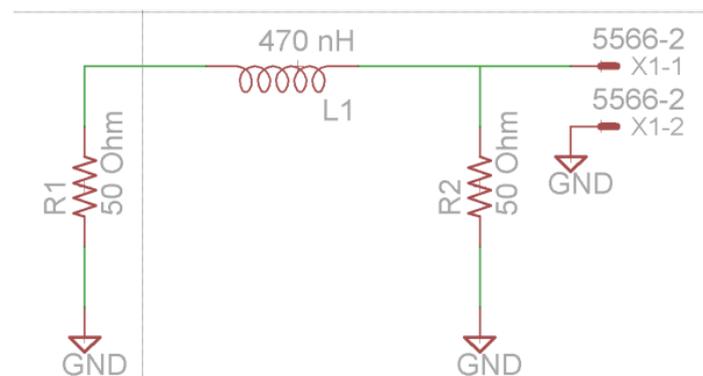


FIG 3.9. FILTRO PASA-BAJO PARA LA SALIDA DEL MEZCLADOR DE SEÑALES

3.8. Cuidados Para La Implementación De Circuitos En Altas Frecuencias.

Parte importante es tomar en cuenta que la línea de alimentación DC debe estar bien definida, con un condensador de alto nivel, esto debido especialmente por el uso de dos amplificadores RF en cascada, puesto que el peligro se debe a que puede existir retroalimentación, generando oscilaciones no deseadas [13].

Por otro lado para los amplificadores en cascada también es importante conectar una bobina en el pin de salida (PIN6), con el objetivo de no dejar pasar la señal RF a la alimentación de 3V DC y proporcionarle baja reactancia en DC. De la misma manera un condensador de desacoplo, colocado entre la fuente DC y GND evitara el paso de la señal RF a la alimentación.

Finalmente se debe considerar los condensadores de bloqueo en las entradas y salidas de los amplificadores integrados (ABA - 32563), ya que a pesar de que estos amplificadores están orientados a circuitos en alta frecuencia, la ganancia se puede extender por debajo de sus límites usuales hasta DC, entonces la frecuencia sólo depende de sus valores de bobinas y condensadores.

3.9. Lista De Componentes Usados En El Proceso De Implementación.

Todos los componentes usados en el presente trabajo, son de montaje superficial (con excepción del cristal y de los puentes para la alimentación de la señal DC). Esto debido a que se reduce el ruido por interferencia electromagnética en alta frecuencia, los componentes pasivos nunca actúan idealmente, por lo que el hecho de trabajar con componentes en montaje superficial nos da la ventaja científica inductancias y resistencias parásitas que nos ofrezca el encapsulado debido a la ausencia de patas en el componente.

La lista de componentes presentados a continuación, se tomo en base a datos e investigaciones hechas pre-existentes [10, 12].

CUADRO 3.7. LISTA DE COMPONENTES USADOS EN LA IMPLEMENTACIÓN

| Componente | Descripción | Precio unitario (\$) |
|-------------------------|---|----------------------|
| Capacitor | CAP ceramic 130pF 5% 50V 0603 SMD | 0.57 (10 unid.) |
| Capacitor | CAP ceramic 56pF 5% 250V 0603 SMD | 0.15 (2 unid.) |
| Capacitor | CAP ceramic 82pF 5% 250V 0603 SMD | 0.15 (1 unid.) |
| Capacitor | CAP ceramic 620pF 5% 50V 1206 SMD | 0.35 (2 unid.) |
| Capacitor | CAP ceramic 2200pF 5% 50V 0805 SMD | 0.06 (1 unid.) |
| Capacitor | CAP ceramic 100pF 5% 25V 0805 SMD | 0.15 (1 unid.) |
| Capacitor | CAP ceramic 100pF 5% 50V 0805 SMD | 0.15 (2 unid.) |
| Capacitor | CAP variable 5.0-20pF 100V SMD | 0.64 (1 unid.) |
| Capacitor | CAP ceramic 470pF 5% 100V 0805 SMD | 1.10 (6 unid.) |
| Capacitor | CAP ceramic 150pF 5% 50V 0805 SMD | 1.10 (6 unid.) |
| Inductancia | Inductor 82nH 2% FIXED SMD | 0.35 (2 unid.) |
| Inductancia | Inductor 68nH 2% 0603 SMD | 0.35 (1 unid.) |
| Inductancia | Inductor 1.2 uH 10% 0805 SMD | 0.26 (1 unid.) |
| Inductancia | Inductor 150 nH 2% 0603 SMD | 0.50 (1 unid.) |
| Inductancia | Inductor 470 nH 5% fixed SMD | 0.27 (1 unid.) |
| Resistencia | Res. 49.9 Ohm 1/8W 1% 0805 SMD | 0.038 (10 unid.) |
| Resistencia | Res 11.8 Ohm 1/8W 1% 0805 SMD | 0.035 (10 unid.) |
| Adaptador | SMA 50OHM CONNECTOR | 20.50 (12 unid.) |
| Cristal | XTL DUAL DELAY LINE LINBO3 COD. DL 801 | 50.00 (1 unid.) |
| Amplificador | IC AMP RFIC 3.5GHZ 3V SOT-363 COD: ABA 32563 | 1.44 (2 unid.) |
| Mezclador de frecuencia | IC MIXER 7dB LO POWER 0.5-500 MHz COD: ADE1+ | 5.25 (5 unid.) |
| Divisor de potencia | CHIP 2 WAY POWER DIVIDER 1-600MHZ COD: SPA-0701-25 | 2.96 (1 unid.) |
| Atenuador | CHIP ATTENUATOR 12DB DC-3GHZ COD: LAT12+ | 1.95 (1 unid.) |
| Conectores | SPOX CONNECTORS 2CKT 1.5mm COD: 87437-0243 | 0.84 (1 unid.) |

CAPÍTULO 4: PRUEBAS Y RESULTADOS FINALES

4.1. Diseño y construcción de tarjetas.

Para el diseño y realización de las tarjetas se tiene que tener aspectos importantes, en principio no se pueden diseñar las tarjetas con métodos tradicionales usados para circuitos de baja frecuencia (uso de protoboard, osciloscopios no adaptados a 50 Ohm, cables rígidos y componentes convencionales), pues estos componentes trabajan como factor de ruido en alta frecuencia. Otro factor importante a tener en cuenta es el hecho de trabajar con componentes en montaje superficial (SMD) el uso de este tipo de componentes como capacitores, inductores y resistencias, por su tamaño compacto nos permite reducir las corrientes parásitas y reducir interferencias electromagnéticas. En contraparte el uso de estos componentes presenta la dificultad de no poder realizar pruebas previas, ya que son soldadas directamente a una tarjeta y no probadas directamente en placas de uso genérico (protoboard). Cabe señalar también que las tarjetas fueron realizadas en fibra de vidrio por ser un buen aislante térmico.

Los componentes debe estar posicionados tal que las pistas no originen pérdidas resistivas, conductivas e inductivas, esto se da cuando los componentes están muy separados y las pistas tienen muchas bifurcaciones.

