

**DESARROLLO DE UN SISTEMA DE OLFATO ELECTRÓNICO PARA LA  
DETECCIÓN DE CÁNCER GÁSTRICO A TRAVÉS DEL ALIENTO EXHALADO.**



JUAN MARTÍN CÁCERES TARAZONA

Director. Ph.D. CRISTHIAN MANUEL DURÁN ACEVEDO

Codirector. Ph.D OSCAR EDUARDO GUALDRON GERRERO

Maestría en Controles Industriales

Facultad de Ingenierías y Arquitectura

Universidad de Pamplona

## **Dedicatoria**

A mi padre Luis Daniel Cáceres y mi madre Ana Josefa Tarazona Silva por brindarme su amor, cariño, comprensión y apoyo incondicional.

## **Agradecimientos**

Agradezco a mis directores Cristhian Manuel Durán Acevedo y Oscar Eduardo Gualdron Guerrero, por darme la oportunidad de trabajar en su grupo de investigación, por todo el conocimiento compartido y por haber hecho posible la culminación de esta investigación.

Agradezco el apoyo económico que ha hecho posible la realización de esta investigación, la cual fue financiada por COLCIENCIAS (Departamento de Ciencia, Tecnología e Innovación) de Colombia (Número de Proyecto: 112165741516), y parcialmente financiada por la Comisión Europea (Proyecto H2020-MSCA-RISE-2014 TROPSENSE, Subvención 645758).

## Resumen

Este estudio consiste en un método alternativo no invasivo para detectar el cáncer gástrico a partir del concepto de un sistema de olfato electrónico, el cual comprende de una matriz de sensores de gases basados en nanopartículas de oro y técnicas de reconocimiento de patrones que permiten identificar a través del aliento exhalado de las personas, un patrón de COVs relacionados con este tipo de cáncer. La evolución de nuevas tecnologías ha propiciado el desarrollo de dispositivos avanzados, por lo que el estudio de análisis del aire se ha convertido en un importante método de diagnóstico. En estudios recientes se ha demostrado que los biomarcadores derivados de la respiración pueden proporcionar más seguridad, mayor sensibilidad y especificidad que los métodos tradicionales (ej: GC-MS), arriesgándonos a decir que se podría catalogar como un método novedoso de diagnóstico no invasivo con entrega de resultados inmediatos, siendo una alternativa de gran interés para la detección de enfermedades. En este estudio se utilizó una cámara de medida compuesta de una matriz de sensores de gases basados en nanopartículas de oro y ligandos orgánicos, fabricados específicamente para el análisis de aliento con la capacidad de detectar compuestos orgánicos volátiles en bajas concentraciones. También se exploraron nuevos métodos de recolección de muestras de aliento exhalado, se empleó un dispositivo llamado Bio-VOC como muestreador y un conjunto de tubos Tenax como pre-concentradores de volátiles. Con el objetivo de extraer los compuestos orgánicos atrapados en los tubos se fabricó un sistema de desorción térmica. Para las pruebas experimentales se adquirieron un conjunto de muestras de aliento de pacientes afectados por el cáncer gástrico y pacientes de control, estos participaron en el estudio de manera voluntaria.

## Tabla de contenido

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN .....	14
1.1. Problema.....	14
1.2. Justificación.....	15
1.3. OBJETIVO GENERAL.....	16
1.4. OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	16
CAPITULO 2. ESTADO DEL ARTE .....	17
2.1. Evolución del estudio del aire exhalado .....	17
2.2. Evolución de los sistemas de olfato electrónico.....	18
CAPITULO 3. DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES MEDIANTE EL ANÁLISIS DE ALIENTO EXHALADO.....	23
3.1. Definición de aire exhalado.....	23
3.2. Compuestos Orgánicos volátiles (VOCs).....	24
3.3. Análisis de aire exhalado.....	24
3.4. Muestreo .....	25
3.4.1. Bolsas de Tedlar .....	25
3.4.2. Procedimiento con Bolsas Mylar.....	26
3.4.3. Procedimiento con Bio-VOC.....	29
3.5. Tubos pre-concentradores.....	31
CAPITULO 4. SISTEMAS DE OLFATO ELECTRÓNICO .....	32
4.1. ¿Qué es un sistema de olfato electrónico?.....	32
4.2. Comparación entre la nariz electrónica y el sistema del olfato humano .....	32
4.2. Ventajas y desventajas de los sistemas de olfato electrónico .....	33
4.3. Módulos básicos y secuencia de trabajo de una nariz electrónica.....	34
4.3.1. Sistema de muestreo .....	35
4.3.2. Sistema de medición.....	38

4.3.3. Acondicionamiento de la señal .....	44
4.3.4. Pre-procesado de datos .....	44
4.3.5. Procesamiento de datos y análisis de patrones .....	46
<b>CAPITULO 5. DESARROLLO DEL EQUIPO SENSORIAL.....</b>	<b>59</b>
5.1. Descripción general. ....	59
5.2. Recolección de la muestra de aliento.....	60
5.3. Cámara de medida .....	62
5.3.1. Sensores de nanoparticulas de oro. ....	64
5.3.2. Sistema de limpieza de la cámara.....	69
5.4. Acondicionamiento de las señales. ....	70
5.4.1. Descripción de la fuente de precisión.....	71
5.4.2. Tarjeta de adquisición de datos.....	72
5.4.3. conexión de los equipos.....	73
5.4.4. Interfaz gráfica para la adquisición y monitoreo de las señales del sistema .....	74
5.4.5. Adquisición de datos.....	77
5.5. Pre-procesado de datos .....	77
5.6. procesamiento de datos y reconocimiento de patrones .....	79
5.6.1. Análisis no supervisado (PCA).....	79
5.6.2. Análisis supervisado .....	80
5.7. Sistema de desorción térmica.....	80
5.7.1. Descripción del funcionamiento .....	81
5.7.2. Diseño del sistema. ....	82
5.7.3. Mecanizado de las piezas.....	83
5.7.4. Componentes electrónicos. ....	83
5.7.5. Ensamble.....	84
5.7.6. Software .....	86

CAPITULO 6. ANÁLISIS Y RESULTADOS .....	89
6.1.pruebas preliminares del sistema con muestras de aliento de fumadores y no fumadores.	89
6.1.1. Área de trabajo.....	89
6.1.2. Referente al personal que realizó la prueba y los pacientes. ....	90
6.1.3. Adquisición de muestras de aliento. ....	90
6.1.4. Adquisición de datos.....	92
6.1.5. Resultados y análisis.....	93
6.2. Toma de muestras en pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico (CA) y pacientes de control (C- pacientes con gastritis).....	98
6.2.1. Aspectos generales.....	98
6.2.2. Adquisición de datos de las medidas en línea.....	102
6.2.3. Resultados y análisis. ....	103
6.3. Análisis de las muestras pre-concentradas en los tubos tenax utilizando el sistema de desorción térmica.....	112
6.3.1. procedimiento .....	113
6.3.2. Resultados y análisis.....	114
CONCLUSIONES .....	119
Referencias bibliográficas .....	121
Producción científica .....	127

**Lista de tablas**

Tabla 1. Materiales para el uso de este sistema de muestreo compuesto por bolsas Mylar.....	28
Tabla 2. Clasificación de Sensores Químicos de Olor.....	40
Tabla 3. Técnicas de reconocimiento de patrones aplicadas a los sistemas de olfato electrónico.	47
Tabla 4. Sensores AuNP. ....	69
Tabla 5. Tiempos de limpieza, adquisición y recuperación de las muestras.....	93
Tabla 6. Sensores sensibles al aliento de fumadores y no fumadores.....	95
Tabla 7. Protocolo para la adquisición de las muestras. ....	100
Tabla 8. Tiempos empleados durante la adquisición de los datos para las medidas.....	103
Tabla 9. Sensores sensibles al aliento de pacientes con cáncer gástrico y controles.....	103
Tabla 10. Resultados técnica supervisada.....	111
Tabla 11. Parámetros empleados en el proceso de desorción térmica .....	114
Tabla 12. Sensores sensibles a los COV,s desorbidos.....	116
Tabla 13. Resultados técnica supervisada.....	118

## Lista de figuras

Figura 1. Bolsa Tedlar de 1 L de capacidad.....	25
Figura 2. Proceso de limpieza de pulmones.....	27
Figura 3. Proceso de recolección de la muestra.....	27
Figura 4. Bio-VOC. A) Cuerpo del Bio-VOC, B) Boquilla desechable C) Embolo para la transferencia del aire (ejemplo: Tubo adsorbente), D) Tubo Adsorbente (almacenamiento de la muestra).....	29
Figura 5. Boquilla. ....	30
Figura 6. Recolección de la muestra.....	30
Figura 7. Conexión del émbolo.....	30
Figura 8. Tubo de desorción (Orbo Tenax TA Poroso).....	31
Figura 9. Analogía del SOE Vs el Sistema Olfativo humano.....	33
Figura 10. Secuencia de trabajo de una nariz electrónica.....	34
Figura 11. Evolución de los estados electrónicos, desde el átomo aislado hasta el bulk.....	42
Figura 12. Propiedades físicas de las AuNPs y el fundamento del sistema de detección.....	43
Figura 13. Perceptrón multicapa. ....	51
Figura 14. Red neuronal probabilística. ....	51
Figura 15. Red basada en funciones de base radial.....	53
Figura 16. Calculo de vectores soporte y maximización del margen.....	55
Figura 17. Transformación del espacio de entrada a un espacio de características por medio de un kernel.....	56
Figura 18. Maximización del margen con soft margin.....	57

Figura 19. Esquema general del sistema de olfato electrónico. ....	59
Figura 20. Medidas en línea.....	61
Figura 21. Medidas empleando tubos pre-concentradores y sistema de desorción. ....	62
Figura 22. Diseño de la Cámara de medida. a) Vista Superior b) Corte lateral.....	62
Figura 23. Diseño del circuito PCB. ....	63
Figura 24. Vista interior de la cámara de sensores. ....	63
Figura 25. Cámara de medida. ....	63
Figura 26. Equipo avanzado de deposición de gas adoptado para la fabricación de nanopartículas metálicas. ....	65
Figura 27. Proceso de recubrimiento por inmersión .....	66
Figura 28. Imágenes de SEM de la NP Au depositado por AGD utilizando diferentes ciclos de deposición: a) uno; b ) dos; c ) ocho. ....	67
Figura 29. formación de las cadenas de los nanomateriales. ....	67
Figura 30. Sensor de gas de AuNPs. ....	68
Figura 31. Sistema de limpieza de la cámara de medida. ....	70
Figura 32. Fuente de precisión B2902A KEYSIGHT. ....	71
Figura 33. Equipo de medida 34972A LXI/Data Acquisition, KEYSIGHT. ....	72
Figura 34. Módulo plug-in 34970A .....	72
Figura 35. Conexión de los equipos.....	73
Figura 36. Interfaz gráfica para la adquisición y monitoreo de las señales del sistema. ....	74
Figura 37. Panel de selección de canales. ....	74

Figura 38. Tipo de control: a) Control por voltaje, b) Control por corriente.....	75
Figura 39. Salidas: a) Output2, b) Output1 .....	75
Figura 40. Dirección para guardar los datos. ....	75
Figura 41. Ficheros txt correspondientes a cada canal.....	76
Figura 42. Información contenida en los ficheros txt. ....	76
Figura 43. Panel de visualización de las señales adquiridas.....	76
Figura 44. Esquema de adquisición de datos. ....	77
Figura 45. Reducción de variables basada en el comportamiento de la señal. ....	78
Figura 46. Interfaz gráfica para el análisis PCA. ....	79
Figura 47. Esquema del sistema de desorción térmica .....	81
Figura 48. Diseño del sistema de desorción térmica.....	82
Figura 49. Vista de sección transversal de la capsula de calentamiento.....	82
Figura 50. Mecanizado de las piezas del sistema de desorción térmica. ....	83
Figura 51. Circuito de control.....	84
Figura 52. Tarjeta de control y circuitos de acondicionamiento.....	84
Figura 53. Ubicación de los componentes electrónicos.....	84
Figura 54. Sistema de desorción térmica desarrollado. ....	85
Figura 55. Sistema de desorción térmica acoplado al cilindro de nitrógeno. ....	86
Figura 56. Interfaz gráfica para el control del sistema de desorción térmica. ....	86
Figura 57. Respuesta del sistema a una temperatura de 250°C.....	87

