UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS EN
TELECOMUNICACIÓN

INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE UN MÉTODO
PARA LA DESTRUCCIÓN DE CÉLULAS MALIGNAS
MEDIANTE LA ACCIÓN BALÍSTICA DE NANO-
PARTÍCULAS MAGNÉTICAS

TESIS DOCTORAL

Carlos David Amaya Jaramillo

2017

DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA FOTÓNICA Y
BIOINGENIERÍA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS EN
TELECOMUNICACIÓN

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE MADRID

INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE UN MÉTODO
PARA LA DESTRUCCIÓN DE CÉLULAS MALIGNAS
MEDIANTE LA ACCIÓN BALÍSTICA DE NANO-
PARTÍCULAS MAGNÉTICAS

TESIS DOCTORAL

Autor:

Carlos David Amaya Jaramillo

Director:

José Javier Serrano Olmedo
Doctor Ingeniero de Telecomunicación

Co-Director

Milagros Ramos Gómez
Doctor Ciencias Biológicas

2017

TESIS DOCTORAL

INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE UN MÉTODO
PARA LA DESTRUCCIÓN DE CÉLULAS MALIGNAS
MEDIANTE LA ACCIÓN BALÍSTICA DE NANO-
PARTÍCULAS MAGNÉTICAS

AUTOR: Carlos David Amaya Jaramillo
DIRECTOR: José Javier Serrano Olmedo
CO-DIRECTOR: Milagros Ramos Gómez

Tribunal nombrado por el Magfco. y Excmo. Sr. Rector de la Universidad Politécnica de Madrid, el día 15 de diciembre de 2017

PRESIDENTE:
SECRETARIO:
VOCAL:
VOCAL:
VOCAL:
SUPLENTE:
SUPLENTE:

Realizado el acto de defensa y lectura de tesis el día 15 de diciembre de 2017

En la E.T.S. de Ingenieros de Telecomunicación.

Calificación:

EL PRESIDENTE:

EL SECRETARIO:

D.

D.

EL VOCAL:

EL VOCAL:

D.

D.

EL VOCAL:

D.

Resumen de la tesis de CARLOS DAVID AMAYA JARAMILLO, presentada como requisito parcial para la obtención del grado de DOCTOR en INGENIERÍA BIOMÉDICA. Madrid, España. diciembre de 2017

Investigación y Desarrollo de un método para la destrucción de células malignas mediante la acción balística de nano-partículas magnéticas

Descriptores —Nano-partículas magnéticas, campos magnéticos, gradiente magnético, muerte celular, movimiento de nano-partículas.

Este trabajo es el resultado del diseño, desarrollo e implementación de un equipo para lograr el movimiento de nano-partículas, el cual se realiza a través de la aplicación de un imán permanente y bobinas Maxwell. El objetivo se orienta a estudiar los fenómenos físicos que se presentan cuando la nano-partículas se encuentran en el interior de un campo magnético constante y un gradiente de campo magnético, lo que produce un movimiento lineal de las nano-partículas. Este movimiento lineal de las partículas puede ser de utilidad en diferentes aplicaciones médicas, como es el caso de provocar muerte celular, lo que en un futuro puede ayudar a la lucha contra el cáncer.

Conseguir muerte celular depende del tipo del movimiento que se pueda inducir a las nano-partículas magnéticas que estén en contacto con las células. Actualmente se están realizando numerosas investigaciones para controlar el movimiento de nano-partículas magnéticas con el fin de destruir células tumorales. En este trabajo se ha logrado conseguir movimientos lineales de nano-partículas magnéticas, y se muestra la mortalidad celular que se produce cuando las células son sometidas al movimiento lineal de las nano-partículas magnéticas localizadas en su interior.

Este trabajo propone el diseño y utilización de un dispositivo que sea capaz de aplicar corrientes eléctricas de baja frecuencia con magnitudes de corriente inferiores a 7 A para producir el movimiento lineal de las nano-partículas magnéticas. Las bajas frecuencias de corriente evitan problemas de ruido electromagnético y son bien toleradas por los sistemas biológicos.

El equipo ha sido desarrollado para que cumpla con las condiciones de trabajo de frecuencia inferiores a 40 Hz y corriente de hasta 10 A. En este

trabajo se realiza un análisis detallado de la viabilidad celular en respuesta a diferentes parámetros de estimulación, poniendo énfasis especial al análisis de las frecuencias de 1 y 10 Hz, dado al aumento de mortalidad celular observado a frecuencias bajas. La corriente eléctrica con la cual se trabaja es de una magnitud de 7 A, para la obtención del mayor gradiente magnético y por hallarse dentro de los márgenes de seguridad del equipo. Dado que la corriente eléctrica es la señal que se usa como excitación para el control del movimiento de las nano-partículas magnéticas, se estudia la aplicación de esta señal eléctrica con diferentes formas, analizando los efectos de las ondas cuadrada y sinusoidal. Todas estas condiciones mencionadas fueron aplicadas a cultivos celulares para cuantificar la muerte celular producida por el movimiento de las nano-partículas magnéticas.

Abstract of the thesis presented by CARLOS DAVID AMAYA JARAMILLO, as a partial requirement to obtain the DOCTOR degree in BIOMEDICAL ENGINEERING. Madrid, Spain. December 2017

Research and development of a method for the destruction of malignant cells by the ballistic action of magnetic nano-particles

Descriptors -Nano-magnetic particles, magnetic fields, magnetic gradient, cell death, nano-particle motion.

This work is the result of the design, development and implementation of an equipment to achieve the movement of nano-particles through the application of a permanent magnet and Maxwell coils. The objective is to study the physical phenomena that occur when the nano-particles are in a constant magnetic field and a magnetic field gradient, which produce a linear movement of the nano-particles. This linear movement of the particles can be useful in different medical applications, as is the case of producing cell death, which in the future can help in the fight against cancer.

Cell death rates depend on the type of movement that can be induced to the magnetic nano-particles that are in contact with the cells. Numerous investigations are currently in progress to control the movement of magnetic nano-particles in order to destroy tumor cells. In this work, linear movements of magnetic nano-particles have been achieved, and the cellular mortality that occurs when the cells are subjected to the linear movement of the magnetic nano-particles located inside them has been determined.

This work describes the design and use of a device that is capable of applying low frequency electric currents, using current magnitudes below 7 A, to produce the linear movement of magnetic nanoparticles. These low frequency currents prevent the electromagnetic noise and are well tolerated by biological entities,

The equipment has been developed to comply with working conditions of less than 40 Hz and a current of up to 10 A. A detailed analysis of cell viability in response to different stimulation parameters has been performed, with special emphasis on analysis of the frequencies of 1 and 10 Hz, given the increase in cell mortality rates observed at low frequencies. An electric current

of 7 A has been used in order to obtain the highest magnetic gradient within the security rank of the equipment. Since the electric current is the signal that is used as excitation for the control of the movement of the magnetic nanoparticles, the application of this electrical signal with different forms is studied, analyzing the effects of the square and sinusoidal waves. All these mentioned conditions were applied to cell cultures to quantify the cell death produced by the movement of magnetic nano-particles.

Dedicatoria y Agradecimientos

Agradezco a mis familiares, que aunque no han participado de forma directa en este proyecto me han brindado su apoyo incondicional y moral.

A Oswaldo Mejía que confió en mí cuando aposté por mi educación.

A Adriana Pérez que me ha brindado su tiempo, consejo y esperanza a lo largo de todos estos años.

A todos quienes han colaborado en esta tarea, mis directores de trabajo José Javier Serrano y Milagros Ramos, y a la universidad, que día a día supieron llenar ese afán de conocimientos y superación.

A mis amigos y compañeros que siempre he podido contar con ellos

A la Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación SENESCYT que apostó en mi educación

Índice

I.	Introducción General.....	1
I.1	Marco de referencia	1
I.2	Planteamiento del problema	3
I.3	Hipótesis	3
I.4	Objetivos	3
I.4.1	Objetivo general	3
I.4.2	Objetivos específicos	4
I.5	Metodología de investigación	4
I.6	Organización de la tesis	5
II.	Estado del arte	7
II.1	Hipertermia magnética	7
II.2	Movimiento de partículas	8
III.	Marco Teórico	9
III.1	Teoría de control	9
III.1.1	Componentes básicos de un sistema de control	9
III.1.2	Tipos de sistemas de control	10
III.2	Convertidor estático de potencia	20
III.2.1	Convertidor AC/DC.....	21
III.2.2	Convertidor directo DC/DC.....	21
III.2.3	Convertidor directo AC/AC.....	22
III.2.4	Convertidor CC/CA.....	22
III.3	Magnetismo	23
III.3.1	Campo magnético	23
III.3.2	Materiales magnéticos.....	30
III.4	Clasificador.....	32
III.4.1	Clasificador Naive Bayes.....	32
III.4.2	Clasificador Parzen.....	33
III.4.3	Clasificador KNN (K-Nearest Neighbour).....	33
III.4.4	Clasificador Backpropagation	34
III.4.5	Clasificador con Análisis de Componentes Principales (PCA).....	34

III.4.6	Máquinas de vectores de soporte "Support vector machine" (SVM).....	34
III.5	Procesamiento digital de imágenes.....	36
III.5.1	Proceso de filtrado.....	36
IV.	Metodología.....	37
IV.1	Diseño y construcción del hardware	37
IV.1.1	Diseño del módulo electrónico.....	37
IV.1.2	Diseño de la carga.....	54
IV.2	Diseño del software del sistema	57
IV.2.1	Programa del microcontrolador	57
IV.2.2	Programa del PC	66
IV.3	Partículas magnéticas	76
IV.4	Análisis matemático.....	77
IV.4.1	Bobinas de gradiente magnético	77
IV.4.2	Movimiento de las nano-partículas magnéticas.....	78
IV.5	Experimentación con líneas celulares.....	81
IV.5.1	Cultivo celular	81
IV.5.2	Incubación con partículas y aplicación del campo magnético	81
IV.5.3	Viabilidad celular	82
IV.5.4	Localización intracelular de micro-partículas	84
IV.6	Control de temperatura.....	86
IV.6.1	Sensor de temperatura	86
IV.6.2	Controlador de temperatura	87
IV.6.3	Camisa de agua.....	88
V.	Resultados	89
V.1	Inversor	89
V.2	Pruebas térmicas	92
V.2.1	Protección térmica.....	92
V.2.2	Calentamiento térmico	92
V.3	Movimiento de micro-partículas.....	93
V.3.1	Procesamiento de imágenes	93
V.4	Internalización celular de micro-partículas.....	100
V.4.1	Efectos de la aplicación del campo magnético en células 3T3 tratadas con micro-partículas	103
VI.	Discusión.....	111

VI.1	Inversor	111
VI.2	Movimiento de micro-partículas magnéticas	113
VI.3	Internalización celular de micro-partículas.....	115
VI.4	Efectos de la aplicación de campos magnéticos en la viabilidad celular	116
VII.	Conclusión.....	119
VIII.	Trabajo futuro	121
VIII.1	Hipótesis.....	121
VIII.2	Objetivos	121
VIII.2.1	Objetivo general	121
VIII.2.2	Objetivos específicos.....	121
	Bibliografía	122
	Anexo 1	128
	Anexo 2	130

Índice de figuras

Figura 1: Sistema de control retroalimentado	9
Figura 2: Relación de los componentes de un sistema control <i>tomado</i> (Andrade Cedeño & Macas Valdez, 2010)	10
Figura 3: Control en lazo abierto	11
Figura 4: Control ON-OFF con histéresis <i>tomado</i> (Andrade Cedeño & Macas Valdez, 2010)	11
Figura 5: Controlador PID	12
Figura 6: Control con modelo interno	13
Figura 7: IMC control clásico <i>tomado</i> (Realimentación Basada en el Modelo, 2013)	13
Figura 8: Identificación en línea <i>tomado</i> (Rodríguez Ramírez & Bordóns Alba 2005)	16
Figura 9: Identificación basa en error <i>tomado</i> (García Lopez 2014)	17
Figura 10: Índice de comportamiento	17
Figura 11: Ilustración 23: Líneas mostrando el campo magnético de un imán de barra	23
Figura 12: Ley de Biot-Savart	25
Figura 13: Fuerza de Lorentz sobre una partícula cargada en un campo magnético <i>tomado</i> (Fundación Wikimedia, 2013)	26
Figura 14: Fuerza de Lorentz sobre una corriente <i>tomado</i> (Fundación Wikimedia, 2013)	26
Figura 15: Bobinas Maxwell	30
Figura 16: Bobinas de Golay	30
Figura 17: Material diamagnético sobre imanes permanentes	31
Figura 18: Casificador Parzen	33
Figura 19: Clasificador K-NN	33
Figura 20: Clasificador Backpropagation	34
Figura 21: Clasificador mediante SVM	35
Figura 22: Diagrama de bloques del módulo electrónico	37
Figura 23: Esquema de la fuente de alimentación de control	39
Figura 24: Alimentación para la fuente de control	40
Figura 25: Conector banana	40
Figura 26: TTI QL355 Power Supply	40
Figura 27: Filtro PI del módulo electrónico	41
Figura 28: Módulo del Diagrama de Bode para el filtro PI	41
Figura 29: 7805	41
Figura 30: Power Supply EA-PS 2042-10B	42
Figura 31: LTS 15-NP	43
Figura 32: Voltaje de salida en función de la corriente del sensor LTS 15-NP	44
Figura 33: Conexión del sensor LTS 15-NP	44
Figura 34: Circuito para calibración del sensor hall	45
Figura 35: dsPIC 30F4012	45
Figura 36: Distribución de pines del microcontrolador dsPIC 30F4012	48
Figura 37: Conexión del microcontrolador dsPIC 30F4012	48
Figura 38: Puente H	50
Figura 39: Diagrama del transistor VNP20N07-E	50
Figura 40: IR2106PBF	51

Figura 41: Conexión del puente H en el módulo electrónico	51
Figura 42: Distribución de pines RS232 DCE.....	52
Figura 43: MAX232.....	53
Figura 44: Conexión del módulo de comunicación.....	53
Figura 45: Vista frontal del PCB del módulo electrónico	54
Figura 46: Vista posterior del PCB del módulo electrónico	54
Figura 47: Bobinas Maxwell del sistema	55
Figura 48: Dimensión de las bobinas Maxwell	55
Figura 49: Simulación de las bobinas Maxwell	56
Figura 50: Filtro potencia	56
Figura 51: Magnitud del diagrama de bode del filtro de potencia	57
Figura 52: Diagrama de flujo del programa del microcontrolador	58
Figura 53: Trama para puntos de consigna	59
Figura 54: Trama de parada del sistema	60
Figura 55: Configuración del módulo ADC	60
Figura 56: Tiempos muertos.....	61
Figura 57: Diagrama de flujo del procesamiento de datos del PC.....	62
Figura 58: Diagrama de polos y ceros de la planta	65
Figura 59: Diagrama de polos y ceros del controlador y la planta	66
Figura 60: Diagrama de flujo del HMI	68
Figura 61: Trama de envío de puntos de consigna del PC al módulo electrónico	69
Figura 62: Trama de envío de parada del PC al módulo electrónico	69
Figura 63: Configuración de la interfaz de comunicación en el HMI	69
Figura 64: Configuración del tiempo a irradiar en el HMI.....	70
Figura 65: Configuración de la forma de onda de corriente en el HMI	71
Figura 66: Diagrama de flujo del procesamiento de video	73
Figura 67: Campo Magnético generado por las bobinas Maxwell	77
Figura 68: Gradiente de campo magnético producido por las bobinas Maxwell.....	78
Figura 69: Diagrama del cuerpo libre de una partícula en el interior de un tubo de ensayo bajo la acción de un gradiente magnético y un campo magnético constante	78
Figura 70: Superposición del movimiento de una partícula y de la ecuación teórica del movimiento de una partícula	81
Figura 71: Calceína y yoduro de propidio de molecular probes.....	82
Figura 72: Microscopio de fluorescencia LeicaDMIRB	83
Figura 73: Cytotoxicity Detection kit (Roche)	84
Figura 74: Lector de absorbancia ELx800 de BioTek.....	84
Figura 75 Esquema de funcionamiento de un citómetro de flujo	85
Figura 76: Citómetro de flujo BD FASCalibur™	86
Figura 77 Fluoroptic thermometer Luxtronm3300.....	87
Figura 78 Thermomix BU.....	88
Figura 79 Camisa de agua vista frontal y lateral.....	88
Figura 80: Entrada de la función paso al controlador de corriente	89
Figura 81: Entrada de la función rampa al controlador del sistema.....	90
Figura 82: Entrada de la función seno al controlador del sistema	91
Figura 83: Osciloscopio RIGOL DS1102E	91

Figura 84: Evolución de la temperatura en la máquina, la temperatura sin protección térmica (rojo), temperatura con protección térmica a 30 °C (negro)	92
Figura 85: Esquema para la obtención de imágenes del movimiento de las micro-partículas en el interior de los imanes.....	93
Figura 86 Segmentación de la imagen de la grabación de la cámara de vídeo para identificar y seleccionar un solo filamento (en el rectángulo cian). Peso del volumen = 0,166 mg / ml.....	94
Figura 87: Obtención de las coordenadas del eje y mediante procesamiento de imágenes, donde la marca amarilla es la parte superior del filamento, la marca roja es el baricentro del área oscura (el centro del filamento) y el verde indica el fondo del filamento. Concentración = 0.166 mg / ml	95
Figura 88: Movimiento del agregado del rectángulo cian de la Figura 87. Los colores identifican las tres partes de filamento marcadas con los mismos colores en la Figura 87. Concentración = 0.166 mg / ml	96
Figura 89: Diagramas de frecuencia para las velocidades ascendente y descendente. a) Velocidad ascendente con $M\mu = 0,228$ y $\sigma = 0,04466$; b) velocidad descendente con $M\mu = 1,004$ y $\sigma = 0,14844$	97
Figura 90: Rapidez media para diferentes concentraciones de micro-partículas. Las barras verticales representan la desviación estándar de las medidas	98
Figura 91: Incremento de la rapidez en diferentes períodos de la corriente cuadrada de 7 A a diferentes concentraciones de micro-partículas. a) Experimentos con diferentes concentraciones de micro-partículas; b) experimentos en (a) con comportamientos similares; c) experimentos con diferentes comportamientos	99
Figura 92: Variación de la rapidez frente al área de sección transversal del filamento a diferentes concentraciones. a) Todas las medidas experimentales; b) centroides de (a); c) mediciones experimentales con comportamientos similares; d) centroides de (c) y línea de ajuste; e) medidas experimentales con diferentes comportamientos; f) centroides de (e).....	100
Figura 93: Concentración vs. Área	100
Figura 94: Se incubaron células 3T3 con micro-partículas de 2 μm de diámetro a una concentración de 0,1 mg/ml durante 3, 6, 12 y 24 h. La intensidad de SSC se midió mediante citometría de flujo. El SSC (escala lineal) aumentó a medida que el tiempo de incubación aumenta de 3 a 24 h	101
Figura 95: Ubicación intracelular de las micro-partículas en las células 3T3. Las células 3T3 se incubaron con micro-partículas (2 μm) a una concentración de 0,025 mg/ml durante 24 h. Las micro-partículas se muestran en luz de transmisión a). Después de la fijación, las células se tiñeron con el anti-CD63 para marcar los lisosomas en rojo b). Se puede visualizar una alta co-localización de micro-partículas y lisosomas C).....	103
Figura 96: Viabilidad celular después del tratamiento. Células 132 1N1 fueron marcadas con yoduro de propidio para visualizar las células muertas (rojo) en diferentes frecuencias de irradiación. Scale bar 500 μm	103
Figura 97: Viabilidad de las células 1321N1 expuestas a campos magnéticos controlados por una corriente cuadrada 7 A frecuencia de 1 y 50 [Hz] por 60 min	104
Figura 98: Viabilidad celular de las células 3T3 incubadas con micro-partículas magnéticas de 2 μm a una concentración de 0,1 mg/ml durante diferentes períodos de tiempo que van desde 3 a 24 h, y expuestas a tratamientos de campo magnético controlados por una corriente cuadrada de 7 A y frecuencias de 1 y 10 Hz durante 60 min. Se incluyeron células de control en	

todos los experimentos: células preincubadas con micro-partículas sin aplicación de campo magnético (No MF) y células expuestas a campos magnéticos a 1 y 10 Hz en ausencia de micro-partículas (No MMPs). Los datos representan la media $\pm$ (S.D.) de tres experimentos independientes. ANOVA, prueba de diferencia significativa honesta post hoc de Tukey; * $p < 0,05$, frente a sus controles respectivos: células sin partículas y sin exposición al campo magnético (No MF); # $p < 0,05$, 1 Hz frente a 10 Hz; $p < 0,05$, 12 h frente a 24 h a 10 Hz106

Figura 99: Viabilidad celular de las células 3T3 preincubadas con micro-partículas magnéticas de 2 μm a diferentes concentraciones (0,025, 0,05 y 0,1 mg/ml) durante 24 h y expuestas a un campo magnético de 7 A y 1 y 10 Hz. Se incluyeron células de control en todos los experimentos: células preincubadas con partículas pero sin aplicación de un campo magnético (No MF) y células expuestas a campos magnéticos en ausencia de micro-partículas (No MMPs). Los datos representan la media $\pm$ S.D. De tres experimentos independientes. ANOVA, prueba de diferencia significativa honesta post hoc de Tukey; * $p < 0,05$, frente a sus respectivos controles: células sin micro-partículas y sin campos magnéticos; # $p < 0,05$, 1 Hz frente a 10 Hz107

Figura 100: Viabilidad celular de las células 3T3 sometidas a un campo magnético de onda cuadrada de 7 A a 1 y 10 Hz durante 30 y 60 min. Las células se preincubaron con micro-partículas magnéticas de 2 μm a una concentración de 0,1 mg/ml durante 24 h. Se incluyeron células de control en todos los experimentos: células preincubadas con partículas pero sin aplicación de un campo magnético (No MF) y células con aplicación de un campo magnético durante 30 y 60 min en ausencia de micro-partículas (No MMPs). Los datos representan la media $\pm$ S.D. de tres experimentos independientes. ANOVA, prueba de diferencia significativa honesta post hoc de Tukey; * $p < 0,05$, frente a sus respectivos controles: células sin micro-partículas y sin campos magnéticos; # $p < 0,05$, 1 Hz frente a 10 Hz; ¥ $p < 0,05$, entre diferentes tiempos de exposición de campo magnético a 1 Hz; § $p < 0,05$, entre diferentes tiempos exposiciones de campo magnético a 10 Hz.....108

Figura 101: Viabilidad celular de células 3T3 expuestas a campos magnéticos de onda cuadrada y senoidal de 7 A a 1 y 10 Hz durante 60 min. Las células se preincubaron con micro-partículas magnéticas de 2 μm a una concentración de 0,1 mg/ml durante 24 h. Se incluyeron células de control en todos los experimentos: células preincubadas con micro-partículas pero sin aplicación campo magnético (No MF) y células irradiadas con onda cuadrada y onda senoidal en ausencia de micro-partículas (No MMPs). Los datos representan la media $\pm$ S.D. de tres experimentos independientes. ANOVA, prueba de diferencia significativa honesta post hoc de Tukey; * $p < 0,05$, frente a sus controles respectivos: células sin partículas y sin MF; # $p < 0,05$, 1 Hz frente a 10 Hz; ¥ $p < 0,05$, entre formas de onda a 1 Hz; § $p < 0,05$ entre las formas de onda a 10 Hz109

Figura 102: Viabilidad celular de células 3T3 preincubadas con micro-partículas de diferentes tamaños (2, 0,5 y 0,3 μm) a una concentración de 0,1 mg/ml durante 24 h y expuestas a campos magnéticos de 7 A a 1 y 10 Hz durante 60 min. La gráfica también muestra la muerte celular basal en células de control, células sin aplicación de campo magnético (No MF) y células irradiadas en ausencia de micro-partículas (No MMPs). Los datos representan la media $\pm$ S.D. de tres experimentos independientes. ANOVA, prueba de diferencia significativa honesta post hoc de Tukey; * $p < 0,05$, frente a sus controles respectivos: células sin partículas y sin campos magnéticos, § $p < 0,05$ entre 1 y 10 Hz110

Índice de Tablas

Tabla 1: Consumo módulo electrónico dispositivos de control	42
Tabla 2: Características del microcontrolador dsPIC 30F4012	47
Tabla 3: Función y pines empleados en el microcontrolador.....	49
Tabla 4: Nano-partículas utilizadas en este trabajo.....	76
Tabla 5: Cambios de dispersión lateral media (SSC) medidos por citómetro de flujo en células 3T3 tratadas con micro-partículas (2 μm) a una concentración de 0,1 mg/ml para diferentes tiempos de incubación (3, 6, 12 y 24 h)	102

Capítulo I.

I. Introducción General

I.1 Marco de referencia

La nano-tecnología proviene del prefijo “nano” del latín “nanus” que significa “enano”. En ciencia y tecnología “nano” quiere decir 10^{-9} , es decir, una milmillonésima parte (0,000000001). Un nanómetro (nm) es, por tanto, la milmillonésima parte de un metro, lo que equivale a un tamaño decenas de miles de veces más pequeño que el diámetro de un cabello humano.

A una escala nano-métrica los principios de la Física y las propiedades de los materiales que se observan cambian de manera notable, siendo necesario acudir a la Física Cuántica para poder entender el comportamiento de los materiales; son los comportamientos que se producen debido a los efectos cuánticos los que permiten desarrollar materiales y procesos con nuevas funcionalidades y comportamientos.

Desde este punto de vista, la nanotecnología y la nanociencia se definen como el conjunto de técnicas y ciencias en las cuales se estudian, manipulan y obtienen de manera controlada, materiales, compuestos y dispositivos de dimensiones nano-métricas (Sánchez et al. 2008).

La potencialidad que se esconde detrás de la posibilidad de trabajar con materiales, dispositivos, etc. a estas escalas fue apuntada por Richar P. Feynman (Premio Nóbel de Física) en **1959, durante su famosa charla “There is plenty of room at the bottom”**. Pero no fue hasta 1971 donde el término Nano-tecnología fue utilizado por primera vez por Norio Taniguchi, cuando se refirió a la técnica aplicada para la maquinaria de ultra-precisión. No obstante, el verdadero nacimiento de la Nano-ciencia y la Nano-tecnología se produce con la invención del microscopio de efecto túnel en 1981 por Binnig y Rohrer.

El gran interés y las expectativas que se han generado con en esta técnica radican en que las previsiones apuntan a que la nano-tecnología tendrá impacto en todos los sectores como una tecnología clave. Aquellos en los que se espera un mayor desarrollo son entre otros (Sánchez et al. 2008):

- Medicina

Sistemas de diagnóstico, implantes, detección precoz de enfermedades, ingeniería de tejidos, etc.

- Construcción

Hormigones reforzados, cementos de nuevas propiedades, asfaltos más duraderos, nuevos tratamientos para la corrosión, hormigones conductores de la electricidad, aislantes térmicos y acústicos, etc.

- Metalurgia

Aceros de resistencia y flexibilidad mejorada, metales no conductores de la electricidad, superficies resistentes a la corrosión y el rallado, etc.

- Textil

Tejidos antimanchas, antiarrugas, aislantes, protectores del agua y el frío, nuevos tintes, tejidos aislantes de agentes químicos, etc.