Para un mejor trabajo se realizó tarjetas PCB con doble capa a tierra y con agujeros metalizados por las superficies, esto para evitar corrientes parásitas e interferencia electromagnética antes mencionada, además con esta técnica se logra un adecuado contacto a tierra con muy baja impedancia. En una de las capa se realizaron las pistas de interconexión RF.

El diseño de dispositivos en alta frecuencia, nos lleva a considerar el tamaño y grosor de las pistas, así también como la adaptación a 50 Ohms con el objetivo de reducir la reflexión. Para esto se usó el software (*AppCAD de Agilent Semiconductors*), para el cálculo de las pistas, del cual para 80 MHz se obtuvo 1.65 mm. Como se muestra a continuación.

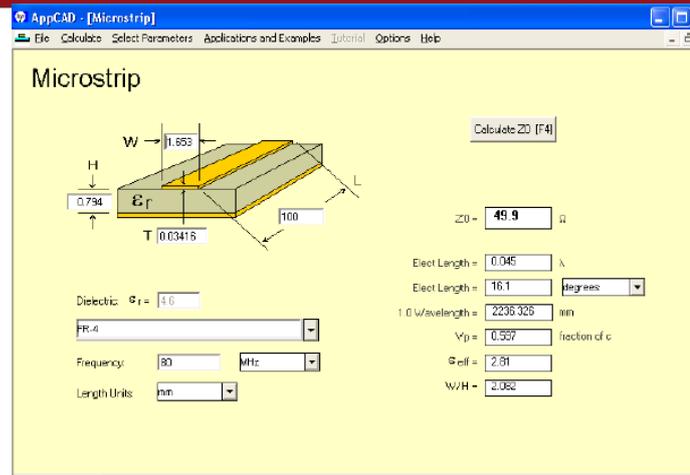


Figura 4.1. Cálculo del ancho de pistas para las tarjetas en RF.

Cabe señalar también que los circuitos deben estar localizados lo más cerca posible a un plano a tierra.

4.2. Diagramas esquemáticos de las tarjetas componentes del circuito oscilador.

Según las consideraciones hechas en el capítulo anterior, se muestran los diagramas esquemáticos de los circuitos implementados. Se usó conectores tipo SMA adaptados a 50 Ohm, así como conectores tipo BNC y N para la salida a los respectivos analizadores y osciloscopios.

4.2.1. Circuito de adaptación de impedancias del cristal.

Para la realización de los dos lazos osciladores, se realizó tarjetas idénticas para cada lazo.

La figura 4.2 y 4.4 se muestra los diagramas esquemáticos de la adaptación de las impedancias de entrada y salida las figuras 4.3 y 4.5 los circuitos impresos realizados de las mismas.

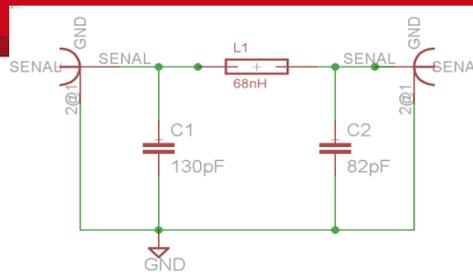


Figura 4.2 Diagrama esquemático de la adaptación a la entrada del cristal.

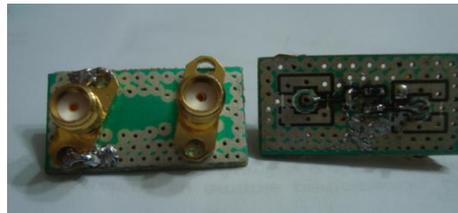


Figura 4.3 Tarjeta impresa de la adaptación a la entrada del cristal.

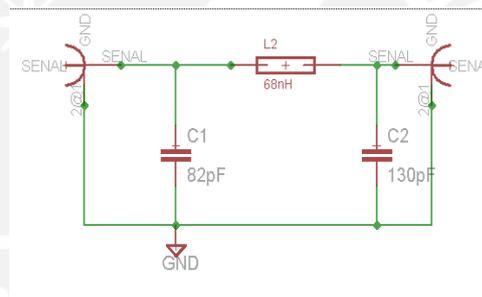


Figura 4.4 Diagrama esquemático de la adaptación a la salida del cristal.

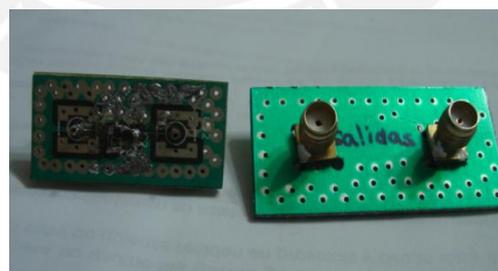


Figura 4.5 Tarjeta impresa de la adaptación a la salida del cristal.

4.2.2. Circuito amplificador, divisor de potencia y atenuador.

Se decidió realizar estas tres etapas en una misma tarjeta, para evitar en lo posible las conexiones entre separadas de estas por cables, debido a que al trabajar en alta frecuencia, las dimensiones físicas de las cables afectan la ganancia y principalmente la fase debido al factor de longitud de onda de la línea de transmisión.

En la figura 4.6 se muestra el diagrama esquemático de las etapas y en la figura 4.7 la tarjeta impresa de la misma

