

Trabajo Fin de Grado

Ingeniería de Telecomunicación

Sistema electrónico para detección de enfermedades mediante LAMP basado en lab on chip.

Autor: Marta Muñoz Ruiz.

Tutor: Francisco Antonio Perdigones Sánchez.

Dpto. Teoría de Electrónica y Microsistemas
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla

Sevilla, 2023



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

Sistema electrónico para detección de enfermedades mediante LAMP basado en lab on chip.

Autor:

Marta Muñoz Ruiz

Tutor:

Francisco Antonio Perdigones Sánchez

Profesor titular

Dpto. Ingeniería Electrónica
Escuela Técnica Superior de Ingeniería
Universidad de Sevilla
Sevilla, 2023

Trabajo Fin de Grado: Sistema electrónico para detección de enfermedades mediante LAMP basado en lab on chip.

Autor: Marta Muñoz Ruiz

Tutor: Francisco Antonio 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, 2023

El Secretario del Tribunal

Agradecimientos

Finalmente, tras años de mucho esfuerzo, puedo concluir esta etapa tan dura y a la vez tan maravillosa de mi vida, la cual me ha permitido crecer tanto en lo personal como en lo profesional. Han sido años de duro esfuerzo, pero tras todo lo pasado, siento un inmenso placer y un enorme orgullo de haber alcanzado mi sueño, llegar a ser Ingeniera de Telecomunicaciones.

A Francisco, mi tutor. Gracias por creer en mí y en este proyecto, sin tu ayuda y motivación nada de esto hubiese sido posible. Agradezco la gran cantidad de horas invertidas en el laboratorio desarrollando el dispositivo, buscando solución a problemas que iban surgiendo, respondiendo a todas mis dudas y la alta implicación que has tenido a lo largo de estos meses en este proyecto, he aprendido y crecido mucho profesionalmente. Me llevo conmigo a un gran profesional y una excelente persona.

A mis padres, sin vuestro apoyo y dedicación nada de esto hubiese sido posible. Por creer siempre en mí, incluso en los peores momentos y darme ánimos cuando las fuerzas flaqueaban. Gracias mamá por ver siempre lo mejor en mí, por la confianza y las sonrisas que siempre me has dedicado. Das lo mejor de ti por mí y es algo, que me llena de amor y que no me alcanzará la vida para agradecerte. Gracias papá por todo el sacrificio que has realizado para hacerme llegar a donde estoy y por nunca perder la confianza en que lo iba a lograr. Para mí eres un ejemplo a seguir de lucha y sacrificio, gracias por enseñarme a perseguir mis sueños. Os quiero y me siento muy afortunada de ser vuestra hija, ojalá llegar a ser algún día una gran persona como lo sois vosotros.

A mi hermana, mi otra mitad, mi complementaria. Gracias por escucharme, apoyarme y ayudarme siempre. Eres el regalo más grande que mis padres me han dado, eres todo un orgullo para mí, espero poder seguir a tu lado siempre.

A las personas que empezaron este camino conmigo pero que ya no están, gracias por estar a mi lado incluso cuando no podéis ser vistas, aún sigo sintiendo vuestro amor. Siempre os llevaré conmigo.

A Manu, mi compañero de vida. Gracias por enseñarme lo que es el amor, a través de él me has ayudado a superar los peores momentos de este camino. Me siento muy afortunada de tenerte a mi lado, ojalá no me faltes nunca.

A mis amigas, Ana y Manoly. Ana, gracias por estar siempre junto a mí, por cuidarme y acompañarme a lo largo de todos estos años. Manoly, gracias por enseñarme que la amistad no entiende de fronteras, me hiciste sentir querida a pesar de la distancia. Gracias chicas por haber crecido juntas, espero que sigamos unidas muchos años más.

A Mercedes, mi gran descubrimiento en la carrera. Gracias por elegirme como tu amiga, te quiero como a una hermana. Por acompañarme en las largas horas de biblioteca, tutorías y proyectos, siempre creíste que lo lograríamos y mira qué lejos hemos llegado. Me siento muy orgullosa de la gran persona que eres, espero que no me faltes nunca.

Y por último, a todas las personas que de alguna forma me han acompañado en este camino. Profesores, compañeros, gracias por la ayuda y por haber aportado siempre cosas nuevas en mí, siempre llevaré conmigo un trocito de vosotros.

Marta Muñoz Ruiz

Sevilla, 2023

Tras la reciente pandemia provocada por el SARS-CoV-2, se ha extendido mundialmente la importancia de dispositivos portátiles y de uso sencillo, que proporcionen resultados fiables ante el análisis de enfermedades. Es precisamente esta la motivación del presente proyecto, el presentar un dispositivo capaz de realizar un análisis de los resultados de una prueba LAMP para el diagnóstico de enfermedades de un modo tan sencillo, que cualquier usuario sea capaz de realizar la prueba de una forma segura en cualquier parte del mundo.

Este proyecto abarca todo lo relacionado con la detección LAMP en dispositivos lab on chip, desde conceptos tan fundamentales como en que consiste la propia LAMP hasta el método de control de la misma y análisis de sus resultados desprendidos. Para finalizar, se mostrará el diseño y fabricación de un dispositivo denominado "reader", el cual es capaz tanto de realizar el control del proceso LAMP como del análisis de resultados y su muestra al paciente, teniendo en todo momento en cuenta, que debe de ser un dispositivo sencillo, compacto y modular y que permita ser transportado de forma simple.

Abstract

After the recent pandemic caused by SARS-CoV-2, the importance of portable and easy-to-use devices that provide reliable results for the analysis of diseases has spread worldwide. This is precisely the motivation of the present project, to present a device capable of analysing the results of a LAMP test for the diagnosis of diseases in such a simple way that any user will be able to perform the test safely anywhere in the world.

This project covers everything related to LAMP detection in lab-on-chip devices, from fundamental concepts such as what the LAMP itself consists of to the method for controlling it and analysing the results obtained. Finally, the design and manufacture of a device called "reader" will be shown, which is capable of both controlling the LAMP process and analysing the results and their display to the patient, bearing in mind at all times that it must be a simple, compact and modular device that can be easily transported.

Agradecimientos	vivii
Resumen	ix
Abstract	x
Índice	xi
Índice de Tablas	xiii
Índice de Figuras	xiv
Índice de Anexos	xvi
1 Introducción	1
1.1. <i>Introducción</i>	1
1.2. <i>Lab on a chip</i>	2
1.2.1 <i>Elementos</i>	3
1.2.2 <i>Materiales de fabricación</i>	4
1.2.3 <i>Ventajas e inconvenientes</i>	8
1.2.4 <i>Aplicaciones</i>	9
1.3. <i>Readers asociados a los dispositivos lab on a chip</i>	10
1.4. <i>Métodos de diagnóstico por amplificación de ADN</i>	10
2 Objetivos	11
2.1. <i>Objetivo principal</i>	11
2.2. <i>Requisitos</i>	11
2.3. <i>Mejoras sobre el prototipo industrial existente</i>	12
2.3.1 <i>Prototipo industrial existente</i>	13
2.3.2 <i>Mejoras sobre el prototipo industrial existente</i>	14
3 Estado del arte	18
3.1. <i>Readers existentes para PCR, LAMP y RPA</i>	18
3.1.1 <i>Readers para PCR</i>	18
3.1.2 <i>Readers para LAMP</i>	20
3.1.2 <i>Readers para RPA</i>	21
3.2. <i>Otros readers existentes</i>	22
4 Esquema general del trabajo	26
4.1. <i>Bloque 1: Control de temperatura</i>	27
4.2. <i>Bloque 2: Sistema de detección por absorbancia</i>	27
4.3. <i>Bloque 3: Pantalla</i>	27
5 Bloque 1. Control de temperatura	29
5.1. <i>Circuito electrónico y actuador</i>	29
5.2. <i>Fabricación</i>	34
5.3. <i>Caracterización</i>	41
5.4. <i>Arduino</i>	42
6 Bloque 2. Sistema de detección por absorbancia	46
6.1. <i>Sistema de detección por absorbancia</i>	47

6.2. Circuito y montaje en placa de pruebas	51
6.3. Fabricación	56
6.4. Pruebas	60
7 Bloque 3. Pantalla	65
7.1. Pantalla	65
8 Dispositivo final y pruebas	69
8.1. Hoja de características - Limitaciones	74
8.2. Precios	76
Referencias	81
Anexos	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ventajas e inconvenientes de dispositivos LOC.	9
Tabla 2. Correspondencia entre los pines de la pantalla y los pines de Arduino.	66
Tabla 3. Tensiones de alimentación.	74
Tabla 4. Pines de Arduino.	74
Tabla 5. Temperatura del calentador.	74
Tabla 6. Corriente del calentador.	75
Tabla 7. Características del termistor NTC.	75
Tabla 8. Parámetros ajustables con potenciómetros.	75
Tabla 9. Pantalla SPI TFT de 1.8" 128x160 píxeles.	75
Tabla 10. Características diodo LED.	76
Tabla 11. Características del fotodiodo.	76
Tabla 12. Coste bloque control de temperatura.	77
Tabla 12. Coste bloque sistema de detección por absorbancia.	77
Tabla 13. Otros costes.	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Dispositivo Lab on chip. [1]	2
Figura 2. Elementos principales de un lab on chip. [2]	3
Figura 3. LOC fabricado con materiales inorgánicos. [3]	5
Figura 4. Prototipo industrial existente actualmente.	13
Figura 5. Situación inicial	15
Figura 6. Situación final	15
Figura 7. Instrumento controlador de cartucho. [4]	19
Figura 8. Instrumento controlador de PCR digital. [5]	20
Figura 9. Instrumento RT-LAMP-on-a-chip. [6]	21
Figura 10. Instrumento para la detección altamente sensible del virus del síndrome de las manchas blancas. [7]	22
Figura 11. Estructura del analizador de PH en sudor. [8]	24
Figura 12. Esquema general del trabajo.	26
Figura 13. Esquema electrónico del bloque control de temperatura.	30
Figura 14: Ubicación del sensor NTC.	31
Figura 15: Vista inferior del calentador.	32
Figura 16. Vista superior del calentador.	32
Figura 17. Esquema electrónico del bloque control de temperatura.	34
Figura 18. Diseño de placa para la obtención de máscara de fabricación.	35
Figura 19. Máscara de back layer.	35
Figura 20. Líquido revelador y recipiente donde introducir la placa para el revelado.	36
Figura 21. Placa tras pasar por el líquido revelador.	36
Figura 22. Recipiente mezclador con agua, agua fuerte y agua oxigenada.	37
Figura 23. Placa tras pasar por el líquido atacante.	38
Figura 24. Placa tras eliminar bordes sobrantes con guillotina.	38
Figura 25. Comparación de máscara con placa fabricada.	39
Figura 26. Placa con orificios realizados para inserción de componentes.	39
Figura 27. Recipiente con acetona y placa tras ser frotada con acetona.	40
Figura 28. Vista superior de la placa fabricada para el bloque de control de temperatura.	40
Figura 29. Vista inferior de la placa fabricada para el bloque de control de temperatura.	41
Figura 30. Extremo del termopar sobre orificio de medida del calentador y del dispositivo LOC.	42
Figura 31. Pantalla del termopar para mostrar medidas realizadas.	42

Figura 32. Arduino UNO.	43
Figura 33. Esquemático del diodo LED y fotodiodo enfrentados.	47
Figura 34. Esquema del diseño del bloque de control de temperatura.	48
Figura 35. Esquema del bloque de control de temperatura para pruebas previas.	51
Figura 36. Primeros pasos del montaje. Diodo LED, fotodiodo, amplificador y alimentación.	52
Figura 37. Montaje final en placa de pruebas. Todos los elementos conectados.	52
Figura 38. Amplificador seguidor a la salida del fotodiodo	53
Figura 39. Rama de compensación con amplificador seguidor de tensión.	54
Figura 40. Amplificador restador.	55
Figura 41. Esquema del bloque de control de temperatura para fabricación.	56
Figura 42. Diseño de placa para la obtención de máscara de fabricación.	57
Figura 43. Front layer.	57
Figura 44. Back layer.	57
Figura 45. Vista superior del resultado de la fabricación de la placa del bloque sistema de detección por absorbancia.	59
Figura 46. Vista inferior del resultado de la fabricación de la placa del bloque sistema de detección por absorbancia.	59
Figura 47. Montaje LED, fotodiodo, LOC y calentador con sensor NTC.	60
Figura 48. Montaje del bloque de detección por absorbancia para la realización de las pruebas de comprobación.	61
Figura 49. Salida por pantalla del bloque de detección por absorbancia en el caso detección de color rojo.	62
Figura 50. Salida por pantalla del bloque de detección por absorbancia en el caso detección de color amarillo.	62
Figura 51. Pantalla parte superior.	65
Figura 52. Pantalla parte inferior.	65
Figura 53. Pantalla conectada a Arduino con mensaje de resultado de detección "POSITIVO".	67
Figura 54. Pantalla conectada a Arduino con mensaje de resultado de detección "NEGATIVO".	67
Figura 55. Montaje total del circuito.	70
Figura 56. Interconexión de todos los bloques del dispositivo final.	70
Figura 57. Prueba de control de temperatura.	71
Figura 58. Introducción de lámina amarilla de prueba.	72
Figura 59. Pantalla en caso detección de color amarillo.	72
Figura 60. Introducción de lámina roja de prueba.	72
Figura 61. Pantalla en caso detección de color rojo.	72

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Código Arduino

82

1 INTRODUCCIÓN

El presente documento con título “Sistema electrónico para detección de enfermedades mediante LAMP basado en lab on chip” 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 Ingeniera de las Tecnologías de Telecomunicación.

Dicho trabajo de fin de Grado se ha llevado a cabo en el Departamento de Ingeniería Electrónica, tutelado por el profesor D. Francisco Antonio Perdigonés Sánchez.

A lo largo del desarrollo del trabajo, nos hemos ido centrando en el proceso de detección del resultado del método LAMP (amplificación isotérmica de ácidos nucleicos), la cual es muy similar al método PCR (reacción en cadena de polimerasa), que ha contado con gran protagonismo en nuestra sociedad a lo largo de los últimos años debido a la gran pandemia que recientemente ha afrontado el mundo. Investigaremos cómo es posible integrar todos los componentes necesarios para realizar una LAMP para la detección de enfermedades, en un solo dispositivo reutilizable y que cuente con el menor tamaño posible.

En definitiva, el objeto de este trabajo consiste en encontrar una solución más rápida, cómoda y práctica, para la realización de pruebas LAMP a pacientes mediante un dispositivo compacto, que permita realizar la prueba en cualquier lugar, de forma rápida, sencilla y segura.

1.1 Introducción

El desarrollo de este trabajo se encuentra dentro del grupo de investigación (Grupo de Dispositivos y Sistemas Electrónicos) TIC:267 perteneciente al Departamento de Ingeniería Electrónica y trata varias líneas de investigación como:

- Diseño de Dispositivos y Sistemas Electrónicos para su Aplicación en Telemedicina.
- Microsistemas Sensoriales, Microfluídicos, Rf-MEMS y Microópticos.

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 del método LAMP sobre dispositivos lab on chip.

Como introducción para este proyecto, es importante destacar las numerosas aplicaciones con las que cuenta el método de LAMP, las cuales pueden ir desde la arqueología, la medicina forense, hasta la medicina clínica, quizá siendo ésta última, la más escuchada en los últimos tiempos. Para este trabajo, se va a emplear el método LAMP con fines médicos clínicos, pero no se persigue centrar la atención en el proceso de realización del LAMP, sino en el momento de la detección de los resultados desprendidos del mismo.

Tras los acontecimientos sucedidos a lo largo de estos últimos años, debidos a la reciente pandemia provocada por el SARS-CoV-2, un alto porcentaje de la sociedad ha escuchado, de un modo u otro, el término PCR y todo lo que ello conlleva. Este proyecto presenta un método similar al método PCR, el método LAMP, un método novedoso que presenta los mismos beneficios que el PCR pero de realización más sencilla, ya que es llevada a cabo a temperatura constante. Este proyecto busca abarcar todo lo relacionado con la detección de los

resultados desprendidos del proceso LAMP, desde los conceptos más básicos, hasta el diseño y la fabricación de un dispositivo eficiente y compacto, donde se integren todos los procesos necesarios para la correcta realización de la detección.

1.2 Lab on a chip

Para poder tener una visión mucho más amplia del proyecto y facilitar así la comprensión del objeto final del mismo, a continuación, se pasa a definir detalladamente, uno de los conceptos más importantes y esenciales, el concepto de lab on chip. Fundamental debido a que precisamente, es la tecnología sobre la que se basa todo el proyecto.

Estos dispositivos actualmente son conocidos mediante algunos términos tales como laboratorio en un chip, lab on chip, lab on a chip o LOC (según sus siglas en inglés). Es importante su indicación ya que a lo largo de este documento se usarán dichos términos indistintamente.

Como su propio nombre indica, un lab on a chip no es más que un laboratorio en una superficie muy reducida, del orden de micras, pero que integra todos los componentes con los que un laboratorio convencional debe de contar, como pueden ser actuadores, canales, sensores, reactores...

Es una tecnología muy usada en estos días y que actualmente se encuentra en desarrollo en ámbitos como medicina, farmacia y química, debido principalmente a su gran eficiencia y reducido tamaño. Todo esto se debe además a que, en gran medida, permite realizar un mayor número de pruebas sobre un pequeño volumen de muestra de forma rápida y simple, evitando así la contaminación de la muestra, disminuyendo costes y tiempos de espera de resultados. Además, gracias a su reducido tamaño facilita su uso y transporte.

Su manufactura se basa fundamentalmente, en los principios de los microsistemas y está compuesto internamente por millones de micro dispositivos diseñados cuidadosamente para trabajar de forma conjunta y coordinada para lograr un determinado fin.

Su introducción en la sociedad tuvo lugar en la década de los noventa y posteriormente, se vio envuelto en un rápido crecimiento exponencial, en cuanto a su aceptación e implantación en diversos ámbitos sociales.

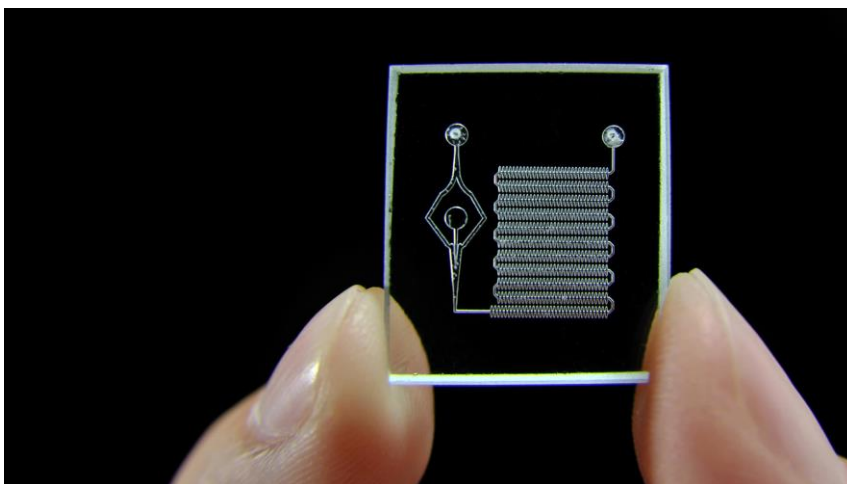


Figura 1. Dispositivo lab on chip. [1]

1.2.1 Elementos

La microfluídica ha estado íntimamente ligada a los lab on a chip desde sus inicios, debido a la alta compatibilidad y la buena simbiosis que existe entre ellos. Esta combinación, produce como resultado una tecnología innovadora, la cual permite recrear procesos bioquímicos que usualmente se realizan a gran escala, en una escala mucho más reducida, como puede ser en el orden de micras. Dando como resultado, procesos bioquímicos más eficientes en cuanto a aspectos como el volumen de fluidos empleados o tiempos de la realización de los procesos.

Para que todo esto sea posible, estos dispositivos se componen de una serie de regiones, en las cuales se realizan funciones bien marcadas y que se encuentran interrelacionadas entre sí mediante microcanales. Además de estos microcanales, es común encontrar elementos adicionales tales como microelectrónica, válvulas, bombas, electrodos... que complementan al dispositivo y le añaden una mayor funcionalidad. Además de las partes anteriormente mencionadas, existe una parte fundamental que complementa al dispositivo lab on chip, este elemento es denominado sistema de detección o "reader". Este elemento es el encargado de realizar tanto el control del dispositivo lab on chip como la lectura de los resultados que de éste se desprenden. Es precisamente este sistema de detección, el objetivo fundamental de este proyecto, buscando su presentación, diseño, fabricación y puesta en marcha.

Las diferentes regiones que conforman un dispositivo lab on a chip modular son las que se enumeran a continuación y se muestran gráficamente en la siguiente figura.

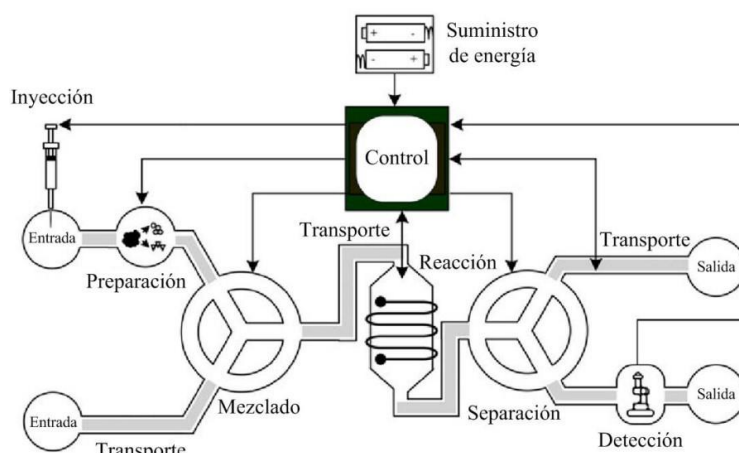


Figura 2. Elementos principales de un lab on chip. [2]

- **Entradas:** Se inyectan las entradas por separado. Por un lado, se inyecta el líquido biológico y por otro, el reactivo.
- **Preparación:** La muestra debe de ser sometida a una preparación para ser acondicionada antes de su unión con el líquido reactivo. Esta preparación se lleva a cabo mediante microactuadores.
- **Mezclado:** La muestra y el reactivo entran en contacto por primera vez en esta región. La liga de ambas sustancias se produce mediante difusión.

- Transporte: Las diferentes sustancias se transportan a lo largo del dispositivo mediante microcanales, cuyos diámetros dependerán tanto de la aplicación como de las sustancias en cuestión.
- Reacción: Región en la cual tiene lugar la reacción de la mezcla previamente realizada. Esta reacción se produce gracias a micro actuadores localizados a lo largo de esta zona y que facilitan esta tarea.
- Separación: La reacción cuenta con una parte útil y otra no útil para su posterior análisis. Es por eso, que es necesaria esta región, la cual es la encargada de la separación de ambas partes de la reacción.
- Detección: Mediante microsensores integrados, se realizan las mediciones de los parámetros de interés de la parte útil de la reacción.
- Salidas: La parte útil, la cual se ha medido, y la parte no útil, salen por diferentes salidas debido a su separación previa.
- Suministro de energía: No es más que la alimentación del sistema. Pueden aparecer como un conjunto de diferentes fuentes según la aplicación en cuestión. En cuanto a su ubicación, lo usual es no encontrarlas integradas en el lab on a chip.
- Control: Esta parte consiste en un microcontrolador, encargado del control de los diferentes elementos del lab-on-chip. No suele ir integrado dentro de éste y suele consumir la energía de la fuente. Es la inteligencia y la parte encargada del procesamiento de datos.

1.2.2 Materiales de fabricación

La elección del material a utilizar estará ligada a la aplicación, puesto que cada material ofrece diferentes características que serán más o menos propicias para la aplicación deseada. Por lo tanto, a la hora de la elección del tipo de material que se empleará en determinado dispositivo lab-on-chip, deberemos prestar especial atención, para así elegir, aquel que ofrezca las prestaciones idóneas para las necesidades del dispositivo que se desea fabricar.

Estos dispositivos pueden ser fabricados empleando diferentes materiales de fabricación, los cuales serán detallados en este apartado. Existen diversas opciones viables en cuanto a material se refiere, pero para su comprensión, pueden ser clasificados en cuatro grandes grupos: Materiales inorgánicos, poliméricos, papel e hidrogel.

1. Materiales Inorgánicos.

I. Silicio

El silicio es un material muy abundante en nuestro planeta y ha sido ampliamente usado en el campo de la microfluídica durante un largo periodo de tiempo. Esto es debido principalmente, a que es un material semiconductor con un alto grado de conductividad térmica, con una gran facilidad para la deposición de metales y una alta resistencia frente a disolventes orgánicos.

En contraposición, señalaremos que es un material bastante costoso debido a la gran dureza con la que cuenta y también debido a la cadena de extracción y procesado de este material. Todo esto unido a su alto grado de opacidad, ha dado lugar a que su uso haya ido en disminución en los últimos años.

II. Vidrio

La tendencia tras el Silicio ha sido el uso de vidrio como material de fabricación, debido a que también cuenta con un alto grado de conductividad térmica, compatibilidad con muestras biológicas y no posee permeabilidad gaseosa, entre otras.

Sin embargo, también poseen un alto coste de fabricación, factor que se busca reducir, este alto coste es debido a que son necesarias condiciones muy específicas para su manipulación. Es por ello por lo que se buscan otros materiales alternativos menos costosos para la fabricación de estos dispositivos.

III. Cerámica

Es una alternativa más viable frente al Silicio o el vidrio, debido a que es más económica y requiere de un menor tiempo de desarrollo. Posee un método de fabricación que difiere de los materiales previamente mencionados, conocido como tecnología de cerámicas de sinterización a baja temperatura (LTCC), el cual se basa en la fabricación de dispositivos mediante capas cocidas a baja temperatura. Esta técnica favorece a que la cerámica sea un material con baja absorción no específica.

Por otro lado, este material posee algunas limitaciones como puede ser su opacidad, la cual limita el uso del material para algunas aplicaciones como puede ser la detección óptica.

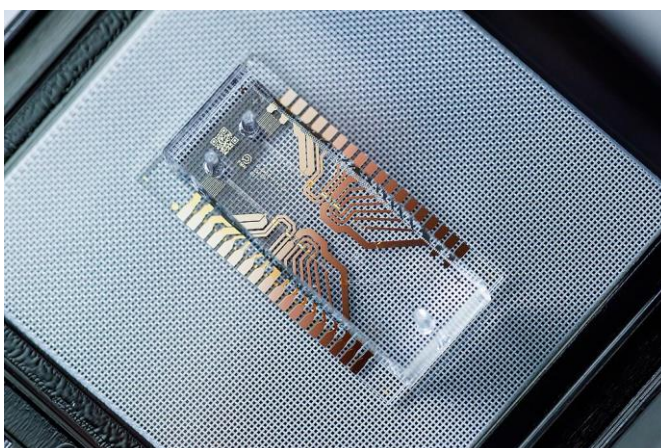


Figura 3. LOC fabricado con materiales inorgánicos. [3]

2. Materiales Poliméricos.

Usualmente, los polímeros son materiales ampliamente conocidos por ser buenos aislantes. Por lo que no es común encontrar polímeros en aplicaciones que impliquen conducción eléctrica, pero sí que ocurre en una minoría de polímeros los cuales sí son materiales conductores. Son precisamente esta minoría, los que nos interesan.

Este material es actualmente uno de los más populares y utilizados para la fabricación de los dispositivos lab on a chip y esto es debido a las grandes ventajas que ofrece. Ventajas tales como el bajo coste que presenta, el fácil acceso a dicho material y a la excelente reacción que presenta al aumentar la temperatura. Esta relación con la temperatura, es una de las características más importantes de este material y hace posible su clasificación en tres tipos de polímeros que se detallan a continuación, siendo los elastómeros y termoplásticos los más utilizados para aplicaciones microfluídicas.

I. Polímeros elastómeros

Es un polímero elástico. Esto es debido a la ausencia de elementos metálicos en su composición. Esta propiedad les permite deformarse para luego volver a su forma original. Cuentan además con otras propiedades que lo convierten en una de las clases de polímeros más utilizados, propiedades tales como: amplia versatilidad; bajo tiempo de producción, debido a su fácil proceso de mezcla, moldeado y curado; gran durabilidad, lo cual los convierte en idóneos para ambientes hostiles; bajo coste de producción y alto grado de compatibilidad con una gran variedad de fluidos, entre otras.

El elastómero más común en el campo de la microelectrónica es el Polidimetilsiloxano. Debido a la importancia con la que cuenta, se procede indagar un poco más en sus propiedades:

- Polidimetilsiloxano (PDMS)

Es el polímero más utilizado en la fabricación de dispositivos microfluídicos. Pertenecen al grupo de las siliconas y es el polímero transparente más empleado en el ámbito de la microfluídica, debido a propiedades tales como: bajo coste; fácil utilización; alta compatibilidad con detecciones ópticas, gracias a su falta de opacidad y la posibilidad que ofrece de la realización de estructuras complejas de forma relativamente sencilla, lo que lo convierte en uno de los mejores candidatos para llevar a cabo prototipados.

El PDMS además, se caracteriza por ser un material resistente tanto a la oxidación cuando es expuesto a altas temperaturas, como a cuando es expuesto a diferentes tipos de entornos químicos y biológicos.

Este material cuenta con una alta permeabilidad frente a gases y con una fácil adhesión a otros materiales, como podrían ser otros elementos fabricados con PDMS o con vidrio. Además, es un excelente dieléctrico y cuenta con una gran flexibilidad.

En cuanto a sus aplicaciones, es altamente empleado en aplicaciones médicas, debido a su alta resistencia a la corrosión de sangre, su biocompatibilidad y su baja biodegradación, entre otras.

Es por todas estas características anteriormente enumeradas, que es usual encontrar este material en dispositivos médicos (además de en las aplicaciones de prototipado anteriormente mencionadas), tales como: como bombas de sangre, catéteres o reconstrucciones maxilofaciales.

La principal desventaja que cabe destacar de este material, consiste en la gran susceptibilidad con la que cuenta ante desgaste.

II. Polímeros termoestables

La principal diferencia entre los polímeros termoestables y los termoplásticos, que posteriormente veremos, consiste en que los termoplásticos se pueden moldear cuantas veces se quiera con tan solo elevar la temperatura, mientras los termoestables lo hacen solo una sola vez al carecer de la propiedad de elasticidad con la que cuentan los termoplásticos. Si se intentan calentar para volver a moldearlos, se queman.

Entre las características de este material destaca la insolubilidad, la incapacidad de fundición, la elevada resistencia térmica y química con la que cuenta, el no ablandamiento al calentarse ante un alto incremento de la temperatura y el endurecimiento durante su formación.