Figura 58. Esquema general para inicio de las medidas. ....	89
Figura 59. Bio-VOC para la recolección de la muestra. ....	90
Figura 60. Adquisición de muestra de aliento.....	91
Figura 61. Ajuste del embolo de rosca.....	91
Figura 62. Traspaso del aliento a la cámara de medida. ....	91
Figura 63. Pacientes. ....	92
Figura 64. Respuesta eléctrica del sensor 3: a) Aliento no fumador, b) Aliento fumador.....	93
Figura 65. Respuesta eléctrica del sensor 3. ....	94
Figura 66. Respuestas eléctricas de los sensores que presentaron buen desempeño: a) Sensor 3, b) Sensor 4, c) Sensor 8, d) Sensor 9. ....	95
Figura 67. Análisis PCA con auto-escalado de datos. ....	96
Figura 68. Resultados con el análisis de componentes principales PCA (Auto-escalado).....	96
Figura 69. Análisis PCA con centrado de datos.....	97
Figura 70. Resultados con el análisis de componentes principales PCA (centrado de datos). ....	97
Figura 71. Hospital Universitario de La Samaritana-Bogotá (GASTROSUR SAS).....	98
Figura 72. Lugar de toma de muestras. ....	99
Figura 73. Respuesta eléctrica del sensor 4 .....	104
Figura 74. Respuesta eléctrica del sensor 8 .....	104
Figura 75. Respuesta eléctrica del sensor 9 .....	104
Figura 76. Análisis PCA con auto-escalado de datos. ....	105
Figura 77. Resultados con el análisis de componentes principales PCA (Auto-escalado).....	106

Figura 78. Análisis PCA con centrado de datos.....	106
Figura 79. Resultados con el análisis de componentes principales PCA (centrado de datos) ...	107
Figura 80. Análisis PCA, Muestras zona de solapamiento. ....	107
Figura 81. Distribución por partes .....	109
Figura 82. Técnica leave one out (dejar uno por fuera). ....	110
Figura 83. Muestras pre-concentradas en los tubos Tenax .....	112
Figura 84. Equipos y materiales utilizados en la desorción y análisis de las muestras.....	112
Figura 85. Inserción del tubo en la capsula de calentamiento.....	113
Figura 86. Conduccion de los COV,s a la cámara de medida. ....	113
Figura 87. Manera correcta de retirar el tubo Tenax con pinza. ....	114
Figura 88. Respuesta eléctrica del sensor 5. ....	115
Figura 89. Respuesta eléctrica del sensor 9. ....	115
Figura 90. Resultados con el análisis de componentes principales PCA (auto-escalado) sensor 9.....	116
Figura 91. Resultados con el análisis de componentes principales PCA (auto-escalado) sensor 5.....	117

# CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Problema

El cáncer gástrico actualmente representa un problema de salud pública debido al aumento de su incidencia. Colombia se encuentra entre los países con las tasas más altas, junto a Japón, Costa Rica, Singapur, Corea y Chile. (Parkin et al., 2012) En nuestro país representa la primera causa de muerte por tumores malignos en ambos sexos.

La tasa de mortalidad ha estado disminuyendo en la mayoría de los países del mundo; sin embargo, la mortalidad global por cáncer gástrico en Colombia muestra un ligero pero sostenido incremento. En el departamento de Nariño, el municipio de La Cruz presenta una de las mayores incidencias del mundo (Martínez et al., 2013).

El cáncer gástrico generalmente se diagnostica en los estadios avanzados, porque la tamización no se realiza en la mayor parte del mundo, con excepción de Japón y Corea donde se le da gran importancia y se logra hacer el diagnóstico de casos tempranos. El pronóstico de esta neoplasia está en directa relación con el estadio en que se encuentre en el momento de la confirmación diagnóstica. Cuando el diagnóstico se hace en los estadios tempranos, se alcanza la curación en la mayoría de los casos, con supervivencias muy altas; en los casos avanzados, la supervivencia promedio es de 6 meses. (Mostacero & Fernández.,2012). En Colombia, en más de la mitad de los pacientes el diagnóstico se hace en los estadios avanzados de la enfermedad. Para hacerlo en las etapas tempranas de esta enfermedad, deberían implementarse intervenciones de prevención primaria, pero los costos son muy elevados; se ha planteado hacerlas en las zonas de alto riesgo para que sean más costo-eficientes (Martínez et al., 2013).

Hoy en día los métodos clínicos actuales como las pruebas de endoscopia y biopsia tienen las desventajas de que son dolorosos, invasivos, incómodos, de costos elevados y se requiere de equipos especializados con los cuales no cuentan la mayoría de los centros de salud, siendo estas una de las causas por las cuales la mayoría de las personas que presentan los síntomas de esta enfermedad no recurren de manera inmediata a los centros de salud por el temor de someterse a este tipo de procedimientos, solo lo hacen cuando su estado de salud es crítico y muy posiblemente ya el cáncer se encuentre en estadios avanzados, imposibilitando un tratamiento adecuado. Debido a esto se requiere de una mejor metodología y que sirva de apoyo a los centros de salud, hospitales y clínicas para el diagnóstico del cáncer gástrico.

## 1.2. Justificación

En la actualidad el análisis del aire exhalado ha cobrado auge en el sector de la salud, la evolución en las nuevas tecnologías ha propiciado el desarrollo de nuevos dispositivos, y con ellos el análisis del aire exhalado se ha convertido en un importante método de diagnóstico no invasivo que puede ser utilizado en la evaluación de diferentes tipos de enfermedades.

En esta nueva era de desarrollo tecnológico se están desarrollando dispositivos que permiten cuantificar y detectar compuestos orgánicos volátiles (COV) presentes en la fase gaseosa de la respiración humana, recientes avances de ingeniería electrónica en la detección, procesamiento y algoritmos diagnósticos para señales químicas han permitido crear “sistemas de olfato electrónico”, siendo estos una alternativa de gran interés en el sector de la medicina.

Por medio de esta investigación se pretende explorar nuevas técnicas de detección del cáncer gástrico, mediante nuevos métodos por medio de muestras de aliento empleando un sistema de olfato electrónico, ya que en estudios recientes se ha demostrado que los compuestos derivados de la respiración pueden proporcionar más seguridad, mayor sensibilidad y especificidad que los estudios tradicionales (Martínez et al., 2013), arriesgándonos a decir que se podría catalogar como un método novedoso de diagnóstico no invasivo con entrega de resultados inmediatos, siendo una alternativa de gran interés para la detección temprana de enfermedades como el cáncer gástrico.

### **1.3. OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar un sistema de olfato electrónico para la detección de cáncer gástrico a través del aliento exhalado.

### **1.4. OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Desarrollar una cámara de medición compuesta por sensores de gases, para la detección del aliento exhalado.
- Acondicionar las señales de los sensores para la adquisición de la información.
- Implementar un dispositivo de muestreo para la captura de los compuestos volátiles.
- Fabricar un sistema de desorción térmica para la extracción y análisis de las muestras.
- Diseñar una interfaz gráfica para la adquisición y monitoreo de las señales del sistema multisensorial.
- Realizar el análisis de datos a través de métodos de reconocimiento de patrones y clasificadores.
- Validar los resultados con el historial clínico de los pacientes.

## CAPITULO 2. ESTADO DEL ARTE

### 2.1. Evolución del estudio del aire exhalado

La detección de compuestos orgánicos volátiles en el aliento tiene una larga historia. Desde tiempos de Hipócrates (460 a.C.- 370 a.C.), los médicos se percataron de que el olor del aliento humano podía proporcionar pistas sobre el diagnóstico. Un olor dulce y frutal de acetona alertaba al médico de una diabetes incontrolada, un olor a pescado rancio resultaba característico de una enfermedad hepática avanzada, el olor a orina podía ser inherente a un fallo renal o el olor a podrido podía ser propio de un absceso pulmonar (Minh, et al., 2012)

El análisis de los componentes químicos en el aire exhalado se abordó hace más de 200 años. Antonie Laurent Lavoisier conocido como padre de la “revolución química”, fue pionero en estos análisis. Fue en 1784 cuando él y Pierre Simon Laplace descubrieron que los animales consumían oxígeno y espiraban dióxido de carbono. Su equipo de investigación creó un dispositivo que acumulaba y concentraba los componentes del aliento.

Con esta trampa se conseguía detectar de una forma sencilla el dióxido de carbono, ya que representa casi el 5% del aire exhalado. Desafortunadamente la mayor parte de compuestos volátiles, al encontrarse en concentración mucho menor, no se pudieron detectar hasta mediados del siglo XIX, cuando se introdujeron los ensayos colorimétricos (Phillips., 1992).

En 1874 el médico inglés Francis E. Anstie empleó los análisis colorimétricos para el estudio del alcohol en el cuerpo humano a través del aliento. Su objetivo era resolver la controversia entre los fisiólogos, quienes creían que el alcohol seguía el mismo ciclo que la comida, y los activistas, que creían que el cuerpo excretaba el alcohol como si fuera una sustancia extraña. La trampa de aire de Anstie contenía una disolución de ácido crómico, que cambiaba de color rojo-amarronado a verde en presencia de alcohol. Con este experimento se demostró que la mayor parte del alcohol se excreta por vía respiratoria y las otras rutas son minoritarias. Por lo tanto, la mayor parte del alcohol debía ser metabolizado (Minh, et al., 2012)

Nebelthau, un médico de la policlínica de Marburg en Alemania, construyó en 1897 un dispositivo para analizar el aliento de pacientes que sufrían diabetes mellitus. Cuando esta enfermedad está descontrolada se produce un incremento de glucosa en la sangre hasta

niveles elevados y como resultado el cuerpo genera unas cantidades elevadas de acetona como metabolito mayoritario (Minh, et al., 2012; Phillips., 1992).

Los análisis de aire exhalado también fueron empleados para identificar daños en el páncreas por el doctor Johns Hopkins (1795-1873) o para la detección de desórdenes estomacales como úlceras pépticas o gastritis crónica. Estos estudios los llevó a cabo Barry J. Marshall, de la Universidad de Virginia, consiguiendo con ellos el descubrimiento de la *Helicobacter pylori*, bacteria responsable de úlceras estomacales y causante del cáncer de estómago y del linfoma gástrico (1982) (Minh, et al., 2012).

Sin embargo, fue Linus Pauling quien, en 1971, empleó una trampa para concentrar VOCs en el aire exhalado y encontró que el aliento de un humano sano estaba compuesto por cientos de compuestos distintos en bajas concentraciones (Phillips, et al., 1999). Este estudio permitió la identificación de más de 250 sustancias en una muestra de aire, demostrándose que las fluctuaciones entre una persona y otra eran significativas. Una persona con una dieta controlada tenía una desviación en los picos alrededor del 10 % tras cuatro días de dieta, mientras que una persona sin controlar daba fluctuaciones considerablemente mayores (Pauling, et al., 1971).

A partir de entonces se ha investigado sobre los componentes endógenos y exógenos del aire exhalado como producto del metabolismo enzimático para la determinación de enfermedades infecciosas o para la predicción del riesgo de cáncer.

El análisis a tiempo real del aire exhalado es un campo de investigación en auge. El objetivo principal es la detección de las concentraciones de metabolitos traza por debajo del nivel de las partes por billón (ppb) en el laboratorio, y en última instancia, trasladar estos análisis directos desde el laboratorio a la práctica clínica. En la actualidad se realizan estudios sobre la recolección de muestras, tratamiento y análisis de compuestos químicos en enfermedades relacionadas con los pulmones, hígado, riñones, diabetes, pecho o con procesos de estrés oxidativo que están implicados en una variedad de enfermedades prioritarias (Di Francesco, et al., 2005; Li, et al., 2013).

## **2.2. Evolución de los sistemas de olfato electrónico**

Los orígenes de la nariz electrónica se remontan a los años 60, cuando la compañía Bacharach Inc., construyó un dispositivo conocido con el nombre de Sniffer, el cual constaba de un solo sensor de gas y por lo tanto, no se consideró una nariz electrónica. En la década de los 80, surgen dos grupos de investigadores, en la Universidad de Warwick en Gran Bretaña y en el Argonne National Laboratory (ANL) en Estados Unidos.

Krishna Persaud y George Dodd, realizaron la primera publicación relacionada con las narices electrónicas en 1982 (Persaud & Dodd., 1982), orientaron sus estudios en entender los procesos del olfato biológico, utilizando un conjunto de sensores semiconductores de óxidos metálicos, y luego ampliaron su investigación a sensores basados en polímeros conductores, mientras que, el otro grupo propuso un aparato para detectar, identificar y medir una amplia variedad de productos químicos y mezclas transportadas por ferrocarriles, barcos y camiones.

Posteriormente en Japón se comenzó a investigar la frescura de los pescados utilizando matrices de sensores MOX (sensores semiconductores de óxido metálico). Por lo tanto, en los tres continentes se inició el desarrollo de la tecnología de matrices de sensores olfativos en los años 80 (Stetter & Penrose., 2001).

Es precisamente en esta época cuando el concepto de nariz electrónica como sistema inteligente aparece realmente. Una de sus primeras y más populares definiciones es la de Gardner y Barlett (Gardner & Barlett., 1999): “Instrumento que comprende una agrupación de sensores químicos con sensibilidades parcialmente solapadas junto a un sistema de reconocimiento de patrones, capaz de analizar y reconocer aromas simples o complejos”.

Todos estos avances han dado lugar a la fabricación comercial de narices electrónicas. La mayoría de las narices electrónicas diseñadas hasta la fecha son para uso comercial, algunas otras son utilizadas por los gobiernos para seguridad, y otras son usadas en equipos hospitalarios.