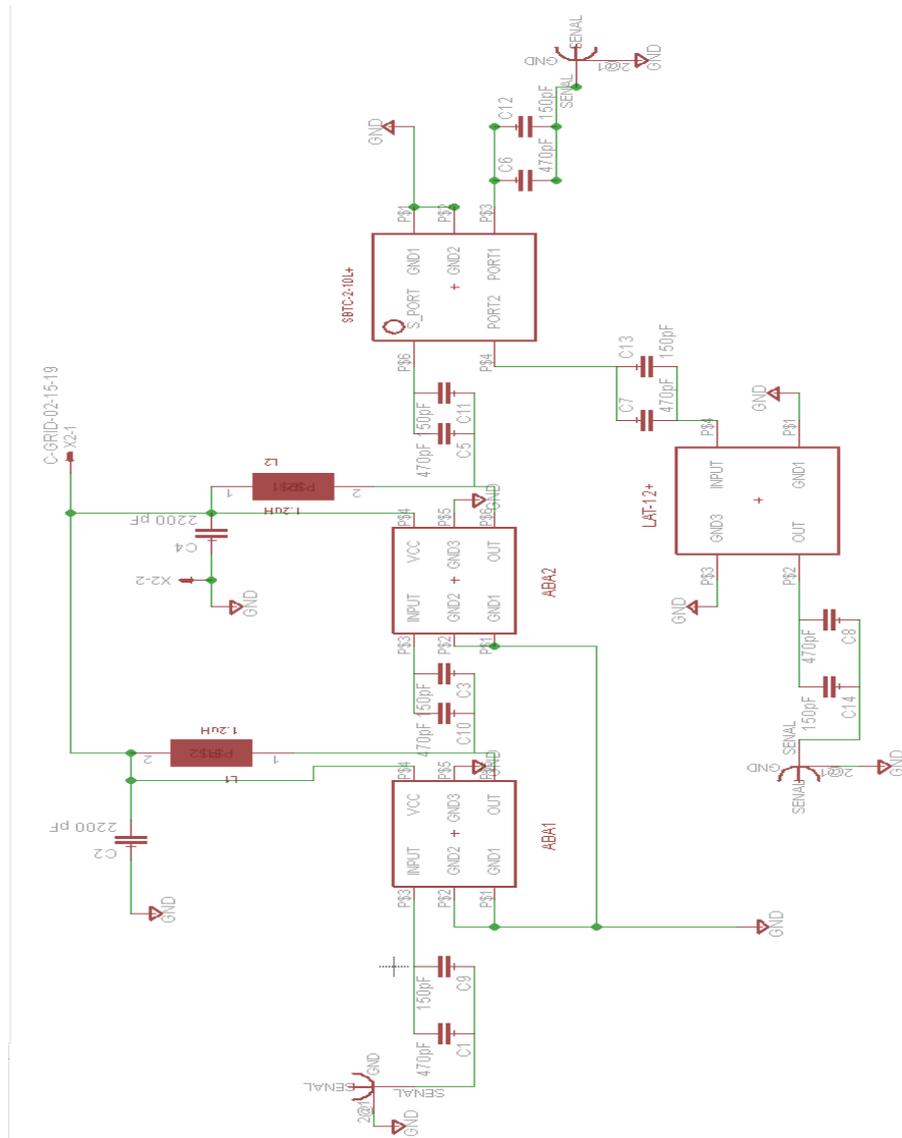


Figura 4.6 Diagrama esquemático de las etapas amplificador, divisor de potencia y atenuador.

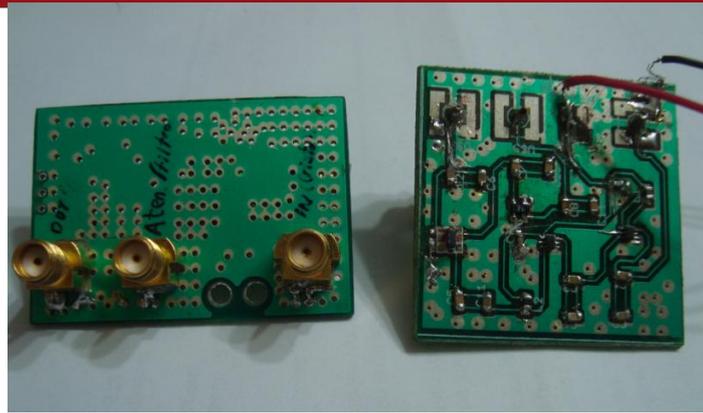


Figura 4.7 Tarjeta impresa de las etapas, amplificador, divisor de potencia y atenuador.

4.2.3. Circuito de filtro de desplazamiento de fase.

En la siguiente figura se muestra el diagrama esquemático y la tarjeta impresa de esta etapa es importante resaltar el capacitor variable que tiene como función ajustar el desfase de la señal. En la figura 4.8 se muestra el diagrama esquemático de la etapa ajustando la fase a cero grados y en la figura 4.9 la tarjeta impresa de la misma.

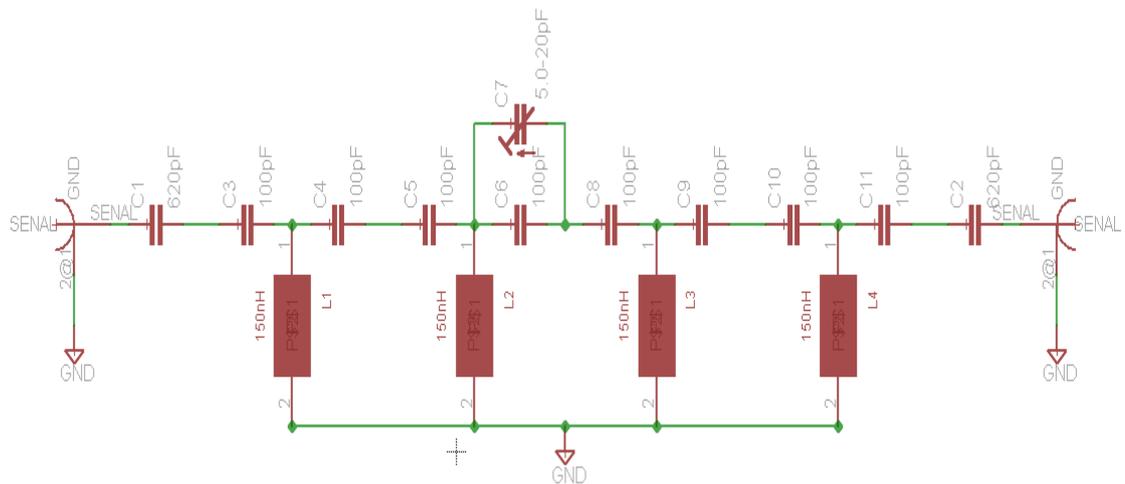


Figura 4.8 Diagrama esquemático del filtro de desplazamiento de fase.

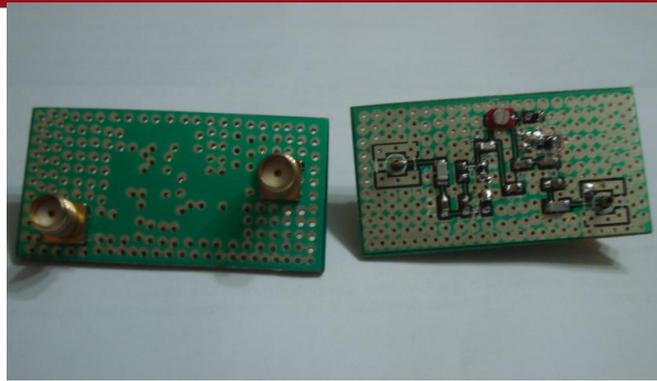


Figura 4.9 Tarjeta impresa del la etapa de desplazamiento de fase.

4.3. Circuito mezclador de señales.

Esta es la última etapa de la investigación, es aquí donde se realiza la mezcla de los dos lazos osciladores para obtener la resta de frecuencias. En la figura 4.10 se muestra el diagrama esquemático y en la figura 4.11 la tarjeta impresa de esta etapa.

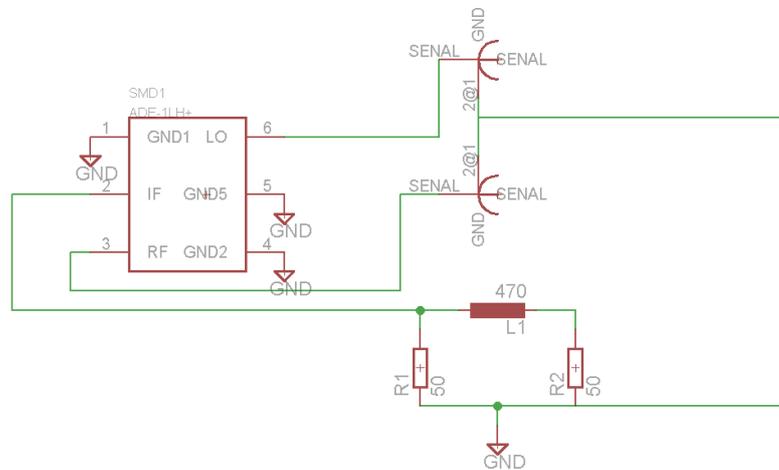


Figura 4.10 Diagrama esquemático de la epata mezcladora de señales.