III. Polímeros termoplásticos

Es un polímero plástico. Lo cual quiere decir que, para moldearlo, se pasa a estado líquido elevando lo suficiente la temperatura y cuando adquiere la forma deseada, se pasa a devolverlo al estado sólido bajando de nuevo la temperatura. Todo esto indica, que gracias a esta característica, puede ser moldeado una infinidad de veces, lo cual es ventaja que este material ofrece.

El sencillo proceso de fabricación y moldeado con el que cuenta, lo convierte en un material idóneo para la fabricación de un alto volumen de piezas a un bajo coste. Es decir, ideal para la industrialización de un producto, pero no para su prototipado.

A continuación, se procederá a citar los tipos más destacables de polímeros termoplásticos:

- Poliestireno (PS)

Es un material duro y sólido y suele ser usado en productos que requieren de transparencia, como podrían ser equipos de laboratorio, envoltorios de alimentos o cultivos de células. Además, es biocompatible y puede ser tratado para convertir su superficie en hidrófoba (captación de agua con facilidad ya que son insolubles en ella) o hidrófila (disolución en agua).

El poliestireno es ampliamente utilizado debido, además de a su bajo coste, a su fácil modelado, gran disponibilidad y bajo tiempo de fabricación.

- Policarbonato (PC)

El policarbonato presenta excelentes cualidades de ligereza, resistencia, maleabilidad y transparencia, además de un excelente comportamiento térmico, lo cual provoca que presenten poca pérdida de calor y buen aislamiento.

Su alta temperatura de transición vítrea (de estado sólido a un estado viscoso), lo convierte en un material idóneo para ciertas aplicaciones de bioanálisis.

- Polimetilmetacrilato (PMMA)

Este material acrílico destaca respecto a los anteriores materiales plásticos transparentes, por su alta resistencia a la intemperie. Es el plástico que cuenta con mayor transparencia, mayor resistencia al rallado y dureza. Siendo su dureza de mayor grado que la del vidrio.

Es un excelente aislante térmico y cuenta con una gran ligereza frente a otros materiales como puede ser el vidrio, siendo su peso aproximadamente la mitad de éste.

Es un material ampliamente usado en sistemas microfluídicos principalmente en los de tipo desechables debido a que es de bajo coste, alta compatibilidad con la electroforesis y por todas las cualidades anteriormente mencionadas. Además, es fácilmente adaptable y modificable.

- Diacrilato de polietilenglicol (PEGDA)

Consiste en una sustancia en estado líquido, que posee una temperatura ambiente de polimerización en torno a 12° - 17°, por lo que es necesario preservarlo refrigerado. Todo esto indica que es una sustancia que no requiere demasiada energía para su modelado, ni demasiado tiempo de desarrollo.

El PEGDA comparte propiedades comunes con el PDMS, como puede ser la estabilidad frente al agua o la claridad óptica, aunque difieren en otros aspectos, como un menor grado de absorción y de permeabilidad de moléculas hidrofóbicas.

Esta sustancia es comúnmente utilizada en la ingeniería de tejidos debido a que presenta algunas características tales como biocompatibilidad, buenas propiedades mecánicas, buena resistencia a la absorción de proteínas, entre otras.

- Compuestos perfluorados (PFA, PFPE, PFEP)

Son compuestos de Flúor y Carbono, utilizados ampliamente en el sector industrial debido a su gran persistencia. Además, presentan una gran estabilidad y resistencia química. Aunque la tendencia es a la disminución de su uso debido a que son bastante tóxicos para el organismo.

Cuentan con algunas características que lo han llevado a ser un material tan extendido mundialmente, como son la alta estabilidad química y térmica con la que cuentan, las excelentes propiedades lubricantes, la alta resistencia ante disolventes orgánicos, la alta densidad que presentan, la resistencia a la radiación y el alto grado de transparencia.

- Poliuretano (PU)

Es una resina sintética obtenida mediante condensación de poliésteres. Son considerados los polímeros con mayor gama de aplicaciones debido a sus características y versatilidad. Por ello, son empleados en aplicaciones de materiales biomédicos debido a que son biodegradables y no tóxicos. Además, entre sus propiedades destacan la alta resistencia ante impactos, alta capacidad de aislamiento térmico, flexibilidad, resiliencia, durabilidad y baja densidad.

No son adecuados para la realización de prototipados, ya que su coste de desarrollo es elevado y el producto resultante cuenta con bastante grado de opacidad.

3. Papel.

El papel es un sustrato de bajo coste, abundante, flexible, fácilmente modificable y biocompatible, aunque en contraposición, poco resistente. Es por eso por lo que su uso está limitado a algunas aplicaciones concretas.

Su aplicación más habitual es en dispositivos de análisis mediante detección.

4. Hidrogel.

El hidrogel es una sustancia que se encuentra en estado líquido a temperatura ambiente y es por tanto, un material fácilmente moldeable. Esto hace que sea un gran candidato para la realización de soportes celulares en diversas aplicaciones.

El hidrogel es un material que permite la realización de microcanales de una forma relativamente sencilla, es por eso por lo que otra de sus aplicaciones es en el campo de la microfluídica. Aunque su aplicación más ampliamente conocida es como protector para pantallas de teléfonos móviles.

Es un material flexible, elástico y adaptable, por lo que puede ser fácilmente adaptado a cualquier tipo de superficie. Además, cuenta con unas características bastante importantes, como son la autorreparación y resistencia, puesto que, al recibir un impacto, este material se expande y absorbe dicho impacto, volviendo a su estado original gracias a las características de flexibilidad y elasticidad.

1.2.3 Ventajas e inconvenientes

Hasta ahora se han comentado diferentes aspectos de los dispositivos LOC, tales como su propia definición, sus diferentes elementos y los materiales con los cuales pueden ser fabricados. Por lo que el siguiente paso a realizar consiste en el análisis de las ventajas e inconvenientes que aporta esta tecnología con respecto a las

alternativas existentes en el mercado. Para poder exponerlas de una forma clara y concisa, se propone la tabla que se muestra a continuación:

Ventajas dispositivos LOC	Inconvenientes dispositivos LOC
Integración de alto número de funcionalidades en pequeñas superficies.	Aún en desarrollo.
Fácil portabilidad debido a su pequeño tamaño.	Algunos efectos físicos y químicos afectan fuertemente a pequeña escala lo que dificulta el desarrollo de algunos procesos.
Bajo coste.	Alto efecto del ruido.
Bajo tiempo de fabricación.	Problemas en detección.
Alta eficiencia.	Baja precisión en comparación con otras técnicas.
Ahorro de tiempo para pruebas diagnóstico.	Uso inadecuado.
Bajo consumo de cantidades de fluidos.	Errores.
Alto rendimiento en análisis.	
Globalización de diagnósticos.	
Mejor proceso de control debido a las respuestas rápidas que proporcionan los sistemas.	
Alta aceptación social.	

Tabla 1. Ventajas e inconvenientes dispositivos LOC.

De la anterior tabla podemos deducir que las ventajas que esta tecnología ofrece son más numerosas y beneficiosas que las desventajas. Por lo que es lógico entender por qué es una tecnología tan usada en estos días y que se encuentra tan en desarrollo.

1.2.4 Aplicaciones

Los dispositivos lab on a chip han sido principalmente utilizados en aplicaciones de microfluídica. Dentro de este ámbito, existen diferentes clasificaciones según el objetivo que se persiga:

1. Manejo de fluidos.

Cuyo objetivo es manipular fluidos en escalas de nanolitros con un alto grado de precisión y utilizando el menor volumen de fluidos posibles.

Como ejemplo de esta aplicación podría verse los chips de ADN como el que se desarrolla en este documento.

2. Manipulación de partículas.

Cuyo objetivo es la manipulación de partículas inorgánicas. Se monitoriza el comportamiento de estas partículas cuando son expuestas al efecto de un campo eléctrico no uniforme. Este efecto del

movimiento de las partículas bajo el efecto de un campo eléctrico, recibe el nombre de dielectroforesis.

3. Separación y clasificación de partículas.

Cuyo objetivo es separar y clasificar partículas mediante un dispositivo lab on a chip en función de diferentes criterios como pueden ser, por ejemplo, según su geometría o área de ocupación.

4. Manipulación de células, bacterias y virus.

Cuyo objetivo es la manipulación de partículas orgánicas, pudiendo así separar estas partículas de otras orgánicas o inorgánicas.

Un ejemplo de esta aplicación podría ser la división de células vegetales en suspensión en subpoblaciones, utilizando para ello microelectrodos, que proporcionan un campo eléctrico no uniforme para conseguir este fin. Otra aplicación de este tipo de dispositivos es la discriminación de bacterias vivas y muertas, lo que resulta de gran utilidad para, por ejemplo, localizar microbios en el agua.

1.3 Readers asociados a los dispositivos lab on a chip.

Los readers son los dispositivos en los cuales son introducidos los lab on a chip para que lleven a cabo su funcionamiento. Suelen ser elementos hechos a medida de sobremesa, los cuales incorporan todas las capacidades de detección y de control requeridas en la aplicación.

El dispositivo que se desarrolla en este documento no es más que un reader, ya que sobre un sistema microfluídico, es capaz de calentar el fluido para que se produzca su reacción, realizar las mediciones sobre los resultados obtenidos y ejercer el control necesario para que el dispositivo realice su función de la forma deseada. Es por eso, que resulta de interés la comprensión de este concepto.

La complejidad de estos dispositivos electrónicos es bastante amplia, pudiendo variar entre dispositivos muy simples, hasta dispositivos muy complejos con elementos internos independientes, que interactúan entre sí para realizar el objetivo final del dispositivo. En nuestro caso, consiste en un dispositivo que consta de diferentes partes fabricadas en tecnología PCB y una pantalla programada mediante Arduino.

1.4 Métodos de diagnóstico por amplificación de ADN.

Para realizar el procesado y el análisis de los fluidos del dispositivo lab on a chip que realiza el reader, existen diferentes métodos. A continuación, se detallarán algunas de las técnicas más usadas para el diagnóstico mediante la amplificación de ADN:

1. PCR.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), quizás sea la técnica más conocida popularmente tras la reciente pandemia SARS-CoV-2. La elección de esta técnica, fue debido a su alta sensibilidad al requerir de poca cantidad de ADN para su realización.

Esta técnica se basa principalmente en el uso de *primers* para la amplificación de una zona muy concreta del ADN. Los *primers*, son unas cadenas de entre 15 y 30 nucleótidos que

complementan a la zona de interés del ADN y junto con el ADN polimerasa, lo amplifican por fases.

El objetivo principal es reproducir a mayor escala lo que ocurre en el interior de la célula. Para ello, la muestra de ADN es introducida en el interior de un tubo denominado *ependorf* junto con: los *primers*; los desoxinucleótidos, los cuales consisten en monómeros que constituyen el ADN, los cuales poseen la misma estructura que los nucleótidos; el ADN polimerasa termoestable, la cual es la encargada de la amplificación del ADN y Magnesio. A continuación, se somete a ciclos formados por fases, las cuales se describen brevemente a continuación:

- Fase de desnaturalización.

Su objetivo es romper los puentes de hidrógeno que unen ambas cadenas de ADN para obtener dos cadenas por separado. Esta fase requiere temperaturas elevadas de 95°C.

- Fase de alineamiento.

A cada cadena obtenida en la fase anterior, se le adjunta el *primer* como complemento. Esta fase requiere de una temperatura menor que depende del *primer* en cuestión, pero ronda en torno a los 50°C.

- Fase de extensión.

El ADN polimerasa añade nuevos nucleótidos, los cuales son complementarios a la cadena que se usaba como molde, volviendo a contar así con una molécula de ADN de doble cadena. Pasando de una molécula de ADN al principio del proceso, a dos al concluir el proceso con esta última fase. Esta fase requiere de temperaturas que rondan los 72°C.

El número de moléculas obtenidas crece en función de potencias de dos (ya que se obtienen cada vez dos cadenas de ADN al romper los puentes de hidrógeno) en función del número de ciclos que se realicen ($N^{\circ} \text{moléculas} = 2^{n^{\circ} \text{ciclos}}$).

2. LAMP.

La amplificación isotérmica de ácidos nucleicos (LAMP), no es una técnica tan expandida como la PCR aunque es más rápida, simple, menos laboriosa y con menor coste.

Aunque presenta una diferencia destacable frente a la técnica anterior, cuenta con una polimerasa diferente a la empleada en la técnica PCR la cual es menos termoestable, aunque trabaja en un rango más amplio de temperaturas y utiliza cebadores que cuentan con un diseño más complejo al empleado en las PCR.

Esta técnica a diferencia de la anterior, no requiere de ciclos para romper los puentes de Hidrógeno, realizarles un molde y luego amplificarlos mediante la polimerasa. En la técnica LAMP, se usan condiciones isotérmicas que realizan el proceso de amplificación de ADN en un rango de temperaturas de entre 60°C y 65°C ya que es la temperatura de reacción de la *Bst polimerasa* utilizada en esta técnica. Siendo la temperatura de inactivación de esta sustancia de 80°C.

En la técnica LAMP, en lugar de emplear altas temperaturas para desnaturalizar el ADN (realizar ciclos de fusión térmica), se utiliza la amplificación isotérmica que a su vez aprovecha las altas capacidades de desplazamiento de cadena con las que cuenta la *Bst polimerasa*. Además, estas enzimas cuentan con la capacidad de “descomprimir” el ADN conforme se van sintetizando

hebras de ADN complementarias, evitando así el uso de termocicladores puesto que la reacción solo requiere de la temperatura de actuación de la enzima *Bst polimerasa*.

Esta técnica es la que se implementará en el dispositivo que se busca desarrollar en este documento. Debido a su sencillez y sus buenas prestaciones con respecto a los objetivos que se persiguen con este dispositivo.

3. RPA.

La técnica de amplificación de ADN por recombinasa y polimerasa (RPA), es una técnica muy extendida en las aplicaciones de lab on a chip. Todo esto debido a su sencillez, ya que se lleva a cabo en condiciones isotérmicas, por lo que elimina los termociclos al igual que ocurría en la técnica LAMP y que, además, requiere de una mínima preparación de la muestra.

Otras características que destacar de esta técnica, consisten en que es altamente sensible, cuenta con un menor coste que técnicas previamente mencionadas y gozar de ser muy rápida y selectiva, cuya temperatura de actuación tiene lugar en torno a 37°C. Como puede observarse, bastante inferior a las dos técnicas anteriormente descritas, lo cual la convierte en su gran ventaja ante sus competidoras, junto con su velocidad y simplicidad.

Cuando nos referimos a ella como una técnica muy rápida, lo hacemos en el sentido de que ofrece resultados fiables en un periodo de 20 minutos y no requiere de un equipo costoso ni complejo para su realización, por lo que es una técnica bastante factible. Por todo ello, es ideal y ampliamente utilizada en entornos cuyos recursos sean limitados.

2 OBJETIVOS

En este capítulo nos centraremos en el dispositivo que se desea desarrollar de una forma más precisa ya que se busca abordar los objetivos que persigue el dispositivo y el presente documento.

Para cumplir con estos objetivos se establecerán requisitos los cuales el dispositivo debe de cumplir y se presentarán las mejoras que dicho dispositivo supone con respecto al existente actualmente en el mercado.

2.1 Objetivo principal

La idea principal de este trabajo consiste en desarrollar un dispositivo reader capaz de realizar mediciones y análisis de resultados desprendido del método LAMP.

El dispositivo que se desarrolla es un dispositivo modular, el cual se encuentra formado por un sistema de detección por absorbancia que integra un diodo LED verde y un fotodiodo, un sistema de calentamiento y un elemento capaz de mostrar los resultados del análisis.

2.2 Requisitos

Los requisitos o restricciones que se imponen al dispositivo, buscan la mejora con respecto a un prototipo industrial original. Dichos requisitos se citan a continuación:

1. Control y mantenimiento de temperatura.

Para que el dispositivo lab on a chip sea capaz de realizar una prueba LAMP en su interior, es necesario que se mantenga el líquido de su interior a una temperatura constante de 65°C. Es por ello, que es necesario que el dispositivo reader que vamos a desarrollar sea capaz de alcanzar y mantener en el dispositivo lab on a chip dicha temperatura durante el tiempo marcado por el método LAMP.

2. Discriminación de color.

Una vez finalizada la prueba LAMP, la sustancia se tornará en color amarillo si el paciente tiene como resultado de la prueba positivo y rojo si el paciente tiene como resultado de la prueba negativo. Es por ello que resulta fundamental establecer como requisito, que el dispositivo que se desarrolle sea capaz de discriminar cuál es el color en el que se encuentra la sustancia una vez concluida la prueba, para posteriormente, determinar si en relación al color de la sustancia, el paciente es "positivo" o "negativo".

3. Representación de resultados.

Para que el paciente sea conocedor de los resultados obtenidos tras la prueba, resulta de interés que el dispositivo cuente con alguna interfaz gráfica mediante la cual se pueda mostrar al paciente los resultados de un modo claro y conciso.

4. Reducido coste

Las pruebas LAMP realizadas en laboratorios cuentan con un coste notorio, el cual no cualquier ciudadano puede afrontar. Es por eso que se persigue la fabricación de un dispositivo que cuente con un coste lo suficientemente reducido como para que cualquier persona sea capaz de afrontarlo.

Para ello, se estudian aspectos tales como la tecnología o los materiales de fabricación, eligiendo los que ofrezcan las prestaciones necesarias a menor coste para la fabricación del dispositivo.

5. Sencillez.

Cuando nos referimos a sencillez, nos referimos principalmente con respecto a la estructura interna del dispositivo. Para la realización de una prueba LAMP, actualmente se requiere de una maquinaria de gran tamaño y elevada complejidad interna, por lo que se persigue una mejora mediante un dispositivo sencillo en todos estos aspectos.

Aunque nos hemos referido a sencillez interna, también es necesario una sencillez en su uso, ya que actualmente para la realización de dicha prueba, es necesario conocimientos previos sobre la materia y la maquinaria empleada y se persigue el desarrollo de un dispositivo, lo suficientemente sencillo como para que no sean necesarios tales conocimientos para su correcto uso.

6. Fácil uso.

Como se busca que cualquier adulto sea capaz de la realización de dicha prueba, es necesario que el dispositivo cuente con un bajo grado de complejidad, para que sea posible su fácil comprensión con tan solo unas indicaciones básicas.

Para facilitar este objetivo, será necesario que el dispositivo exprese de una forma clara y concisa los resultados del análisis, además de tener un *Hardware* simple y sencillo que evite confusiones a la hora de la introducción de muestras y reactivos por parte del usuario.

7. Portabilidad.

Posiblemente este sea uno de los requisitos al que se le debe de prestar mayor interés, ya que supone una mejora considerable respecto a la tecnología actualmente existente (la cual es una tecnología fija y sedentaria que no permite ningún tipo de portabilidad en la realización de la prueba).

Para que la portabilidad sea posible, será necesario un dispositivo de un tamaño tan reducido que permita su sencillo uso en cualquier lugar de una forma cómoda y segura.

Se persigue reducir el tamaño en todos los bloques que componen el dispositivo internamente, produciendo por tanto, una reducción del tamaño externo del mismo y facilitando así su portabilidad.

2.3 Mejora sobre el prototipo industrial existente

Este apartado pretende fundamentalmente mostrar los beneficios y mejoras que supone el diseño que se muestra del dispositivo frente al dispositivo industrial actualmente existente. Para ello, se comenzará exponiendo el prototipo industrial que actualmente se utiliza, con el objetivo de poder comprender sus características, su estructura y el modo en el que consigue realizar su diagnóstico, para posteriormente, mostrar las mejoras que el diseño propuesto en el presente documento, incorpora al prototipo industrial existente.

Con todo ello, se conseguirá abordar el objetivo final de este apartado de comprender, de una forma sencilla, el interés y la utilidad del desarrollo de nuestro dispositivo.

2.3.1 Prototipo industrial existente

Inicialmente, resulta necesaria la comprensión tanto de los elementos como del funcionamiento del prototipo industrial existente. Para ello, se va a proceder a realizar una breve explicación de todo ello, empleando como apoyo, una imagen del dispositivo. Todo ello, persiguiendo el objetivo de comprender la situación inicial en la que nos encontramos con este dispositivo y lo que se pretende mejorar.

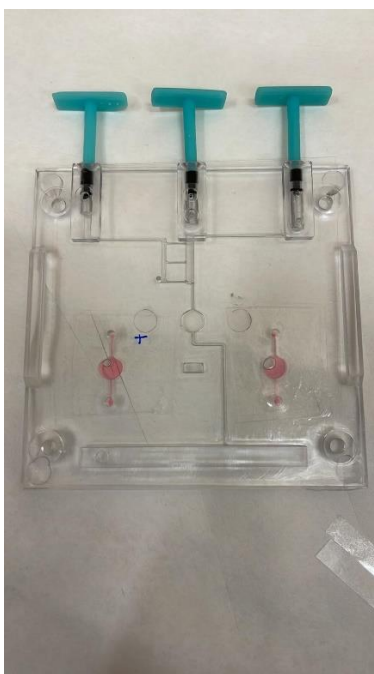


Figura 4: Prototipo industrial existente actualmente.

En la anterior figura se pueden apreciar tres émbolos azules. Estos émbolos serán empujados por unos motores. Justo delante de la parte negra del émbolo, es el lugar en el que se van a insertar los fluidos previamente al funcionamiento del dispositivo.

En las cámaras, de derecha e izquierda (ambas en rojo), se meten los controles positivo y negativo, que inicialmente son rojos, pero el positivo se pondrá amarillo después del calentamiento. La cámara central (que en la imagen se encuentra sin color), es la que contendrá la muestra que se quiere medir. El funcionamiento del dispositivo es el siguiente:

- 1) El reactivo se introduce en la cámara de la aguja del medio, y la muestra de paciente se introduce en la cámara de la izquierda.
- 2) Se impulsa, mediante los motores, la muestra del paciente hasta llegar a los 3 microcanales pequeños horizontales. Luego, se impulsa la muestra para dejarlo justo en la cámara que está a la derecha de los 3 microcanales. Después se vuelve a impulsar la muestra para mezclar muestra con reactivo, se impulsa hasta que se llena la cámara. En ese estado, se calienta y luego se mide.

Como podemos comprobar, el dispositivo ostenta en un mecanismo simple pero efectivo, que en principio podría parecer que no cuenta con inconvenientes pero que, como a continuación veremos, son numerosos. Por lo que todo ello va a hacernos deducir, que va a resultar interesante una mejora del dispositivo actual, persiguiendo la misma solución pero de una forma más óptima.

El prototipo con el que actualmente se cuenta, requiere de una serie de aspectos para conseguir realizar con éxito su función. Dichos requisitos a tener en cuenta, son los que a continuación se citan:

- Movimiento de fluidos:
Los fluidos deben de pasar de las cámaras que inicialmente los contienen, a microcanales, para finalmente desembocar en las cámaras de mezclado y calentamiento. Para que este movimiento sea posible, se debe de contar con una serie de elementos como son motores paso a paso, sujeciones mecánicas y un programa de control.
- Mezcla de líquidos durante el movimiento:
Durante parte del movimiento de los fluidos, se debe de realizar un mezclado de la muestra con el reactivo.
- Encapsulado de líquidos en cámaras:
Los líquidos deben de encontrarse correctamente ubicados en las cámaras que les correspondan en cada momento del proceso. Contando tanto con cámaras que los contengan y separen, como con cámaras que los alberguen durante el calentamiento.
- Sistema hermético:
Además, es preciso que el sistema cuente con hermetismo ya que no se acepta ningún tipo de fugas que propicien la salida de líquidos de ninguna forma que pueda propiciar de algún modo, resultados erróneos en la realización de la prueba.
- Problemas de expansión:
Los líquidos tienden a su expansión a lo largo de todo el proceso, es por ello que se debe de tener presente este problema a lo largo de su diseño y fabricación.
- Sistema de amplificación con fototransistor y limitaciones de regulación y calibración:
Durante la puesta en marcha del sistema, es necesario realizar la calibración de elementos tales como la potencia de los LEDs con los que cuenta el dispositivo para su fase de detección del color de la cámara central y su comparación con los colores de las cámaras de control.

2.3.2 Mejoras sobre el prototipo industrial existente

Una vez comprendido el prototipo con el que se cuenta en la actualidad, nos encontramos en contexto suficiente para proseguir con la exposición tanto de los elementos, como del funcionamiento del dispositivo lab on a chip propuesto como mejora del prototipo industrial anterior. Para ello, haremos uso de las siguientes figuras:



Figura 5: Situación inicial.



Figura 6: Situación final.

Las dos figuras anteriores, pueden servir de apoyo para mostrar dos aspectos cruciales: qué se pretende medir y de qué modo se realiza la medición.

La imagen de la izquierda, la Figura 5, muestra la situación inicial del dispositivo LOC, aún no se ha calentado. Como se puede comprobar, las tres cámaras se encuentran inicialmente a color rojo.

Por otro lado, la imagen de la derecha, la Figura 6, muestra la situación final del dispositivo LOC representando el caso de un resultado positivo de la prueba. Como se puede comprobar, tanto la cámara de la izquierda, que representa el control positivo, como la cámara central que alberga la muestra con el reactivo, han tornado a un color amarillo tras el calentamiento, mientras que la cámara de más a la derecha, que representa el control negativo, se ha mantenido en rojo. Es entonces cuando se mediría la cámara central.

Como podemos comprobar, a diferencia del prototipo actual existente, el reactivo va directamente incluido en la cámara central junto a la muestra del paciente cuando sea necesario en la misma cámara (por lo que se va a prescindir del movimiento de fluidos) y se sella para que sea hermético, para a continuación, calentar el dispositivo LOC de forma controlada y finalmente realizar las mediciones pertinentes. Por tanto, tampoco es necesario el uso de los motores para mover los fluidos, ni el mezclador, ni un metacrilato de 5mm en el dispositivo LOC. En este caso, el metacrilato del dispositivo LOC es de 2mm, algo de menor espesor.

Dicho dispositivo se ha probado en diferentes situaciones y funciona correctamente en todas ellas. Por tanto, queda demostrado que mejora todo lo que se mencionó previamente de los problemas y requerimientos con los que contaba el prototipo actual y es por ello, que se presenta este dispositivo como mejora del mismo.

A modo resumen y para que quede recogida de forma clara debido a su importancia, las propuestas de mejora que presenta el diseño del nuevo dispositivo son las que siguen:

- Ningún movimiento de fluido.
- Encapsulación y mezcla en la misma cámara de reacción.
- Sistema de amplificación con fotodiodo y 5 potenciómetros de calibración. Calibración de intensidad luminosa de LEDs, de ganancia (2), de atenuación de luz y de sensibilidad del fotodiodo.

Todas estas propuestas anteriormente mencionadas, suponen las siguientes mejoras sobre el prototipo industrial existente:

- Estructura microfluidica más sencilla.
- Manejo más simple por parte del usuario.
- Desaparecen los problemas de expansiones.
- Es suficiente con un dispositivo lab on chip de 2 mm de espesor el cual es más barato, lo cual supone una disminución de costes y un mejor tamaño.
- No hay necesidad de motores. Sistema más barato con menos pines utilizados del microcontrolador. En el prototipo industrial anterior el PID que se empleaba era programado (faltaban pines por la pantalla), en el actual, es una librería.
- Software más sencillo ya que se requiere de menor control de fluido.
- Mejor calibración del sistema.
- Mayor aprovechamiento del convertidor analógico-digital (CAD).

3 ESTADO DEL ARTE

En este capítulo nos centraremos en exponer algunas investigaciones relacionadas con el proceso de detección y control que ejercen los readers sobre los dispositivos LOC, con el objetivo de tener una perspectiva más amplia de los mismos, en cuanto a la simbiosis existente entre la biomedicina y la electrónica.

A continuación, se expondrán algunas investigaciones relacionadas con el campo biomédico, como puede ser la realización y detección de procesos PCR, LAMP y RPA para el diagnóstico de enfermedades, contexto en el que encaja el dispositivo que hemos desarrollado y otras investigaciones llevadas a cabo para desarrollar readers para diferentes aplicaciones orientadas a facilitar labores humanas.

3.1 Readers existentes para PCR, LAMP y RPA.

Este tipo de readers están orientados al control, establecimiento y mantenimiento de las temperaturas necesarias para llevar a cabo cada una de estas técnicas. Este control se refiere, tanto al control del mantenimiento de una temperatura de referencia, como a la temporización y paso de una temperatura a otra si la técnica requiere de varias fases de temperatura marcadas por ciclos temporales. Además, es también competencia de estos dispositivos la interpretación de los resultados que desprenden estas técnicas realizadas en los dispositivos LOC sobre los que actúan y su posterior explicación de una forma compacta y sencilla al usuario. Todo esto es lo que se pretende mostrar a continuación, diferentes readers existentes que encajan en cada una de estas técnicas.

3.1.1 Readers para PCR

En este caso, se requiere que el reader sea capaz de alcanzar y mantener las temperaturas necesarias para cada fase del proceso PCR durante el tiempo requerido para cada una de ellas, además de mostrar al usuario los resultados desprendidos por la prueba al finalizar el proceso.

A continuación, se expondrán dos dispositivos diferentes entre sí, pero que servirán para exponer y comprender este tipo de aplicación.

1. Instrumento controlador de cartucho

En el artículo *Droplet-Based Pyrosequencing Using Digital Microfluidics* [4] del que se ha extraído la información que a continuación se expone, podemos apreciar la investigación y desarrollo de este instrumento. Dicho documento ha servido de base para exponer la aplicación que se pretende mostrar de un dispositivo lector de PCR.

En la siguiente figura, pueden observarse dos partes: En la figura 7.A puede observarse el lab on a chip, el cual consiste en un cartucho digital microfluídico que contiene diferentes entradas y microcanales principalmente para líquidos y es el encargado de efectuar en su interior el proceso PCR y en la figura 7.B, su reader asociado, orientado al control del dispositivo LOC, además de otros elementos exteriores al lab on a chip necesarios para realizar la PCR, como pueden ser una pipeta mecánica para la extracción de las muestras y reactivos o una pantalla donde mostrar los resultados.

Este reader tiene como objetivo, llevar a cabo la detección y el control del LOC que contiene en su interior. A su vez, suministra las tensiones de funcionamiento necesarias a los electrodos y además lleva incorporado un microcontrolador el cual ejecuta programas que controlan las diferentes

funciones del chip del cartucho, funciones tales como el control del tiempo y temperaturas asociadas a cada fase de PCR y la interpretación de los resultados que de éstas se desprenden.

El reader a su vez, está conectado mediante un conector USB a un dispositivo exterior como puede ser un ordenador, que haga las funciones de *display*, al cual manda los resultados del análisis realizado y recibe de él programas y señales de control.