- Tecnologías de la información

Almacenamiento de información, nuevas tecnologías de visualización, nuevos biochips y chips cuánticos, etc.

- Producción y el almacenamiento de energía

Pilas de combustible, nuevas células solares de alta eficiencia, ahorro energético por mejora en aislamientos, iluminación, etc.

- Ciencia de los materiales

Reforzamiento de materiales, cosméticos, superficies resistentes al rallado, hidrófugas, limpias o estériles, desarrollo de biosensores, nuevos pegamentos, etc.

- Alimentación y el medio ambiente

Menor gasto de materias primas, medios para la detección de plagas, métodos de recuperación, ahorro energético, etc.

- Industria de la cerámica y el vidrio

Nuevos cristales resistentes a altísimas temperaturas, cerámicas y vidrios que no se manchan, resistentes al rallado, cristales fotosensibles, etc.

- Seguridad

Métodos de detección de agentes químicos, nano-etiquetado de billetes, etc.

I.2 Planteamiento del problema

La destrucción de células tumorales mediante nano-partículas es ampliamente estudiada actualmente, debido a la posibilidad de producir muerte celular a células específicas, por ejemplo células tumorales. La muerte celular mediante nano-partículas se estudia principalmente a través de hipertermia, dado la capacidad que presentan los materiales magnéticos de producir calor cuando se someten a campos magnéticos alternos de gran frecuencia pero, también en años recientes se ha producido el desarrollo de una nueva tecnología para provocar muerte celular mediante el movimiento de nano-partículas, principalmente por la rotación de nano-partículas.

Este trabajo analiza el comportamiento y viabilidad de las células en respuesta al movimiento lineal de nano-partículas producido por la aplicación de campo de 0.1 T y un gradiente de campo magnético de 200000 A/m^2 . Para ello, primero se debe lograr que las células sean capaces de internalizar las nanopartículas y al mismo tiempo, diseñar un equipo seguro, capaz de producir el movimiento lineal de nano-partículas, sin afectar a la viabilidad celular en ausencia de nanopartículas.

I.3 Hipótesis

Como es de conocimiento, una corriente eléctrica que pasa a través de un conductor eléctrico produce un campo magnético, por lo cual en este trabajo se basa en las siguientes hipótesis:

- Es posible generar movimiento lineal de nano-partículas a través de la combinación de un imán permanente y un bobina Maxwell
- Es posible producir muerte celular causado por el movimiento en forma lineal de las nano-partículas acumuladas en el interior de las células

I.4 Objetivos

I.4.1 Objetivo general

Desarrollar un mecanismo de destrucción de células tumorales mediante la aplicación de gradientes magnéticos en presencia de nano-partículas magnéticas:

Establecer un mecanismo para que el uso de nano-partículas magnéticas pueda causar daño suficiente a células tumorales para producir su muerte. Este mecanismo deberá estar suficientemente controlado para evitar daños a las células sanas, para lo cual se va a utilizar bajas frecuencias y campos magnéticos de 0.1 T para evitar daños biológicos

I.4.2 Objetivos específicos

Desarrollar un equipo capaz de producir movimiento lineal de nano-partículas mediante el uso de un imán permanente y una bobina Maxwell, la cual se encontrará en el interior de un campo magnético constante producir por el imán permanente.

Diseñar un controlador, el cual debe ser capaz de controlar la corriente que circula a través de la bobina Maxwell para producir diferentes formas de onda de corriente, tanto en frecuencia como en forma.

Conocer el comportamiento de las nano-partículas que se encuentran en el interior de la máquina, así como los diferentes fenómenos que se suceden para describir el movimiento lineal de nano-partículas.

Determinar la localización final de las nano-partículas en las células y cuantificar la mortalidad celular producida por su movimiento, así como conocer las condiciones necesarias para producir la máxima muerte celular en respuesta al movimiento de nano-partículas.

I.5 Metodología de investigación

La metodología general propuesta para la investigación es:

- Conocer el estado del arte con los resultados obtenido por grupos de investigación, los cuales servir de referencia y comparación con los resultados obtenidos en la presente investigación.
- Instalación adecuada del arreglo magnético para producir movimiento lineal de las nano-partículas.
- Análisis y simulaciones de los diferentes elementos magnéticos que participan en el movimiento lineal de las nano-partículas.
- Desarrollo y construcción de un equipo adecuado para el control de la corriente eléctrica que fluye a través de la bobina Maxwell.
- Desarrollo del software necesario para el funcionamiento del equipo de trabajo
- Análisis del comportamiento del controlador de corriente en el equipo de trabajo bajo diferentes condiciones
- Análisis del movimiento de nano-partículas debido al arreglo magnético del equipo de trabajo mediante el procesamiento de video.
- Desarrollo de filtros de imágenes para una correcta obtención de datos del movimiento lineal de nano-partículas.

- Desarrollo de clasificadores para aumentar el tamaño de la muestra y alcanzar el universo del movimiento lineal de nano-partículas, y de esta manera obtener los diferentes datos necesario para conocer el comportamiento de las nano-partículas en el equipo de trabajo.
- Desarrollar pruebas térmicas para la construcción de una protección térmica para evitar la muerte celular producidas por calor externo del equipo.
- Desarrollar diferentes condiciones de trabajo para obtener las condiciones óptimas para producir muerte celular.
- Desarrollar ensayos de viabilidad celular para cuantificar la muerte celular obtenida bajo diferentes condiciones de trabajo del equipo.
- Elaboración de conclusiones.

I.6 Organización de la tesis

La organización de la tesis está dividida de la siguiente manera:

Capítulo 1

Son puntos elementales de la tesis donde, se abordan temas generales, como una breve explicación de la nano-tecnología y la nano-medicina, además de temas formales de este trabajo de investigación como son: hipótesis, objetivos y metodología de la investigación.

Capítulo 2

Se encuentra el estado del arte del tema, dando una explicación resumida sobre hipertermia, muerte celular por rotación de nano-partículas

Capítulo 3

Se encuentra un breve resumen de la teoría que sustenta este trabajo que abarca:

- Teoría de control automático
- Conversores estáticos de potencia
- Magnetismo
- Clasificadores
- Procesamiento digital de imágenes
- Viabilidad celular

Capítulo 4

Se realiza un breve resumen de los diferentes materiales y métodos desarrollados para la realización de este trabajo de investigación, los cuales son:

- Diseño y construcción del hardware
- Diseño del software del sistema
- Análisis matemáticos
- Líneas celulares
- Control de temperatura

Capítulo 5

Se muestra los resultados obtenidos en esta investigación por los materiales y métodos mencionados en el capítulo 4

Capítulo 6

Se realiza la discusión de los resultados obtenidos en este trabajo de investigación con los obtenidos por otros grupos de investigación

Capítulo 7

Se muestra las conclusiones que se obtuvieron de este trabajo de investigación

II. Estado del arte

La nanotecnología está teniendo un fuerte impacto en la investigación biomédica actual, tal es el caso que algunos de sus frutos se encuentran en el mercado (Gallo et al. 2013). Las micro-partículas magnéticas y las nanopartículas magnéticas atraen un interés considerable debido a sus aplicaciones terapéuticas, principalmente en la administración de fármacos (Guimarães 2009), en la inducción de hipertermia, y en el diagnóstico, como agente de contraste para la resonancia magnética (Hernando Grande 2007; Cheng et al. 2016). En la práctica, sin embargo, estas nuevas tecnologías aún no están completamente desarrolladas y se necesita de mayor esfuerzo para encontrar procedimientos menos invasivos y más seguros.

II.1 Hipertermia magnética

El término hipertermia viene de los vocablos hyper “exceso” y therme “calor”. La hipertermia magnética es una técnica basada en el uso de nanopartículas magnéticas como generadores de aumento de temperatura. Se define como el fenómeno que se presenta al exponer un cuerpo a una fuente generadora de energía, capaz de producir un cambio de temperatura en su interior, dicha temperatura debe llegar a alcanzar un rango de 42-45°C y ésta debe mantenerse por un lapso mínimo de 30 minutos para producir muerte celular de una forma deseable en la zona de tratamiento (Westermann et al. 2012; de Châtel et al. 2009; Rao et al. 2010; Coral & Mera 2017).

Para la producción de hipertermia en zonas locales intra-corporales existen distintas técnicas empleadas como son (Rao et al. 2010):

- Aplicación de campos electromagnéticos alternos (CMA)
- Radiación de microondas
- Ultrasonido
- Terapia de perfusión
- Fotocoagulación láser intersticial
- Administración de calor por contacto externo

II.2 Movimiento de partículas

Algunos trabajos se basan en el uso de imanes permanentes para mover partículas magnéticas por simple atracción (Dobson 2006), o en el uso de arreglos magnéticos complejos para forzar la rotación de las partículas magnéticas (Zhang et al. 2014; Cheng et al. 2016). Es difícil mover las micro-partículas magnéticas linealmente, ya que la magnetización de las micro-partículas altera las líneas de campo magnéticos. Esta alteración produce aglomeraciones, creando regiones de alta concentración de micro-partículas que en última instancia da lugar a trayectorias no deseadas. Un control adecuado del movimiento de micro-partículas podría evitar tales complicaciones y sería útil para una variedad de aplicaciones. En Biomedicina y Biología, esto podría mejorar las técnicas de magnetofección, de magnetoforesis, o de administración de fármacos.

En este trabajo se realiza el estudio del uso de micro-partículas y nano-partículas magnéticas para inducir muerte celular por daño magneto-mecánico, es decir, daño ocasionado por el movimiento que dichas partículas adquieren al ser impulsadas por fuerzas creadas con campos magnéticos. Hemos planteado la hipótesis de que el movimiento controlado de las partículas en trayectoria lineal permitiría dañar las membranas celulares de tal manera que pueda causar suficiente daño para conducir a la muerte celular. El antecedente más inmediato es la magnetofección donde se usan partículas magnéticas para penetrar en las membranas celulares, sin que el daño producido sea severo, debido a que los poros formados en la membrana son limitados tanto en tamaño como en número. Así, para producir daños más graves en la membrana, intentamos producir aberturas en la membrana más grandes y más numerosas para que su efecto sea letal para la célula. Una manera de producir tal efecto sería mover partículas apropiadamente seleccionadas de una manera repetitiva y lineal dando lugar a impactos en las membranas más próximos y numerosos.

Capítulo III.

III. Marco Teórico

III.1 Teoría de control

Los sistemas de control automático pueden ser tan que es posible encontrarlos incluso en cada rincón de una casa, el control de flujo automático de agua en la cisterna y el sistema automático de llenado en la taza de baño, por citar algunos. A medida que los sistemas tienen más ingeniería son sorprendentes. En el hogar podemos tener un sistema automático que encienda de manera automática la bomba para llenar tanques de almacenamiento de agua; en los coches los sistemas de control son usados para controles de la velocidad de crucero, es decir, se mantiene una velocidad fija en el auto de manera automática sin importarle la pendiente de la carretera, existe un sistema de control en los frenos conocido como ABS (Antilock Brake System), otro para el control de temperatura y demás; en los aviones existen controladores para mantener un determinado ángulo de subida o bajada del avión; y aplicaciones de control las podemos encontrar en naves espaciales, robots, fábricas y en prácticamente cualquier sistema. (Vásquez Sanjuán 2007)

Figura 1: Sistema de control retroalimentado

III.1.1 Componentes básicos de un sistema de control

Los componentes básicos de un sistema de control son:

- Entradas
- Elementos del sistema de control
- Salidas

La relación de estos componentes se encuentra en la Figura 2: Relación de los componentes de un sistema control; en otras palabras, las entradas se pueden identificar como señales actuantes, "u", y las salidas se conocen como

variables controladas, “y”. El objetivo de un sistema de control es controlar las salidas en forma prescrita mediante las entradas a través de los elementos del sistema de control. (Andrade Cedeño & Macas Valdez 2010)

Figura 2: Relación de los componentes de un sistema control *tomado* (Andrade Cedeño & Macas Valdez, 2010)

III.1.2 Tipos de sistemas de control

Los tipos de control que se encuentran en la industria son:

- Control manual
- Control automático

III.1.2.1 Control manual

En el control manual un operador es quien detecta una condición no deseada en una variable del proceso y efectúa los ajustes necesarios basados en las instrucciones del proceso y su experiencia. (Andrade Cedeño & Macas Valdez 2010)

III.1.2.2 Control automático

Este tipo de control tiene la característica de la no intervención del ser humano en las decisiones de control, su función se reemplaza por un controlador, el cual se encarga de efectuar la acción de control pertinente. (Andrade Cedeño & Macas Valdez 2010)

Las ventajas del control automático son:

- Puede controlar un gran número de variables
- Ayuda a reducir costos en la generación de bienes y servicios
- Ayuda a mejora calidad y aumentar volúmenes de producción
- Reducción de errores y aumento de la seguridad de los procesos
- Posibilidad de manejar sistemas muy complejos

III.1.2.2.1 Control en lazo abierto

En el control en lazo abierto se tiene los siguientes elementos:

- Controlador
- Proceso controlado

- Señal de entrada, comando o punto de consigna " r " que se aplica al controlador, la cual produce una salida que ejerce como señal actuante " u "
- Señal actuante " u ", que controla el proceso de tal forma que la variable controlada " y " se desempeña de acuerdo a estándares preestablecidos.

Debido a su simplicidad y economía de los sistemas de control en lazo abierto, se les puede encontrar en varias aplicaciones no críticas. (Andrade Cedeño & Macas Valdez 2010)

Figura 3: Control en lazo abierto

III.1.2.2.2 Control ON-OFF

El dispositivo que corrige el error " e " tiene solamente dos posiciones o estados de operación. Si la señal de error es positiva, el controlador provee una señal adecuada para la corrección del error, y si la señal de error es negativa el controlador proveerá la señal opuesta al actuador para corregir su error. (Andrade Cedeño & Macas Valdez 2010)

Generalmente para evitar el deterioro del actuador así como ruidos en el sistema, los controladores on-off son diseñados con una zona de tolerancia o histéresis.

Figura 4: Control ON-OFF con histéresis tomado (Andrade Cedeño & Macas Valdez, 2010)

III.1.2.2.3 Controlador PID

Un controlador PID (Proporcional Integral Derivativo) es un mecanismo de control por realimentación negativa que calcula la desviación o error entre un valor medido " y " y el valor que se quiere obtener " r ", para aplicar una acción correctora que ajuste el proceso. El cálculo del control PID se a través de tres parámetros distintos:

- Proporcional

Determina la reacción del error actual

- Integral

Genera una corrección proporcional a la integral del error; esto asegura que el esfuerzo de control sea suficiente para obtener un error de seguimiento cero

- Derivativo

Determina la reacción del tiempo en el que el error se produce.

Al ajustar estas tres variables en el algoritmo de control del PID, el controlador puede proveer un control diseñado para lo que requiera el proceso a realizar. La respuesta del controlador puede ser descrita en términos de **respuesta del control ante un error, el grado el cual el controlador llega al “set point o punto de consigna”, y el grado de oscilación del sistema.**

Figura 5: Controlador PID

III.1.2.2.4 Control con modelo interno (IMC)

La estructura de Modelo Interno de Control propuesta inicialmente por los investigadores Morari y Zafiriou en los años 80 está conformada por un controlador y un modelo del proceso real como se muestran en la Figura 6: Control con modelo interno, en ocasiones llamado IM (Internal Model). Esta estructura de control se basa en el principio del IM donde el estado deseado de la variable controlada puede ser alcanzado si el sistema de control encapsula, ya sea implícita o explícitamente alguna representación del proceso a ser controlado. En particular, si el sistema de control ha sido desarrollado implementando un modelo exacto del proceso real entonces, un control perfecto sobre la variable controlada es, teóricamente, posible.

Sin embargo; en la práctica la disposición de un modelo real del proceso a controlar es casi imposible por lo cual se incurre en un control de retroalimentación debido a la inexactitud que posee el modelo respecto al proceso y debido al conocimiento parcial del mismo.

Al implementar el IM en el lazo de control, es generada una diferencia ($d(s)$), que lleva intrínseco el efecto de la perturbación y la diferencia que existe entre el IM y el proceso real, a esta diferencia se le conoce como error de modelaje. (García & Lobo 2009)

Figura 6: Control con modelo interno

Al plantear la Figura 6: Control con modelo interno, se puede obtener la variable controlada de la siguiente expresión:

$$y = \frac{QG}{1 + Q(G - \hat{G})}r + \frac{1 - Q\hat{G}}{1 + Q(G - \hat{G})}d_0$$

Ecuación 1: Variable controlado IMC

Si el modelo es perfecto:

$$y = QGR + (1 - Q\hat{G})d_0$$

Ecuación 2: Variable controlada IMC con modelo perfecto

Utilizando un algebra de bloques, se obtiene:

Figura 7: IMC control clásico tomado (Realimentación Basada en el Modelo, 2013)

Los problemas que le afectan son:

- Nunca el modelo es perfecto
- Los actuadores se saturan
- Un retardo no se puede invertir en forma exacta
- Problemas matemáticos de inversión
- Problemas con plantas inestables

Para resolver estos problemas se elige

$$Q = F\hat{G}_{inv}$$

Ecuación 3: Elección de Q

Dónde:

- $\hat{G}_{inv}$ es una aproximación estable de la inversa de $\hat{G}$
- F es una condición de diseño (filtro) para lograr determinadas propiedades en lazo cerrado

(Zanini et al. 2014)

III.1.2.2.4.1 Identificación de sistemas

El modelo de un proceso es la forma de resumir el conocimiento que se tiene sobre la dinámica del proceso, por lo que es una herramienta importante para el diseño y análisis de sistemas de control pero, al construir modelos estamos obteniendo representaciones simplificadas de la dinámica real del proceso. Por otra parte, según el uso destinado al modelo, este modelo debe ser más o menos detallado por lo cual, se establece una jerarquía de modelos que describen al proceso con mayor o menor detalle.

Se conocen dos maneras para la construcción de un modelo:

- Obtención mediante principios y leyes físicas que describas la dinámica del proceso
- Obtención mediante experimentación sobre el proceso que se quiere modelar

La identificación de sistemas es la aproximación experimental al modelado de sistemas. Consiste en la obtención de un modelo a partir de observaciones obtenidas directamente del propio sistema que se quiere modelar, para lo cual se realiza los siguientes pasos:

- Planificación del experimento
- Selección del tipo de modelo
- Elección de un criterio para expresar la bondad del modelo que se va a obtener
- Estimación de los parámetros del modelo
- Validación del modelo obtenido

(Rodríguez Ramírez & Bordóns Alba 2005)

III.1.2.2.4.1.1 Planificación del experimento

Debido a que la identificación de sistema involucra la experimentación con el proceso a modelar, se debe tener en cuenta que el costo de la experimentación es elevado, por lo cual se debe elegir una técnica que sea rentable. Algunas técnicas son muy sencillas, en el sentido de que una vez realizado el experimento se puede obtener el modelo fácilmente. Estas técnicas, sin embargo, requieren que los experimentos se realicen con señales de entrada preestablecidas como pulsos, sinusoidales, rampas, etc. Puede que en el proceso a modelar no se pueda aplicar este tipo de entradas por consideraciones de seguridad, economías, etc., por lo cual se pueden aplicar técnicas de identificación que permitan ingresar cualquier tipo de señales a la entrada. Sin embargo, una vez realizado el experimento, es más complicado obtener el modelo.

Se debe tomar en cuenta que no siempre es posible identificar en lazo abierto y se debe realizar el modelado de la planta en lazo cerrado debido a que, el sistema sea identificable en lazo abierto, esta propiedad puede perderse en lazo cerrado. (Rodríguez Ramírez & Bordóns Alba 2005)

III.1.2.2.4.1.2 Selección del tipo de modelo

Teóricamente, la selección del tipo de modelo debe venir de un conocimiento del proceso y de las perturbaciones que deban tenerse en cuenta. Por tanto, generalmente los modelos se clasifican como:

- Modelos de caja negra:

Son modelos que resultan de postular una estructura matemática con una serie de parámetros libres, los cuales obtienen su valor a partir de los datos obtenidos en el experimento

- Modelos de caja blanca:

Son obtenidos a partir de leyes físicas

- Modelos de caja gris:

Corresponden a un tipo intermedio de los modelos de caja blanca y caja negra. Parte del modelo es obtenido mediante leyes físicas y otra parte sí se obtiene mediante medidas experimentales.

(Rodríguez Ramírez & Bordóns Alba 2005)

III.1.2.2.4.1.3 Elección de un criterio

En el proceso de estimación del modelo y su validación se debe contar con un criterio de bondad de ajuste del modelo a los datos, es decir, que exprese la calidad del modelo obtenido. Estos criterios generalmente toman la forma

$$J(\theta) = \sum_{k=1}^N g(e(k))$$

Ecuación 4: Criterio de bondad

Dónde:

- θ vector de parámetros a ajustar,
- $e(k)$ error de estimación para la medida k
- N número de observaciones o medidas disponibles
- $g(.)$ función generalmente cuadrática

Generalmente, el proceso de ajuste del modelo se realiza de manera que se busca el valor del vector de parámetros θ que hace mínimos al índice o criterio $J(\theta)$. (Rodríguez Ramírez & Bordóns Alba 2005)

III.1.2.2.4.1.4 Estimación de los parámetros

Para resolver el problema de estimación de los parámetros del modelo se requiere: datos experimentales, un tipo de modelo y un criterio. Estimar parámetros consiste en resolver un problema de optimización en el cual, el mejor modelo es el que hace mínimo el criterio. Es necesario tener en cuenta que el modelo obtenido dependerá de los elementos anteriores, como son las señales de entrada. Hay diversas formas de llevar a cabo el proceso de estimación. (Rodríguez Ramírez & Bordóns Alba 2005)

III.1.2.2.4.1.4.1 Estimación en línea

La estimación se efectúa usando medidas que se van obteniendo en tiempo real, y normalmente se emplean cálculos recursivos. (Rodríguez Ramírez & Bordóns Alba 2005)

Figura 8: Identificación en línea tomado (Rodríguez Ramírez & Bordóns Alba 2005)

III.1.2.2.4.1.4.1.1 Identificación de sistemas basado en la señal de error

Se considera un sistema descrito con variables de estado, el cual engloba entradas como salidas del sistema.

Los elementos desconocidos del sistema son englobados por la matriz A , y son parámetros que aparecen en las ecuaciones dinámicas del sistema que se quiere identificar. Además, la matriz $\hat{A}$ es formada por los valores estimados de la matriz A .

Los coeficientes a_i son lo que se quiere identificar

$$y = a_1x_1 + a_2x_2 + \dots + a_nx_n$$

Ecuación 5: Ecuación del sistema

La Ecuación 5: Ecuación del sistema se puede expresar de forma vectorial

$$y = Ax$$

Ecuación 6: Ecuación vectorial del sistema

Donde el sistema estimado será:

$$\hat{y} = \hat{A}x$$

Ecuación 7: Sistema estimado

Que se representa:

Figura 9: Identificación basa en error tomado (García Lopez 2014)

Donde la señal de error e^2 es escalar.

Para representar al modelo de manera fiable es necesario que el error cuadrático sea mínimo

$$J = \frac{1}{2} e^T e$$

Figura 10: Índice de comportamiento

Para que el modelo converja hacia el sistema, el algoritmo debe adaptarse a las circunstancias que se produzcan para así obtener que el error sea mínimo. (García Lopez 2014)

III.1.2.2.4.1.4.1.2 Algoritmo del gradiente

$$\hat{A}(k+1) = \hat{A}(k) - \mu \nabla_{\hat{A}} J$$

Ecuación 8: Expresión matemática del algoritmo del gradiente

Al desarrollar la Ecuación 8: Expresión matemática del algoritmo del gradiente, se obtiene:

$$\hat{A}(k+1) = \hat{A}(k) - \mu \frac{\partial J}{\partial \hat{A}} = \hat{A}(k) - \mu \frac{\partial J}{\partial e} \frac{\partial e}{\partial \hat{A}} = \hat{A}(k) - \mu e \frac{\partial e}{\partial \hat{A}}$$

Ecuación 9: Desarrollo de la ecuación del algoritmo del gradiente

Cabe hacer notar que a pesar de ser el sistema continuo debido a que la identificación se realiza por medio digitales, los parámetros $\hat{A}(k)$ se estiman en tiempo discreto.

$$e(t) = y(t) - \hat{y}(kT)$$

Ecuación 10: Error en tiempo discreto

Donde, $\hat{y}(kT)$ se mantiene constante entre dos periodos de muestreo

$$e(t) = y(t) - \hat{A}x(kT)$$

Ecuación 11: Sustitución por el valor de la estimación

$$\frac{\partial e}{\partial \hat{A}} = -x^T(k)$$

Ecuación 12: Derivada con respecto $\hat{A}$

$$\hat{A}(k+1) = \hat{A}(k) - \mu e \frac{\partial e}{\partial \hat{A}} = \hat{A}(k) + \mu e x^T(k)$$

Ecuación 13: Resultado del algoritmo del gradiente

El algoritmo del gradiente se aplica con buenos resultados cuando existe un solo parámetro a estimar. Sin embargo cuando se encuentran dos o más parámetros a estimar, la convergencia se realiza en un tiempo prolongado. (García Lopez 2014)

III.1.2.2.4.1.4.1.3 Identificación por mínimos cuadrados

La identificación por mínimos cuadrados, es una estimación paramétrica, lo que significa que se debe a conocer la estructura de las ecuaciones donde los coeficientes de dichas ecuaciones son los que se van a estimar. (García Lopez 2014)

$$y(k) + a_1 y(k-1) + \dots + a_n y(k-n) = b_1 u(k-1) + \dots + b_n u(k-n)$$

Ecuación 14: Ecuación del sistema

$$y(k) = m(k)\theta$$

Ecuación 15: Ecuación del sistema

Dónde:

$$m(k) = [-y(k-1) \quad \dots \quad -y(k-n) \quad b_1 u(k-1) \quad \dots \quad b_n u(k-n)]$$

Ecuación 16: Regresor

$$\theta = [a_1 \quad \dots \quad a_n \quad b_1 \quad \dots \quad b_n]^T$$

Ecuación 17: Vector de parámetros

$$e(k, \hat{\theta}) = y(k) - \hat{y}(k) = y(k) - m(k)\hat{\theta}$$

Ecuación 18: Error de predicción

Si tenemos N para $(y(k), m(k))$ con $N \gg 2n$ se plantea:

$$\begin{aligned} E(N, \theta) &= Y(N) - M(N)\theta \\ E(N, \theta) &= [e(n, \theta) \quad \dots \quad e(N, \theta)]^T \\ Y(N) &= [y(n) \quad \dots \quad y(N)]^T \\ M(N) &= \begin{bmatrix} m(n) \\ \vdots \\ m(N) \end{bmatrix} \end{aligned}$$

Ecuación 19: Sistema de ecuaciones sobredeterminado incompatible

Encontrar una **pseudosolución** (θ^*) del sistema **óptimo** por mínimos cuadrados

$$J(\theta) = \|E(N, \theta)\|^2 = \sum_{k=n}^N e^2(k, \theta) = (Y(N) - M(N)\theta)^T (Y(N) - M(N)\theta)$$

Ecuación 20: Índice de comportamiento

$$\frac{dJ(\theta)}{d\theta} = 0 = 2(M(N)\theta - Y(N))^T M(N)$$

Ecuación 21: Obtención del mínimo valor de θ

Por lo que se obtiene

$$\theta^* = [M^T(N)M(N)]^{-1}M^T(N)Y(N)$$

Ecuación 22: Estimador de mínimos cuadrados

(Rodríguez Ramírez & Álamo Cantero 2013)

III.1.2.2.4.1.4.1.4 Identificación por mínimos cuadrados recursivos

La identificación por mínimos cuadrados recursivos tiene las siguientes ventajas:

- Menos carga de cálculo
- Usa medidas en tiempo real
- Se recomienda para sistemas dinámicos

$$\hat{\theta}(k) = \hat{\theta}(k-1) + K(k) \left(y(k) - m(k)\hat{\theta}(k-1) \right)$$

Ecuación 23: Ecuación a estimar por mínimos cuadrados recursivos

Dónde

$$K(k) = P(k)m^T(k)$$

Ecuación 24: Ganancia de adaptación

$$P(k) = [M^T(k)M(k)]^{-1} = \left[\sum_{i=n}^k m^T(i)m(i) \right]^{-1}$$

Ecuación 25: Ecuación P

(Rodríguez Ramírez & Álamo Cantero 2013)

III.1.2.2.4.1.4.2 Estimación fuera de línea

En este caso se toman los datos del experimento (es decir, series de medidas) y posteriormente, se ajusta el modelo usando para ello todo el conjunto de datos. Este tipo de procedimientos suelen obtener modelos más precisos y fiables en cuanto a la convergencia de los parámetros estimados a los parámetros reales del proceso. (Rodríguez Ramírez & Bordóns Alba 2005)

III.1.2.2.4.1.5 Validación del modelo

Consiste en comprobar la bondad del modelo que se ha obtenido por el proceso de identificación. Una técnica muy común para comprobar la bondad de un modelo identificado es la validación cruzada.