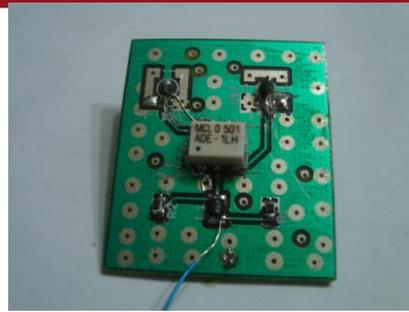


Figura 4.11 Tarjeta impresa de la etapa mezcladora de señales.

4.4. Mediciones realizadas con el cristal SAW.

Las mediciones hechas con el cristal SAW, como ya hemos mencionado anteriormente tiene el objetivo de ser adaptadas a 50 ohmios pues es el único componente de los seleccionados que no está adaptado, por tanto las mediciones son hechas mediante la *Carta de Smith* utilizando los *parámetros Scattering*, el cual justamente resuelve estos problemas de adaptación y evitar todo tipo de interferencia.

Las mediciones se realizaron en base al Analizador de Redes (VNA) Anritsu del fabricante Agilent Technologies. Se debe señalar que el equipo debe estar completamente calibrado y tener cables de adaptación tipo N para la conexión con el analizador y tipo BNC para la tarjeta impresa del cristal, como se muestra en la figura 4.12.

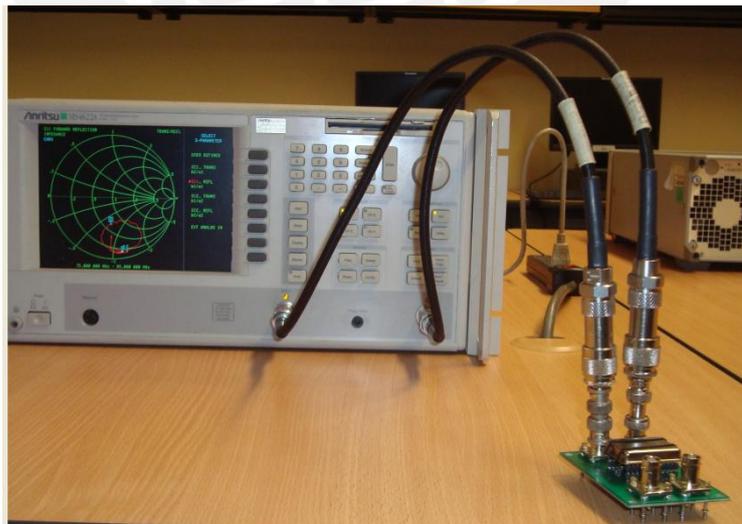


Figura 4.12 Conexiones realizadas para el análisis de impedancias

4.4.1. Medición de los parámetros de reflexión directa e inversa del cristal SAW.

Las mediciones de los parámetros de reflexión directa e inversa del cristal nos dan información de la impedancia del cristal, tanto en la salida como en la entrada a una frecuencia de trabajo de 80 MHz. En las figuras 4.13 y 4.14 se mostrarán las mediciones en la entrada y salida alrededor de los 80 MHz.

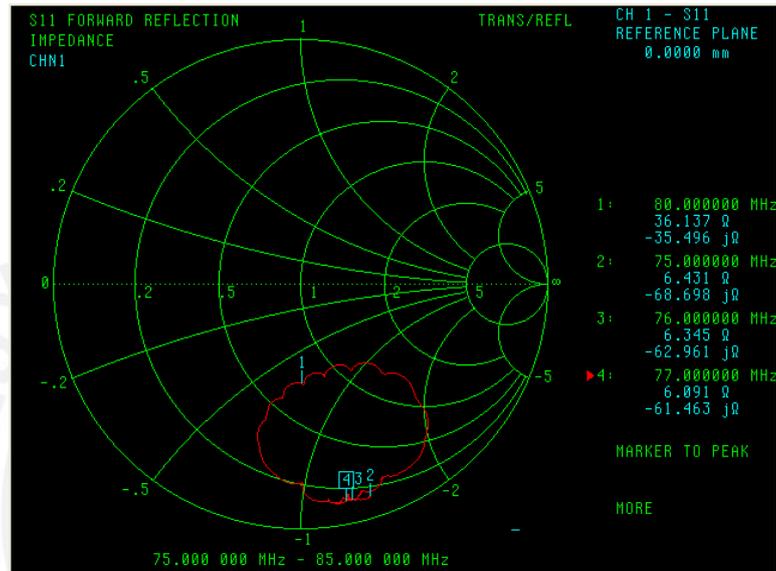


Figura 4.13 Medición de la impedancia de entrada (reflexión directa) del cristal.

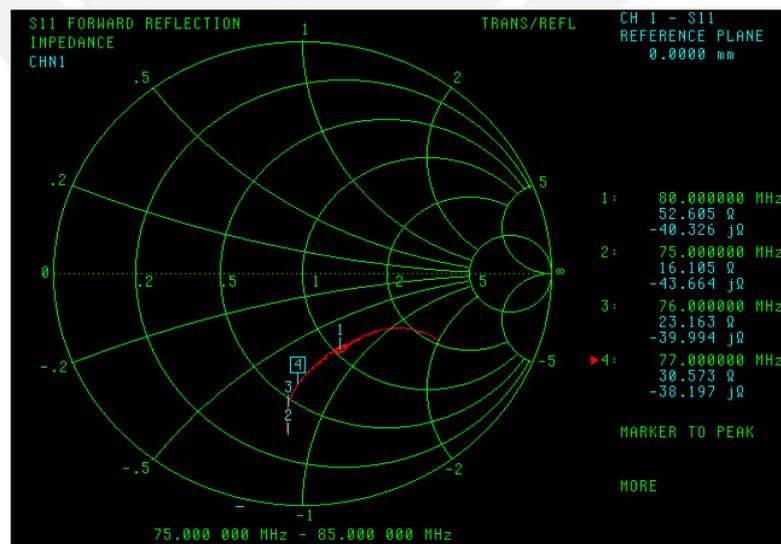


Figura 4.14 Medición de la impedancia de salida (reflexión inversa) del cristal.

Del resultado de la medición se obtuvieron los siguientes resultados:

Tabla 4.1. Resultados obtenidos de las mediciones en las entradas y salidas del cristal.

| ENTRADA | | SALIDA | |
|------------|---------|------------|---------|
| Componente | Valor | Componente | Valor |
| L | 68 nH. | L | 68 nH. |
| C1 | 130 pF. | C1 | 130 pF. |
| C2 | 82 pF. | C2 | 80 pF. |

(Fuente: Elaboración Propia)

4.4.2. Medición de los parámetros de transmisión directa e inversa del cristal SAW.

Las mediciones de estos parámetros se refieren a la ganancia y fase del cristal (transmisión directa e inversa), importantes para la adaptación y la obtención de la máxima estabilidad y ajustar el desfase de la señal. En la figura 4.15 y 4.16 se presentan las medidas realizadas alrededor de los 80 MHz.