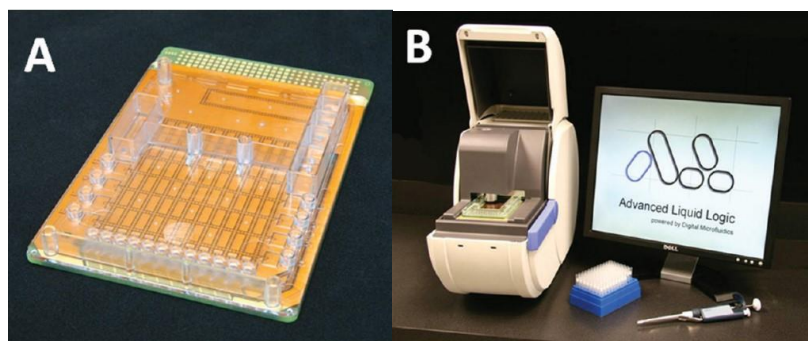


Figura 7. Instrumento controlador de cartucho. (A) Cartucho digital microfluídico, (B) Reader de cartucho digital microfluídico.[4]

2. Instrumento controlador de PCR digital microfluídica

En el artículo *Multiplexed Real-Time Polymerase Chain Reaction on a Digital Microfluidic Platform* [5] del que se ha extraído la información que a continuación se expone, podemos apreciar la investigación y desarrollo de este instrumento. Dicho documento ha servido de base para exponer la aplicación que se pretende mostrar de un dispositivo lector de PCR.

En la figura 8.A puede observarse el reader el cual contiene en su interior al dispositivo lab on a chip que realiza el procesamiento de la muestra y el proceso de realización de PCR digital se puede observar en la figura 8.B. El reader contiene toda la electrónica necesaria para ponerse en contacto con el LOC junto con los calentadores e imanes necesarios para el funcionamiento del chip y un módulo fluorímetro.

El reader está conectado mediante USB a una computadora externa, la cual le suministra la potencia necesaria para su funcionamiento. Esta energía es necesaria debido a que el control de los fluidos en el interior del cartucho que realiza la PCR, lo realiza un microcontrolador que suministra tensiones de activación para la electrohumectación de los diferentes canales que se realiza de forma independiente entre ellos.

El instrumento se conecta al cartucho mediante pines conectores que conforman la interfaz eléctrica entre ambos. A su vez, cuenta con un microprocesador encargado de ejecutar los programas que almacena en una memoria para llevar a cabo el control de dispositivos periféricos como pueden ser los calentadores y los detectores.

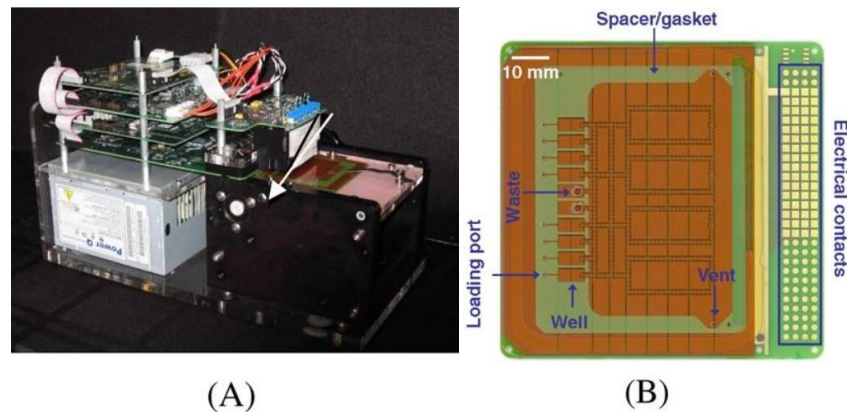


Figura 8. Instrumento controlador de PCR Digital. (A) Reader asociado a la PCR digital, (B) Lab on a chip empleado para la realización de PCR digital. [5]

3.1.2 Readers para LAMP

En esta aplicación, se requiere que el reader sea capaz de alcanzar y de mantener una temperatura constante de entre 60°C - 65°C. Este aspecto es muy importante ya que es la temperatura requerida para la realización de este tipo de técnica, evitando por todos los medios, alcanzar una temperatura superior a 80°C, puesto que es la temperatura de inactivación de la *Bst* polimerasa.

Otra de las funciones de este tipo de readers, es la de analizar los resultados de la prueba, para posteriormente, mostrarlos al usuario mediante algún tipo de interfaz gráfica.

A continuación, se expondrá un tipo de reader junto con su LOC asociado, que servirá para mostrar el funcionamiento de este tipo de dispositivos.

1. Instrumento RT-LAMP-on-a-Chip para el diagnóstico de SARS-CoV-2

En el artículo *A new RT-LAMP-on-a-Chip Instrument for SARS-CoV-2 diagnostics* [6] del que se ha extraído la información que a continuación se expone, podemos apreciar la investigación y desarrollo de este instrumento. Dicho documento ha servido de base para exponer la aplicación que se pretende mostrar de un dispositivo lector de PCR.

Cabe destacar que este dispositivo es el que más se parece en cuanto a objetivos y funcionamiento al que se pretende desarrollar en el presente documento, ya que emplea la técnica LAMP.

Este instrumento se basa en el control de un dispositivo lab on a chip mediante un algoritmo PID (proportional-integral-derivative) instalado en un microcontrolador Arduino Nano.

El dispositivo lab on a chip (LOC), realiza un método de diagnóstico por amplificación de ADN denominado RT-LAMP (LAMP de Transcripción Inversa). Para su realización, el reader mantiene al LOC en una temperatura de 65°C con un error de 0.1°C durante 25 minutos. Para posteriormente enfriarlo en otros 5 minutos adicionales. Todo esto indica, que el proceso de diagnóstico tiene una duración total de 30 minutos, ya que el tiempo de interpretación y mostrado de resultados cuenta con una duración de menos de 1 segundo.

En cuanto al aspecto microfluídico del instrumento, cabe destacar que cuenta con cuatro microcámaras, de las cuales dos son para introducir las muestras biológicas del paciente y dos para las muestras de control, una para el positivo y otra para el negativo. Las muestras biológicas añadidas son de color rojo y se volverán amarillas si se amplifica el material genético.

Tras el proceso LAMP, se emplea la biblioteca de software de visión artificial *OpenCV* para el procesamiento de imágenes, la cual sirve para la realización del diagnóstico, ya que distingue la distribución de los parámetros de color HSV en cada una de las cámaras del chip. Para finalizar, los resultados se muestran en la pantalla táctil de una *Raspberry Pi*.

A continuación se adjunta una imagen en la que se aprecian las diferentes partes del instrumento:

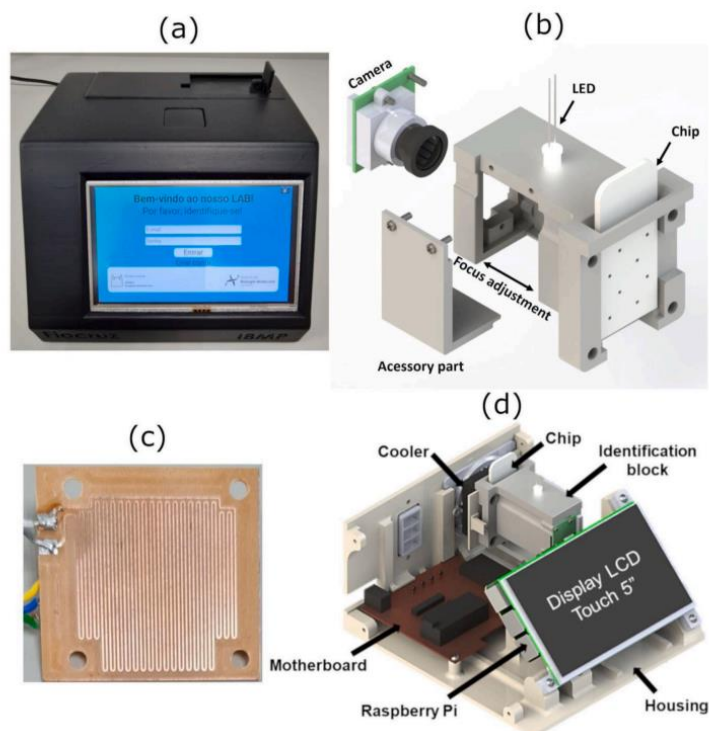


Figura 9. Instrumento RT-LAMP-on-a-chip. (a) Instrumento desde vista exterior, (b) Bloque de identificación, (c) bloque calentador, (d) instrumento desde vista interna. [6]

3.1.3 Readers para RPA

Estos readers, son dispositivos diseñados para el control, procesamiento y mostrado por pantalla de los resultados desprendido del método RPA, además de un control y mantenimiento de temperatura LAMP.

En esta aplicación, se requiere que el reader sea capaz de alcanzar y de mantener una temperatura constante de entre 37°C - 42°C. Este aspecto es muy importante ya que es la temperatura requerida para la realización de este tipo de técnica.

A continuación, se expondrá un tipo de reader junto con su LOC asociado, que servirá para mostrar el funcionamiento de este tipo de dispositivos.

1. Instrumento para la detección altamente sensible del virus del síndrome de las manchas blancas mediante un método combinado de RPA-CRISPR de un solo paso.

En el artículo *Highly sensitive detection of white spot syndrome virus with an RPA-CRISPR combined one-pot method* [7] del que se ha extraído la información que a continuación se expone, podemos apreciar la investigación y desarrollo de este instrumento. Dicho documento ha servido de base para exponer la aplicación que se pretende mostrar de un dispositivo lector de RPA.

Cabe destacar, que este dispositivo realiza una fase de detección similar a la de el dispositivo lector de LAMP que pretendemos desarrollar, pero con la diferencia, de que este dispositivo realiza la detección mediante fluorescencia y el nuestro mediante absorbencia.

El objetivo de este dispositivo es la de realizar la detección del virus del síndrome de las manchas blancas (White Spot Syndrome Virus o WSSV) mediante una de las técnicas más sencillas de diagnóstico conocida hasta el momento, la técnica RPA. Para ello, el dispositivo debe mantener una temperatura constante de 37°C durante 60 minutos.

En este dispositivo, se combina el método RPA con la nucleasa CRISPR-Cas12a con el objetivo de desarrollar una tecnología novedosa la cual se ha utilizado ampliamente para la detección de biomarcadores de gran utilidad para la detección de enfermedades tales como cánceres y enfermedades infecciosas.

Cabe destacar, que la acción de amplificación que realiza el RPA y la división de ADN que realiza la CRISPR, se realiza en un solo paso dentro de un pequeño tubo. Esta amplificación se realiza manteniendo el tubo a 37°C, tarea de la que se encarga su reader, además del procesamiento y mostrado de datos por pantalla, proporcionando un diagnóstico al momento u “on-site”.

La lectura que realiza este dispositivo, se basa en la lectura de la fluorescencia que desprende una parte de la sustancia denominada FAM, que está formada por fluoróforo, el cual desprende la señal de fluorescencia. El reader lee esta señal de fluorescencia y coloca a su salida los resultados del análisis realizado. La detección que realiza el reader se lleva a cabo mediante el uso de rayos ultravioleta, los cuales le permiten medir fluorescencia en sustancias. A continuación, se presentará una imagen que representa las partes del proceso:

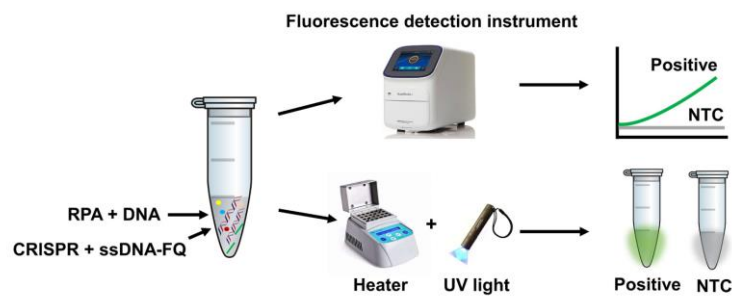


Figura 10. Instrumento para la detección altamente sensible del virus del síndrome de las manchas blancas. [7]

Como se puede observar en la anterior figura, inicialmente partimos del tubo con la mezcla necesaria para la realización de la prueba. Si la prueba se quiere realizar mediante el reader, se introduce en su interior y se deberá de esperar a que finalice el tiempo RPA. Durante este tiempo, la sustancia se va a mantener a 37°C. Transcurrido este tiempo, se podrá observar que el reader va a desprender un resultado “positivo” por pantalla, si observa fluorescencia en la sustancia y un resultado “negativo”, si no observa ningún fenómeno de fluorescencia en ella. Opcionalmente, cabe la posibilidad de la realización manual de la prueba como se muestra la figura, pero no resulta de interés para nuestro estudio.

3.2 Otros readers existentes

Anteriormente se han descrito diferentes sistemas, los cuales son capaces de realizar los diferentes métodos de diagnóstico por amplificación de ADN y de ofrecer los resultados que de ellos se desprenden, de una forma sencilla y compacta. Pero además de este tipo de aplicaciones biomédicas, existen otras que resultan

verdaderamente útiles y novedosas para la vida cotidiana del ser humano. Son precisamente estas otras aplicaciones las que se buscan mostrar en este apartado.

1. Pulsera inalámbrica para la continua monitorización del PH del sudor.

En el artículo *Wireless wereable wristband for continuous sweat PH monitoring* [8] del que se ha extraído la información que a continuación se expone, podemos apreciar la investigación y desarrollo de este instrumento. Dicho documento ha servido de base para exponer la aplicación que se pretende mostrar.

Este dispositivo está orientado al asesoramiento de la salud personal. Al ser portátil y con la forma de un reloj de muñeca, resulta cómodo y práctico para su portador, de ahí su popularidad, ya que este tipo de tecnología se ha visto en auge a lo largo de los últimos años.

El dispositivo está formado por dos bloques: Un microdispositivo de análisis (microconvertidor analógico-digital), cuyo objetivo es tomar continuamente sudor de la piel mediante un sensor de color que detecta el PH; y un bloque formado por el reader y la parte encargada del procesamiento de los datos.

El bloque de análisis está formado por una serie de partes:

- Una zona de muestreo a través de la cual se toma el sudor.
- Una zona de detección donde se inmoviliza el AD-VS-1, la cual es la parte del sudor que se monitoriza para comprobar su cambio de color.
- Una zona absorbente que almacena la muestra para un uso prolongado.

El bloque de lectura contiene la mayor parte de la electrónica cuyos componentes más importantes son:

- Un microcontrolador de baja potencia (MCU).
- Un dispositivo Bluetooth de baja potencia.
- Un bloque LED con un sensor.
- Un dispositivo en el que se muestran los resultados. Este dispositivo recibe datos mediante la interfaz bluetooth que lleva asociada.

El módulo sensor formado por el LED y el detector de color (sensor), se colocan alineados con la membrana sensible al PH. El detector de color es sensible a la radiación y según la cantidad recibida, la codifica y la manda al MCU, el cual es el encargado de su procesamiento. Tras el procesamiento, el MCU manda los resultados al módulo Bluetooth, el cual se encarga de pasarle los datos al teléfono inteligente, que mostrará los resultados al usuario de una forma simple e intuitiva.

La estructura del dispositivo puede comprobarse en la siguiente figura:

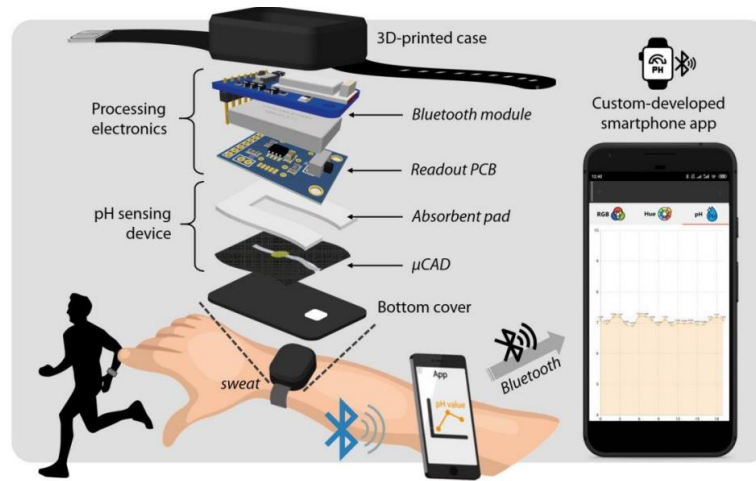


Figura 11. Estructura del analizador de PH en sudor. [8]

4 ESQUEMA GENERAL DEL TRABAJO

El dispositivo que se desea desarrollar en este trabajo, no es más que un dispositivo lector e interpretador de resultados que, además del control del dispositivo lab on chip, permite conocer al usuario, si es "positivo" o "negativo" en una prueba de detección de COVID-19, mediante la realización de una prueba que emplea el método LAMP. Para ello, inicialmente realiza y controla el calentamiento y mantenimiento de la sustancia a la temperatura LAMP, posteriormente realiza el análisis de los resultados y finalmente los mostrará por pantalla al usuario.

Para satisfacer los requisitos de diseño y alcanzar el objetivo final del mismo, se propone un sistema formado por una serie de partes interconectadas entre sí. Este capítulo busca exponer y caracterizar, a grandes rasgos, cada una de estas partes, para comprender cómo funcionan cada una de ellas y proporcionar una visión más clara de lo que se pretende llegar a lograr con el dispositivo.

Para comprender de una forma sencilla y eficaz la estructura del diseño que se presenta, se propone a continuación, un diagrama de bloques en el que se exponen, de manera visual, cada una de sus partes y la relación existente entre cada una de ellas. Una vez comprendida esta estructura, se procederá a la definición, a grandes rasgos, de cada uno de estos bloques.

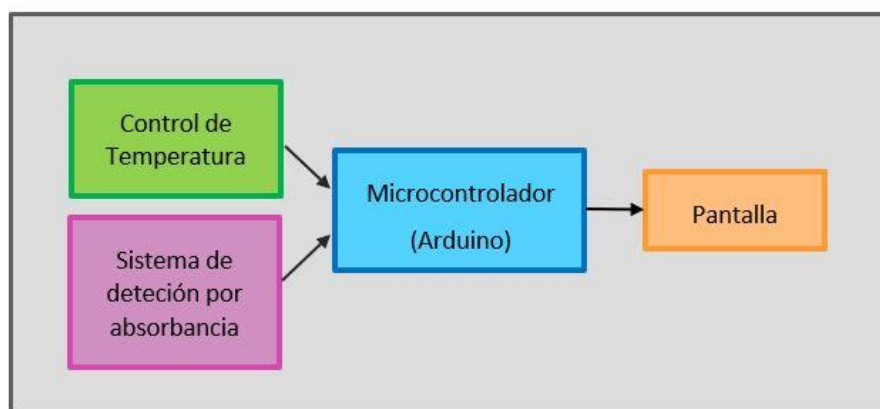


Figura 12. Esquema general del trabajo.

El funcionamiento del conjunto de bloques, y por lo tanto del dispositivo global, es el siguiente:

En primer lugar, se prepara el dispositivo lab on chip introduciendo el líquido formado por reactivo y muestra de color rojizo en su interior y colocándolo en su lugar correspondiente en la estructura del dispositivo.

A continuación, se hace uso del bloque de control de temperatura. Este bloque realiza dos funciones bien marcadas. Por un lado, realiza un control del tiempo de calentamiento, tiempo durante el cual va a alcanzar y mantener la temperatura LAMP. Por otro lado, va a mantener apagado el calentador siempre que el dispositivo exceda del tiempo establecido para el calentamiento.

Una vez la sustancia se ha calentado durante el tiempo LAMP de 20 minutos y a la temperatura LAMP de 65°C, se procede a la lectura e interpretación de resultados. En este momento entra en juego el bloque de detección por absorbancia ya que, en función del color que haya tomado el líquido tras la prueba, debe de establecer si el paciente es "positivo" o "negativo". Es importante destacar, que el calentamiento y la detección, no son complementarios y son totalmente excluyentes ya que la electrónica del bloque de detección, no permite realizar la detección durante el calentamiento debido a que sus componentes alteran su funcionamiento al elevarse la temperatura. Es por eso que tras el calentamiento, se va a dejar a la sustancia y a la electrónica enfriar hasta que alcancen de nuevo la temperatura ambiente y es precisamente en ese momento, en el que se procederá a la fase de detección.

Una vez el microcontrolador haya decidido en el bloque de detección por absorbancia, cuales van a ser los resultados de la prueba, es el momento de mostrarlos al usuario por pantalla, por lo que es en este momento, cuando se hará uso del bloque final de pantalla.

4.1 Bloque 1: Control de la temperatura

La función principal de este bloque consiste en el establecimiento y mantenimiento de una temperatura de referencia o *SetPoint* durante el tiempo de realización de la prueba LAMP. Dicha temperatura, no es más que la temperatura LAMP a la que reacciona la *Bst polimerasa* utilizada en esta técnica.

Para ello, contaremos con elementos tales como un calentador que caliente la sustancia, un sensor de temperatura NTC, el cual indica la temperatura a la que se encuentra el calentador y un Arduino, el cual contiene el programa que le permite ejercer el control de la temperatura.

4.2 Bloque 2: Sistema de detección por absorbancia

El objetivo principal de este bloque es, mediante un LED verde y un fotodiodo, establecer si la sustancia es de un color u otro según la cantidad de luz que llegue al sensor después de atravesar la misma. Esta cantidad de luz que llega al sensor, será traducida en un nivel de tensión que tendrá unos valores discretos y mediante su medida, se podrá saber si la sustancia posee un color u otro.

Los principales elementos que componen dicho bloque consisten en un diodo LED, un fotodiodo y amplificadores de tipo OPAMP los cuales se encargarán de la amplificación de la tensión de salida del fotodiodo y de colocar a la salida del bloque uno de los dos niveles de tensión esperados por el Arduino para tomar su decisión.

4.3 Bloque 3: Pantalla

Este bloque no es más que la interfaz gráfica mediante la cual se muestran los resultados del diagnóstico al usuario.

La pantalla será controlada por el dispositivo Arduino y mostrará tanto si el resultado de la prueba es "positivo" o "negativo", como la temperatura a la que se encuentra el calentador y por consiguiente, la sustancia.

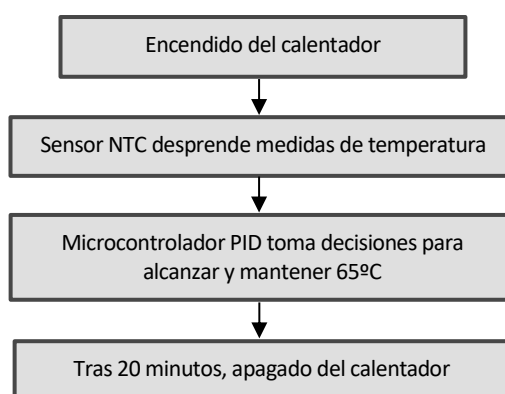
Mediante este bloque no se podrá ejercer control sobre el sistema, pero sí leer los resultados que de él se desprenden, que es lo que realmente le es de interés al paciente.

5 BLOQUE 1. CONTROL DE TEMPERATURA

En este capítulo se va a proceder a exponer desde el funcionamiento del módulo de control de temperatura hasta su fabricación pasando por su calibración.

Este bloque debe su importancia al mantenimiento de la temperatura, ya que en la técnica LAMP que se emplea, es de vital importancia mantener una temperatura en torno a 65°C ya que de lo contrario, la técnica fallaría al entrar en fase de desactivación la sustancia *Bst polimerasa* empleada. Es por ello, que se prestará especial interés en el desarrollo de dicha parte del proyecto.

Para colocarnos en contexto y entender el funcionamiento de este primer bloque, se propone a continuación un diagrama de bloques, el cual pretende representar de forma gráfica, el funcionamiento del circuito.



5.1 Circuito electrónico y actuador

Para conseguir el calentamiento de la sustancia y su mantenimiento a una temperatura concreta, se hará uso del circuito electrónico que a continuación se presenta. Cabe destacar, que dicho circuito cuenta con una serie de partes fundamentales para su funcionamiento como son:

- Calentador
- Sensor de temperatura NTC
- Driver TC4427
- Arduino
- Alimentación
- Transistor tipo MOSFET.

El circuito electrónico que se propone, se muestra en la siguiente figura sobre la que se resaltan sus elementos más importantes:

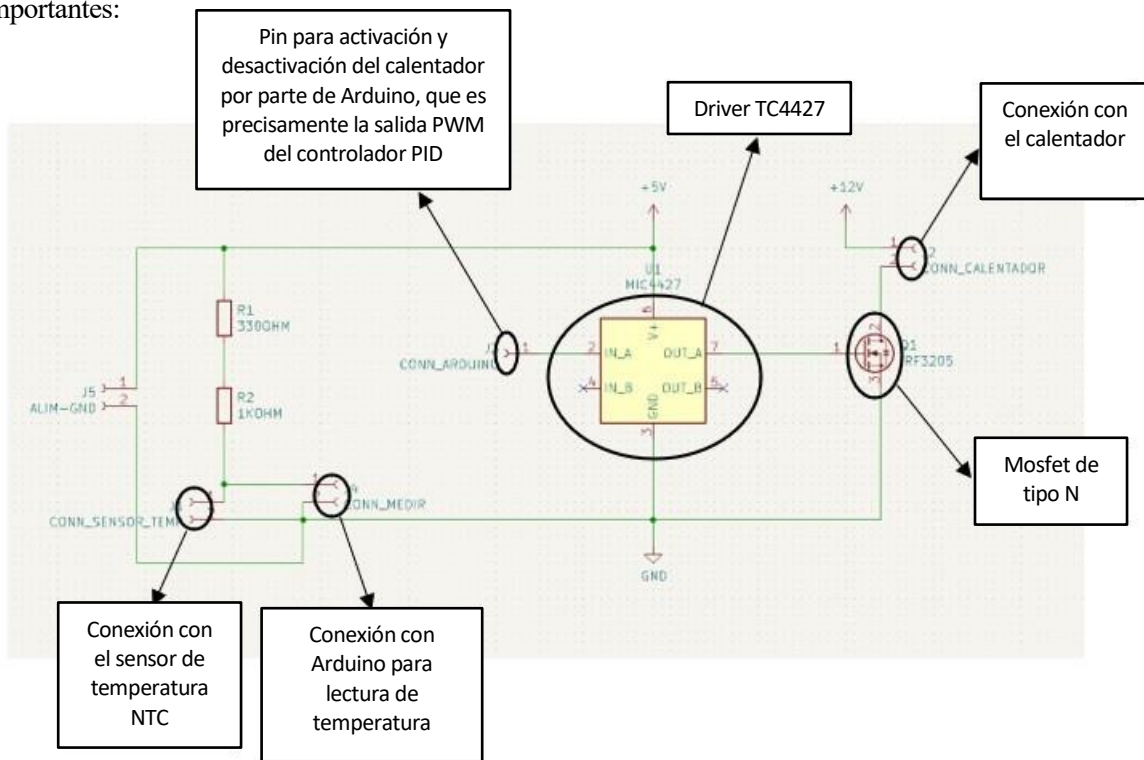


Figura 13. Esquema electrónico del bloque control de temperatura.

A continuación, pasaremos a profundizar un poco en los componentes empleados en el esquema electrónico y en sus funcionalidades:

1. Driver TC4427.

El driver empleado en este circuito es el modelo TC4427. Se encuentra colocado entre la salida del microcontrolador (Arduino UNO) y la puerta del transistor. Este driver, en nuestra aplicación, contará con una funcionalidad bien marcada.

Su funcionalidad principal, consiste en la carga y descarga de una forma rápida y eficaz, de la capacidad de puerta del transistor Mosfet, con el objetivo de que éste realice un rápido movimiento de cierre y apertura, protegiendo así el pin de salida de Arduino.

2. Transistor Mosfet de tipo N.

Este transistor se coloca entre la salida del driver y a la entrada del calentador. Su papel en el circuito consiste en ejercer de interruptor ya que pasará de estado "abierto" a "cerrado" según lo que le indique la señal PWM enviada por el dispositivo Arduino. Esta señal no solo indica al transistor el estado, sino que también le indicará la duración temporal en el que debe de permanecer en él.

Con estos tiempos, lo que se consigue realmente, es el control de la corriente del transistor, ya que si el transistor estuviese siempre abierto, la corriente que dejaría pasar sería la mínima y si estuviese siempre cerrado, la corriente que dejaría pasar sería la máxima. Todo ello marcado por la siguiente expresión:

$$I = \frac{V_{fuente}}{R_{calentador}}$$

El encargado de ajustar los valores necesarios en cada momento, no es otro que el controlador PID implementado en Arduino. Este ajuste lo realiza mediante el control del duty cycle de la señal de salida PWM de Arduino. De tal modo que si el duty cycle alcanza el 50%, se tendrá en la expresión anterior la mitad de la corriente máxima.

3. Sensor NTC.

Este sensor se encuentra ubicado junto al calentador, tal y como muestra la Figura 14. Esto es así debido a que se busca que su medida de la temperatura del calentador sea lo más real posible, aunque como veremos posteriormente, será necesario un proceso de caracterización o ajuste, mediante el cual veamos el error que comete el sensor en la media y lo compensemos en el código implementado en Arduino. Este error es debido a que, precisamente, el sensor no se encuentra en el interior del calentador, sino junto a él.

El sensor empleado es de tipo termistor NTC. Exactamente el termistor NTC Murata de resistencia de $10\text{ K}\Omega$ [10]. Este termistor ha sido el elegido para esta aplicación debido a su reducido coste y tamaño. Este sensor mide cambios en la temperatura mediante cambios en su resistencia. A medida que la temperatura aumenta, se observará una disminución de su resistencia.

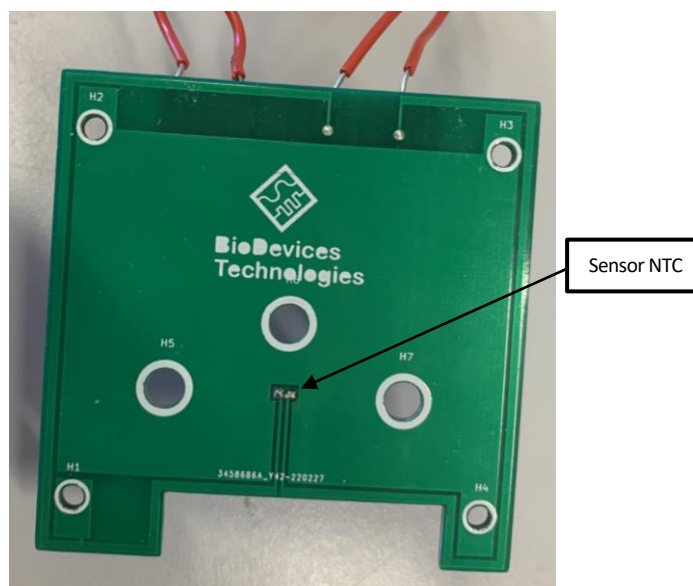


Figura 14: Ubicación del sensor NTC.

