

Trabajo Fin de Grado

Grado en Ingeniería de las Tecnologías de Telecomunicaciones

Diseño, fabricación y caracterización de sistema electrónico para la detección de PCR.

Autor: Fernando Muñiz Martín.

Tutores: Carmen Aracil Fernandez.

Francisco Antonio Perdigones Sanchez.

Dpto. Ingeniería electrónica, Microsistemas
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla

Sevilla, 2021



Trabajo de Fin de Grado
Grado en Ingeniería de las Tecnologías de Telecomunicaciones

Diseño, fabricación y caracterización de sistema electrónico para la detección de PCR.

Autor:

Fernando Muñiz Martín

Tutores:

Carmen Aracil Fernandez

Francisco Antonio Perdigones Sanchez

Profesor titular

Dpto. Ingeniería Electrónica, Microsistemas

Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Universidad de Sevilla

Sevilla, 2021

Trabajo Fin de Grado: Diseño, fabricación y caracterización de sistema electrónico para la detección de PCR.

Autor: Fernando Muñiz Martín.

Tutor: Carmen Aracil Fernandez, Francisco Perdigones Sánchez.

El tribunal nombrado para juzgar el Proyecto arriba indicado, compuesto por los siguientes miembros:

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de

Sevilla, 2021

El Secretario del Tribunal

Agradecimientos

Escribiendo estas líneas doy por cerrado una de las etapas de mi vida que sin duda alguna ha sido la más dura, pero a la vez una de las más gratificantes que he podido experimentar. En ella he podido comprobar que tarde o temprano se consigue todo aquello que te propones, eso sí con trabajo duro y sacrificio. Es en estos momentos cuando me acuerdo de todas las personas que me han acompañado y que sin su apoyo nada de esto hubiera sido posible. Gracias por animarme y no perder nunca la confianza en mí.

A Carmen, mi tutora. Gracias por haber hecho posible este proyecto, ha sido la causa por la que finalmente he conseguido sacar sentido a todo lo estudiado en la carrera, gracias por toda la ayuda y motivación que me has brindado en todo el año. No han sido pocas las horas en los laboratorios realizando el proyecto y los problemas surgidos durante el desarrollo, pero gracias a tu ayuda y dedicación lo hemos conseguido, gracias por no perder nunca la confianza en que lo íbamos a lograr. A Fran, mi tutor, gracias por toda la ayuda que me has brindado y por estar siempre atento y resolviendo cualquier duda que surgía durante el proyecto. Gracias por crear un ambiente de trabajo tan divertido, siempre con una broma en momentos complicados. No he podido tener unos tutores mejores, muchas gracias por todo.

A Gines, alumno interno del departamento de electrónica. Gracias por encargarte del diseño de la estructura sin ti este proyecto no habría alcanzado su objetivo. Muchas gracias de corazón por tu esfuerzo.

A mis padres, sin ellos esto no hubiera sido posible. Gracias, mamá por estar siempre ahí cuando te necesitaba, se que has sacrificado mucho durante todo este tiempo y te lo agradezco de corazón. A ti papa por apoyarme en todo momento y creer en mí sin ninguna duda, sin tu apoyo no lo hubiera conseguido. Soy afortunado de ser vuestro hijo.

A mi hermano, siempre a mi lado apoyándome para conseguir mi objetivo. Se que te sientes orgulloso de poder ver a tu hermano conseguir aquello que tanto le ha costado. Aún recuerdo cuando te tuviste que trasladar a Sevilla para ayudarme a ir a la universidad y lo dejaste todo sin importarte nada. Gracias de verdad.

A mis abuelos, sin su apoyo esto no hubiera sido posible. Sois como unos padres para mi y pilares fundamentales en mi vida. Cada domingo que me despedía se me rompía el alma ver vuestras caras, pero habéis sido un apoyo donde he sacado la fuerza que me ha permitido continuar. Gracias, esto va por ustedes.

A mis tios, siempre apoyándome. Tita Manoli sabes que eres como una madre para mi y que has sido un pilar fundamental en todo esto. Tito Jose Maria muchas gracias por todos los consejos que me has dado a lo largo de la carrera nunca se me olvidarán. Sé que os sentís orgullosos de todos mis objetivos cumplidos.

A mis amigos, por estar siempre. Manuel has sido como un hermano para mi, me has acompañado en todo este viaje y hemos compartido mil y una historias juntos. Betanzos, Sergio Ramos, Manuel Ramos... y muchos más que no puedo nombrar porque no terminaría nunca solo deciros gracias por estar siempre.

Y por ultimo, a David, Juan Antonio y Fernando Jesus (Ferchu), llegasteis sin esperarlo cuando comencé la carrera y desde ese momento hemos estado unidos. Sin vuestra amistad y apoyo este viaje habría sido mucho más duro. Me llevo unos amigos/hermanos para toda la vida.

Fernando Muñoz Martín

Sevilla, 2021

Como todos conocemos la reciente pandemia provocada por el SARS-CoV-2 ha dado lugar que la población en su mayoría conozca o haya escuchado alguna vez a lo largo de la pandemia el término PCR (reacción en cadena de polimerasa), hasta entonces desconocido para la gran mayoría. Esta situación ha mostrado a la sociedad española la importancia de la investigación y como el campo de la medicina junto con la biología está íntimamente relacionado con la electrónica, concretamente con el desarrollo de tecnologías para el diagnóstico de enfermedades víricas a nivel mundial.

Este proyecto abarca todo lo relacionado con la detección de PCR, desde los conceptos más básicos como en que consiste la propia PCR hasta el método de detección del cual se va a centrar todo el proyecto, la electroforesis. Posteriormente, se diseña y se fabrica un dispositivo capaz de realizar la detección del resultado de la PCR unificando todos los procesos en un solo dispositivo. La finalidad de este proyecto es la fabricación de un dispositivo compacto y modular con facilidad para su montaje y que permita ser transportado de forma sencilla.

Abstract

As we all know, the recent pandemic caused by SARS-CoV-2 has led to the majority of the population being familiar with or having heard the term PCR (polymerase chain reaction) during the pandemic, until then unknown to the vast majority. This situation has shown Spanish society the importance of research and how the field of medicine, together with biology, is closely related to electronics, specifically with the development of technologies for the diagnosis of viral diseases worldwide.

This project covers everything related to PCR detection, from the most basic concepts such as what PCR itself consists of to the detection method on which the entire project will focus, electrophoresis. Subsequently, a device capable of detecting the PCR result is designed and manufactured, unifying all the processes in a single device. The purpose of this project is to manufacture a compact and modular device that is easy to assemble and easy to transport.

Agradecimientos	vii
Resumen	ix
Abstract	i
Índice	i
Índice de Tablas	i
Índice de Figuras	i
1 Introducción y Objetivo del TFG	1
1.1 <i>Introducción</i>	1
1.2 <i>Conceptos fundamentales</i>	2
1.2.1 PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)	2
1.2.2 Electroforesis	4
1.2.3 Proceso de la electroforesis	8
1.3 <i>Objetivo del Proyecto</i>	10
1.4 <i>Esquema general</i>	11
2 Estado del arte	13
2.1 <i>Dispositivos comerciales</i>	13
2.2 <i>Investigaciones relacionadas con la detección de resultado de la PCR</i>	17
3 Electrónica del sistema	19
3.1 <i>Fuente de alimentación.</i>	19
3.1.1 Diseño del circuito	19
3.1.2 Elección de los componentes	21
3.1.3 Fabricación del circuito	25
3.2 <i>Transiluminador UV.</i>	29
3.2.1 Introducción	29
3.2.2 Elección de los componentes	30
3.2.3 Fabricación del circuito	31
4 Estructura del dispositivo final	33
4.1 <i>Introducción</i>	33
4.2 <i>Diseño</i>	34
4.3 <i>Fabricación de la estructura</i>	39
5 Resultado experimentales	41
5.1 <i>Modificaciones realizadas</i>	41
5.2 <i>Resultados experimentales de realización de la electroforesis y detección</i>	44
6 Conclusiones y trabajos futuros	47
6.1 <i>Trabajos futuros</i>	48
Referencias	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Concentración recomendada en gel de agarosa para separar moléculas de ADN lineales. 7

ÍNDICE DE FIGURAS

Ilustración 1. Proceso de replicación del ADN.	2
Ilustración 2. Componentes de la reacción de PCR.	3
Ilustración 3. Elementos necesarios para la electroforesis.	5
Ilustración 4. Cámara de electroforesis.	5
Ilustración 5. Preparación de un gel de agarosa.	6
Ilustración 6. Transiluminador UV.	7
Ilustración 7. Fuente de alimentación.	8
Ilustración 8. Explicación gráfica del buffer de corrimiento.	8
Ilustración 9. Movilidad de fragmentos de ADN.	9
Ilustración 10. Estapas que dan lugar a la electroforesis.	10
Ilustración 11. Esquema de las partes del sistema.	11
Ilustración 12. Modelo inicial del sistema.	11
Ilustración 13. Equipo de electroforesis convencional.	12
Ilustración 14. Sistema típico para realizar la electroforesis.	13
Ilustración 15. E-Gel Power Snap.	14
Ilustración 16. MyGel InstaView E1201.	14
Ilustración 17. Enduro E0160-230V-UK.	15
Ilustración 18. Complete electrophoresis system ROTIPHORESE® PROfessional runVIEW	16
Ilustración 19. MultiSUB MINI ONE.	16
Ilustración 20. Lab-on-PCB con el gel de agarosa curado.	17
Ilustración 21. Esquemático de la fuente de alimentación	19
Ilustración 22. Topología SMPS fundamentales.	20
Ilustración 23. Característica de voltaje y corriente para el inductor.	21
Ilustración 24. Cálculo de las resistencias para obtener un rango de salida determinado.	23
Ilustración 25. Esquemático del controlador MAX1771.	24
Ilustración 26. Capa botton realizado en Eagle.	26
Ilustración 27. Capa Top realizado en Eagle.	26
Ilustración 28. Diseño final del circuito.	27
Ilustración 29. Insoladora de rayos UV.	27
Ilustración 30. Líquido revelador (izquierda) y líquido atacante (derecha).	28
Ilustración 31. Bottom del circuito final.	29
Ilustración 32. Top del circuito final.	29
Ilustración 33. Esquemático del circuito led realizado en Eagle.	30

Ilustración 34. Esquemáticos con datos para calcular el valor de la resistencia.	30
Ilustración 35. Modelo final de la placa led diseñado en Eagle.	32
Ilustración 36. Circuito led.	32
Ilustración 37. Esquema de estructura final.	33
Ilustración 38. Parte inferior de la estructura.	34
Ilustración 39. Vía de 12V (VCC) y Tierra (plano rojo). Programa utilizado Eagle.	35
Ilustración 40. Cables conectados para la alimentación de las placas Leds.	35
Ilustración 41. Perforación para introducir los cables.	36
Ilustración 42. Vista superior de la estructura.	36
Ilustración 43. Piezas para el mecanismo de la placa led.	37
Ilustración 44. Estructura sujeción del filtro.	37
Ilustración 45. Perforación para desalojar el buffer.	38
Ilustración 46. Estructura final de la parte superior realizado en Blender.	38
Ilustración 47. Base de la estructura.	39
Ilustración 48. Parte superior de la estructura.	39
Ilustración 49. Mecanismo de las placas leds.	40
Ilustración 50. Estructura completa.	40
Ilustración 51. Señal EXT del MAX1771.	41
Ilustración 53. Señal FB sin filtrar.	42
Ilustración 53. Esquemático con la señal FB sin filtrado.	42
Ilustración 55. Esquemático con la señal FB filtrada.	43
Ilustración 55. Señal FB con filtrado.	43
Ilustración 56. Prueba experimental de la fuente de alimentación.	44
Ilustración 57. Prueba placa leds con el mecanismo de giro.	45
Ilustración 58. Prueba de la fuente de alimentación una vez unido todo el sistema.	45
Ilustración 59. Estructura completa con encendido de leds para observar resultados.	46
Ilustración 60. Resultado final de la electroforesis.	46

1 INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO DEL TFG

El presente documento con título “Diseño, fabricación y caracterización de Sistema electrónicos para la detección de PCR” se encuentra dentro de la normativa referente al Trabajo Fin de Grado de la Escuela Técnica Superior de Ingeniería de Sevilla para la obtención de los créditos ECTS de la asignatura Trabajo Fin de Grado, y así conseguir el título de Ingeniero de las Tecnologías de Telecomunicación. Dicho trabajo de fin de Grado se ha llevado a cabo en el Departamento de Ingeniería Electrónica, tutelado por los profesores Dña. Carmen Aracil Fernandez y D. Francisco Antonio Perdignes Sanchez.

El desarrollo de nuestro trabajo se ha centrado en el proceso de la detección del resultado de la PCR (reacción en cadena de polimerasa) que actualmente tiene un gran peso en nuestra sociedad debido a la gran pandemia que esta afrontando el mundo. Investigaremos como podremos integrar todos los componentes necesarios para realizar la detección de PCR en un solo dispositivos lo más compacto posible.

En definitiva, con este trabajo lo que se busca es facilitar el proceso para realizar la electroforesis con un dispositivo compacto con el objetivo de realizar la detección en prácticamente cualquier lugar de forma sencilla y segura.

1.1 Introducción

El Desarrollo de este trabajo se encuentra dentro del grupo de investigación (Grupo de Tecnología Electrónica) TIC:109 perteneciente al Departamento de Ingeniería Electrónica y que trata varias líneas de investigación como:

- Diseño de Dispositivos y Sistemas Electrónicos para su Aplicación en Telemedicina
- Microsistemas Sensoriales, Microfluidicos, Rf-MEMS y Microópticos.
- Técnicas Avanzadas de Control y Modulación para la Extensión de la Vida Útil de Convertidores de Potencia

En particular nuestro Trabajo fin de Grado se encuentra dentro de la línea de investigación de diseño de sistemas electrónicos para su aplicación en la biomedicina particularizando este proyecto en la detección de los resultados de la PCR.

Como introducción para este proyecto es importante destacar las numerosas aplicaciones que tiene la PCR que van desde la arqueología, la medicina forense hasta la medicina clínica. Para este trabajo se va a utilizar la PCR con fines médicos clínicos, pero no se va a centrar en el proceso de realización de la PCR sino en la detección y es en estos momentos donde entra en acción la electroforesis.

Las circunstancias actuales producidas por la pandemia han provocado que la sociedad al completo o al menos en su mayoría hayan escuchado el término PCR y todo lo que conlleva. Este proyecto comprende todo lo relacionado con la detección de los resultados de la PCR, desde los conceptos más básicos, para una correcta comprensión, hasta el diseño y la fabricación de un dispositivo compacto donde integra todos los procesos necesarios para la realización de la detección.

1.2 Conceptos fundamentales

Para poder tener una visión mucho más completa del proyecto y facilitar así la comprensión del objetivo final se va a definir detalladamente los conceptos más importantes y esenciales como es el propio concepto de la PCR y el método de detección que se va a utilizar para observar los resultados.

1.2.1 PCR (Reacción en cadena de la polimerasa)

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es la técnica más importante y revolucionaria en biología molecular, ya que permite obtener millones de copias de un fragment de ácido desoxirribonucleico (AND) a partir de una sola molécula.

La PCR se basa en la replicación celular en la que actúan varias proteínas para sintetizar dos nuevas hebras de ADN a partir de otra que funciona como molde. Estas proteínas actúan en diferentes actividades como:

- La identificación del sitio de origen de la replicación
- El desenrollamiento de la doble hélice.
- La estabilización de la estructura desenrollada...

la enzima más importante en la replicación es la polimerasa, comúnmente conocida como ADN polimerasa, porque es la encargada de incorporar nucleótidos durante la síntesis de las nuevas cadenas de ADN.

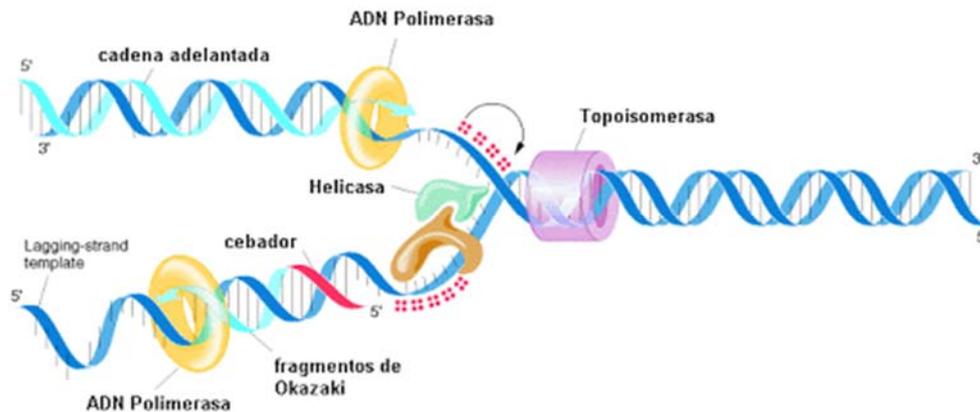


Ilustración 1. Proceso de replicación del ADN.

En la PCR se simula en un tubo lo que ocurre durante la replicación celular. La síntesis de nuevas cadenas de ADN se lleva a cabo mezclando:

1. El ADN que contiene el o los fragmentos que se van a amplificar
2. La polimerasa.
3. Los iniciadores (fragmento de ADN de 15-30 nucleótidos que flanquean la región a amplificar).
4. Desoxinucleótidos
5. Cloruro de magnesio u otro co-factor necesario para que trabaje la polimerasa

Esta mezcla se somete a la repetición de varios ciclos a diferentes temperaturas que sustituye a la mayoría de las proteínas que actúan en la replicación celular.