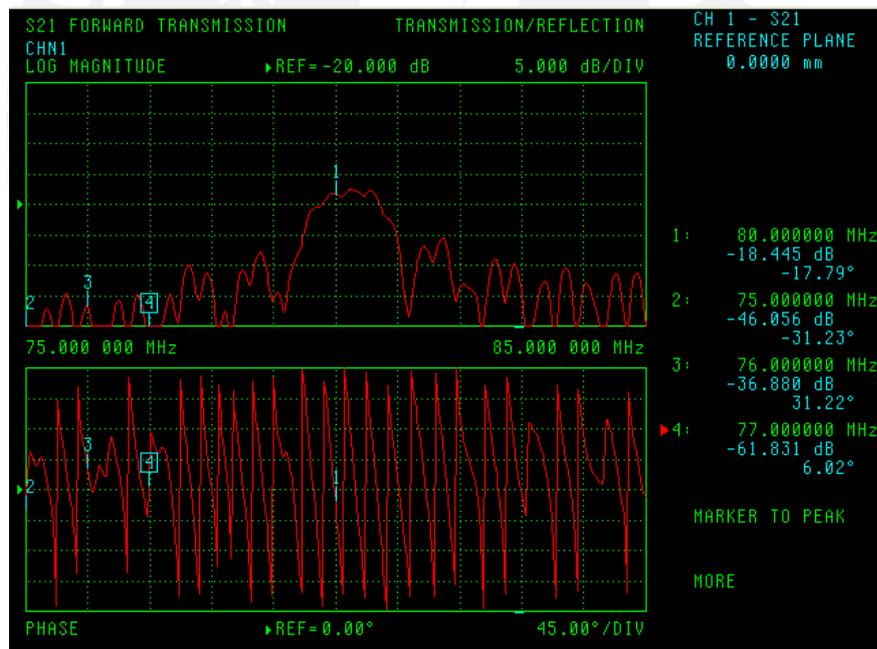


Figura 4.15 Medición en transmisión directa del cristal a 80 MHz

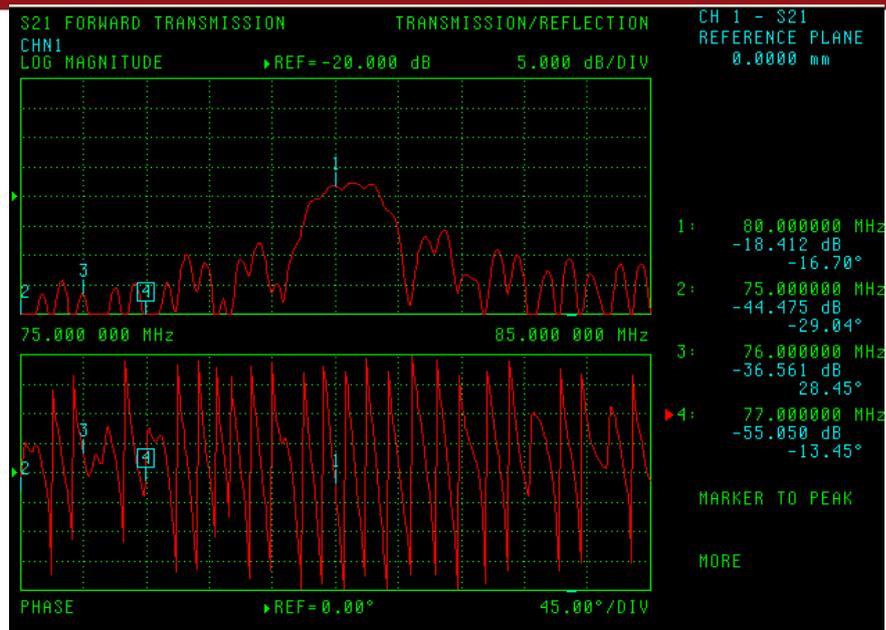


Figura 4.16 Medición en transmisión inversa del cristal a 80 MHz.

4.5 Pruebas Finales.

En las pruebas finales se presentaron diferentes comportamientos, no previstos inicialmente, en primera instancia el hecho de que los componentes a usar estén adecuadamente soldados para evitar todo tipo de ruido por corriente o campos electromagnéticos, tener en cuenta también que los cables conectores según su longitud (longitud de onda) generan desfaseamiento y finalmente para las pruebas se deben tener analizadores u osciloscopios adaptados a 50 ohmios y si no los tuvieran, hacer la adaptación manualmente.

Se procedió entonces a las pruebas de los lazos osciladores de manera independiente, para probar su oscilación a 80 MHz. mediante el analizador de espectros Agilent E4401. Inicialmente se visualizó la presencia de ruido debido a las conexiones realizadas entre las etapas con varios cables conectores. Como se visualiza en la figura 4.17.

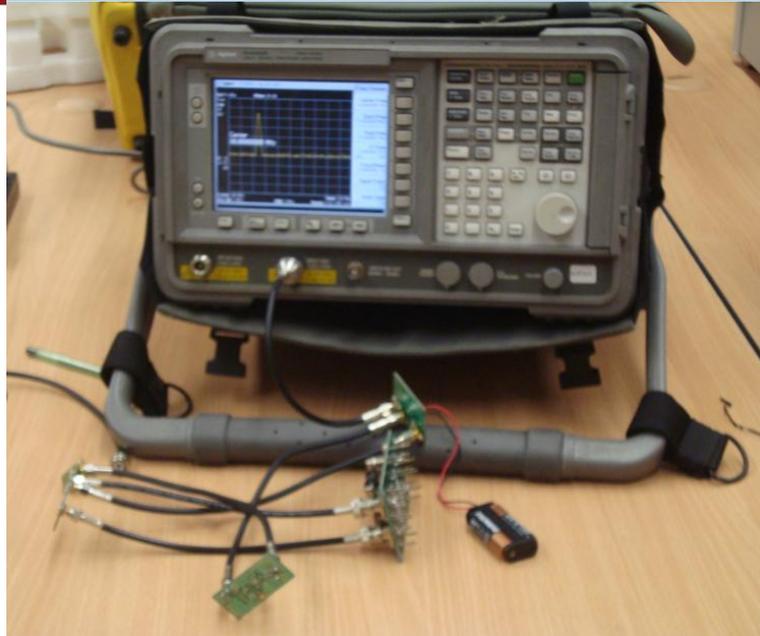


Figura 4.17 Lazo de Oscilación conectado al analizador de espectros.

Luego de varias pruebas se consiguió un desfase de cero grados, oscilando alrededor de los 80 MHz. Como se muestra en la figura 4.18.