Las narices electrónicas fueron desarrolladas en un comienzo para reemplazar a los paneles de expertos en la clasificación de aromas, debido a que estos se consideran costosos, difíciles de transportar, y algunas veces subjetivos, debido a que sus valoraciones se pueden ver afectadas por el cansancio, estado anímico, el clima y otros factores externos. Algunas veces estos paneles de expertos se han apoyado en cromatógrafos de gases y espectrómetros de masas, no sólo clasificando olores sino también cuantificándolos, todo esto con un elevado costo en tiempo y en dinero.

En la actualidad las narices electrónicas no son solamente usadas para clasificaciones de aroma, sino también para la detección de olores. De ahí que su importancia y utilización se haya extendido a aplicaciones en la agroindustria, medio ambiente, la seguridad, y la medicina. (Moreno et al., 2009). A continuación, se recogen algunas investigaciones que se han realizado según el campo de aplicación de los sistemas olfativos artificiales.

### **La Agroindustria:**

- Predicción de la acidez, solubilidad del sólido y firmeza de la pera (Zhang et al., 2008a).
- Detección de la adulteración del aceite de oliva con el aceite de avellana (Mildner-Szkudlarz & Jelén., 2008).
- Evaluación de los índices de calidad del melocotón (Zhang et al., 2008b).
- Supervisión del sabor del puerco recalentado (Tikk et al., 2008).
- Discriminación del grado de madurez de la fruta de mango (Lebrun et al., 2008).
- Clasificación de diferentes clases de vinos utilizando una nariz electrónica (Aleixandre et al., 2008).
- Aplicación de una nariz electrónica portátil para determinar la frescura de sardinas de Marruecos (El Barbri et al., 2008).
- Clasificación de jugos cítricos (Reinhard et al., 2008).

### **Contaminación Ambiental:**

- Nariz electrónica capaz de oler los gases de un volcán (Díaz., 2006).
- La nariz electrónica para la detección de contaminación causada por hongos en las bibliotecas (Canhoto et al., 2004).
- Monitorización de la calidad del agua potable (Gardner et al., 2000).
- Estudio de las emisiones de un río altamente contaminado (Lamagna et al., 2008).
- Reconocimientos de sustancias contaminantes en el agua utilizando la nariz Kamina (Goschnick et al., 2005).
- Un nuevo sistema inteligente de la nariz electrónica para medir y analizar los olores en granjas de ganado y aves (Pan et al, 2007; Sohn et al., 2008) entre otros.
- Monitorización de contaminantes en el aire de cabinas espaciales (Ryan et al., 2001), además, hay aplicaciones tan importantes como detectar el dióxido de carbono en la atmósfera o el gas refrigerante que se escapa a la atmósfera, o sus mezclas, detectar combustibles de aviones o automóviles, etc. (Nagle et al., 2002).

### **Seguridad:**

- Inspección de contenedores, monitorización del aire en edificios de gobierno, del metro de Washington, descripción del aire ambiental en aviones comerciales; para detectar olores peligrosos o posibles amenazas de terroristas (Electronic Sensor Technology., 2007).
- Análisis de los olores de explosivos (Staples., 2007).
- Clasificación de humos (Charumporn y Omatu., 2002).
- Detectar agentes químicos peligrosos, explosivos y estados de pre-combustión (Boyle., 2006).

**Medicina:**

Han habido avances muy interesantes en el desarrollo de métodos para la detección de enfermedades a través del análisis de aliento, principalmente para enfermedades respiratorias como son el cáncer del pulmón, asma, EPOC (Ehmann et al., 2012; Duran et al., 2012; D'Amico et al., 2008; Staples y Landon., 2007). Donde se encuentran diferencias estadísticamente significativas al comparar los patrones de los compuestos orgánicos volátiles (COVs) de personas con o sin las enfermedades mencionadas, y más allá, de diferentes grados de la enfermedad (es decir, pacientes graves, pacientes moderados).

(Peng G et al., 2010) presentan también resultados relacionados con otro tipo de enfermedades como son las de cáncer de próstata, cáncer colonrectal, de mama, de cabeza y garganta, esclerosis múltiple, entre otros, usando arreglos simples de nanosensores. Obteniendo resultados interesantes no solo para diferenciar entre pacientes saludables y pacientes con cáncer sino distinguir entre patrones de aliento de diferentes tipos de cáncer con el mismo análisis estadístico. Dichos investigadores han desarrollado un sistema basado en una agrupación de sensores (TMNA-NOSE), que se basan de nanopartículas metálicas y/o nanotubos de carbono funcionalizados con moléculas orgánicas con propiedades hidrofóbicas para contrarrestar el gran contenido de agua en el aliento para detectar y analizar pequeñas concentraciones de partículas orgánicas volátiles que se desprenden de las células y son regularmente emitidas al respirar, con concentraciones por debajo de una millonésima parte, es decir, los nanosensores experimentan cambios al ser expuestos a los COVs del aire respirado que se traducen en patrones. Estos patrones de COVs pueden ser usados como biomarcadores no invasivos de varios procesos bioquímicos que se dan en las enfermedades.

Por otro lado, (Shuster et al., 2011), presentan un método novedoso basado en testeo del aliento alveolar exhalado para identificar cáncer de mama precoz en condiciones benignas, malignas y en estado saludable, tomando como referencia 36 voluntarios usando una nariz electrónica a nano escala analizando dicha información con técnicas de análisis de componentes principales, ANOVA y máquinas de soporte vectorial. (Hakim et al, 2011), igualmente usaron muestras de aliento exhalado para diagnosticar cáncer de garganta empleando muestras de 87 voluntarios basándose en cinco sensores de nanopartículas de oro, tendiendo la particularidad en este estudio, de realizar en paralelo un análisis de la composición química de las muestras a través de cromatografía de gases en conjunto con espectrometría de masas, usando 40 muestras recopiladas, destacándose seis compuestos químicos que hacen la diferencia entre pacientes sanos y con cáncer de garganta.

En los últimos años se ha direccionado estos estudios para explorar el uso del aliento exhalado en la detección temprana de enfermedades gástricas, (Amal et al., 2013) en particular, el cáncer gástrico en diferentes estados, por ello, (Z-q-Xu et al., 2013), presentan

resultados que permiten distinguir entre cáncer gástrico con respecto a condiciones gástricas benignas usando sensores basados en nanomateriales, tomando como referencia muestras de 130 pacientes provenientes de hospitales de china y letonia con diferentes condiciones clínicas (cáncer, úlcera, gastritis, entre otras condiciones menos severas), en este trabajo se emplearon modelos predictores como son el Análisis de Factor Discriminante (AFD), para construir los clasificadores. Igualmente se realizaron análisis químicos usando cromatografía de gases, generándose resultados interesantes a la hora de clasificar pacientes con cáncer con respecto a otras condiciones, diferenciación entre grados de la enfermedad (temprana y tardía) y finalmente ante la presencia del H pylori. El grupo de investigadores también realizaron un estudio sobre los biomarcadores volátiles en el aliento de dos poblaciones con elevada incidencia de problemas gástricos, pero con rasgos genéticos y nutricionales completamente distintos (China y Letonia). Encontrándose que sí hay un biomarcador común para el cáncer gástrico, y algunos compuestos para la úlcera, así como biomarcadores encontrados solo en una de las dos poblaciones.

El anterior trabajo se tomó como referencia para el desarrollo del sistema de olfato electrónico expuesto en esta investigación.

## **CAPITULO 3. DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES MEDIANTE EL ANÁLISIS DE ALIENTO EXHALADO**

Los principales métodos analíticos para el diagnóstico o monitorización de enfermedades, se basan en un análisis de sangre o de orina. El análisis del aliento humano no está tan implantado en la práctica clínica, sin embargo, ofrece ventajas frente a los métodos convencionales ya que es barato y, al no ser invasivo, es seguro para el paciente (Mazzatenta, et al., 2013; Mashir & Dweik.,2009). La determinación de compuestos de bajo peso molecular en los sistemas biológicos como células, órganos y organismos es especialmente importante en estudios metabólicos. Mediante la identificación y cuantificación de compuestos orgánicos volátiles (VOCs, Volatile Organic Compounds) en aliento humano es posible desarrollar herramientas de diagnóstico de enfermedades (Madsen., 2010). La respiración se realiza aproximadamente 20,000 veces al día y contiene más de 3,000 sustancias diferentes lo que supone una fuente muy importante de posibles biomarcadores. Esto le otorga un gran potencial para el diagnóstico de enfermedades, y para la evaluación de la exposición a contaminantes ambientales o drogas (Kischkel, et al., 2010; Rattray, et al 2014).

### **3.1. Definición de aire exhalado**

El aire exhalado humano es una mezcla compleja de compuestos volátiles y no volátiles que se producen cuando el aire ambiental inhalado se expulsa de los pulmones a través de los bronquios, tráquea y cavidades nasales y orales (Amann & Smith., 2013). La composición del aliento está determinada casi exclusivamente por la composición del gas inhalado, aunque varía considerablemente de unos humanos a otros como resultado de la fisiología pulmonar. El aire ambiental cambia cuando es inhalado, convirtiéndose mayoritariamente en dióxido de carbono y también al ponerse en contacto con gotas de mucosa oral o nasal del revestimiento epitelial (Risby., 2002). A parte del CO<sub>2</sub>, los componentes principales del aire exhalado son el vapor de agua, hidrógeno, amoníaco, monóxido de carbono y metano, estos tres últimos en una concentración del rango de las partes por trillón (ppt). El aliento contiene también trazas de compuestos orgánicos volátiles (VOCs) como acetona, metanol, y etanol (Amann & Smith., 2013).

### **3.2. Compuestos Orgánicos volátiles (VOCs)**

Los compuestos volátiles, la mayoría de naturaleza orgánica, VOCs, son continuamente generados por el cuerpo humano y particularmente emitidos vía aire exhalado y a través de la piel. Los VOCs son también liberados por la sangre, orina y muestras fecales. Estos compuestos, a menudo referidos como metabolitos orgánicos o biomarcadores, han llamado la atención de médicos, fisiólogos y cirujanos como herramientas potenciales para el diagnóstico clínico y monitorización terapéutica de enfermedades. Para comprender el complejo campo de análisis de VOCs en el aliento humano es necesario identificar las estructuras relevantes de los pulmones. Los pulmones contienen un volumen tisular total de 1800 mL los cuales puede contener otros 2400 mL de gas. Este volumen está distribuido entre los distintos compartimentos: 250-300 mL en las paredes alveolares, 60-80 mL en el epitelio, 50-70 mL en el endotelio, 100-185 mL en el intersticio, 50 mL en los micrófagos alveolares, 250 mL en los tejidos de soporte y 400 mL del sistema capilar sanguíneo. Los tejidos circundantes abarcan sobre 900 mL del volumen. Teóricamente los VOCs se producen en distintas partes del cuerpo, entran en el flujo sanguíneo y se transportan a través del cuerpo. Estos compuestos se transfieren de la sangre a los alveolos y finalmente son exhalados en el aliento (Amann & Smith., 2013).

Otra hipótesis reciente es que los VOCs observados en el aliento humano pueden ser directamente originados en las células epiteliales que recubren la superficie de los pulmones/bronquios o ser introducidos desde otros tejidos. El intercambio de gases en los pulmones ocurre entre los alveolos y la sangre de los capilares pulmonares. La sangre es una mezcla extremadamente compleja que es única para cada individuo y que su composición depende de muchos factores como puede ser la genética, el entorno o la dieta. Algunos compuestos volátiles que se disuelven en la sangre se pueden volver a volatilizar en el aire exhalado y pueden contribuir a la composición química total del aire exhalado. Por lo tanto, la variedad de volátiles minoritarios en el aliento puede ser asombrosa, y esto hace que el análisis químico sea muy complejo (Amann & Smith., 2013).

### **3.3. Análisis de aire exhalado**

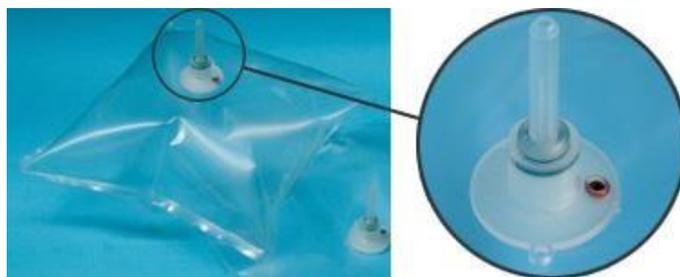
Una vez se conozca la identidad de los biomarcadores volátiles de las enfermedades, y siempre que se puedan detectar o determinar con una exactitud y precisión aceptable, el protocolo a seguir para el análisis del aliento es el paso más importante para conseguir la implantación en medicina clínica. Los principales obstáculos son problemas técnicos, como el muestreo, preconcentración y el propio análisis, así como aspectos metodológicos básicos como la normalización y expresión de los datos (Miekish, et al 2004).