Tampoco puede descartarse la posibilidad de no usar criterio de validación alguno y efectuar una inspección visual sobre una simulación, en la que se usa el modelo estimado para predecir la salida en base a datos de entradas experimentales. (Rodríguez Ramírez & Bordóns Alba 2005)

III.2 Convertidor estático de potencia

Un convertidor es un término genérico para referirse a una sola etapa de conversión de energía que puede realizar cualquiera de las funciones de conversión de corriente (Luo & Ye 2010). La conversión de corriente los realiza

sin emplear elementos móviles, sino que se emplean elementos de electrónica de potencia, por lo que su desarrollo ha estado íntimamente ligado a la evolución de los dispositivos semiconductores.

Se pueden clasificar como:

- AC/DC rectificador
- DC/DC
- AC/AC
- DC/AC inversor

III.2.1 Convertidor AC/DC

Los rectificadores AC/DC son utilizados en aplicaciones industriales desde hace mucho tiempo. Antes de la década de 1960, la mayoría de los rectificadores de AC/DC de potencia se construyeron con rectificadores de arco de mercurio. Luego, el diodo de silicio de gran potencia y el tiristor (o rectificador controlado por silicio SCR) se desarrollaron con éxito en la década de 1960. Desde entonces, todos los rectificadores de potencia AC/DC se han construido utilizando diodos de silicio de potencia y tiristores. Usando un diodo de silicio de potencia, se pueden construir rectificadores de diodos no controlados. Usando un tiristor de potencia, podemos construir rectificadores de SCR controlados ya que el tiristor es usualmente disparado al ángulo de disparo α , que es variable. Si el ángulo de disparo $\alpha = 0$, las características del rectificador SCR controlado regresarán a las del rectificador de diodo no controlado. La investigación sobre las características del rectificador de diodo no controlado permite a los diseñadores tener una idea de las características del rectificador SCR controlado. El rectificador de diodo de media onda de una sola fase. La carga puede ser una carga resistiva, carga inductiva, carga capacitiva o fuerza de carga electromotriz (emf). (Luo & Ye 2010)

III.2.2 Convertidor directo DC/DC

La tecnología de conversión DC/DC se desarrolló muy rápido y logró mucho, se cree que hay más de 500 topologías existentes de convertidores DC / DC según las estadísticas actuales (Luo & Ye 2010). Los convertidores DC/DC se han empleado principalmente en aplicaciones industriales como por ejemplo unidades de motor DC, equipos de comunicación, teléfonos móviles, cámaras digitales, etc. Muchas nuevas topologías se han desarrollado en la década reciente. El modelado matemático es el problema histórico que acompaña al desarrollo de la tecnología de conversión DC/DC. Desde la década de 1940 en adelante, los investigadores llevaron a cabo investigaciones en esta área y ofrecieron varios modelos matemáticos y métodos de control (Luo & Ye 2010).

III.2.3 Convertidor directo AC/AC

Los convertidores AC/AC no irrumpieron en aplicaciones industriales hasta antes de la década de 1960 debido a su complejidad y costo. Se usaron en sistemas de calefacción para el control de la temperatura y en atenuadores de luz en cines, teatros y discotecas, o en los atenuadores nocturnos de dormitorios para un control del brillo y el color claro. Los primeros convertidores AC/AC fueron diseñados por el método de regulación de voltaje (VR). Los convertidores de reguladores de voltaje AC/AC se han utilizado con éxito en sistemas de calefacción y regulación de la luz. Una desventaja es que la tensión de AC de salida de los convertidores de regulación de voltaje AC/AC es una forma de onda fuertemente distorsionada con una distorsión armónica total (THD) y un factor de potencia (PF) pobres. Otras desventajas son que el voltaje de salida es constantemente más bajo que el voltaje de entrada y la frecuencia de salida no es ajustable.

Los cicloconvertidores y los convertidores matriciales pueden cambiar la frecuencia de salida, pero la tensión de salida también es constantemente más baja que la tensión de entrada. Su THD y PF también son muy pobres.

Los convertidores AC/AC con modulación de corriente continua pueden dar fácilmente una tensión de salida superior al voltaje de entrada. Además, el método de modulación de corriente continua puede mejorar con éxito el THD y el PF.

III.2.4 Convertidor CC/CA

Los inversores DC/AC no fueron ampliamente utilizados en aplicaciones industriales antes de la década de 1960 debido a su complejidad y costo. Sin embargo, se utilizaron en la mayoría de los accionamientos de motor fraccionados de caballos de fuerza en los años 70 porque los motores de CA tienen la ventaja de un costo menor en comparación con los motores de corriente continua, eran de menor tamaño y no requieren mantenimiento. En la década de 1980, debido al desarrollo de semiconductores, se produjeron dispositivos más efectivos como IGBT y MOSFET, y los inversores CC/CA comenzaron a aplicarse ampliamente en aplicaciones industriales. Hasta la fecha, las técnicas de conversión CC/CA se pueden clasificar en dos categorías: modulación de ancho de pulso (PWM) y modulación multinivel (MLM). Cada categoría tiene muchos circuitos para implementar la modulación. Usando PWM, se puede diseñar varios inversores tales como inversores de fuente de voltaje (VSI), inversores de fuente de corriente (CSI), inversores de fuente de impedancia (ZSI) y inversores PWM de múltiples etapas. El método PWM es adecuado para la conversión de CC/CA ya que el voltaje de entrada es usualmente un voltaje de CC constante. El método de modulación de fase de pulso (PPM) también es posible, pero es menos conveniente. El método de

modulación de amplitud de pulso (PAM) no es adecuado para la conversión de CC/CA, debido a que la tensión de entrada suele ser una tensión CC constante. La operación PWM tiene el borde de avance de todos los impulsos desde el comienzo del período de impulso, y su borde de remolque es ajustable. El método PWM es una técnica fundamental para muchos tipos de inversores PWM DC/AC como VSI, CSI, ZSI y variadores PWM de múltiples etapas. Otro grupo de inversores DC/AC son los inversores multinivel (MLI). Estos inversores fueron inventados a fines de los setenta. Los primeros MLI se construyen utilizando circuitos con abrazadera de diodo y con abrazadera de capacitor.

III.3 Magnetismo

El magnetismo es un fenómeno físico por el cual, los objetos ejercen fuerzas de atracción o repulsión sobre otros materiales. Hay algunos materiales conocidos que han presentado propiedades magnéticas detectables fácilmente como el níquel, hierro, cobalto y sus aleaciones que comúnmente se les conoce como imanes. (mailxmail 1995)

III.3.1 Campo magnético

Un campo magnético es la descripción matemática de la influencia magnética de las corrientes eléctricas y de los materiales magnéticos. El campo magnético en cualquier punto está especificado por dos valores, la dirección y la magnitud.

Cuando un campo magnético es generado en un volumen del espacio, significa que existe un cambio en la energía magnética en ese volumen, y además que existe un gradiente de energía para que una fuerza sea producida. Dicha fuerza puede ser detectada por la aceleración de una carga eléctrica en movimiento en el campo. (Jiles, 1998)

Figura 11: Ilustración 23: Líneas mostrando el campo magnético de un imán de barra

III.3.1.1 Generación de un campo magnético

Un campo magnético puede ser producido mediante cargas eléctricas en movimiento. Esto se puede evidenciar en el flujo de la corriente eléctrica sobre un conductor, como lo descubrió Oersted en 1819. Un campo magnético también puede ser producido por un imán permanente. Cuando es producido por un imán permanente no existe una corriente eléctrica convencional pero existe movimiento orbital y espín del electrón, lo cual se le conoce como corrientes Ampèrian. (Jiles, 1998)

III.3.1.2 Ley de Biot-Savart

La ley de Biot-Savart, toma su nombre en honor de los físicos franceses Jean-Baptiste Biot y Félix Savart y data de 1820, la cual indica el campo magnético creado por corrientes eléctricas estacionarias. Es una de las leyes fundamentales de la magnetostática, tanto como la ley de Coulomb lo es en electrostática.

En el caso de las corrientes que circulan por circuitos filiformes, la contribución de un elemento infinitesimal de longitud $d\vec{l}$ del circuito recorrido por una corriente I , crea una contribución elemental de campo magnético, $d\vec{B}$, en el punto situado en la posición que apunta el vector $\vec{U}_r$ a una distancia r respecto de $d\vec{l}$, quien apunta en dirección a la corriente I :

$$d\vec{B} = \frac{\mu_0}{4\pi} \frac{Id\vec{l} \times \hat{r}}{r^2}$$

Ecuación 26: Ley de Biot-Savart

Dónde

- μ_0 permeabilidad magnética del vacío
- $\hat{r}$ vector unitario

Figura 12: Ley de Biot-Savart

En el caso de corrientes distribuidas en volúmenes, la contribución de cada elemento de volumen de la distribución, viene dado por:

$$\vec{B} = \frac{\mu_0}{4\pi} \int \frac{\vec{j} \times \hat{r}}{r^2} dV$$

Ecuación 27: Ley de Biot-Savart generalizada

Dónde:

- dV elemento diferencial de volumen
- $\vec{j}$ vector densidad de corriente

(Errico 2017)

III.3.1.3 Fuerza de Lorentz

La fuerza de Lorentz es la fuerza ejercida por un campo electromagnético a una partícula cargada o una corriente eléctrica.

Para una partícula sometida a un campo electromagnético, la fuerza electromagnética total o fuerza de Lorentz sobre esa partícula está dada por:

$$\vec{F} = q(\vec{E} + \vec{v} \times \vec{B})$$

Ecuación 28: Fuerza de Lorentz

Dónde:

- $\vec{v}$ velocidad de la carga
- $\vec{E}$ vector de intensidad de campo eléctrico
- $\vec{B}$ vector inducción magnética

Figura 13: Fuerza de Lorentz sobre una partícula cargada en un campo magnético *tomado* (Fundación Wikimedia, 2013)

La Ecuación 28: Fuerza de Lorentz se la puede aplicar al caso de tener un hilo de corriente ideal bajo la relación:

$$\vec{F} = \int_L \vec{I} \cdot d\vec{l} \times \vec{B}$$

Ecuación 29: Fuerza de Lorentz en un hilo de corriente

Dónde:

- L longitud del conductor
- I intensidad de corriente eléctrica
- $\vec{B}$ inducción magnética

Figura 14: Fuerza de Lorentz sobre una corriente *tomado* (Fundación Wikimedia, 2013)

(Kittel & Knight 1982)

III.3.1.4 Teorema de Stokes

El teorema de Stokes establece que, dada una curva cerrada L , la circulación de un campo vectorial $\vec{F}$ equivale al flujo de su rotacional a través

de una superficie S arbitraria con L como borde, y orientada según la regla de la mano derecha. (Departamento de Física Aplicada III & Universidad de Sevilla 2010)

$$\oint_L d\vec{l} \cdot \vec{F} = \int_S d\vec{S} \cdot (\nabla \times \vec{F})$$

Ecuación 30: Teorema de Stokes

III.3.1.4.1 Generalización a un campo escalar

Se considera la siguiente integral vectorial:

$$\vec{I} = \oint_L d\vec{r} \phi$$

Ecuación 31: Integral vectorial

La Ecuación 31: Integral vectorial no es una circulación además, tiene como resultado un vector, dicho vector se obtiene al sumar el valor del campo escalar ϕ en cada punto de L multiplicado por el desplazamiento a lo largo de la curva.

El teorema de Stokes generalizado a un campo escalar se demuestra realizando los siguientes artificios matemáticos:

$$\begin{aligned} \vec{u} \cdot \vec{I} &= \vec{u} \cdot \oint_L d\vec{r} \phi = \oint_L d\vec{r} \cdot \vec{u} \phi = \oint_L d\vec{r} \cdot (\vec{u} \phi) = \int_S d\vec{S} \cdot \nabla \times (\vec{u} \phi) \\ \nabla \times (\vec{u} \phi) &= (\nabla \times \vec{u}) \phi + (\nabla \phi) \times \vec{u} = (\nabla \phi) \times \vec{u} \\ \vec{u} \cdot \vec{I} &= \int_S d\vec{S} \cdot (\nabla \phi \times \vec{u}) = \int_S (d\vec{S} \times \nabla \phi) \cdot \vec{u} = \vec{u} \cdot \left(\int_S d\vec{S} \times \nabla \phi \right) \\ \oint_L d\vec{r} \phi &= \int_S d\vec{S} \times \nabla \phi \end{aligned}$$

Ecuación 32: Demostración de teorema de Stokes generalizado a un campo escalar

Donde

$\vec{u}$ vector constante

(Departamento de Física Aplicada III & Universidad de Sevilla 2009b)

III.3.1.4.2 Generalización a un producto vectorial

Se considera la siguiente integral vectorial:

$$\vec{I} = \oint_L d\vec{r} \times F$$

Ecuación 33: Integral vectorial

Los artificios matemáticos para la generalización a un productor vectorial del teorema de Stokes son parecidos a los artificios matemáticos de la sección Generalización a un campo escalar, como se verá a continuación:

$$\begin{aligned}\vec{u} \cdot \vec{I} &= \vec{u} \cdot \oint_L d\vec{l} \times \vec{F} = \oint_L (d\vec{l} \times \vec{F}) \cdot \vec{u} = \oint_L d\vec{l} \cdot (\vec{F} \times \vec{u}) = \int_S d\vec{S} \cdot \nabla \times (\vec{F} \times \vec{u}) \\ \vec{u} \cdot \vec{I} &= \int_S d\vec{S} \cdot \nabla \times (\vec{F} \times \vec{u}) = \int_S (d\vec{S} \times \nabla) \cdot (\vec{F} \times \vec{u}) = \int_S ((d\vec{S} \times \nabla) \times \vec{F}) \cdot \vec{u} \\ \vec{u} \cdot \vec{I} &= \int_S ((d\vec{S} \times \nabla) \times \vec{F}) \cdot \vec{u} = \vec{u} \cdot \left(\int_S (d\vec{S} \times \nabla) \times \vec{F} \right) \\ &= \oint_L d\vec{r} \times \vec{F} = \int_S (d\vec{S} \times \nabla) \times \vec{F}\end{aligned}$$

Ecuación 34: demostración de teorema de Stokes generalizado a un campo vectorial

Dónde

- $\vec{u}$ vector constante

(Departamento de Física Aplicada III & Universidad de Sevilla 2009b)

III.3.1.5 Acción de un campo magnético sobre un dipolo magnético

Un dipolo magnético que experimenta la acción de un campo magnético externo, tiende a moverlo y orientarlo. Este efecto es análogo a un dipolo eléctrico en un campo eléctrico. (Departamento de Física Aplicada III & Universidad de Sevilla 2009a)

III.3.1.5.1 Fuerza

Conociendo que la fuerza de Lorentz enunciado en III.3.1.3, y aplicando la Generalización a un producto vectorial del teorema de Stokes, se obtiene la siguiente expresión:

$$\vec{F} = \vec{I} \int_S (d\vec{S} \times \nabla) \times \vec{B}_{ext}$$

Ecuación 35: Fuerza de Lorentz y generalización de Stokes

Dónde:

- S superficie apoyada en la curva cerrada L

Si se aproxima una espira de corriente como un dipolo magnético, la superficie que ocupa la espira es muy pequeña, por lo que se puede suponer que el campo magnético y su gradiente tienen el mismo valor en todos los puntos de la espira, con lo que se obtiene:

$$\vec{F} = \vec{I}(\vec{S} \times \nabla) \times \vec{B}_{ext} = (\vec{m} \times \nabla) \times \vec{B}_{ext}$$

Ecuación 36: Fuerza que experimenta un dipolo debido a un campo magnético externo

Con el uso de las ecuaciones de Maxwell se obtiene:

$$\vec{F} = (\vec{m} \times \nabla) \times \vec{B}_{ext} = \nabla(\vec{m} \cdot \vec{B}_{ext}) - \vec{m}(\nabla \cdot \vec{B}_{ext}) = \nabla(\vec{m} \cdot \vec{B}_{ext})$$

Ecuación 37: Fuerza que experimenta un dipolo debido a un campo magnético externo

(Departamento de Física Aplicada III & Universidad de Sevilla 2009a)

III.3.1.6 Inductor

Un inductor, bobina o reactor es un componente pasivo de un circuito eléctrico que, debido al fenómeno de la autoinducción almacena energía en forma de campo magnético.

Un inductor está constituido normalmente por una bobina de conductor, típicamente alambre o hilo de cobre esmaltado. Existen inductores con núcleo de aire o con núcleo hecho de material ferroso (por ejemplo, acero magnético), para incrementar su capacidad de magnetismo. (Boylestad 1998)

III.3.1.6.1 Bobinas de gradiente

Las bobinas de gradiente son comúnmente utilizadas en equipos de resonancia magnética nuclear; las bobinas de gradiente producen los gradientes en el campo magnético principal de un equipo de resonancia magnética. Son bobinas que funcionan a temperatura ambiente y, por su configuración, generan el gradiente magnético deseado. (Vásquez Sanjuán 2007)

III.3.1.6.1.1 Bobinas Maxwell

La bobina de Maxwell es un dispositivo empleado para producir una región de campo magnético casi uniforme. Consta de dos electroimanes de solenoide en el mismo eje. Además de crear campos magnéticos, bobinas de Maxwell también se utilizan en aparatos científicos para cancelar los campos magnéticos externos, tales como el campo magnético de la Tierra.

Si la corriente circula en sentidos opuestos en los electroimanes de solenoide, bobina Maxwell, se puede conseguir una región central entre las dos bobinas en cual, el gradiente del campo magnético en la dirección del eje común a ambas bobinas es máximo. La linealidad del gradiente del campo magnético depende de la construcción de la geometría de las bobinas. (Trujillo Sevilla 2012)

Figura 15: Bobinas Maxwell

III.3.1.6.1.2 Bobinas de Golay

Las bobinas de Golay están diseñadas para ser arrolladas sobre un cilindro, la linealidad del campo magnético producido depende de los parámetros de su geometría.

Las bobinas de Golay son empleadas en los sistemas de resonancia magnética para, la producción de gradientes de campo magnéticos en los ejes transversales al cilindro. (Trujillo Sevilla 2012)

Figura 16: Bobinas de Golay

III.3.2 Materiales magnéticos

Cuando un material magnético es afectado por la presencia de un campo magnético, los momentos atómicos individuales en el material generan una respuesta de inducción magnética, la cual es expresada como:

$$B = \mu_0(H + M)$$

Ecuación 38: Inducción magnética en el interior de un material magnético producida por un campo magnético externo

Donde:

μ_0 Permeabilidad en el vacío, magnetización $M = m/V$ es el momento magnético por unidad de volumen del material.

III.3.2.1 Diamagnéticos

Un campo magnético induce un dipolo magnético sobre todo los átomos en un material, influyendo sobre el momento magnético causado por los electrones en sus orbitas. Estos dipolos se oponen al campo magnético, haciendo que la magnetización sea menor que cero. Este comportamiento se llama diamagnetismo, la cual aporta una permeabilidad relativa aproximada de 0.99995. (luz-wiki contributors 2011a)

Figura 17: Material diamagnético sobre imanes permanentes

III.3.2.2 Paramagnéticos

Se denomina materiales paramagnéticos a los materiales cuya permeabilidad magnética es similar a la del vacío. En términos físicos, se dice que su permeabilidad magnética relativa tiene valor aproximadamente igual a 1. Los materiales paramagnéticos sufren el mismo tipo de atracción y repulsión que los imanes, cuando están sujetos a un campo magnético. Sin embargo, al retirar el campo magnético, la entropía destruye el alineamiento magnético, que ya no está favorecido energéticamente. Es decir, los materiales paramagnéticos son materiales atraídos por imanes, pero no se convierten en materiales permanentemente magnetizados. (luz-wiki contributors 2011b)

III.3.2.3 Ferromagnéticos

Los materiales ferromagnéticos son la clase más importante de materiales magnéticos. Podemos hacer esta declaración sin reservas tanto desde el punto

de vista práctico como teórico. Las aplicaciones donde estos materiales se encuentran son muy diversas. En aplicaciones de ingeniería se utilizan los ferromagnetos debido a sus altas permeabilidades que permiten obtener altas inducciones magnéticas con sólo campos magnéticos modestos, su capacidad para retener la magnetización y actuar así como una fuente de campo y por supuesto el torque que puede producir un dipolo magnético en un campo puede utilizarse en motores eléctricos. (Jiles 1991)

III.4 Clasificador

La clasificación es un tipo de aprendizaje supervisado de máquina en el que **un algoritmo “aprende” a clasificar nuevas observaciones de ejemplos de datos** etiquetados. (MATLAB & Simulink - MathWorks España 2017a)

La clasificación se lleva a cabo de forma diferente según el método utilizado, sin embargo todos parten de un mismo conjunto de datos, y todos terminan haciendo una predicción de su porcentaje de acierto. (Campo 2009)

III.4.1 Clasificador Naive Bayes

Los modelos Naive Bayes suponen que las observaciones tienen alguna distribución multivariada dada la pertenencia a la clase, pero el predictor o las características que componen la observación son independientes. Este marco puede acomodar un conjunto de características completo tal que una observación es un conjunto de recuentos multinomiales. (MATLAB & Simulink - MathWorks España 2017b)

III.4.1.1 Teorema de Bayes

El teorema de Bayes parte de una situación en la que es posible conocer las probabilidades de que ocurran una serie de sucesos A_i .

A esta se añade un suceso B cuya ocurrencia proporciona cierta información, porque las probabilidades de ocurrencia de B son distintas según el suceso A_i que haya ocurrido. (Salinas, Jose M n.d.)

$$P(A_i|B) = \frac{P(A_i) \cdot P(B|A_i)}{P(B)}$$

Ecuación 39: Teorema de Bayes

Donde:

- $P(A_i)$ probabilidad a priori
- $P(B|A_i)$ probabilidad condicional

- $P(B)$ probabilidad total
- $P(A_i|B)$ probabilidad a posterior

III.4.2 Clasificador Parzen

Es un clasificador basado en la estimación no paramétrica. Los métodos no paramétricos no asumen nada acerca de la función de distribución de probabilidades que se quiere estimar dada una colección de datos de entrenamiento. Los datos le van dando forma a la función de distribución de probabilidades, la cual es además suavizada por el kernel elegido. (Camarena Ibarrola 2009)

Figura 18: Clasificador Parzen

III.4.3 Clasificador KNN (K-Nearest Neighbour)

Este clasificador fundamenta su paradigma en que un nuevo caso se va a clasificar en la clase más frecuente a la que pertenecen sus K vecinos más cercanos. El paradigma se fundamenta por tanto en una idea muy simple e intuitiva, lo que unido a su fácil implementación hace que sea un paradigma clasificador muy extendido. (Moujahid et al. n.d.)

Figura 19: Clasificador K-NN

III.4.4 Clasificador Backpropagation

Cuando el resultado del uso de modelos simples de densidad paramétrica o de modelos de histogramas no son los deseados entonces, se buscan modelos de densidad más sofisticados; el clasificador backpropagation hace uso de redes neuronales que son una técnica de aproximación paramétrica útil para construir modelos de densidad. La red neuronal habitual empleada por este algoritmo consiste de una red con una capa de entrada con tantos nodos como entradas tengan, una capa oculta con un número de nodos variable que dependerá de las características del problema, y una capa de salida con tantos nodos como posibles salidas tenga, y estas salidas se retroalimentaran a las entradas correspondientes para reducir el error. (García García 2013)

Figura 20: Clasificador Backpropagation

III.4.5 Clasificador con Análisis de Componentes Principales (PCA)

El Análisis de Componentes Principales (PCA) se usa en varias aplicaciones científicas como paso intermedio para análisis ulteriores, siendo un método estadístico de simplificación y reducción de la dimensionalidad de un conjunto de datos con numerosas variables. Así se puede ver que PCA puede ser utilizado como un tipo de clasificador, ya que los datos transformados mantienen las características básicas de los datos iniciales y su representación. (Vidal et al. 2002)

III.4.6 Máquinas de vectores de soporte "Support vector machine" (SVM)

Las máquinas de vectores soporte (SVM, del inglés Support Vector Machines) tienen su origen en los trabajos sobre la teoría del aprendizaje estadístico y fueron introducidas en los años 90 por Vapnik y sus colaboradores. Aunque originariamente las SVMs fueron pensadas para resolver problemas de clasificación binaria, actualmente se utilizan para resolver otros tipos de problemas (regresión, agrupamiento, multclasificación). También son diversos

los campos en los que han sido utilizadas con éxito, tales como visión artificial, reconocimiento de caracteres, categorización de texto e hipertexto, clasificación de proteínas, procesamiento de lenguaje natural, análisis de series temporales.

Dentro de la tarea de clasificación, las SVMs pertenecen a la categoría de los clasificadores lineales, debido a que inducen separadores lineales o hiperplanos, ya sea en el espacio original de los ejemplos de entrenamiento (muestras), si éstos son separables o cuasi-separables (ruido), o en un espacio transformado (espacio de características), si los ejemplos no son separables linealmente en el espacio original.

Mientras la mayoría de los métodos de aprendizaje se centran en minimizar los errores cometidos por el modelo generado a partir de los ejemplos de entrenamiento (error empírico), el sesgo inductivo asociado a las SVMs radica en la minimización del denominado riesgo estructural. La idea es seleccionar un hiperplano de separación que equidista de los ejemplos más cercanos de cada clase para, de esta forma, conseguir lo que se denomina un margen máximo a cada lado del hiperplano. Además, a la hora de definir el hiperplano, sólo se consideran los ejemplos de entrenamiento de cada clase que caen justo en la frontera de dichos márgenes. Estos ejemplos reciben el nombre de vectores soporte. Desde un punto de vista práctico, el hiperplano separador de margen máximo ha demostrado tener una buena capacidad de generalización, evitando en gran medida el problema del sobreajuste a los ejemplos de entrenamiento.