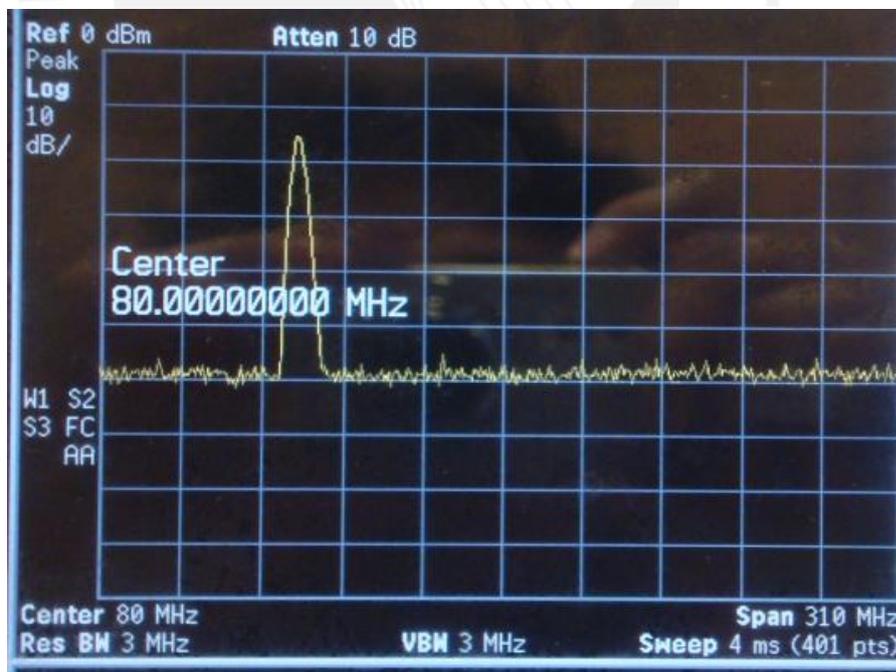


Figura 4.18 Lazo de oscilación a 80 MHz.

Es prudente señalar que el segundo lazo oscilador es idéntico al primero, en ese sentido los resultados fueron los mismos. Para probar la siguiente etapa, la que corresponde a la etapa restadora de frecuencias, se decidió usar un generador de

onda del fabricante *BK Presicion* a 10 MHz, para poder variar la frecuencia y así verificar la mezcla de señales (resta de frecuencias). La dificultad que se presentó es que, para verificar la resta de frecuencias se debió usar un osciloscopio el cual no estaba adaptado a 50 Ohmios, por lo que se decidió resolver el problema conectando una carga de 50 Ohmios en paralelo a la salida del divisor de frecuencia (salida del oscilador) y conectando las puntas del osciloscopio a la salida del de la etapa de mezcla de frecuencias como lo muestra la figura 4.19

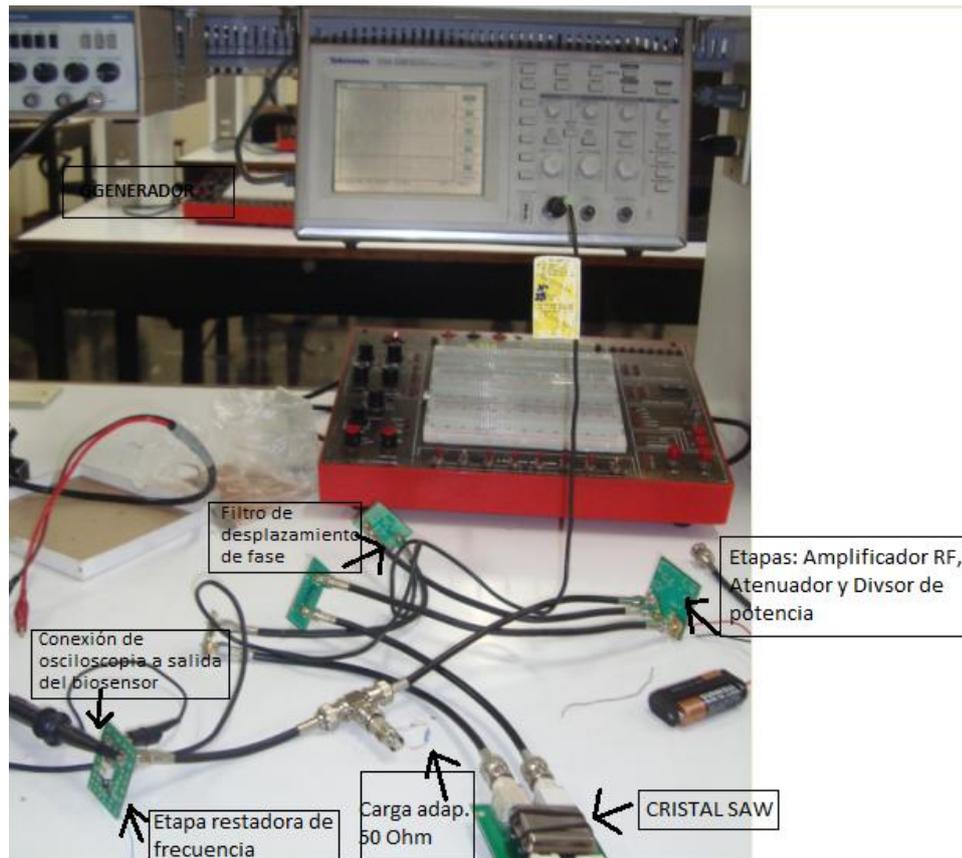


Figura 4.19 Conexión del lazo oscilador al osciloscopio *Tektronik* de 100 MHz.

Resolviendo la dificultad, se muestra los resultados de la oscilación, en la figura 4.20

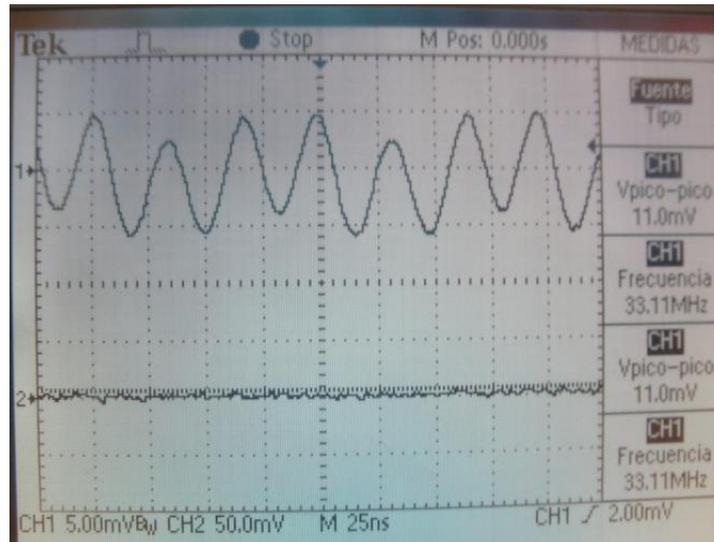


Figura 4.20 Oscilación del lazo a 33 MHz.