### 3.4. Muestreo

La dilución, contaminación de las muestras y la pérdida de analitos durante el muestreo, ha dado lugar a una enorme variación de las concentraciones de sustancias en los diferentes estudios realizados. Esto hace que la recolección de muestras gaseosas represente una de las etapas cruciales en el análisis del aliento (Amann & Smith., 2013). Diferentes fenómenos como, emisión de contaminantes, pérdidas e interacciones irreversibles entre los distintos constituyentes de la muestra pueden modificar la composición de la misma y por tanto, producir una distorsión de los resultados del análisis (Mochalski, et., 2013).

#### 3.4.1. Bolsas de Tedlar

Actualmente, las bolsas de Tedlar (PVF, polifluoruro de vinilo) son las más conocidas y comúnmente aceptadas para recolectar muestras gaseosas en general, y aire exhalado en particular. Numerosos estudios han comparado entre el empleo de bolsas fabricadas con distintos polímeros entre ellas Tedlar, Kynar (PVDF, polifluoruro de vinilideno) y Flexfilm (Mochalski, et., 2013; Beauchamp, et al., 2008). En ellos se demostró que las bolsas Tedlar, son las más adecuadas para el análisis de VOCs en niveles de ppb o ppt. Esto es debido a que las bolsas Kynar y Flexfilm emiten numerosos contaminantes, mayormente hidrocarburos, por lo que su uso estará limitado a casos en los que las concentraciones de VOCs fueran mayoritarios, del orden de partes por millón (ppm). En la Figura 1, se muestra una bolsa Tedlar de 1 L de capacidad, donde se puede ver en la parte derecha de la misma, que tiene un septum para poder introducir una jeringa muestreadora de gases o una fibra de microextracción en fase sólida (SPME) (Mochalski, et., 2013).



**Figura 1.** Bolsa Tedlar de 1 L de capacidad.

Fuente: Supelco, 2017.

Tomado de: [www.wethepeoplewiki.com](http://www.wethepeoplewiki.com)

Para decidir que bolsa emplear se debe tener en cuenta los contaminantes que emiten estas bolsas y la estabilidad de los analitos en una vez almacenados en la bolsa. Se ha descrito que las bolsas de Flexfilm emiten un total de 27 compuestos, siendo los más dominantes los hidrocarburos y la acetona. Una forma de reducir los compuestos emitidos por la bolsa es llenándola con nitrógeno varias veces consecutivas. De esta manera se minimiza la emisión de aldehídos, acetonas y esteres, pero no de hidrocarburos. También se ha descrito que las bolsas Kynar pueden llegar a liberar hasta 21 compuestos distintos, siendo los más predominantes compuestos aromáticos (Mochalski, et., 2013). El proceso de pre-condicionamiento de la bolsa, llenándola con nitrógeno, es muy eficiente para la disminución de muchos interferentes aunque aumenta la concentración de especies de azufre (COS y CS<sub>2</sub>), las cuales están presentes en todas las bolsas debido a las piezas de plástico de las válvulas de muestreo. Por otra parte las bolsas Tedlar, pueden llegar a emitir hasta 9 compuestos, siendo los mayoritarios N, N'- dimetilacetamida y fenol (Mochalski, et., 2013; Mochalski, et., 2009).

La estabilidad de los analitos en las bolsas está fuertemente relacionada con el volumen de muestra. Independientemente de la naturaleza química del compuesto, su recuperación es significativamente mejor cuando la bolsa está llena al 80% de su capacidad total. La estabilidad de los hidrocarburos se ve significativamente resentida por la emisión de las bolsas, especialmente en las Kynar y Flexfilm. En cambio, como se ha comentado anteriormente, en las bolsas Tedlar este efecto es menos evidente (Mochalski, et., 2009).

### 3.4.2. Procedimiento con Bolsas Mylar

Los pasos para recoger las muestras de aliento con este sistema de muestreo son los siguientes:

1. **Proceso práctico:** La persona (recolector) que toma la muestra al paciente enfatiza las diferentes etapas que se deben cumplir, especialmente la transición de una etapa a la siguiente. En este proceso se debe tener una especial atención a la transición del llenado de la primera bolsa a la etapa de reposo, y seguidamente al llenado de la segunda bolsa.
2. **Limpieza de los pulmones:** En este paso, el paciente respira normalmente (relajado y sin necesidad de respirar profundamente). El paciente debe inhalar a través del dispositivo y enseguida se exhala al aire ambiente. Este proceso debe repetirse por un tiempo de 3 minutos (Ver la ilustración de la Figura 2).



**Figura 2.** Proceso de limpieza de pulmones

Fuente: Haick H, 2015.

Tomado de: Manual Protocolo de recolección de aliento, Technion Israel.

- 3. Recolección de la muestra:** Después del paso de limpieza de los pulmones, el recolector le pregunta al paciente que es el momento de comenzar a llenar las bolsas. En ese momento el paciente toma aire profundamente para que luego sea exhalado hasta que las bolsas de espacio muerto y Mylar queden completamente llenas (ver Figura. 3). Después de llenar la primera bolsa, el recolector debe reemplazarla para que el paciente deberá llenar la segunda bolsa tal y como se hizo con la primera. Es importante no retirar el dispositivo en el momento de la exhalación y no se debe respirar el aire del ambiente.



**Figura 3.** Proceso de recolección de la muestra

Los siguientes materiales relacionados en la siguiente Tabla, son necesarios para el uso de este sistema muestreo compuesto por bolsas Mylar:

**Tabla 1.** Materiales para el uso de este sistema de muestreo compuesto por bolsas Mylar.

Nombre	Imagen	Fabricante	Referencia (Website)
Válvula T		Quintron	<a href="http://www.quintron-usa.com/gasampler">http://www.quintron-usa.com/gasampler</a>
Bolsa de espacio Muerto		Quintron	
Bolsas Mylar de recolección de la muestra		Quintron	
Clip de aseguramiento		Qosina	<a href="http://www.qosina.com/catalog/part.asp?partno=56500&amp;k=nose&amp;c=All&amp;store=5">http://www.qosina.com/catalog/part.asp?partno=56500&amp;k=nose&amp;c=All&amp;store=5</a>
Filtro Bacterial		Air safety limited	<a href="http://www.fengroup.com/air-safety/products/electrostatic-pleated-filters">www.fengroup.com/air-safety/products/electrostatic-pleated-filters</a>
Filtro Bacterial de carbón con tubo de recolección		North	<a href="http://www.edx.co.za/MiniWebs2010/mw.aspx/northsafety">http://www.edx.co.za/MiniWebs2010/mw.aspx/northsafety</a>

### 3.4.3. Procedimiento con Bio-VOC

Basado en el trabajo pionero llevado a cabo en el Laboratorio de Salud y Seguridad del Reino Unido, el muestreador de aliento Bio-VOC™ de Markes es un dispositivo fácil de usar diseñado para el monitoreo no invasivo de la exposición biológica de compuestos orgánicos volátiles (VOC). Fabricado con plástico seguro y sin emisiones, el Bio-VOC puede operarse con una capacitación mínima y sin la presencia de personal médico calificado.

El muestreador recoge una muestra representativa de aire al final de la marea, sin contaminación o dilución con la respiración de los bronquios o la boca.

El Bio-VOC se ha utilizado como un medio de extracción de muestras del aliento en un gran número de aplicaciones de salud seguridad ambiental, y también gran potencial para el diagnóstico de enfermedades. Esta popularidad se ha debido a su compatibilidad con el muestreo estándar de los equipos de análisis (GC-MS).

En la Figura 4 se ilustran cada una de las partes que componen el muestreador para la adquisición de la muestra.



**Figura 4.** Bio-VOC. A) Cuerpo del Bio-VOC, B) Boquilla desechable C) Embolo para la transferencia del aire (ejemplo: Tubo adsorbente), D) Tubo Adsorbente (almacenamiento de la muestra)

Fuente: Markes International, 2012

Tomado de: Brochure online, [www.markes.com](http://www.markes.com)

Dado a que el muestreador mantiene 129 mL de aire, es necesario pasar una cantidad de 1 litro de aire alveolar a través del dispositivo para asegurar una muestra sin diluir. Después de la recolección de la muestra, la boquilla es removida y reemplazada por el émbolo. Tal y como se observa en la Figura 5, el recolector de la muestra ubica la boquilla en el extremo superior del cuerpo del dispositivo con el fin de realizar la adquisición de la muestra.



**Figura 5.** Boquilla.

El paciente realiza la exhalación en forma natural sin necesidad de realizar algún esfuerzo, donde la cantidad de aire de los pulmones debe ser expulsado hacia el interior del sistema de muestreo.



**Figura 6.** Recolección de la muestra

Una vez que se ha recogido la respiración, se utiliza un émbolo con rosca para descargar constantemente la muestra en un tubo sorbente (o un instrumento de lectura directa).



**Figura 7.** Conexión del émbolo

### 3.5. Tubos pre-concentradores

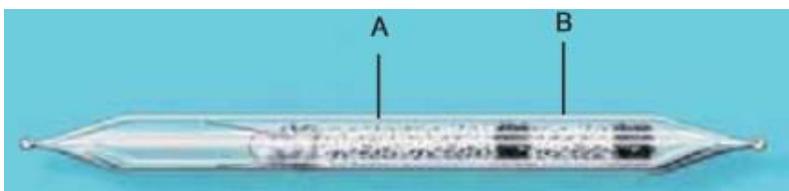
El uso de algunos tubos pre-concentradores o materiales adsorbentes son comúnmente utilizados en el muestreo de COV's, donde la selección del adsorbente es realizado dependiendo de las características de los compuestos o analitos a ser analizados. A su vez, es necesario seleccionarlos acorde a las características o condiciones de adsorción y desorción del material. Algunos materiales adsorbentes más utilizados son: Polímeros: Tenax TA, Tamices Moleculares: Carboxen y Carbón grafito: Carbopack y Carbotrap.

En el análisis de aliento exhalado es viable el uso de los adsorbentes (Sigma-Aldrich (Supelco), 2015) debido a que son los adsorbentes más utilizados para la adsorción de compuestos orgánicos volátiles en el aire. El aire almacenado en los Tubos puede ser desorbidos a temperaturas que oscilan entre los 200 y 250 ° C.

En el Bio-VOC la muestra debe ser arrastrada a través del émbolo, el cual se empuja en forma constante (por 10 segundos aproximadamente), con el fin de enviar el aire del aliento adquirido hacia el tubo adsorbente de manera que queden atrapados. Tal y como lo ilustra la Figura 8, los tubos al interior tienen dos zonas de material polímero A/B (dos capas del mismo adsorbente) selectivos y separados por lana de vidrio o espuma, para el muestreo de gas o vapor. La construcción con doble capa permite que cualquier muestra pueda ser capturada en la zona más pequeña (B).

Los tubos adsorbentes (por ejemplo, Supelco) contienen adsorbentes de alta calidad por lo que permiten dar confianza y efectividad en diferentes aplicaciones, ya que tienen tamaños consistentes de malla adsorbente, los materiales son recubiertos y especialmente tratados, se recuperan con facilidad por lo que son reproducibles, tienen una efectiva posición de las capas de tubo para asegurar la capacidad y tiene un soporte para la conexión.

En la aplicación con muestras de aliento exhalado, la muestra puede ser atrapada con el objetivo ser analizada inmediatamente o para luego ser almacenada en un refrigerador a una temperatura de 4 °C con el fin de conservar las muestras hasta un periodo de hasta 6 meses.



**Figura 8.** Tubo de desorción (Orbo Tenax TA Poroso)

Fuente: Supelco, 2015

Tomado de: Brochure online, <http://www.supelco.com>

## **CAPITULO 4. SISTEMAS DE OLFATO ELECTRÓNICO**

### **4.1. ¿Qué es un sistema de olfato electrónico?**

El concepto más conocido es un instrumento que comprende una matriz de sensores químicos con sensibilidades solapadas y un avanzado sistema de reconocimiento de patrones, capaz de reconocer olores simples o complejos (Gardner y Bartlett., 1994, Dodd et al., 1991). Se puede definir y/o describir como un sistema de muestreo, un sistema de medida el cual es compuesto por un conjunto de sensores químicos y un sistema de cómputo que permite aplicar técnicas de pre-procesado de datos y métodos de reconocimiento de patrones para clasificar o cuantificar cualquier compuesto volátil.

De manera coloquial se podría afirmar que a este tipo de instrumentos se les denomina olfato electrónico por dos motivos:

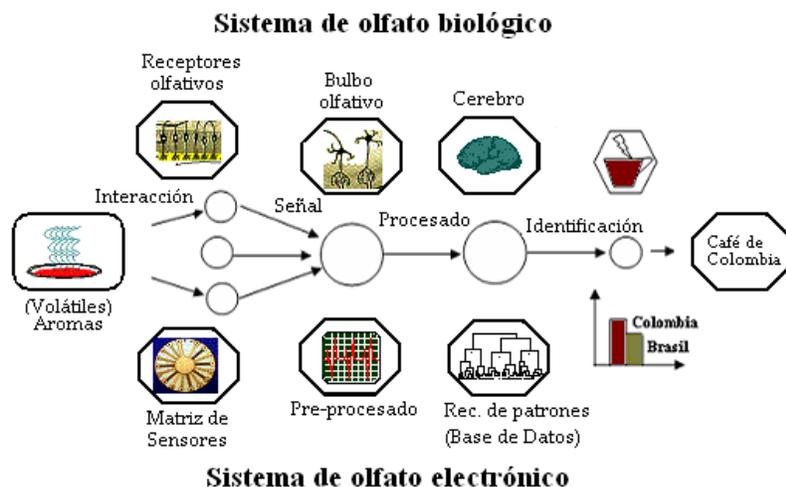
- Porque su configuración y funcionamiento emulan al del sistema de olfato humano.
- Porque pretenden realizar funciones tradicionalmente atribuidas al sistema de olfato biológico.