El sensor NTC cuenta con un modelo matemático que relaciona la resistencia entre sus terminales con la temperatura a la que se encuentra expuesto. Dicho modelo, es empleado en el código implementado en Arduino, con el objetivo de obtener la resistencia instantánea del termistor en cada momento.

Si centramos el interés en la Figura 13, en la que se aprecia la configuración electrónica del bloque, se observarán dos resistencias colocadas en serie entre la alimentación de 5V y los pines del sensor NTC. El valor conjunto de dichas resistencias asciende a 1330Ω . Este valor no ha sido elegido de forma aleatoria, sino que corresponden al valor empleado por defecto en el grupo de investigación al que pertenece este proyecto. Este valor de resistencias ha sido elegido, puesto que se ha demostrado que optimiza la medida de la temperatura que desprende el termistor, permitiéndonos así, obtener un rango mayor en la medida.

Se ha decidido realizar el serieado de dos resistencias que en su conjunto desprendan un valor de 1330Ω , debido a la mayor sencillez y reducido precio que esta opción suponía para el proyecto.

4. Calentador.

El calentador empleado es un modelo diseñado y desarrollado por el departamento al que pertenece el proyecto, el cual trae integrado en la misma placa el sensor NTC y el propio calentador, tal y como se puede observar en las siguientes dos figuras. Es por ello que cuenta con 4 PADS, dos para la conexión del cableado con el calentador y dos para la conexión con el sensor NTC.

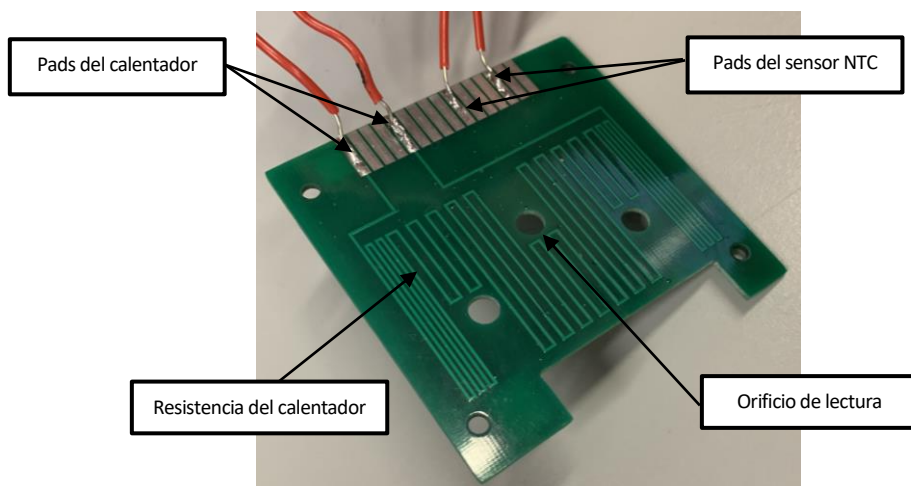


Figura 15: Vista inferior del calentador.

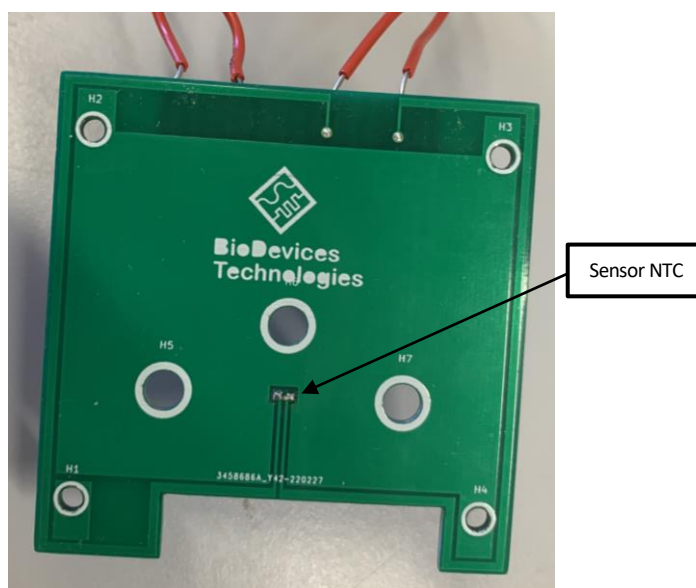


Figura 16: Vista superior del calentador.

Como vemos, esta placa es independiente a la placa diseñada anteriormente en la Figura 13 con la electrónica principal del bloque, pero va conectada a ella mediante los pines del sensor y del calentador.

Sobre la placa del calentador, como se verá más adelante, irá colocada paralelamente el dispositivo lab on chip con los fluidos y ambos, irán colocados dentro de una estructura realizada mediante una impresora 3-D mediante la cual se fijan ambos elementos. Además, esta estructura cuenta con un orificio, al igual que el calentador y que se encuentra alineada con él, en el cual va incrustado por un lado el diodo LED y en la pared opuesta de la estructura de la misma forma, el fotodiodo. Ambos

pertenecientes al siguiente bloque de detección por absorbancia, pero que se encuentran integrados con este bloque mediante esta estructura de integración y fijación. Más adelante, en el bloque del sistema de detección por absorbancia, se entrará en detalle de esta estructura.

Centrándonos en la estructura en sí del calentador, cabe destacar que posee una forma serpenteante, la cual desprende calor al pasar por ella la corriente proveniente del transistor. Este calor desprendido, es utilizado para calentar la mezcla preparada de la técnica LAMP que circula por el dispositivo lab on chip (LOC) colocado de forma paralela a él.

El calentador cuenta con dos estados marcados por el transistor. El primero de ellos es el estado de "encendido", en el cual el calentador funciona a su máxima potencia ya que el objetivo, es que se caliente lo más rápido posible para alcanzar el punto de referencia lo antes posible. Este estado es activado por el microcontrolador que manda a su salida la señal PWM a alto nivel para que se produzca el cierre del transistor y se caliente el calentador.

Por el contrario, el segundo estado del calentador es el estado "apagado", en el cual el calentador deja de funcionar y se encuentra en estado de reposo. Este estado puede deberse a dos posibles opciones, la primera de ellas es que el circuito se encuentre apagado y la segunda, que el microcontrolador mande a su salida la señal PWM a bajo nivel, abriendo así el transistor e impidiendo que llegue corriente al calentador y se mantenga apagado.

5. Arduino.

Es el microcontrolador encargado de toda la lógica necesaria en el bloque. Toma los datos del sensor de entrada y realiza un procesamiento de datos cuyo resultado producirá una acción sobre un actuador.

Es un elemento comercial que se ha programado empleando el lenguaje de programación *Software* para ello dedicado, con el objetivo de que cumpla los requisitos y funcionalidades de nuestro diseño.

Posteriormente, se detallará más aspectos de este componente en una sección dedicada para este fin.

6. Alimentación.

Como se puede observar en la Figura 13, el circuito electrónico cuenta con dos pines dedicados a la alimentación del circuito.

Por un lado, observamos un valor de alimentación de 12V. Este es el valor de alimentación necesario para el funcionamiento del calentador debido a que Arduino no puede suministrarle la corriente que requiere para funcionar y con 5V tampoco resulta suficiente. Esta tensión será suministrada mediante una fuente de alimentación independiente. En su funcionamiento se podrá apreciar, que la fuente de tensión siempre se encontrará funcionando pero cuando el transistor se encuentre en estado "cerrado", la corriente llegará al calentador y éste se pondrá en funcionamiento, pero si por el contrario el transistor se encuentra en estado "abierto", la corriente no alcanzará al calentador y éste estará apagado al no llegarle corriente alguna (se apreciará un corte de corriente suministrada en el *display* de la fuente).

Por otro lado, observamos un valor de alimentación de 5V. Este es el valor de alimentación necesario para el funcionamiento de la placa en general, alimentará tanto al driver como al resto de elementos discretos. Será suministrado a través del propio Arduino, ya que este dispositivo cuenta con una salida de tensión fija de 5V, que nos permitirá suministrar tensión a este bloque de una forma cómoda y sencilla.

5.2 Fabricación

La tecnología propuesta para la fabricación de esta parte del proyecto es PCB (Printed Circuit Board o Placa de Circuito Impreso). Su elección es debido, entre otros aspectos, a sus buenas prestaciones en cuanto a resistencia, simplicidad y relativa facilidad de fabricación manual.

El objetivo en el diseño de la placa, es conseguir el dispositivo más pequeño y sencillo posible. Para ello, las dimensiones finales de la placa (incluidos márgenes) resultaron de 40 x 40 mm.

Para el diseño del esquemático y posteriormente, de la máscara de fabricación del circuito diseñado, se ha hecho uso del *Software* "KICAD" [9], herramienta ampliamente empleada en el diseño de placas en tecnología PCB.

El diseño electrónico del esquemático se muestra a continuación:

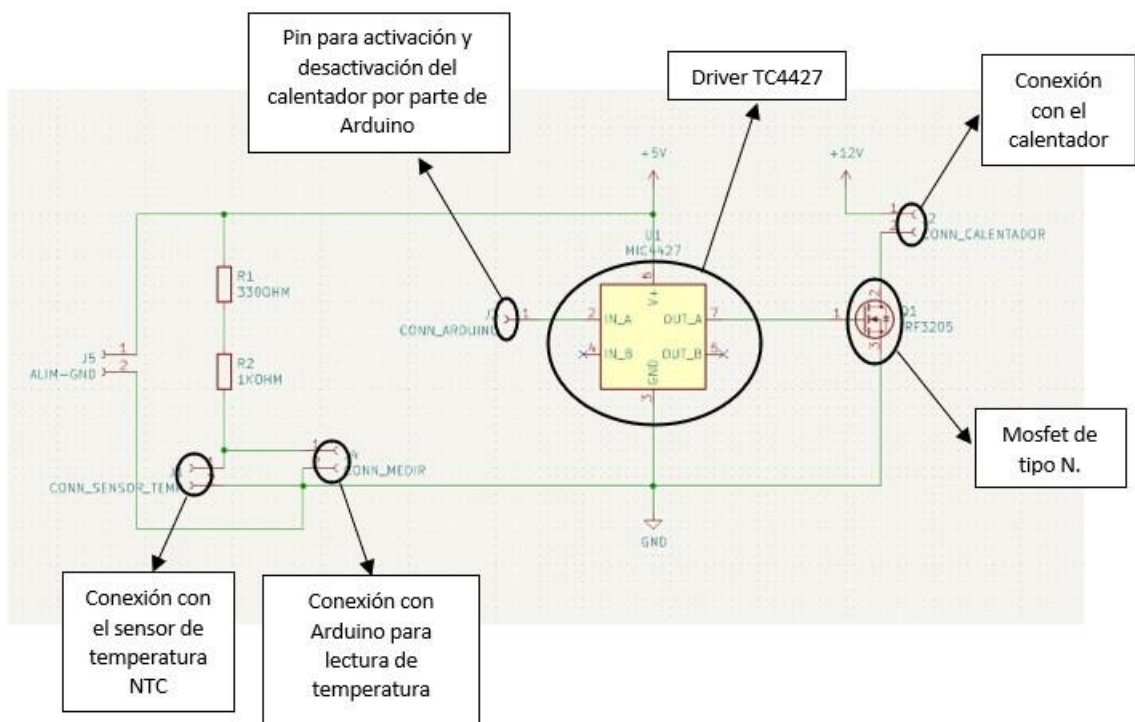


Figura 17. Esquema electrónico del bloque control de temperatura.

Una vez se ha diseñado el circuito electrónico, se pasa al diseño de la máscara fotolitográfica, ya que se va a realizar un proceso de fabricación fotolitográfica. El diseño de esta máscara se realiza también en el programa "KICAD". El diseño se ha realizado a una cara, concretamente por la cara inferior a la placa y el resultado es el que se muestra en la siguiente figura:

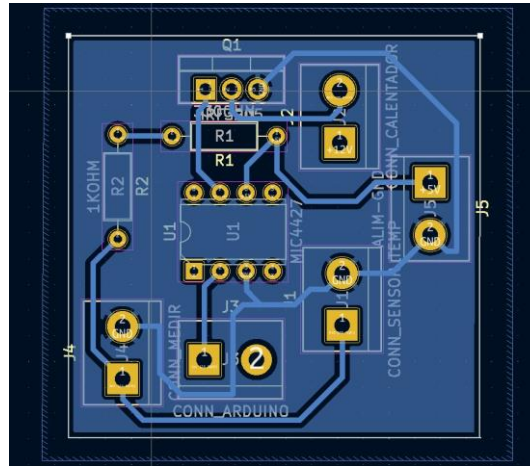


Figura 18. Diseño de placa para la obtención de máscara de fabricación.

Una vez obtenida la máscara, se imprime en papel vegetal. El diseño de la máscara extraído del software “KICAD” y que se imprime en papel vegetal se muestra en la siguiente imagen:

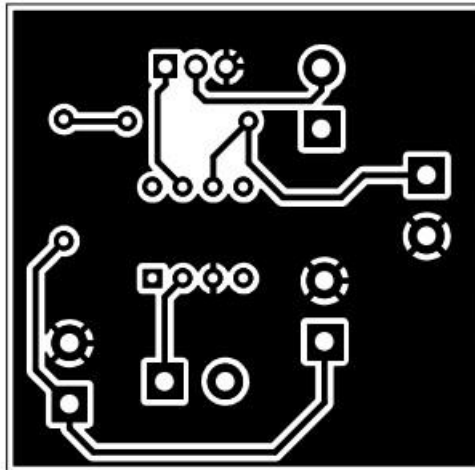


Figura 19. Máscara de back layer.

El dibujo de la máscara se va a transferir a una placa de fibra de vidrio, la cual se encuentra recubierta por una fina capa de cobre y sobre él, una película fotosensible. Esta transferencia se realiza mediante una insoladora UV (Ultravioleta). Para realizarlo, colocamos la máscara sobre la placa de fibra de vidrio por la parte recubierta de cobre (ya que es un proceso a una cara) de modo que se encuentren bien alineadas. Tras ello, se coloca en el interior de la insoladora UV.

Una vez depositada en la insoladora, se coloca el cristal superior y se procede a la realización del vacío, mediante el cual la máscara y la placa de fibra de vidrio se encontrarán totalmente pegados entre sí. Tras ello, cerramos la tapa superior de la insoladora y la dejamos actuar un tiempo entorno a 3 minutos.

Tras ello, se levanta la tapa y se apaga la bomba de vacío para que se desprenda el cristal y poder retirar la placa.

Con este proceso se ha conseguido que los rayos UV de la insoladora, en aquellas zonas no protegidas por la máscara, activen la resina fotosensible de la placa. La correcta implementación del diseño podrá comprobarse mediante inspección visual, ya que se podrá observar que las zonas expuestas a la luz tendrá un tono diferente a las zonas protegidas por la máscara.

El siguiente paso a realizar es el revelado. Para ello, se hace uso de la sosa caustica o líquido revelador, el cual se deposita en un recipiente lo suficientemente grande como para poder ser introducida la placa. Este paso sirve para crear una capa protectora sobre las zonas de la placa que no han recibido incidencia por parte de los rayos UV (protegidos por la máscara), para evitar que el ácido, empleado en el paso posterior, ataque estas zonas. A continuación se ilustra el líquido revelador:

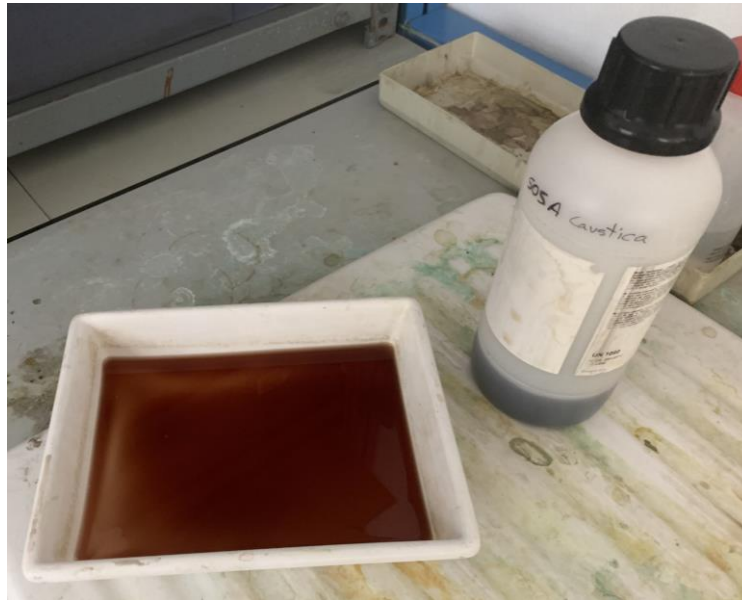


Figura 20. Líquido revelador y recipiente donde introducir la placa para el revelado.

A medida que la resina se va desprendiendo, podremos observar que el líquido revelador va cambiando su color a un tono más intenso. El proceso se alargará tanto como creamos conveniente, ya que se deberá de ir inspeccionando el desarrollo del proceso y se detendrá cuando se crea que ya es notoriamente visible el dibujo transferido por la máscara. El resultado de este proceso se muestra a continuación:

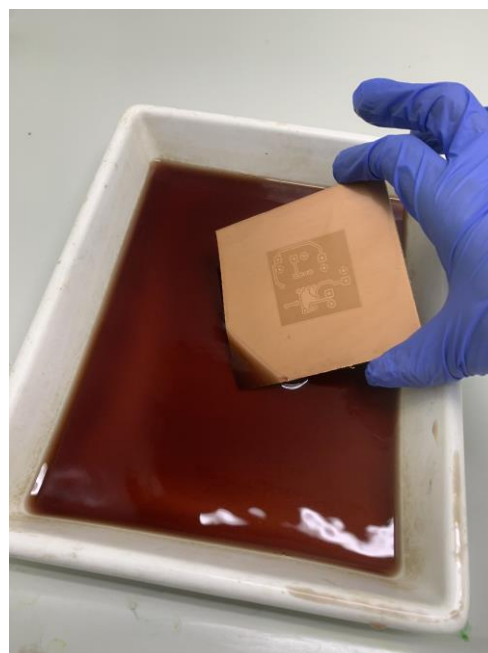


Figura 21. Placa tras pasar por el líquido revelador.

Como podemos apreciar en la imagen, tras este paso, el dibujo transferido por la máscara resaltará en la placa.

Tras este paso, se enjuaga la placa con agua del grifo y se seca cuidadosamente con papel.

El siguiente paso requiere de la preparación del ácido. Para ello se emplea un recipiente en el cual añadimos 2/4 partes de agua del grifo, 1/4 parte de agua destilada y 1/4 parte de agua fuerte. Una vez preparado, se vierte en un recipiente en el que al menos se pueda introducir la placa. A continuación se muestra una imagen en la que se puede apreciar los elementos necesarios para la preparación del ácido:



Figura 22. Recipiente mezclador con agua, agua fuerte y agua oxigenada.

Una vez preparado el ácido o líquido atacante, sumergiremos la placa en él, consiguiendo con ello, eliminar el cobre que no ha sido protegido por la sosa caustica en el paso anterior. Se podrá comprobar que a medida que transcurre el tiempo y el cobre se va desprendiendo de la placa, el líquido atacante irá cambiando su color a un tono más azulado. El proceso durará tano como tarde en desprenderse el cobre. El resultado final de este paso, se muestra en la siguiente figura:

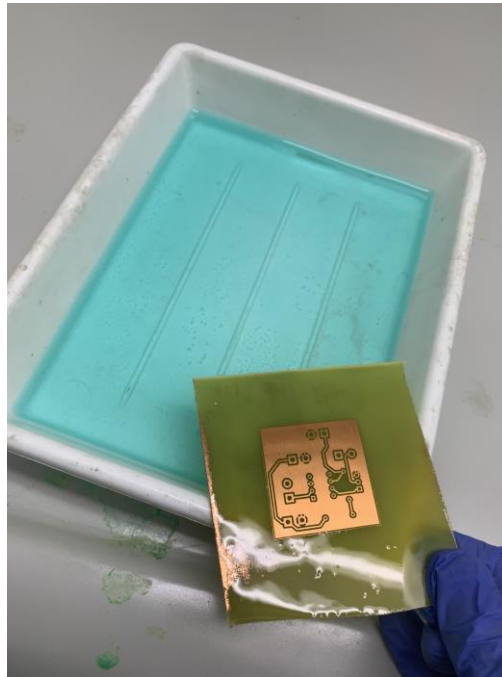


Figura 23. Placa tras pasar por el líquido atacante.

Como se puede apreciar en la imagen, la parte de la placa a la que ha atacado el ácido y le ha eliminado el cobre, adquiere un tono amarillento, ya que deja ver la capa de fibra de vidrio que soportaba al cobre en esas zonas.

A continuación, se volverá a enjuagar la placa con agua del grifo y se secará cuidadosamente con papel.

Para eliminar los bordes sobrantes de la placa y así conservar solo la parte útil, emplearemos la guillotina para cortar los bordes. El resultado tras el corte de los bordes empleando dicha guillotina se muestra en la siguiente figura:



Figura 24. Placa tras eliminar bordes sobrantes con guillotina.

Tras este paso, comprobaremos que el dispositivo es una fiel representación de la máscara diseñada.

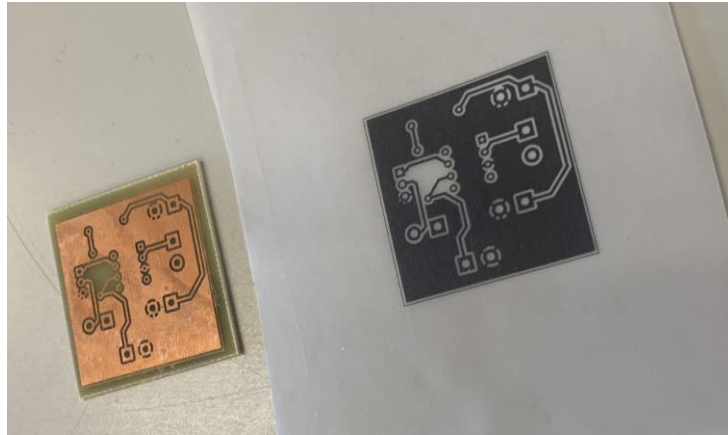


Figura 25. Comparación de máscara con placa fabricada.

A continuación, se procederá al taladrado de los PADS. Este paso es necesario, ya que para el diseño de la placa se han empleado componentes de tipo THT (de orificio pasante), los cuales van insertados en los PADS de la placa. Estos orificios se realizan mediante un banco de trabajo el cual soporta una taladradora, a la cual hemos colocado una broca correspondiente al diámetro de los PADS de la placa. El resultado de este proceso se muestra a continuación:



Figura 26. Placa con orificios realizados para inserción de componentes.

Sobre el cobre aún permanecerá una capa protectora de resina, cuya función es protegerlo de la oxidación, es por ello que para dejar al cobre expuesto, vertemos un poco de acetona en un poco de papel y lo deslizamos suavemente sobre la superficie con cobre de la placa. Comprobaremos que ahora la placa brillará más al incidirle la luz.



Figura 27. Recipiente con acetona y placa tras ser frotada con acetona.

Finalmente, solo queda soldar los componentes a la placa. Para ello se hará uso de un soldador y un rollo de estaño. Dichos componentes se introducirán por la capa superior (en la que no hay cobre) y se soldarán por la inferior (en la que sí lo hay). En la siguiente imagen se muestra el resultado final del proceso de fabricación:

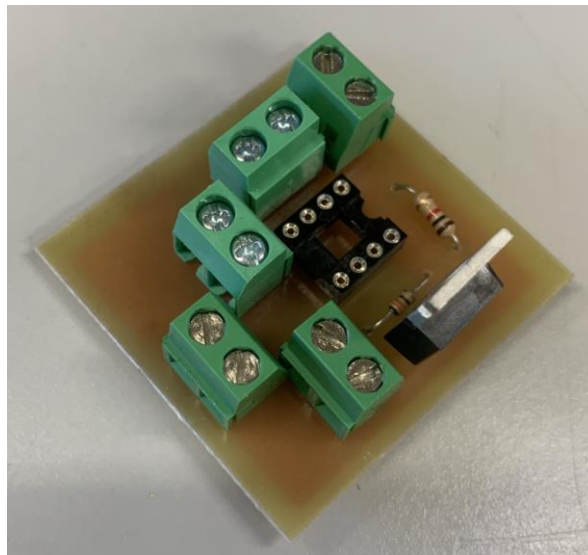


Figura 28. Vista superior de la placa fabricada para el bloque de control de temperatura.

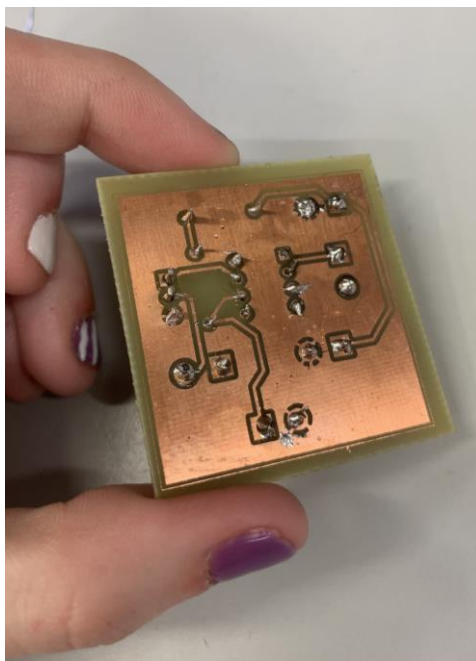


Figura 29. Vista inferior de la placa fabricada para el bloque de control de temperatura.

Aunque el proceso de fabricación queda concluido, es recomendable realizar una serie de comprobaciones antes de poner en funcionamiento esta parte del circuito. Es un paso opcional aunque muy recomendable puesto que ayuda a detectar defectos de fabricación, tales como, cortos en pistas o mal contacto entre componentes y placa, entre otros.

Este proceso de comprobación se ha llevado a cabo mediante el empleo de un multímetro en modo continuidad, se ha ido verificando que todos los componentes mantenían contacto con los componentes correctos a lo largo de toda la placa.

5.3 Caracterización

En este apartado se muestra la calibración del dispositivo. Dicha calibración es necesaria puesto que el sensor NTC no se encuentra situado en el interior del calentador sino a su lado, por lo que se desprenderá cierto error entre la medida que proporciona y la temperatura real del calentador.

La temperatura que establecemos como referencia son 65°C (temperatura que se necesita que se mantenga constante para la realización del método LAMP), por lo que para comprobar que dicha temperatura es efectiva sobre el calentador, es decir, sobre el punto sobre el que pasa la sustancia a calentar, se ha utilizado un termopar. Colocando el extremo de medición de este dispositivo sobre el punto de interés del calentador, se fue midiendo la temperatura. Cuando se comprobó que el termopar alcanzaba los 65°C , se comparó con la temperatura que marcaba el sensor NTC, dicha temperatura marcaba 70°C , por lo que el error cometido en la medida de temperatura del sensor es de 5°C .

Para compensar este error y que el dispositivo esté correctamente calibrado, basta con colocar como temperatura de referencia en el bloque Arduino o *SetPoint* esos 70°C , con el objetivo de que cuando el sensor mida 70°C , en realidad hayan 65°C sobre el calentador.

Mediante esta técnica tan sencilla pero eficaz, se comprobó que el dispositivo alcanzaba y mantenía sobre el calentador, la temperatura LAMP necesaria para la aplicación buscada.

A continuación, se muestra una imagen de la realización del proceso de calibración:

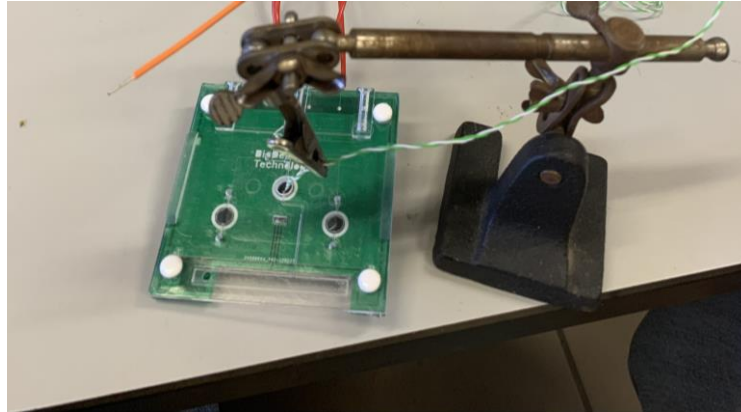


Figura 30. Extremo del termopar sobre orificio de medida del calentador y del dispositivo LOC.

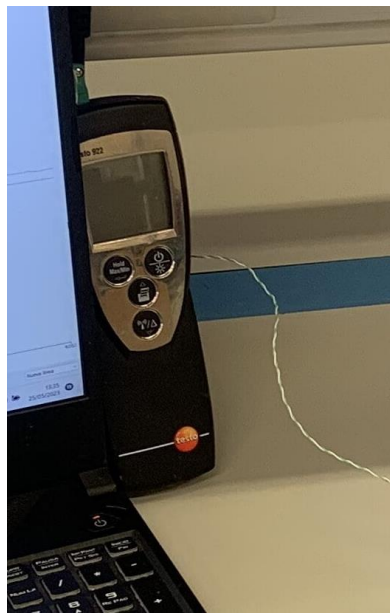


Figura 31. Pantalla del termopar para mostrar medidas realizadas.

Cabe aclarar que los resultados experimentales se mostrarán posteriormente en el montaje y prueba del sistema completo y es por ese motivo, por el que no se muestran en este apartado.