Se muestra que hay una caída en la frecuencia de oscilación a 33 MHz, esto se genera por la existencia de ecos de triple transito que trae como consecuencia la ondulación y el desfase en la banda pasante [2] con una frecuencia tres veces menor que la frecuencia en el rango de operación, como se muestra en la figura 4.21. Esta generación de ecos de transito se debe, entre otras cosas, por la adaptación a 50 Ohmios hecha de manera manual y la utilización de los cables que conectan a cada una de las etapas o tarjetas.

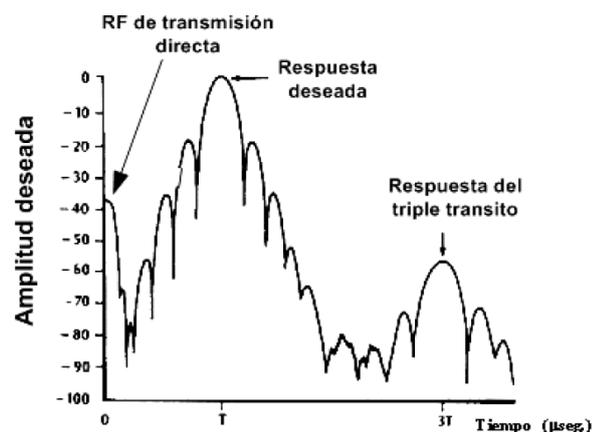


Figura 4.21 Efecto de triple transito del cristal SAW. [2]

(Fuente: Manual del Curso Electrónica Aplicada III, Néstor Mata. Facultad Regional de Bahía Blanca)

Tomando en consideración la oscilación del lazo a 33 MHz, se comprobó que la etapa de resta de frecuencia funcionaba de manera óptima, usando generador como simulador del segundo lazo de oscilación de prueba a una frecuencia de 9.418 MHz, como se muestra en la figura 4.21, se probó que efectivamente la etapa restadora cumplía esu objetivo oscilando a su salida a 24.94 MHz como se muestra en la figura 4.22.

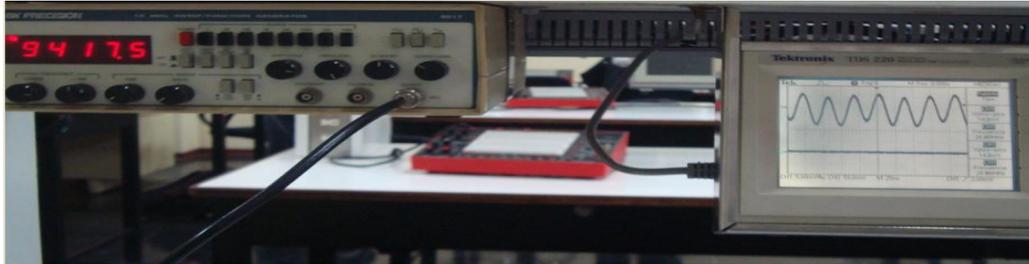


Figura 4.21 Conexión del generador y muestra de oscilación en el osciloscopio Tektronik.

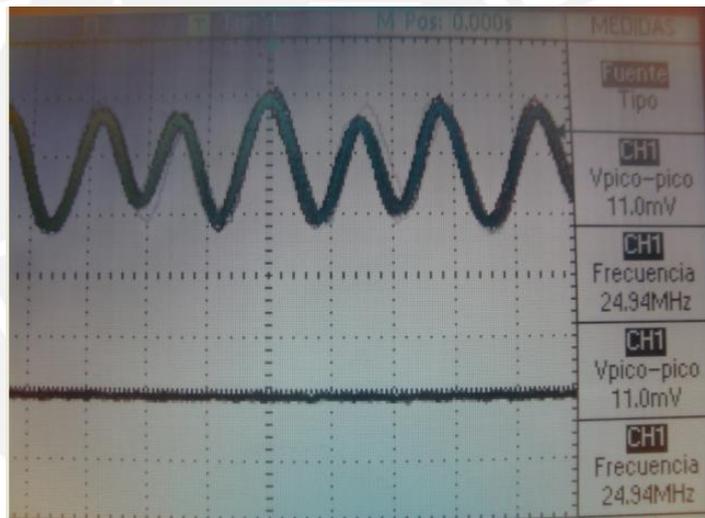


Figura 4.22 Resultado de la etapa final de la etapa de resta de frecuencias.

En una segunda prueba se comprobó el cumplimiento de la etapa restadora de frecuencias, esta vez usando el generador a 300KHz, como se muestra en la figura 4.23, y obteniendo a la salida 32.79 como se muestra en la figura 4.24.



Figura 4.23 Generador a frecuencia de 300 KHz.

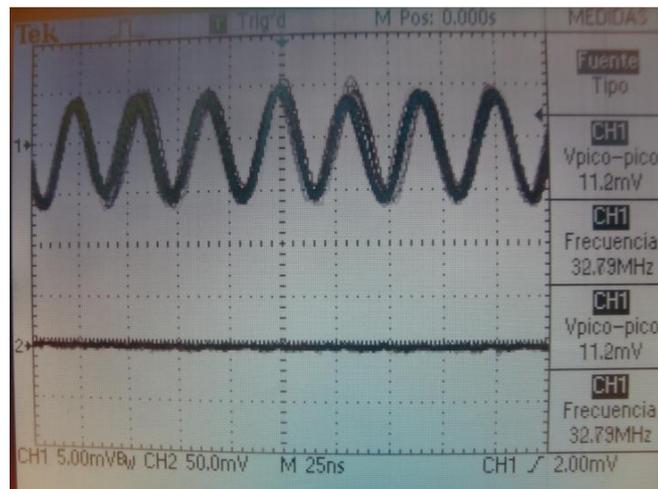


Figura 4.24 Salida de la etapa restadora de frecuencias a 32.79 MHz.

Se procedió a hacer cuatro pruebas en total que será mostrado en la tabla 4.2.

Tabla 4.2 Pruebas finales tomadas en la salida de la etapa restadora de frecuencias.

| Frec. De Lazo | Frec. Generador | Frec. Teórica de etapa restadora | Frec. Resultante | Error |
|---------------|-----------------|----------------------------------|------------------|-----------|
| 33.11 MHz | 9.418 MHz | 23.692 MHz | 24.94 MHz | 1.248 MHz |
| 33.11 MHz | 5.215 MHz | 27.895 MHz | 26.62 MHz | 1.275 MHz |
| 33.11 MHz | 2.102 MHz | 30.002 MHz | 29.50 MHz | 0.508 MHz |
| 33.11 MHz | 0.3008 MHz | 32.79 MHz | 32.80 MHz | 0.100 MHz |

(Fuente: Elaboración Propia)

Asumiendo que el rango de frecuencia de funcionamiento es menor al 1% del punto de operación como caso extremo (las investigaciones dicen que es mucho menor [2, 17]), entonces no se tendrán variaciones de frecuencias mayores a 800 KHz al sumergir el sustrato, por tanto tomando en cuenta los resultados obtenidos en la tabla el rango de error en la medición será prácticamente nula.

CONCLUSIONES

Se logró obtener un dispositivo basado en un cristal oscilador SAW, compuesto con dos lazos oscilando a 80 MHz y a la salida del dispositivo un cambio de frecuencias constante para de esta manera poder obtener como resultado la creación de un biosensor que detecte presencia de agentes patógenos mediante la variación de frecuencias en la superficie de análisis.