### **4.2. Comparación entre la nariz electrónica y el sistema del olfato humano**

El sentido del olfato empieza con la nariz e incluye otras partes de la cabeza y el cerebro. Rodríguez (Rodríguez, 2004), señala que en el proceso del olfato se ven implicadas las fosas nasales, las neuronas receptoras del olfato, el bulbo olfativo y el cerebro, que es donde se realiza el proceso de identificación de un aroma.

Es importante mencionar que a lo largo de estos últimos años se han ido conociendo mejor los mecanismos del sistema del olfato humano, aunque todavía quedan detalles por comprender.

A pesar de que los seres humanos tienen una sensibilidad limitada (en comparación con algunos animales) son capaces de percibir, identificar y clasificar olores. El recorrido de este proceso en el sistema del olfato humano, comparado con el de la nariz electrónica se puede observar en la figura 9.



**Figura 9.** Analogía del SOE Vs el Sistema Olfativo humano  
 Fuente: Durán C, (2005). Tesis de Doctorado  
 Tomado de: <http://www.tesisenred.net/handle/10803/8451>.

Las moléculas de olor son expuestas a la nariz electrónica, los patrones químicos presentes en la muestra del aroma son detectados por los sensores (que es el sistema de detección más utilizado), los cuales transforman esta entrada química en una señal eléctrica produciendo para cada aroma un único patrón de respuesta, designado como huella digital olfativa (la cual contiene idealmente la complejidad del aroma). Finalmente, a esta respuesta se le aplican técnicas de reconocimiento de patrones para discriminar, clasificar y/o predecir el tipo de aroma que se está analizando.

## 4.2. Ventajas y desventajas de los sistemas de olfato electrónico

A continuación, se mencionan unas de las diferentes ventajas del por qué se utilizan los sistemas de olfato electrónico en diferentes áreas (ejemplo: sector agroindustrial, sector ambiental, sector de la salud entre otras):

1. Se obtienen resultados en tiempo real (en segundos o minutos), dependiendo de las necesidades del usuario.
2. Se realiza un análisis no destructivo o invasivo de la muestra a detectar.
3. Robustez, portabilidad y bajo precio a comparación de otros equipos estándar (Cromatografía de Gases (GC) y Espectrometría de Masas (MS)).
4. Es adaptable a diferentes cantidades y variedades de COVs.
5. Facilidad del uso ya que no necesita personal experto.

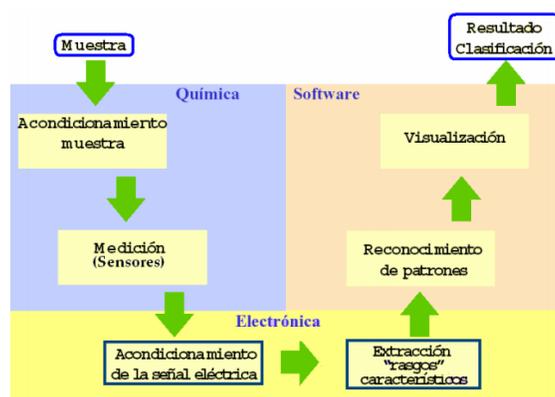
Aunque en la actualidad se sigue trabajando en las mejoras de los sistemas de olfato electrónico, aún existen algunas desventajas que pueden ser encontradas en el uso de estos sistemas:

1. Baja sensibilidad
2. Falta de selectividad
3. Afectación de la respuesta por derivas de los sensores.
4. Mínimos procesos de calibración

### 4.3. Módulos básicos y secuencia de trabajo de una nariz electrónica

Según Durán (Durán., 2005), en el sistema de la nariz electrónica existen tres módulos, a saber: químico, electrónico y el software. La parte química es la que se refiere a acondicionar la muestra que se tenga y a la medición que realizan los sensores; la parte electrónica es la que se refiere al acondicionamiento de la señal eléctrica que se obtiene a la salida de los sensores, y a la extracción de rasgos o características eléctricas que nos brindan cada uno de los sensores de la matriz; y la parte del software es la que se refiere a reconocimiento de la señal y a su respectiva visualización en el sistema.

Dentro de estos módulos podemos distinguir los siguientes bloques: Sistema de entrega de la muestra (olor) y Direccinamiento del olor, el Sistema de Detección que puede ser una matriz de sensores o un espectrómetro de masas, Acondicionamiento y Procesamiento de la señal, y el Análisis y Reconocimiento de patrones. La figura 10 muestra la secuencia del trabajo de una nariz electrónica.



**Figura 10.** Secuencia de trabajo de una nariz electrónica  
 Fuente: Durán C, (2005). Tesis de Doctorado  
 Tomado de: <http://www.tesisenred.net/handle/10803/8451>.

### 4.3.1. Sistema de muestreo

Hay un gran número de métodos de muestreo de gases; la elección de cada uno de ellos depende del analito, que son los componentes de una muestra que se pretende determinar (Skoog, et al., 2005); la matriz de la muestra, que es un término para referirnos a la materia que no es de nuestro interés en el análisis, por ejemplo, la matriz de aire que se elimina cuando la materia en suspensión se recoge en un filtro; y del método de análisis utilizado.

A menudo se realiza una pre-concentración, mediante la cual consigue que la materia de interés se transforme en una muestra más pequeña y concentrada. La pre-concentración se utiliza generalmente cuando es necesario analizar sustancias de las muestras en cantidades de trazas o microtrazas, donde la sustancia se encuentra en una concentración alrededor de 10 ppm.

En la preparación de la muestra se debe tener en cuenta:

- Preparar la muestra sin perder ningún analito.
- Transformar el analito en la mejor forma química para el método de ensayo a utilizar.
- Si es necesario, incluir la eliminación de interferentes en la matriz.
- La preparación se debe hacer sin agregar ningún nuevo interferente.
- Se debe considerar, siempre y cuando sea necesario la dilución o la concentración del analito hasta obtener una concentración del mismo dentro del intervalo óptimo del método de análisis utilizado.

Para disminuir las interferencias en el caso de que los analitos sean suficientemente volátiles, la opción metodológica de aislarlos que existe es la purga o trampa. Purgar significa eliminarlos de la matriz original. Para las muestras sólidas se efectúa calentando el sólido mientras se hace pasar un gas por él, para que arrastre los componentes volátiles a una trampa.

La purga de un líquido se lleva a cabo haciendo pasar un gas no reactivo por el líquido, que se lleva los componentes volátiles.

Las trampas captan y retienen a los volátiles, ya sea enfriándolos, ya sea adsorbiéndolos en una pequeña cantidad de sólido en polvo contenida en la trampa (Rubinson y Rubinson.,2001).

Otro requisito a tener en cuenta en la preparación de la muestra es optimizar el intervalo de concentración, ya que existe un intervalo dentro del cual los resultados tendrán mayor

precisión y exactitud. Diferentes métodos de análisis tienen diferentes intervalos de concentración y, en la mayoría de los casos, el intervalo es específico del analito. Es importante señalar que cuando el contenido de un componente se reduce al intervalo de ppm y ppb, eliminar las interferencias de la muestra se hace más difícil. (Moreno et al., 2009)

El “muestreo de cabeza de columna” (headspace) es uno de los métodos de muestreo más utilizados. Es la técnica que se utiliza para la obtención de componentes volátiles de la muestra y su transporte hacia el sistema de sensores. Estas técnicas se basan en la generación de una fase de vapor (espacio de cabeza) en equilibrio con la muestra, ya sea sólida o líquida. La cabeza de columna está formada por componentes volátiles propios de la muestra original, por lo que puede considerarse como una representación fidedigna de la composición aromática de la sustancia a analizar (Busto et al., 2002). En el caso del sistema Sampling Bag, el vapor es generado después de que una muestra líquida se inyecte en una bolsa especial por una jeringuilla, y luego se evapore. Este vapor es succionado por una bomba e introducido en un sensor (Pearce et al., 2003).

En el análisis de aliento exhalado la recolección de muestras gaseosas represente una de las etapas cruciales, se han desarrollado diferentes métodos y sistemas de muestro, entre ellos se destacan el uso de bolsas Tedlar , Kynar y el muestreador de aliento Bio-VOC <sup>TM</sup> de Markes. Estos sistemas de muestreo fueron explicados en el capítulo anterior. La muestra puede ser atrapada con el objetivo ser analizada con un instrumento de lectura directa o ser pre-concentrada para su posterior análisis.

#### **4.3.1.1. Sistemas de pre-concentración**

Los métodos de pre-concentración de analitos suelen ser usados con el objetivo de aumentar la sensibilidad de un sistema analizador (GC ó sensores de gases), incrementando el nivel de concentración de las muestras, la mayoría de estos métodos están basados principalmente en el uso de adsorbentes sólidos donde quedan retenidos los analitos de interés, como es el Tenax o el Carboxpack entre otros.

Estos métodos se pueden utilizar si existe la posibilidad de disponer de grandes volúmenes de muestra. Es importante resaltar la existencia de diferentes métodos que permiten el análisis con sensores químicos según se trabaje con muestras gaseosas o con muestras líquidas. Los métodos de desorción térmica basados en materiales sólidos son los más apropiados para la gran mayoría de aplicaciones en fase gas mediante sensores químicos (Hamacher, et al.,2003; Ali, et al 2003).

#### **4.3.1.2. Sistemas basados en la Desorción Térmica.**

El concepto de la desorción térmica o termo-desorción consiste en atrapar (adsorción) volátiles presentes en muestras gaseosas desde un dispositivo pre- concentrador, para luego desorberlas térmicamente y arrastrarlas a través de un chorro de gas portador hasta el instrumento de detección. En la mayoría de los casos se usan junto a una trampa adicional comúnmente llamada “cryo-trap” (Fuoco, et al., 1999; Oliver, et al.,1996). La desorción térmica permite la pre-concentración a partir de una gran cantidad de volumen de gas.

##### **Principio de funcionamiento**

En el proceso de extracción, las muestras son calentadas a temperaturas de ebullición, un flujo de gas inerte permite extraer y transportar los VOCs hacia un detector de forma rápida y directa. Este proceso se conoce como extracción dinámica.

Mediante este método los compuestos pueden ser transferidos directamente desde la muestra original al analizador con un pulso de desorción térmica, lo cual permite que esta aproximación sea útil en un buen número de aplicaciones prácticas.

Algunos sistemas de desorción térmica contienen un mecanismo de enfoque para concentrar los analitos desorbidos del tubo adsorbente. Entre ellos, los más importantes son los basados en adsorbentes sólidos o la Cryo-focalización capilar.

Con estas técnicas, tras desorber una cierta cantidad de analitos desde un adsorbente sólido, el focalizador (ubicado frente a este) es enfriado eléctricamente. Tras este enfriamiento, luego el focalizador es rápidamente calentado para desorber la totalidad de la muestra. Con esta técnica el 99% de los analitos se desorben durante los primeros segundos.

Por otro lado, en un dispositivo pre-concentrador es posible evitar la influencia de la humedad u otros interferentes. Las desventajas de esta aproximación radican principalmente en la formación de partículas sobre el dispositivo trampa, y la posibilidad de la contaminación de la muestra. La forma de evitarlo es aplicando al adsorbente una corriente de aire seco durante un tiempo suficiente antes de realizar cualquier medida. Por lo que respecta a la humedad, existen diferentes técnicas experimentales que en la actualidad permiten monitorizar directamente el proceso de eliminación de la humedad (Janusz, et al.,2000). También es posible solucionar el problema generando un fuerte calentamiento dentro del ciclo de operación.

Una importante ventaja de este método, es la facilidad de automatización y la gran capacidad de recuperación, revirtiendo en un incremento en la sensibilidad del sistema

sensor. La desorción térmica puede ser realizada en diferentes tiempos y en localizaciones separadas.

Los sistemas de desorción térmica, comparados con otros métodos de extracción de volátiles, presentan las siguientes ventajas:

- Pueden incrementar la sensibilidad en más de 200 veces.
- No necesitan preparación manual de la muestra.
- No presentan interferencias debidas a solventes.
- Mayor eficiencia de adsorción.
- El ciclo de vida del adsorbente es elevado.
- Pueden ser 100 % automatizables.

#### **4.3.2. Sistema de medición**

El sistema de medición es basado en una cámara de medida compuesta por una matriz de sensores de gases químicos que varían sus propiedades físicas en función de los Compuestos Orgánicos Volátiles (COV's) en el que se vea inmerso la capa activa del sensor. Estas variaciones son traducidas en una respuesta en señal eléctrica que determina la presencia de las concentraciones de los compuestos a medir. Luego la señal eléctrica es acondicionada para ser monitoreada y almacenada en un computador.