5.4 Arduino

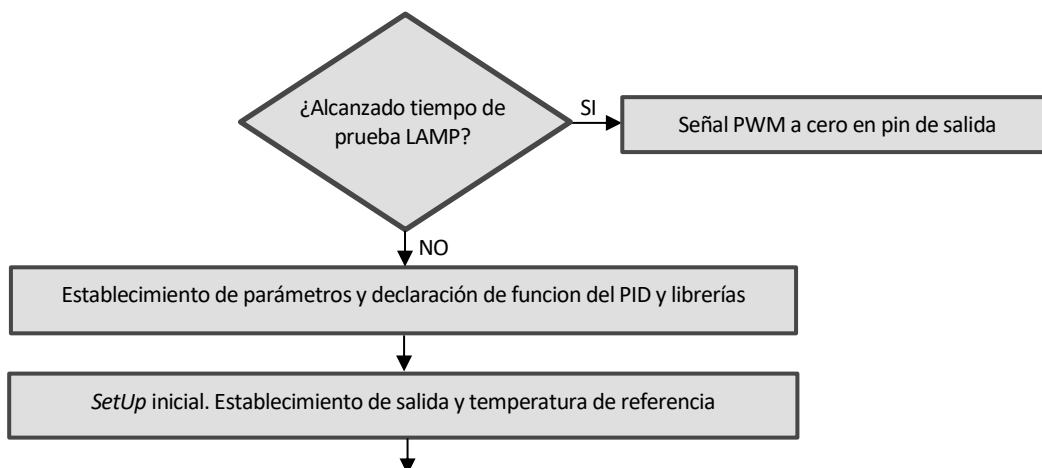
Para este bloque se ha empleado un microcontrolador de tipo Arduino UNO. Este módulo es el "cerebro" del bloque de control de temperatura, ya que es el encargado de llevar a cabo la lógica que se precisa y de actuar conforme a ella. A continuación se muestra una imagen del Arduino empleado:

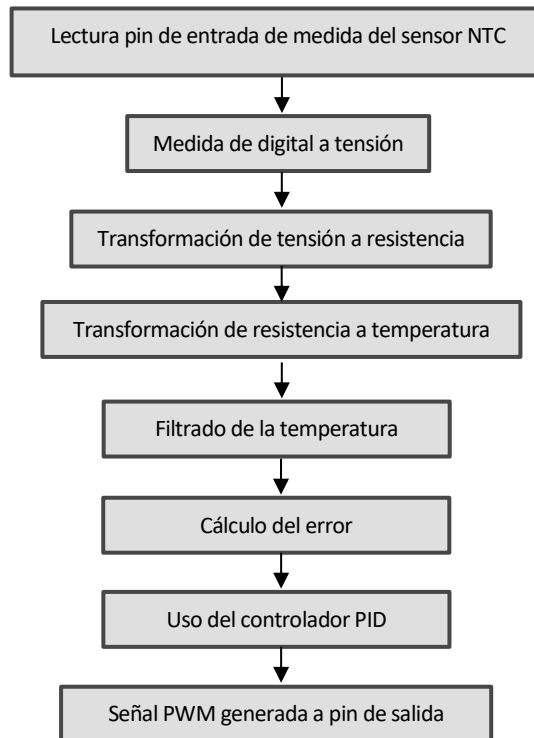


Figura 32. Arduino UNO.

El funcionamiento que se espera del microcontrolador, consiste en la lectura del valor de temperatura obtenido del sensor de temperatura, su paso de valores digitales a un valor de tensión (ya que la salida del sensor se lee de un pin de entrada a Arduino que desprende sus lecturas en modo digital) y tras ello, su paso a valores resistivos. A continuación se realiza el cálculo del valor de alfa en relación con la resistencia medida y con ella, junto con los valores anteriormente calculados, se hace el paso a valores de temperatura. Esta temperatura se filtra mediante un filtro paso de baja y junto con el error cometido, calculado de la diferencia entre la referencia de 60°C y la temperatura medida filtrada, son justo los parámetros que se pasan de entrada al controlador PID junto con la temperatura de referencia y otros parámetros de entrada, como son K_i , K_d y K_p , los tres ajustados de forma experimental. Será el controlador PID, implementado mediante la función Arduino con el mismo nombre, el encargado de escribir en el pin de salida de Arduino, la señal PWM encargada de abrir y cerrar la puerta del transistor y por consiguiente, el calentamiento o enfriamiento del calentador. Este funcionamiento, se va a realizar iterativamente mientras dure el tiempo de calentamiento, que es el tiempo necesario en el proceso LAMP, que resulta de 20 minutos. Para el control del tiempo, se hará uso de la función "millis" de Arduino, la cual nos permite realizar una medida inicial del tiempo y una en cada vez que ejecute el código de su bucle. La diferencia de ambas será el control de tiempo, ya que cuando sea de 120.000 mseg (20 minutos), indicará que el calentador debe dejar de actuar ya que se ha realizado la prueba LAMP y se puede proceder a la detección del resultado cuando la sustancia se enfríe hasta alcanzar temperatura ambiente.

A modo aclarativo, a continuación se muestra en forma de esquema, la lógica del programa implementado en Arduino para el control de temperatura.



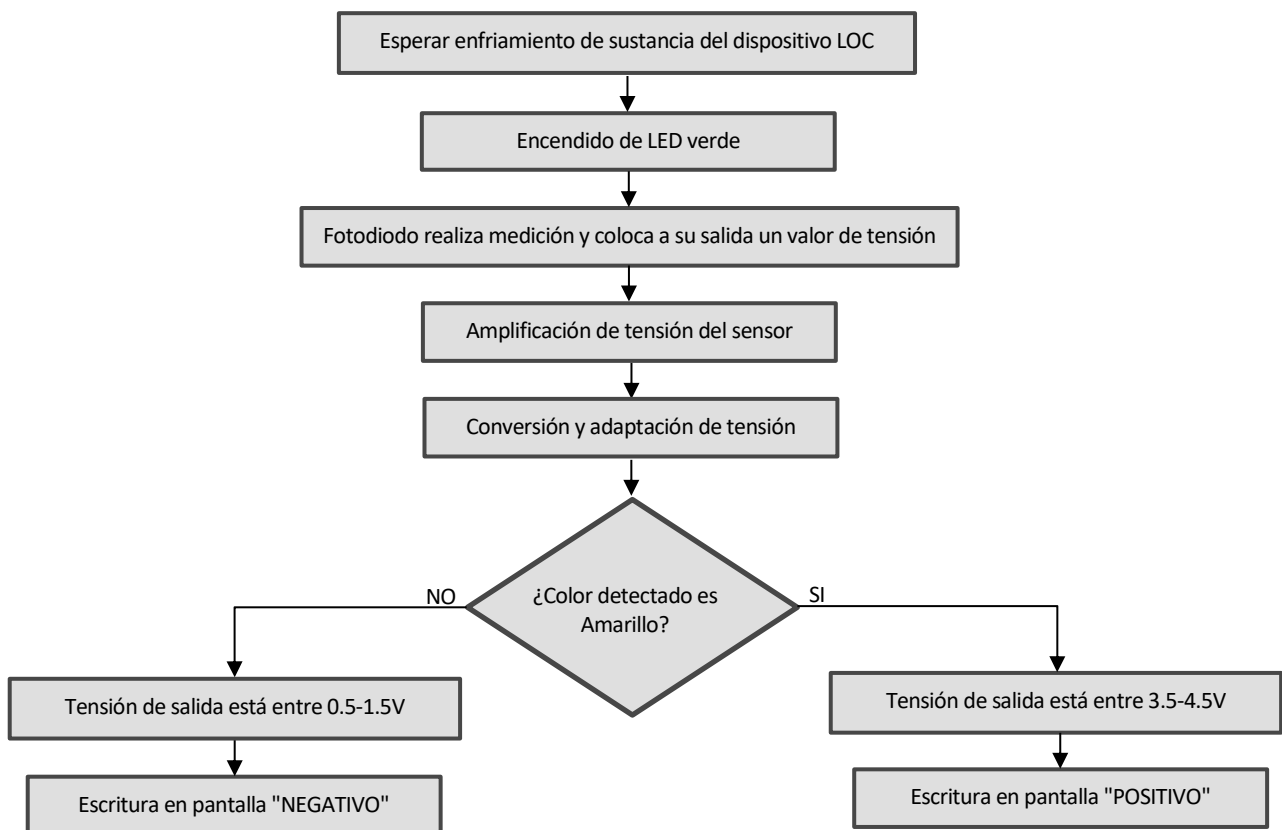


6 BLOQUE 2. SISTEMA DE DETECCIÓN POR ABSORBANCIA

El objetivo principal de este bloque, consiste en la comprensión del método propuesto para la detección del color de la sustancia que recorre el dispositivo que realiza el método LAMP sobre el que se realiza la lectura, una vez que la sustancia ha alcanzado la temperatura ambiente.

El principal interés de este bloque radica, tanto en la identificación, como en la discriminación del color que ha adquirido la sustancia tras el proceso LAMP. Es por ello, que tres de los principales componentes de este bloque son el LED verde, el sensor luminoso y el microcontrolador.

Para colocarnos en contexto y entender el funcionamiento de este segundo bloque, se propone a continuación un diagrama de bloques, el cual pretende representar de forma gráfica, el funcionamiento del circuito.



Es importante resaltar, que asumiremos que los controles que se encuentran a ambos lados del orificio sobre el que se realiza la lectura, poseen colores válidos, es decir, el control positivo será de color amarillo y el negativo de color rojo.

6.1 Sistema de detección por absorbancia

La idea principal del circuito diseñado, consiste en discriminar de qué color se encuentra la sustancia en función de la cantidad de luz del LED que deje pasar el líquido y llegue al fototransistor.

El funcionamiento que se desea que siga el circuito es el siguiente:

Lo primero que se debe de realizar es esperar un tiempo prudencial para el enfriamiento del líquido, no hay un tiempo establecido, pero es recomendable esperar unos 5-7 minutos.

Para la alimentación de la electrónica de la placa, se suministrarán 5V mediante pines de alimentación. Esta alimentación será directamente suministrada a través de Arduino ya que cuenta con un pin de salida que proporciona este valor de tensión.

En el diseño que se propone, es necesario que tanto el LED como el fotodiodo, que no es más que el sensor de luz del circuito, estén enfrentados y que entre ellos, se coloque el dispositivo LOC fabricado en un material transparente, para que la luz desprendida del LED pase a través del líquido contenido en las microcámaras del LOC y una determinada cantidad de luz llegue finalmente al sensor. Es importante resaltar, que para que el proceso de detección sea exitoso, la parte en la que se encuentren el LED y el sensor debe de encontrarse en la máxima oscuridad posible, con el objetivo de que la única luz que incida sobre el sensor, sea la procedente del LED. Además, bajo el dispositivo LOC, debe de colocarse el calentador junto con el sensor NTC que calentarán y mediarán la temperatura a la que se encuentra la sustancia que el LOC contiene, pero esto se verá en mayor profundidad más adelante. A continuación, se muestra un esquema que representa la disposición propuesta para el LED, el fotodiodo y la muestra:

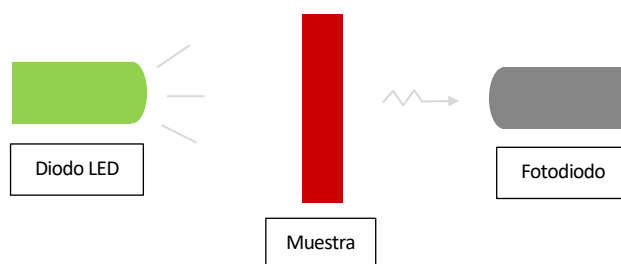


Figura 33. Esquemático del diodo LED y fotodiodo enfrentados.

Como la muestra inicialmente es de color rojo, se elige un diodo LED de su color complementario, es decir, verde. Esto es así porque la muestra roja realiza funciones de filtro del color verde. Cuanto más intenso sea el rojo de la muestra, más va a atenuar y viceversa, cuanto menos intenso sea el rojo de la muestra, más verde pasa hacia el fotodiodo. Es por ello, que posteriormente comprobaremos, que la tensión de salida del fotodiodo al ser la muestra de color rojo, será de un valor de tensión menor que si de amarillo se tratase, ya que el color rojo filtra el color de la luz del LED y el amarillo prácticamente no la filtra y la luz verde pasa por la muestra prácticamente sin atenuar en el caso de la muestra amarilla.

Como ya hemos visto, el sensor coloca a su salida un valor de tensión en función a la cantidad de luz que incida sobre él, que será diferente en el caso de que la sustancia adquiriera un color rojizo que amarillento. Este valor de tensión, es un valor de tensión pequeño, por lo que necesitará ser amplificado para que alcance los valores de tensión que necesitamos en el diseño a la salida del bloque. Para ello, se hará uso de una etapa amplificadora formada por diferentes amplificadores operacionales (OPAMP) con diferentes configuraciones, los cuales desempeñarán esta función. Esta amplificación se encuentra regulada, esto es debido a que necesitamos que cuando se detecte que el líquido es de color rojo, se coloque a la salida del circuito 1V y cuando el líquido sea amarillo, se coloque a la salida del circuito 4V. Para ello, se ha empleado la fórmula que se muestra a continuación, que no es más que la salida de un amplificador restador que conforma la última etapa del circuito de amplificación del bloque:

$$V_{out} = \frac{R2}{R1} (V2 - V1)$$

En la expresion anterior, los elementos representan:

- V_{out} : Salida del amplificador restador y de la placa diseñada.
- $R2$ y $R1$: Resistencias que, mediante la relación entre ellas, manipulan la ganancia del circuito.
- $V2$: Salida de tensión del fotodiodo.
- $V1$: Salida de la etapa de compensación, la cual reduce los 5V de entrada a la rama, a una tensión $V1$ regulable, la cual nos servirá para modificar la tensión $V2$ de salida del sensor y, junto con la ganancia del amplificador restador, moverla al valor de salida deseado para cada caso.

El valor de tensión de salida de la placa, se pasa a un microcontrolador que realizará la toma de decisiones en función de los valores de salida del circuito. Para mantener homogeneidad y emplear el mínimo número de elementos posibles, se empleará el mismo microcontrolador utilizado en el bloque de control de temperatura, con tal de integrar las funcionalidades de control de ambos bloques en el código que lleve implementado.

Si al microcontrolador llega un valor de tensión superior a 3V de tensión, decidirá que el color detectado es amarillo y procederá a mostrarlo por pantalla junto con el valor de tensión recibido. Si por el contrario llega un valor de tensión inferior a 3V, decidirá que el color detectado es rojo y procederá a mostrarlo por pantalla.

Cabe resaltar, que la sustancia inicialmente posee un color rojizo, color que se mantendrá si el paciente es "negativo" en la prueba. Si por el contrario, en la realización de la prueba el líquido torna su color a amarillo, significará que el paciente es "positivo" en la prueba.

El circuito electrónico que se propone, se muestra en la siguiente figura sobre la que se resaltan sus elementos más importantes:

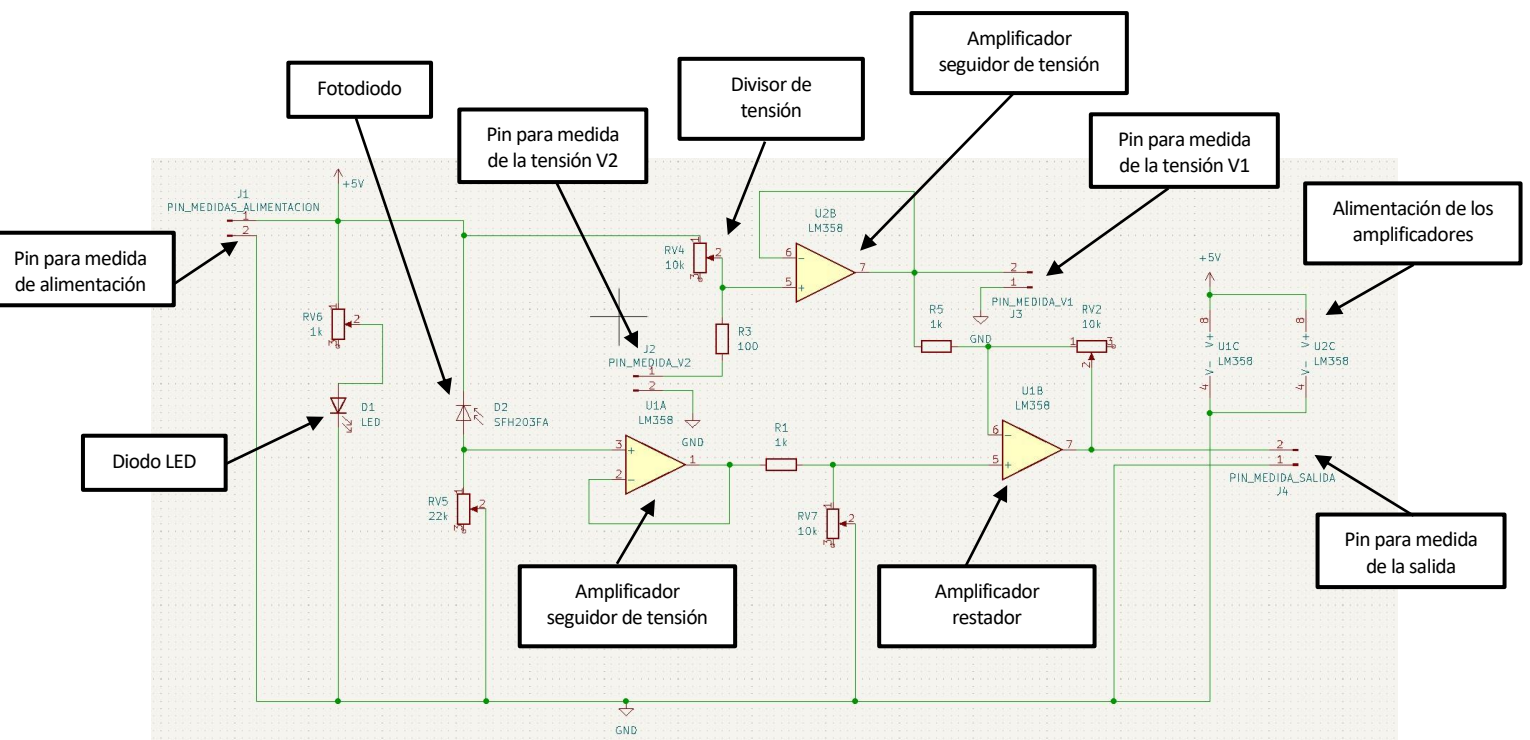


Figura 34. Esquema del diseño del bloque de control de temperatura.

Del diseño esquemático mostrado en la anterior figura, todas las resistencias excepto R1, R3 y R5 han sido elegidas como potenciómetros en el diseño de la placa. Esta decisión se ha tomado para un mejor ajuste de los diferentes valores de resistencias y tensiones de la placa una vez fabricado el dispositivo. Ya que si se le proporciona un valor fijo a todas las resistencias no permitiría este ajuste manual de aspectos tales como, por ejemplo, la intensidad de luz que desprende el LED o la sensibilidad del fotodiodo.

Los elementos principales que podemos diferenciar en la imagen anterior del diseño esquemático del circuito, se van a enumerar y a detallar a continuación, debido a su importancia en el diseño.

1. Diodo LED y potenciómetro RV6.

El diodo LED (Diodo Emisor de Luz) de color verde, es el encargado de suministrar luz al circuito. Colocado en serie con él, se observa un potenciómetro, cuya finalidad consiste en poder regular la cantidad de luz que desprende el LED aumentando o disminuyendo el valor del potenciómetro.

2. Fotodiodo y potenciómetro RV5.

El fotodiodo es el sensor de luz del circuito. Para su aplicación, es importante que se encuentre en total oscuridad y que la única luz que incida sobre él sea la luz de LED que haya atravesado el líquido de los microcanales del dispositivo lab on chip.

El fotodiodo es un dispositivo capaz de traducir una cantidad de luz recibida a un valor de corriente a su salida, que al pasar por el potenciómetro RV5, se transforma en una tensión. Esta tensión es denominada V2 en el diseño y se puede modificar su valor mediante el potenciómetro RV5, ya que el potenciómetro modifica la sensibilidad del fotodiodo.

3. Amplificador seguidor de tensión.

Dos OPAMP (Amplificador operacional) aparecen en el circuito en configuración de amplificador seguidor de tensión. La fórmula que rige esta configuración es la siguiente:

$$V_{out} = V_{in}$$

Por lo tanto, la tensión de salida del amplificador no será más que la entrada de tensión colocada en su entrada positiva.

Esta configuración puede parecer en principio innecesaria debido a la expresión de su tensión de salida, pero es necesaria en el circuito ya que mantiene una tensión de salida del amplificador independientemente de la carga de salida que se coloque tras él. Además de que toma muy poca corriente de su entrada pero proporciona una gran corriente a su salida que suministra a la carga, debido a su alta impedancia de entrada pero impedancia baja de salida.

Esta configuración aparece en dos lugares diferentes del circuito:

- Salida del fotodiodo: El amplificador coloca la salida del fotodiodo denominada V2, introducida en él mediante su terminal positivo, a su salida.
- Rama de compensación: El amplificador toma su entrada positiva, la tensión V1, de un divisor de tensión y la coloca a su salida.

4. Compensación:

La función de esta parte del circuito consiste en tomar una tensión de 5V y mediante un divisor de tensión, convertirla a un valor de tensión V1 que nos sirva para compensar los valores de tensión V2 desprendidos por el fotodiodo y que, junto con la ganancia del circuito, desprenda los valores de salida que necesitamos en cada caso del circuito. En el divisor de tensión, hemos colocado un potenciómetro

en una de las resistencias que forman parte de él, con el fin de poder así modificar el valor de tensión V_1 .

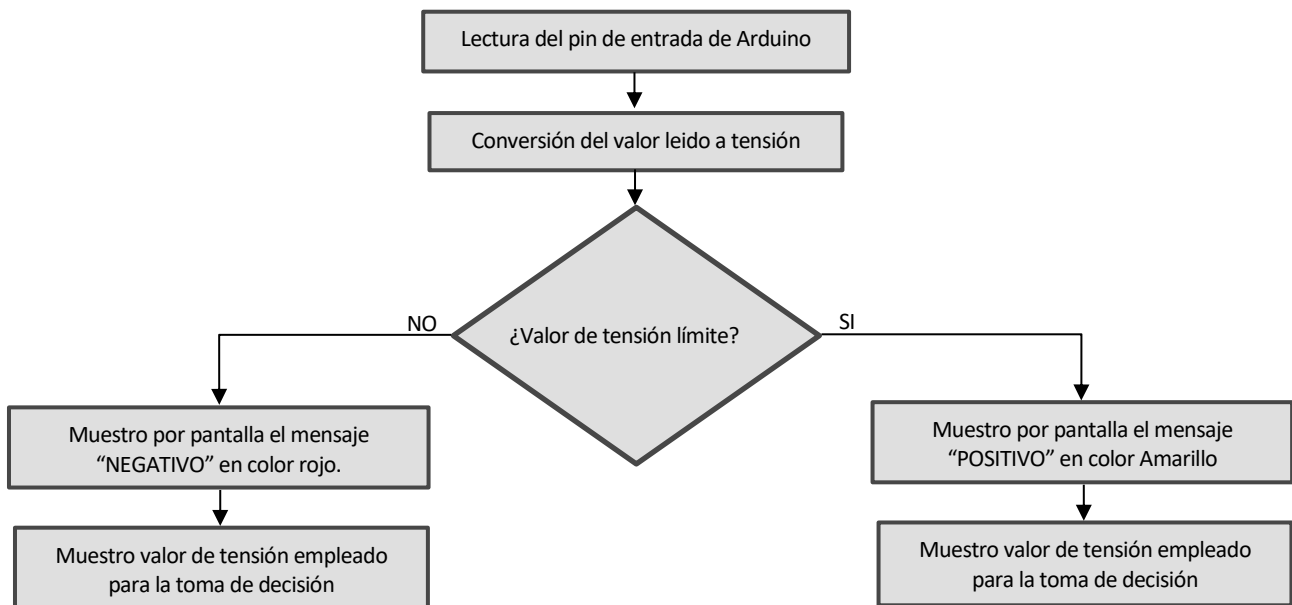
5. Amplificador restador:

Un OPAMP (Amplificador operacional) aparece en el circuito en configuración de amplificador restador. La fórmula que rige esta configuración es la siguiente:

$$V_{out} = \frac{R_2}{R_1}(V_2 - V_1)$$

La relación R_2/R_1 conforma la ganancia del amplificador y del circuito y su finalidad es la de aumentar el valor de la diferencia de tensiones V_2-V_1 con el objetivo de conseguir los valores de tensión deseados a la salida. Esta relación entre resistencias, se ha elegido en el diseño con un valor de 4. Para la elección de este valor se ha teniendo en cuenta el valor de V_2 para cada caso de color detectado, el valor de V_1 asignado y el valor de tensión V_{out} que se desea obtener a la salida para cada caso.

Al tener los valores de tensión de salida de la placa para los dos posibles casos de detección, solo queda el establecimiento del procedimiento de toma de decision, en función de dicha tensión de salida, sobre el color del que se trata, para posteriormente, ser mostrado al usuario por pantalla. La toma de decisiones en función de la tensión y la representación gráfica por pantalla la realiza Arduino. En el siguiente diagrama de bloques se recoge su funcionamiento de una forma rápida y sencilla:



Cabe destacar, que la pantalla empleada en este proyecto es el modelo SPI TFT de 1.8" 128x160 píxeles de Arduino. Es un modelo pequeño y sencillo pero resulta más que suficiente para la aplicación deseada.

Cuando al Arduino llegue una tensión inferior a 3V, tensión límite, decidirá que se ha detectado el color rojo por el sensor, lo que significará que el paciente es "negativo" en la prueba. En este caso, se procede a mostrar por pantalla el resultado "negativo" del color rojo y además, la tensión empleada para la toma de la decisión.

Cuando por el contrario al Arduino llegue una tensión superior a 3V, decidirá que se ha detectado el color amarillo por el sensor, lo que significará que el paciente es "positivo" en la prueba. En este caso, se procede a

mostrar por pantalla el resultado “positivo” del color amarillo y además, la tensión empleada para la toma de la decisión.

Con todo lo anterior, podemos dar por concluida la parte de comprensión de la estructura y funcionamiento de este bloque del proyecto y se puede proceder a continuación, a la parte más práctica del diseño, como son las pruebas previas, la fabricación y las pruebas finales del bloque.

6.2 Circuito y montaje en placa de pruebas

Antes de la fabricación de la placa, se ha hecho uso de una *protoboard* o placa de pruebas. El objetivo de este paso previo a la fabricación, es el montaje y prueba del circuito diseñado.

Es un buen hábito el montaje de diseños en una *protoboard* para pruebas previas a la fabricación, debido a que permite tanto un montaje paulatino del circuito, como mediciones en puntos de interés de una forma sencilla. Además, es un buen método para la identificación y corrección de errores que puedan surgir en la configuración propuesta del circuito.

En nuestro caso, el circuito que se desea montar en la placa de pruebas es el que se ilustra en la siguiente figura:

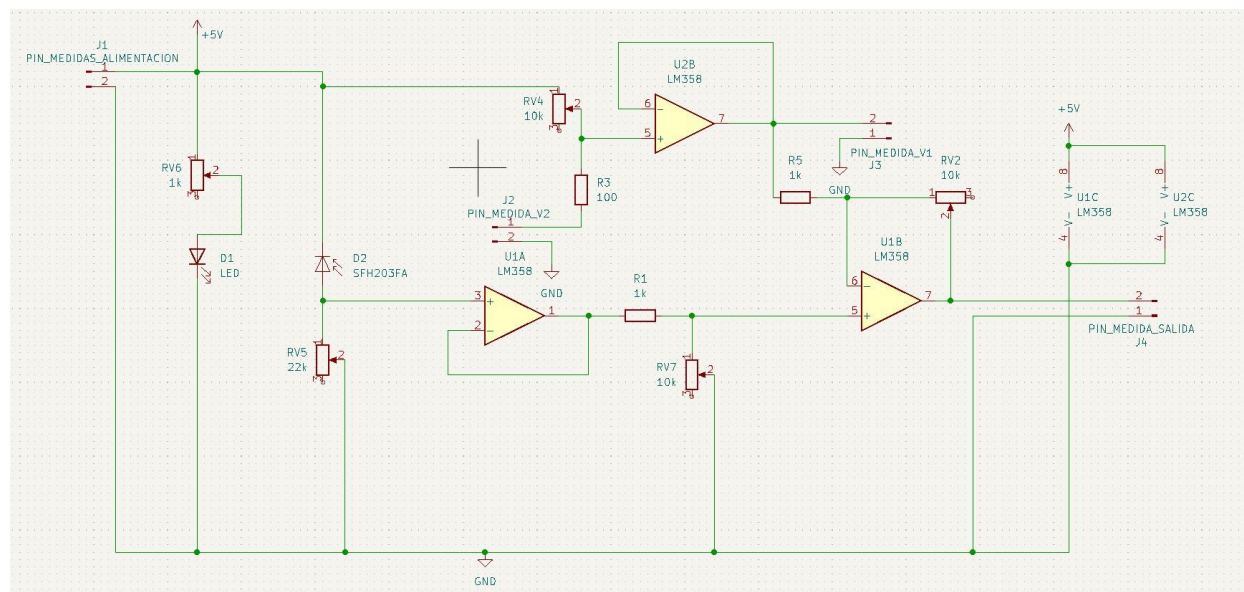


Figura 35. Esquema del bloque de control de temperatura para pruebas previas.

En la anterior imagen se puede apreciar el esquemático a montar en la *protoboard*, pero cabe destacar, que se realizará un montaje más sencillo eliminando algunos elementos tales como pines de medida y potenciómetros. Los pines de medida se han eliminado puesto que las mediciones pueden realizarse mediante el uso de cables y los potenciómetros se han eliminado y sustituidos por resistencias. El objetivo de esta sustitución de potenciómetros, es el de realizar una primera prueba con valores de resistencias fijos, con el objetivo de encontrar valores de resistencias correctos para el funcionamiento del circuito para, llegado el momento del ajuste tras la fabricación, conocer qué valores deben de tener los potenciómetros.

Cuando se ha realizado el montaje en la placa de pruebas, se ha llevado a cabo un montaje paulatino, es decir, se han ido montando partes del circuito y probándose conforme se iban montando y uniendo a lo que se llevaba montado del circuito. Este método seguido, ha facilitado mucho la labor de montaje, medición y detección de errores. El montaje realizado en la placa, es el que se muestra en las siguientes imágenes:

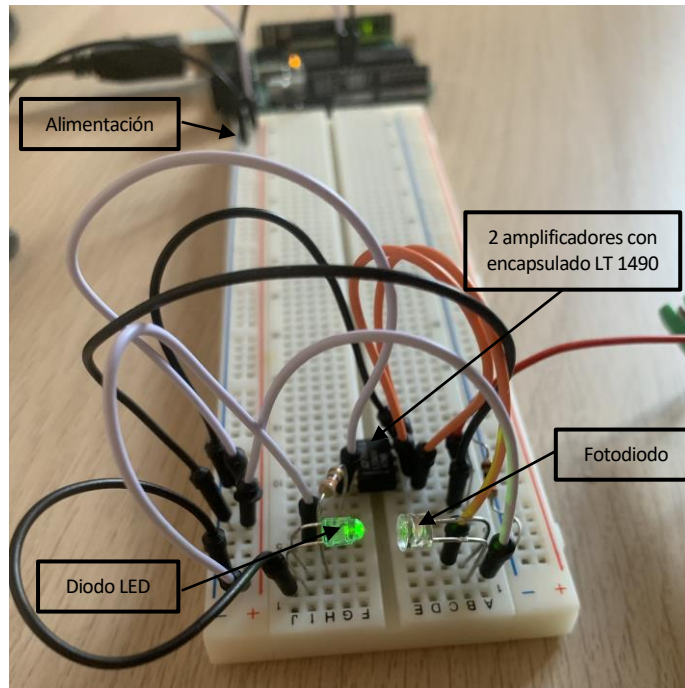


Figura 36. Primeros pasos del montaje. Diodo LED, fotodiodo, amplificador y alimentación.