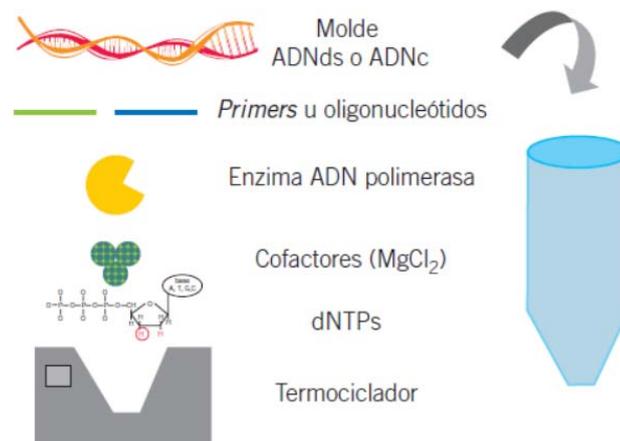


Ilustración 2. Componentes de la reacción de PCR.

La realización de la PCR contiene los siguientes pasos:

1. Inicio de desnaturalización.
2. Ciclos de amplificación.
 - a. Temperatura de desnaturalización.
 - b. Temperatura de alineamiento.
 - c. Temperatura de extensión.
3. Amplificación final.
4. Almacenamiento temporal.

Estos pasos se llevan a cabo mediante el cambio automático de temperaturas en un equipo diseñado para este fin denominado termociclador.

Pasamos a explicar más detalladamente los pasos de la PCR.

- Comenzamos con la desnaturalización, este proceso comienza aplicando 95°C para la desnaturalización de la doble cadena de ADN (separación inicial de las hebras). Esta temperatura se mantiene durante 5 minutos al inicio de la PCR.
- Pasamos a los ciclos de amplificación (este ciclaje de temperatura se repite continuamente de 30 a 35 veces), los cuales consta de las tres temperaturas siguientes:
 - 95°C: desnaturalización por unos 30 segundos
 - 55 a 60°C: alineación por 30 a 40 segundos
 - 72°C extensión
- Una vez terminados los ciclos designados para la PCR pasamos a la amplificación final. La temperatura de extensión (72°C) se mantiene por cinco minutos, lo que permite que la polimerasa termine la extensión de los productos a los cuales se encuentra unida.
- Finalmente pasamos al almacenamiento temporal. Durante la programación de los ciclos de la PCR se programa también un ciclo final de 4°C por varias horas, lo que permite conservar los productos de PCR hasta que se retiren los tubos de reacción del equipo.

La técnica de PCR ha evolucionado desde su invención. En la actualidad, gracias a los múltiples sistemas de detección se dispone de diversas variantes de la técnica, que se enlistan a continuación:

- a. PCR convencional. Se basa en la detección del producto de amplificación mediante una electroforesis en gel de agarosa o acrilamida. Es la técnica que vamos a utilizar en nuestro proyecto.
- b. PCR cualitativa. Esta modalidad de PCR permite detectar la presencia o ausencia de un fragmento de ADN determinado.
- c. PCR semicuantitativa. Permite conocer la expresión de un gen (ARNm) en particular que se expresa de manera constante en la célula.
- d. PCR cuantitativa. En esta modalidad de PCR, el producto de PCR es cuantificable, lo que permite reportar en números absolutos la cantidad de un microorganismo o del ARNm de un gen en una muestra.
- e. PCR múltiple. En este tipo de PCR se realiza la amplificación de más de un fragmento de ADN en una sola reacción de PCR.
- f. PCR selectiva. Para la PCR selectiva se diseñan cebadores capaces de hibridar solamente en secuencias con presencia de una mutación.
- g. PCR in situ. Esta modalidad de PCR permite saber que tipo celular presente en un tejido expresa un determinado gen o cuál célula está infectada por un patógeno.
- h. PCR en punto final. Es aquella en la que el producto de PCR se analiza después de 25 a 35 ciclos en el punto previo a la saturación de la reacción, mediante un gel electroforesis. Presenta una precisión pobre y una sensibilidad menor que la PCR en tiempo real.
- i. PCR en tiempo real. La reacción de amplificación es la misma que la empleada en la PCR en punto final, lo que cambia es el método de detección del producto amplificado y su temporalidad. La detección de las copias del producto de PCR se realiza al mismo tiempo que sucede la amplificación.

Para finalizar este apartado es importante comentar las aplicaciones de la PCR, las cuales van desde la detección de patógenos infecciosos (virus, bacterias, hongos), aplicaciones en la medicina forense, detección de mutaciones hasta la detección de carga viral, entre otras muchas aplicaciones.

1.2.2 Electroforesis

En biología molecular, una gran cantidad de técnicas que se realizan comúnmente requieren el uso de electroforesis, por lo que supone una parte importante del procedimiento sistemático del análisis (separación, preparación...) de los ácidos nucleicos y las proteínas. La mayoría de las biomoléculas poseen una carga eléctrica cuya magnitud depende del pH del medio en el que se encuentran, por lo que pueden desplazarse cuando se ven sometidas a un campo eléctrico hacia el polo de carga opuesta al de la molécula[1].

El principio de la electroforesis consiste en la migración proporcional de las moléculas a través de un gel u otro tipo de matriz porosa, que se desplazará en función del peso molecular o tamaño. El movimiento de las moléculas es generado por el campo eléctrico.

Nuestro proyecto de detección de PCR está basada en la electroforesis y es por ello por lo que este apartado tiene bastante importancia en nuestro documento. Se va a explicar de forma general en que consiste el proceso y los elementos que se necesitan para llevarlo a cabo. Una vez entendido el concepto lo adaptaremos a nuestras necesidades.

1.2.2.1 Elemento de la electroforesis.

Comenzamos nombrando los elementos necesarios para realizar una electroforesis que después se detallarán con mayor precisión. Estos elementos son:

- Cámara de electroforesis
- Peine para pocillos
- Gel
- Transiluminador
- Fuente de alimentación.
- Buffer de corrimiento y buffer de carga

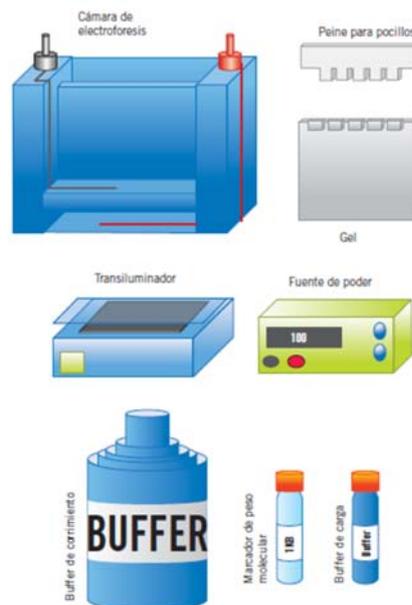


Ilustración 3. Elementos necesarios para la electroforesis.

1.2.2.1.1 Cámara de electroforesis.

La cámara de electroforesis es un dispositivo que permite la generación de un campo eléctrico alrededor de un gel donde se depositan las muestras. Este campo eléctrico se genera dentro de una solución en el que se encuentra sumergido el gel que contiene las muestras; debido al elevado nivel de electrolitos se permite el paso de la corriente eléctrica, manteniendo el pH estable. En este dispositivo el polo positivo se representa con color rojo mientras que el polo negativo se representa con un color negro.



Ilustración 4. Cámara de electroforesis.

1.2.2.1.2 Gel.

Las muestras destinadas a la electroforesis deben colocarse sobre un soporte donde las perturbaciones mecánicas durante la separación sean prácticamente nulas. El soporte idóneo es un gel semisólido o gelatinoso, compuesto por polímeros que forman una especie de malla o microporos tridimensionales con el objetivo de que las moléculas se desplacen dependiendo de su peso molecular, lo que permite la separación de los diferentes componentes de la muestra según su tamaño. Los geles utilizados en este proceso pueden ser de agarosa o de poliacrilamida, la elección de estos geles radica en las muestras que vayamos a analizar. Para la separación de ácidos nucleicos se usan geles de agarosa o acrilamida y para proteínas, solo geles de poliacrilamida.

1.2.2.1.3 Gel de agarosa

El gel de agarosa es un polisacárido extraído de algas marinas que tiene la propiedad de mantenerse en estado sólido a temperatura ambiente y que se disuelve con facilidad a temperaturas que van de 50 a 60 °C. Una vez disuelta se solidifica cuando se enfría formando un gel altamente poroso. El gel se coloca de manera que los pocillos queden en el extremo donde se encuentra el polo negativo de la cámara de electroforesis, con el objetivo de que la muestra se desplace a lo largo del gel. El gel está formado por la agarosa en polvo y el TAE buffer (Tris-Acetate-EDTA buffer), que una vez mezclados, solidifica a temperatura ambiente.

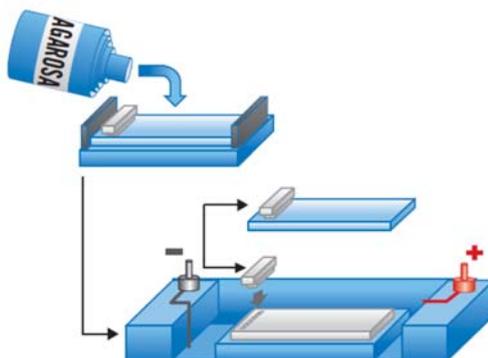


Ilustración 5. Preparación de un gel de agarosa.

La agarosa permite realizar el análisis de ácidos nucleicos con pesos moleculares variados. Esto se consigue variando la concentración de agarosa, esta concentración se escoge según el tamaño del ácido nucleico que se vaya a analizar. En los geles horizontales, método que se va a utilizar en este proyecto, la agarosa se emplea por lo general en concentraciones comprendidas entre un 0,7% y un 3% [2] (véase el cuadro 1).

Tabla 1. Concentración recomendada en gel de agarosa para separar moléculas de ADN lineales.

% de agarosa	Gamas de tamaños de ADN (pb)
0,75	10 000 – 15 000
1,0	500 – 10 000
1,25	300 – 5 000
1,5	200 – 4 000
2,0	100 – 2 500
2,5	50 – 1 000

Durante la electroforesis, los ácidos nucleicos lineales con un peso molecular alto migran al ánodo más lentamente que los de menor peso molecular. Este fenómeno ocurre debido a que los ácidos nucleicos de mayor peso se desplazan con mayor dificultad entre los poros de agarosa.

1.2.2.1.4 Gel de poliacrilamida.

La acrilamida es un polímero sintético, termoestable, incoloro y químicamente inerte, con el que se pueden generar geles con un amplio intervalo de tamaño de poros. El tamaño de poro de un gel de acrilamida está determinado por la concentración total de acrilamida presente (acrilamida + bisacrilamida), que normalmente se utiliza una proporción de 19:1. Regulando la concentración de ambas y la proporción se consiguen distintos tamaños de los poros, siempre menores que la de los geles de agarosa.

La formación del gel de acrilamida se produce gracias a la polimerización conjunta de la bisacrilamida, compuesta por dos moléculas de poliacrilamida enlazadas por su grupo amino (no reactivo), con la acrilamida estableciendo puentes con las cadenas lineales de poliacrilamida.

El gel de acrilamida es capaz de soportar mayores voltajes que la agarosa y posibilita la acción de teñirse por varios procedimientos, y también puede desteñirse en caso necesario. La electroforesis con geles de acrilamida siempre se realiza en cámaras verticales.

1.2.2.1.5 Transiluminador ultravioleta.

El transiluminador transmite luz del espectro ultravioleta a las muestras, excitando la molécula cromogénica que emite energía fluorescente que permite visualizarla. Es un sistema simple y efectivo por lo que se utiliza con bastante frecuencia. En general emite energía a una longitud de onda a 302nm y suelen tener un regulador de intensidad por si se quiere tener una menor exposición de las muestras a la luz ultravioleta[1].

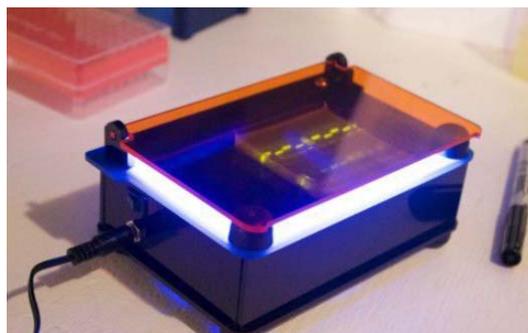


Ilustración 6. Transiluminador UV.

1.2.2.1.6 Fuente de alimentación

Nos encontramos ante uno de los componentes más importante en el proceso de la electroforesis. Gracias a la fuente de alimentación conseguimos que las moléculas del ADN se desplacen del cátodo al ánodo.

Esta fuente de alimentación debe ser capaz de dar una tensión de salida constante cuyo rango de valor recomendado oscila entre los 75 y 100V. Este rango de tensión está determinado para el caso concreto que nos encontramos en este proyecto la cual es la detección de PCR utilizando gel de agarosa, ya que el voltaje aplicado viene determinado por el peso molecular de las moléculas de ADN que se va a separar; para el caso de productos de PCR el peso molecular se encuentra entre 100pb y 1.5kb.



Ilustración 7. Fuente de alimentación.

1.2.2.1.7 Buffer de corrimiento y buffer de carga.

El buffer de corrimiento proporciona el medio para la transmisión de la corriente eléctrica y mantiene el pH sin variaciones mientras se realiza el corrimiento.

El buffer de carga tiene como objetivo brindar peso, densidad y color a la muestra, lo que facilita su depósito en el pocillo y evita su salida del gel. Se emplean en relación 1:3 para ácidos nucleicos.

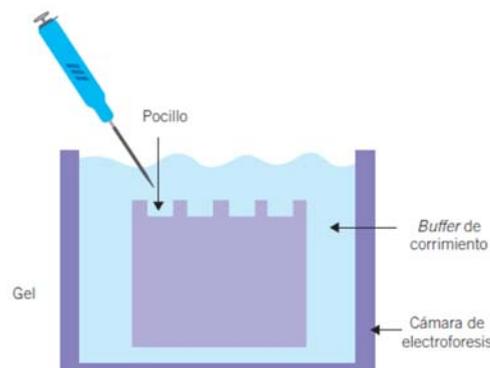


Ilustración 8. Explicación gráfica del buffer de corrimiento.

1.2.3 Proceso de la electroforesis

Una vez explicado todos los elementos necesarios para realizar la electroforesis pasaremos a explicar el procedimiento necesario para llevar a cabo el proceso.

El proceso más común para la electroforesis de ADN es elaborar un gel horizontal de agarosa, con una concentración de 0,5 a 2%. La carga eléctrica de la molécula de ADN la otorgan sus grupos fosfato de carga negativa. Dado que la forma de la molécula de ADN siempre es la misma, la movilidad de la electroforesis

dependerá de la longitud del ADN (pb) y se representará en bandas (ilustración 11). El corrimiento se realiza a voltajes de entre 75 y 100 V, a mayor voltaje mayor velocidad de corrimiento. El avance se observa gracias a la visualización de los colorantes introducidos en el buffer de carga con el que se mezcla con la muestra antes de su colocación en el pocillo.

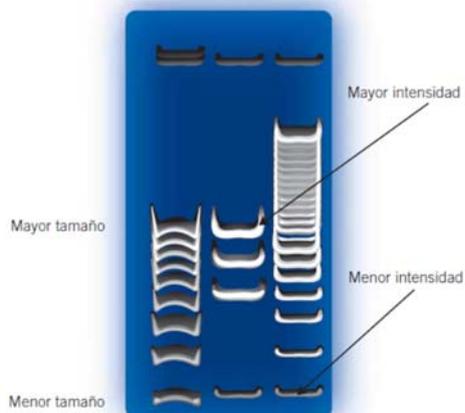


Ilustración 9. Movilidad de fragmentos de ADN.

Como se ha comentado con anterioridad, la agarosa es ideal para preparar geles analíticos de productos procedentes de técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El volumen de agarosa dependerá del tamaño de la cámara de electroforesis.

Una vez introducido la agarosa en la cámara se debe introducir los peines. La agarosa tarda en solidificar unos 20 minutos, una vez solidificado se añade el buffer de corrimiento y se retiran los peines. Las muestras se depositan en los pocillos.

Depositado las muestras en los pocillos se continua con la transmisión de la corriente eléctrica. Se conectan los cables de la fuente de energía de cada polo electrico a la cámara de electroforesis en el electrodo que le corresponda y se aplica el voltaje adecuado según el peso molecular, para el caso de la PCR se aplica un rango de voltaje que va desde los 75V a 100V.

Durante el corrimiento se observa el desplazamiento de la muestra con colores que contiene el buffer de carga. La electroforesis se detiene cuando se considera que la muestra se localiza en la posición adecuada o cuando la muestra se ha desplazado al menos tres cuartas partes del gel.

Una vez finalizada la etapa de aplicación del campo eléctrico, se debe colocar el gel sobre un transiluminador y encender la lampara de luz ultravioleta ($\lambda = 300nm$). Al aplicar la luz ultravioleta el ADN se visualizará como banda de color anaranjado.