La matriz es un grupo de sensores, los cuales deben estar localizados en una cámara en la que se garanticen condiciones adecuadas para que trabajen correctamente, aunque existen investigaciones en las cuales los sensores no están colocados en ninguna cámara en especial (Ishida et al., 2004). Principalmente se debe impedir que se introduzcan en la cámara contaminantes y mantener la presión y temperatura adecuadas (estos parámetros son importantes o críticos en función del tipo de sensor utilizado), garantizando un intervalo suficiente entre las medidas para permitir que los sensores se recuperen y que se renueve el aire de la cámara (Bosch., 2001).

Las investigaciones han demostrado que la sensibilidad de un sensor no es tan alta para determinadas muestras específicas que se analizan, de hecho, un sensor es capaz de responder a muchas muestras y muchos sensores son capaces de responder a esa misma muestra. Sin embargo, de una matriz de sensores se obtiene una respuesta que es la suma de las interacciones efectuadas por todas las moléculas volátiles y, el diagrama resultante puede interpretarse como una huella digital (fingerprint) del aroma de la sustancia analizada (Busto et al., 2002).

La combinación de diferentes tipos de sensores químicos (desde solamente un par hasta 10 de estos dispositivos) permite que se complementen los solapamientos de sus gamas respectivas de detección, produciendo así una detección con más alta calidad que la que producen los sensores más simples (Fraden., 2004).

También es necesario que la interacción del olor con el material del sensor sea reversible. La deriva debe ser insignificante, es la que produce variaciones en la respuesta del sensor, puede ser por variaciones de humedad o temperatura, variaciones en la presión ambiental, envejecimiento de los sensores u otros efectos químicos y físicos que influyen. La preparación de la calibración del sensor debe ser repetible y los protocolos de entrenamiento deben ser relativamente intuitivos (Griffin., 2003).

#### **4.3.2.1. Sensores de gases**

Los sensores químicos, según la IUPAC (Internacional Union of Pure and Applied Chemistry), se clasifican, de acuerdo al mecanismo de transducción, en: dispositivos ópticos, electroquímicos, eléctricos, sensibles a la masa, magnéticos, termométricos y radiométricos.

Según Fraden (Fraden., 2004) todos los procesos de detección química pueden ser clasificados por los fenómenos reales del indicador utilizado para la detección, y según la estrategia de medición utilizada. Por lo tanto, los sensores se clasifican en dos grandes grupos, los directos o simples y los indirectos o complejos, y también se pueden clasificar entre dispositivos que reaccionan químicamente y físicamente dentro de cada grupo.

Los sensores químicos directos son los que utilizan cualquiera de una variedad de fenómenos de reacciones químicas que afectan directamente una característica de medida eléctrica tales como la resistencia, la tensión, la corriente o la capacitancia. Estos dispositivos requieren una cierta clase de señal eléctrica acondicionada, pero no necesitan un transductor (dispositivo que transforma el fenómeno del sensor de una forma de energía a otra). Los sensores indirectos o complejos son los que requerirán alguna forma de transducción para obtener la señal eléctrica que se necesitará en las siguientes etapas electrónicas. Los fenómenos indirectos incluyen cambios en la forma física, cambios de frecuencia, modulación de la luz, cambios de temperatura e incluso cambios de masa. Algunos de los diseños de sensores químicos simples requieren que el elemento de detección reaccione químicamente con el analito para efectuar cambios mensurables en el indicador (fenómeno) o la señal.

Los dispositivos que reaccionan químicamente sufren cuando, por ejemplo, hay reversibilidad incompleta o cuando hay agotamiento de los sensores, introduciendo problemas de estabilidad.

Los sensores físicoquímicos no requieren que se dé una reacción química, pero aísla y utiliza una reacción física para indicar la presencia de una especie química. Estos dispositivos demuestran regularmente bajas derivas y mejor estabilidad que los dispositivos químicamente reactivos, pero a menudo el costo de la instrumentación adicional es significativo y los tiempos de reacción son lentos.

La tabla 2 muestra los diferentes sensores químicos utilizados en las narices electrónicas y algunas de sus características principales.

**Tabla 2.** Clasificación de Sensores Químicos de Olor.

Directos	Físicos	Principio	Medición	Tipo de Sensor
		Conductométrico	Conductancia	Químico Resistivo- (CP) <sup>a</sup>
	Capacitivo	Capacitancia	Químico Capacitivo-Polímero	
	Químicos	Principio	Medición	Tipo de Sensor
		Amperimetría	Corriente	Gas Tóxico-Electrocatalítico
		Conductométrico	Conductancia	Químico Resistivo-MOS <sup>b</sup>
		Potenciométrico	Voltaje/e.m.f.	Químico Diodo-Diodo Schottky
			I-V/C-V	Químico Transistor-MOSFET <sup>c</sup>
Complejos	Físicos	Principio	Medición	Tipo de Sensor
		Gravimétrico	Piezoelectricidad	Químico sensible a masa -QCM <sup>d</sup> Químico sensible a masa -SAW <sup>e</sup>
		Óptico	Intensidad/Espectro	Químico de fibra óptica- Fluorescencia, quimioluminiscencia
	Químicos	Principio	Medición	Tipo de Sensor
		Calorimétrico	Temperatura	Químico Térmico- Termistor, Termopar
		Amperimetría, térmico, óptico.	Corriente, temperatura, intensidad de luz.	Biosensores <sup>f</sup>

<sup>a</sup> CP- Polímero Conductor

<sup>b</sup> Sensores óxido metálicos

<sup>c</sup> Sensor Transistor de Efecto de Campo basado en estructura MOS

<sup>d</sup> Sensor de microbalanza de cuarzo

<sup>e</sup> Sensor de Onda Acústica Superficial

<sup>f</sup> Los biosensores pueden ser: organismos, tejidos, células, membranas, enzimas, anticuerpos entre otros.

En la medición de los compuestos exhalados es necesario mencionar el avance en la fabricación de sensores de gases el cual es uno de los elementos principales en la detección y análisis de las muestras de aliento. A diferencia de los sensores comerciales, la mayoría de trabajos realizados a nivel investigativo se han enfocado a fabricar sensores de tipo colorimétricos, matriz de nanotubos de carbono, sensores de superficie de onda acústica, sensores de nanopartículas de oro y sensores de fibra óptica (Mazzone et al., 2007; Castro et al., 2011; Peng et al., 2008; Wyszynski et al., 2009).

#### 4.3.2.2. Sensores de nanopartículas de oro (AuNPs)

Los nanomateriales se definen como materiales con propiedades morfológicas menores de 100nm en alguna de sus dimensiones. Esta característica les confiere propiedades y comportamientos diferentes a los exhibidos por el grueso de la materia de la misma composición.

Las nanopartículas se definen como agregados aislados de átomos de tamaño comprendido entre 1 y 100 nm, rodeados de una cápsula protectora o estabilizadora que evita su aglomeración. Presentan interesantes propiedades físicas y químicas que difieren considerablemente del metal sólido (bulk) del cual se forman (Muñoz., 2013). Estas nuevas propiedades dan lugar a nuevas aplicaciones en diversas áreas tecnológicas. Las nanopartículas más estudiadas son aquellas formadas por materiales metálicos (como el oro), semiconductores (como los calcogenuros de cadmio, arseniuro de galio o fosfuro de indio) o aislantes (como el óxido de hierro o de titanio) (Rodríguez., 2012).

De entre todos los metales nobles, el oro ha sobresalido por sus interesantes propiedades ópticas, magnéticas, eléctricas, catalíticas, biocidas y antimicrobianas pudiéndose aplicar en distintas áreas tales como en farmacología, medicina, industria alimentaria, tecnología, biología, etc. (Faraday., 2015).

#### Propiedades de las nanopartículas metálicas.

Cuando las dimensiones de los materiales se reducen hasta la escala nanométrica, aparecen dos fenómenos importantes (Guozhong., 2004):

- *Alta relación superficie/volumen*

El número de átomos que contiene la nanopartícula sobre su superficie es mayor al localizado en el interior del núcleo. Esta propiedad hace que sean mucho más reactivas lo que hace que tiendan a agregarse unas con otras para disminuir su energía superficial.

A la hora de trabajar con nanopartículas es importante contar con estrategias que disminuyan este efecto como puede ser la funcionalización y bioconjugación.

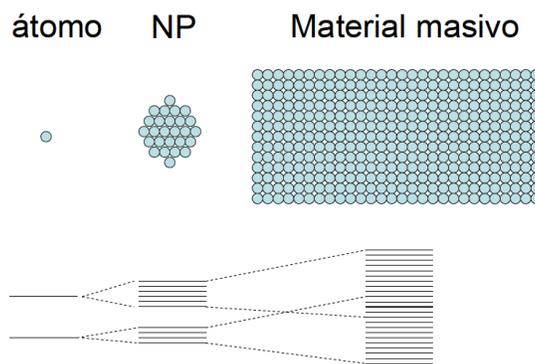
Esta característica de las nanopartículas se aprovecha en muchas aplicaciones tales como la catálisis.

- *Confinamiento cuántico.*

Se produce un incremento en el espaciado entre los niveles de energía electrónicos al disminuir el tamaño de la partícula. Al reducirse el espacio para el movimiento de los

electrones, sus propiedades electrónicas cambian drásticamente dando lugar a nuevas aplicaciones de gran interés (Christine, et al., 2004).

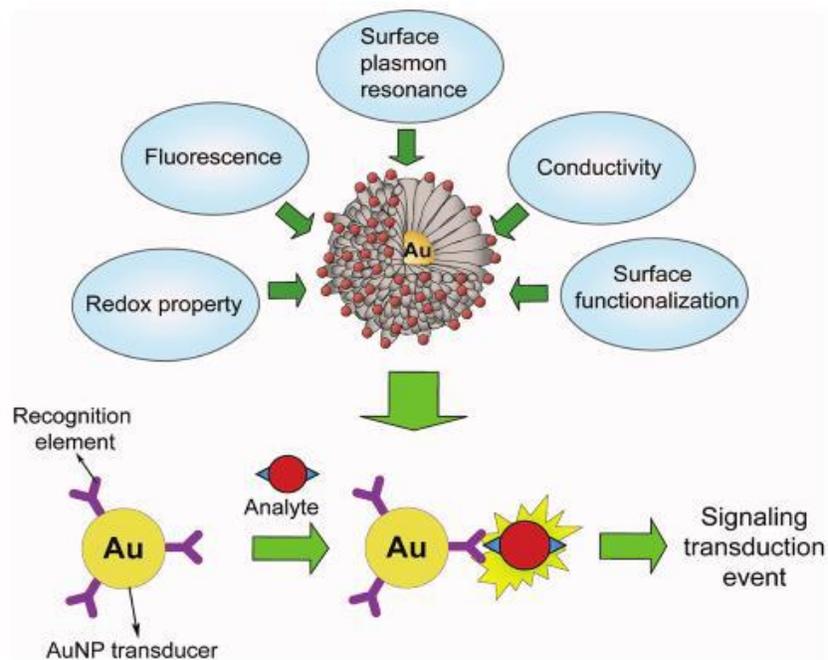
El cambio en las propiedades físicas de los materiales al reducir su tamaño se puede explicar mediante el estudio de los niveles electrónicos de una partícula. Como es sabido, la distancia entre los estados de energía contiguos aumenta de manera inversa a como lo hace el volumen de las partículas. Por lo tanto, el espectro continuo de bandas que refleja la situación del material masivo, cambia hacia un conjunto de estados discretos al disminuir el tamaño hasta llegar al régimen nanométrico, como se ilustra en la Figura 11. El hecho de que el espectro se vuelva discreto lleva a profundas modificaciones en aquellas propiedades físicas que dependen de los electrones, como son las propiedades ópticas, magnéticas o de conducción (Granda., 2009).



**Figura 11.** Evolución de los estados electrónicos, desde el átomo aislado hasta el bulk.

Los nanomateriales presentan propiedades fisicoquímicas únicas, que pueden ser de gran utilidad para crear procesos de reconocimiento y transducción de sensores biológicos (Zheng, et al 2011), así como mejorar la relación Señal/Ruido mediante la miniaturización de los elementos sensores (Anker, et al 2008)

Las nanopartículas de oro poseen propiedades físicas y químicas que las hacen excelentes materiales para la fabricación de nuevos sensores (Boisselier & Astruc., 2009) (Figura 12).



**Figura 12.** Propiedades físicas de las AuNPs y el fundamento del sistema de detección.

Estas propiedades de las AuNPs pueden ser fácilmente ajustadas variando su tamaño, forma y superficie química. Por ejemplo, la unión entre el elemento de reconocimiento y el analito pueden alterar las propiedades fisicoquímicas de las AuNPs, tales como la banda de absorción de la resonancia de plasmón superficial, la conductividad, el comportamiento redox, etc., generando una señal de respuesta detectable. Finalmente, las AuNPs ofrecen una plataforma adecuada para la multifuncionalización con una elevada gama de ligandos orgánicos o biológicos para la unión selectiva y la detección de pequeñas moléculas y objetivos biológicos (Daniel & Astruc.,2004).