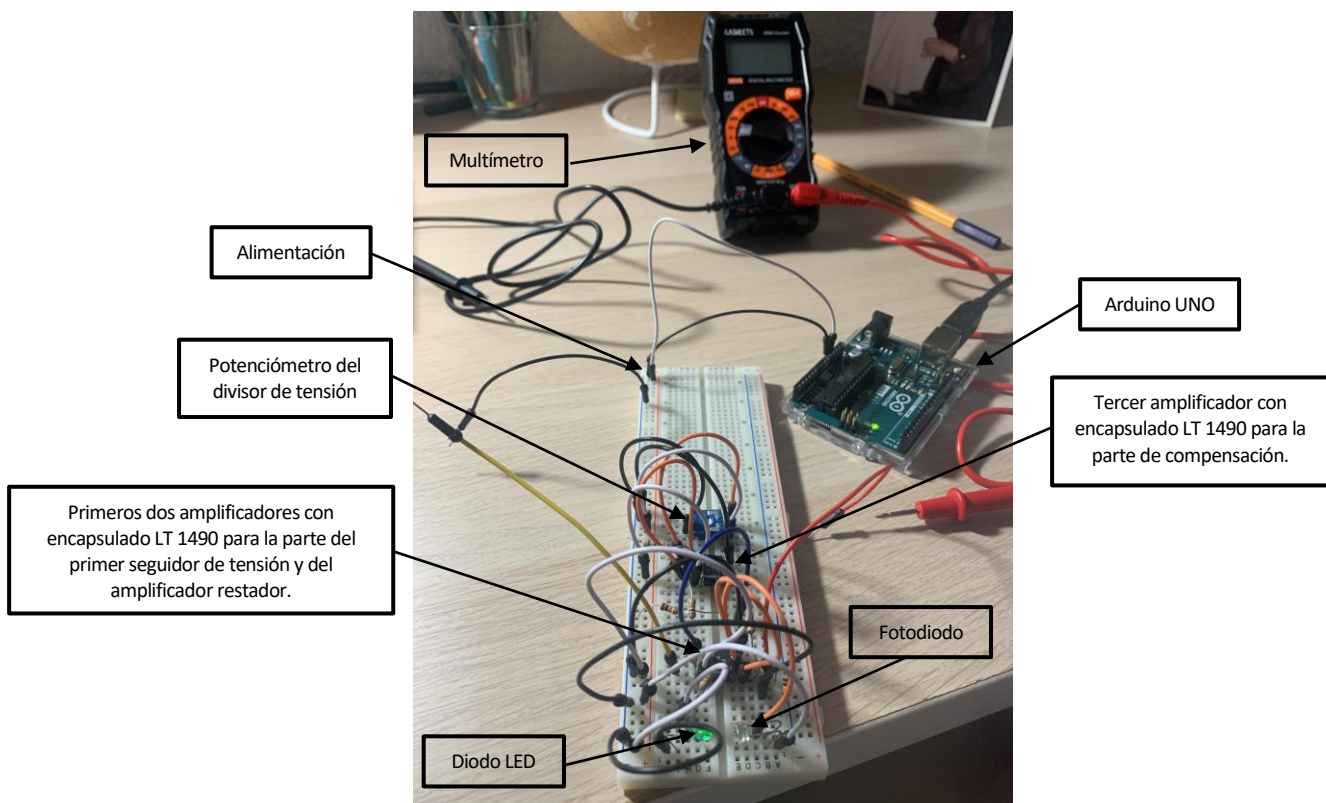


Figura 37. Montaje final en placa de pruebas. Todos los elementos conectados.

Cabe resaltar que la alimentación del circuito se ha realizado mediante Arduino ya que permitía su alimentación en cualquier lugar sin tener que depender de una fuente de alimentación de sobremesa limitando la prueba del circuito al laboratorio. Además, se mantiene así la coherencia con el método de alimentación empleado para el circuito una vez fabricado.

Una vez comprendido tanto el objetivo, como el procedimiento seguido para el montaje del diseño de pruebas del circuito, se va a proceder a realizar, una explicación del método seguido tanto para el ajuste, como para la comprobación de los diferentes parámetros del circuito.

Inicialmente, se ha realizado el montaje del LED y se ha comprobado que desprende una cantidad de luz suficiente con la resistencia en serie que se le ha colocado. A continuación, enfrenado a él, se ha colocado el fotodiodo junto con su resistencia en serie, que le proporciona la suficiente sensibilidad para nuestra aplicación. Colocaremos sobre el montaje una cubierta opaca que le proporcione la mayor oscuridad posible y, junto con una serie de láminas de color amarillo y rojo y un multímetro, realizaremos las siguientes pruebas midiendo la salida de tensión del fotodiodo, denominada V2 en el diseño:

1. Exponemos el montaje a mucha luz:

En este caso, observaremos que la salida del sensor está saturada y proporciona el máximo valor posible, desprendiendo un valor de 5V.

2. Colocamos lámina de color amarillo entre el LED y el fotodiodo:

En este caso, observaremos que la salida del sensor posee valores considerables debido a las características del color amarillo ya que es un color que deja pasar bastante cantidad de luz. Observaremos que el sensor desprende valores en torno a 2.1V.

3. Colocamos lámina de color rojo entre el LED y el fotodiodo:

En este caso, observaremos que la salida del sensor posee valores inferiores al caso anterior debido a las características del color rojo, ya que es el color complementario a la luz verde del LED y deja pasar una menor cantidad de luz. Observaremos que el sensor desprende valores en torno a 1.35V.

4. Exponemos el montaje a la total oscuridad apagando el LED:

En este caso, observaremos que el sensor no capta medidas de luz puesto que está expuesto a la mayor oscuridad posible y proporciona el mínimo valor posible, desprendiendo un valor en torno a 0V.

El siguiente paso a realizar es el montaje del amplificador en configuración de seguidor de tensión que se encuentra situado a la salida del fotodiodo. Para comprobar que su montaje es correcto, basta con repetir el procedimiento descrito para la comprobación del montaje del LED con el fotodiodo, pero esta vez comprobando que estos valores, que llegan a la entrada del amplificador, se colocan y mantienen correctamente a la salida sin que se vea alterado su valor.

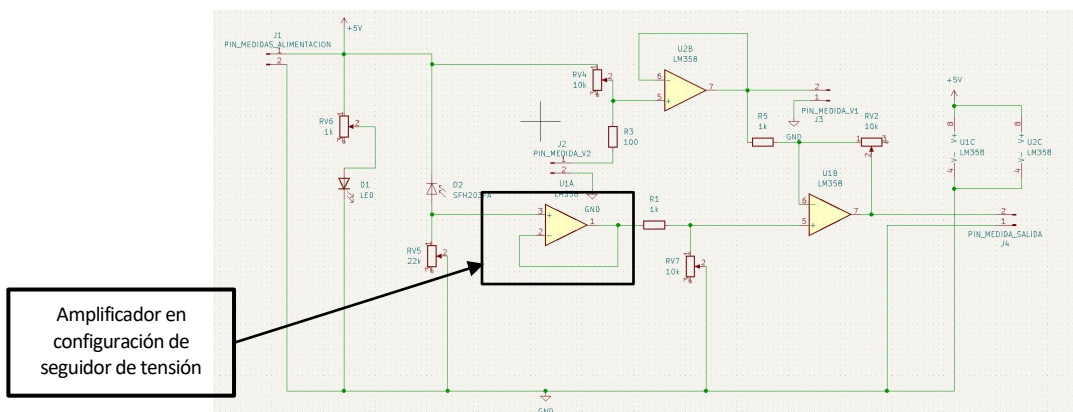


Figura 38: Amplificador seguidor a la salida del fotodiodo.

A continuación se realiza el montaje de la otra rama del circuito, la rama de compensación que desprende la tensión V_1 a su salida. Inicialmente, se ha montado simplemente el divisor de tensión. En este diseño, se ha respetado el uso del potenciómetro ya que será necesario para el ajuste de la tensión de salida V_1 . Tras su montaje y mediante el uso de un multímetro, se ha comprobado que según el valor que se le dé al potenciómetro el valor de esta tensión V_1 aumentará o disminuirá, por lo que se da el montaje como válido y se establece un valor de tensión de 1.1V para la tensión de V_1 . Este valor se ha elegido teniendo en cuenta que es un valor razonable y que tomando en consideración el valor de V_2 para los diferentes casos, proporcionará una relación razonable para las resistencias R_1 y R_2 del diseño que conforman la ganancia del circuito, que resultará de un valor de 4.

Una vez fijada la tensión V_1 se colocará, a continuación del divisor de tensión, el segundo amplificador en configuración de seguidor de tensión. Para comprobar que su montaje es correcto, basta con corroborar que coloca a su salida la tensión V_1 que toma de su entrada sin alterar su valor.

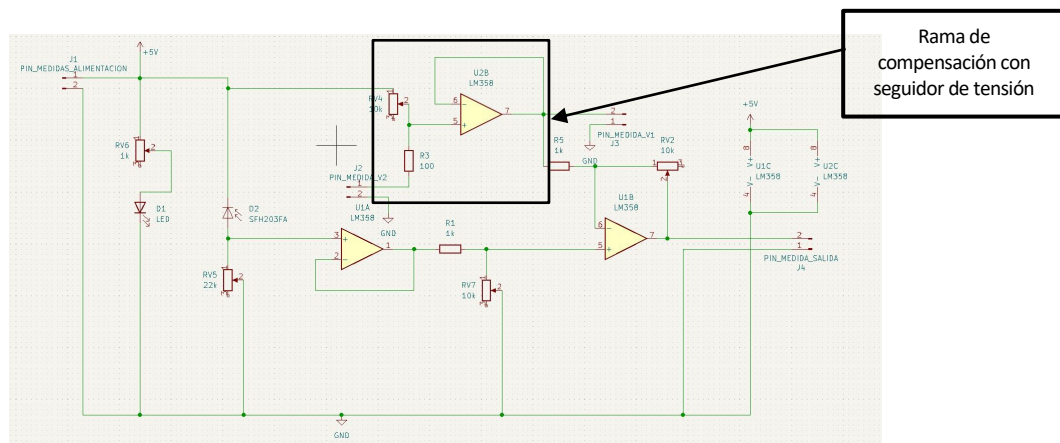


Figura 39: Rama de compensación con amplificador seguidor de tensión.

El siguiente montaje a realizar, es el de el amplificador en configuración de amplificador restador, que toma las tensiones V_1 y V_2 (salidas del divisor de tensión y del fotodiodo respectivamente) como entradas. Para comprobar que el montaje se ha realizado correctamente, basta con observar si se cumple la expresión que rige su funcionamiento, es decir, comprobar que realiza correctamente la resta de tensiones V_2 y V_1 y que el resultado se multiplica correctamente por la ganancia de 4 del montaje y el resultado es colocado a la salida para cada caso de valor de V_2 . Tras la realización de las mediciones para los diferentes casos de las medidas del fotodiodo, se ha comprobado que el montaje realiza correctamente su función y que coloca a su salida para el caso de mucha luz 5V, para el caso de poca luz 0V, para el caso de lámina amarilla 4V y para el caso de lámina roja 1V. Con ello, podemos dar por válido el diseño, montaje y medidas del circuito.

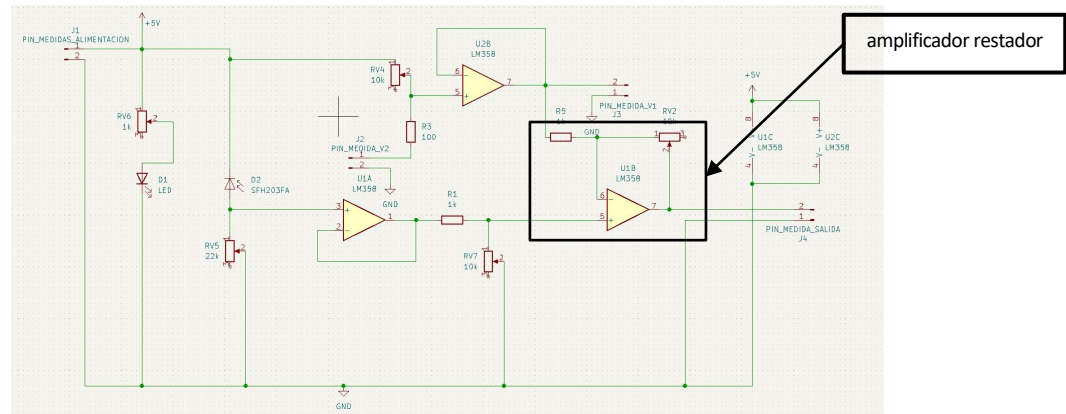


Figura 40: Amplificador restador.

Una vez comprendidos y montados los diferentes elementos del circuito y el funcionamiento de cada uno de ellos, pasemos ahora a detallar cómo se realiza la conversión del valor de salida del sensor de luz a los valores de salida esperados por el microcontrolador según el color detectado. Cabe destacar, que para la realización de estas pruebas se ha hecho uso de una lámina de color amarillo y otra de color rojo con el objetivo de, colocándolas entre el fotodiodo y el LED, simular el comportamiento de la muestra.

- Si sensor detecta rojo:

En este caso, el valor de tensión de salida del sensor, V_2 , es de 1.35V (ya que se ha comprobado mediante un multímetro en modo de lector de tensión en el punto de tensión V_2). Como la salida de tensión deseada para el caso de detectar rojo es de un valor inferior a 3V pero superior a 0V, como puede ser un valor entre 0.5V y 2.5V, pues ajustaremos el valor de compensación, V_1 , a un valor de 1.1V, para que al entrar en el amplificador restador, que cuenta con una ganancia de 4, se observe a la salida un valor de tensión de 1V, que es un valor válido.

➤ Caso rojo: $V_2 = 1.35V$, $V_1 = 1.1V$, $A = 4$, $V_{out} = 1V$

- Si sensor detecta amarillo:

En este caso, el valor de tensión de salida del sensor, V_2 , es de 2.1V (ya que también se ha comprobado mediante un multímetro en modo de lector de tensión en el punto de tensión V_2). Como la salida de tensión deseada para el caso de detectar amarillo es de un valor superior a 3V pero inferior a 5V, como puede ser un valor entre 3.5V y 4.5V, pues ajustaremos el valor de compensación, V_1 , a un valor de 1.1V, para que al entrar en el amplificador restador, que cuenta con una ganancia de 4, se observe a la salida un valor de tensión de 4V, que es un valor válido.

➤ Caso Amarillo: $V_2 = 2.1V$, $V_1 = 1.1V$, $A = 4$, $V_{out} = 4V$.

Como se puede comprobar, mediante un método tan sencillo de montaje paulatino, de pruebas parciales y acumulativas de montaje, se ha llevado a cabo tanto el ajuste de valores, como la comprobación del funcionamiento del montaje, consiguiendo así, conocer el valor que debemos de colocarle a los potenciómetros en la placa posteriormente fabricada y a su vez, estar seguros de que nuestro diseño, va a cumplir la función que queremos una vez fabricado e integrado con el resto de bloques del proyecto.

6.3 Fabricación

La tecnología propuesta para la fabricación de esta parte del proyecto es PCB (Printed Circuit Board o Placa de Circuito Impreso). Su elección es debido, entre otros aspectos, a sus buenas prestaciones en cuanto a resistencia, simplicidad y relativa facilidad de fabricación manual.

El objetivo en el diseño de la placa es conseguir el dispositivo más pequeño y sencillo posible. Para ello, las dimensiones finales de la placa (incluidos márgenes) resultaron de 50 x 50 mm.

Para el diseño del esquemático y posteriormente, de la máscara de fabricación del circuito diseñado, se ha hecho uso del *Software* “KICAD” [9], herramienta ampliamente empleada en el diseño de placas en tecnología PCB.

El diseño electrónico del esquemático se muestra a continuación:

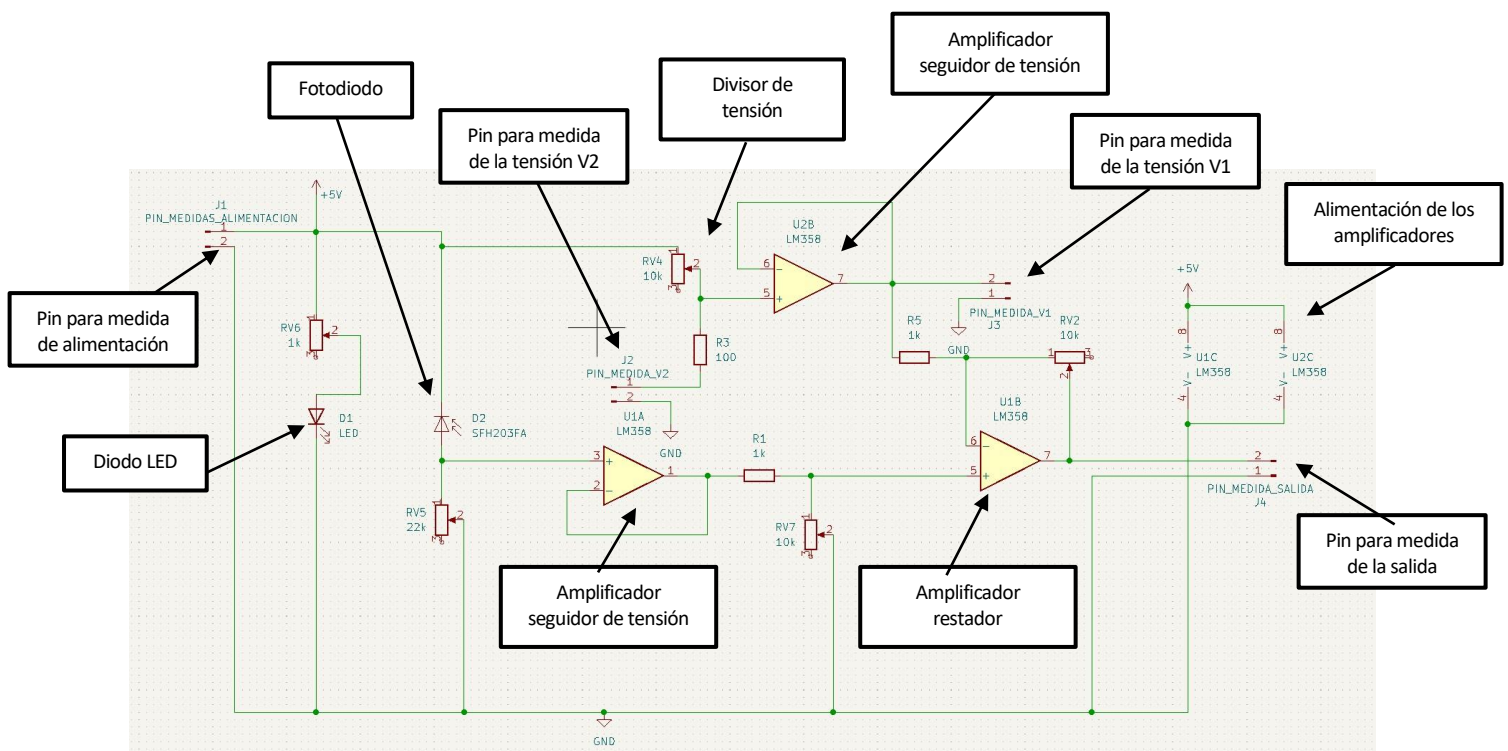


Figura 41. Esquema del bloque de control de temperatura para fabricación.

Una vez se ha diseñado el circuito electrónico, se pasa al diseño de la máscara fotolitográfica, ya que se va a realizar un proceso de fabricación fotolitográfica. El diseño de esta máscara se realiza también en el programa “KICAD”. El diseño se ha realizado esta vez a doble cara, por lo que se encontrarán pistas en ambas caras de la placa. En el diseño realizado en el software, se pueden diferenciar fácilmente las pistas pertenecientes a cada cara, ya que las que se colocan sobre la cara inferior cuentan con un color rojizo y las que se colocan por la cara superior, con un color azulado. El resultado de este proceso de diseño y enrutado se muestra en la siguiente figura:

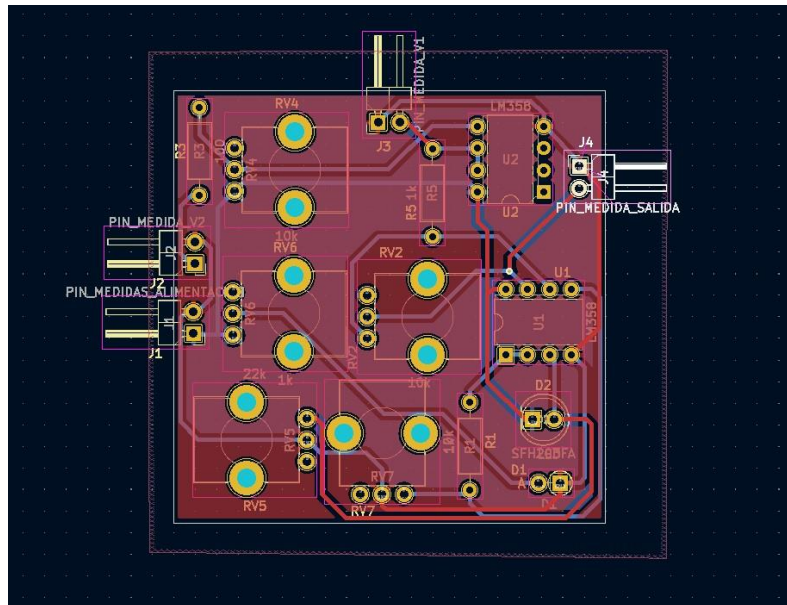


Figura 42. Diseño de placa para la obtención de máscara de fabricación.

Una vez obtenidas las dos máscaras (una para cada cara de la placa), se imprimen en papel vegetal. El diseño de las máscaras que se ha impreso en el papel vegetal se muestra a continuación:

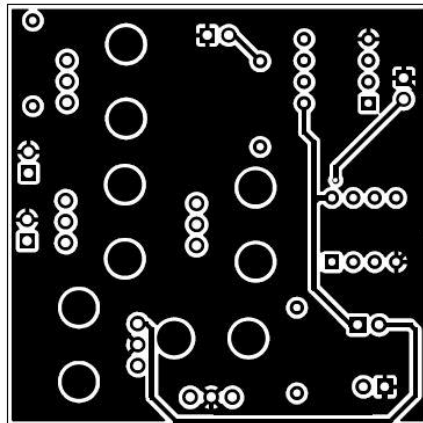


Figura 43. Front layer.

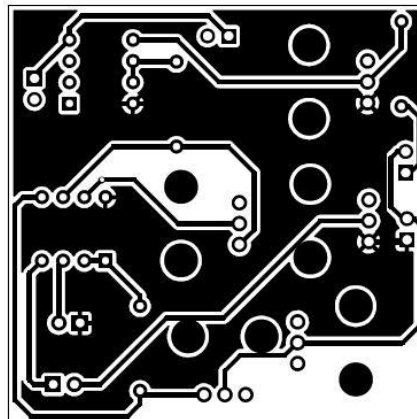


Figura 44. Back layer.

Se coloca una máscara sobre cada cara de la placa de fibra de vidrio, la cual esta vez se va a encontrar recubierta por cobre en sus dos caras, atendiendo a que queden bien centradas y alineadas en su interior. Tras ello, se coloca cuidadosamente la placa en el interior de la insoladora UV (Ultravioleta) empleada en el anterior proceso de fabricación.

El dibujo de las máscaras se va a transferir a la placa de fibra de vidrio, la cual se encuentra recubierta por una fina capa de cobre y sobre él, una película fotosensible. Esta transferencia se realiza mediante la insoladora UV.

Una vez depositada en la insoladora, se coloca el cristal superior y se procede a la realización del vacío, mediante el cual, las máscaras y la placa de fibra de vidrio se encontrarán totalmente pegados entre sí. Tras ello, elegimos proceso de exposición a doble cara y cerramos la tapa superior de la insoladora y la dejamos actuar un tipo entorno a 3 minutos.

Tras ello, se levanta la tapa y se apaga la bomba de vacío para que se desprenda el cristal y poder retirar la placa.

Con este proceso se ha conseguido, que los rayos UV de la insoladora, en aquellas zonas no protegidas por las mascararas, activen la resina fotosensible de la placa. La correcta implementación del diseño, podrá comprobarse mediante inspección visual, ya que se podrá observar que las zonas expuestas a la luz tendrá un tono diferente a las zonas protegidas por las máscaras.

El siguiente paso a realizar es el revelado. Para ello, se hace uso de la sosa caustica o líquido revelador, empleado en el anterior proceso de fabricación, el cual se deposita en un recipiente lo suficientemente grande como para poder ser introducida la placa. Este paso sirve, para crear una capa protectora sobre las zonas de la placa que no han recibido incidencia por parte de los rayos UV (protegidos por la máscara), para evitar que el ácido, empleado en el paso posterior, ataque estas zonas.

A medida que la resina se va desprendiendo, podremos observar que el líquido revelador va cambiando su color a un tono más intenso. El proceso se alargará tanto como creamos conveniente, ya que se deberá de ir inspeccionando el desarrollo del proceso y se detendrá cuando se crea que ya es notoriamente visible el dibujo transferido por la máscara. Tras este paso, el dibujo transferido por la máscara resaltará en la placa.

A continuación, se enjuaga la placa con agua del grifo y se seca cuidadosamente con papel.

El siguiente paso requiere de la preparación del ácido. Para ello, se emplea un recipiente en el cual añadimos 2/4 partes de agua del grifo, 1/4 parte de agua destilada y 1/4 parte de agua fuerte. Una vez preparado, se vierte en un recipiente en el que al menos se pueda introducir la placa. Como podemos comprobar, este preparado es el mismo que el empleado en el proceso de fabricación del bloque anterior, por lo que si se ha reservado de su uso anterior, puede ser empleado nuevamente en este momento.

Una vez tengamos disponible el ácido o líquido atacante, sumergiremos la placa en él, consiguiendo con ello, eliminar el cobre que no ha sido protegido por la sosa caustica en el paso anterior. Se podrá comprobar que a medida que transcurre el tiempo y el cobre se va desprendiendo de la placa, el líquido atacante irá cambiando su color a un tono más azulado. El proceso durará tanto como tarde en desprenderse el cobre. La parte de la placa a la que ha atacado el ácido y le ha eliminado el cobre, adquiere tras este proceso, un tono amarillento, ya que deja ver la capa de fibra de vidrio que soportaba al cobre en esas zonas.

A continuación, se volverá a enjuagar la placa con agua del grifo y se secará cuidadosamente con papel.

Para eliminar los bordes sobrantes de la placa y así conservar solo la parte útil, emplearemos la guillotina para cortar los bordes.

Tras este paso, comprobaremos que el dispositivo, por ambas caras, es una fiel representación de la máscara diseñada y colocada sobre cada cara al principio del proceso de fabricación.

A continuación, se procederá al taladrado de los PADS. Este paso es necesario ya que para el diseño de la placa se han empleado componentes de tipo THT (de orificio pasante) que van insertados en los PADS de la placa. Estos orificios se realizan mediante un banco de trabajo el cual soporta a una taladradora, a la cual hemos colocado una broca correspondiente al diámetro de los PADS de la placa.

Sobre el cobre aún permanecerá una capa protectora de resina, cuya función es protegerlo de la oxidación, es por ello que para dejar al cobre expuesto, vertemos un poco de acetona en un poco de papel y lo deslizamos suavemente sobre ambas superficies de la placa. Comprobaremos que ahora la placa brillará más al incidirle la luz en ambas caras.

Finalmente, solo queda soldar los componentes a la placa, para ello se hará uso de un soldador y un rollo de estaño. Dichos componentes, se introducirán por la capa superior del diseño y se soldarán por la inferior y, según marque el diseño, por la superior. Los componentes que cuenten con pistas por la cara superior son los

que deben de ser soldados además por la cara superior además de por la inferior. En la siguiente imagen se muestra el resultado final del proceso de fabricación:

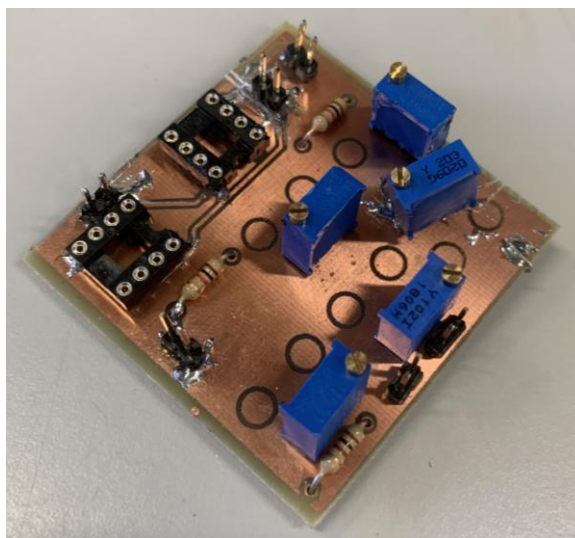


Figura 45. Vista superior del resultado de la fabricación de la placa del bloque sistema de detección por absorción.

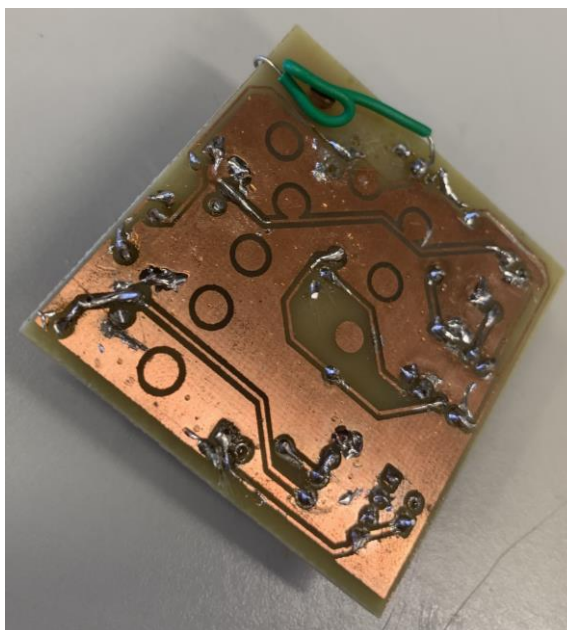


Figura 46. Vista inferior del resultado de la fabricación de la placa del bloque sistema de detección por absorción.

Aunque el proceso de fabricación de la placa queda concluido, es recomendable realizar una serie de comprobaciones antes de poner en funcionamiento esta parte del circuito. Es un paso opcional aunque muy recomendable, puesto que ayuda a detectar defectos de fabricación tales como, cortos en pistas o mal contacto entre componentes y placa, entre otros.

Este proceso de comprobación se ha llevado a cabo mediante el empleo de un multímetro en modo continuidad, se ha ido verificando que todos los componentes mantenían contacto con los componentes correctos a lo largo de toda la placa.