Para finalizar este apartado se incluye un esquema a modo de resumen con el único objetivo de facilitar la comprensión de las diferentes etapas que se realizan en la electroforesis.



Ilustración 10. Estapas que dan lugar a la electroforesis.

1.3 Objetivo del Proyecto

El objetivo fundamental de nuestro proyecto es el diseño y la fabricación de un dispositivo electrónico para la realización de la electroforesis y su detección. Este equipo está formado por:

- Cámara de electroforesis con los accesorios correspondientes (molde para hacer el gel, peine, cable para conectar a la Fuente de alimentación).
- Fuente de alimentación. Para poder llevar a cabo la electroforesis es necesario diseñar una fuente de alimentación capaz de variar la tensión de salida en un rango que va desde los 70V a los 120V como se ha comentado en el apartado 1.2.3.
- Transiluminador (Fuente de luz ultravioleta).
- Filtro ultravioleta.

Concretamente nuestro trabajo estará centrado en el diseño y fabricación de la fuente de alimentación y del transiluminador. Una vez realizado esta pequeña introducción y mencionado el equipo necesario, llegamos al objetivo del proyecto. Este objetivo tiene la finalidad de unir todos los componentes en un mismo dispositivo para poder observar los resultados de una forma mucho más sencilla y rápida.

Explicado cual es el objetivo principal de este proyecto, también se busca conseguir que el diseño cumpla las siguientes características:

- **Diseño Simple.** Se buscará realizar los diseños de los circuitos electrónicos que componga el dispositivo final lo más simple y óptimo posible.

- **Diseño compacto.** Se buscó un diseño lo más compacto posible que integre todo lo necesario para realizar la electroforesis y la detección de PCR.
- **Diseño modular.** Otras de las características que se busca es la de conseguir un dispositivo que sea fácil el acceso a las diferentes partes que lo componen con el objetivo de solucionar cualquier fallo que pueda aparecer.
- **Dispositivo portátil.** Por ultimo, se buscará conseguir fabricar un dispositivo que sea fácil de transportar y de montar en unos minutos.

1.4 Esquema general

Para facilitar la comprensión de cual es el objetivo de nuestro proyecto se va a mostrar a continuación un esquema donde se va a reflejar cada parte que conforma el sistema que llevará a cabo la detección de los resultados de la PCR.

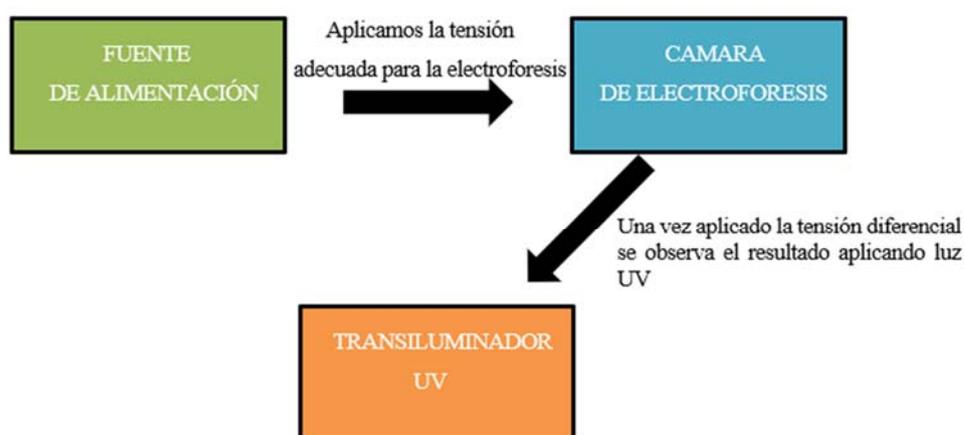


Ilustración 11. Esquema de las partes del sistema.

Para ilustrar como será el sistema de detección hemos realizado el siguiente modelo del cual vamos a partir.



Ilustración 12. Modelo inicial del sistema.

Como podemos observar en la ilustración 12 nuestro proyecto estará formado por tres grandes bloques como son la fuente de alimentación, la cámara de electroforesis y el transiluminador UV. Estos tres grandes bloques estarán conectados en un solo dispositivo compacto.

Este sistema funcionará de la siguiente forma: la placa PCB en la que se fabricará la fuente de alimentación y que será la base de nuestro dispositivo, se encargará de dar la tensión necesaria para que se produzca con éxito la electroforesis. Una vez esperado un tiempo determinado en la que se ha aplicado la tensión correspondiente se iniciará el sistema de transiluminador UV que constará de dos placas PCB formada por leds de luz azul con el objetivo de excitar el ADN. Cuando un gel se tiñe con un pigmento que se une al ADN y se coloca bajo luz UV, los fragmentos de ADN brillan, lo cual nos permite ver el ADN presente en distintos lugares a lo largo del gel[3]. Para ver estos resultados se necesitará un filtro capaz de filtrar la luz ultravioleta para que nos permita ver el verde que emite el ADN al ser excitado.

El dispositivo que intentamos desarrollar pretende realizar el proceso que realiza un equipo de electroforesis convencional, formado por una fuente de alimentación independiente a la cámara de electroforesis y a su vez del transiluminador UV, pero en un formato mucho más compacto debido a que está unido todo en un mismo dispositivo.



Ilustración 13. Equipo de electroforesis convencional.

2 ESTADO DEL ARTE

En este capítulo trataremos algunas investigaciones relacionadas con la detección de los resultados de la PCR con el objetivo de tener una visión más amplia del desarrollo tecnológico que está experimentado todo lo relacionado con la biomedicina junto con la electrónica.

Además, detallaremos los dispositivos comerciales que actualmente realizan la misma función que nuestro proyecto. Se comentarán las características básicas de estos dispositivos y sus componentes con el objetivo de poder visualizar las diferentes opciones que existen en la actualidad.

2.1 Dispositivos comerciales

Actualmente para la detección y visualización de los resultados de la PCR en los laboratorios convencionales se utilizan un sistema formado por una fuente de alimentación, una cámara de electroforesis y un sistema de iluminación (para observar los resultados) independientes entre sí y que no están integrados en un mismo dispositivo.

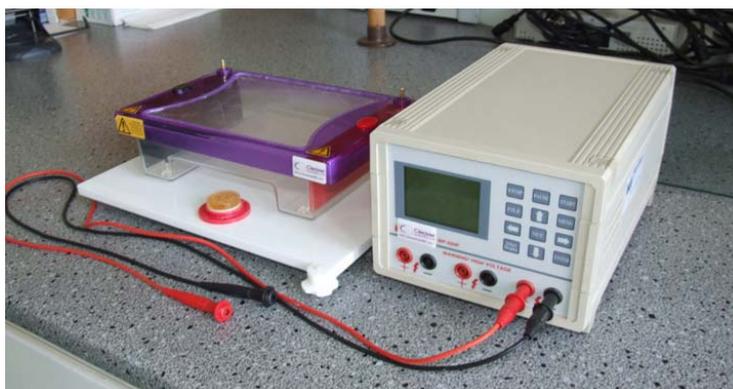


Ilustración 14. Sistema típico para realizar la electroforesis.

En la ilustración 14 podemos observar un sistema muy similar al utilizado en el laboratorio CITIUS de la Universidad de Sevilla y que se encuentra muy presentes en la mayoría de los laboratorios.

Actualmente y como se ha comentado varias veces en este proyecto se está produciendo un enorme avance tecnológico que tiene como resultado el diseño de instrumentos electrónicos que integran todos los procesos necesarios para obtener los resultados de la detección de la PCR en un único dispositivo.

A continuación, vamos a mostrar una serie de dispositivos electrónicos que se encuentran en el mercado y que realizan funciones similares a nuestro proyecto.

1. E-Gel™ Power Snap Electrophoresis Device.

El dispositivo de electroforesis Invitrogen E-Gel Power Snap está diseñado para realizar electroforesis en gel de agarosa E-Gel rápidas y cómodas, desde la carga de muestras de ADN hasta la vista en gel.

El dispositivo de electroforesis todo en uno E-Gel Power Snap proporciona todo lo necesario para la electroforesis de ADN con gel y la visualización con gel en un sistema de sobremesa pequeño y ligero. El sistema incluye una fuente de alimentación de electroforesis, un transiluminador de luz azul y un filtro de color ámbar. Esto permite separar el gel y realizar un seguimiento a tiempo real de las muestras con geles de agarosa E-Gel preteñidos con tinciones de ADN SYBR Safe o SYBR[4].

El precio de este dispositivo electrónico es de 1492 €



Ilustración 15. E-Gel Power Snap.

2. MyGel InstaView serie E1201.

Es un dispositivo electrónico que contiene todo lo necesario para realizar la electroforesis y además nos ofrece ver los resultados. Contiene una fuente de alimentación integrada cuyo voltaje de salida se puede ajustar a 35V, 50V o 100V y el tiempo de ejecución se puede ajustar hasta los 99 minutos[5].

El sistema de transiluminación es una serie de leds azules que emite luz azul brillante a una longitud de onda de 465nm para una excitación óptima de las manchas fluorescentes verdes sin dañar la muestra de ADN. Este mini transiluminador led se coloca debajo del tanque una vez que el sistema myGel InstaView esté configurado.

A modo de resumen este dispositivo presenta las siguientes especificaciones:

- Voltaje de salida: 35V, 50V o 100V.
- Temporizador: 0-99 minutos.
- Volumen del buffer: 230ml.
- Dimensiones de la capacidad para el gel: 10.5*6 cm ó 10.5*10 cm.

Este dispositivo electrónico tiene un precio de mercado de 722.5\$.

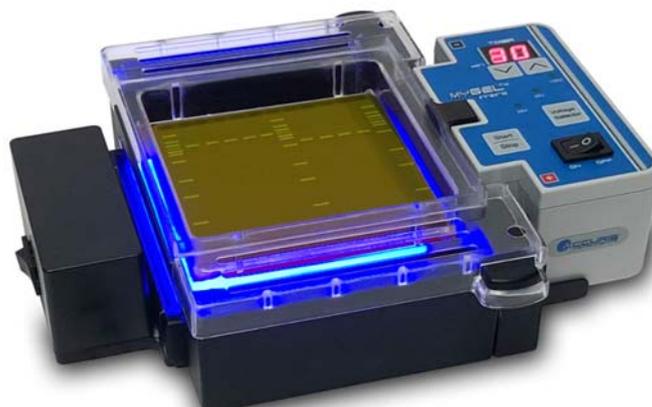


Ilustración 16. MyGel InstaView E1201.

3. Enduro E0160-230V-UK Gel XL Electrophoresis System with UK plug 230V.

Este sistema de electroforesis incluye todo lo necesario para la realización del proceso incluidas bandeja de gel, peines, soporte de fundición, tanque de gel y fuente de alimentación digital.

La fuente de alimentación se conecta directamente al tanque de migración y se puede configurar en voltaje o corriente constante. Tiene un reloj digital que permite programar la duración del proceso de 0 a 99 minutos[6].

A diferencia de los instrumentos electrónicos anteriores este no incluye un transiluminador UV por lo que impide ver los resultados obtenidos de la PCR.

El precio de mercado de este instrumento electrónico es de 890\$.



Ilustración 17. Enduro E0160-230V-UK.

4. Complete electrophoresis system ROTIPHORESE PROfessional runVIEW.

Es un instrumento electrónico todo en uno para electroforesis en tiempo real. Contiene la fuente de alimentación y el transiluminador integrado en un mismo dispositivo.

El ADN teñido se hace visible durante el análisis mediante excitación con luz azul de 470nm de longitud de onda. De esta forma todo el trabajo se puede realizar en la mesa del laboratorio[7].

Este dispositivo presenta las siguientes especificaciones:

- Rango de tensión aplicable: 25-150V (resolución 1V).
- Máxima corriente: 300mA.
- Cronometro con rango que va desde los 0 minutos a los 999 minutos.
- Dimensiones: 22*29.3*8 cm

Este instrumento electrónico tiene un precio de mercado de 2024€



Ilustración 18. Complete electrophoresis system ROTIPHORESE® PROfessional runVIEW

5. MultiSUB MINI ONE, All in One Horizontal Electrophoresis System.

Este dispositivo electrónico es una unidad de electroforesis horizontal todo en uno (al igual que los dispositivos mencionados anteriormente). Con una fuente de alimentación incorporada con opciones de voltaje de 35V, 50V y 100V. Además, incorpora un temporizador de 0 a 99 minutos[8].

Este dispositivo presenta las siguientes especificaciones:

- Dimensiones de la unidad: 19*13*5.5 cm.
- Capacidad máxima de muestra: 22.
- Condiciones de funcionamiento típicas: 50 V, 30-60 minutos.
- Dimensiones del gel: 11*6 cm y 5.4*6 cm

El precio de este dispositivo electrónico es de 350 £.



Ilustración 19. MultiSUB MINI ONE.

Con estos 5 dispositivos electrónicos que se ha mencionado y que están actualmente en el mercado se puede obtener una visión global de la oferta que existe y de las funcionalidades que implementan todos ellos.

2.2 Investigaciones relacionadas con la detección de resultado de la PCR

Debido a la situación que sufre actualmente la sociedad provocada por la pandemia COVID-19 se ha desarrollado de forma sorprendente el campo de la investigación dando lugar a nuevas soluciones y mejoras de aquellas que ya existían.

Para este apartado vamos a tratar un artículo científico, desarrollado por la Universidad de Sevilla concretamente en el Departamento de Ingeniería Electrónica titulado “Semi-Automatic Lab-on-PCB System for Agarose Gel Preparation and Electrophoresis for Biomedical Applications”[9].

Antes de tratar el artículo científico es necesario explicar brevemente en que consiste un Lab-on-PCB para poder comprender por completo el documento.

Los dispositivos Lab-on-PCB ha sido objeto de una investigación cada vez mayor en los últimos años. Estos dispositivos surgieron como una evolución prometedora de los dispositivos de lab-on-chip y la tecnología PCB-MEMS. Comparten propiedades importantes con los dispositivos lab-on-chip, por ejemplo, volumen de fluido pequeño y tiempo de respuesta rápido. En particular, el objetivo de estos dispositivos es la integración de sensores para medir los resultados de una reacción y para controlar los parámetros de las muestras; y la integración de actuadores para acondicionar las muestras y para mover esas muestras a través de la plataforma de microfluidos[10].

Una vez explicado brevemente en que consiste un Lab-on-PCB pasamos a mencionar el contenido del artículo con la intención de obtener una visión más amplia del desarrollo científico que existe en el campo de la biotecnología.

En este artículo se desarrolla un prototipo de Lab-on-PCB semiautomático para la preparación de gel de agarosa y la realización de la electroforesis. El dispositivo incluye un sensor de conductividad, un microcalentador para aumentar la solubilidad de la agarosa, un termistor de coeficiente de temperatura negativo (NTC) para controlar la temperatura, un sensor de resistencia dependiente de la luz (LDR) para medir la transparencia de la mezcla y dos electrodos para realizar la electroforesis. Las funciones de preparación de agarosa están controladas por un microcontrolador.

Este dispositivo está diseñado para integrarse como parte de un sistema de laboratorio en PCB más grande para la amplificación y detección de ADN. Sin embargo, puede usarse para migrar ADN amplificado en termocicladores convencionales. Además, el dispositivo se puede modificar para preparar geles de agarosa más grandes y realizar electroforesis.

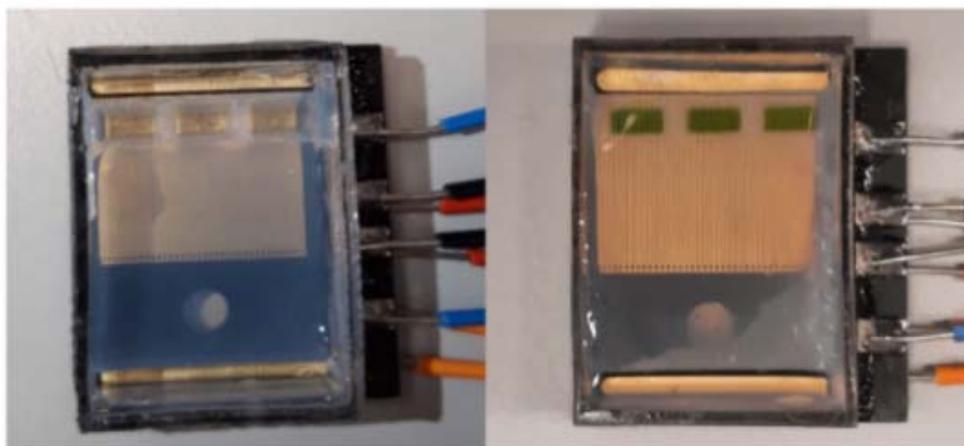


Ilustración 20. Lab-on-PCB con el gel de agarosa curado.

Se ha escogido este artículo científico porque al igual que nuestro proyecto, en él se realiza la electroforesis. Existen varias diferencias en cuanto a funcionalidades implementadas; por un lado, el dispositivo Lab-on-PCB realiza de forma automática la fabricación del gel de agarosa función que no se ha planteado para este proyecto, sin embargo, para la electroforesis en el Lab-on-PCB la fuente de alimentación es independiente, aspecto que si hemos tratado en este proyecto para implementarlo en nuestro dispositivo electrónico.

El objetivo de este apartado es mostrar la evolución tecnológica que se ha experimentado en estos últimos años (gran parte de este desarrollo viene impulsado por la pandemia en la que estamos sumergidos) y lo importante que es la electrónica para ello.