Desde un punto de vista algorítmico, el problema de optimización del margen geométrico representa un problema de optimización cuadrático con restricciones lineales que puede ser resuelto mediante técnicas estándar de programación cuadrática. La propiedad de convexidad exigida para su resolución garantiza una solución única, en contraste con la no unicidad de la solución producida por una red neuronal artificial entrenada con un mismo conjunto de ejemplos. (Suárez 2014)

Figura 21: Clasificador mediante SVM

III.5 Procesamiento digital de imágenes

Son técnicas de procesamiento digital de imágenes todas aquellas manipulaciones realizadas sobre la imagen con el objetivo de:

- Mejorar su calidad eliminando degradaciones
- Conseguir una representación eficiente que permita almacenarla en un determinado soporte con el menor número posibles de bits sin una pérdida apreciable de calidad o requerir el menor tiempo posible de transmisión
- Extraer información relevante de cara a interpretar su contenido, tomar decisiones, etc.

Si bien existe una gran interrelación entre las técnicas utilizadas en cada uno de los campos mencionado, las aplicaciones prácticas son muy diferentes, y cubren un amplio abanico de posibilidades, desde la industria y la medicina a las aplicaciones militares y de ocio. (Zanuy 2000)

III.5.1 Proceso de filtrado

Se trata de métodos para resaltar o suprimir, de forma selectiva, información contenida en una imagen a diferentes escalas espaciales, para destacar algunos elementos de la imagen, o también para ocultar valores anómalos.

El proceso de filtrado consiste en la aplicación a cada uno de los pixels de la imagen de una matriz de filtrado de tamaño $N \times N$ (generalmente de 3×3 aunque puede ser mayor) compuesta por números enteros y que genera un nuevo valor mediante una función del valor original y los de los pixels circundantes. El resultado final se divide entre un escalar, generalmente la suma de los coeficientes de ponderación. (Alonso 2006)

Los principales objetivos de los filtros son:

- Suavizar la imagen
- Eliminar ruido
- Realzar bordes
- Detectar bordes

IV. Metodología

IV.1 Diseño y construcción del hardware

IV.1.1 Diseño del módulo electrónico

Para tener una concepción global del módulo electrónico que se implementó en el desarrollo de esta tesis, se muestra la Figura 22: Diagrama de bloques del módulo electrónico, el cual es un diagrama simplificado del módulo electrónico.

Figura 22: Diagrama de bloques del módulo electrónico

El módulo electrónico debe cumplir con ciertos parámetros técnicos para su funcionamiento, como:

- Fácil instalación, debido al ambiente que se encuentra en un laboratorio, que se pueda cambiar fácilmente las partes constitutivas por otras, debido a los experimentos que se puedan llevar a cabo con este módulo electrónico.
- Mostrar al usuario si el módulo electrónico se encuentra trabajando.
- Debe ser manipulable a través de un software, en el cual se puedan apreciar las diferentes aplicaciones que se encuentra desarrollando el módulo electrónico.
- Ser lo suficientemente robusto para que funcione en el ambiente ruidoso electrónico que se encuentra en el laboratorio. Esto se debe al manejo de campos magnéticos en la parte de potencia. Dicho módulo debe

soportar toda clase ruido electromagnético proveniente de la carga, así como el ruido electromagnético proveniente de otras fuentes.

- Soportar y disipar la energía que se genera en los semiconductores del puente H.
- Proporcionar la suficiente cantidad y forma de onda de la corriente para que se pueda manipular el movimiento de las partículas de una manera controlada.
- Tener interfaz de usuario que permita la configuración de las diferentes formas de onda de corriente desde un computador.

A este módulo electrónico se lo divide en varias partes para poder dar una mejor visión del mismo.

- Fuente de alimentación

Circuito mediante el cual se provee de energía al módulo electrónico para su funcionamiento

- Control

Fuente de alimentación de baja potencia para los dispositivos electrónicos que proporcionaran la instrumentación necesaria para el modulo electrónico así como para los dispositivos de procesamiento de datos.

- Potencia

Fuente de alimentación de alta potencia para suministrar la energía necesaria a la carga para el funcionamiento que se requiera.

- Adquisición de la corriente

Se toma los datos provenientes del sensor de campo magnético basado en el efecto Hall y se los digitaliza para su posterior procesamiento.

- Control

Realiza la digitalización del sensor de efecto Hall. Con dicha digitalización se ejecuta el algoritmo de control para que la respuesta a dicho algoritmo de control sea aplicada al puente H, y así tener un control de la corriente en la carga.

- Potencia

Se encuentran los dispositivos de semiconductores que dirigen la energía necesaria para el funcionamiento adecuado de la carga.

- Comunicación

El módulo electrónico debe comunicarse con un computador para que el operario del módulo electrónico pueda realizar los diferentes ajustes.

IV.1.1.1 Diseño de la fuente de alimentación

Para el funcionamiento del módulo electrónico se necesita proveerlo de energía. Para ello a este módulo electrónico se le va a ingresar dos tipos de voltaje:

- Control
- Potencia

IV.1.1.1.1 Diseño de la fuente de alimentación de control

El diseño de la fuente de control necesitará un circuito para evitar el ingreso de ruido electrónico al módulo electrónico. Esto es necesario porque esta fuente de alimentación es la encargada de suministrar energía a los dispositivos electrónicos más susceptibles al ruido electrónico.

El circuito a implementar cuenta con:

- Circuito de protección de sobre voltaje
- Circuito de regulación del voltaje de alimentación
- Circuito de protección ante conexión inversa

Figura 23: Esquema de la fuente de alimentación de control

A continuación se describe cada una de las partes que conforman la fuente de alimentación de control del módulo electrónico.

IV.1.1.1.1.1 Alimentación control

Figura 24: Alimentación para la fuente de control

Debido a que el módulo electrónico se va a encontrar en un laboratorio, se escogió un conector que sea fácil de conseguir en este tipo de ambiente, por lo dicho se optó por un conector banana.

Figura 25: Conector banana

Además, la fuente que va a suministrar energía al circuito de la fuente de alimentación es: TTI QL355 Power Supply pero, cabe mencionar que puede ser alimentado con cualquier tipo de fuente de voltaje entre 7 a 12 voltios.

Figura 26: TTI QL355 Power Supply

IV.1.1.1.1.1.1 Filtro de armónicos

Para que el módulo electrónico no sea susceptible al ruido electromagnético, se realizó un filtro PI. Debido a que el filtro PI tiene la ventaja de no disipar energía en sus elementos, se encuentra en la fuente de alimentación para que el ruido electromagnético producido tanto en el exterior como en el interior del circuito no altere al funcionamiento del módulo electrónico.

Figura 27: Filtro PI del módulo electrónico

Para conocer el funcionamiento del filtro se ha realizado una simulación en el programa Proteus 7.10, que proporciona la magnitud del diagrama de bode que se muestra en la Figura 28: Módulo del Diagrama de Bode para el filtro PI.

Figura 28: Módulo del Diagrama de Bode para el filtro PI

IV.1.1.1.1.2 Regulador de voltaje

Para la alimentación de los diferentes dispositivos electrónicos de control del módulo electrónico se necesitan 5v, razón por la que el módulo electrónico cuenta con un regulador de voltaje 7805.

Figura 29: 7805

El regulador de voltaje 7805 tiene una corriente máxima de salida de 1 A, lo cual es más que suficiente debido a que este va a alimentar los siguientes dispositivos:

Dispositivos electrónicos	Corriente máxima [A]
Sensor de efecto hall	2,80E-02
Micro controlador	2,00E-01
Driver MOSFET	3,50E-01
Driver comunicación	1,00E-02
Total	9,38E-01

Tabla 1: Consumo módulo electrónico dispositivos de control

IV.1.1.1.2 Alimentación potencia

Debido a la demanda de potencia de la carga, el modulo electrónico debe ser capaz de manejar una corriente considerable. Por ello se ha escogido una fuente de alimentación que sea lo suficientemente capaz de suministrar la corriente necesaria para el funcionamiento adecuado de la carga, la fuente de alimentación de potencia es: Power Supply EA-PS 2042-10B.

Figura 30: Power Supply EA-PS 2042-10B

IV.1.1.2 Adquisición de la corriente

Debido a la magnitud de la corriente que va a manejar el módulo electrónico, así como la variación que tiene la corriente en la carga, el módulo electrónico debe tener un sistema de adquisición del estado de la corriente que sea fiable para usarlo como sensor para el lazo de control que va a manejar el módulo electrónico.

IV.1.1.2.1 Sensor de efecto hall

El efecto Hall, descubierto por Edwin C. Hall en 1879, consiste en la producción de una caída de voltaje a través de un conductor o semiconductor con corriente, bajo la influencia de un campo magnético externo. Para esto es necesario que la dirección del campo magnético sea perpendicular a la dirección de flujo de la corriente. (Martín Murdocca 2009)

El modulo electrónico usa un sensor de efecto hall como sensor para conocer el estado de la corriente en la carga, el cual es: LTS 15-NP

Figura 31: LTS 15-NP

IV.1.1.2.1.1 Característica del sensor LTS 15-NP

El sensor LTS 15-NP está diseñado para la medición electrónica de las corrientes: DC, AC, por pulsos, mezcladas con un aislamiento galvánico entre el circuito primario (alta potencia) y el circuito secundario (circuito electrónico), dependiendo de su configuración de hardware puede variar su rango de funcionamiento entre:

- 5 A
- 7.5 A
- 15 A

Las ventajas del sensor LTS 15-NP son:

- Voltaje de alimentación unipolar de 5 V
- Salida lineal

Figura 32: Voltaje de salida en función de la corriente del sensor LTS 15-NP

IV.1.1.2.1.2 Conexión del sensor LTS 15-NP

Debido a los diferentes rangos que maneja el sensor LTS 15-NP dependientes de la configuración de hardware, se hace evidente la elección de uno o varios tipos de conexiones para el funcionamiento del módulo electrónico. Teniendo en cuenta el consumo de corriente por parte de la carga se ha seleccionado la configuración de mayor rango: -15 a 15 A.

Figura 33: Conexión del sensor LTS 15-NP

IV.1.1.2.1.3 Calibración

La calibración es el proceso de comparar los valores obtenidos por un instrumento de medición con la medida correspondiente de un patrón de referencia o estándar. Según la Oficina Internacional de Pesas y Medidas, la **calibración es** "una operación que, bajo condiciones específicas, establece en una primera etapa una relación entre los valores y las incertidumbres de medida provistas por estándares e indicaciones correspondientes con las incertidumbres de medida asociadas y, en un segundo paso, usa esta información para establecer una relación para obtener un resultado de la medida a partir de una indicación".

Para realizar este proceso el módulo electrónico cuenta con potenciómetros, los cuales marcarán el valor que corresponde a 15 A de corriente como valor máximo para el ADC y a -15 A de corriente como valor mínimo para el ADC, como se muestra en la Figura 34: Circuito para calibración del sensor hall, y hace referencia a la Tabla 3: Función y pines empleados en el microcontrolador.

Figura 34: Circuito para calibración del sensor hall

IV.1.1.3 Control

Para realizar las acciones que debe ejecutar el módulo electrónico, se requiere un microcontrolador.

El microcontrolador que se escogió es el dsPIC30F4012, fabricado por Microchip. Para facilitar el recambio del microcontrolador se escogió el encapsulado que se muestra en la Figura 35: dsPIC 30F4012.

Figura 35: dsPIC 30F4012

El microcontrolador realiza las siguientes acciones:

- Recibir y procesar los datos provenientes del sensor hall.
- Recibir y procesar los datos provenientes de la interfaz de usuario.

- Procesar el lazo de control para tener la corriente deseada en la carga. El valor de dicha corriente será enviada a través del interfaz de usuario.
- Realizar la identificación en línea de la planta para eliminar ruido electromagnético proveniente desde el sensor hall
- Manejar el correcto funcionamiento de los semiconductores que forma el puente H.

El microcontrolador dsPIC30F4012 tiene las siguientes ventajas que facilitan la implementación en el módulo electrónico, y son:

- Voltaje de alimentación similar al sensor de efecto hall.
- Un módulo para el manejo de los semiconductores que forman el puente H.
- Un módulo para la comunicación serial

IV.1.1.3.1 Características del microcontrolador dsPIC 30F4012

Parámetro	Valor
Arquitectura	16-bit
Velocidad CPU (MIPS)	30
Tipo de memoria	Flash
Memoria de programa (KB)	48
RAM Bytes	2,048
Rango de temperatura (C)	-40 to 125
Rango de voltaje (V)	2.5 to 5.5
Pines I/O	20
Número de pines	28
Funciones de gestión del sistema	BOR, LVD
POR	Yes
WDT	Yes
Oscilador interno	7.37 MHz, 512 kHz
Características del nanovatio	Fast Wake/Fast Control
Periféricos de comunicación digital	1-UART 1-SPI 1-I2C
Periféricos analógicos	1-A/D 6x10- bit @ 1000(ksps)
CAN (#, type)	1 CAN
Periféricos Capture/Compare/PWM	4/2
PWM Resolución bits	16
Canales de control motor PWM	6
Quadrature Encoder Interface (QEI)	1
Timers	5 x 16-bit 2 x 32-bit
Puerto paralelo	GPIO

Tabla 2: Características del microcontrolador dsPIC 30F4012

Se muestra la distribuciones de pines en la Figura 36: Distribución de pines del microcontrolador dsPIC 30F4012.

Figura 36: Distribución de pines del microcontrolador dsPIC 30F4012

IV.1.1.3.2 Conexión del microcontrolador

El microcontrolador dsPIC 30F4012 como se menciona en la Tabla 2: Características del microcontrolador dsPIC 30F4012, consta de 28 pines, de los cuales 9 pines se deben conectar como se muestra en la Figura 37: Conexión del microcontrolador dsPIC 30F4012.

Los pines Vdd (13 y 20) así como el pin AVdd (28), se los conecta a la salida de la fuente regulada de control, lo que significa al lado derecho de la Figura 23: Esquema de la fuente de alimentación de control.

Los pines Vss (8 y 19) así como el pin AVss (27), se los conecta a tierra de la Figura 23: Esquema de la fuente de alimentación de control.

Los pines MCLR (1), PGC (18) y PGD (17) se los conecta a un header (J2) para tener acceso a la programación del microcontrolador dsPIC 30F4012 sin tener la necesidad de extraer el microcontrolador del módulo electrónico para su programación.

Figura 37: Conexión del microcontrolador dsPIC 30F4012

Los pines restantes se conectan de acuerdo a la Tabla 3: Función y pines empleados en el microcontrolador.

N° pin	Nombre del pin	Descripción de la función
2	AN0/VREF+ /RB0	Límite superior del ADC
3	AN1/VREF- /RB1	Límite inferior del ADC
5	AN3/RB3	Ingreso de la señal analógica del sensor al ADC
10	RC15	Señal LED para indicar encendido o apagado del módulo electrónico
11	U1ATX/RC1 3	Transmisión UART para la comunicación con el HMI
12	U1ARX/RC1 4	Recepción UART para la comunicación con el HMI
23	PWM2H/RE3	Señal para el manejo del interruptor superior derecho del puente H
24	PWM2L/RE2	Señal para el manejo del interruptor inferior derecho del puente H
25	PWM1H/RE1	Señal para el manejo del interruptor superior izquierdo del puente H
26	PWM1L/RE0	Señal para el manejo del interruptor inferior izquierdo del puente H

Tabla 3: Función y pines empleados en el microcontrolador

IV.1.1.4 Potencia

La potencia en el módulo electrónico sirve para controlar la corriente de gran magnitud que se dirige a la carga eléctrica.

Para realizar el control de la corriente en la carga se hace uso de un Convertidor estático de potencia pero, debido a requisitos de la carga para el control de la corriente en diferentes direcciones y magnitudes, el módulo electrónico tiene un puente H para esta aplicación.

IV.1.1.4.1 Puente H

Un Puente H o Puente en H es un circuito electrónico que permite a una carga tener una dirección u otra de forma controlada. Se encuentran formados por cuatro semiconductores y son utilizados para potencias elevadas. (Muhammad 2004) Son ampliamente usados en robótica y como convertidores de potencia. Los puentes H están disponibles como circuitos integrados, pero también pueden construirse a partir de componentes discretos.

Figura 38: Puente H

IV.1.1.4.1.1 Semiconductores

El módulo electrónico tiene un puente H conformado por cuatro transistores MOSFET, VNP20N07-E. El VNP20N07-E es un dispositivo monolítico que es diseñado para aplicación de 50 KHz, tiene:

- Protección térmica
- Limitación de corriente
- Protección de sobre voltaje
- Corriente máxima de operación 20 A
- Voltaje máximo de operación 70 V

Figura 39: Diagrama del transistor VNP20N07-E

IV.1.1.4.1.2 Driver MOSFET

Para dar solución al manejo de los diferentes Semiconductores que forma el Puente H se hace uso del driver MOSFET IR2106PBF, dicho driver MOSFET tiene las siguientes características:

- Puente manejar hasta un puente H con 600 V de alimentación
- Rango de voltaje para el gate del MOSFET de 10 a 20 V

- Niveles estándares de voltaje a sus entradas
 - 3.3 V
 - 5 V
 - 15 V
- Voltaje de alimentación de -0.3 a 25 V

Figura 40: IR2106PBF

IV.1.1.4.1.3 Conexión del puente H

La conexión del puente H con sus diferentes dispositivos se muestran en Figura 41: Conexión del puente H en el módulo electrónico, cabe mencionar que los Driver MOSFET se conectan a la salida del filtro de la fuente de alimentación, como se muestra en la Figura 23: Esquema de la fuente de alimentación de control.

Figura 41: Conexión del puente H en el módulo electrónico

IV.1.1.5 Comunicación

El microcontrolador 30F4012 posee un módulo de comunicación serial de entrada salida llamado Universal Asynchronous Receiver Transmitter (UART). El UART es un sistema asíncrono full dúplex que puede comunicar el microcontrolador con dispositivos periféricos como a un PC a través de RS232 o RS485.

Las principales características del módulo UART son:

- Comunicación full dúplex a 8 o 9 bits a través de los pines UxTX y UxRX
- Paridad: par, impar o sin paridad para la comunicación con 8 bits
- 1 o 2 bits de parada
- 4 FIFO como buffer de transmisión
- 4 FIFO como buffer de recepción
- Interrupción para la recepción y transmisión

IV.1.1.5.1 RS 232

RS-232 (Recommended Standard 232, EIA/TIA RS-232C) es una interfaz que designa una norma para el intercambio de una serie de datos binarios entre un DTE (Data Terminal Equipment, Equipo terminal de datos) y un DCE (Data Communication Equipment, Equipo de Comunicación de datos). RS-232 es un protocolo maduro de punto a punto para la comunicación serial. (The MathWorks 2017)

El RS-232 consiste en un conector tipo DB-25 (de 25 pines), o un conector de 9 pines (DE-9, o popularmente mal denominados DB-9).

Figura 42: Distribución de pines RS232 DCE

IV.1.1.5.2 Driver de comunicación

El driver de comunicación es un dispositivo que convierte las señales de un puerto serie RS-232 a señales compatibles con los niveles TTL de circuitos lógicos, el módulo electrónico posee el max232 como driver de comunicación.

El MAX232 es un controlador/receptor dual que incluye un generador de voltaje capacitivo para suministrar los niveles de voltaje TIA/EIA-232-F de una sola fuente de alimentación de 5 V. Cada receptor convierte las entradas TIA/EIA-232-F en niveles de 5 V TTL/CMOS. Estos receptores tienen un umbral típico de 1.3 V, una histéresis típica de 0.5 V, y pueden aceptar entradas de ± 30 V. Cada controlador convierte los niveles de entrada TTL/CMOS en niveles TIA/EIA-232-F. (Texas Instrument 2016)

Figura 43: MAX232

IV.1.1.5.3 Conexión del módulo de comunicación

La conexión del módulo de comunicación, con sus diferentes dispositivos se muestran en la Figura 44: Conexión del módulo de comunicación. Cabe mencionar que el conector que posee el módulo electrónico es un DB9 hembra.

Figura 44: Conexión del módulo de comunicación

IV.1.1.6 PCB

A continuación se muestran la PCB del módulo electrónico.

Figura 45: Vista frontal del PCB del módulo electrónico

Figura 46: Vista posterior del PCB del módulo electrónico

IV.1.2 Diseño de la carga

La carga del sistema es la que realiza la impulsión de las partículas magnéticas al crear un gradiente de campo magnético constante, alternante. Por tal razón se desarrolló con Bobinas Maxwell para producir un gradiente de campo magnético. A dicho gradiente magnético se le añade un campo magnético externo para que produzca que las nano-partículas se magnetizen y con el gradiente magnético, estas nano-partículas adquieran movimiento cinético.

IV.1.2.1 Bobinas Maxwell para la carga eléctrica

Estas bobinas fueron diseñadas con los siguientes materiales:

- Plástico ABS

Estructura de las bobinas

- Alambre de cobre AWG 18

Construcción de las bobinas

Figura 47: Bobinas Maxwell del sistema

IV.1.2.2 Diseño de las bobinas Maxwell

El diseño de las Bobinas Maxwell se diseñó para que en el centro haya un gradiente de campo magnético para lo cual, en la Figura 48: Dimensión de las bobinas Maxwell se muestran los diferentes arrollamientos de cable en forma de espiral de Arquímedes.

Figura 48: Dimensión de las bobinas Maxwell

IV.1.2.3 Simulación de las bobinas Maxwell

Para tener conocer idealmente el fenómeno electromagnético producido por las bobinas Maxwell, se ha realizado una simulación mediante el programa ANSYS Maxwell. La Figura 49 muestra el comportamiento del campo magnético en las bobinas Maxwell. Dichas bobinas Maxwell tienen una corriente de 7 A, donde las flechas representan los vectores de la intensidad de campo magnético.

Figura 49: Simulación de las bobinas Maxwell

IV.1.2.4 Diseño del filtro para la carga

Debido a las características propias de un puente H, a consecuencia de los interruptores, la carga eléctrica tiene una corriente con ruido eléctrico. Para disminuir este problema las bobinas Maxwell tienen un filtro para la corriente que va a circular por ellas, como se muestran en la Figura 50: Filtro potencia.

Figura 50: Filtro potencia

Dónde:

- L1 bobinas Maxwell

Para conocer el comportamiento del filtro de potencia, con la ayuda del programa Proteus, se realizó la Figura 51: Magnitud del diagrama de bode del filtro de potencia.

Figura 51: Magnitud del diagrama de bode del filtro de potencia

IV.2 Diseño del software del sistema

IV.2.1 Programa del microcontrolador

El programa del microcontrolador que se encuentra en el módulo electrónico debe realizar las siguientes tareas:

- Por medio del puerto USART, tener una comunicación con el PC para la obtención de los valores de consigna de la corriente en la carga. Dichos valores de consigna se aplican en el lazo de control para tener un control de la corriente.
- La señal proveniente del sensor Hall al módulo ADC es usada como realimentación del sistema. Esta señal será procesada para la identificación de la planta en tiempo real y poder eliminar ruido electrónico para un mejor manejo de la teoría de control.
- Proveer las señales necesarias para el control de los semiconductores que forman el puente H. Estas señales deben tener:
 - Tiempos muertos para evitar la destrucción de los semiconductores
 - El switcheo de los semiconductores debe permitir que la corriente en las bobinas Maxwell tenga relación con la salida de la teoría de control
- Tener una lógica para realizar la teoría de control así como de las diferentes señales ser tratadas para realizar la identificación de la planta.

En la Figura 52: Diagrama de flujo del programa del microcontrolador se muestra la lógica del programa del microcontrolador.

Figura 52: Diagrama de flujo del programa del microcontrolador

IV.2.1.1 Configuración inicial

En la configuración inicial, el programa del microcontrolador inicia las variables y le da un determinado valor. Además, se establecen parámetros para el funcionamiento del microcontrolador y la comunicación del microcontrolador con los demás periféricos que se encuentran en el módulo electrónico.

Las principales configuraciones son:

- Configuración del reloj interno

Esta configuración da al microcontrolador un reloj para su funcionamiento. En este módulo electrónico el reloj trabaja con PLL, la cual permite tener una frecuencia de funcionamiento de 117.92 MHz.

- Configuración del watchdog timer

El watchdog timer es un temporizador, cuyo objetivo es resetear el microcontrolador cuando el watchdog timer se desborda. Se usa para dar robustez al sistema. Dada la posibilidad de encontrar una falla y que el microcontrolador dejase de funcionar, el watchdog timer reseteará el microcontrolador y así el sistema volverá a su estado inicial para evitar daños.

- Puertos de entada salida
- Módulo USART

El módulo USART se utiliza para la comunicación con el PC.

- Habilitar y configurar el módulo ADC

Se realiza una configuración del módulo ADC para que trabaje a la mayor frecuencia posible para, tener una señal digital que pueda ser procesada digitalmente sin mayores pérdidas de información.

- Configuración del módulo PWM

El módulo PWM suministra las señales a los semiconductores que forman el puente H, este módulo se configura para que trabaje a la mayor frecuencia y así disminuir rizados de corriente en la carga.

IV.2.1.1.1 Configuración del módulo USART

El módulo USART trabaja con las siguientes características:

- 8 bits de datos
- 1 bit de parada
- Sin paridad
- 9600 bps

Esta configuración es la más común en la comunicación RS232 sin ser la única.

El programa del microcontrolador está diseñado para recibir las siguientes tramas del computador:

byte de inicio de comunicación	frecuencia de la corriente en la carga	puntos de consigna
--------------------------------	--	--------------------

Figura 53: Trama para puntos de consigna

Figura 54: Trama de parada del sistema

El programa del microcontrolador acepta las tramas de la Figura 53: Trama para puntos de consigna y de la Figura 54: Trama de parada del sistema para su funcionamiento. Pero si llega una trama distinta el programa del microcontrolador simplemente lo desecha.

Para la verificación de las tramas el microcontrolador recibe la trama y la reenvía al PC para su verificación.

IV.2.1.1.2 Configuración del módulo ADC

El módulo ADC es usado para la digitalización de la señal proveniente del sensor de efecto hall como se menciona en Conexión del sensor LTS 15-NP. Para su funcionamiento se ha elegido el AN3 como señal a digitalizar.

El módulo ADC, al finalizar un proceso de digitalización, produce una interrupción, e inmediatamente empieza el siguiente proceso de digitalización. Todo esto se lleva a cabo desde que el módulo electrónico recibe los valores de consigna hasta cuando recibe la trama de parada del sistema. El resto del tiempo el módulo ADC permanece apagado.

El módulo electrónico se configura para que trabaje a un periodo de muestreo de 85 ns, para evitar problemas de aliasing y demás efectos por la digitalización de la señal. Esto se logra intercambiando continuamente dos canales de sample and hold como se muestra en la Figura 55: Configuración del módulo ADC.

Figura 55: Configuración del módulo ADC

IV.2.1.1.3 Configuración del módulo de modulación por ancho de pulsos (PWM)

El módulo PWM provee las señales para el funcionamiento del puente H. Estas tienen el valor que les provee la lógica de control. Para evitar efectos adversos debidos al rizado de corriente provocada por los convertidores estáticos, el módulo PWM trabaja a una frecuencia de 2.5 KHz. Así se disminuye el rizado de corriente. Esta frecuencia se debe a limitaciones del microcontrolador, teniendo en cuenta la carga de trabajo que soporta al

ejecutar los diferentes algoritmos de control e identificación de la planta en línea.