Para finalizar la fabricación de este bloque, se procede al montaje del fotodiodo y del LED dentro de la carcasa de soporte específicamente diseñados para ellos junto con el calentador y el dispositivo LOC. Haremos uso de una serie de tornillos y tuercas para la fijación de estos 4 elementos. El resultado del montaje de dichos elementos se muestra en la siguiente figura:

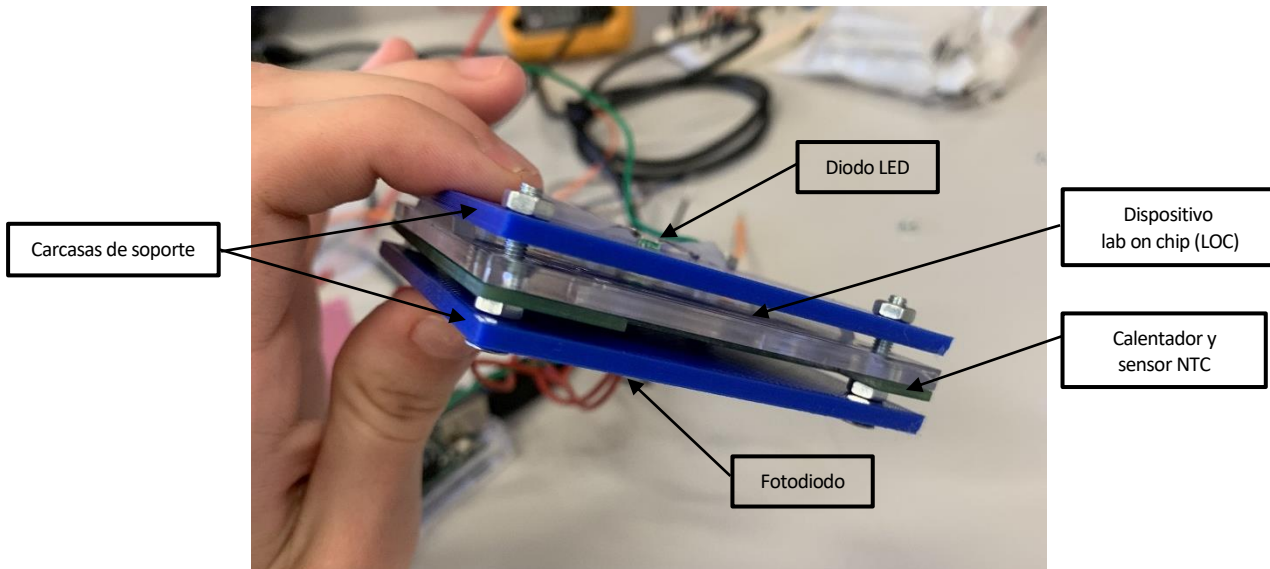


Figura 47. Montaje LED, fotodiodo, LOC y calentador con sensor NTC.

6.4 Pruebas

Una vez fabricado el dispositivo, llega el momento de su puesta en marcha y sometimiento a pruebas para comprobar su correcto funcionamiento.

Como se comentó anteriormente en el proceso de fabricación, la primera prueba a la que debe de someterse el dispositivo es a la comprobación de la continuidad de todas las pistas mediante un multímetro en modo continuidad y la corroboración de que todos los componentes, se conectan correctamente con los componentes a los que deben de ir conectados y no tienen conexiones adicionales debido a fallos en la fabricación.

A continuación, se suministra alimentación a la placa y se procede al ajuste de los valores establecidos para los potenciómetros en la fase de pruebas previas en la *protoboard* para los potenciómetros y el ajuste de la tensión V_1 al valor que en esa fase definimos. Para ello, haremos uso de un multímetro tanto en modo de tensión continua como en modo de resistencia.

Una vez realizado este ajuste del valor de los componentes de la placa, se realiza el mismo procedimiento que el propuesto para la prueba del circuito en la placa de pruebas:

1. Exponemos el fotodiodo a mucha luz:

En este caso, observaremos que la salida del circuito está saturada y proporciona el máximo valor posible, esto es así debido a que el sensor de luz está saturando y desperdiendo el mayor valor de medida posible, 5V, por lo que en la salida del bloque también veremos reflejada esta situación, desprendiéndose a la salida un valor de 5V.

2. Colocamos lámina de color amarillo entre el LED y el fotodiodo:

En este caso, observaremos que la salida del sensor posee valores considerables debido a las características del color amarillo ya que es un color que deja pasar bastante cantidad de luz verde. El sensor desprende a su salida valores en torno a 2.1V, lo que provoca que a la salida del circuito se observen valores en torno a 4V.

3. Colocamos lámina de color rojo entre el LED y el fotodiodo:

En este caso, observaremos que la salida del sensor posee valores inferiores al caso anterior debido a las características del color rojo, ya que es un color que es complementario a la luz verde del LED y que por tanto, deja pasar una menor cantidad de luz. El sensor desprende a su salida valores en torno a 1.35V, lo que provoca que a la salida del circuito se observen valores en torno a 1V.

4. Exponemos al fotodiodo a la total oscuridad apagando el LED:

En este caso, observaremos que el sensor no capta medidas de luz puesto que está expuesto a la mayor oscuridad posible y proporciona el mínimo valor posible, desprendiendo un valor en torno a 0V. Esto provocará que la salida del circuiio desprenda valores en torno a 0V ya que el sensor no está suministrando tensiones y está saurando la salida por debado de 0V.

Una vez comprobado que el diseño está bien realizado, calibrado y funciona correctamente, es el momento de proceder a su unión con el Arduino.

El mejor modo de comprobar el correcto funcionamiento de la union de la placa con el microcontrolador es mediante los datos que este ultimo muestra por pantalla (el funcionamiento de esta última se explicará en el siguiente bloque del proyecto). Para ello, realizamos el montaje del conjunto según mostramos en la Figura 48 y realizamos la siguiente prueba:

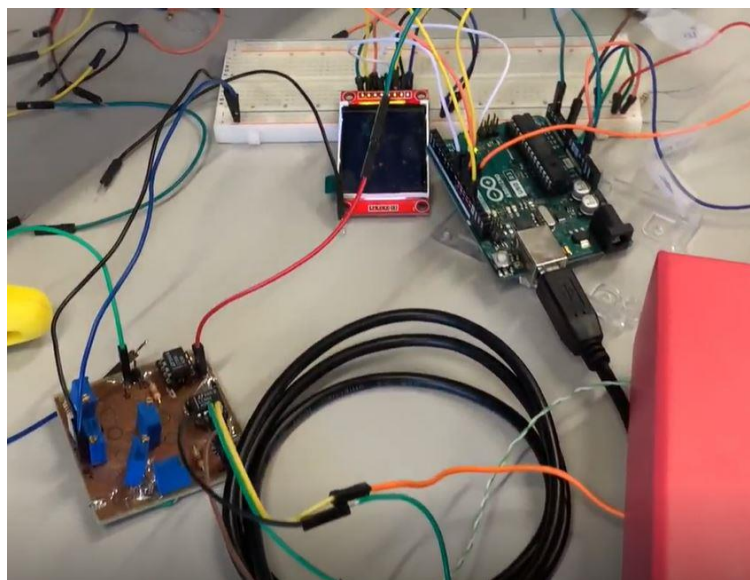


Figura 48. Montaje del bloque de detección por absorbanza para la realización de las pruebas de comprobación.

1. Coloco lámina roja entre LED y fotodiodo:

En este caso, la placa va a realizar tanto la medida por parte del sensor de la cantidad de luz medida como la amplificación y conversión de la tensión de salida del sensor a nuestros valores de interés. En

este caso, vamos a comprobar que se desprende un valor inferior a 3V. Este valor recibido debe de ser un valor en torno a una tensión de 1V (ya que se ha diseñado para que en este caso la salida tenga este valor). Arduino recibirá esta tensión y debe de decidir que el paciente es “negativo” en la prueba y pintar por pantalla este término en color rojo además de la tensión recibida y empleada para la toma de esta decisión (más adelante se mostrará más información relativa a la pantalla). Todo este proceso se ha realizado y se ha podido comprobar que, exitosamente, hemos obtenido los resultados obtenidos como se puede observar en la siguiente imagen:

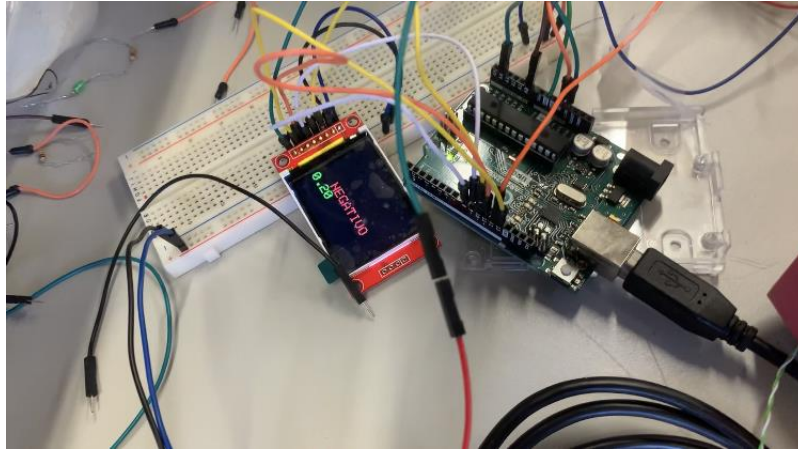


Figura 49. Salida por pantalla del bloque de detección por absorbanza en el caso de detección de color rojo.

2. Coloco lámina amarilla entre LED y fotodiodo:

En este caso, la placa va a realizar tanto la medida por parte del sensor de la cantidad de luz medida y la amplificación y conversión de la tensión de salida del sensor a nuestros valores de interés. En este caso, vamos a comprobar que se desprende un valor superior a 3V. Este valor recibido debe de ser un valor en torno a una tensión de 4V (ya que se ha diseñado para que en este caso la salida tenga este valor). Arduino recibirá esta tensión y debe de decidir que el paciente es “positivo” en la prueba y pintar por pantalla este término en color amarillo además de la tensión recibida y empleada para la toma de esta decisión (más adelante se mostrará más información relativa a la pantalla). Todo este proceso se ha realizado y se ha podido comprobar que, exitosamente, hemos obtenido los resultados obtenidos como se puede observar en la siguiente imagen:

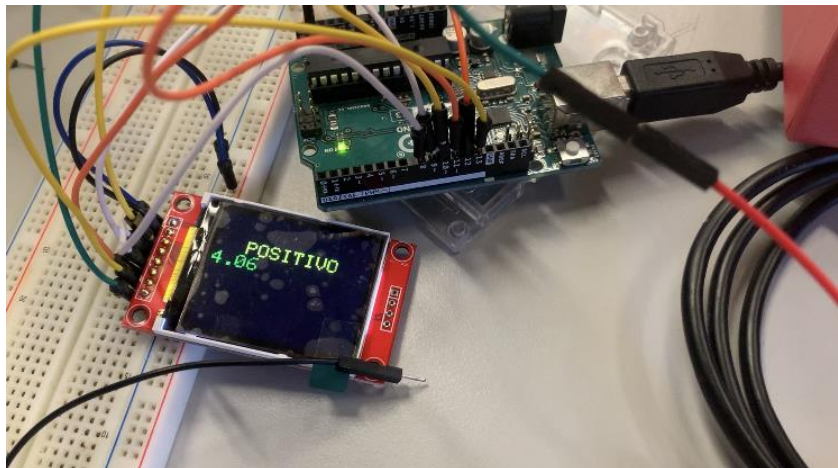


Figura 50. Salida por pantalla del bloque de detección por absorbanza en el caso de detección de color amarillo.

Tras todo este proceso de pruebas, se ha comprobado que el bloque cumple con su función de una forma correcta y acorde a lo deseado, por lo que se puede dar el bloque por válido y pasar a centrar nuestra atención en el bloque final que conforma el proyecto.

7 BLOQUE 3. PANTALLA

El objetivo principal de este bloque, consiste en la comprensión de los objetivos y el funcionamiento de un elemento tan fundamental como es la pantalla o display del dispositivo.

La importancia de este bloque radica, en que es el elemento mediante el cual el usuario recibe la información de los resultados de la prueba, por lo que el objetivo que se persigue con el bloque es que se muestren de una forma clara y concisa para su comprensión.

7.1 Pantalla

La pantalla conforma el elemento final del proyecto y que permite que el usuario adquiera información de los resultados desprendidos del mismo.

La opción elegida como pantalla para esta aplicación es el modelo SPI TFT de 1.8" 128x160 píxeles que es una pantalla compatible con Arduino y con otros dispositivos tales como una Raspberry Pi. Esta pantalla no es un dispositivo táctil sino que la única forma de graficar sobre ella es mediante órdenes de un microprocesador como en nuestro caso es Arduino. Al no ser un dispositivo táctil, no va a permitir al usuario interactuar con ella, algo que andamos buscando, ya que solo se desea que el usuario obtenga información de los resultados, no que actúe sobre ellos o que interactue con el sistema de otra forma que no sea introduciendo la muestra en la entrada del dispositivo LOC.

A continuación, se muestra una imagen de la pantalla que hemos empleado en este proyecto:

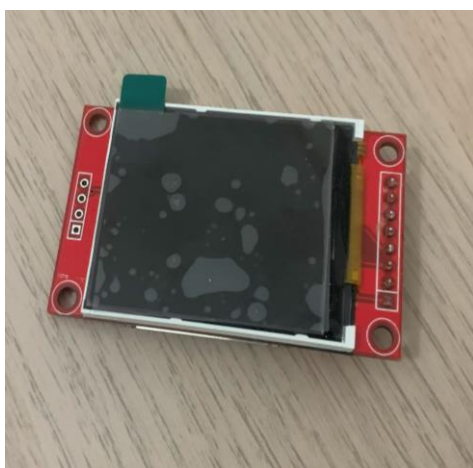


Figura 51. Pantalla parte superior.



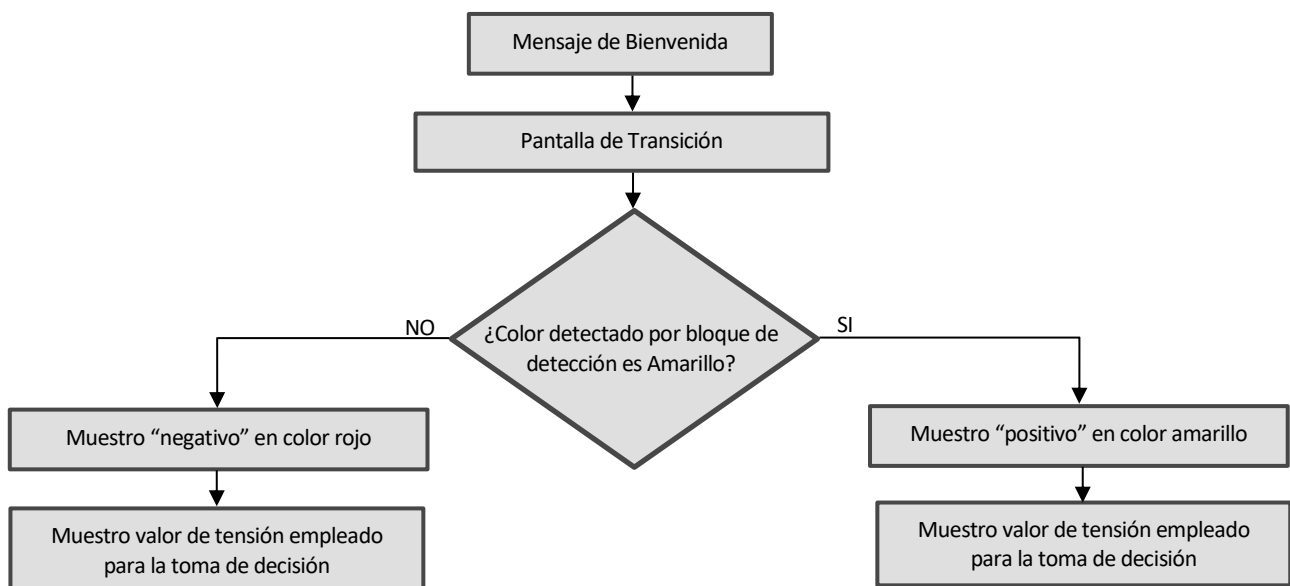
Figura 52. Pantalla parte inferior.

Para poder interactuar con Arduino, se ha colocado la pantalla en una *protoboard* y se han cableado sus pines hacia los pines de salida de Arduino. La correspondencia entre los pines de la pantalla y los pines de Arduino empleados se muestran en la siguiente figura:

Pines Pantalla	Pines Arduino
LED	3.3 V
SCK	D13
SDA	D11
A0	D9
RESET	D8
CS	D10
GND	GND
VCC	5V

Tabla 2. Correspondencia entre los pines de la pantalla y los pines de Arduino.

Una vez que se ha comprendido, tanto el objetivo como el modo de interconexión de este módulo con el dispositivo Arduino, se va a proceder a ilustrar un diagrama con el que comprender mejor su funcionamiento:



El diagrama anterior muestra la secuencia de órdenes que envía el controlador a la pantalla para que lo represente gráficamente.

Inicialmente, se va a mostrar un mensaje de bienvenida en el que se podrá encontrar tanto el título como el lugar en el que se ha desarrollado el proyecto. A continuación, se muestra una pantalla de transición que va a dar paso a la pantalla principal en la que se van a mostrar los resultados posteriormente. Cabe resaltar que tanto el mensaje de bienvenida como la pantalla de transición, son pasos que sigue la pantalla durante su inicialización. Tras la pantalla de transición, el microcontrolador va a enviar continuamente datos a la pantalla, que se irá actualizando muy rápidamente con estos nuevos datos en cada momento, es por ello, que se podrá comprobar, durante el funcionamiento del dispositivo, un rápido parpadeo de la pantalla. Este parpadeo es debido a la actualización de datos de la que se habla, ya que la pantalla se tiñe en negro para posteriormente mostrar nuevos datos que le facilita el microcontrolador. Estos datos que envía el controlador en esta fase, dependerán de si se ha detectado color rojo o amarillo como resultado del método LAMP.

- Si se ha detectado amarillo:

En este caso, el microcontrolador da indicaciones para que la pantalla muestre en color amarillo, la palabra “POSITIVO” y, bajo ella, dibuje en color verde el valor de tensión de salida del bloque de detección por absorbancia con la cual se ha tomado esta decisión.

A continuación, se muestra una imagen del microcontrolador conectado a la pantalla y ésta mostrando lo descrito previamente.

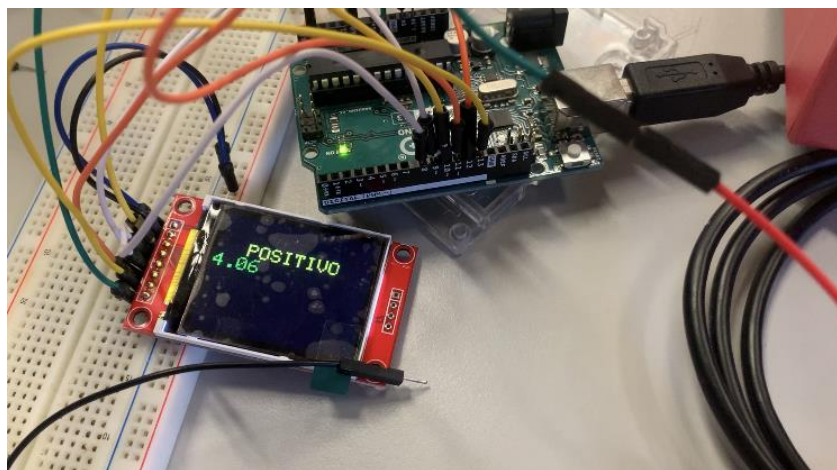


Figura 53. Pantalla conectada a Arduino con mensaje de resultado de detección “POSITIVO”.

- Si se ha detectado rojo:

En este caso, el microcontrolador da indicaciones para que la pantalla muestre en color rojo, la palabra “NEGATIVO” y, bajo ella, dibuje en color verde el valor de tensión de salida del bloque de detección por absorbancia con la cual se ha tomado esta decisión. Apareciaremos fácilmente, que ambos textos se encuentran desplazados con respecto a la ubicación de los textos en el caso de la detección de amarillo. Esto es así para enfatizar y resaltar aún más cada uno de los dos casos por parte del usuario.

A continuación, se muestra una imagen del microcontrolador conectado a la pantalla y ésta mostrando lo descrito previamente.

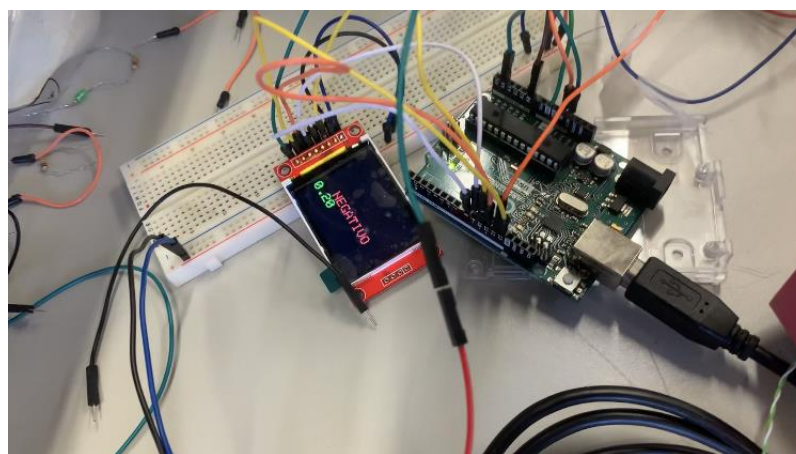


Figura 54. Pantalla conectada a Arduino con mensaje de resultado de detección “NEGATIVO”.

8 DISPOSITIVO FINAL Y PRUEBAS

Para concluir con el desarrollo del proyecto, hay que realizar la integración de cada bloque que lo conforma y realizar unas pruebas para verificar que la integración se ha realizado correctamente y el funcionamiento que realiza el dispositivo final es el deseado en el diseño. Es precisamente eso, lo que se pretende mostrar en este apartado del proyecto.

Para la integración de los diferentes bloques del dispositivo final y la realización de pruebas, se va a hacer uso de algunos elementos adicionales, tales como:

- Fuente de alimentación.
- Multímetro digital.
- Caja de oscuridad.
- Cableado.
- Destornilladores y alicates.
- Láminas de color rojo y amarillo.

Como se ha visto en anteriores apartados, ya se ha realizado el ajuste y las pruebas a cada bloque por separado, por lo que se da por correcto el funcionamiento de cada bloque y solo se va a proceder a la exposición de la integración de los bloques y las pruebas de integración que a esto va unido.

Para comenzar con las pruebas de integración, se ha comenzado introduciendo el bloque formado por el LED, el dispositivo lab on chip, el calentador y el fotodiodo en la caja utilizada para propocionarle oscuridad al circuito. A continuación, se ha conectado la salida de tensión del bloque de detección por absorbanca al pin de entrada correspondiente de Arduino y se ha alimentado la placa a 5V desde Arduino.

Ahora vamos a proceder a integrar el bloque de control de temperatura. Para ello, comenzamos conectando el sensor de temperatura al pin de entrada correspondiente de Arduino y el pin de salida de Arduino que controla al driver, al pin de la placa dedicado a esta comunicación. A continuación, alimentaremos la placa mediante Arduino y la fuente de alimentación. Mediante Arduino, suministramos la tensión de 5V y mediante la fuente, la tensión de 12V. Finalmente, solo habría que conectar el puerto serie de Arduino al ordenador para monitorizar las lecturas del sensor de temperatura, y por otro lado, la conexión de la pantalla mediante una *protoboard* y cableado a Arduino.

Adicionalmente, se puede colocar un termopar para controlar que las lecturas del sensor de temperatura NTC corresponden con el valor real de temperatura en el punto de interés. En nuestro caso se hará uso, ya que es una buena práctica para detección y corrección de errores.

Con todo ello, el circuito queda integrado totalmente. El montaje total del dispositivo se muestra en las siguientes figuras:

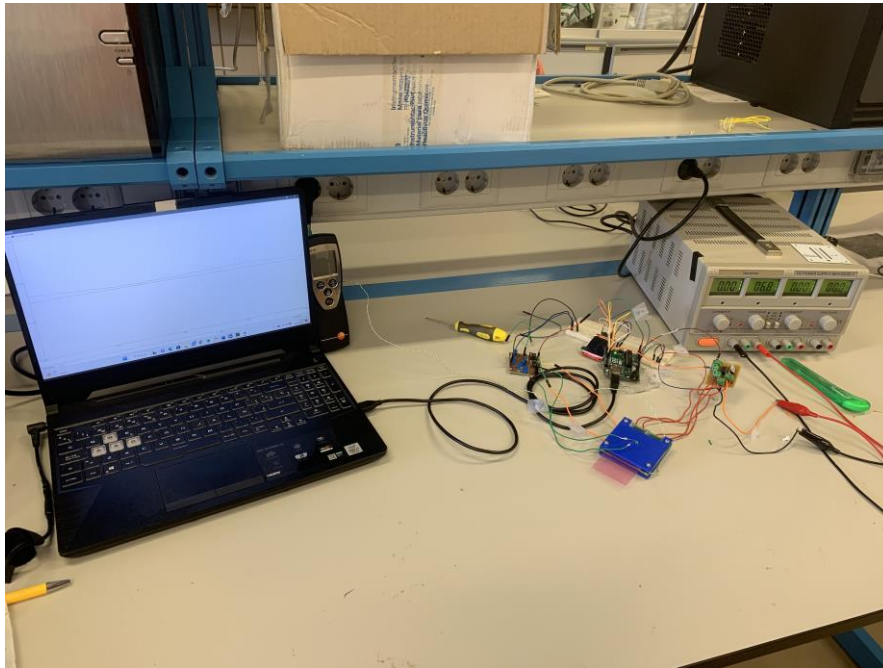


Figura 55. Montaje total del circuito.

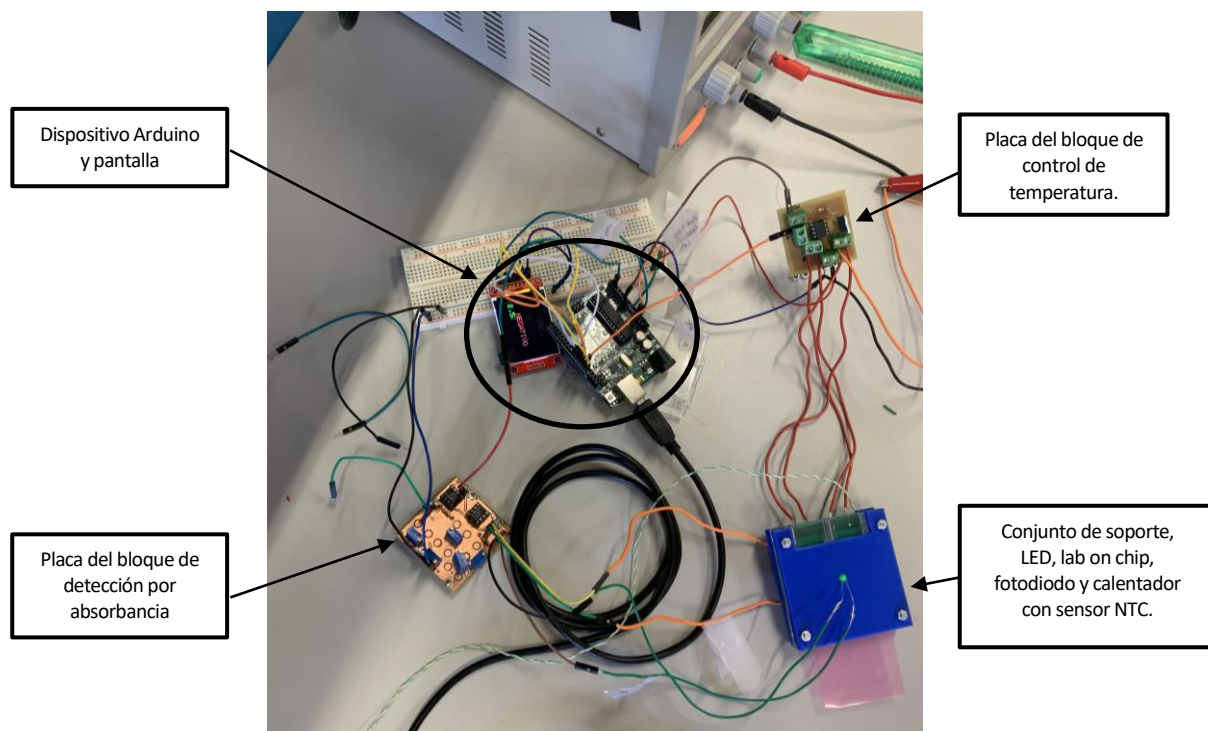


Figura 56. Interconexión de todos los bloques del dispositivo final.

Una vez realizado el montaje del dispositivo final, solo queda la realización de las pruebas finales para la comprobación de su correcto funcionamiento.

Llegados a este punto, cabe realizar una aclaración en cuanto a la realización de las pruebas. Por motivos de simplicidad y practicidad, no se van a emplear los fluidos del dispositivo lab on chip como elemento a detectar, sino que en su lugar, se van a emplear láminas de colores que simulan su comportamiento y que serán

introducidas entre el fotodiodo y el dispositivo lab on chip para simular el color que adquiriría el fluido que recorra el lab on chip.

Comenzamos la realización de las pruebas comprobando si, efectivamente, la sustancia se calienta hasta la temperatura LAMP y el dispositivo consigue mantenerla a lo largo del tiempo LAMP de 20 minutos. Para ello, haremos uso de la herramienta *serial plotter* que facilita Arduino para visualizar la medida de temperatura que va leyendo el sensor NTC de temperatura y del termopar, que mostrará si se ha realizado correctamente la caracterización del dispositivo.

Para mostrar el correcto funcionamiento de esta primera parte del funcionamiento del dispositivo, se añade a continuación, una imagen de la gráfica que muestra Arduino mediante la herramienta *serial plotter* junto con el termopar colocado junto al monitor del ordenador para comparar resultados.