3 ELECTRÓNICA DEL SISTEMA

Una vez puesto en contexto de lo que trata este proyecto pasamos a la parte de la electrónica. En este episodio, el más importante de nuestro proyecto, vamos a tratar tanto los aspectos del diseño, del modelado y de la fabricación de la fuente de alimentación y la parte de la transluminación.

3.1 Fuente de alimentación.

En este apartado vamos a desglosar todo el proceso de fabricación de la fuente de alimentación. Comenzaremos con el diseño y los componentes utilizados. Finalizaremos con los resultados obtenidos.

3.1.1 Diseño del circuito

Aunque se ha explicado ampliamente en los apartados anteriores, para poder llevar a cabo la electroforesis es necesario contar con una fuente de alimentación que sea capaz de suministrar un rango de voltaje que va desde los 70 V hasta los 100V. Y este fue nuestro principal objetivo para el diseño de la fuente de alimentación.

Para obtener a la salida la tensión necesaria se pensó en varias topologías que implementar en nuestro circuito, uno de ellos fue el multiplicador de tensión, pero se necesitaba una salida muy lineal (sin apenas rizado) y que pudiéramos variar el valor de salida en función de nuestras necesidades. Por todos estos motivos decidimos elegir un diseño basado en el controlador elevador DC-DC MAX1771.

Una vez decidido el tipo de circuito que vamos a utilizar para la fuente de alimentación comenzamos con el diseño. Cabe destacar que se ha cogido como referencia para el desarrollo del circuito un proyecto ya realizado que tenía la misma finalidad que nuestro proyecto[11].

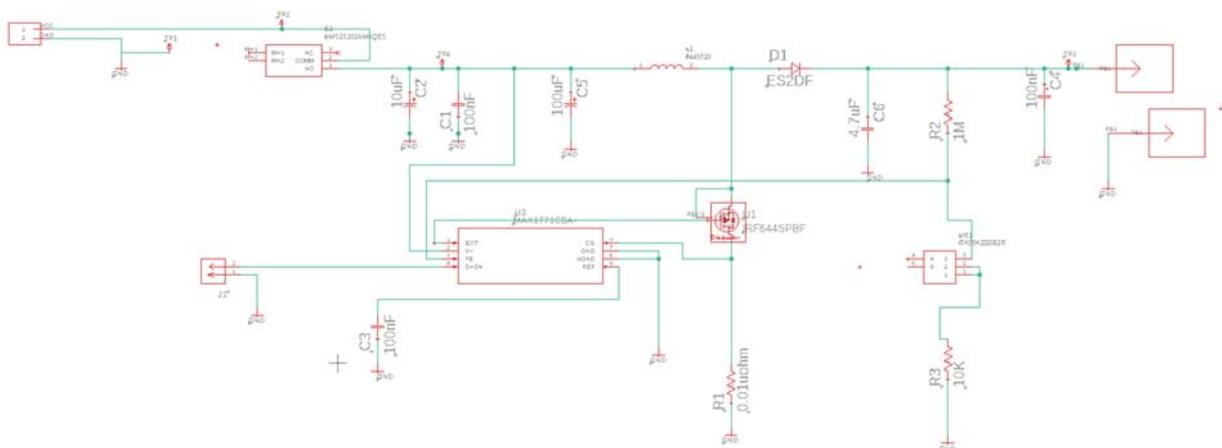


Ilustración 21. Esquemático de la fuente de alimentación

Una vez expuesto el diseño, comenzamos con el principio de funcionamiento por el cual se rige nuestro circuito. Estamos ante una fuente de alimentación basado en un diseño de modo de conmutación en una topología boost. Para poder comprender de forma precisa el funcionamiento de esta topología es necesario tener claro algunos conceptos básicos de las fuentes conmutada.

3.1.1.1 Conceptos básicos de las fuentes conmutadas.

Teniendo en cuenta los múltiples niveles de voltaje de CC requeridos por muchos dispositivos electrónicos, es una necesidad para los diseñadores convertir los potenciales de la fuente de alimentación estándar en los voltajes que demandan determinadas cargas. La conversión de voltaje debe ser un proceso versátil, fiable y eficiente. Las fuentes de alimentación conmutadas (SMPS) se utilizan con frecuencia para proporcionar los distintos niveles de potencia de salida de CC necesarios para las aplicaciones y son indispensables para lograr sistemas de conversión de potencia CC-CC altamente eficientes y confiables[12].

Como hemos comentado, los SMPS puede convertir un voltaje de entrada de CC en un voltaje de salida CC diferente, según la topología del circuito. Aunque existen una gran cantidad de topologías SMPS, tres son fundamentales y se ven con mayor frecuencia. Estas topologías se clasifican en función de la conversión que realiza: step-down (buck), step-up(boost) y step-up/down.

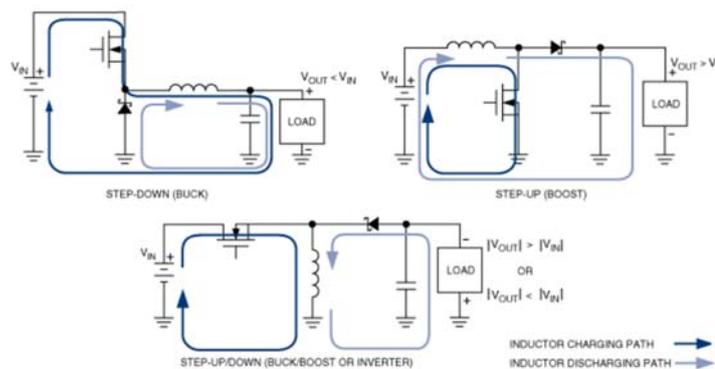


Ilustración 22. Topología SMPS fundamentales.

Las tres topologías incluyen un interruptor MOSFET, un diodo, un condensador de salida y un inductor. El MOSFET que es el componente controlado de forma activa en el circuito, está interconectado a un controlador que para nuestro proyecto se ha utilizado el MAX1771. Este controlador aplica una señal de onda cuadrada modulada por la frecuencia del pulso de la señal (PFM) a la puerta del MOSFET, lo que enciende y apaga el dispositivo. Para mantener un voltaje de salida constante, el controlador detecta el voltaje de salida SMPS y varía la frecuencia de la señal de onda cuadrada, dictando el tiempo que esta encendido el MOSFET durante cada periodo de conmutación (T_s). el valor de D, que es la relación entre el tiempo de activación de la onda cuadrada y su periodo de conmutación (T_{ON} / T_s), afecta directamente el voltaje en la salida SMPS. Esta relación se ilustra en la ecuación 1 y 2.

El inductor es fundamental para la transferencia de energía de la fuente a la carga durante cada ciclo de conmutación. Sin él, la fuente de conmutación no funcionaría cuando se cambia el MOSFET. La energía almacenada en un inductor (L) depende de su corriente (I):

$$E = \frac{1}{2} \times L \times I^2 \quad (1)$$

Por lo tanto, el cambio de energía en el inductor se mide por el cambio de su corriente (ΔI_L), que se debe al voltaje aplicado (v_L) a través de él durante un periodo de tiempo específico (ΔT).

$$\Delta I_L = \frac{V_L \times \Delta T}{L} \quad (2)$$

El (ΔI_L) es una rampa lineal, ya que se aplica un voltaje constante a través del inductor durante la fase de conmutación. El voltaje del inductor durante la fase de conmutación se puede determinar realizando un bucle de voltaje de Kirchoff, prestando especial atención a las polaridades. Nuestro proyecto que esta basado en una topología boost, el voltaje del inductor en la fase de descarga es negativo como se puede apreciar aplicando la ecuación 3.

$$v_L = -(v_{OUT} - v_{IN}), v_{OUT} > v_{IN} \quad (3)$$

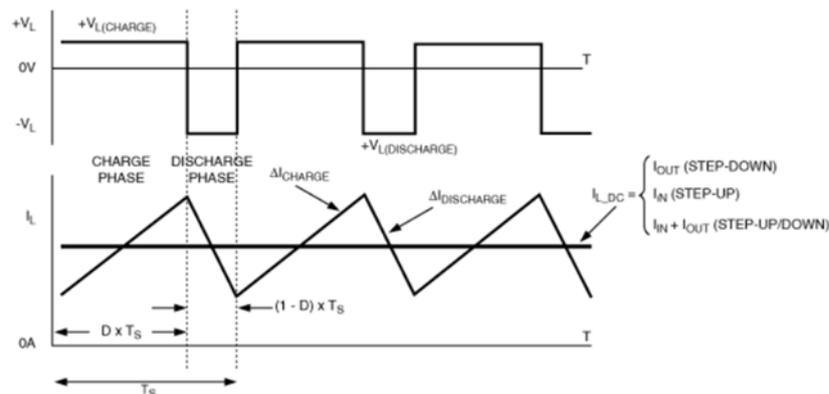


Ilustración 23. Característica de voltaje y corriente para el inductor.

Durante la fase de carga, el mosfet está encendido, el diodo tiene polarización inversa y la energía se transmite desde la fuente de voltaje al inductor (Ilustración 14). La corriente del inductor aumenta porque v_L es positivo. Además, la capacitancia de salida transfiere la energía que almacenó del ciclo anterior a la carga para mantener un voltaje de salida constante. Durante la fase de descarga, el mosfet se apaga y el diodo se polariza en directa, por lo tanto, conduce. Debido a que la fuente ya no carga el inductor, los terminales del inductor intercambian la polaridad a medida que descarga energía a la carga y repone el capacitor de salida. La corriente del inductor descende a medida que imparte energía, de acuerdo con la misma relación de transferencia dada anteriormente.

Los ciclos de carga / descarga se repiten y mantienen una condición de conmutación de estado estable. A medida que van pasando los ciclos de forma estable la corriente del inductor se acumula hasta alcanzar una corriente de ondulación desarrollada durante las dos fases del circuito. El nivel de corriente CC está relacionado con la corriente de salida, pero depende de la posición del inductor en el circuito SMPS.

La fuente de conmutación debe filtrar la corriente de ondulación para entregar corriente CC estable a la salida. Este filtrado se realiza con el condensador de salida, que ofrece poca oposición a la corriente CA de alta frecuencia. La corriente de ondulación de salida no deseada pasa a través del condensador de salida y mantiene la carga del condensador a medida que la corriente pasa a tierra. Con todo esto conseguimos que el condensador de una tensión de salida estable.

Para finalizar a modo de resumen, la energía se transporta entre la fuente, el inductor y el capacitor de salida para mantener un voltaje de salida constante y para suministrar la carga.

3.1.2 Elección de los componentes

En este apartado trataremos los componentes electrónicos que componen nuestra fuente de alimentación y el motivo por el cual se ha elegido todos ellos.

Comenzaremos con una tabla a modo resumen donde estarán representados todos los componentes con sus respectivos valores.

LISTA DE COMPONENTES (FUENTE DE ALIMENTACIÓN)

Componentes	Valores / Modelo	Imagen
MAX1771ESA+	Controlador elevador CC – CC	
Condensador	10 μ F	
Condensador	100nF	
Resistencia	1Mohm	
Potenciometro	50Kohm	
Mosfet	IRF644SPBF	
Condensador	4.7 μ F	
Diodo	ES2D	
Resistencia	10Kohm	
Interruptor ON/OFF	Deslizante monopolar	
Inductor	100 μ H	
Condensador	100 μ F	
Conector	Banana hembra	

Una vez mostrada la tabla a modo de resumen con todos los componentes de la fuente de alimentación comenzamos aportando los motivos de la elección de todos ellos. Cabe destacar que todo nuestro diseño va a estar condicionado por el controlador MAX1771 para que realice un correcto funcionamiento.

Para que la explicación de los componentes este estructurada se va a dividir en subgrupos según el tipo de componente electrónico y el papel que desempeñan en el circuito:

➤ Condensadores:

En el diseño del circuito se ha utilizado varios condensadores con el objetivo de filtrar la señal tanto en la entrada del controlador como en la salida con el objetivo de obtener una señal constante y limpia. Cabe destacar en este subgrupo el condensador de 10 nF ya que filtra la señal de FeedBack que recibe el controlador y que gracias a ello obtenemos a la salida una señal variable y constante.

➤ Inductor:

Como ya se ha comentado, el inductor es una pieza imprescindible en nuestro circuito ya que se encarga de la transferencia de energía en cada ciclo de conmutación. El valor del inductor debe estar dentro de un rango que sea aceptable para el controlador, según el datasheet del MAX 1771[13] debe estar dentro del siguiente rango 10 μ H - 300 μ H. Teniendo en cuenta el rango y unas series de características relacionadas con el diseño del circuito decidimos escoger el inductor de superficie bobinado Würth de 100 μ H.

➤ Resistencias:

Para nuestro circuito las resistencias juegan un papel fundamental. Se han utilizado para formar un divisor resistivo cuya finalidad es proporcionar la variación de tensión a la salida. Este divisor resistivo esta formado por dos resistencias y un potenciómetro. Los valores de la resistencia y del potenciómetro se han calculado en base al datasheet del MAX1771[13] para obtener las tensiones de salida deseadas. El divisor resistivo está conectado a la señal FB del controlador que da lugar a la regulación de la tensión de salida. El cálculo de las resistencias que componen el divisor resistivo se realizó siguiendo las siguientes indicaciones.

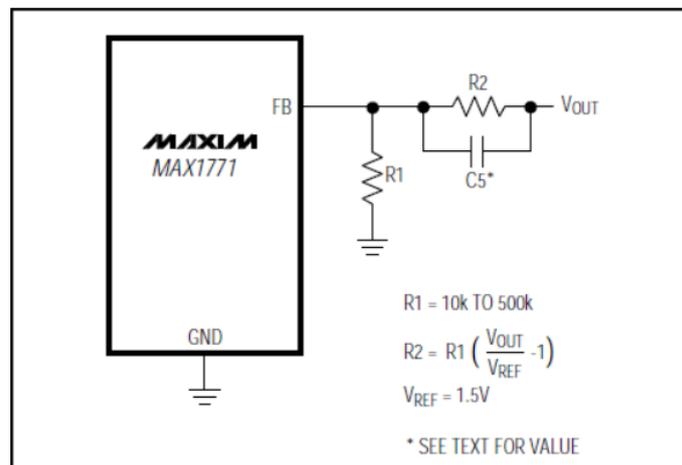


Ilustración 24. Cálculo de las resistencias para obtener un rango de salida determinado.

Como podemos observar en la ilustración 16 para determinar los valores de las resistencias vienen definidos una serie de reglas. Para nuestro proyecto R1 es la unión de una resistencia y un potenciómetro, el valor de la resistencia es de 10Kohm mientras que el valor del potenciómetro puede variar entre 0-50Kohm.

Una vez definido los valores de la resistencia y del potenciómetro se calcula el valor de R2. El cálculo se puede realizar de dos formas distintas una vez definido el rango de tensión que queremos a la salida:

- Por un lado, aplicando en la fórmula de R2 el valor mínimo de R1 con el valor máximo del rango de tensión a la salida.
- El otro modo fue aplicando el valor máximo de R1 junto con el valor mínimo del rango de tensión a la salida.

Esto se puede ver fácilmente aplicando la siguiente fórmula. Donde es evidente que la tensión de salida es inversamente proporcional a R1.

$$v_{out} = v_{ref} \left(\frac{R_2}{R_1} + 1 \right)$$

➤ Controlador MAX1771:

El controlador MAX1771 es el corazón de nuestro circuito, todos los componentes electrónicos restantes están condicionados por el controlador con el fin de que realice correctamente la conversión. Consta de 8 pines[13]:

- EXT: Pulso rectangular. Se varia su frecuencia para aumentar o disminuir la velocidad de conmutación.
- VCC: Entrada de fuente de alimentación.
- FB: Entrada de realimentación para salida ajustable.
- SHDN: A nivel alto hace que el controlador funcione como un diodo. A nivel bajo permite un funcionamiento normal.
- REF: Tensión de referencia de 1.5V.
- AGND: Tierra analógica
- GND: Tierra.
- CS: Entrada al controlador para la detección de corriente.

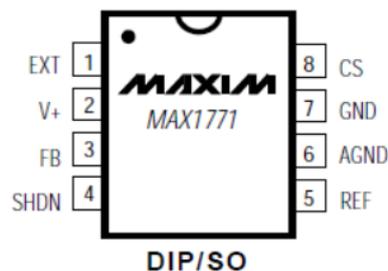


Ilustración 25. Esquemático del controlador MAX1771.

➤ Mosfet:

El mosfet lo utilizamos como un interruptor, a la puerta le introducimos la señal EXT que viene del controlador. Esta señal activa o desactiva el mosfet con el objetivo de pasar de la fase de carga a la fase de descarga y viceversa. La velocidad con la que pasamos de una fase a otra lo determina el controlador variando la frecuencia de la señal. En la elección nos condicionó varios factores como la tensión máxima soportada por el mosfet, el cuál debía soportar tensiones superiores a 100V, ó el tiempo de conmutación que se busco minimizarlo lo máximo posible. Teniendo en cuenta todas estas restricciones se decidió escoger el mosfet IRF644SPBF.