Para evitar daños en los semiconductores en la operación del puente H, el módulo PWM trabaja con un tiempo muerto de $46\mu\text{s}$.

Figura 56: Tiempos muertos

IV.2.1.2 Chequear datos en el módulo UART

El módulo electrónico realiza la comunicación serial con el PC mediante la técnica de *polling*. Esto se debe que al momento de llegar un dato al módulo UART, este dato tenga menos prioridad que todo lo demás, y así no interrumpir al programa principal.

IV.2.1.3 Procesar datos obtenidos desde el PC

Cuando un dato es detectado por el microcontrolador proveniente de su puerto USART, el microcontrolador realiza las siguientes acciones:

Figura 57: Diagrama de flujo del procesamiento de datos del PC

IV.2.1.3.1 Comprobar validez del dato

Este bloque comprueba que el inicio de trama concuerda con la Figura 53: Trama para puntos de consigna o la Figura 54: Trama de parada del sistema. En caso de no ser así, el dato proveniente del puerto USART se desecha.

IV.2.1.3.2 Comprobar trama recibida

Debido a la existencia de las diferentes tramas, este bloque hace una identificación del tipo de trama que se ha recibido por el puerto USART.

IV.2.1.3.3 Apagar módulos del microcontrolador

Cuando el microcontrolador recibe el dato de la Figura 54: Trama de parada del sistema, el microcontrolador procede a realizar las siguientes acciones:

- Apagar módulo PWM
- Apagar módulo ADC

Debido a que los módulos mencionados arriba gobiernan tanto para la parte de potencia como la de control, la desactivación de estos módulos hace que el sistema se encuentre apagado y el módulo electrónico queda a la espera de alguna orden proveniente del PC para alguna ejecución.

IV.2.1.3.4 Procesar datos recibido del PC

Cuando el microcontrolador recibe el dato de la Figura 53: Trama para puntos de consigna, el microcontrolador almacena estos datos para la ejecución del lazo de control. Estos datos recibidos por el microcontrolador son devueltos al PC para verificar su validez.

IV.2.1.4 Identificación de la planta

Debido a que el control que se lleva a cabo en el módulo electrónico es totalmente digital, el microcontrolador puede realizar la identificación de la planta. Para realizar dicha tarea el módulo electrónico utiliza la Identificación por mínimos cuadrados recursivos.

IV.2.1.4.1 Análisis de la planta

Para realizar el análisis de la planta hacemos referencia a la Figura 50: Filtro potencia.

$$\begin{aligned}x_1 &= i_0 \\x_2 &= i_1 \\x_3 &= v_c \\u &= v_{in} \\u &= r_1 x_2 + L_1 \dot{x}_2 + x_3 \\\dot{x}_2 &= \frac{u}{L_1} - \frac{r_1}{L_1} x_2 - \frac{x_3}{L_1} \\x_3 &= r_0 x_1 + L_0 \dot{x}_1 \\\dot{x}_1 &= \frac{x_3}{L_0} - \frac{r_0}{L_0} x_1 \\x_3 &= r_c (x_2 - x_1) + \frac{1}{C} \int (x_2 - x_1) dt \\\dot{x}_3 &= r_c (\dot{x}_2 - \dot{x}_1) + \frac{x_2 - x_1}{C} = r_c \left[\left(\frac{u}{L_1} - \frac{r_1}{L_1} x_2 - \frac{x_3}{L_1} \right) - \left(\frac{x_3}{L_0} - \frac{r_0}{L_0} x_1 \right) \right] + \frac{x_2 - x_1}{C} \\\dot{x}_3 &= \left(\frac{r_0 r_c}{L_0} - \frac{1}{C} \right) x_1 + \left(\frac{1}{C} - \frac{r_c r_1}{L_1} \right) x_2 - r_c \left(\frac{1}{L_0} + \frac{1}{L_1} \right) x_3 + \frac{r_c}{L_1} u\end{aligned}$$

Ecuación 40: Análisis de la planta

Dónde:

- $r_1 + L_1$ transformador de entrada y sus pérdidas
- $r_c + C$ capacitor del filtro y sus pérdidas
- $r_0 + L_0$ bobinas Maxwell y sus pérdidas

Se procede a desarrollar las ecuaciones de espacio de estado.

$$\begin{bmatrix} \dot{x}_1 \\ \dot{x}_2 \\ \dot{x}_3 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -\frac{r_0}{L_0} & 0 & \frac{1}{L_0} \\ 0 & -\frac{r_1}{L_1} & -\frac{1}{L_1} \\ \frac{r_0 r_c}{L_0} - \frac{1}{C} & \frac{1}{C} - \frac{r_c r_1}{L_1} & -r_c \left(\frac{1}{L_0} + \frac{1}{L_1} \right) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 \\ \frac{1}{L_1} \\ \frac{r_c}{L_1} \end{bmatrix} u$$

$$y = [1 \ 0 \ 0] \begin{bmatrix} x_1 \\ x_2 \\ x_3 \end{bmatrix}$$

Ecuación 41: Ecuaciones de espacio de estado

Como se puede deducir de la Ecuación 41: Ecuaciones de espacio de estado, el vector de parámetros es:

$$\theta = [a_1 \ a_2 \ a_3 \ b_1 \ b_2 \ b_3]^T$$

Ecuación 42: Vector de parámetros del sistema

IV.2.1.5 Lógica de control

De las diferentes teorías de control existentes, el módulo electrónico trabaja con el Control con modelo interno (IMC), como se muestra en la Figura 7: IMC control clásico *tomado*.

Para desarrollar este controlador se ha tomado los valores que han dado los fabricantes de los diferentes elementos electrónicos que forman la carga y el filtro. Usando el programa MATLAB se graficó el diagrama de polos y ceros.

Figura 58: Diagrama de polos y ceros de la planta

Para el desarrollo del controlador IMC se hizo uso del programa MATLAB donde se obtuvo el siguiente controlador:

$$0.1551 z^2 + 2.498 z - 2.354$$

$$z^2 - 0.8758 z - 0.1242$$

Sampling time: 0.0002

Figura 59: Diagrama de polos y ceros del controlador y la planta

IV.2.2 Programa del PC

El PC debe realizar las siguientes tareas:

- *Human Machine Interface* HMI para la comunicación con el módulo electrónico
- Procesamiento de video para obtener las diferentes posiciones de las nano-partículas cuando estas se encuentren bajo la acción de un campo magnético fijo y un gradiente magnético
- Ejecución del clasificador KNN para conocer el estado de las nano-partículas cuando se obtuvieron los datos a través del video

IV.2.2.1 HMI

El HMI del PC debe realizar las siguientes tareas:

- Configuración del PC para realizar una comunicación entre el PC y el módulo electrónico a través del puerto UART del PC (restricciones del microcontrolador).
- Selección y configuración de la forma de onda de corriente a aplicarse a las bobinas Maxwell

- Selección del tiempo que se desea aplicar el gradiente de campo magnéticos a la muestra biológica

En la Figura 70: Superposición del movimiento de una partícula y de la ecuación teórica del movimiento de una partícula se muestra la lógica del HMI.

Figura 60: Diagrama de flujo del HMI

IV.2.2.1.1 *Seleccionar puerto de comunicación con el módulo electrónico*

Para realizar una comunicación entre el módulo electrónico y el PC, el HMI debe proveer de una interfaz para permitir al usuario seleccionar el puerto de comunicación con el que se va a comunicar, dicho interfaz debe mantener las características del puerto de comunicación del módulo electrónico, las cuales son:

- 8 bits de datos
- 1 bit de parada
- Sin paridad
- 9600 bps

Esta configuración es la más común en la comunicación RS232 sin ser la única.

El HMI está diseñado para enviar las siguientes tramas de para del computador:

byte de inicio de comunicación	frecuencia de la corriente en la carga	puntos de consigna
--------------------------------	--	--------------------

Figura 61: Trama de envío de puntos de consigna del PC al módulo electrónico

byte de parada

Figura 62: Trama de envío de parada del PC al módulo electrónico

El HMI está diseñado para enviar las tramas mencionadas, en caso de que las tramas enviadas por el HMI y recibidas por el módulo electrónico fueran diferentes, el HMI las reenvía hasta que las tramas enviadas por el HMI sean las mismas que las enviadas por el módulo electrónico.

Figura 63: Configuración de la interfaz de comunicación en el HMI

IV.2.2.1.2 *Seleccionar el tiempo que se va a aplicar la corriente a la carga*

Debido a que el sistema está diseñado para un ambiente de laboratorio el tiempo de operación del equipo es variable, razón por la cual el HMI incluye la opción de variar el tiempo de funcionamiento del equipo.

Figura 64: Configuración del tiempo a irradiar en el HMI

IV.2.2.1.3 *Seleccionar y configurar forma de onda de corriente que se va aplicar a la carga*

El HMI debe dar una facilidad en la forma de seleccionar una forma de onda de corriente que se va a aplicar a la carga, para lo cual, el HMI proporciona las siguientes opciones:

- Amplitud: es la amplitud pico AC de la onda a aplicarse
- Frecuencia: es la frecuencia de la onda AC a aplicarse
- Offset: es el amperaje de DC a aplicarse a la onda
- Tipo de onda: tiene preestablecida las siguientes ondas:
 - Cuadrada
 - Seleccionar el duty cycle
 - Sinusoidal
 - Triangular
 - Diente de sierra

El HMI generara los puntos de consignas que serán enviado al módulo electrónico a través de la trama que se muestra en la Figura 61: Trama de envío de puntos de consigna del PC al módulo electrónico.

Figura 65: Configuración de la forma de onda de corriente en el HMI

IV.2.2.1.4 Enviar datos seleccionados al módulo electrónicos

Todos los datos que se generan en el HMI se ordenan para formar la trama de la Figura 61: Trama de envío de puntos de consigna del PC al módulo electrónico y se envían por el puerto UART al Seleccionar puerto de comunicación con el módulo electrónico.

IV.2.2.1.5 Comprobar validez de datos enviados

Los datos enviados por el HMI al módulo electrónico son recibidos posteriormente desde el módulo electrónico al PC y se los comprueba para realizar su verificación.

IV.2.2.1.6 Comprobar tiempo transcurrido

El HMI lleva un cronometro para garantizar que el tiempo de aplicación de la corriente a las bobinas Maxwell sea el deseado por el usuario. Este cronometro es el encargado de controlar el tiempo de funcionamiento del módulo electrónico y que sea el que el usuario haya configurado.

IV.2.2.1.7 Apagar módulo electrónico

Cuando el HMI haya terminado con todos los procesos descritos hasta el momento enviará la trama que se muestra en la Figura 62: Trama de envío de parada del PC al módulo electrónico. Esta hace que el módulo electrónico desconecte la carga y el HMI finaliza su operación.

IV.2.2.2 Procesamiento de video

La presencia de un imán fijo hace que se presenten dificultades para la instrumentación, dado que el campo magnético producirá ruido en las medidas provenientes de sensores que se encuentren en campo de acción, como solución se opta por el uso de video para la captura del movimiento de las micro-partículas, razón por la cual se tuvo que realizar un programa para la detección de la posición de las micro-partículas en el transcurso del video. Estas micro-partículas de 2 μm de diámetro son puestas en concentraciones de: 0.166, 0.333, 0.499, 0.667, 0.832, 0.998, 1.165, 1.221, 1.498 y 1.664 mg/ml; y se encuentran sujetas bajo la acción de un corriente eléctrica de forma

cuadrada de 7 A y 1 Hz. Las micro-partículas al ingresar al imán permanente formarán filamentos, como es conocido, estos filamentos siguen la forma de las líneas de campo magnético generado por el imán permanente; esta formación de filamentos hace posible el poder visualizar en video para posteriormente obtener las características del movimiento de las micro-partículas debido al equipo de trabajo.

El procesamiento de video debe realizar las siguientes tareas:

- Definir los bordes de los diferentes filamentos
- Elegir un filamento para obtener sus coordenadas

Estas tareas se las realiza a través de la Figura 66: Diagrama de flujo del procesamiento de video

Figura 66: Diagrama de flujo del procesamiento de video

IV.2.2.2.1 Abrir archivo de video

Para el procesamiento de video se debe abrir el archivo que contiene el video que se va a procesar, este proceso debe dar como resultado características propias del video como:

- Número de frames por segundo
- Número de frames en todo el video
- Tipo de compresión
- Formato

Realizado este proceso se escoge una región de interés el cual será el tubo de ensayo que se encuentra en el video

IV.2.2.2.2 Escoger un color del RGB

Como un video se compone de varios frames, y estos frames a su vez constan de 3 colores que son:

- Rojo
- Verde
- Azul

Para trabajar con imágenes se escoge un color dependiendo de las características de cada color así como los resultados que se espera obtener, en este trabajo se escogió el color verde debido a que dio mejores resultados dado que presentó mejores bordes para el procesamiento de imágenes facilitando así el proceso de filtrado.

IV.2.2.2.3 Filtro de umbral

Para eliminar un poco los colores e imágenes no deseadas, por ejemplo las paredes del tubo de ensayo, se escoge un umbral, el cual dependerá del video que se procese.

IV.2.2.2.4 Filtro de mediana

Se utiliza para atenuar el ruido de una imagen. Un filtro de mediana compara los pixeles vecinos para obtener un valor medio, dicho valor medio corresponderá al pixel de referencia inicial.

IV.2.2.2.5 Filtro de segunda derivada

Este filtro se utiliza para obtener los bordes de una imagen, para este trabajo se utilizó la matriz de la Ecuación 43: Matriz del filtro de segunda derivada

$$\begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 \\ 1 & -4 & 1 \\ 0 & 1 & 0 \end{bmatrix}$$

Ecuación 43: Matriz del filtro de segunda derivada

IV.2.2.2.6 Filtro de erosión

El filtro de erosión sirve para remover los bordes que se encontraron con el Filtro de segunda derivada; dado que un filtro de erosión elimina los pixeles blancos los bordes. La razón del uso de un filtro de erosión es para clasificar de mejor manera los filamentos del video. El valor del filtro de erosión cambia debido a las características del video que se encuentre procesando.

IV.2.2.2.7 Escoger elementos mayores a 30

Este proceso se realiza para eliminar ruido del video y que hayan pasado los diferentes filtros. La razón de un área de 30 pixeles fue a que los filamentos que nos interesan superan ampliamente ese valor.

IV.2.2.2.8 Es el primer frame

Esta decisión se toma para saber si el programa debe calcular un seguimiento a un filamento o debe tomar un frame para seguirlo.

IV.2.2.2.9 Escoger el filamento más grande

Si es el primer frame del video se escogerá el filamento con mayor longitud. La razón de esto se debe a que un filamento con mayor volumen obtendrá una mayor fuerza magnética, lo que hará que este filamento experimente mayores velocidades y así poder obtener las características del movimiento del filamento.

IV.2.2.2.10 Seguimiento al filamento

Si el frame que se encuentra analizando no es el primero, se realiza un seguimiento, con lo cual se realiza a través de un solapamiento entre los filamentos que se encuentran en este frame con el filamento del frame anterior. El frame que tenga un mayor solapamiento con el frame anterior es escogido y procesado.

IV.2.2.2.11 Obtener coordenadas

Una vez escogido el frame con el que se va a trabajar se procede a obtener las coordenadas en el video y, debido a que el diámetro del tubo de ensayo es conocido (0.7 cm), estas coordenadas se las pasa a medidas longitudinales [cm] y se almacenan los datos para su análisis.

IV.2.2.2.12 Es el último frame

Se realiza una comprobación con el frame actual. Si no es el último frame se toma el siguiente frame para analizarlo, en caso de ser el último frame finaliza el algoritmo.

IV.2.2.3 Clasificador KNN

Después de realizar el procesamiento de video, se tiene las coordenadas de las diferentes posiciones en que se encontraban las nano-partículas. Para poder conocer si las nano-partículas se encontraban viajando hacia arriba o hacia abajo se implementa un clasificador KNN, donde las características de entrada son la posición, la velocidad y la aceleración. Con un grupo de entrenamiento escogida al azar entre todo el video se procede a ejecutar este clasificador con la ayuda del programa MATLAB.

Una vez obtenido los resultados del clasificador podemos obtener toda la información que deseemos como:

- Rapidez de las nano-partículas en toda la duración del video
- Realizar procesamiento estadístico del movimiento de las micro-partículas

IV.3 Partículas magnéticas

La elección de partículas magnéticas es de importancia, debido a que estas deben tener las siguientes características para que puedan ser empleadas en este trabajo y en nuestro equipo:

- Ser ferromagnéticas o superparamagnéticas
- Ser de tamaño nano-métrico
- Ser bio-compatibles

En este trabajo se han elegido las siguientes partículas magnéticas:

Serie	Diámetro [nm]	Compañía
SiMAG/MP-DNA 1102	2000	Chemicell
fluidMAG ARA 4115	500	Chemicell
fluidMAG PVA 4120	300	Chemicell

Tabla 4: Nano-partículas utilizadas en este trabajo

Todas las nano-partículas que se muestran en la Tabla 4 cumplen los requerimientos mínimo para ser utilizadas en nuestro trabajo, principalmente el de ser bio-compatibles, debido a que son utilizadas con células.

IV.4 Análisis matemático

IV.4.1 Bobinas de gradiente magnético

Como se menciona en Generación de un campo magnético, el campo magnético es producido por carga en movimiento, y como señala la Ley de Biot-Savart, ese campo magnético depende de la geometría del alambre por el cual circulan las cargas en movimiento, como se puede observar en la Figura 49: Simulación de las bobinas Maxwell.

Figura 67: Campo Magnético generado por las bobinas Maxwell

La Figura 67: Campo Magnético generado por las bobinas Maxwell se obtiene a partir de la Ley de Biot-Savart como se muestra a continuación:

De la Figura 48: Dimensión de las bobinas Maxwell se tiene:

$$d\vec{B} = \frac{\mu_0 \vec{J} \times \hat{r}}{4\pi r^2} dV$$

$$\vec{B}(0, y, 0) = \frac{\mu_0}{4\pi} \int_{-0.512 \times 10^{-3}}^{0.512 \times 10^{-3}} \int_0^{2\pi} \int_{1.8 \times 10^{-2}}^{10.6 \times 10^{-2}} \left(\frac{J}{(z - 0.025 - y)^2 + R^2} - \frac{J}{(z + 0.025 - y)^2 + R^2} \right) dR d\varphi dz$$

Ecuación 44: Ley de Biot-Savart en bobinas Maxwell

En la Figura 68: Gradiente de campo magnético producido por las bobinas Maxwell muestra el comportamiento del gradiente de campo magnético en el eje "y". Se puede observar un gradiente magnético constante en la mayor parte del volumen que se encuentra en el interior de las bobinas Maxwell.

Figura 68: Gradiente de campo magnético producido por las bobinas Maxwell

IV.4.2 Movimiento de las nano-partículas magnéticas

Para conocer el comportamiento de las nano-partículas magnéticas se realizó un análisis del cuerpo libre que se muestra en la Figura 69.

Figura 69: Diagrama del cuerpo libre de una partícula en el interior de un tubo de ensayo bajo la acción de un gradiente magnético y un campo magnético constante

Y se obtuvieron las siguientes expresiones:

$$\begin{aligned}\vec{F}_{\text{magnetic}} &= \nabla(\vec{m} \cdot \vec{B}_{\text{ext}}) \\ \vec{F}_{\text{stockes}} &= 6\pi R\eta\vec{v} \\ \vec{E}_{\text{Arquimides}} &= -\rho\vec{g}V \\ \vec{W} &= m\vec{g}\end{aligned}$$

Ecuación 45: Fuerzas que actúan sobre una nano-partícula

Donde:

- $\vec{F}_{\text{magnetic}}$ es la fuerza magnética de un dipolo magnético debido a campo magnético externo

- $\vec{F}_{\text{stockes}}$ es la ley de Stokes que se refiere a la fuerza de fricción experimentada por objetos esféricos moviéndose en el seno de un fluido viscoso
- $\vec{E}_{\text{Arquimides}}$ es el empuje de Arquímedes
- $\vec{W}$ es el peso

Como se conoce que el movimiento es en una sola dirección, y aplicando diferentes arreglos matemáticos (Anexo 1) se llega a la siguiente expresión:

$$y(0) = 0$$

$$\left. \frac{dy}{dt} \right|_{t=0} = 0$$

$$y(t) = \frac{\left(mg - \mu_0 \chi V H \frac{dH}{dy} - \rho g V \right) \left(m \left(1 - e^{-\frac{6\pi R \eta}{m} t} \right) - (6\pi R \eta) \cdot t \right)}{(6\pi R \eta)^2}$$

Ecuación 46: Posición de una partícula

Si a la Ecuación 46: Posición de una partícula se le deriva se obtiene su velocidad:

$$v(t) = \frac{mg - \mu_0 \chi V H \frac{dH}{dy} - \rho g V}{6\pi R \eta} \left(e^{-\frac{6\pi R \eta}{m} t} - 1 \right)$$

Ecuación 47: Velocidad de una partícula

Para conocer un poco más de la dinámica del movimiento se asume que los filamentos tienen forma cilíndrica y se realiza los siguientes artificios matemáticos:

$$\tau = \frac{m}{6\pi R \eta} = \frac{A_{\text{Transversal}} \delta}{12\eta}$$

$$y(t) = \frac{\left(mg - \mu_0 \chi V H \frac{dH}{dy} - \eta g V \right)}{m} \tau^2 \left(1 - e^{-\frac{1}{\tau} t} - \frac{1}{\tau} \cdot t \right)$$

$$v(t) = \frac{mg - \mu_0 \chi V H \frac{dH}{dy} - \rho g V}{m} \tau \left(e^{-\frac{1}{\tau} t} - 1 \right) = \left(\frac{\mu_0 \chi H_y}{\delta} \tau + \left(\frac{\rho}{\delta} - 1 \right) g \tau \right) \left(1 - e^{-\frac{1}{\tau} t} \right)$$

Ecuación 48: Ecuación del movimiento de las partículas y constante de tiempo del movimiento de las partículas

Donde τ es la constante de característica de tiempo del sistema (Anexo 2) y, debido a que los filamentos tienen una τ pequeña se llega a la siguiente deducción:

$$v(t) \approx \left(g \left(1 - \frac{\rho}{\delta} \right) - \frac{\mu_0 \chi H_y \frac{dH_y}{dy}}{\delta} \right) \tau$$

Ecuación 49: Ecuación de la velocidad en régimen permanente

Si trabajamos con señales de corriente cuadrada se tendrá solo dos velocidades en régimen permanente.

$$v(t)_\downarrow = - \left(\frac{\mu_0 \chi H_\downarrow \left| \frac{dH}{dy} \right|}{\delta} \tau + \left(1 - \frac{\rho}{\delta} \right) g \tau \right) \left(1 - e^{-\frac{1}{\tau} t} \right) < 0$$

$$v(t)_\uparrow = \left(\frac{\mu_0 \chi H_\uparrow \left| \frac{dH}{dy} \right|}{\delta} \tau - \left(1 - \frac{\rho}{\delta} \right) g \tau \right) \left(1 - e^{-\frac{1}{\tau} t} \right)$$

$$\tau \downarrow \uparrow \rightarrow \begin{cases} v_{\infty\downarrow} = - \left(\frac{\mu_0 \chi H_\downarrow \left| \frac{dH}{dy} \right|}{\delta} + \left(1 - \frac{\rho}{\delta} \right) g \right) \tau = \left(\frac{\mu_0 \chi H_\downarrow \left| \frac{dH}{dy} \right|}{\delta} + \left(1 - \frac{\rho}{\delta} \right) g \right) \frac{\delta}{12\eta} A \\ v_{\infty\uparrow} = \left(\frac{\mu_0 \chi H_\uparrow \left| \frac{dH}{dy} \right|}{\delta} - \left(1 - \frac{\rho}{\delta} \right) g \right) \tau = \left(\frac{\mu_0 \chi H_\uparrow \left| \frac{dH}{dy} \right|}{\delta} - \left(1 - \frac{\rho}{\delta} \right) g \right) \frac{\delta}{12\eta} A \\ v_{\infty\uparrow} - v_{\infty\downarrow} = \Delta v_\infty = 2(\rho - \delta) \frac{g}{12\eta} A \end{cases}$$

Ecuación 50: Variación de velocidad en régimen permanente

Donde las flechas verticales indican la dirección de la velocidad y del gradiente de campo magnético producido por las bobinas Maxwell.

Además se puede evidenciar que se puede obtener una relación entre la densidad y la diferencia de las velocidades del filamento.

Para conocer la confiabilidad de este análisis matemático se muestra una superposición de los resultados obtenidos en un experimento con una muestra de 600 µl de volumen y una relación de pesos de 1.67 mg/ml.

Figura 70: Superposición del movimiento de una partícula y de la ecuación teórica del movimiento de una partícula

IV.5 Experimentación con líneas celulares

IV.5.1 Cultivo celular

Las células usadas son fibroblastos de ratón (NIH/3T3; ATCC NCRL-1658). Las células se mantienen en medio Dulbecco's modified Eagles's medium (DMEM) (Life Technologies, Grand Island, NY # 11966-025) suplementado con 10% de suero fetal bovino (FBS) (Life Technologies, Grand Island, NY # 10082147) inactivado por calor, 2mM de L-Glutamina (Life Technologies, Grand Island, NY # 25030024), 100 U/ml de penicilina y 100 mg/ml de estreptomycin (Life Technologies, Grand Island, NY # 15140122). Durante todo el tiempo de cultivo las células se mantienen a 37°C en 5% CO₂ y 95% de humedad.

IV.5.2 Incubación con partículas y aplicación del campo magnético

Las células 3T3 fueron sembradas con una densidad inicial de 2.5×10^4 cell/cm² en placas de 24 pocillos. Después de 24 h, las células fueron incubadas con diferentes tamaños de partículas (0.3, 0.5 y 2 μ m) a diferentes concentraciones (0.025 a 0.1 mg/ml) durante 3, 6, 12 y 24 h. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, las células fueron lavadas con PBS y se añadió DMEM fresco. Los cultivos celulares tratados con las partículas fueron

expuestos al campo magnético (corriente 7 A), analizándose los siguientes parámetros: frecuencias de 1 y 10 Hz, ondas cuadrada y sinusoidal por las bobinas Maxwell y tiempos de exposición 30 y 60 min. Después de la exposición al campo magnético se analizó la viabilidad celular.

IV.5.3 Viabilidad celular

IV.5.3.1 Calceína y yoduro de propidio

La viabilidad células de las células después de la aplicación de campo magnético en presencia o ausencia de micro-partículas, se determinó mediante el ensayo de calceína AM y yoduro de propidio (Molecular Probes) para distinguir células muertas de las células vivas.

La calceína-AM es una molécula no fluorescente permeable a la membrana celular, siendo transportada a través de la membrana celular por las células vivas. La actividad de las enzimas esterasas intracelulares transforma la calceína-AM en calceína que si es fuertemente fluorescente (verde). Siendo las esterasas únicamente activas en las células vivas el uso de la Calceína-AM permite por tanto el marcaje de células vivas (Johnson et al. 2013). El yoduro de propidio es un marcador nuclear fluorescente rojo que no es permeable a la membrana celular intacta (Arndt-Jovin & Jovin 1989). Por lo tanto, los núcleos de células con membranas dañadas, es decir, células muertas, se teñirán con este marcador (rojo).