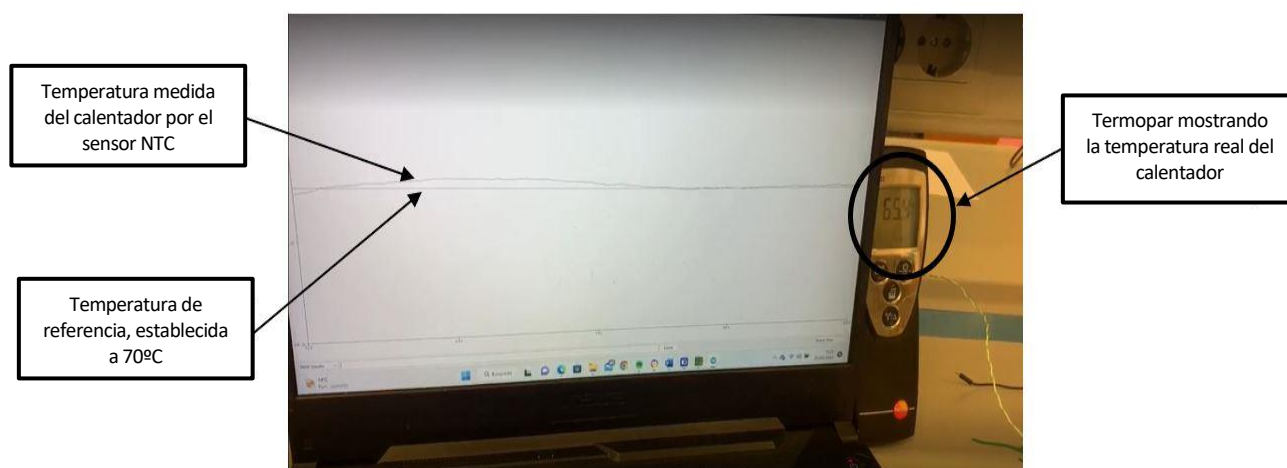


Figura 57. Prueba de control de temperatura.

En la anterior imagen se puede observar que, tal y como cabría esperar, el dispositivo funciona correctamente en este sentido, ya que en el monitor se puede observar que se consigue mantener la gráfica roja, que representa la media realizada por el sensor NTC, en torno a la gráfica azul, que es la referencia establecida a los 70°C, descritos en el apartado de caracterización del primer bloque y que, efectivamente, corresponden a una temperatura en torno a los 65°C y que, bajo ningún concepto, se marca 80°C en el termopar ni se baja a menos de 60°C ya que eso significaría que la prueba LAMP fallaría al alcanzarse la temperatura de inactivación de la sustancia *Bst polimerasa*.

A continuación, se debe dejar enfriar el dispositivo, ya que la electrónica que rodea al calentador se encontrará a muy altas temperaturas y no se encontrará funcionando correctamente hasta que no se alcance la temperatura ambiente de nuevo. Es por ello que, hasta el momento, no hemos centrado nuestra atención en los resultados mostrados por la pantalla como salida del dispositivo, ya que estos resultados no son medidas fiables. Para contrarrestar este efecto por parte del bloque de detección, se ha introducido en su código una herramienta de control temporal, en la que se indica el tiempo que debe de esperarse antes de encender y mostrar resultados en la pantalla.

Una vez se compruebe que el dispositivo se encuentra a temperatura ambiente, se procede a realizar la detección de los resultados obtenidos. Para ello, se realizarán dos pruebas iguales, con la salvedad del color de la lámina de prueba que es introducida al dispositivo. Ambas pruebas se muestran a continuación:

1. Uso de lámina amarilla, simulando caso “positivo” del paciente:

Introducimos una lámina de color amarillo entre el lab on chip y el fotodiodo como se muestra en la siguiente figura:

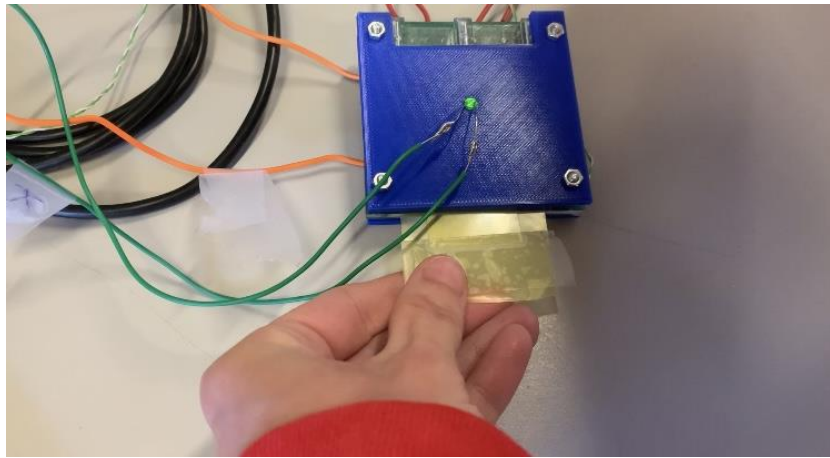


Figura 58. Introducción de lámina amarilla de prueba.

En este caso, debemos de comprobar que la pantalla se inicialice correctamente y que se muestre el resultado “POSITIVO” en color amarillo y que, bajo ella, se representa la salida del bloque de detección que consta de un valor de tensión superior a 3V.

En nuestro caso, se ha comprobado que el circuito se comporta correctamente para este caso de aplicación y que la pantalla muestra unos resultados correctos y fiables. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente imagen:

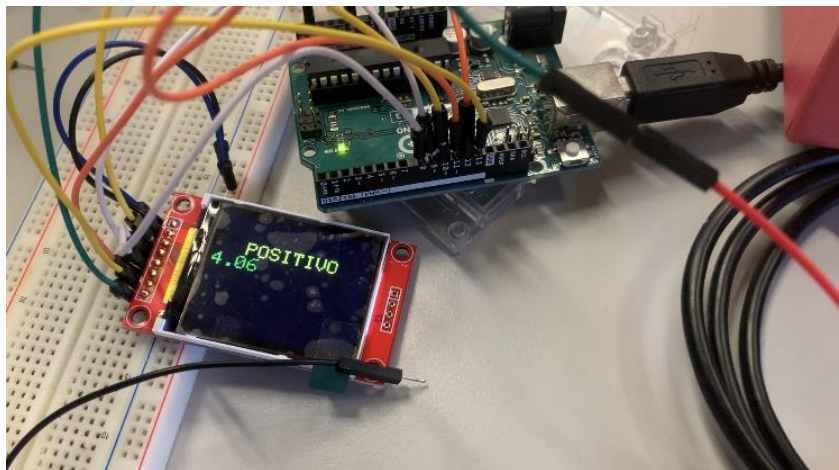


Figura 59. Pantalla en caso detección de color amarillo.

2. Uso de lámina roja, simulando en caso “negativo” del paciente:

Introducimos una lámina de color rojo entre el lab on chip y el fotodiodo como se muestra en la siguiente figura:

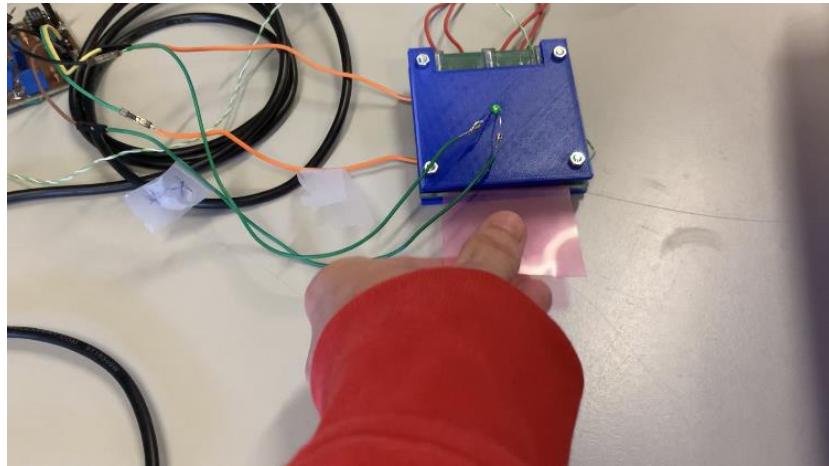


Figura 60. Introducción de lámina roja de prueba.

En este caso, debemos de comprobar que la pantalla se inicialice correctamente y que se muestre el resultado “NEGATIVO” en color rojo y que, bajo ella, se representa la salida del bloque de detección que consta de un valor de tensión inferior a 3V.

En nuestro caso, se ha comprobado que el circuito se comporta correctamente para este caso de aplicación y que la pantalla muestra unos resultados correctos y fiables. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente imagen:

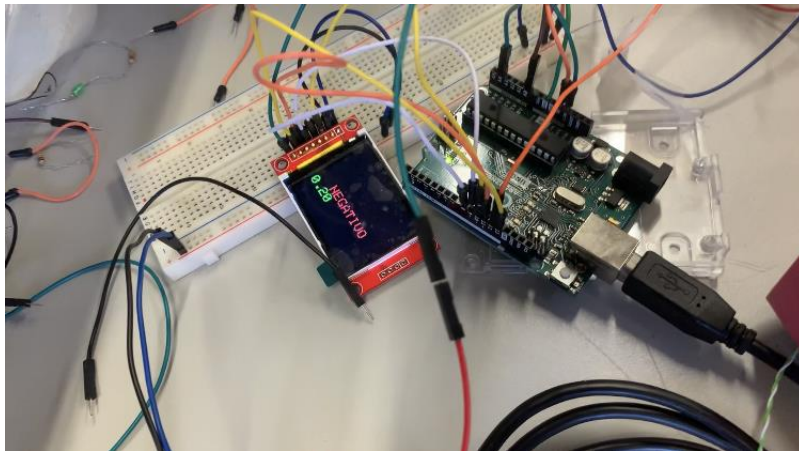


Figura 61. Pantalla en caso detección de color rojo.

Con todo lo anterior comprobado, se demuestran dos cosas. Por un lado, la correcta integración de todos los elementos que conforman el dispositivo y por otro, que el dispositivo se comporta según nuestras expectativas, cumple con los requisitos de diseño y cumple con los objetivos impuestos.

Con todo esto, se puede dar por concluido tanto el diseño como la fabricación y pruebas del dispositivo que se desarrolla en el actual documento, es por ello que a continuación, se va a proceder a la definición de otro aspectos relacionados con el dispositivo como puede ser la hoja de características o los precios.

8.1 Hoja de características – Limitaciones

En este apartado se busca ilustrar, de un modo sencillo y conciso, los aspectos más importantes del sistema para su funcionamiento. Entre los aspectos más importantes que pretendemos ilustrar, encontramos elementos tales como tensiones de alimentación, corrientes, longitudes de onda de los diodos, entre otros.

A continuación, se va a proceder a insertar una serie de tablas aclarativas en las que podemos encontrar valores característicos para los elementos más importantes del sistema, siempre desde el punto de vista de funcionamiento y diseño.

Tensiones de Alimentación	
DISPOSITIVO	TENSIÓN
Placa de Sistema de control de temperatura	5V
Calentador	12V
Driver TC4427	5V
Arduino	Puerto serie
Placa sistema de detección por absorbancia	5V
Amplificadores operacionales (OPAMPs)	5V
Pantalla	5V
LED de pantalla	3.3V

Tabla 3. Tensiones de Alimentación.

Pines de Arduino		
PIN	TIPO DE PIN	FUNCIÓN
3.3V	Output	LED pantalla
5V	Output	Alimentación
A0	Input	Lectura de la temperatura medida por el sensor NTC
A4	Input	Lectura de la medida de la tensión de salida del bloque de detección
D8	Output	Reset pantalla
D9	Output	A0 pantalla
D10	Output	CS pantalla
D11	Output	SDA pantalla
D12	Output	Salida del PID implementado en Arduino
D13	Output	SDK pantalla

Tabla 4. Pines de Arduino.

Temperatura calentador	
ESTADO	TEMPERATURA
Temperatura apagado	20-25°C (Temperatura ambiente)

Temperatura encendido	60-65°C
-----------------------	---------

Tabla 5. Temperatura del calentador.

Corriente del calentador	
Encendido	2.65A

Tabla 6. Corriente del calentador.

Termistor NTC	
CARACTERÍSTICA	VALOR
Resistencia	10 KΩ
Tolerancia	±5%
Máxima potencia nominal	100mW
Encapsulado	0402 (1005M)
Longitud	1mm
Profundidad	0.5mm
altura	0.5mm
Rango de temperaturas de funcionamiento	[-40°C, 125°C]

Tabla 7. Características del termistor NTC.

Parámetros ajustables con potenciómetros	
POTENCIÓMETRO	PARÁMETRO QUE AJUSTA
RV2	Ganancia de la placa
RV4	V1
RV5	V2 y sensibilidad del fotodiodo
RV6	Luminosidad del LED
RV7	Ganancia

Tabla 8. Parámetros ajustables con potenciómetros.

Correspondencia entre pines de pantalla y pines de Arduino	
PANTALLA	ARDUINO
LED	3.3 V
SCK	D13
SDA	D11
A0	D9

RESET	D8
CS	D10
GND	GND
VCC	5V

Tabla 9. Pantalla SPI TFT de 1.8" 128x160 píxeles.

Diodo LED	
CARACTERÍSTICAS	VALORES
Color	Verde
Tipo de montaje	THT
Tensión directa	2.5V
Ángulo de exposición	130°
Intensidad luminosa	12.5mcd
Dimensión	3mm
Longitud de onda predominante	568 nm

Tabla 10. Características diodo LED.

Fotodiodo	
CARACTERÍSTICAS	VALORES
Espectros detectados	Luz visible
Tipo de montaje	THT
Tensión de circuito abierto	12V
Corriente de cortocircuito	5mA
Tiempo de subida típico	6ms
Dimensión	3.5mm
Rango de longitud de onda detectable	[300nm, 820nm]

Tabla 11. Características del fotodiodo.

8.2 Precios

En este apartado, nos centraremos en los precios de los componentes necesarios para la fabricación de cada bloque del sistema para finalmente conseguir, una estimación del precio global del conjunto.

Es importante resaltar, que esta estimación de precios es algo orientativo y puede variar en función del tipo de elementos, del fabricante o de las unidades del dispositivo que se pretenda fabricar. La estimación realizada se ha llevado a cabo tomando en consideración que, aunque se compren las unidades mínimas de cada elemento,

solo se desea fabricar un dispositivo aunque se muestren en las siguientes tablas el precio de venta tanto del elemento unitario como del mínimo que permite el fabricante comprar.

A su vez se debe de tener en cuenta, que no se ha tenido en consideración a la hora de la realización del listado de precios, el coste de diseño y desarrollo, manufactura, certificaciones, maquinaria, entre otras. Solo se ha tenido en cuenta la lista de materiales necesaria para la fabricación del dispositivo.

Bloque 1: Control de temperatura			
ELEMENTO	UNIDADES DE VENTA	PRECIO DE VENTA	PRECIO UNITARIO
Calentador + Sensor NTC	5	20€	4€
Pin	10	3.5€	0.35€
Resistencia	200	4.60€	0.023€
Driver TC4427	5	7.46€	1.49€
Transistor Mosfet tipo N	10	2.90€	0.29€
Placa fotorresistente 1 cara	1	3.94€	3.94€

Tabla 12. Coste bloque control de temperatura.

Tomando en consideración el número de elementos necesarios para la fabricación de este primer bloque, el precio total del bloque de control de temperatura se muestra a continuación:

- Calentador + Sensor NTC
- 5 Pines
- 2 Resistencias
- 1 Driver TC4427
- 1 Transistor Mosfet
- 1 Placa PCB de 1 cara

Coste bloque control de temperatura: **11.52€**

Bloque 2: Sistema de detección por absorbanca			
ELEMENTO	UNIDADES DE VENTA	PRECIO DE VENTA	PRECIO UNITARIO
Pin	10	10.61€	1.061€
Potenciómetro	5	1.25€	0.25€
Diodo LED	25	1.775€	0.071€
Fotodiodo	1	0.72€	0.72€
LM358	25	6.45€	0.258€
Resistencia	200	4.60€	0.023€
Protoboard	1	4.06€	4.06€
Placa fotorresistente 2 caras	1	4.36€	4.36€

Tabla 13. Coste bloque sistema de detección por absorbanza.

Tomando en consideración el número de elementos necesarios para la fabricación de este segundo bloque, el precio total del bloque de sistema de detección por absorbanza se muestra a continuación:

- 8 pines
- 5 Potenciómetros
- 1 Diodo LED
- 1 Fotodiodo
- 2 chips con dos amplificadores LT1490
- 3 Resistencias
- 1 Protoboard
- 1 Placa PCB de 2 caras

Coste bloque de sistema de detección por absorbanza: **19.53€**

Otros costes			
ELEMENTO	UNIDADES DE VENTA	PRECIO DE VENTA	PRECIO UNITARIO
Pantalla	1	8.95€	8.95€
Arduino	1	29.98€	29.98€
Rollo de cableado	30m	7.80€	0.26€/m
Kit cableado para placa	10	1.34€	0.134€
Líquido revelador	1	4.40€	4.40€
Agua fuerte	1	1.06€	1.06€
Agua oxigenada	1	0.85€	0.85€
Acetona	1	3.99€	3.99€

Tabla 14. Otros costes.

Tomando en consideración una estimación de los elementos adicionales necesarios para la fabricación del dispositivo, el coste de otros elementos adicionales se muestra a continuación:

- 1 Pantalla
- 1 Arduino
- 1 metro de cableado
- 2 Kit de cableado para placa de pruebas (protoboard)

- 1 Bote de líquido revelador
- 1 Bote de agua fuerte
- 1 Bote de agua oxigenada
- 1 Bote de acetona

Otros costes: **52.17€**

Tras todo ello y tomando en consideración todos los costes anteriormente estimados, el precio total del dispositivo asciende a un total de:

Coste total: **83.22€**

REFERENCIAS

- [1] *Lab on a chip*. (s/f). Hull.ac.uk. Recuperado el 5 de abril de 2023, de <https://www.hull.ac.uk/work-with-us/research/groups/lab-on-a-chip>
- [2] Lim, Y., Kouzani, A. Z., & Wang, C. M. (2010). Lab-on-a-chip: a component view. *Microsystem Technologies-micro-and Nanosystems-information Storage and Processing Systems*, 16(12), 1995-2015. <https://doi.org/10.1007/s00542-010-1141-6>
- [3] Internacionales, R. C. (2020, agosto 31). *Laboratorios en la palma de tu mano - lab on a chip*. RGT Consultores Internacionales. <https://rgtconsultores.mx/blog/laboratorios-en-la-palma-de-tu-mano-lab-on-a-chip>
- [4] Boles, D. J., Benton, J. L., Siew, G. J., Levy, M. H., Thwar, P. K., Sandahl, M. A., Rouse, J. L., Perkins, L. C., Sudarsan, A. P., Jalili, R., Pamula, V. K., Srinivasan, V., Fair, R. B., Griffin, P. B., Eckhardt, A. E., & Pollack, M. G. (2011). Droplet-based pyrosequencing using digital microfluidics. *Analytical Chemistry*, 83(22), 8439–8447. <https://doi.org/10.1021/ac201416j>
- [5] Hua, Z., Rouse, J. L., Eckhardt, A. E., Srinivasan, V., Pamula, V. K., Schell, W. A., Benton, J. L., Mitchell, T. G., & Pollack, M. G. (2010). Multiplexed real-time polymerase chain reaction on a digital microfluidic platform. *Analytical Chemistry*, 82(6), 2310–2316. <https://doi.org/10.1021/ac902510u>
- [6] Torezin Mendonça, G., Cassaboni Stracke, M., de Oliveira Coelho, B., Bruna Soligo Sanchuki, H., Klassen de Oliveira, V., Klerynton Marchini, F., Lucíola Zanette, D., Nóbrega Aoki, M., Ribeiro Viana, E., & Blanes, L. (2022). A new RT-LAMP-on-a-Chip Instrument for SARS-CoV-2 diagnostics. *Microchemical Journal, Devoted to the Application of Microtechniques in All Branches of Science*, 180(107600), 107600. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2022.107600>

- [7] Wang, P., Yang, L., Guo, B., Shang, Z., Gao, S., & Zhang, X. (2023). Highly sensitive detection of white spot syndrome virus with an RPA-CRISPR combined one-pot method. *Aquaculture*, 567, 739296. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739296>
- [8] Escobedo, P., Ramos-Lorente, C. E., Martínez-Olmos, A., Carvajal, M. A., Ortega-Muñoz, M., Orbe-Payá, I. de, Hernández-Mateo, F., Santoyo-González, F., Capitán-Vallvey, L. F., Palma, A. J., & Erenas, M. M. (2021). Wireless wearable wristband for continuous sweat pH monitoring. *Sensors and Actuators. B, Chemical*, 327(128948), 128948. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2020.128948>
- [9] KICAD, <https://www.kicad.org/>
- [10] NCP15XH103J03RC / Termistor NTC Murata, Resistencia 10k Ω , Carcasa 0402 (1005M), 100mW, 1 x 0.5 x 0.5mm / RS. (s. f.). <https://es.rs-online.com/web/p/termistores/1873482>

ANEXOS

ANEXO 1. CÓDIGO ARDUINO

En el presente anexo, se va a presentar el código desarrollado para el dispositivo Arduino que ejerce las funciones de control de nuestro dispositivo.

El objetivo del código desarrollado, no es otro que el de conseguir que el microprocesador realice las funciones deseadas para su funcionamiento.

No se va a profundizar mucho en la explicación del código que a continuación se adjunta. Esto es debido a que en el propio código se han añadido comentarios que ayudarán al lector a la comprensión tanto del objetivo de cada línea del código como del objetivo final del mismo.

```
//Correspondencia de los pines de la pantalla:
//LED - 3.3v
//SCK - D13
//SDA - D11
//DC - D9 (Esto es A0 en la Pantalla)
//Reset - D8
//CS - D10
//GND - GND
//VCC - 5v

#include <Adafruit_GFX.h> // Libreria que incluye Core graphics library
#include <Adafruit_ST7735.h> // Libreria que incluye Hardware-specific
library
#include <SPI.h>
#include <PID_v1.h> //Libreria que incluye el PID

//Definicion de los pines de la pantalla:
#define TFT_CS 10
#define TFT_RST 8
#define TFT_DC 9

Adafruit_ST7735 tft = Adafruit_ST7735(TFT_CS, TFT_DC, TFT_RST); //Funcion
para establecimiento de pines de la pantalla.
#define TFT_SCLK 13
#define TFT_MOSI 11

//TEMPERATURA:
double Temp_LAMP = 70; // Temperatura del proceso LAMP mas el error de medida
del sensor de temperatura NTC.

double Setpoint, Input, Output;
double voltage;
double Kp = 150, Ki = 0.0, Kd = 100; // Parametros de entrada del controlador
PID, ajustado de forma experimental.
float alfa = 0.05; //Parametro tambien ajustado de forma experimental.
float error = 0; //Error calculado
double medida; // Medida de la temperatura
double medidaf = 0; // Medida de la temperatura filtrada
double salida_opamp; //Medida de tension de salida del bloque de deteccion
```

```

double salida_opampf = 0; // Medida de la tension de salida del bloque de
deteccion filtrada

int R60 = 1330;
float beta60 = 3445.0;
float To = 298.15;
int Vcc = 5;
int Ro = 10000;

//Control del tiempo de calentado:
unsigned long InicioTiempo;
unsigned long MedidaTiempo;
unsigned long DiferenciaTiempo;

PID myPID(&Input, &Output, &Setpoint, Kp, Ki, Kd, DIRECT); //Función del
controlador PID empleado.

void setup() {

    myPID.SetSampleTime(10);
    myPID.SetMode(AUTOMATIC);
    Setpoint = Temp_LAMP; // El setpoint sera la temperatura del LAMP.
    InicioTiempo = millis(); //Tiempo inicial de arranque lo guardo.
    Serial.begin(9600); // Inicializo la comunicacion serie.
    pinMode(12, OUTPUT); //Por el pin 12 voy a escribir la salida de la señal
    PWM generada por el controlador PID.
    //Inicializacion de la pantalla:
    tft.initR(INITR_BLACKTAB);
    Serial.println("Initialized");
    uint16_t time = millis();
    tft.fillScreen(ST7735_BLACK);
    time = millis() - time;
    Serial.println(time, DEC);
    delay(500);
    tft.setRotation(3);
    tft.fillScreen(ST7735_WHITE); //Pinta la pantalla en blanco
    bienvenida("LAMP on a      Chip", ST7735_BLUE, "  Sevilla", ST7735_GREEN);
    //Llama a la funcion que da la bienvenida al usuario para la pantalla
    delay(2000); //Espera un tiempo antes de continuar
    delay(500); //Espera un tiempo antes de continuar
    testfillrects(ST7735_BLUE, ST7735_WHITE); //Pantalla de transicion de
    rectangulos azules

}

void loop() {

    //Leemos la entrada analógica del arduino y se pasa a un valor digital
    entre 0 y 1023 ya que tiene una resolucion interna de 10 bits el convertidor
    ADC.
    float ADC60 = analogRead(A0); //Leemos la temperatura que es el valor del
    VNTC, que es el sensor de temperatura.
    salida_opamp = analogRead(A4); //Leemos la tension de salida del
    amplificador. Este valor de tension me sirve para saber si se ha medido rojo
    o amarillo.
    float Vout60 = ADC60 * 5 / 1023; // Se pasa de digital a tension
    float VNTC60 = Vout60; //Tension del sensor de temperatura
    float RNTC60 = (VNTC60 * R60) / (Vcc - VNTC60); //Resistencia del sensor de
    temperatura

```

```

float alfa60 = (1000 / To) + ((1000 / beta60) * (log(RNTC60 / Ro)));
//calculo del valor de alfa para el valor que mida el sensor de temperatura
float T60 = 1000 / alfa60 - 273.15; // Se pasa de tension a temperatura y
se obtiene la temperatura que esta midiendo el sensor de temperatura
medida = T60; //La variable "medida" va a guardar el valor de temperatura
calculada previamente en unidades de temperatura y no de ADC
medidaf = medida * alfa + (1 - alfa) * medidaf; //Temperatura filtrada
mediante filtro paso baja.
salida_opampf = salida_opamp * alfa + (1 - alfa) * salida_opampf; //Tension
de salida del opamp filtrada mediante filtro paso baja.
Input = medidaf; //Entrada al controlador PID es la medida de la
temperatura filtrada.
error = Setpoint - medidaf; //El error que se pasa al PID es la diferencia
entre el valor que queremos conseguir y el que tenemos de temperatura

DiferenciaTiempo= MedidaTiempo - InicioTiempo; //La diferencia actual de
tiempo entre el tiempo que se ha medido y el tiempo inicial
//Si la diferencia de tiempo es menor al tiempo LAMP de 60000mseg, se llama
al controlador PID y se escribe su salida en el pin 12:
if (DiferenciaTiempo < 60000) {
    myPID.Compute(); //Llamo al PID para que realice el control en base a los
parametros que se le han establecido
    analogWrite(12, Output); //Escribo resultado del control PID en el pin
12.
    //Escribo en el puerto serie el Setpoint y la entrada Input del PID
    Serial.print(Setpoint);
    Serial.print(",");
    Serial.println(Input);
}
//Si la diferencia de tiempo es de 60000 mseg o superior se pasa el PID a
modo manual y se escribe en el pin 12 de salida un cero.
//En este caso, se calcula la salida de tension del bloque de deteccion por
absorbancia, se analiza el valor de tension y se escribe
//por pantalla los resultados del analisis:
else {
    myPID.SetMode(MANUAL); //paso el PID a modo manual
    Output = 0; //Salida a valor de cero.
    analogWrite(12, Output); //Escribo en el pin 12 el valor de Output
    float voltage = salida_opampf * 5 / 1023; //Paso la salida del opamp de
una medida analogica como da el pin A1 (0 - 1023) a un valor de tension (0 -
5V)
    //Analizo el valor de tension recibido:
    if (voltage >= 3) {
        //UNA MEDIDA POSITIVA
        //Escribo por pantalla que la medida es positiva en color amarillo y el
valor de tension utilizado para la toma de esta decision:
        tft.setCursor(31, 30);
        tft.setTextSize(2);
        tft.setTextColor(ST7735_YELLOW); //Cambia el color del texto a amarillo
        tft.println("POSITIVO"); //Escribe "POSITIVO"
        tft.setTextSize(2);
        tft.setTextColor(ST7735_GREEN); //Cambia el color del texto a verde
        tft.println(voltage); //Tension de salida del amplificador medida
        tft.fillScreen(ST7735_BLACK); //Pinto en negro la pantalla para poder
volver a pintar otra medida
        tft.setTextSize(2);
        tft.setCursor(31, 70);
        tft.setTextColor(ST7735_BLACK); //Cambia el color del texto a negro
        tft.println("NEGATIVO"); //No se va a ver ya que se escribira en negro
        tft.setCursor(31, 85);

```

```

    }
    else {
        //UNA MEDIDA NEGATIVA
        //Escribo por pantalla que la medida es negativa en color rojo y el
        valor de tension utilizado para la toma de esta decision:
        tft.setCursor(31, 70);
        tft.setTextSize(2);
        tft.setTextColor(ST7735_RED); //Cambia el color del texto a rojo
        tft.println("NEGATIVO"); //Escribe "NEGATIVO"
        tft.setTextSize(2);
        tft.setTextColor(ST7735_GREEN); //Cambia el color del texto a verde
        tft.println(voltage); //Tension de salida del amplificador medida
        tft.fillScreen(ST7735_BLACK); //Pinto en negro la pantalla para poder
        volver a pintar otra medida
        tft.setCursor(31, 30);
        tft.setTextSize(2);
        tft.setTextColor(ST7735_BLACK); //Cambia el color del texto a negro
        tft.println("POSITIVO"); //No se va a ver ya que se escribira en negro
    }
}

```

```

    MedidaTiempo = millis(); //Actualizo el valor de la medida actual de
    tiempo.
}

```

```

//Funcion de bienvenida que muestra el texto inicial de bienvenida en el
setup de la pantalla:

```

```

void bienvenida(char *text, uint16_t color, char *text1, uint16_t color1) {
    tft.setCursor(21, 30); //Coloca el cursor en estas coordenadas
    tft.setTextColor(color); //Color del texto
    tft.setTextSize(2); //Tamaño del texto
    tft.setTextWrap(true);
    tft.print(text); //Escribe el text que se pase a la funcion
    tft.setCursor(10, 70);
    tft.setTextColor(color1); //Cambio de color de texto
    tft.setTextSize(2);
    tft.setTextWrap(true);
    tft.print(text1); //Escribe el text1 que se pase a la funcion
}

```

```

//Función para el dibujo de textos:

```

```

void testdrawtext(char *text, uint16_t color) {
    tft.setCursor(20, 30);
    tft.setTextColor(color);
    tft.setTextSize(2);
    tft.setTextWrap(true);
    tft.print(text);
}

```

```

//Funcion para el efecto de los rectangulos blancos y azules a modo de
transicion del setup al bucle del codio Arduino:

```

```

void testfillrects(uint16_t color1, uint16_t color2) {
    tft.fillScreen(ST7735_BLACK);
    for (int16_t x = tft.width() - 1; x > 6; x -= 6) {
        tft.fillRect(tft.width() / 2 - x / 2, tft.height() / 2 - x / 2, x, x,
        color1);
        tft.drawRect(tft.width() / 2 - x / 2, tft.height() / 2 - x / 2, x, x,
        color2);
    }
}

```

}
}