Cada uno de estos atributos de las AuNPs ha permitido a los investigadores desarrollar nuevas estrategias de detección con una mejor sensibilidad, estabilidad y selectividad. En la última década de investigación, la aparición de AuNPs como elemento sensorial ha permitido el desarrollo de innovadores sistemas para la detección de iones, moléculas pequeñas, proteínas, ácidos nucleicos, células malignas, etc., de una manera rápida y eficiente (Saha, et al 2013).

### 4.3.3. Acondicionamiento de la señal

La respuesta de los sensores debe ser medida y convertida a una señal eléctrica, (tensión, corriente) La señal eléctrica que se obtiene a la salida de los sensores no es la adecuada para ser adquirida por un computador, por lo que es necesario procesarla a través de circuitos de acondicionamiento de la señal analógica.

Los circuitos de esta etapa realizan varias funciones como linealización, integración, diferenciación, conversión logarítmica y antilogarítmica, detección de fase y pico a pico, y la compensación de la temperatura. Otra función básica que realizan estos circuitos es el filtrado, utilizado para eliminar de la señal los componentes de frecuencia no deseados. (Moreno et al., 2009)

### 4.3.4. Pre-procesado de datos

Después de la etapa de acondicionamiento, las señales del vector de sensores deben ser digitalizadas y procesadas en línea o almacenadas para análisis futuros.

De la etapa del pre-procesado de la señal, la cual se refiere a la aplicación de una serie de posibles operaciones a la señal proveniente de las etapas electrónicas para explotar la información que estos datos representasen, se extrae información de la respuesta de los sensores y se preparan los datos para el análisis de patrones multivariados, convirtiéndose en la primera etapa informatizada, donde los datos son muestreados y almacenados en la memoria del ordenador. Por lo tanto, la selección de esta señal puede tener una influencia significativa en el funcionamiento de los módulos subsecuentes. Aunque la señal pre-procesada también depende algo de la tecnología del sensor, se identifican tres etapas generales (Pearce et al., 2003; Gutiérrez & Osuna., 2002): manipulación de la línea base, compresión y normalización.

- La manipulación de la respuesta del sensor con respecto a su línea base es la primera etapa del pre-procesado de la señal, que consiste en la manipulación de la respuesta del sensor con respecto a su línea base, es decir, a su respuesta a una muestra de referencia; con el propósito de compensar sus derivas entre otras cosas. Y considerando la respuesta dinámica del sensor, se utilizan comúnmente tres técnicas: Diferencial, Relativa y Fraccionaria.

La Diferencial es la técnica en la cual los valores de la señal de la línea base de un sensor se restan de su respuesta ante una muestra, con el objetivo de eliminar la señal de ruido que puede estar presente en la señal del sensor. La Relativa divide la respuesta del sensor ante una muestra entre la respuesta del sensor a la muestra de

referencia, proporcionando una respuesta sin dimensiones. La técnica Fraccionaria consiste en que de la respuesta del sensor ante una muestra, se resta la respuesta a la muestra de referencia y luego el resultado se divide entre la respuesta a la muestra de referencia; con el propósito de compensar a los sensores que tienen niveles de respuesta intrínsecamente grandes o pequeños.

- La segunda etapa del pre-procesado es comprimir la respuesta de la matriz de sensores para formar un vector de características o la huella digital olfativa. En principio, con la compresión se pretende transportar la misma información, pero empleando la menor cantidad de espacio. De acuerdo con el procedimiento empleado para generar la huella digital olfativa dinámica, los métodos de compresión transitorios se pueden agrupar en tres clases: métodos de Submuestreo, métodos de Extracción de Parámetros y métodos de Identificación de Sistemas.

El método de Submuestreo es un método que muestrea, es decir, selecciona una pequeña parte de la respuesta transitoria del sensor (y/o sus derivadas) en diferentes tiempos ya sea durante la exposición al olor y/o fase de recuperación del olor. El método de Extracción de Parámetros comprime la respuesta transitoria utilizando un número de descriptores, tales como el tiempo de subida de la curva de respuesta, sus respuestas máximas y mínimas, etc. La Identificación del Sistema es un método que ajusta un modelo teórico, por ejemplo autoregresivo, a los transitorios experimentales y utilizan los parámetros modelos como características.

- La normalización constituye la etapa final del pre-procesado digital. Es un proceso que clasifica relaciones, objetos, formas de relación y demás elementos en grupos, en base a las características que cada uno posee, aplicando una serie de reglas y ayuda a los diseñadores a desarrollar esquemas que minimicen los problemas de lógica. Las técnicas de normalización se pueden agrupar en dos clases: métodos locales y globales. Los métodos locales son los que operan a través de la matriz de sensores, sobre cada "olfateo" individual para compensar las variaciones muestra a muestra causadas por la concentración del analito y la deriva del sensor, entre otros. Los métodos globales son procedimientos típicamente utilizados para asegurar que las magnitudes del sensor sean comparables, evitando que los procedimientos siguientes de reconocimiento de patrones sean saturados por sensores con valores arbitrariamente grandes. (Moreno et al., 2009).

### 4.3.5. Procesamiento de datos y análisis de patrones

Los datos obtenidos de la etapa anterior son finalmente analizados por técnicas de reconocimiento de patrones, las cuales actúan como un sistema de procesamiento de la señal.

El conjunto de sensores genera una matriz como en (1), donde las columnas representarán un vector respuesta asociado con un olor en particular, las filas son la respuesta de un sensor individual a las diferentes medidas.

$$\mathbf{R} = \begin{pmatrix} X_{11} & X_{12} & \dots & X_{1m} \\ X_{21} & X_{22} & \dots & X_{2m} \\ \dots & \dots & X_{ij} & \dots \\ X_{n1} & X_{n2} & \dots & X_{nm} \end{pmatrix} \quad (1)$$

Donde  $X_{ij}$  es la respuesta del sensor  $i$  a la muestra de olor  $j$ .

Los sensores de olor al igual que su contraparte humana no son completamente específicos para un determinado olor, sino que poseen especificidades solapadas, por lo tanto, un sensor de olor responderá a una variedad de olores pero con una sensibilidad variante (por ejemplo, rapidez e intensidad de la respuesta). Como resultado, los términos diferentes de la diagonal de la matriz de respuesta son comúnmente diferentes de cero, y precisamente bajo estas condiciones, se requieren los patrones de reconocimiento, para procesar los datos y solucionar el problema de la predicción de clase.

Las técnicas de Reconocimiento de Patrones aplicadas a los sistemas de olfato electrónico según (Pearce et al., 2003) pueden ser:

- Paramétricas: presuponen una distribución teórica de probabilidad para la distribución de los datos. Se puede estimar cualquier parámetro como la media, varianza, proporción, etc..., de los datos, es decir, que pueden ser descritas por una función de densidad probabilística (PDF).
- No Paramétricas: Son técnicas estadísticas que no suponen ningún modelo probabilístico teórico. Son menos potentes que las técnicas paramétricas, aunque tienen la ventaja que se pueden aplicar más fácilmente (e-Biometría). Este tipo de técnica ha dado lugar a las redes neuronales y a los sistemas expertos y son inspiradas biológicamente.

Y estas a su vez pueden ser:

- Técnicas Supervisadas: que son aquellas que utilizan el aprendizaje previo (Cortijo., 2003), de tal manera que un vector de olor desconocido es analizado usando las relaciones encontradas previamente de un grupo de vectores de olores conocidos usados en la calibración inicial.
- Técnicas No supervisadas: que son aquellas que no utilizan el aprendizaje previo, discriminando entre los vectores de olores desconocidos sin la presentación del descriptor correspondiente (Pearce et al., 2003). También llamados algoritmos de descubrimiento del conocimiento, se usan generalmente para la extracción de información útil a partir de grandes volúmenes de datos.

A continuación, se mencionan las diferentes técnicas de reconocimiento de patrones aplicadas a los datos de los sistemas de olfato electrónico.

**Tabla 3.** Técnicas de reconocimiento de patrones aplicadas a los sistemas de olfato electrónico.

<b>MLR:</b>	Regresión Lineal Múltiple
<b>PLS:</b>	Mínimos Cuadrados Parciales
<b>PCA:</b>	Análisis de Componentes Principales
<b>CA:</b>	Análisis Cluster
<b>NN:</b>	El Vecino más Próximo
<b>Ward's:</b>	Agrupación Jerárquica
<b>PCR:</b>	Regresión del Componente Principal
<b>DFA:</b>	Análisis de la Función Discriminante
<b>LDA:</b>	Análisis discriminante lineal
<b>SOM:</b>	Mapas Autoorganizados
<b>MLP:</b>	Perceptrón Multicapa
<b>PNN:</b>	Redes Neuronales Probabilísticas
<b>RBF:</b>	Redes de Funciones de Base Radial
<b>LVQ:</b>	Cuantificación del vector de aprendizaje
<b>ART:</b>	Teoría de la Resonancia Adaptativa
<b>Fuzzy Artmap:</b>	Lógica Borrosa con mapas Art
<b>FIS:</b>	Sistema de Inferencia Difusa
<b>FNN:</b>	Redes Neuronales Borrosas
<b>FCM:</b>	Agrupaciones Borrosas GA- Algoritmos Genéticos
<b>RFC:</b>	Random Forest Classifier
<b>NFS:</b>	Sistemas NeuroBorrosos.
<b>SVM:</b>	Maquinas de vectores de soporte

Actualmente los sistemas de olfato electrónico a nivel comercial utilizan técnicas estadísticas como el caso de Análisis de Componentes Principales (ACP) o Principal Components Analysis (PCA) y hoy en día las Redes Neuronales Artificiales (RNA) o Artificial Neural Networks (ANN) son aplicadas con el fin de discriminar o clasificar diferentes compuestos volátiles (es decir, Compuestos del aliento exhalado), también se destaca el uso de las máquinas de soporte vectorial (SVM) como clasificadores.

#### 4.3.5.1. Análisis de componentes principales (PCA)

El análisis de componentes principales es una técnica de representación de datos enfocada a la reducción de dimensión. El PCA ha sido la tendencia dominante para el análisis de datos en un gran número de aplicaciones. Su atractivo recae en la simplicidad y capacidad de reducción de dimensión, minimizando el error cuadrático de reconstrucción producido por una combinación lineal de variables latentes, conocidas como componentes principales, las cuales se obtienen a partir de una combinación lineal de los datos originales. Los parámetros del modelo pueden calcularse directamente de la matriz de datos centralizada  $X$ , bien sea por descomposición en valores singulares o por la diagonalización de la matriz de covarianza (positiva semidefinida). Sea  $x_i$  el  $i$ -ésimo vector de observación (vector columna) de tamaño  $c$ ,  $X = (x_1, x_2, \dots, x_n)^T$ . La matriz de rotación  $U$  permite calcular las  $p$  componentes principales  $z$  que mejor representan  $x$ . (Sánchez, L.G., Osorio, G.A., 2008)

$$z = U^T \quad (2)$$

$U$  Puede obtenerse al solucionar un problema de valores propios, y está definida como los  $p$  mayores vectores propios de  $X^T X$ , esto es :

$$X^T X U = \lambda U \quad (3)$$

La matriz  $X^T X$  está asociada a la matriz de covarianza ; además, puede calcularse como (Martinez & Kak, 2001).

$$C = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i * x_i^T \quad (4)$$

El problema de valores propios  $Cu = \lambda u$  implica que todas las soluciones de  $u$  deben estar en el espacio generado por el conjunto de vectores  $x_1, x_2, \dots, x_n$ , por lo cual (Schölkopf, Smola, & Müller, 1998).

$$(x_i, u) = (x_i, Cu), \forall i = 1, \dots, n. \quad (5)$$

#### 4.3.5.2. Redes Neuronales Artificiales (RNA)

Las Redes Neuronales Artificiales (RNAs) son un paradigma computacional en el cual una gran cantidad de unidades de cómputo simple (las neuronas) interconectadas en red, realizan tareas de procesamiento de datos. Una RNA puede definirse formalmente como un procesador paralelo y distribuido que tiene la capacidad de almacenar conocimiento basado en la experiencia. Además, se parece al cerebro humano en cuanto a que el conocimiento es adquirido a través de un proceso de aprendizaje y las conexiones entre las neuronas son usadas para almacenar ese conocimiento (Haykin., 2007). Las principales características de las RNAs pueden resumirse en los siguientes items:

- Habilidad de aprender mediante ejemplos o experiencias.
- Son adaptables, debido a la capacidad de autoajuste de las neuronas, y dinámicas ya que son capaces de adaptarse a nuevos datos.
- Habilidad para generalizar, es decir asociar entradas (inputs) similares con salidas (outputs) similares.
- Robustez ante fallos, dado que pueden seguir realizando su función, con cierta degradación, aunque se destruya parte de la red ya que la información se encuentra distribuida en las conexiones entre neuronas.
- Capacidad para reconocer patrones con ruido, distorsionados o incompletos.
- Pragmatismo, es decir, se prioriza encontrar una buena solución de forma relativamente rápida a encontrar la mejor solución pero en forma más lenta.
- Capacidad de modelar problemas que involucren una o múltiples variables.