Se logró implementar la etapa restadora de frecuencias, con el objetivo de poder tener a la salida del dispositivo una señal fácilmente medible mediante la resta de frecuencias de los dos lazos osciladores, debido al trabajo en alta frecuencia.

Se logró implementar la etapa amplificadora RF de ganancia 29 dB para que las ganancias en los lazos igualen a las pérdidas que se puedan generar en los mismos y generar estabilidad en el sistema.

Se logró implementar una etapa atenuadora a 12 dB que permite atenuar la ganancia de los lazos osciladores para generar estabilidad como se mencionó en el párrafo anterior.

Se logró ajustar el desfase a 0° alrededor de los dos lazos osciladores en la etapa de desplazamiento de fase, esto ajustado mediante un capacitor variable a cero grados en los dos lazos osciladores, para obtener la frecuencia de operación deseada en los lazos.

Se logró adaptar las impedancias tanto de la salida como de entrar del cristal oscilador SAW a 50 ohmios, usando la Carta de Smith mediante los parámetros Scattering

Se logró implementar la etapa divisor de frecuencia, mediante el uso de un divisor de potencia que garantice la impedancia a 50 Ohmios.

RECOMENDACIONES

Se recomienda el uso de un buen software para la simulación de los lazos como los software (*Genesys y Analyser Design System de Agilent*) que se pueden obtener en los laboratorios de telecomunicaciones de la universidad.

Se recomienda, tener un buen sistema de adaptación de impedancias no sólo en las tarjetas, sino también en los osciloscopios a usar para evitar el eco de triple estado.

Se recomienda hacer simulaciones de etapa por etapa para verificar los resultados a la salida de cada una de estas y hacer las modificaciones si fuera el caso.

Para la implementación se recomienda seleccionar componentes que tengan la empaquetadura más grande según su serie, para evitar dificultades en la soldadura de las mismas, también se recomienda comprar componentes extras para evitar el atraso de la implementación por falta de estos.

Se recomienda aprender a crear librerías en lo software para diseño de tarjetas ya que muchos de los componentes carecen de estas librerías predestinadas.

Se recomienda tener buenos materiales para la soldadura como: pinzas, pistola de soldar de punta fina, estaño tipo fino para evitar lograr las tarjetas en el proceso de soldadura.

Se recomienda verificar y usar todos conectores de 50 ohmios, para evitar presencia de ruido parásito por desadaptación, también la mínima cantidad de cables y si es posible de pequeño tamaño para las conexiones entre las etapas.

Se recomienda organizar el tiempo de dedicación a la investigación, para realizar las pruebas con suficiente paciencia y sin apuro.

Se recomienda realizar siempre una buena calibración a los equipos analizadores en alta frecuencia, antes de ser usados.

BIBLIOGRAFÍA.

- [1] Lopez, M.
1999 Diseño de Circuitos para microondas usando parámetros Scattering y Líneas de Transmisión Microstrip. Tesis de Grado.
Pontificia Universidad Católica del Perú.
- [2] MATA, Nestor Hugo.
1999 Filtros de Onda Acústica Superficial.
Manual del curso Electrónica Aplicada III, Parte I, Conceptos Teóricos.
Facultad Regional de Bahía Blanca.
- [3] CASTRO RUIZ, Cecilia
2007 Diseño de un oscilador de onda acústica de superficie a 80MHz. con salida digital para la elaboración de un biosensor. Lima – Perú.
- [4] POHL, Alfred; Steindl, Reinhard; Reindl, Leonhard
Measurements of Vibration and Acceleration Utilizing SAW Sensors
University of Technology Vienna, Austria. Sin fecha.
- [5] CATTRALL, Robert
1997 Chemical Sensors, New York: Oxford University Press.
- [6] SANKARANARAYANAN, Subramanian K.R.S.
2007 Design of surface acoustic wave sensors with nanomaterial sensing layers. Application to chemical and biosensig. Florida.
- [7] JIMÉNEZ C, Claudio; León P, Daniel.
2009 Biosensores: Aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios.
Revista de la Facultad de Química Farmacéutica, volumen 16, número1, año 2009. Universidad de Antioquía, Medellín, Colombia págs. 144-154.
- [8] GONZÁLEZ RUMAYOR, Víctor; GARCÍA IGLESIAS, Esther; RUIZ GALÁN, Olga; GAGO CABEZAS, Lara.
Aplicación de Biosensores en la Industria Agroalimentaria. Fundación para el Conocimiento Madri+d, sin fecha, sin volumen.
- [9] SANTIAGO, Pastor
2004 Manejo de la Biotecnología Apropiable para Pequeños Productores: Estudio de Caso Perú, REDBIO Perú - REDBIO / FAO.
- [10] ARANA GAMARRA, Paulo César
2010 Implementación de un oscilador de onda acústica de superficie a 80 MHz con salida digital para la elaboración de un biosensor.
- [11] NUÑOVERO, Nicolás; MONTOYA, Manuel; OBREGÓN, Miguel; CASTRO, Cecilia; CARRERA, Willy
2006 Desarrollo de sensores de onda acústica de superficie para la detección y cuantificación de micotoxinas.

Sistema de Información de la Dirección Académica de Investigación
Pontificia Universidad Católica del Perú.

- [12] DRAFTS, Bill, Microsensor Systems INC, Acoustic Wave Technology Sensors
<http://www.sensormag.com/articles/1000/68/main.shtml>
- [13] BOWICK, Chirs,
1997 RF Circuits Design.
Indianapolis: AMS, 1995: 72-96
- [14] Congreso de la República del Perú.
Data para la agricultura, La agricultura peruana en el contexto internacional
http://www.congreso.gob.pe/historico/cip/centro_doc/datas/RESUMEN_EJECUTIVO_DATA_AGRICULTURA.pdf
[Consultado 15/04/2010]
- [15] Monografía redactada por los doctores Rodolfo Ertola, Osvaldo Yantorno y Carlos Mignone, Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico de la OEA. [consultado 23/10/2010]
http://www.biologia.edu.ar/microind/definiciones_y_areas_de_aplicacion.htm
- [16] Electrónica Básica para ingenieros.
<http://www.ie.itcr.ac.cr/marin/lic/el3212/Libro/Tema10.pdf>
Sin nombre; sin fecha [Consultado 12/03/2011]
- [17] Management Science Associates, Sourface Acoustic Wave (SAW) Technology for de Detection of Nerve and Blister Agents
<http://www.msa.com>.
- [18] Navegador Wikipedia
http://es.wikipedia.org/wiki/Industria_alimentaria
[consultado 23/10/2010]
- [19] Revista de la Sociedad de Medicina Interna de Buenos Aires. Proteómica. El desafío de la post-genómica [consultado 23/10/2010]
http://www.smiba.org.ar/med_interna/vol_02/07_08.htm
- [20] AVAGO TECHNOLOGIES
Using cascaded ABA series for high gain and high isolation amplifier up to 2400MHz.