➤ Diodo:

El diodo está íntimamente relacionado con el mosfet ya que durante la fase de carga el mosfet se enciende y el diodo tiene polarización inversa para evitar el flujo de corriente por otro lado durante la fase de descarga el mosfet se apaga y el diodo se polariza en modo directo haciendo que la energía se transfiera del inductor a la carga. Se ha escogido un diodo de conmutación en el que se ha tenido en cuenta la tensión máxima de ruptura, la cual debe ser mayor a 100V. Concretamente se ha elegido el diodo de conmutación ES2D.

3.1.3 Fabricación del circuito

Una vez expuesto todos los componentes electrónicos y su funcionamiento dentro del circuito pasamos a la siguiente etapa que es la fabricación de este. El proceso de fabricación consta de varios pasos.

3.1.3.1 Diseño mediante software.

Para este proyecto se ha utilizado un software de diseño de PCBs llamado Eagle. Este software está dedicado para el diseño electrónico que permite conectar sin problemas diagramas esquemáticos, ubicación de componentes y enrutamiento de PCB.

Explicado en que consiste el software que hemos empleado en el proyecto, vamos a comentar las restricciones que hemos tenido en cuenta a la hora del diseño y que se ha tratado con el software.

Unas de las restricciones a cumplir y la base del diseño fue el tamaño de la placa PCB ya que partíamos de un componente ya fabricado como era el cubilete donde se depositan las muestras de ADN junto con la agarosa. Debido a ello se decidió fabricar una PCB cuyo tamaño es 60x60cm.

Una vez definido el tamaño se decide cuantas capas se ha de utilizar para el circuito, debido a los componentes que lo forma y su tamaño nos hemos visto obligado a utilizar dos capas (*top y bottom*). Como se ha comentado en apartados anteriores, el circuito de la fuente de alimentación va a ser la base del dispositivo electrónico en su conjunto. Es por ello que se tomó como decisión separar todos los componentes en dos grupos, por un lado todos aquellos componentes que tienen una altura superior a la de los conectores bananas hembras que se van a utilizar como conexión, van colocados en la capa bottom, y aquellos componentes cuya altura no superaban dicho conector, colocados en el top.

Decidido ya el número de capas y los elementos electrónicos que van en cada una de ellas, el siguiente paso es añadir en la biblioteca de Eagle todos los componentes. Es uno de los pasos más importante ya que debemos tener el modelo exacto de todos ellos con sus correspondientes medidas porque esto nos delimitará a la hora de su colocación en la placa. Para poder obtener los modelos de los componentes tenemos dos opciones, crear nosotros en Eagle el modelo o descargar el modelo que proporciona el fabricante.

Cuando se ha conseguido todos los modelos de los componentes, pasamos a la colocación de los mismos. Para ello se ha tenido en cuenta las conexiones externas y las salidas, así como la separación de los componentes digitales y analógicos.

Colocado ya todos los componentes, comenzamos a conectar los caminos de las señales de acuerdo al esquemático. En este paso hemos intentado ubicar las conexiones de la forma más corta y directa posible entre los componentes. También se decidió en el diseño la utilización de vías con un ancho considerable con el objetivo de que no hubiera problemas con el paso de las señales y que el proceso de fabricación no fuera excesivamente complicado. A continuación, se mostrará dos imágenes donde se muestra las dos capas utilizadas para el circuito con sus respectivos enrutamientos.

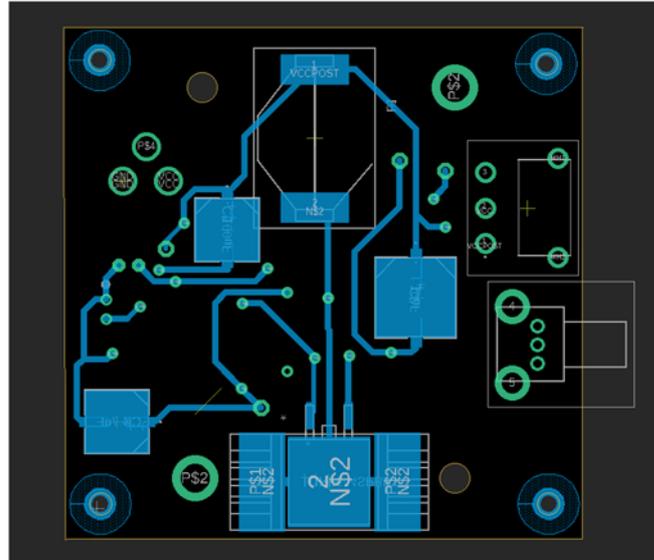


Ilustración 26. Capa bottom realizado en Eagle.

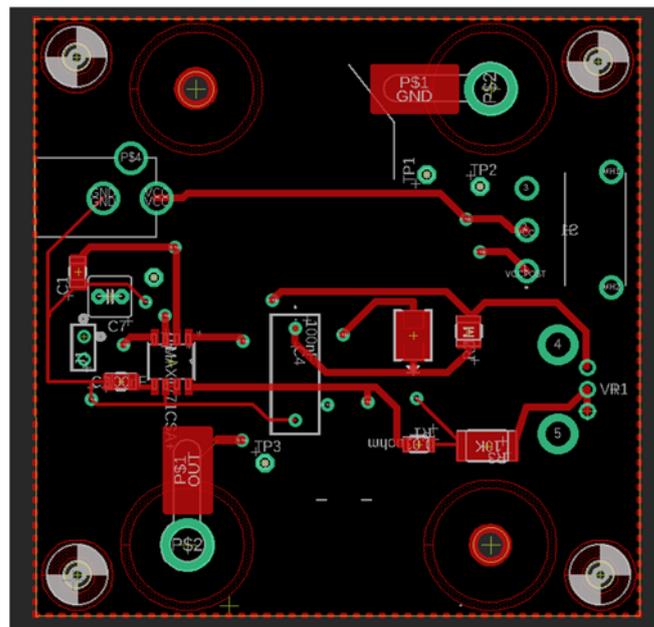


Ilustración 27. Capa Top realizado en Eagle.

Una vez conseguido un enrutamiento lo más óptimo posible se colocó un plano de tierra con el objetivo de reducir al máximo el ruido eléctrico y las interferencias a través de los bucles de tierra. Además, con el plano de tierra nos aseguramos de que todos los componentes estén en el mismo potencial de referencia.

Explicado todo el proceso que se ha llevado a cabo para el diseño del circuito en el que se ha tenido en cuenta todas y cada una de las restricciones comentada, se ha obtenido como resultado el siguiente circuito.

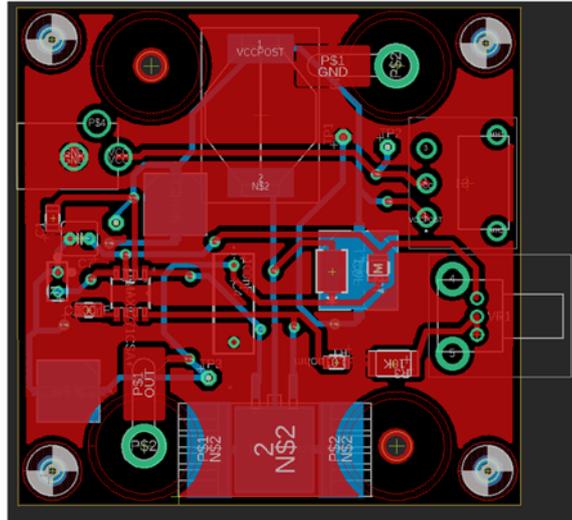


Ilustración 28. Diseño final del circuito.

3.1.3.2 Proceso fotolitográfico.

Una vez finalizado el proceso de diseño mediante software del circuito pasamos al proceso de fabricación de forma manual.

Concretamente para nuestro proyecto vamos a utilizar el proceso fotolitográfico. Una vez diseñado el fotolito, se imprime en papel transparente, se ha utilizado papel vegetal, y dicho dibujo se transfiere a una placa de fibra de vidrio (u otra sustancia que sirva de soporte rígido), recubierta de una capa de cobre y sobre esta una película fotosensible [14].

El material necesario para la fabricación de nuestro circuito es el siguiente:

1. Placa de PCB positiva a ambas caras.
2. Insoladora UV
3. Líquido revelador.
4. Agua oxigenada.
5. Aguafuerte.
6. Agua DI.
7. Acetona industrial.

Una vez impreso el circuito en papel vegetal, procederemos con el revelado del PCB. Haremos uso de las herramientas disponibles en el laboratorio del Departamento de Ingeniería Electrónica, una de estas herramientas es la insoladora de rayos UV. Los rayos UV eliminan la resina que cubre la cara fotosensible de la placa positiva, en aquellas zonas expuestas directamente a la luz.



Ilustración 29. Insoladora de rayos UV.

Durante el proceso del revelado, se trabaja con la mínima luz posible, ya que descubriremos la interfaz fotosensible de la placa positiva para trabajar con ella. Para comenzar, se coloca la placa sobre un “sandwich” que se realizó previamente con el papel vegetal en el que estaba impreso las dos capas diseñadas. Una vez colocado la placa de forma correcta se comenzó con el proceso de vacío. Alcanzado un nivel de vacío adecuado (en torno a 0,8 atm) se active la insoladora durante aproximadamente 2 minutos de tiempo de exposición[14].

Una vez sacada la placa de la insoladora, se puede observar con el reflejo de la luz como la zona cubierta por la impresión del papel vegetal tiene un color ligeramente diferente al resto de la placa.

El siguiente paso será sumergir la placa en el líquido revelador que hemos preparado. El líquido revelador actuará de capa protectora sobre las zonas de la placa que no han sido insoladas, evitando que en un paso posterior el ácido las ataque y elimine el cobre que hay en ellas. Pasados unos minutos observamos que el líquido revelador va intensificando su color a medida que la placa se va desprendiendo de su resina hasta hacerse visibles las zonas que han conservado la resina.

Ahora se sumerge la placa en la bandeja del líquido atacante, el ácido atacará y disolverá en unos minutos el cobre de las zonas que no han sido protegidas por el líquido revelador. Por último, sólo nos queda enjuagar bien la placa ya revelada, y secarla bien.



Ilustración 30. Líquido revelador (izquierda) y líquido atacante (derecha).

Tras el revelado del PCB, sobre el circuito impreso aún permanece una capa de resina que protege al cobre de la oxidación. Esta capa nos impide soldar las pistas de cobre con los componentes del circuito por lo que se procede a su eliminación aplicando acetona.

El siguiente paso será el taladrado de los pads. Estos pads se corresponden con los extremos de los componentes y debemos tener en cuenta que no todos los componentes tendrán el mismo diámetro en sus patillas.

Una vez taladrado todos los pads de nuestro circuito, pasamos a la soldadura. Se va a utilizar una soldadura en el que se realiza la unión de dos piezas, empleando un meta de aportación con bajo punto de fusión. El metal de aportación que se ha utilizado en este proyecto ha sido estaño.

Finalizado el proceso de soldadura podemos dar por concluido el proceso de fabricación del circuito, pero es recomendable hacer comprobaciones previas a la puesta de funcionamiento. Estas comprobaciones se han realizado con un multímetro con el objetivo de comprobar una correcta conexión de unos componentes con otros y que exista aislamiento con pistas adyacentes[14]. Realizadas las comprobaciones de forma exitosa obtenemos el siguiente circuito.

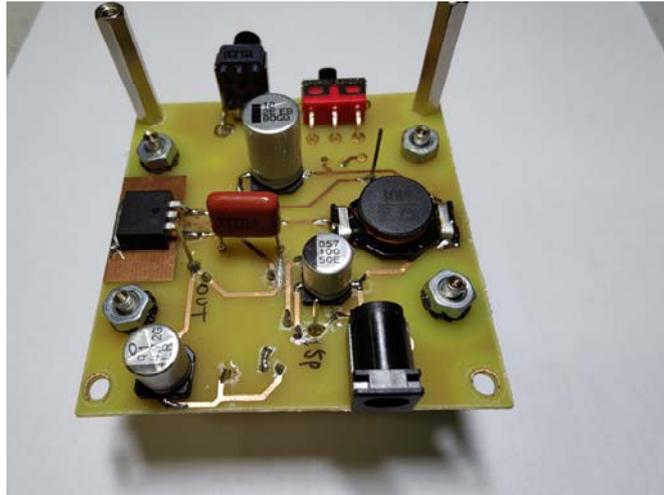


Ilustración 31. Bottom del circuito final.

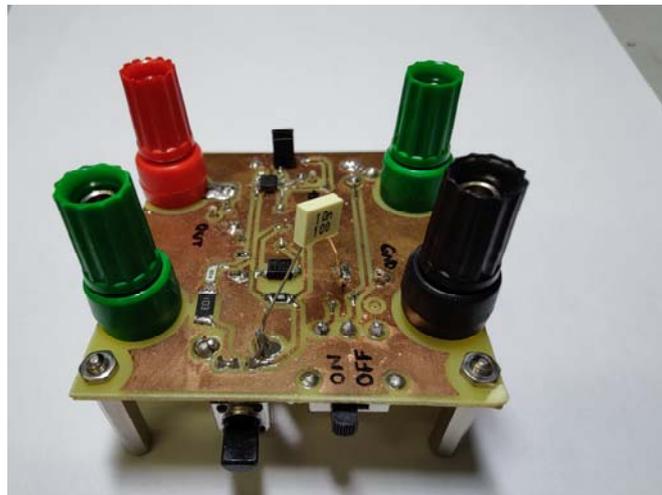


Ilustración 32. Top del circuito final.

3.2 Transiluminador UV.

En este apartado vamos a desglosar todo el proceso de fabricación del transiluminador UV, concretamente la parte electrónica que nos proporciona la iluminación necesaria. Por lo que se tratará el diseño y los componentes utilizados.

3.2.1 Introducción

Como se ha comentado en apartados anteriores el transiluminador es un equipo biomédico utilizados principalmente en laboratorios para la detección de biomoléculas.

Debido a que estas moléculas no son observadas a simple vista, se requiere de un transiluminador. Un transiluminador funciona generando altos niveles de luz que atraviesan una superficie en la cual se encuentran estas biomoléculas.

Concretamente para este proyecto se va a realizar un transiluminador de luz azul. Estos equipos emiten luz con una longitud de onda $\sim 470\text{nm}$. Estos transiluminadores son más seguros, y tienen la ventaja de servir para una gran cantidad de fluoróforos.

Para el diseño del circuito se debe tener en cuenta varias restricciones que lo condicionan como es la alimentación y los leds que se vayan a utilizar. En este caso se va a alimentar a 12V de forma continua proporcionado por el circuito de la fuente de alimentación. Cabe destacar que la fase de transiluminación se activará pasando un tiempo determinado y esto lo conseguimos introduciendo un interruptor en el diseño del dispositivo final. A continuación, se va a mostrar un esquemático del circuito led que compone una parte del transiluminador.

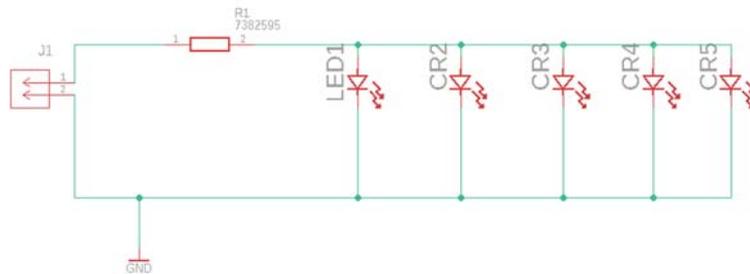


Ilustración 33. Esquemático del circuito led realizado en Eagle.

3.2.2 Elección de los componentes

En este apartado trataremos los componentes electrónicos que componen nuestro transiluminador y el motivo por el cual se ha elegido cada uno de ellos.

A diferencia de la fuente de alimentación, solo hemos tenido que escoger dos componentes electrónicos.

1. LEDS. Para poder comprobar que se ha realizado correctamente la electroforesis es necesario aplicar una luz con una longitud de onda $\sim 470\text{nm}$. Es por ello por lo que se ha seleccionado unos leds cuya longitud de onda es de 480nm . Además de la longitud de onda otros datos importantes que se debe tener en cuenta es el *forward current* y *forward voltage*, el cual va a acondicionar la elección de la resistencia.
2. Resistencia. La resistencia que se va a utilizar para este circuito viene condicionada por los leds, así como la alimentación. Para calcular el valor de la resistencia y la potencia que debe soportar la misma se debe realizar los siguientes cálculos con los datos expuestos a continuación.
 - a. Datos:
 - i. Alimentación: 12 V
 - ii. Forward Current: 30 mA
 - iii. Forward Voltage: 3.2V

Cálculos que realizar: Para realizar los cálculos se empleará la ayuda de un esquemático

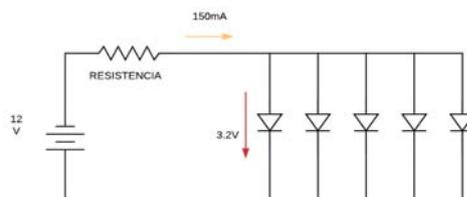


Ilustración 34. Esquemáticos con datos para calcular el valor de la resistencia.

$$V_{\text{Resistencia}} = 12 - 3,2 = 8,8\text{v}$$

$$V_{\text{Resistencia}} = R \cdot I; R = \frac{V_{\text{Resistencia}}}{I} = \frac{8,8\text{v}}{150\text{mA}} = 58,66\Omega$$

$$P_{\text{Resistencia}} = V_{\text{Resistencia}} \cdot I = 8,8 \cdot 0,15 = 1,32\text{w}$$

Una vez realizado los cálculos y obtenido el valor de la resistencia y la potencia que debe soportar se ha escogida una con unos valores aproximados, concretamente la resistencia es de 68Ω y soporta una potencia de 2w

En la siguiente tabla se recoge los componentes junto con sus datos.