Figura 71: Calceína y yoduro de propidio de molecular probes

Para la aplicación de este ensayo, después de la exposición de campos magnéticos al cultivo celular, el medio celular se retiró y se lavó con tampón fosfato (PBS). A cada pocillo se añadió **1 μ M** de calceína y **2 μ M** de yoduro de propidio y se incubó a 37 °C durante 20 min. La fluorescencia se evaluó con el microscopio LeicaDMIRB equipado con una cámara digital, Leica DC100 (Nussloch, Germany).

Figura 72: Microscopio de fluorescencia LeicaDMIRB

IV.5.3.2 Lactato Deshidrogenasa (LDH)

Para realizar un análisis cuantitativo de la viabilidad celular tras la exposición de las células a los campos magnéticos, se utilizó el ensayo de la actividad lactato deshidrogenasa (LDH) (Arndt-Jovin & Jovin 1989). Las células 3T3 fueron sembradas con una densidad inicial de 2.5×10^4 cell/cm² en placas de 24 pocillos. Después de 24 h, las células fueron incubadas con diferentes tamaños de partículas (0.3, 0.5 y 2 μ m) a diferentes concentraciones (0.025 a 0.1 mg/ml) durante 3, 6, 12 y 24 h. Una vez transcurrido el tiempo de incubación, las células fueron lavadas con PBS y se añadió DMEN fresco. Después del que el campo magnético fuese aplicado, se recogió el medio de cultivo donde se cuantificó la actividad de la enzima LDH liberado al medio por las células muertas utilizando para ello el kit de determinación de citotoxicidad celular (Cytotoxicity Detection kit, Roche) donde se siguió el protocolo provisto por el fabricante.

Figura 73: Cytotoxicity Detection kit (Roche)

El medio de cultivo se recogió inmediatamente después de que el campo magnético fuese aplicado. Se centrifugó a 1000 rpm por 5 min para eliminar todos los restos celulares. La actividad de la enzima LDH presente en el medio se determinó en una reacción enzimática acoplada, donde, la sal de tetrazolium es reducida a formazán. El colorante de formazán se cuantificó espectrofotométricamente a 490 nm (ELx800, BioTek).

Figura 74: Lector de absorbancia ELx800 de BioTek

Las células que no fueron expuestas a los campos magnéticos, con y sin micro-partículas, se usaron como controles (100% viabilidad). La actividad LDH presente en el medio de cultivo se expresa en porcentaje de la actividad máxima de LDH, donde se considera 100% de la actividad de LDH liberada al medio la absorbancia obtenida cuando las células control fueron lisadas usando 0.2% de Triton X-100.

IV.5.4 Localización intracelular de micro-partículas

La interacción celular con micro-partículas y su localización intracelular se evaluó usando las técnicas de citometría de flujo e inmunofluorescencia.

IV.5.4.1 Citómetro de flujo

El citómetro de flujo se usó para cuantificar la cantidad de micro-partículas en el interior de las células, para lo cual se midió los cambios en la dispersión

de la luz después de la incubación de las células 3T3 con micro-partículas de 2 μm , con una concentración de 0.1mg/ml para diferentes tiempos de incubación.

Figura 75 Esquema de funcionamiento de un citómetro de flujo

Las células 3T3 se sembraron en placas de 24 pocillos con una densidad inicial de 2.5×10^4 cell/cm² en medio de cultivo con micro-partículas de 2 μm a 0.1 mg/ml por 3, 6, 12 y 24 h. Posteriormente, las células 3T3 fueron despegadas de la placa por la incubación con una solución tripsina/EDTA por 5 min a 37 °C y lavadas usando PBS. Para este estudio se usó el equipo de la Figura 76: Citómetro de flujo BD FASCalibur™, el cual contiene laser de 488 nm y un tubo detector de fotomultiplicadores SSC.

Figura 76: Citómetro de flujo BD FASCalibur™

Debido a que el caudal afecta a las mediciones realizadas con el citómetro de flujo porque se forman aglomerados, siempre se realizaron a caudales bajos. El citómetro de flujo fue configurado para medir la linealidad del sistema de detección de dispersión lateral (SSC).

IV.5.4.2 Inmunofluorescencia

Para determinar la localización intracelular de las micro-partículas usando el microscopio de fluorescencia, las células 3T3 fueron sembradas en placas de 24 pocillos, con una densidad inicial de 2.5×10^4 cell/cm² e incubadas con micro-partículas de 2 μ m a 0.05 mg/ml por 24 h. Las células fueron lavadas con PBS para eliminar el exceso de micro-partículas y se fijaron con paraformaldehído (PFA, Merck) al 4% en 0.1 M de PBS con un pH de 7.4 por 30 min a temperatura ambiente. Después de 3 lavados en PBS, las muestras fueron incubadas por 1 h con una solución de PBS conteniendo 10% de suero de cabra (Gibco / Life Technologies) y 0,25% de Triton X-100 (Merck). Posteriormente las células fueron incubadas toda la noche a 4 °C con el anticuerpo anti-CD63 (DSHB), marcador específico de lisosomas, diluido 1:500 en una solución de PBS con 0.25% de triton, y 1% de suero de cabra. Después de retirar la solución con anticuerpo primario y lavar en PBS, las muestras se incubaron con el anticuerpo secundario anti-mouse-Cy3 (1: 500, Jackson Inmunoresearch) en PBS durante 30 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, las células se lavaron en PBS y H₂O y se observaron al microscopio LeicaDMIRB equipado con una cámara digital, Leica DC100 (Nussloch, Germany).

IV.6 Control de temperatura

Para mantener las condiciones estables en las muestras durante la aplicación del campo magnético, hubo la necesidad de utilizar un control de temperatura y así evitar muerte celular por hipertermia

IV.6.1 Sensor de temperatura

Para medir la temperatura en el interior de nuestra máquina; ya sea en los pocillos de una placa P24, con agua o una combinación de agua y nano-

partículas, como en el interior de la máquina sin una placa P24; se usó el termómetro Fluoroptic thermometer Luxtronm3300 de la Figura 77. Este termómetro utiliza una fibra óptica para la medición de temperatura que no se ve afectada por la presencia de campos magnéticos que puedan interactuar con él.

Figura 77 Fluoroptic thermometer Luxtronm3300

IV.6.2 Controlador de temperatura

Debido a la necesidad de aislamiento térmico entre los fenómenos que se encuentran en el interior de la máquina del resto del ambiente, se usa como medio de aislamiento una camisa de agua a una temperatura controlada de 30 °C. La fuente de agua al igual que el control de su temperatura se realiza a través del controlador de temperatura de la Figura 78.

Figura 78 Thermomix BU

IV.6.3 Camisa de agua

Para satisfacer la necesidad de tener una temperatura constante en el interior de la máquina se optó por la opción de usar una camisa de agua. Esta camisa de agua debe tener un espacio suficiente para el ingreso de una placa P24 y robustez para soportar la presión ejercida por el controlador de temperatura de la Figura 78 Thermomix BU. La realización de esta camisa de agua fue llevada a cabo utilizando impresoras 3D de la compañía BQ, utilizando plástico ABS.

Figura 79 Camisa de agua vista frontal y lateral

V. Resultados

V.1 Inversor

Para saber el comportamiento del inversor se hizo trabajar a una frecuencia de 20Hz y una corriente de 7 A. Los diferentes resultados fueron obtenidos a través del sensor de efecto hall de la Figura 31: LTS 15-NP, por lo que se muestra voltaje que representa el comportamiento de la corriente.

Figura 80: Entrada de la función paso al controlador de corriente

Como se observa en la Figura 80: Entrada de la función paso al controlador de corriente, el tiempo de establecimiento es bastante menor, por lo que se puede trabajar a frecuencias menores a 20 Hz.

Figura 81: Entrada de la función rampa al controlador del sistema

La Figura 81: Entrada de la función rampa al controlador del sistema y Figura 82: Entrada de la función seno al controlador del sistema, muestran el comportamiento del controlador para el seguimiento.

Figura 82: Entrada de la función seno al controlador del sistema

Las ilustraciones: Figura 80, Figura 81 y Figura 82, fueron obtenidas utilizando el software provisto por los fabricantes del osciloscopio mostrado en la Figura 83: Osciloscopio RIGOL . Lamentablemente este programa solo puede transmitir a una velocidad máxima de 9600 baudios, por lo que se pierde bastante información en la presentación de los datos en el HMI.

Figura 83: Osciloscopio RIGOL DS1102E

V.2 Pruebas térmicas

V.2.1 Protección térmica

Para conocer el comportamiento térmico de la camisa de agua realizada con agua a 30 °C, se realizó la medición de la temperatura con el equipo de la Figura 78 Thermomix BU trabajando a 30 °C, la medición se realizó con el sensor de temperatura de la Figura 77 Fluoroptic thermometer Luxtronm3300 . Una de sus fibras ópticas se colocó en el interior de la protección térmica mientras otra fibra óptica se colocó en el exterior de la camisa de agua, dando como resultado la Figura 84: Evolución de la temperatura en la máquina, la temperatura sin protección térmica (rojo), temperatura con protección térmica a 30 °C (negro).

Figura 84: Evolución de la temperatura en la máquina, la temperatura sin protección térmica (rojo), temperatura con protección térmica a 30 °C (negro)

Se puede evidenciar que un control de temperatura es imprescindible disponer en la máquina, dado que la temperatura que se alcanza (42 °C) es suficiente para matar a las células con las que se trabaja por hipertermia causado por las bobinas de Maxwell y no por las micro-partículas.

V.2.2 Calentamiento térmico

Para la comprobación de la existencia de un calentamiento térmico producido por el movimiento de las micro-partículas, se aplicó un gradiente de campo magnético producido al hacer circular una corriente de 7 A, 1 Hz por 2 h en las bobinas de Maxwell. Se demostró que bajo las mismas condiciones no existía un cambio significativo en las curvas de temperatura de las muestras de control (agua) y en las muestras que contenían micro-partículas a una concentración de 0.05 mg/ml en agua. Además la temperatura máxima alcanzada fue de 32 °C, la cual es insuficiente para destruir células por hipertermia.

V.3 Movimiento de micro-partículas

Dada la dificultad de acceder por medio de sensores hacia la parte interna de la máquina desarrollada debido a los campos magnéticos presentes, se optó por usar una videocámara y captar el movimiento de las micro-partículas.

Figura 85: Esquema para la obtención de imágenes del movimiento de las micro-partículas en el interior de los imanes

Para tratar de comprender el movimiento de las micro-partículas, se grabó diferentes concentraciones de partículas (0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5 y 5 μ l de micro-partículas en 600 μ l de agua) en un tubo de ensayo que contuviera la suspensión de micro-partículas en agua.

V.3.1 Procesamiento de imágenes

Para poder cuantificar el desplazamiento, velocidad y aceleración de las suspensiones de micro-partículas que fueron capturadas en video se realizó un procesamiento. Éste tiene como primer objetivo seleccionar un solo filamento como se muestra en la Figura 86.

Figura 86 Segmentación de la imagen de la grabación de la cámara de vídeo para identificar y seleccionar un solo filamento (en el rectángulo cian). Peso del volumen = 0,166 mg / ml

De izquierda a derecha y de arriba a abajo se identifica los siguientes rectángulos:

1. Frame del video capturado por la cámara de video.
2. Se toma el color verde para el procesamiento de la señal, la razón de esto es porque en este color hubo un mayor contraste en comparación con el rojo y amarillo.
3. Se escoge un umbral, que varía de video a video, desde 100 a 120, considerando que los diferentes filamentos se distingan; este umbral se aplica a todas las capas del video.
4. Es el mismo proceso del recuadro 3 donde se muestra el resultado en la capa verde.
5. Se aplica un filtro de mediana, medfilt2 el cual es un filtro de 3x3, para eliminar ruido.
6. Se aplica un filtro de segunda derivada, el cual se nos da una primera aproximación de los filamentos completamente segmentados del resto de la imagen.
7. Se aplica un filtro de mediana, el mismo filtro del cuadro 5; este filtro es para eliminar el ruido que pude agregar el filtro de segunda derivada.

8. Se aplica un filtro de erosión, para reconstruir los filamentos, los cuales puede que se hayan recortado en su cuerpo debido al filtro de segunda derivada o por el filtro de mediana.
9. Se aplica una negación para el recuadro 10.
10. Se toma las diferentes mediciones de posición de los filamentos, donde se escoge el filamento más grande para obtener su posición, si es el primer frame; en caso contrario se realiza un seguimiento del filamento seleccionado del frame anterior.

Al filamento seleccionado se le toma la posición de la parte superior (amarillo), centro de gravedad (rojo), e inferior (verde). La posición que se obtiene en pixeles se transforma a cm debido al conocimiento que se tiene del diámetro del tubo de ensayo (0.7 cm)

Figura 87: Obtención de las coordenadas del eje y mediante procesamiento de imágenes, donde la marca amarilla es la parte superior del filamento, la marca roja es el baricentro del área oscura (el centro del filamento) y el verde indica el fondo del filamento. Concentración = 0.166 mg / ml

Como se puede ver en la Figura 87: Obtención de las coordenadas del eje y mediante procesamiento de imágenes, donde la marca amarilla es la parte superior del filamento, la marca roja es el baricentro del área oscura (el centro del filamento) y el verde indica el fondo del filamento. Concentración = 0.166 mg / ml, el seguimiento de un solo filamento a lo largo del tiempo se puede obtener el comportamiento de este filamento y ver cuál es el comportamiento de este filamento a través del tiempo.

Figura 88: Movimiento del agregado del rectángulo cian de la Figura 87. Los colores identifican las tres partes de filamento marcadas con los mismos colores en la Figura 87. Concentración = 0.166 mg / ml

La Figura 88, muestra la posición en el tiempo del filamento en el interior del rectángulo cian de la Figura 87. La parte inferior en el gráfico de la Figura 87 es el punto de referencia; la parte superior, el baricentro y la inferior viajan distancias similares cuando las micro-partículas están sujetas a nuestro equipo operando con una corriente de 7 A en su bobina Maxwell, y el filamento se comporta como un solo cuerpo sólido.

Los filamentos se distinguen por su tamaño. A medida que los filamentos cambian de forma tanto en longitud como en espesor a lo largo del experimento, el área también cambia. Sin embargo, como los filamentos más largos mantienen su jerarquía de tamaño de frame a frame, usamos estos filamentos para los cálculos. A partir de las tres posiciones (superior, baricentro e inferior), calculamos tres velocidades dividiendo el cambio entre dos tramas adyacentes por tiempo que dura la trama, y calculamos la aceleración a partir de la velocidad y el tiempo de trama. Las tres señales de posición para los tres puntos de filamento (Figura 87) eran muy ruidosas. Las pendientes en estas señales cuasi triangulares fueron las velocidades teóricas calculadas. Para generar un sistema automático para detectar estas pendientes, se usó el clasificador K-NN, y la posición aplicada, velocidad y aceleración como reglas. Elegimos un segmento de tiempo para cada punto de prueba para entrenar al clasificador, de tal manera que el algoritmo actúe sobre toda la señal para obtener velocidades de cada pendiente, que se pueden disponer estadísticamente en diagramas de frecuencia. El orden del clasificador K-NN (K) fue un parámetro adimensional de 3 a 5 dependiendo del experimento. Se probaron varios valores. El resultado elegido minimizó el número de pendientes irreales.

Figura 89: Diagramas de frecuencia para las velocidades ascendente y descendente. a) Velocidad ascendente con $M_\mu = 0,228$ y $\sigma = 0,04466$; b) velocidad descendente con $M_\mu = 1,004$ y $\sigma = 0,14844$

La Figura 89: Diagramas de frecuencia para las velocidades ascendente y descendente. a) Velocidad ascendente con $M_\mu = 0,228$ y $\sigma = 0,04466$; b) velocidad descendente con $M_\mu = 1,004$ y $\sigma = 0,14844$, muestra las distribuciones de ambas velocidades (filamentos moviéndose hacia arriba y hacia abajo) durante el experimento. De acuerdo con el análisis teórico, las dos velocidades difieren debido a que la gravedad en un caso favorece al movimiento (hacia abajo) y perjudica en el otro movimiento (hacia arriba). La remodelación del filamento no indica una tendencia sino más bien un movimiento aleatorio del sistema alrededor de valores medios que pueden medirse usando una distribución gaussiana; los filamentos pueden adquirir o perder micro-partículas a lo largo del experimento, ya que sólo una pequeña parte de la magnetización de las micro-partículas contribuye a la anisotropía (Van Oene et al. 2015), y su comportamiento promedio es un movimiento en forma constante de un filamento a largo plazo.

Figura 90: Rapidez media para diferentes concentraciones de micro-partículas. Las barras verticales representan la desviación estándar de las medidas

La distribución de los valores refleja los cambios observados en la forma del filamento donde, en algunos casos el filamento se alarga cuando se encuentra en un movimiento vertical hacia arriba.

La Figura 91 muestra las diferentes medidas tomadas de experimentos en los que cada punto representa la diferencia entre rapidez media cuando las partículas se mueven de abajo a arriba y de arriba a abajo en el tiempo, donde se puede ver que algunos filamentos tienen un comportamiento homogéneo mientras que otros tienen una representación dispersa. Esta diferencia en el comportamiento del filamento depende de la estructura del filamento. Si el filamento tiene una estructura sólida, su cambio de forma es pequeño y la variación en velocidad es constante en el tiempo, mientras que si el tamaño del filamento cambia entonces hay un cambio de velocidad. La velocidad depende del volumen del filamento porque la fuerza magnética tiene una relación lineal con el volumen (Ecuación 37: Fuerza que experimenta un dipolo debido a un campo magnético externo).

Figura 91: Incremento de la rapidez en diferentes períodos de la corriente cuadrada de 7 A a diferentes concentraciones de micro-partículas. a) Experimentos con diferentes concentraciones de micro-partículas; b) experimentos en (a) con comportamientos similares; c) experimentos con diferentes comportamientos

Para facilitar el análisis del fenómeno, se seleccionaron experimentos en los que los filamentos se comportaron como cilindros (Figura 14), porque la Ecuación 50: Variación de velocidad en régimen permanente muestra una relación lineal cuando un cilindro se mueve rodeado por agua.

Figura 92: Variación de la rapidez frente al área de sección transversal del filamento a diferentes concentraciones. a) Todas las medidas experimentales; b) centroides de (a); c) mediciones experimentales con comportamientos similares; d) centroides de (c) y línea de ajuste; e) medidas experimentales con diferentes comportamientos; f) centroides de (e)

Figura 92d muestra una relación entre la Ecuación 50 y la línea de ajuste

$$(\rho - \delta) \frac{g}{6\eta} A \approx -5.445 * A - 0.801$$

Ecuación 51: Línea de tendencia obtenida experimentalmente

La Figura 15 muestra la relación entre diferentes áreas de filamentos con concentración de micro-partículas. Se puede observar que cuanto mayor es la concentración de micro-partículas, mayores son los filamentos, pero a concentraciones por encima de 1,331 mg /ml hay una reducción de área, esta reducción de área se da porque los filamentos son más numerosos antes que más grandes.

Figura 93: Concentración vs. Área

V.4 Internalización celular de micro-partículas

La internalización de las micro-partículas en células vivas ha sido descrita previamente en varios estudios (Zhang et al. 2014; Yue et al. 2015; Shen et al. 2014; Huth et al. 2004; Domenech et al. 2013; Arbab et al. 2005; Creixell et al.

2011; Li et al. 2008; Stern et al. 2012; Cheng et al. 2016; Fernández-Cabada et al. 2016). Para determinar si en nuestro modelo experimentar las micro-partículas fueron internalizadas por células 3T3, se evaluó la internalización de micro-partículas por las células 3T3 preincubadas con micro-partículas **de 2 μm** mediante citometría de flujo después de diferentes tiempos de incubación, analizando la variación en la intensidad de dispersión lateral (SSC) como un índice de contenido de micro-partículas intracelular, como se ha descrito anteriormente (Zucker et al. 2010). La hipótesis es que al aumentar el tiempo de incubación, la intensidad SSC aumentaría porque más micro-partículas se internalizarían en la célula; de hecho, los resultados mostraron un aumento monotónico en la intensidad media de SSC con el aumento del tiempo de incubación, lo que indica una alta captación de micropartículas por las células 3T3 a mayores tiempos de incubación como se muestra a continuación.

Figura 94: Se incubaron células 3T3 con micro-partículas de 2 μm de diámetro a una concentración de 0,1 mg/ml durante 3, 6, 12 y 24 h. La intensidad de SSC se midió mediante citometría de flujo. El SSC (escala lineal) aumentó a medida que el tiempo de incubación aumenta de 3 a 24 h

Tiempo de incubación	Media geométrica	Proporción (tratadas/control)
Control	291	1
3 h	377,5	1.30
6 h	384	1.32
12 h	395	1.36
24 h	425,25	1.46

Tabla 5: Cambios de dispersión lateral media (SSC) medidos por citómetro de flujo en células 3T3 tratadas con micro-partículas (2 μ m) a una concentración de 0,1 mg/ml para diferentes tiempos de incubación (3, 6, 12 y 24 h)

La Tabla 5 muestra el cambio detectado por SSC usando el citómetro de flujo donde, se observa la variación de la dispersión cuando las células fueron incubadas con micro-partículas a diferentes tiempos tomando como referencia las células que no fueron incubadas con micro-partículas.

Para determinar la localización intracelular final de las micro-partículas, se usó un anticuerpo fluorescente específico para lisosomas (CD63). Cuando las células 3T3 se incubaron con micro-partículas **con un tamaño de 2 μ m durante 24 horas**, la mayoría de las micro-partículas fueron internalizadas por las células y acumuladas en vesículas intracelulares, específicamente en lisosomas, según se determinó por inmunocitoquímica usando un anticuerpo fluorescente específico para marcar los lisosomas. Como se puede ver en la Figura 94, la presencia de micro-partículas, visualizados bajo luz de transmisión como marcas negras, mostró una fuerte co-localización con el marcador lisosomal fluorescente (marca roja), lo que indica que la mayoría de las micro-partículas se almacenaron en las células en el interior de estos orgánulos citosólicos.

Figura 95: Ubicación intracelular de las micro-partículas en las células 3T3. Las células 3T3 se incubaron con micro-partículas (2 μm) a una concentración de 0,025 mg/ml durante 24 h. Las micro-partículas se muestran en luz de transmisión a). Después de la fijación, las células se tiñeron con el anti-CD63 para marcar los lisosomas en rojo b). Se puede visualizar una alta co-localización de micro-partículas y lisosomas c)

V.4.1 Efectos de la aplicación del campo magnético en células 3T3 tratadas con micro-partículas

V.4.1.1 Calceína y yoduro de propidio

Para conocer el resultado que produce el efecto de los campos magnéticos sobre la viabilidad celular se utiliza el método de calceína y yoduro de propidio donde, con la ayuda de microscopia se obtuvo los resultados que se muestra en la Figura 96. La cuantificación de este ensayo se lo realizó utilizando el programa adobe Photoshop para lo cual, se tomaron imágenes de cuatro puntos diferentes de cada pocillo y se los cuantifico mediante procesamiento de imágenes donde se obtuvo los resultados mostrados en la Figura 97.

Figura 96: Viabilidad celular después del tratamiento. Células 132 1N1 fueron marcadas con yoduro de propidio para visualizar las células muertas (rojo) en diferentes frecuencias de irradiación. Scale bar 500 μm

Figura 97: Viabilidad de las células 1321N1 expuestas a campos magnéticos controlados por una corriente cuadrada 7 A frecuencia de 1 y 50 [Hz] por 60 min

Como se puede evidenciar en la Figura 97, hay un mayor porcentaje de muerte celular con las micro-partículas de 2 μm ; dada la inexactitud y laboriosidad de la utilización de este método de cuantificación de viabilidad celular se optó por elegir el test de LDH dado, que el test de LDH proporciona una mayor exactitud para la medición de muerte celular que el uso de microscopia con el método de calceína y yoduro de propidio razón por la cual, la medición de muerte celular con sus diferentes variaciones de parámetros se los realiza a través del test de LDH.

V.4.1.2 Efecto de la aplicación de los campos magnéticos sobre la viabilidad celular mediante Lactato Deshidrogenasa (LDH)

La aplicación de un gradiente campo magnético en un campo magnético uniforme en nuestra máquina produce un movimiento lineal de las micro-partículas (Ecuación 45) que puede ser capaz de provocar una lesión mecánica en las células cargadas con micro-partículas en respuesta a los movimientos desencadenados en las micro-partículas por el campo magnético alterno. Para determinar si la aplicación de un campo magnético podría inducir la muerte celular en estas células 3T3 previamente cargadas con las micro-partículas, se aplicaron campos magnéticos de 1 y 10 Hz en diferentes condiciones para establecer los parámetros óptimos para alcanzar el porcentaje máximo de células muertas.

V.4.1.2.1 Efecto de la aplicación de los campos magnéticos sobre la viabilidad celular a diferentes tiempos de incubación de la células con micro-partículas

La internalización de las micro-partículas por las células 3T3 aumenta con tiempos de incubación más largos (Figura 94 y Tabla 5), exploramos el efecto del tiempo de incubación con las micro-partículas sobre la viabilidad celular después de la aplicación del campo magnético. Las células se pre-incubaron con micro-partículas de 2 μm durante 3, 6, 12 y 24 h antes de aplicar campos

magnéticos de 1 y 10 Hz para averiguar si un tiempo de incubación más largo podría aumentar el porcentaje de muerte celular en respuesta al campo magnético; de hecho, los tiempos de pre-incubación más largos de las partículas con células 3T3 produjeron mayores porcentajes de muerte celular después de la aplicación del campo magnético a frecuencias de 1 y 10 Hz (Figura 98). No se observaron diferencias significativas en la muerte celular cuando se incubaron células 3T3 con las micro-partículas durante 12 o 24 h a 1 Hz y se aplicaron campos magnéticos. Por lo tanto, no se ensayaron periodos más prolongados de incubación.

Curiosamente, cuando las células se preincubaron con las micro-partículas **de 2 μ m durante 6 y 12 h y después se sometieron a un campo magnético de 10 Hz**, el porcentaje de muerte celular obtenido fue exactamente el mismo que el obtenido a 1 Hz después de la preincubación de las células con las micro-partículas en la mitad del tiempo (3 y 6 h respectivamente). La aplicación del campo magnético a 1 Hz fue en todos los casos significativamente más eficiente en el desencadenamiento de la muerte celular que la aplicación a 10 Hz. Por otra parte, la aplicación del campo magnético en ausencia de micro-partículas no indujo un aumento significativo en la muerte celular en células 3T3, lo que indica una falta de toxicidad en los tratamientos cuando las micro-partículas magnéticas no estaban presentes. De manera similar, la incubación de células 3T3 con micro-partículas **de 2 μ m sin la aplicación de un campo magnético** no perjudicó la viabilidad celular a la dosis y los tiempos de incubación probados.