Componentes	Valores	Imagen
Led	480nm	
Resistencia	68Ω	

3.2.3 Fabricación del circuito

Una vez expuesto todos los componentes electrónicos y su funcionamiento dentro del circuito pasamos a la siguiente etapa que es la fabricación de este. El proceso de fabricación consta de varios pasos.

3.2.3.1 Diseño mediante software.

Como se ha expuesto en el apartado del circuito de alimentación el software utilizado para el diseño ha sido Eagle.

Para comenzar con el diseño del circuito, el primer paso es establecer las dimensiones ya que va a ser una de las características más delimitantes, así como el número de capas a utilizar. En apartados posteriores se comentarán las tomas de decisiones a la hora de establecer las dimensiones del circuito.

Al estudiar el circuito se decidió utilizar una sola capa para simplificar mucho más el proceso de fabricación. Una vez decidido el número de capas pasamos a las dimensiones, se decidió que el circuito debía ser de 53mm de largo y 12mm de ancho.

Una vez encontrado todos los modelos para Eagle de los componentes pasamos a la colocación de los mismos donde se intenta ser lo más óptimo posible.

Si nos referimos a las reglas de diseño utilizadas para este circuito se ha seguido las mismas que para la fuente de alimentación. A continuación, se muestra el resultado final del diseño.



Ilustración 35. Modelo final de la placa led diseñado en Eagle.

3.2.3.2 Proceso fotolitográfico.

Una vez se ha terminado la etapa de diseño se pasa al proceso fotolitográfico. Este proceso se ha explicado detalladamente en el apartado 3.1.3.2 por lo que se ha decidido suprimir la explicación.

Finalizado el proceso de fabricación (revelado, taladro y soldadura) pasamos a la comprobación del circuito. Una vez comprobado su correcto funcionamiento damos por concluido to el proceso.

Para ilustrar el resultado final se adjunta una imagen del circuito fabricado.

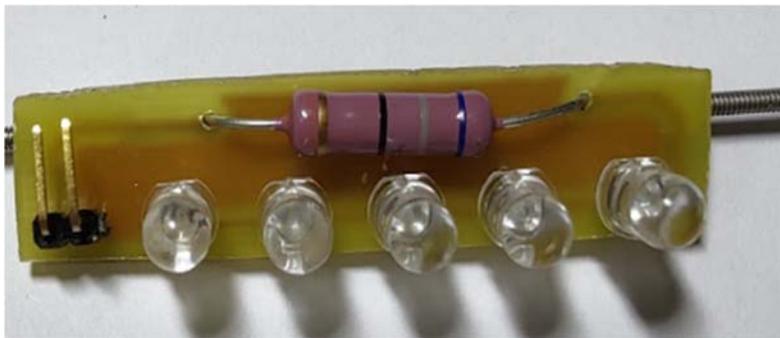


Ilustración 36. Circuito led.

4 ESTRUCTURA DEL DISPOSITIVO FINAL

En este capítulo nos pararemos a ver todo lo relacionado con el diseño de la estructura del dispositivo final. Una vez diseñado y fabricado los dos componentes electrónicos de nuestro proyecto pasamos al diseño de la estructura que unirá todos los componentes electrónicos dando como resultado un único dispositivo.

4.1 Introducción

En este apartado se va a tratar como se ha estructurado todo el dispositivo completo para conseguir la unión de todos los elementos electrónicos y que realicen su funcionamiento de forma correcta. Toda la estructura se va a dividir en dos subestructuras, cada una de ellas con una finalidad concreta.

Por un lado, nos encontramos con la base, en ella se va a colocar la fuente de alimentación. Además de proporcionar tensión a los electrodos que van en el interior del cubilete de la agarosa con las muestras de ADN también proporciona la alimentación de las dos placas leds para la fase de la transiluminación. Esto quiere decir que tanto la base como la parte superior deben estar conectadas.

Con el fin de facilitar la comprensión de como está estructurado el dispositivo final se muestra en la ilustración 38 un esquemático de la estructura.



Ilustración 37. Esquema de estructura final.

Por otro lado, nos encontramos con la parte superior. Esta subestructura es la más complicada por diferentes factores:

- En ella debe ir una zona exclusiva para el cubilete con la agarosa donde se deposita el buffer y como consecuencia esa zona debe estar totalmente aislada del resto de dispositivo electrónico del sistema.
- Además, debe incluir el sistema de transiluminación con las dos placas leds y el filtro para la visión de los resultados.

4.2 Diseño

Para el diseño de la estructura que unirá los dos dispositivos electrónicos se ha utilizado Blender. Blender es un programa electrónico de creación 3D gratuita y de código abierto [15].

Como se ha expuesto en el apartado de introducción, el diseño estará compuesto por dos estructuras donde cada una de ellas irá colocada los dispositivos electrónicos e interconectados para su correcto funcionamiento.

En primer lugar, comenzamos con la base de nuestro dispositivo, esta primera pieza tiene como objetivo fijar la placa de la fuente de alimentación. Como se puede observar en la ilustración 22 la fuente de alimentación esta sostenida por cuatro patas metálicas, estas patas se va a utilizar como anclaje a la base del dispositivo con el objetivo de ofrecer un soporte y mantener fijo el circuito electrónico. Luego para poder acceder al interruptor y conectar la fuente de carga a la placa se han dejado unos orificios con las medidas exactas para su acceso y consiguiendo un aislamiento del resto del dispositivo.

El principal objetivo de la estructura de la base es conseguir aislamiento con la placa de la fuente de alimentación ya que se trabaja con altas tensiones y puede resultar peligroso para la salud. Como resultado final del diseño se muestra a continuación la siguiente ilustración.

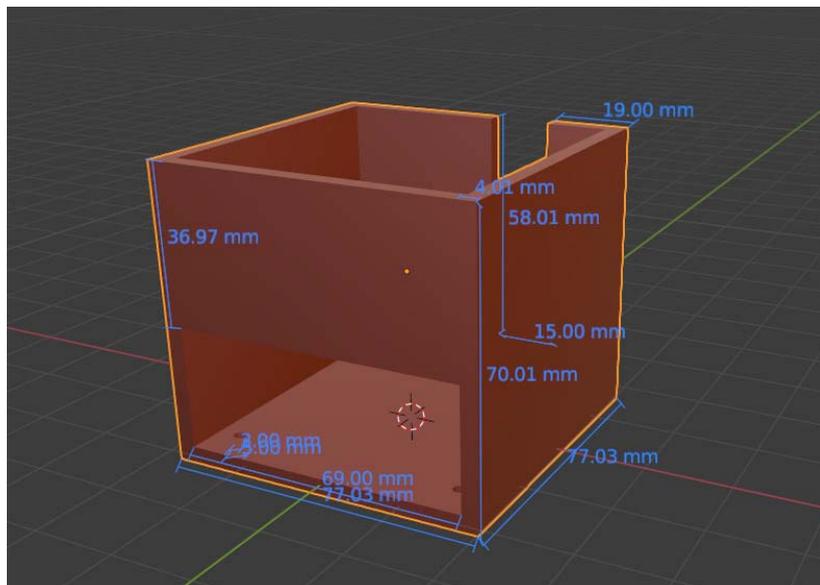


Ilustración 38. Parte inferior de la estructura.

Pasamos a comentar algunas de las características de este diseño y las decisiones que se han tomado para llegar al diseño final.

Como se puede observar en la ilustración 38 en una de las caras laterales, en su parte inferior se encuentra un orificio rectangular, este orificio coincide exactamente con el potenciómetro que se utiliza para regular la tensión de salida y con el interruptor que enciende o apaga la fuente de alimentación. De esta manera se consiguió que estuvieran accesibles todos estos elementos que son fundamentales para el funcionamiento del dispositivo y a su vez un aislamiento con el resto de la placa. En la cara contraria se realizó un orificio para el conector de la batería con el mismo objetivo, que fuera accesible, pero aislará el resto de la placa.

Otra de las problemáticas que se nos presentó fue la fijación de la placa y que se decidió solucionar realizando cuatro orificios en la base de la estructura con las medidas exactas de las patas que sujetaban la placa. Estos orificios se realizaron para introducir tornillos y unir las patas con la base de la estructura.

Una vez conseguido el aislamiento de la placa, que todas las partes necesarias para el funcionamiento del dispositivo estuvieran accesibles y que la placa estuviera fija en la base de la estructura se dio por finalizado la estructura inferior.

A continuación, pasamos a la estructura superior, para su diseño se ha tenido en cuenta varias restricciones y es por ello por lo que ha sido la más complicada de realizar. En ella se aplica la tensión al cubilete con la agarosa recubierto por el buffer y además también se realiza el proceso de la transiluminación.

Por un lado, nos encontramos con la problemática del aislamiento con los dispositivos electrónicos ya que en la estructura superior se encuentra un lugar destinado para depositar un cubilete con agarosa y que hay que recubrir con un buffer que aumenta la conductividad en la electroforesis. Además, se necesita un lugar donde colocar todas las conexiones electrónicas que vienen de la estructura inferior y que tiene que estar completamente aislada de la zona donde se deposita el buffer.

Como se ha comentado para el proceso de transiluminación se decidió añadir un interruptor en la estructura con el objetivo de encender o apagar los leds una vez que finalizará el proceso de la electroforesis. Estas dos placas de leds están alimentadas por 12V dados por la batería. Para poder obtener la alimentación se ha utilizado un par de cables los cuales estaban conectados a tierra y a la vía de 12V en la placa de la fuente de alimentación. Para una mayor comprensión se adjunta imagen con las vías donde se conectaron los cables, por un lado VCC representa la señal de 12V y por otro la tierra que es todo el plano en color rojo.

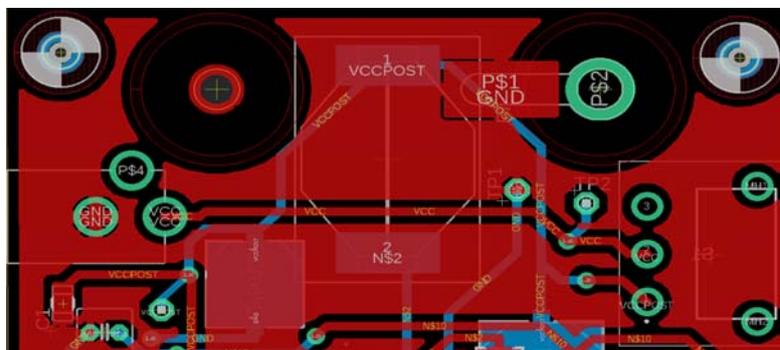


Ilustración 39. Vía de 12V (VCC) y Tierra (plano rojo). Programa utilizado Eagle.

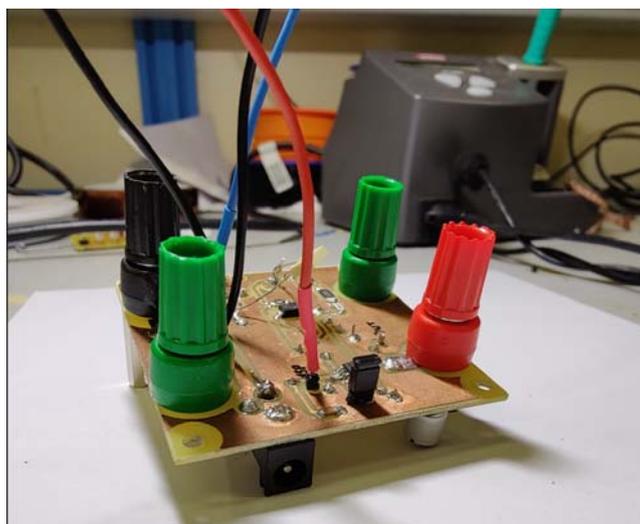


Ilustración 40. Cables conectados para la alimentación de las placas Leds.

Para poder pasar los cables hacia la zona superior con el objetivo de conectar las señales al interruptor se decidió realizar una perforación en la misma pared de la estructura superior donde se encuentra el interruptor. Además, en esa pared se encuentra una zona totalmente aislada del buffer para poder colocar los cables sin temor a cortocircuitos. A continuación, se muestra unas imágenes aclarativas.

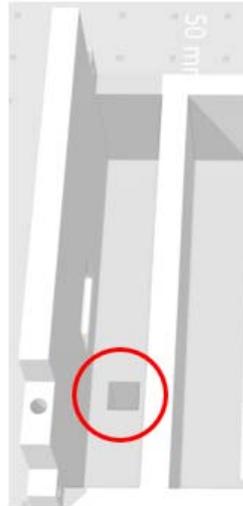


Ilustración 41. Perforación para introducir los cables.

Para poder tener una visión global de la estructura superior, podemos observar la siguiente imagen donde se puede apreciar dos grandes zonas diferenciadas.

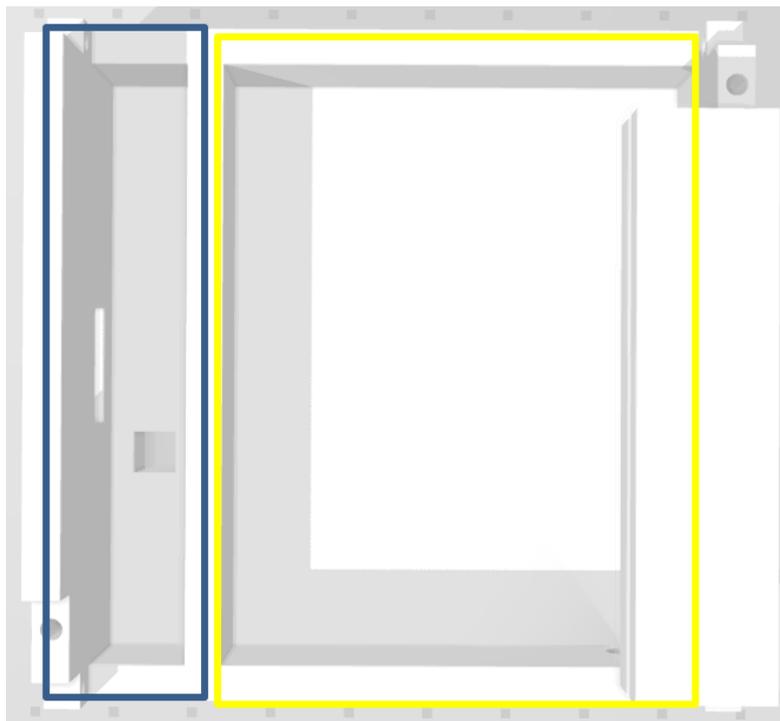


Ilustración 42. Vista superior de la estructura.

La zona azul se ha utilizado para colocar los cables que se utilizan para alimentar las placas leds mientras que la zona amarilla se utiliza para colocar el cubilete y cubrirlo con el buffer para la electroforesis.

Ahora pasamos al diseño del mecanismo que se ha utilizado para las placas leds. Una de las prioridades en este diseño es poder modificar el ángulo de incidencia del haz de luz para una mejor visualización de los resultados es por ello que se ha diseñado dos piezas, una de ellas irá pegada a la placa led y servirá para introducir por ella una varilla de metal que irá pegada a la otra pieza y que nos permitirá rotar la placa y así variar el ángulo.

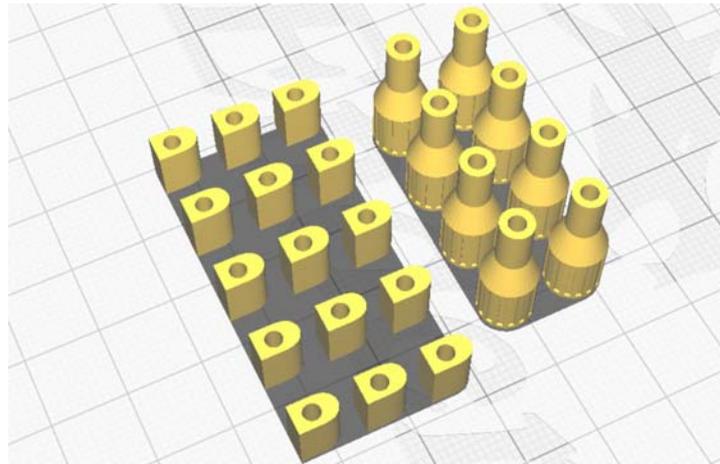


Ilustración 43. Piezas para el mecanismo de la placa led.

Para poder visualizar los resultados de la electroforesis es necesario utilizar un filtro de color, esto también se encuentra en la parte superior de la estructura. Para poder colocar el filtro se decidió utilizar una estructura con un hueco cuyas dimensiones coinciden con el grosor y proporciona una correcta sujeción para la visualización de los resultados.

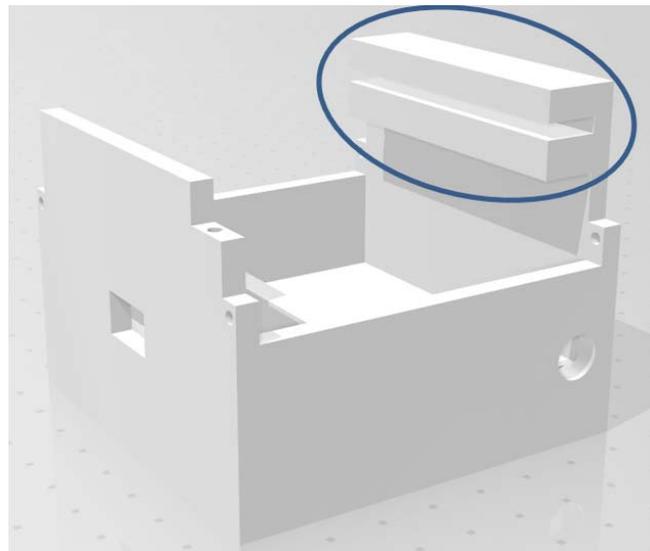


Ilustración 44. Estructura sujeción del filtro.

Otra de las problemáticas que nos encontramos a lo largo del diseño fue como deshacernos del buffer sin dañar los circuitos electrónicos, ya que conforme se realizan varios procesos de electroforesis se va dañando las propiedades del buffer y se tiene que cambiar. Para realizar el cambio de buffer se decidió realizar una perforación en una de las paredes que va a estar sellado con un tapón durante todo el proceso de la electroforesis y que cuando el buffer esté dañado se pueda desalojar.

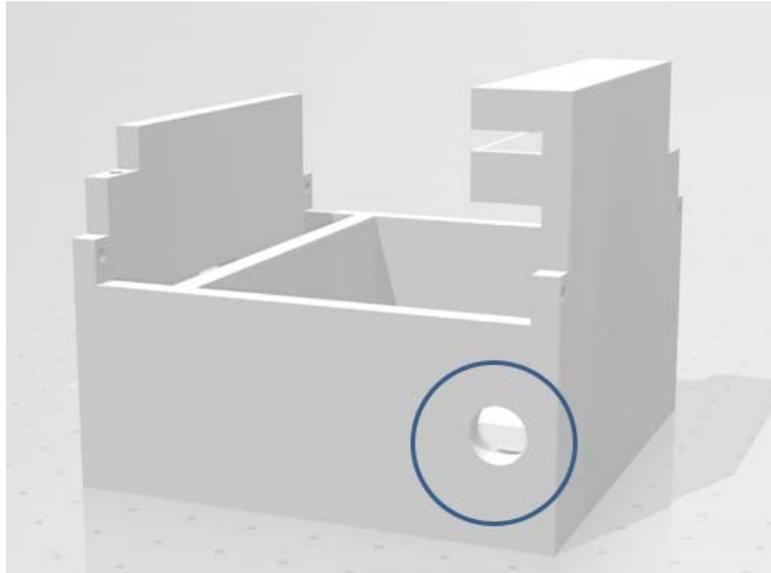


Ilustración 45. Perforación para desalojar el buffer.

Una vez comentado todas las decisiones tomadas en el diseño y las soluciones implementadas para poder conseguir un correcto funcionamiento se obtiene como resultado final la siguiente estructura.

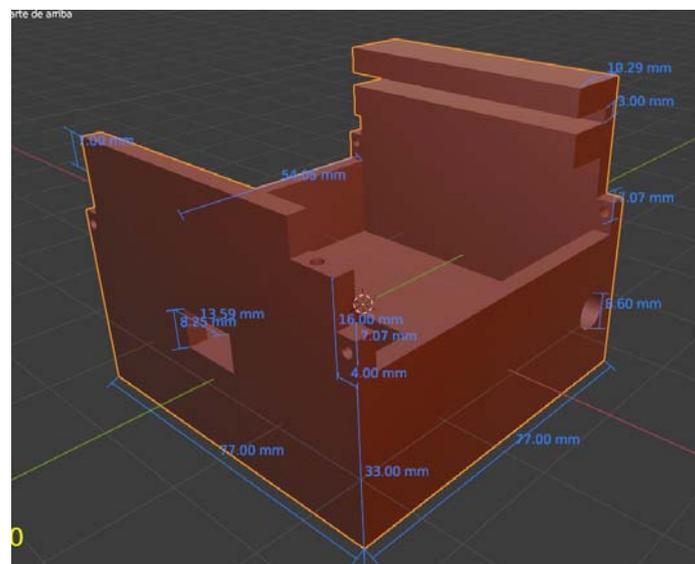


Ilustración 46. Estructura final del parte superior realizado en Blender.

4.3 Fabricación de la estructura

Una vez realizado el diseño en Blender de toda la estructura pasamos a la construcción de esta mediante una impresora 3D obteniendo los siguientes resultados.

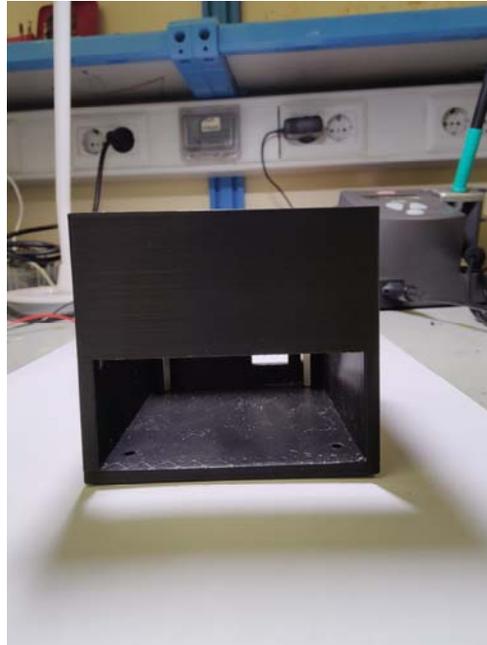


Ilustración 47. Base de la estructura.



Ilustración 48. Parte superior de la estructura.

Podemos observar en la ilustración 39 como se ha utilizado los conectores bananas machos como punto de sujeción entre la parte superior y la base de la estructura. Además, se ve de forma clara la implementación del interruptor para encender o apagar las placas leds una vez haya finalizado la electroforesis.

La siguiente ilustración muestra las piezas utilizadas para el mecanismo de variación de ángulo de las placas leds.

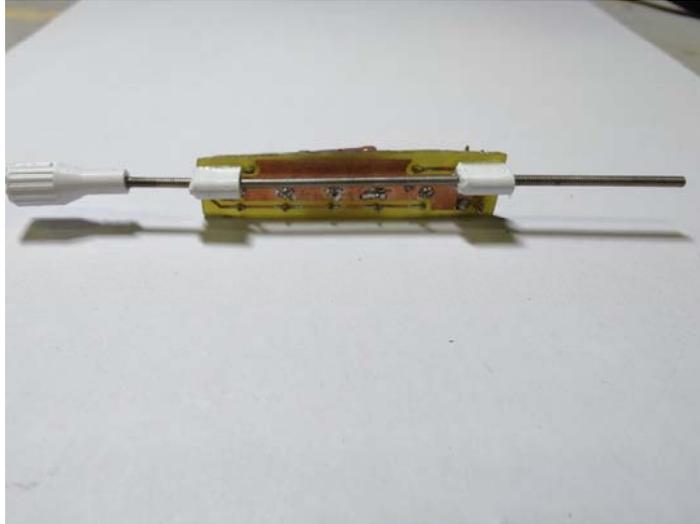


Ilustración 49. Mecanismo de las placas leds.

Una vez expuesto todas las partes de la estructura por separado el siguiente paso es la unión de todas para formar un único dispositivo. A continuación, se muestra el resultado final.



Ilustración 50. Estructura completa.

5 RESULTADO EXPERIMENTALES

En este apartado se expondrá todos los resultados experimentales obtenido a lo largo del proyecto desde la fuente de alimentación con su variación de tensión hasta las placas leds. En ella incluiremos las diferentes modificaciones que han ido realizando conforme se ha comprobado el funcionamiento de los circuitos electrónicos.

5.1 Modificaciones realizadas

La base de este proyecto y uno de los objetivos principales es poder obtener una tensión a la salida lo suficiente para poder realizar la electroforesis y que además se pueda regular con el objetivo de poder obtener los resultados independientemente de las diferentes condiciones que se nos pueda presentar en el proceso.

Es por ello por lo que comenzamos a realizar comprobaciones experimentales con la fuente de alimentación diseñada. Cabe destacar que no se pudo realizar simulaciones previas debido a la falta del modelo del controlador MAX1771 y la falta de controladores similares cuyos modelos estuvieran accesible para la simulación.

Una vez diseñado y fabricado la placa de la fuente de alimentación se realizaron diferentes comprobaciones obteniendo unos resultados para nada esperados. Se alcanzaron tensiones demasiado elevadas, el potenciómetro regulaba la tensión de salida en un rango muy reducido y con una sensibilidad excesiva y para nada funcional. Es por ello por lo que comenzamos a medir las diferentes señales del controlador con el objetivo de encontrar alguna explicación al comportamiento que se obtenía.

Se comenzó observando la señal EXT del controlador, esta señal es un pulso rectangular que varia su frecuencia conforme variamos el potenciómetro obteniendo a su vez una variación en la tensión de salida. Para este proyecto se ha utilizado la modulación de frecuencia por pulso (PFM) comentado en apartados anteriores. En las primeras pruebas obtuvimos un pulso rectangular cuya frecuencia variaba, pero existía un periodo determinado donde no había pulso y esto provocaba que la variación de tensión a la salida fuera demasiado brusca. A continuación, se muestra la señal EXT cuyo comportamiento no es el adecuado.

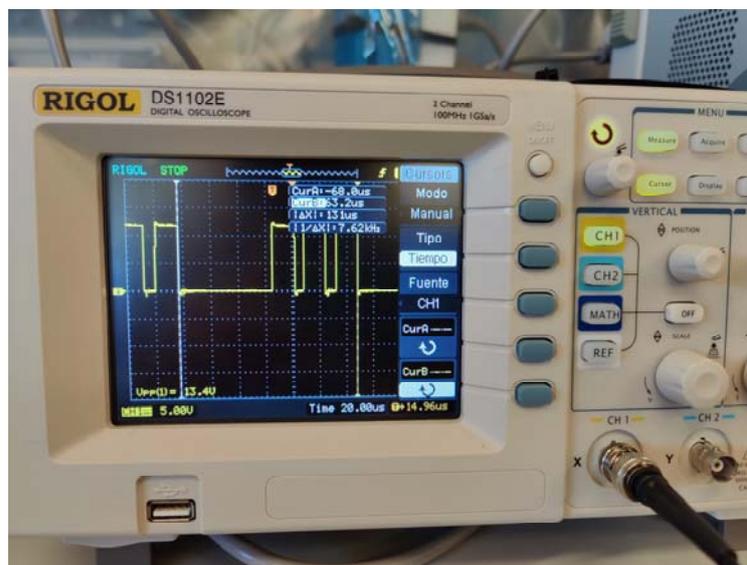


Ilustración 51. Señal EXT del MAX1771.

Una vez comprobada la señal EXT y encontrar dicha anomalía, se pasó a observar la señal FB. Está es una señal de retroalimentación que llega al convertidor desde el divisor resistivo y que le afecta la variación del potenciómetro; esta señal se utiliza para obtener una salida ajustable y sobretodo estable. Según el datasheet del MAX1771[13] la señal FB debe tener un valor promedio de 1.5V por lo que se decidió comprobar dicha señal obteniendo el resultado siguiente.

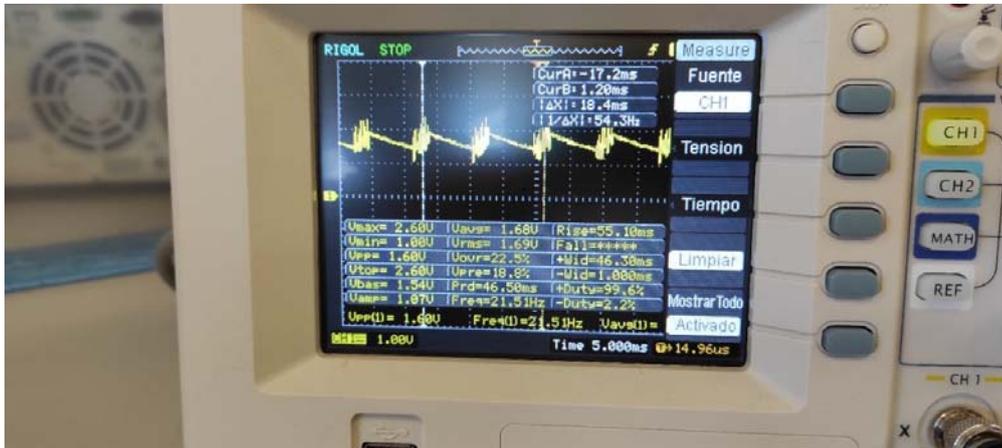


Ilustración 52. Señal FB sin filtrar.

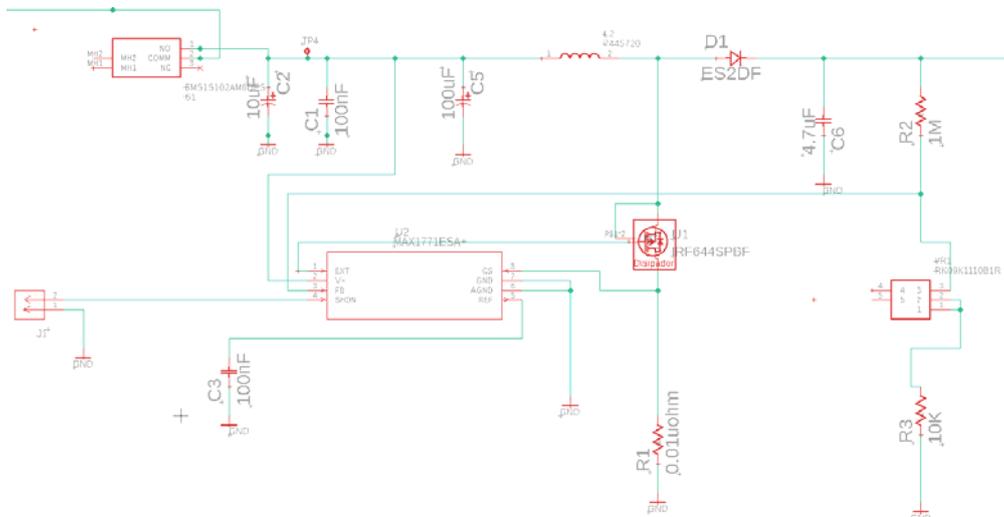


Ilustración 53. Esquemático con la señal FB sin filtrado.

Como se puede observar en la ilustración 43 se obtuvo una señal cuyo valor medio es de 1.68V, valor próximo a los 1.5V expuestos en el datasheet. Sin embargo, la presencia de ruido es bastante clara y esto afecta directamente al ajuste de la señal de salida de la fuente de alimentación ya que el controlador recibe una señal de retroalimentación en mal estado. Analizando el circuito se llegó a la conclusión de que la señal FB procedente del divisor resistivo era necesario aplicar un filtrado para obtener una señal con mayor calidad. Para el filtrado se ha utilizado un condensador de 10nF colocado entre el divisor resistivo y la entrada de FB del controlador como se podrá observar en la siguiente ilustración dando como resultado una señal de FB con un nivel de ruido mucho menor.

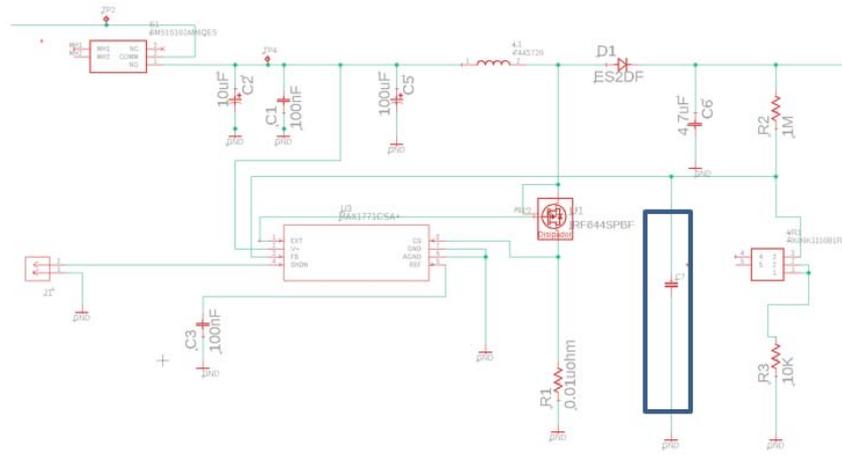


Ilustración 54. Esquemático con la señal FB filtrada.

Una vez introducido el condensador para filtrar la señal se obtuvo un FB con mucho menos ruido y rizado, obteniendo como resultado una regulación a la salida mucho más estable y con un rango mucho mayor que el que se consiguió en un inicio. Además, esto provocó que el tren de pulso de la señal EXT fuera continua y no existiera periodos vacíos de pulsos.

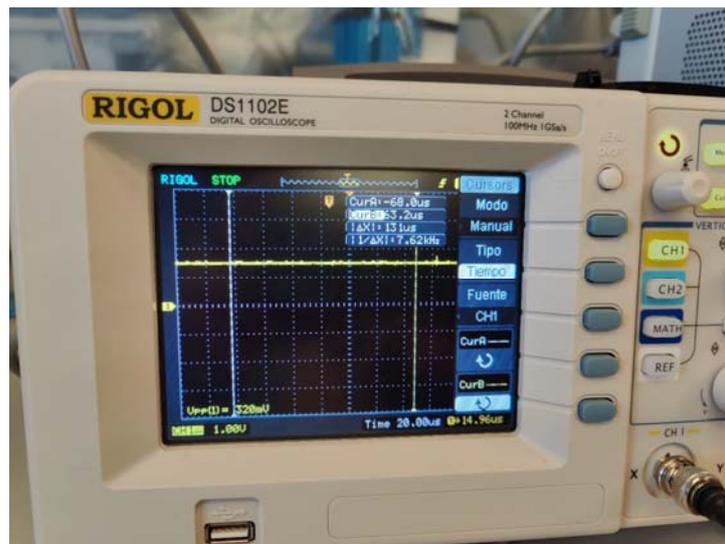


Ilustración 55. Señal FB con filtrado.