Figura 98: Viabilidad celular de las células 3T3 incubadas con micro-partículas magnéticas de 2 µm a una concentración de 0,1 mg/ml durante diferentes períodos de tiempo que van desde 3 a 24 h, y expuestas a tratamientos de campo magnético controlados por una corriente cuadrada de 7 A y frecuencias de 1 y 10 Hz durante 60 min. Se incluyeron células de control en todos los experimentos: células preincubadas con micro-partículas sin aplicación de campo magnético (No MF) y células expuestas a campos magnéticos a 1 y 10 Hz en ausencia de micro-partículas (No MMPs). Los datos representan la media +/- (S.D.) de tres experimentos independientes. ANOVA, prueba de diferencia significativa honesta post hoc de Tukey; * p < 0,05, frente a sus controles respectivos: células sin partículas y sin exposición al campo magnético (No MF); # p < 0,05, 1 Hz frente a 10 Hz; §p < 0,05, 12 h frente a 24 h a 10 Hz

V.4.1.2.2 Efecto de la aplicación de los campos magnéticos sobre la viabilidad celular a diferentes concentraciones de micro-partículas

Las micro-partículas se acumulan comúnmente en vesículas intracelulares en proporción a su concentración extracelular (Zhang et al. 2014; Yue et al. 2015; Shen et al. 2014; Huth et al. 2004; Domenech et al. 2013; Arbab et al. 2005; Creixell et al. 2011; Li et al. 2008; Stern et al. 2012; Cheng et al. 2016; Yang & Ma 2010). De acuerdo a los resultados mostrados en la Figura 98, el porcentaje de mortalidad celular aumentó cuando los tiempos de incubación fueron más largos de las micro-partículas con células 3T3 antes de la aplicación del campo magnético. Por lo tanto, el porcentaje de muerte celular aumentó cuando el número de micro-partículas en el interior de las células fue mayor, como lo demuestra el análisis de citometría de flujo (Figura 94 y Tabla 5). El efecto del incremento de la concentración de micro-partículas en la muerte celular también se probó para determinar si concentraciones más altas de micro-partículas indujeron un aumento en el porcentaje de muerte celular (Figura 99). A partir de los resultados obtenidos se observa que el porcentaje de muerte celular es proporcional a la concentración de partículas después de la aplicación del campo magnético a frecuencias de 1 y 10 Hz. La aplicación del campo magnético a 1 Hz a cualquiera de las concentraciones de micro-partículas probadas produjo tasas de mortalidad celular significativamente elevadas en comparación con la aplicación de un campo magnético a 10 Hz (Figura 99), similarmente a los resultados mostrados en la Figura 98. Además, La concentración de las micro-partículas probadas no parecía afectar la viabilidad de las células en ausencia de un campo magnético (Figura 99). Además, si es necesario, la concentración de micro-partículas puede disminuirse

aplicando **la frecuencia correcta (1 Hz en este caso, usando partículas de 2 μm)** para obtener porcentajes similares de muerte celular después de la aplicación del campo magnético. Este resultado indicó que en el caso de la toxicidad celular en respuesta a una alta concentración de micro-partículas, la muerte celular podría ser modulada sintonizando la frecuencia del campo magnético. Como puede verse en la Figura 99, los porcentajes de muerte celular obtenidos cuando las células fueron sometidas a un campo magnético de 10 Hz fueron similares a los obtenidos cuando las células se preincubaron con la mitad de la dosis de micro-partículas y se sometieron a un campo magnético de 1 Hz.

Figura 99: Viabilidad celular de las células 3T3 preincubadas con micro-partículas magnéticas de 2 μm a diferentes concentraciones (0,025, 0,05 y 0,1 mg/ml) durante 24 h y expuestas a un campo magnético de 7 A y 1 y 10 Hz. Se incluyeron células de control en todos los experimentos: células preincubadas con partículas pero sin aplicación de un campo magnético (No MF) y células expuestas a campos magnéticos en ausencia de micro-partículas (No MMPs). Los datos representan la media $\pm$ S.D. De tres experimentos independientes. ANOVA, prueba de diferencia significativa honesta post hoc de Tukey; * $p < 0,05$, frente a sus respectivos controles: células sin micro-partículas y sin campos magnéticos; # $p < 0,05$, 1 Hz frente a 10 Hz

V.4.1.2.3 Efecto de la duración de la exposición a los campos magnéticos sobre la viabilidad celular

Para analizar el efecto de la duración de la exposición al campo magnético sobre la muerte celular, las células 3T3 preincubadas con micro-partículas de 2 μm durante 24 h fueron expuestas a tratamientos de campo magnético a 1 y 10 Hz durante 30 y 60 min. El porcentaje de muerte celular obtenido (Figura 100) mostró un aumento significativo cuando las células fueron expuestas a los campos magnéticos durante 60 min en comparación con 30 min a 1 y 10 Hz. Elegimos 60 min como la duración de la aplicación de tratamientos de campo magnético con el fin de obtener una elevada tasa de muerte celular.

Figura 100: Viabilidad celular de las células 3T3 sometidas a un campo magnético de onda cuadrada de 7 A a 1 y 10 Hz durante 30 y 60 min. Las células se preincubaron con micro-partículas magnéticas de 2 μm a una concentración de 0,1 mg/ml durante 24 h. Se incluyeron células de control en todos los experimentos: células preincubadas con partículas pero sin aplicación de un campo magnético (No MF) y células con aplicación de un campo magnético durante 30 y 60 min en ausencia de micro-partículas (No MMPs). Los datos representan la media $\pm$ S.D. de tres experimentos independientes. ANOVA, prueba de diferencia significativa honesta post hoc de Tukey; * $p < 0,05$, frente a sus respectivos controles: células sin micro-partículas y sin campos magnéticos; # $p < 0,05$, 1 Hz frente a 10 Hz; ¥ $p < 0,05$, entre diferentes tiempos de exposición de campo magnético a 1 Hz; \$ $p < 0,05$, entre diferentes tiempos exposiciones de campo magnético a 10 Hz

V.4.1.2.4 Efecto de la influencia de la forma de onda del gradiente del campo magnético sobre la viabilidad celular

Como se puede evidenciar de la Ecuación 45, la fuerza magnética inducida en las micro-partículas depende del campo magnético producido por las bobinas Maxwell; de acuerdo con la ley de Ampere y la configuración experimental del equipo, la corriente que fluye a través de las bobinas Maxwell es proporcional al gradiente del campo magnético (Figura 67), por tal razón, la forma de onda de la corriente que fluye a través de las bobinas Maxwell es igual a la forma de onda de la fuerza magnética inducida en las micro-partículas. Entonces una corriente cuadrada produce una fuerza magnética cuadrada, y una corriente sinusoidal produce una fuerza magnética sinusoidal sobre las micro-partículas.

Para determinar la influencia de la forma de onda del campo magnético aplicado en el porcentaje de muerte celular, las células 3T3 pre-incubadas con las micro-partículas **de 2 μm se sometieron a campos magnéticos de onda cuadrada y onda sinusoidal a ambas frecuencias, 1 y 10 Hz.** Los resultados mostraron un aumento en el porcentaje de muerte celular cuando se aplicaron campos magnéticos de onda cuadrada (Figura 101).

Figura 101: Viabilidad celular de células 3T3 expuestas a campos magnéticos de onda cuadrada y senoidal de 7 A a 1 y 10 Hz durante 60 min. Las células se preincubaron con micro-partículas magnéticas de 2 μm a una concentración de 0,1 mg/ml durante 24 h. Se incluyeron células de control en todos los experimentos: células preincubadas con micro-partículas pero sin aplicación campo magnético (No MF) y células irradiadas con onda cuadrada y onda senoidal en ausencia de micro-partículas (No MMPs). Los datos representan la media $\pm$ S.D. de tres experimentos independientes. ANOVA, prueba de diferencia significativa honesta post hoc de Tukey; * $p < 0,05$, frente a sus controles respectivos: células sin partículas y sin MF; # $p < 0,05$, 1 Hz frente a 10 Hz; ¥ $p < 0,05$, entre formas de onda a 1 Hz; \$ $p < 0,05$ entre las formas de onda a 10 Hz

V.4.1.2.1 Efecto del tamaño de la micro-partícula en la aplicación de los campos magnéticos sobre la viabilidad celular

Una vez que se determinó la forma de onda de campo magnético aplicado a las células cargadas con micro-partículas que produjo alteraciones significativas en las tasas de mortalidad celular, decidimos determinar la influencia del tamaño de micro-partícula sobre los porcentajes de muerte celular después de la aplicación del campo magnético. Para este propósito, las células 3T3 se preincubaron con micro-partículas de 2 μm , 500 nm y 300 nm a una concentración de 0,1 mg/ml durante 24 h. Posteriormente, las células se expusieron a campos magnéticos de onda cuadrada de 1 y 10 Hz durante 60 min y se determinó el porcentaje de muerte celular. Los resultados obtenidos mostraron un aumento significativo en el porcentaje de mortalidad celular **cuando las células 3T3 se preincubaron con partículas de 2 μm y se sometieron** a los tratamientos de campo magnético, y se encontró que 1 Hz era la frecuencia más efectiva para inducir muerte celular (Figura 102). Sin embargo, no se observó ninguna muerte celular significativa después de la aplicación del campo magnético cuando las células 3T3 se preincubaron con partículas de 0,5 y 0,3 μm , lo que indica que el tamaño de las partículas es un parámetro crítico para inducir la muerte celular en respuesta a la aplicación de un gradiente campo magnético.

Figura 102: Viabilidad celular de células 3T3 preincubadas con micro-partículas de diferentes tamaños (2, 0,5 y 0,3 μm) a una concentración de 0,1 mg/ml durante 24 h y expuestas a campos magnéticos de 7 A a 1 y 10 Hz durante 60 min. La gráfica también muestra la muerte celular basal en células de control, células sin aplicación de campo magnético (No MF) y células irradiadas en ausencia de micro-partículas (No MMPs). Los datos representan la media +/- S.D. de tres experimentos independientes. ANOVA, prueba de diferencia significativa honesta post hoc de Tukey; * $p < 0,05$, frente a sus controles respectivos: células sin partículas y sin campos magnéticos, § $p < 0,05$ entre 1 y 10 Hz

Capítulo VI.

VI. Discusión

El objetivo de este trabajo ha sido el desarrollo de un método capaz de eliminar células tumorales cargadas con micro-partículas magnéticas en respuesta al movimiento lineal de las micro-partículas magnéticas, para lo cual, el movimiento lineal se lo realiza a través de una combinación de un campo magnético fijo y un gradiente magnético generado por las bobinas maxwell (Figura 48).

VI.1 Inversor

Para la generación del gradiente magnético en las bobinas Maxwell, en este trabajo se realiza un circuito de control de corriente (Figura 38), en el cual se hace uso de convertidores estáticos debido a la potencia con la que tienen que trabajar, dado que para potencias elevadas el uso de reguladores lineales no son una buena opción (Luo & Ye 2010), debido a la cantidad de energía que deben disipar en forma de calor, lo que conlleva el uso de disipadores de calor de grandes dimensiones.

Existen varios tipos de convertidores estáticos, entre los más comunes se mencionan en la sección Convertidor estático de potencia de este trabajo. Nosotros hemos escogido trabajar con un convertor estático que sea capaz de operar en los cuatro cuadrantes y que sea autónomo, dado que no se va a conectar a la red eléctrica. Por ello, hemos elegido el convertido puente H como se muestra en la Figura 38. La razón de escoger un convertor puente H se debe a que la carga (bobinas Maxwell) que es altamente inductiva, lo que conlleva el almacenamiento de energía en forma de campo magnético (Boylestad 1998). Esto significa que estas bobinas Maxwell no permite impulsos de corriente. Además como se evidencia en el apartado de Análisis matemático, el movimiento magnético depende de la fuerza magnética, la cual es provista por un imán permanente y la corriente que circula a través de las bobinas Maxwell, y como se desea manipular el movimiento de las micro-partículas en ambas direcciones , arriba y abajo, se debe cambiar el sentido de la corriente en las bobinas Maxwell, y como solo se dispone de una fuente de voltaje continua (Figura 30), el convertor estático debe ser capaz de invertir la dirección de la corriente en la bobina Maxwell cuando sea necesario, y este cambio de dirección va a exigir una transición que obligue al convertor a

trabajar en los cuatro cuadrante de operación, y el puente H es capaz de operar los cuatro cuadrantes de operación (Luo & Ye 2010).

Como se evidencia en este trabajo, el control electrónico se realiza a través de componentes digitales (Figura 22), lo que significa que se realizan conversiones analógico-digitales, esta conversión se lo realiza a través del microcontrolador dado un conversor analógico digital que posee (Figura 33), lo que significa que se debe tener en cuenta filtros antialiasing para el desarrollo del módulo electrónico, dado que el Aliasing es un error que se produce en la reconstrucción de una señal análoga, una vez que ha sido digitalizada (López & Cárdenas 2013); como se puede evidenciar en la Figura 33, este filtro no existe, la razón de ello se debe a la forma de comportamiento de la corriente en la bobina Maxwell, la cual es de un filtro paso bajo (Figura 51), la razón de ello es que una bobina es un integrador de corriente (Boylestad 1998); entonces, para realizar la discretización de la señal proveniente del sensor de efecto Hall, el convertidor analógico digital trabaja a un periodo de muestreo de 85 ns, por lo que no se hace necesario la colocación de un filtro paso bajo adicional entre el sensor de efecto Hall y el conversor analógico digital del microcontrolador (Figura 33).

Para conocer el comportamiento de las micro-partículas, se hace necesario el uso de una excitación adecuada; para lo cual en este trabajo se realizó a través de una entrada paso de corriente en las bobinas Maxwell, debido a que una entrada paso permite conocer la respuesta del sistema frente a cambios abruptos en su entrada, además permite dar una idea del tiempo de establecimiento de la señal, es decir, cuanto se demora el sistema en alcanzar el estado estacionario (Soliman & Srinath 1999); lo que hace necesario la realización de un controlador de corriente y así obtener las ondas de corriente adecuadas, este controlador fue primero diseñado a través de simulaciones usando el programa MATLAB y luego verificado en el módulo electrónico diseñado en este trabajo (Inversor). Se usa una función paso para conocer el comportamiento dinámico del sistema y establecer las relaciones matemáticas que gobiernan el sistema (Análisis matemático).

El desarrollo de un controlador de corriente no solo viene dado por la generación de ondas paso de corriente como se menciona anteriormente, sino, como se puede evidenciar en los resultado obtenido en la sección de Inversor el controlador puede generar varios tipos de onda de corriente, debido a que como se menciona en la sección de Control automático de este trabajo, el controlador se encarga de efectuar la acción de control, y una de esas acciones es el manejo de la corriente eléctricas que fluye a través de la bobina Maxwell, en el caso de este trabajo, donde los diferentes puntos de consigna que necesita para la operación del controlador se genera en un HMI en un

computador, lo cual permite la generación arbitraria de ondas de corriente y darle una facilidad al operador del módulo electrónico para introducir nuevas formas de ondas.

Es este trabajo el módulo electrónico se realizó a través de convertidores estáticos, y como es conocido, este tipo de dispositivo produce bastante ruido electromagnético (Luo & Ye 2010), y este ruido electromagnético se refleja en el sensor de efecto Hall, por lo que se hace necesario realizar un filtrado digital debido, a que se desea un controlador rápido que sea capaz de generar ondas de corriente de frecuencia media, por lo que el controlador al aumentar la rapidez, la robustez disminuye (Acevedo Sánchez 2003), para evitar problemas de inestabilidades en la corriente se realizó un filtrado, dado que el microcontrolador realiza todas la operaciones de la lógica de control, y lo único que no se encuentra en el controlador es la carga como se muestra en la sección Diseño del módulo electrónico, y dado la potencia del microcontrolador se optó por usar un identificador de sistemas para estimar la señal real proveniente del sensor de efecto Hall, y de esta manera obtener un sistema en lazo cerrado que cumpla con los requerimientos requeridos para la realización de los diferentes experimentos.

VI.2 Movimiento de micro-partículas magnéticas

Existen varios estudios sobre campos magnéticos alternos y su efecto con las nano-partículas (Golovin et al. 2015; Creixell et al. 2011; Kumar & Mohammad 2011; Connord et al. 2015; Rosensweig 2002; Jordan et al. 1999); estos estudios utilizaron altas frecuencias para producir calor en las nano-partículas de óxido de hierro por medio de dos mecanismo, conocidos como la relajación de Neel (causados por el movimiento de los momentos magnéticos relativos a la estructura cristalina de las nano-partículas magnéticas de dominio único) y Brown (causadas por el movimiento de las nano-partículas magnéticas con respecto al medio circundante). El comportamiento de las nano-partículas magnéticas en presencia de campos magnéticos producidos por una corriente alterna se ha analizado con anterioridad (Zahn 2001; Golovin et al. 2015); varios estudios (Zhang et al. 2014; Golovin et al. 2015; Yue et al. 2015; Cheng et al. 2016; Van Oene et al. 2015) llevaron a cabo análisis de rotación de nano-partículas de bajo la acción de un campo magnético de baja frecuencia, en el que la velocidad de rotación de las nano-partículas depende del campo magnético dinámico (dmf). Kim et al. Y Cheng et al. Emplearon una técnica similar donde con un microdisco y un campo magnético de baja frecuencia creó un vórtice y obtuvieron muerte celular (Kim et al. 2010; Cheng et al. 2016). Van Oene et al. Realizaron un análisis de la rotación de MNPs y su comportamiento con macromoléculas biológicas, y señalaron que sólo una pequeña porción de la magnetización de los MNPs contribuyó a la anisotropía (Van Oene et al. 2015) ,

por lo que algunas de las micro-partículas que forman el filamento solo ocupan espacio pero no ejerce fuerza sobre el movimiento lineal del filamento entonces, la Ecuación 50 arroja un valor de densidad de agregados donde la densidad viene no sólo de las micro-partículas aglomeradas sino también del agua que queda atrapada por las micro-partículas en el interior de los filamentos además, la densidad también depende de las micro-partículas, que generan movimiento, y las micro-partículas que no generan movimiento pero son arrastradas por el conjunto de micro-partículas.

En este trabajo se describe una forma de movimiento lineal de micro-partículas (Figura 70, Figura 87 y Figura 88) y vertical que es capaz de superar la gravedad basada en una combinación de un imán permanente y un gradiente campo magnético que puede producir movimiento de micro-partículas. Un campo magnético permanente produce aglomeraciones de micro-partículas, ya que cada micro-partícula cambia el campo magnético de tal manera que el gradiente a su alrededor pierde la homogeneidad ideal. Algunas o varias micro-partículas pueden rotar con dmf donde se puede observar la formación de aglomeraciones (Zhang et al. 2014). Nuestro equipo aprovecha la formación de estas aglomeraciones para producir mayor velocidad, ya que el grupo de micro-partículas presenta un lazo de histéresis diferente al que tiene una sola micro-partícula (Serantes et al. 2014). Por lo tanto, se puede aplicar una fuerza magnética mayor en un grupo de micro-partículas que en una única micro-partícula con el mismo campo magnético (Figura 92) (Liu et al. 2015), (Amaya-Jaramillo et al. 2017) mostró que una micro-partícula de $2\text{ }\mu\text{m}$ puede alcanzar una fuerza magnética de $1.33 \times 10^{-13}\text{ N}$ lo que significa que una micro-partícula puede alcanzar una velocidad de hasta $8.77 \times 10^{-6}\text{ m/s}$ sumergida en agua pero, como se muestra en la Figura 89, se obtuvo velocidades de hasta $2.5 \times 10^{-3}\text{ m/s}$ en un filamento bajo las mismas condiciones.

Las frecuencias inferiores a 0,1 MHz y las amplitudes de campo magnético inferiores a 1 T se consideran seguras y pueden penetrar tejidos ($> 1\text{ m}$) para procesos biológicos (Golovin et al. 2015), por lo que en este trabajo se utilizó un imán permanente de 0,1 T y frecuencias de 1 a 10 Hz para evitar la interacción con procesos biológicos.

La velocidad no depende de la concentración de las micro-partículas en suspensión porque, un filamento con un volumen mayor adquiere una mayor fuerza magnética; si hay más material en suspensión para formar filamentos, los filamentos pueden ser más grandes o más numerosos (Figura 93). Las simulaciones presentadas en este trabajo se aproximan a las observaciones experimentales, de modo que podemos calcular la densidad de los agregados formados por las micro-partículas (Ecuación 51). La densidad observada es independiente del tamaño del filamento, y podría ser propuesta como una

constante al menos hasta el tamaño de los agregados macroscópicos. Observamos fenómenos adicionales tales como cambios frecuentes en la longitud de los agregados cuando los filamentos eran movidos por las fuerzas magnéticas, y la concentración inicial de las micro-partículas no determinó el tamaño de los filamento sino más bien el número de filamentos.

Varios estudios utilizan catalizadores para la generación de burbujas para propulsar microrobots y guiarlos a través de campos magnéticos externos (Solovev et al. 2010; Sanchez, A. a Solovev, et al. 2011; Singh et al. 2014; Sanchez, A. A. Solovev, et al. 2011; Sailapu & Chattopadhyay 2014), Sánchez et al. Lograron mover células sobre microrobots autopropulsados (Sanchez, A. a Solovev, et al. 2011), Nothnagel et al. Logró mover material ferromagnético usando un Magnetic Particle Image System (MPI) (Nothnagel et al. 2016), pero el gradiente del campo magnético se realizó a través de imanes permanentes y el campo magnético homogéneo se realizó a través de bobinas; por el contrario, en nuestra equipo, donde el campo magnético generado por las bobinas de Maxwell es mucho menor que el campo magnético uniforme del imán permanente, no hay cambios en el comportamiento magnético del material cuando las micro-partículas se mueven en el interior del equipo, porque el material magnéticos se encuentra casi siempre en el mismo punto de la curva de magnetización. Nuestro equipo sólo permite ejercer fuerza magnética, la cual es generada a través de un gradiente del campo magnético en el interior de un campo magnético uniforme, a las micro-partículas, las cuales no son autopropulsadas. Liu et al. Mueve nano-partículas usando gradientes de campo magnético, pero como el momento magnético de la partícula depende del campo externo, el cual varía dependiendo de la posición de las nano-partículas, la fuerza magnética no es constante (Liu et al. 2015). Nuestro equipo usa un imán permanente cuya intensidad de campo magnético es mucho mayor que la intensidad de campo magnético producida por la bobina de Maxwell, de modo que el momento magnético de las micro-partículas es casi consonante, además un gradiente de campo magnético constante es producido por las bobinas de Maxwell para obtener una fuerza magnética constante (Figura 67 y Figura 68).

VI.3 Internalización celular de micro-partículas

La internalización de las micro-partículas en célula vivas se lleva a cabo normalmente mediante procesos de endocitosis y macropinocitosis (Gupta & Gupta 2005; Li et al. 2008; Stern et al. 2012; Yang & Ma 2010; Arbab et al. 2005; Yanes et al. 2013; Pouliquen et al. 1991; Canton & Battaglia 2012), donde las micro-partículas eventualmente se depositan en los lisosomas (Zhang et al. 2014; Yue et al. 2015; Shen et al. 2014; Huth et al. 2004; Domenech et al. 2013; Arbab et al. 2005; Creixell et al. 2011; Li et al. 2008; Stern et al.

2012; Cheng et al. 2016). En ese trabajo se avaluó la endocitosis de las micro-partículas por las células 3T3 en varios tiempos de incubación, y se mostró que las micro-partículas fueron progresivamente internalizadas por las células 3T3 como se muestra en la Figura 94. La Figura 95 muestra una alta co-localización de micro-partículas y lisosomas, lo que nos indica que las micro-partículas se acumulan preferentemente en los lisosomas. Por lo tanto, en este trabajo hemos establecido las condiciones óptimas para dirigir las micro-partículas hacia los lisosomas sin la necesidad de una funcionalización adicional.

La acumulación de las micro-partículas en el interior de los lisosomas es relevante para inducir muerte celular cuando se rompe las membranas de los lisosomas después de la aplicación del campo magnético (Cheng et al. 2016). El movimiento lineal de las micro-partículas en el interior de los lisosomas puede desestabilizar sus membranas, promoviendo la muerte celular; este hecho es muy interesante para inducir la muerte celular en las células tumorales. El cambio en la rigidez celular es una característica de las células cancerosas que afecta la forma en que se propagan. Se ha informado que las células tumorales presentan un valor de rigidez aproximadamente un 70% menor que las células normales (Cross et al. 2007); por lo tanto, el movimiento lineal de las micro-partículas en el interior de los lisosomas puede desestabilizar sus membranas, lo que promueve la muerte celular, principalmente en células cancerosas metastásicas (Hildebrandt et al. 2002).

VI.4 Efectos de la aplicación de campos magnéticos en la viabilidad celular

Los porcentajes de células muertas fueron mayores cuando las micro-partículas se incubaron con células 3T3 durante períodos más largos de tiempo antes de la exposición al campo magnético (Figura 98), por lo que mayores tasas de muerte celular se obtienen cuando mayor es el número de micro-partículas internalizada en la células, la razón de ello es que las micro-partículas son internalizadas por las células, y esta internalización es dependiente del tiempo (Figura 94, Tabla 5), además que cuando estás micro-partículas se encuentren en los lisosomas (Zhang et al. 2014; Yue et al. 2015; Shen et al. 2014; Huth et al. 2004; Domenech et al. 2013; Arbab et al. 2005; Creixell et al. 2011; Li et al. 2008; Stern et al. 2012; Cheng et al. 2016) pueden interactuar entre ellas, por lo que una mayor fuerza magnética pueda ser inducida (Liu et al. 2015) entonces, una célula con mayor tiempo de incubación significa que más micro-partículas va a poseer en sus lisosomas, y estas mayor cantidad de micro-partículas va a producir una mayor fuerza magnética lo que resulta en un mayor porcentaje de muerte celular.

Las tasa de muerte celular tienen una dependencia de la concentración de las micro-partículas, como se conoce, las micro-partículas ingresan a los lisosomas en dependencia del tiempos transcurrido (Figura 94, Figura 95 y Tabla 5), entonces, a una mayor cantidad de micro-partículas en el medio en el que se encuentren las células, un mayor número de micro-partículas van a ingresar a las células, e incluso un mayor número de células pueden contener micro-partículas, este mayor número de micro-partículas van a interactuar con el campo magnético produciendo induciendo mayor fuerza magnética (Liu et al. 2015), dando como resultado una mayor tasa de muerte celular (Figura 99), además en la Figura 99 se puede evidenciar que las tasas de mortalidad celular son similares para frecuencias de 1 Hz con la mitad de concentración de micro-partículas que usando una frecuencia de 10 Hz, por lo que en caso de toxicidad se puede hacer uso de menores concentraciones de micro-partículas y frecuencias de operación más bajas para obtener resultados deseables.

El tiempo de exposición de las micro-partículas hacia campos magnéticos es un factor a tener en cuenta, por tal motivo en este trabajo se restringió a valores de exposición de 60 min, donde la Figura 100 muestra la evolución en el tiempo de la muerte celular en el tratamiento, este incremento de la muerte celular indica que la ruptura de membrana lisosomal no es inmediato y depende del número de golpes que producen las micro-partículas a la membrana lisosomal lo que produce la muerte celular.