Realizado la modificación del condensador para la señal FB obtuvimos finalmente un rango de salida ajustable entre 30V a 95,5V aplicable a una carga compuesta por el buffer junto con la agrosa y las muestras de ADN. Este rango de tensión es suficiente para realizar la electroforesis con éxito.

Para el apartado de la transiluminación compuesto por las placas leds y el filtro no se tuvo que realizar ninguna modificación debido a su sencillez.

Una vez comprobado el correcto funcionamiento de todos los circuitos electrónicos diseñados y fabricados, el siguiente paso fue el montaje de estos mismos con la estructura diseñada en blender y realizado en la impresora 3D.

5.2 Resultados experimentales de realización de la electroforesis y detección

En este apartado vamos a tratar todo lo relacionado con los resultados experimentales que hemos obtenido de nuestro proyecto.

Como se ha comentado en anteriores apartados nuestro proyecto se ha basado en dos grandes bloques. Por un lado, la fuente de alimentación cuyo objetivo es transformar los 12V de continua proveniente del adaptador de corriente a un rango de tensión variable para realizar la electroforesis. Para este proyecto se ha conseguido obtener un rango variable de 30-95V de forma estable. En la siguiente ilustración podemos observar como se produce un desplazamiento en las bandas donde se encuentra las muestras.

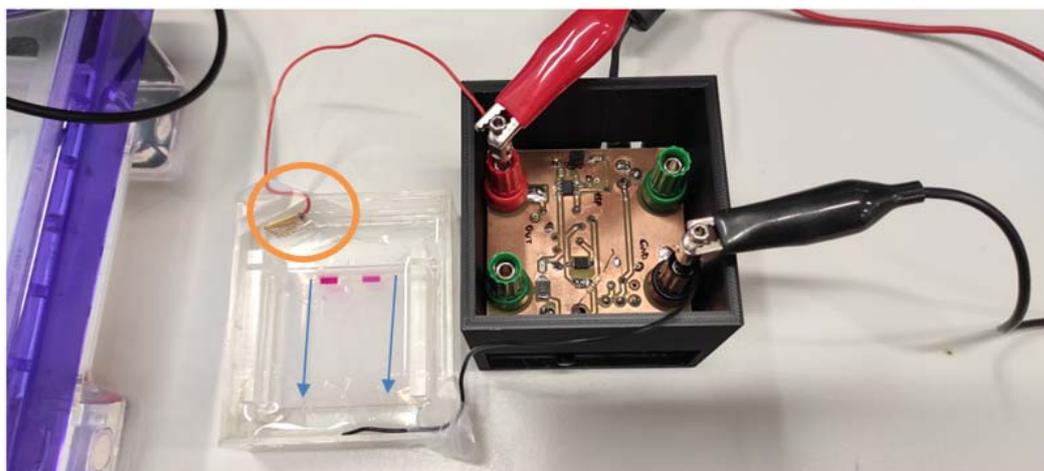


Ilustración 56. Prueba experimental de la fuente de alimentación.

En la ilustración 56 podemos observar la realización de una prueba donde la fuente de alimentación (caja negra) no está integrada con el cubilete de agarosa que contiene las muestras a analizar. En ella podemos observar como desde la fuente de alimentación sale dos cables conectados a unos electrodos, el cable rojo representa la tensión que se le aplica al cubilete mientras que el cable negro representa la tierra. Con esto conseguimos un diferencial de potencial que da lugar a la electroforesis y que produce la migración de las muestras, esto se puede ver reflejado en las burbujas que aparece en el electrodo de alimentación (señalado con la circunferencia naranja).

El segundo bloque es el proceso de transiluminación que consta de las placas leds con su mecanismo de giro y el soporte de metacrilato para poder ver los resultados. La mayor problemática que nos surgió a la hora de realizar el bloque fue implementar un mecanismo de encendido y apagado de las placas leds ya que solo se activa una vez haya finalizado la electroforesis. Para ello se implemento un interruptor en la estructura como se ha podido observar en el apartado 4.

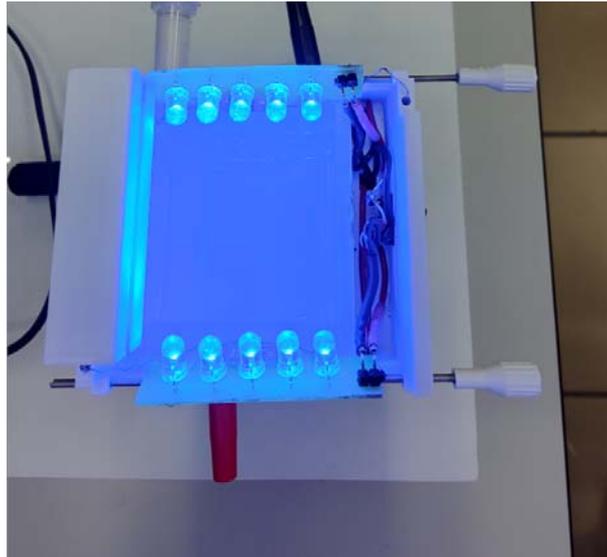


Ilustración 57. Prueba placa leds con el mecanismo de giro.

Una vez probado todos los bloques por separado y comprobado su correcto comportamiento pasamos a comprobar el funcionamiento del sistema en su conjunto. Obteniendo los siguientes resultados.

En primer lugar, se comprobó que una vez unido todo el sistema la fuente de alimentación funcionará de forma correcta provocando un desplazamiento de las muestras de ADN colocadas en el gel de agarosa durante la electroforesis.

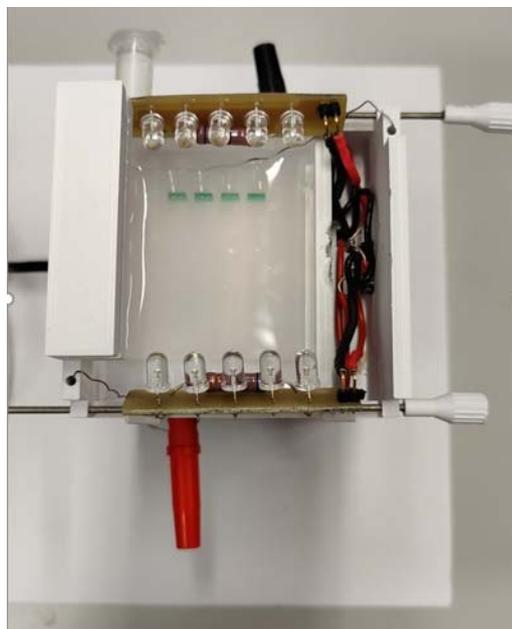


Ilustración 58. Prueba de la fuente de alimentación una vez unido todo el sistema.

Como podemos observar en la ilustración 58 la fuente de alimentación realiza correctamente su funcionamiento ya que se puede comprobar un desplazamiento de las muestras, que es un indicativo de que se está llevando a cabo correctamente proceso de la electroforesis.

A continuación, se muestra la activación del proceso de transiluminación y los resultados obtenidos tras realizar la electroforesis.



Ilustración 59. Estructura completa con encendido de leds para observar resultados.

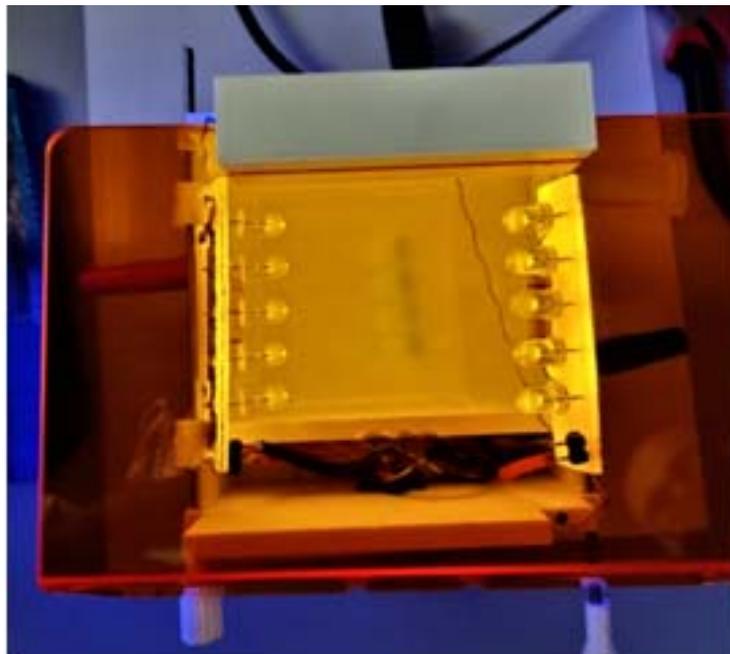


Ilustración 60. Resultado final de la electroforesis.

Concluimos este apartado cumpliendo el objetivo de nuestro proyecto el cual era el diseño y la fabricación de un dispositivo compacto capaz de realizar la electroforesis y poder ver los resultados de una amplificación de ADN mediante PCR. En la ilustración 49 se puede observar el resultado final de un proceso de electroforesis que se realizó en el laboratorio de microsistemas en la escuela técnica superior de ingeniería obteniendo un resultado bastante aceptable donde es visible como las muestras introducidas en el gel de agarosa han ido desplazándose.

6 CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

EL principal objetivo de desarrollo de este proyecto era el diseño, fabricación y testado de un sistema electrónico capaz de realizar la detección de PCR. Este sistema incluye varios procesos para llevar a cabo la detección. Siguiendo la línea que se tenía planteado se ha realizado el diseño y la fabricación de todos los circuitos electrónicos que componen el sistema final, así como la comprobación de su funcionamiento. Cumpliendo así todos los objetivos que se planteaban para el proyecto:

- **Diseño simple.** Uno de los objetivos principales de nuestro proyecto ha sido el diseño de circuitos simples y lo más optimizados posible.
- **Diseño compacto.** Uno de los objetivos del proyecto es agrupar en un solo dispositivo todo lo referente al proceso de la detección de PCR por lo que se optó por realizar un diseño compacto. El hecho de poder implementar la fuente de alimentación regulable y el proceso de transiluminación en una sola estructura nos dió como resultado un dispositivo final compacto. Para poder obtener este diseño compacto se tuvo que diseñar un sistema para controlar el encendido de los dos circuitos electrónicos que componen el dispositivo, por un lado se añadió un interruptor a la fuente de alimentación al igual que a la subestructura superior para poder iniciar el proceso de transiluminación.
- **Diseño modular.** Con el objetivo de poder tener un dispositivo de fácil acceso para los diferentes procesos en caso de fallo, se decidió realizar un diseño modular dividiendo en dos grandes bloques el dispositivo y el cual se unía por conectores bananas, que se utilizaban como soporte. Este mecanismo de unión entre las dos subestructuras nos permite desacoplar el dispositivo y tener fácil acceso tanto a la fuente de alimentación como a las placas leds.
- **Fabricación sencilla.** Para la fabricación se han utilizado materiales de bajo coste y de fácil adquisición. Como el dispositivo se ha realizado por completo en las instalaciones de los laboratorios de microsistemas se ha intentado realizar los diseños lo mas simple posible para facilitar la fabricación. Además el proceso fabricación que se ha utilizado ha sido la litografía, un proceso estándar y sencillo de llevar a cabo.
- **Dispositivo portátil.** Otros de los objetivos de nuestro proyecto era la construcción de un dispositivo que fuera fácil de transportar y de montar en unos minutos. Esto se ha conseguido gracias a la estructura del dispositivo y el sistema de conexión que se ha diseñado para integrar todos los procesos.

Desde un punto de vista más personal, el hecho de realizar este proyecto me ha supuesto comprobar todos mis conocimientos de electrónica adquirido durante el grado además de ampliarlos. También he podido obtener una perspectiva más amplia de lo que supone la electrónica en su conjunto ya que el proyecto ha abarcado desde el diseño hasta la propia fabricación del sistema completo.

Durante la realización del proyecto he podido comprobar las aplicaciones que tiene la electrónica en el ámbito de la salud y su importancia en ella. Además, he obtenido una visión global de lo que consiste realizar proyecto desde ceroy la importancia que tiene la comprobación del funcionamiento de cada componente que forma el sistema para luego su correcta implementación.

6.1 Trabajos futuros

Con respecto a futuras ampliaciones destinadas a mejorar el proyecto y a optimizar su funcionamiento se podría realizar las siguientes mejoras:

➤ **Mejoras en el diseño:**

Aunque se ha realizado de forma correcta, la parte superior se ha reducido tanto que el acceso del cubilete que contiene la agarosa con las muestras es complicado. Aunque el sistema de conexionado del interruptor hacia las placas leds está totalmente aislado del buffer para evitar cortocircuitos presenta una resistencia que dificulta el mecanismo de giro de las placas leds y por tanto la visión de los resultados.

➤ **Incorporar interfaz gráfica:**

Una buena propuesta de mejora sería integrar una pantalla con un panel de control donde seleccionando una serie de parámetros pudiéramos adaptar el proceso de la electroforesis y que fuera capaz de detectar cuando están listos los resultados con el objetivo de activar de forma automática el proceso de transiluminación.

➤ **Añadir cámara fotográfica:**

Sería interesante que una vez finalizado el proceso de la electroforesis y aplicando la transiluminación el dispositivo incluyera una cámara fotográfica para capturar los resultados finales y así facilitar su posterior análisis.

➤ **Añadir un sistema de fabricación de la agarosa:**

Como se ha expuesto en el artículo científico que hemos recogido en el apartado 2 sería bastante novedoso y funcional añadir un sistema capaz de generar la agarosa en el mismo dispositivo y con ello se simplificaría mucho más el proceso de electroforesis y la detección de los resultados.

REFERENCIAS

- [1] A. S. R. & J. A. B. Adirana Salazra ontes, *Fundamentos y Aplicaciones en las ciencias de la salud*, vol. 53, no. 9. 2019.
- [2] European Commission, “Análisis de la Presencia de Organismos Genéticamente Modificados en Muestras de Alimentos,” 2009, p. 18, 2009, [Online]. Available: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual ES/Sesi?n4.pdf>.
- [3] “Electroforesis en gel (artículo) | Khan Academy.” <https://es.khanacademy.org/science/ap-biology/gene-expression-and-regulation/biotechnology/a/gel-electrophoresis> (accessed Sep. 05, 2021).
- [4] “E-Gel™ Power Snap Electrophoresis Device.” <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/G8100#/G8100> (accessed Sep. 05, 2021).
- [5] “Sistema de electroforesis myGel InstaView.” <https://www.nextdayscience.com/mygel-instaview-electrophoresis-system.htm> (accessed Sep. 06, 2021).
- [6] “Sistema de electroforesis Enduro E0160-230V-UK Gel XL con enchufe UK 230V de Cole-Parmer.” <https://www.coleparmer.com/i/enduro-e0160-230v-uk-gel-xl-electrophoresis-system-with-uk-plug-230v/1731413> (accessed Sep. 06, 2021).
- [7] “Horizontal Electrophoresis System 4849.1 ROTIPHORESE ® PROfessional runVIEW System 4850.1 ROTIPHORESE ® PROfessional runVIEW Base for electrophoresis unit ROTIPHORESE ® PROfessional III (2850) 9958.1 ROTIPHORESE ® PROfessional runVIEW Base MINI 1 for elec.”
- [8] “multiSUB MINI ONE, All in One Horizontal Electrophoresis System | Cleaver Scientific.” <https://www.cleaverscientific.com/electrophoresis-products/multisub-mini-one/> (accessed Sep. 06, 2021).
- [9] Urbano-Gómez JD, Perdigones F, Quero JM. Semi-Automatic Lab-on-PCB System for Agarose Gel Preparation and Electrophoresis for Biomedical Applications. *Micromachines*. 2021; 12(9):1071. <https://doi.org/10.3390/mi12091071>
- [10] Perdigones F. Lab-on-PCB and Flow Driving: A Critical Review. *Micromachines*. 2021; 12(2):175. <https://doi.org/10.3390/mi12020175>
- [11] IO Rodeo, “Gel Electrophoresis Power Supply,” 2015, [Online]. Available: <https://www.instructables.com/id/Gel-electrophoresis-power-supply/>.
- [12] “Guía de conceptos básicos de la fuente de alimentación conmutada | Maxim integrado.” <https://www.maximintegrated.com/en/design/technical-documents/app-notes/4/4087.html> (accessed Jun. 05, 2021).
- [13] T. Range, “Low I Q , Step-Up DC-DC Controllers Low I Q , Step-Up DC-DC Controllers,” pp. 1–20.
- [14] P. Pr, C. Impreso, P. C. Board, I. Uv, and A. Di, “Fabricación de PCB,” pp. 1–11.
- [15] Blender3d, “No Title.” <https://blender3d.es/> (accessed Aug. 26, 2021).