La forma de onda que produce el gradiente magnético en el equipo es un parámetro necesario para conocer el comportamiento de las micro-partículas para la producción de muerte celular, en este trabajo se eligió trabajar con 2 forma de onda: cuadrada y sinusoidal, la razón de ello como es conocido la sinusoidal es representa la forma de onda alterna más común (EcuRed 2017), y una onda cuadra debido a que es la onda alterna que presenta una mayor valor rms (root mean square). Como se muestra en la Ecuación 45, la fuerza magnética es directamente proporcional al gradiente del campo magnético, y este gradiente de campo magnético en nuestro equipo experimental viene dado por las bobinas de Maxwell, lo que significa que la forma de la fuerza magnética tendrá la misma forma de onda de corriente que atraviesa la bobinas Maxwell, por lo que la onda cuadrada tendrá solo dos posibles valores, un máximo y un mínimo de igual magnitud pero de diferente signo, lo que significa que las micro-partículas ejercerán una misma fuerza magnética en la dirección vertical pero en diferentes sentidos, entonces, estas micro-partículas ejercerán una fuerza magnética en la parte superior de la membrana lisosomal de igual magnitud que en la parte inferior de la membrana lisosoma, y estas fuerza producen mayor daño que si fuese producida de una manera sinusoidal Figura 101.

La inducción magnética es dependiente del volumen del material a magnetizarse (Jiles 1991), lo que significa que las micro-partículas presentarán mayor inducción magnética que las nano-partículas, por lo que la micro-partículas en el interior de los lisosomas producirán mayor fuerza magnética para causar la ruptura de la membrana lisosomal que las nano-partículas bajo las mismas condiciones magnéticas (Figura 102).

En todos los casos que se experimentaron en este trabajo se obtuvieron mayores tasas de mortalidad celular a frecuencias bajas, una tendencia demostrada por otros trabajo donde la muerte celular es producida por el movimiento de nano-partículas (Zhang et al. 2014; Cheng et al. 2016; Yang & Ma 2010; Kim et al. 2010; Golovin et al. 2015; Yue et al. 2015), esto es bastante favorable dado que campos magnéticos alternos con frecuencias inferiores a 0.1 MHz pueden penetrar en los tejidos (> 1 m) (Golovin et al. 2015).

Capítulo VII.

VII. Conclusión

En este trabajo, describimos una técnica para el movimiento de micro-partículas usando un campo magnético constante producido por un imán permanente y bobinas de Maxwell para producir un gradiente de campo magnético que puede usarse para varias aplicaciones.

El método propuesto para el movimiento lineal de micro y nano-partículas ofrece una nueva herramienta para científicos que trabajan con micro-partículas. Nosotros hemos observado el movimiento macroscópico de grupos de las micro-partículas magnéticas, por lo que este método puede ayudar a los investigadores y científicos interesados en nano-portadores para la entrega de fármacos y genes, tener una contribución en la ingeniería de tejidos, y otras aplicaciones en bio-medicina y bio-sensores, además de la aplicación de producir muerte celular que se analiza en este trabajo.

El control del movimiento de las micro-partículas en nuestro equipo se puede realizar usando un imán permanente con un campo magnético constante, y la dirección del movimiento de las micro-partículas es controlada por la corriente que fluye a través de la bobina de Maxwell. Este control de corriente se puede realizar utilizando un puente H o cualquier otra fuente de corriente.

La velocidad de las micro-partículas depende del tamaño de los filamentos. Una mayor velocidad se produce en filamentos de mayor tamaño; estos filamentos se forman en el ingreso al imán permanente. Los filamentos pueden ser redimensionados: se alargan cuando se mueven hacia arriba y se acortan cuando se mueven hacia abajo y chocan con el fondo del tubo de ensayo. Este cambio de tamaño se produce cuando los filamentos son grandes pero el cambio de tamaño es pequeño para filamentos pequeños.

Las micro-partículas son internalizadas en las células 3T3 y se acumulan en el interior de los lisosomas de una manera dependiente del tiempo y de la concentración, donde las concentraciones utilizadas (0.166 a 1.664 mg/ml) no son tóxicas para las células. Las micro-partículas internalizadas por las células 3T3 son capaces de producir la muerte celular cuando se someten a un campo magnético constante y un gradiente magnético uniforme por acción mecánica, ya que no se produce un aumento de temperatura.

Hemos determinado que las mayores tasas de muerte celular se logran mediante el uso de las micro-partículas de mayor diámetro, probablemente debido a la mayor fuerza magnética inducida. Nuestros resultados también demuestran que la forma de onda del campo magnético aplicado es crítica para inducir la muerte celular, como una corriente cuadrada, es más eficiente en la eliminación de células que la corriente sinusoidal. Además hemos observado que existe una relación entre la concentración de micro-partículas magnéticas y muerte celular, dado que, las mayores aglomeraciones de micro-partículas inducen más fuerza magnética que aglomeraciones pequeñas de micro-partículas. Se obtuvo mayores tasas de muerte celular a mayores tiempos de incubación, dado que las micro-partículas migran hacia los lisosomas, y el movimiento de las micro-partículas producen ruptura en la membrana lisosomal, por lo que un aumento en la incubación de micro-partículas implica que las células cargaran un mayor número de micro-partículas en sus lisosomas.

En resumen, la muerte celular producida por la aplicación de campos magnéticos de baja frecuencia en presencia de micro-partículas es causada por interacciones mecánicas ya que el ligero aumento de temperatura observado es insuficiente para producir daño celular. El dispositivo desarrollado para la aplicación presentada aquí podría ser de interés futuro en la eliminación de células tumorales teniendo en cuenta que la rigidez de la membrana de las células de cáncer metastásico es un 70% menor que en una célula sana. Las micro-partículas también pueden ser funcionalizadas con moléculas para reconocer específicamente las células cancerosas por lo que podrían ser capaces de dirigirse a las células cancerosas permitiendo su eliminación selectiva mediante la aplicación de campos magnéticos de una frecuencia apropiada.

Capítulo VIII.

VIII. Trabajo futuro

Como se puede apreciar en este trabajo, es posible producir muerte celular utilizando el movimiento lineal de nano-partículas magnéticas, en este trabajo solo se ha realizado el estudio para nano-partículas magnéticas esféricas, por lo que se recomienda lo siguiente:

VIII.1 Hipótesis

La forma de las nano-partículas puede producir cambios en los porcentajes de muerte celular cuando las nano-partículas tienen un movimiento lineal.

VIII.2 Objetivos

VIII.2.1 Objetivo general

Desarrollar diferentes formas de nano-partículas magnéticas de tamaños adecuados que sean capaces de obtener un movimiento lineal con el equipo construido y producir muerte celular.

VIII.2.2 Objetivos específicos

Desarrollar diferentes formas de nano-partículas magnéticas así como tamaños, que sean capaces de producir un movimiento lineal con el equipo desarrollado.

Observar la internalización de las nano-partículas en los lisosomas de las células y cuantificar la internalización.

Cuantificar la muerte celular de las nano-partículas magnéticas de las diferentes formas y tamaños.

Funcionalización de las diferentes nano-partículas magnéticas para alcanzar células objetivo en el menor tiempo.

Bibliografía

- Acevedo Sánchez, J., 2003. *Control Avanzado de Procesos*,
- Alonso, P., 2006. Técnicas de filtrado. Available at: <http://www.um.es/geograf/sigmur/teledet/tema06.pdf> [Accessed October 11, 2017].
- Amaya-Jaramillo, C.D. et al., 2017. Induction of cell death by magnetic particles in response to a gradient magnetic field inside a uniform magnetic field. *Journal of Nanoparticle Research*, 19(10), p.329. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11051-017-4018-0>.
- Andrade Cedeño, R.J. & Macas Valdez, W.R., 2010. *Diseño y Construcción de un Módulo Didáctico para Medir y Controlar Caudal y Nivel*. Escuela Politécnica Nacional.
- Arbab, A.S. et al., 2005. A model of lysosomal metabolism of dextran coated superparamagnetic iron oxide (SPIO) nanoparticles: Implications for cellular magnetic resonance imaging. *NMR in Biomedicine*, 18(6), pp.383–389.
- Arndt-Jovin, D.J. & Jovin, T.M., 1989. Fluorescence Labeling and Microscopy of DNA. *Methods in Cell Biology*, 30, pp.417–448.
- Boylestad, R.L.R.L., 1998. *Análisis introductorio de circuitos*,
- Camarena Ibarrola, J.A., 2009. Notas de Reconocimiento de Patrones. Available at: <http://dep.fie.umich.mx/~camarena/NotasReconPat.pdf> [Accessed October 10, 2017].
- Campo, J.P., 2009. *Diseño de un Nuevo Clasificador Supervisado para Minería de Datos*. Universidad Complutense. Available at: http://eprints.ucm.es/10143/1/Trabajo_Fin_Master_Juan_Piorno_Campo_2008-09.pdf [Accessed October 10, 2017].
- Canton, I. & Battaglia, G., 2012. Endocytosis at the nanoscale. *Chemical Society Reviews*, 41(7), p.2718. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c2cs15260f>.
- de Châtel, P.F. et al., 2009. Magnetic particle hyperthermia: Néel relaxation in magnetic nanoparticles under circularly polarized field. *Journal of physics. Condensed matter: an Institute of Physics journal*, 21, p.124202.
- Cheng, Y. et al., 2016. Rotating magnetic field induced oscillation of magnetic particles for in vivo mechanical destruction of malignant glioma. *Journal of Controlled Release*, 223, pp.75–84. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.12.028>.
- Connord, V. et al., 2015. Real-time analysis of magnetic hyperthermia experiments on living cells under a confocal microscope. *Small*, 11(20), pp.2437–2445.
- Coral, D.F. & Mera, J.A., 2017. A Guide to Study Iron Oxide Magnetic Nanoparticles with Biomedical Applications. Part I. *Ingeniería y Ciencia | ing.cienc.*, 13(25), pp.229–249. Available at: <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/ingciencia/article/view/4572>.
- Creixell, M. et al., 2011. EGFR-Targeted Magnetic Nanoparticle Heaters Kill Cancer Cells Without A Sensible Temperature Rise. *ACS Nano*, 5(9), pp.3–8.

- Cross, S.E. et al., 2007. Nanomechanical analysis of cells from cancer patients. *Nature Nanotechnology*, 2(12), pp.780–783. Available at: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=32097033&site=ehost-live>.
- Departamento de Física Aplicada III & Universidad de Sevilla, 2009a. Dipolo magnético. Available at: http://laplace.us.es/wiki/index.php/Dipolo_magnético [Accessed October 10, 2017].
- Departamento de Física Aplicada III & Universidad de Sevilla, 2010. Fundamentos matemáticos. Available at: http://laplace.us.es/wiki/index.php/Fundamentos_matemáticos [Accessed October 10, 2017].
- Departamento de Física Aplicada III & Universidad de Sevilla, 2009b. Generalización del teorema de Stokes. Available at: http://laplace.us.es/wiki/index.php/Generalización_del_teorema_de_Stokes [Accessed October 10, 2017].
- Dobson, J., 2006. Magnetic nanoparticles for drug delivery. *Drug Development Research*, 67(1), pp.55–60.
- Domenech, M. et al., 2013. Lysosomal Membrane Permeabilization by Targeted Magnetic Nanoparticles in Alternating Magnetic Fields. *ACS Nano*, 7(6), pp.5091–5101. Available at: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn4007048>.
- EcuRed, 2017. Onda senoidal. Available at: https://www.ecured.cu/Onda_senoidal [Accessed October 24, 2017].
- Errico, L., 2017. Campo magnético. Leyes de Biot-Savart y Ampere. Leyes de Biot Savart y Ampere. Available at: http://www.fisica.unlp.edu.ar/materias/fisiivera-2016/fisica-ii-cibex-curso-de-verano-2017-teorias-turno-manana/clase_4_campo_magnetico_2.pdf [Accessed October 9, 2017].
- Fernández-Cabada, T. et al., 2016. Optical Hyperthermia Using Anti-Epidermal Growth Factor Receptor-Conjugated Gold Nanorods to Induce Cell Death in Glioblastoma Cell Lines. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16(7), pp.7689–7695. Available at: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=1533-4880&volume=16&issue=7&spage=7689>.
- Gallo, J., Long, N.J. & Aboagye, E.O., 2013. Magnetic nanoparticles as contrast agents in the diagnosis and treatment of cancer. *Chemical Society reviews*, 42(19), pp.7816–33. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23788179>.
- García, Y.E. & Lobo, I., 2009. Controlador PID integrado por la estructura de control de modelo interno (IMC) y lógica difusa. *Ciencia e Ingeniería*, 30(1), pp.29–40.
- García García, P.P., 2013. *Reconocimiento de Imágenes Utilizando Redes Neuronales Artificiales*. Universidad Complutense de Madrid. Available at: <http://eprints.ucm.es/23444/1/ProyectoFinMasterPedroPablo.pdf> [Accessed October 10, 2017].
- García Lopez, R., 2014. Identificación de Sistemas. Available at: <http://www.depeca.uah.es/depeca/repositorio/asignaturas/32328/Tema5.pdf> [Accessed October 9, 2017].

- Golovin, Y.I. et al., 2015. Towards nanomedicines of the future: Remote magneto-mechanical actuation of nanomedicines by alternating magnetic fields. *Journal of Controlled Release*, 219, pp.43–60.
- Guimarães, A.P., 2009. *Principles of Nanomagnetism*, Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-01482-6>.
- Gupta, A.K. & Gupta, M., 2005. Cytotoxicity suppression and cellular uptake enhancement of surface modified magnetic nanoparticles. *Biomaterials*, 26(13), pp.1565–1573.
- Hernando Grande, A., 2007. Nanotecnología Y Nanopartículas Magnéticas : La. *Revista de la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (Esp)*, 101(2), pp.321–327.
- Hildebrandt, B. et al., 2002. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 43(1), pp.33–56.
- Huth, S. et al., 2004. Insights into the mechanism of magnetofection using PEI-based magnetofectins for gene transfer. *Journal of Gene Medicine*, 6(8), pp.923–936.
- Jiles, D., 1991. *Introduction to Magnetism and Magnetic Materials*, Boston, MA: Springer US. Available at: <http://gen.lib.rus.ec/book/index.php?md5=11E7CC1E249AC3CFDC0DB16BA782EE44>.
- Johnson, S. et al., 2013. Assessment of Cell Viability. *Current Protocols in Cytometry*, p.9.2.1-9.2.26. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/0471142956.cy0902s64>.
- Jordan, A. et al., 1999. Magnetic fluid hyperthermia (MFH): Cancer treatment with AC magnetic field induced excitation of biocompatible superparamagnetic nanoparticles. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 201(1–3), pp.413–419.
- Kim, D.-H. et al., 2010. Biofunctionalized magnetic-vortex microdiscs for targeted cancer-cell destruction. *Nature materials*, 9(2), pp.165–71. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nmat2591>.
- Kittel, C. & Knight, W.D., 1982. *Mecánica*, Reverté.
- Kumar, C.S.S.R. & Mohammad, F., 2011. Magnetic nanomaterials for hyperthermia-based therapy and controlled drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63(9), pp.789–808. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2011.03.008>.
- Li, W. et al., 2008. The translocation of fullerene nanoparticles into lysosome via the pathway of clathrin-mediated endocytosis. *Nanotechnology*, 19(April), p.145102.
- Liu, H. et al., 2015. Quantitative Evaluation of the Total Magnetic Moments of Colloidal Magnetic Nanoparticles: A Kinetics-based Method. *ChemPhysChem*, 16(8), pp.1598–1602. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/cphc.201500093>.
- López, F.J. & Cárdenas, P.F., 2013. DISEÑO E IMPLEMENTACIÓN DE FILTROS ANTIALIASING PARA LA ADQUISICIÓN DE ARMÓNICOS DE CORRIENTE Y TENSIÓN EN UN FAP. *REVISTA COLOMBIANA DE TECNOLOGÍAS DE AVANZADA (RCTA)*, 2(18).
- Luo, F.. & Ye, H., 2010. *Power Electronics Advanced Conversion Technologies*,
- luz-wiki contributors, 2011a. Diamagnetismo. Available at: <http://luz.izt.uam.mx/wiki/index.php/Diamagnetismo> [Accessed October 10, 2017].

- luz-wiki contributors, 2011b. Paramagnetismo. Available at: <https://luz.izt.uam.mx/wiki/index.php/Paramagnetismo> [Accessed October 10, 2017].
- mailxmail, 1995. El magnetismo - Historia de la física. Available at: <http://www.mailxmail.com/curso-historia-fisica/magnetismo> [Accessed October 9, 2017].
- Martín Murdocca, R., 2009. Sensores de efecto Hall. Available at: <http://www0.unsl.edu.ar/~interfases/labs/lab09.pdf> [Accessed October 22, 2017].
- MATLAB & Simulink - MathWorks España, 2017a. Classification. Available at: <https://es.mathworks.com/help/stats/classification.html?requestedDomain=es.mathworks.com> [Accessed October 10, 2017].
- MATLAB & Simulink - MathWorks España, 2017b. Naive Bayes. Available at: <https://es.mathworks.com/help/stats/classification-naive-bayes.html> [Accessed October 10, 2017].
- Moujahid, A., Inza, I. & Larrañaga, P., Clasificadores K-NN. Available at: <http://www.sc.ehu.es/ccwbayes/docencia/mmcc/docs/t9knn.pdf> [Accessed October 10, 2017].
- Muhammad, R., 2004. *Electrónica de potencia: Circuitos, dispositivos y aplicaciones*,
- Nothnagel, N. et al., 2016. Steering of Magnetic Devices With a Magnetic Particle Imaging System. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 63(11), pp.2286–2293. Available at: <http://ieeexplore.ieee.org/document/7396945/>.
- Van Oene, M.M. et al., 2015. Biological magnetometry: Torque on superparamagnetic beads in magnetic fields. *Physical Review Letters*.
- Pouliquen, D. et al., 1991. Iron oxide nanoparticles for use as an MRI contrast agent: Pharmacokinetics and metabolism. *Magnetic Resonance Imaging*, 9(3), pp.275–283.
- Rao, W., Deng, Z.-S. & Liu, J., 2010. A Review of Hyperthermia Combined With Radiotherapy/Chemotherapy on Malignant Tumors. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 38(1), pp.101–116.
- Rodríguez Ramírez, D. & Álamo Cantero, T., 2013. Ingeniería de Control. Available at: <http://www.control-class.com/> [Accessed October 9, 2017].
- Rodríguez Ramírez, D. & Bordóns Alba, C., 2005. Apuntes de Ingeniería de Control. , (September), p.154. Available at: <http://www.esi2.us.es/~danirr/apuntesIC4.pdf> [Accessed October 9, 2017].
- Rosensweig, R.E.E., 2002. Heating magnetic fluid with alternating magnetic field. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 252, pp.370–374. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304885302007060%5Cnhttp://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304885302007060%5Cnhttp://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304885302007060>.
- Sailapu, S.K. & Chattopadhyay, A., 2014. Induction of electromotive force by an autonomously moving magnetic bot. *Angewandte Chemie - International Edition*, 53(6), pp.1521–1524.
- Salinas, Jose M, U. de G., Teorema de Bayes. Available at: <http://www.ugr.es/~jsalinas/bayes.htm> [Accessed October 10, 2017].

- Sánchez, J. et al., 2008. *Nano - Nanotecnología En España*, Comunidad de Madrid. Available at: <http://gen.lib.rus.ec/book/index.php?md5=3937EC3CD5291FF7571263A4CEFCA369>.
- Sanchez, S., Solovev, A. a, et al., 2011. Controlled manipulation of multiple cells using catalytic microbots. *Chemical communications (Cambridge, England)*, 47, pp.698–700.
- Sanchez, S., Solovev, A.A., et al., 2011. Microbots swimming in the flowing streams of microfluidic channels. *Journal of the American Chemical Society*, 133(4), pp.701–703.
- Serantes, D. et al., 2014. Multiplying Magnetic Hyperthermia Response by Nanoparticle Assembling. *The Journal of Physical Chemistry C*, 118(11), pp.5927–5934.
- Shen, H. et al., 2014. Structural responses of cells to intracellular magnetic force induced by superparamagnetic iron oxide nanoparticles. *Physical chemistry chemical physics : PCCP*, 16(5), pp.1914–20. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4326048&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Singh, A.K. et al., 2014. Multimodal chemo–magnetic control of self-propelling microbots. *Nanoscale*, 6(3), pp.1398–1405. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C3NR05294J>.
- Soliman, S. & Srinath, M.D., 1999. *Señales y sistemas: continuos y discretos*, Pearson Educación. Available at: <https://es.slideshare.net/leopoldo156/seales-y-sistemas-continuos-y-discretos-2da-edicin-samir-s-soliman-mandyam-d-srinath>.
- Solovev, A.A. et al., 2010. Magnetic control of tubular catalytic microbots for the transport, assembly, and delivery of micro-objects. *Advanced Functional Materials*, 20(15), pp.2430–2435.
- Stern, S.T., Adiseshaiah, P.P. & Crist, R.M., 2012. Autophagy and lysosomal dysfunction as emerging mechanisms of nanomaterial toxicity. *Particle and fibre toxicology*, 9(1), p.20. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3441384&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Suárez, E.J.C., 2014. Tutorial sobre máquinas de vectores soporte (sVM). *Tutorial sobre Máquinas de Vectores Soporte (SVM)*.
- Texas Instrument, 2016. MAX232x Dual EIA-232 Drivers/Receivers. Available at: <http://www.ti.com/lit/ds/symlink/max232.pdf> [Accessed October 23, 2017].
- The MathWorks, I., 2017. RS-232 - MATLAB & Simulink - MathWorks España. Available at: <https://es.mathworks.com/help/xpc/rs-232.html?requestedDomain=www.mathworks.com> [Accessed October 23, 2017].
- Trujillo Sevilla, J.M., 2012. *Trabajo fin de máster*. Universidad Politécnica de Madrid.
- Vásquez Sanjuán, J.J., 2007. NOTAS DEL CURSO TEORIA DE CONTROL Contenido. Available at: http://www.utm.mx/~jvasquez/parte1_08.pdf [Accessed October 22, 2017].
- Vidal, C., Malassidis, E. & García-gómez, J.M., 2002. El análisis de componentes principales como método de clasificación y visualización de tumores de partes blandas. *IX Congreso Nacional de Informática Médica*.
- Westermann, A. et al., 2012. Long-term survival data of triple modality treatment of stage IIB–

- III–IVA cervical cancer with the combination of radiotherapy, chemotherapy and hyperthermia – an update. *International Journal of Hyperthermia*, 28(6), pp.549–553. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/02656736.2012.673047>.
- Yanes, R.E. et al., 2013. Involvement of Lysosomal Exocytosis in the Excretion of Mesoporous Silica Nanoparticles and Enhancement of the Drug Delivery Effect by Exocytosis Inhibition. *Small*, 9(5), pp.697–704. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/sml.201201811>.
- Yang, K. & Ma, Y.-Q., 2010. Computer simulation of the translocation of nanoparticles with different shapes across a lipid bilayer. *Nature nanotechnology*, 5(8), pp.579–583.
- Yue, T., Zhang, X. & Huang, F., 2015. Molecular modeling of membrane responses to the adsorption of rotating nanoparticles: promoted cell uptake and mechanical membrane rupture. *Soft Matter*, 11(3), pp.456–465. Available at: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4SM01760A>.
- Zahn, M., 2001. Magnetic Fluid and Nanoparticle Applications to Nanotechnology. *Journal of Nanoparticle Research*, 3(1), pp.73–78. Available at: <http://link.springer.com/10.1023/A:1011497813424>.
- Zanini, A. et al., 2014. Realimentación Basada en el Modelo. , pp.1–31. Available at: [http://materias.fi.uba.ar/7609/material/Clase 08 IMC/08 IMC.pdf](http://materias.fi.uba.ar/7609/material/Clase%2008%20IMC/08%20IMC.pdf) [Accessed October 9, 2017].
- Zanuy, M.F., 2000. *Tratamiento digital de voz e imagen y aplicación a la multimedia*, Marcombo. Available at: [https://books.google.es/books?id=bJAHd5YC61IC&pg=PA113&lpg=PA113&dq=tratamiento to+digital+imagen&source=bl&ots=Aw29r3cNg-&sig=pM2P4z4ocer5ytfwFwSDq8h0&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiK_Pj3hOnWAhXFKl AKHXqGAAM4ChDoAQhGMAQ#v=onepage&q=tratamiento digital imagen&f=fa](https://books.google.es/books?id=bJAHd5YC61IC&pg=PA113&lpg=PA113&dq=tratamiento+digital+imagen&source=bl&ots=Aw29r3cNg-&sig=pM2P4z4ocer5ytfwFwSDq8h0&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiK_Pj3hOnWAhXFKlAKHXqGAAM4ChDoAQhGMAQ#v=onepage&q=tratamiento%20digital%20imagen&f=false).
- Zhang, E. et al., 2014. Dynamic Magnetic Fields Remote-Control Apoptosis via Nanoparticle Rotation. *ACS Nano*, 8(4), pp.3192–3201. Available at: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nn406302j>.
- Zucker, R.M. et al., 2010. Detection of TiO₂ nanoparticles in cells by flow cytometry. *Cytometry. Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology*, 77(7), pp.677–685.

$$\begin{aligned}\vec{F}_{\text{magnetic}} &= \nabla(\vec{m} \cdot \vec{B}_{\text{ext}}) \\ \vec{F}_{\text{stockes}} &= 6\pi R\eta\vec{v} \\ \vec{E}_{\text{Arquimides}} &= -\rho\vec{g}V \\ \vec{W} &= m\vec{g}\end{aligned}$$

Para facilitar el análisis trabajamos solo en el eje “y” donde los valores positivos son hacia arriba

$$\begin{aligned}\vec{F}_{\text{magnetic}} &= \mu_0\chi VH \frac{dH}{dy} \\ \vec{F}_{\text{stockes}} &= -6\pi R\eta \frac{dy}{dt} \\ \vec{E}_{\text{Arquimides}} &= \rho gV \\ \vec{W} &= -mg\end{aligned}$$

Se establece la ecuación

$$\mu_0\chi VH \frac{dH}{dy} - 6\pi R\eta \frac{dy}{dt} + \rho gV - mg = m \frac{d^2y}{dt^2}$$

Para resolver la ecuación suponemos condiciones iniciales a cero

$$\begin{aligned}y(0) &= 0 \\ \left. \frac{dy}{dt} \right|_{t=0} &= 0 \\ y(t) &= \frac{\left(mg - \mu_0\chi VH \frac{dH}{dy} - \rho gV \right) \left(m \left(1 - e^{-\frac{6\pi R\eta}{m}t} \right) - (6\pi R\eta) \cdot t \right)}{(6\pi R\eta)^2}\end{aligned}$$

Para obtener la velocidad en el eje “y” se deriva la posición en el tiempo

$$v(t) = \frac{mg - \mu_0 \chi V H \frac{dH}{dy} - \rho g V}{6\pi R \eta} \left(e^{-\frac{6\pi R \eta}{m} t} - 1 \right)$$

Para facilitar la comprensión de la dinámica del movimiento de los filamentos, asumimos que dichos filamentos tendrán forma cilíndrica.

Asumimos la siguiente igualdad

$$\begin{aligned}\tau &= \frac{m}{6\pi R\eta} \\ \tau &= \frac{\delta V}{6\pi R\eta} \\ \tau &= \frac{\delta A_{base}H}{6\pi R\eta} \\ \tau &= \frac{2R\delta A_{base}H}{2R6\pi R\eta} \\ \tau &= \frac{A_{Transversal}\delta A_{base}}{12\pi R^2\eta} \\ \tau &= \frac{A_{Transversal}\delta\pi R^2}{12\pi R^2\eta} \\ \tau &= \frac{A_{Transversal}\delta}{12\eta}\end{aligned}$$

A esta expresión τ se le conoce como constante característica de tiempo del sistema, y nos puede ayudar a facilitar la comprensión del movimiento de los filamentos.