Las RNAs parten de un conjunto de datos de entrada y el objetivo del entrenamiento es conseguir que la red aprenda esos datos de entrada. El diseño de la red implica la selección del modelo o tipo de red, las variables a incorporar y el pre-procesamiento de la información que formará parte del conjunto de entrenamiento. Las RNA implementan algoritmos que intentan alcanzar cierto desempeño aprendiendo de la experiencia, formulando generalizaciones desde situaciones similares y penalizando estados en los que se han alcanzado resultados pobres (Chaturvedi, 2008).

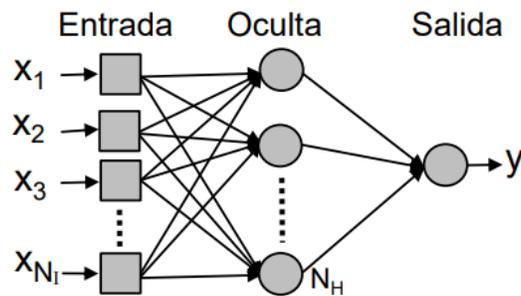
Dado que las RNAs pueden aprender y resolver problemas complejos, han sido aplicadas en campos tan diversos como el reconocimiento de patrones, clasificación, el procesamiento del habla, el control de sistemas, aplicaciones médicas, bioinformática, entre muchos otros (Bishop, 1995; Haykin, 2008). Además, han sido aplicadas a gran cantidad de problemas, no sólo en la academia sino también en la industria (Meireles, et al., 2003).

- **Perceptrón Multicapa (MLP)**

Uno de los tipos de RNA más comúnmente utilizados es el Perceptrón Multicapa (MLP de su nombre en inglés Multilayer Perceptrón). Esta formado por varias capas de neuronas del tipo Perceptrón simple. Posee típicamente una capa de entrada, una o más capas ocultas y una capa de salida. El MLP es una red de tipo unidireccional que utiliza aprendizaje supervisado. Las neuronas de la capa de entrada alimentan la red distribuyendo hacia adelante las señales de entrada. Cada neurona en las capas ocultas y de salida recibe una entrada de los nodos de las capas previas y calculan un valor de salida para la siguiente capa. La operación de un MLP con una capa oculta y una capa de salida lineal se puede expresar matemáticamente de la siguiente forma:

$$y_k = \sum_{j=1}^{N_H} w_{kj} \sigma \left( \sum_{i=1}^{N_I} w_{ji} x_i \pm \theta_j \right) \pm \theta_k \quad (6)$$

donde  $x_i$  representa a cada una de a las  $N_I$  entradas de la red,  $N_H$  es el número de neuronas en la capa oculta,  $y_k$  a la  $k$ -ésima salida de la capa final,  $w_{ji}$  son los pesos de la capa oculta y  $\theta_j$  sus umbrales,  $w_{kj}$  los pesos de la capa de salida y  $\theta_k$  sus umbrales. La estructura de un MLP con  $k = 1$  se presenta gráficamente en la Figura 13. Esta es la arquitectura más común de MLP (Haykin, 2007). Un resultado importante con respecto a los modelos MLP es el denominado teorema de aproximación universal (Cybenko, 1989) que establece que dado una suficiente cantidad de neuronas en la capa oculta, una red neuronal MLP puede aproximar cualquier función continua limitada a cualquier precisión especificada; en otras palabras, siempre existe una red neuronal MLP de tres capas que puede aproximar cualquier función no lineal arbitraria, continua y multidimensional, para cualquier precisión deseada, siempre que el modelo tenga suficiente unidades neuronales (Hornik, et al., 1989). Sin embargo, cabe mencionar que el teorema no dice que una red de una sola capa es óptima en el sentido del tiempo de aprendizaje o la facilidad de aplicación; es más, el teorema no da indicaciones sobre el número requerido de unidades ocultas necesarias para conseguir el grado deseado de precisión (Burrascano, et al., 1999). La determinación de la cantidad suficiente de neuronas ocultas se logra, en la mayoría de los casos, mediante un procedimiento de prueba y error.



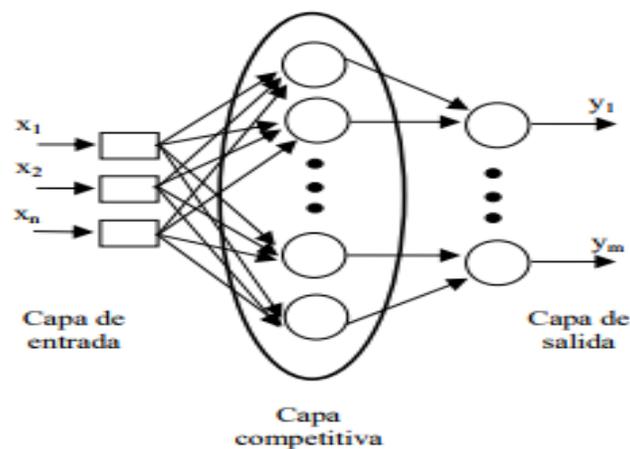
**Figura 13.** Perceptrón multicapa.

- **Redes Neuronales Probabilísticas (PNN)**

Las redes neuronales probabilísticas (RNP) pueden ser utilizadas para problemas de clasificación de datos.

A diferencia del proceso utilizado para problemas de regresión, en el cual se realiza ajuste de pesos y bias, de acuerdo al error presentado, en el proceso de clasificación no se realiza ningún ajuste de pesos y sólo los patrones de salida son determinados mediante la comparación y el cálculo de distancias.

En la figura 14 se presenta la configuración de la red.



**Figura 14.** Red neuronal probabilística.

Su funcionamiento puede ser explicado de la siguiente manera (Cadena, et al., 2008):

Cuando se le presenta a la red una entrada, la primera capa se ocupa de calcular las distancias desde el vector de N entrada a los vectores de entrada entrenados y produce un vector cuyos elementos indican como está de cerca la entrada respecto a la entrada entrenada.

La función de la segunda capa es sumar las contribuciones para cada clase de entrada y producir con ellas, un vector de salida con las probabilidades.

Finalmente, una función de transferencia en la salida de la segunda capa del tipo “competitiva”, selecciona la máxima de estas probabilidades y produce un 1 para esa clase y cero para las demás.

- **Redes de Funciones de Base Radial (RBF)**

Las funciones de base radial, se caracterizan por una salida que se incrementa (o decrece) monótonamente con la distancia de la entrada respecto a un punto central. Son por lo tanto funciones de la forma:

$$R(X, u, \sigma) \tag{7}$$

Donde  $u$  es el punto central de la función  $R$ , y  $\sigma$  es el ancho de la misma, indica cómo se incrementa (o decrece) el valor de la función con la distancia de la entrada  $X$  a su centro. A continuación se mencionan las RBF más utilizadas.

- RBF Gaussiana

$$R(x) = \exp\left(-\|x - u\|^2 / 2\sigma^2\right) \tag{8}$$

- RBF cuadrática

$$R(x) = \sqrt{\|x - u\|^2 + \sigma^2} \tag{9}$$

- RBF logística

$$R(x) = \frac{1}{1 + \exp\left[\|x - u\|^2 / \sigma^2\right]} \tag{10}$$

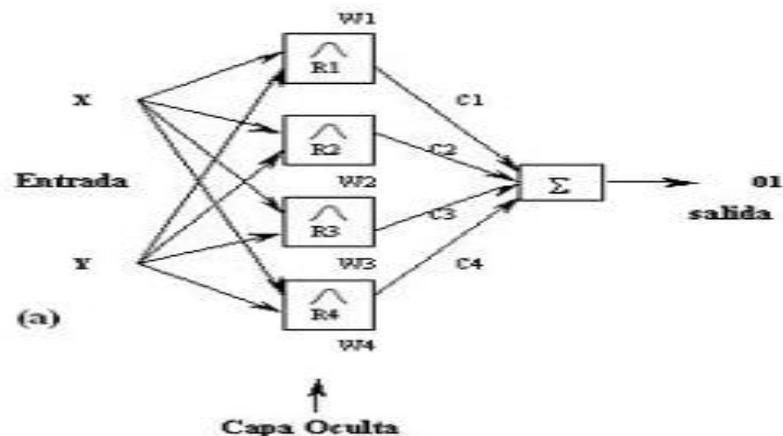


Figura 15. Red basada en funciones de base radial.

La salida de una red basada en funciones de base radial puede ser calculada de dos maneras. En el método simple, como muestra la figura 15, la salida final es la suma ponderada de los valores de la salida asociados a cada campo receptivo:

$$d(X) = \sum_{i=1}^H c_i w_i = \sum_{i=1}^H c_i R_i(X) \quad (11)$$

Donde  $c_i$  es el valor de salida asociado al  $i$ -ésimo campo receptivo. Podemos también considerar  $c_i$  como el peso de conexión entre el campo receptivo  $i$  y la unidad de salida. Un método más complicado para calcular la salida global es adoptar la media ponderada de las salidas asociadas a cada campo receptivo:

$$d(X) = \frac{\sum_{i=1}^H c_i w_i}{\sum_{i=1}^H w_i} = \frac{\sum_{i=1}^H c_i R_i(X)}{\sum_{i=1}^H R_i(X)} \quad (12)$$

La media ponderada, tiene un alto grado de complejidad computacional, pero es muy ventajosa en aquellos puntos de las áreas de superposición entre dos o más campos receptivos, la salida global será una interpolación entre las salidas de los campos receptivos superpuestos.

### 4.3.5.3. Máquinas de vectores de soporte (SVM)

Las máquinas de vectores soporte fueron introducidas por Vladimir Vapnik y su grupo de trabajo. La primera mención fue en 1979, pero el principal documento fue publicado en 1995.

El apoyo de las máquinas de vectores soporte (SVM) son un método de aprendizaje relativamente nuevo utilizado para la clasificación binaria. La idea básica es encontrar un hiperplano que separa los datos de  $d$ -dimensionales perfectamente en sus dos clases. Sin embargo, ya que los datos de ejemplo a menudo no son linealmente separables, SVM introduce la noción de un kernel o núcleo que se introduce en un espacio de características que pone los datos a un nivel de dimensiones superiores donde los datos son separables. Normalmente, las dimensiones superiores podrían causar problemas de cómputo, La clave del éxito utilizada en SVM es que el espacio de dimensiones superiores no necesita tratarse directamente (como resulta, sólo la fórmula para el producto punto en ese espacio que se necesita), lo que elimina las preocupaciones mencionadas. Además, la CV-dimensión (una medida de la probabilidad de un sistema para un buen desempeño en los datos que no se ven) de SVM se puede calcular de forma explícita, a diferencia de otros tipos de aprendizaje métodos como redes neuronales, para los que no hay ninguna medida. En general, las SVM son intuitivas, también se han extendido a resolver tareas de regresión. La formulación matemática de las Máquinas de Vectores Soporte varía dependiendo de la naturaleza de los datos, es decir, existe una formulación para los casos linealmente separables y, por otro lado, una formulación para casos no linealmente separables. Las máquinas de vectores soporten siempre buscan encontrar un hiperplano óptimo que separe las clases (Yang, et al., 2009).

#### ➤ Casos linealmente separables

En el caso de ser linealmente separable, las MVS conforman hiperplanos que separan los datos de entrada en dos subgrupos que poseen una etiqueta propia. En medio de todos los posibles planos de separación de las dos clases etiquetadas como  $\{-1, +1\}$ , existe sólo un hiperplano de separación óptimo, de forma que la distancia entre el hiperplano óptimo y el valor de entrada más cercano sea máxima (maximización del margen) (ver Figura 16) con la intención de forzar la generalización de la máquina que se esté construyendo como se muestra en la siguiente función.

Función de decisión para la svm

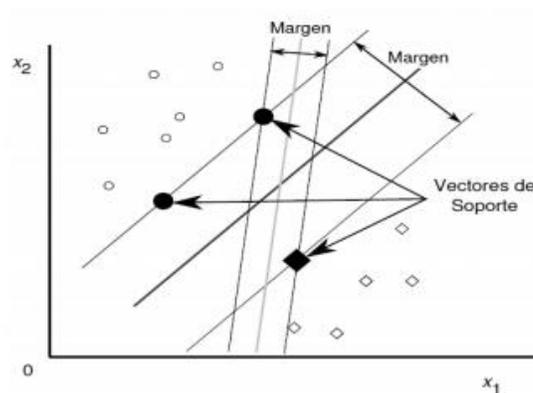
$$(w \cdot x^{+1} + b) = +1 \quad (13)$$

$$(w \cdot x^{-1} + b) = -1$$

$$y_i = \begin{cases} 1 & \text{si } x \in \text{Clase 1} \\ -1 & \text{si } x \in \text{Clase 2} \end{cases} \quad (14)$$

Resolviendo las ecuaciones

$$b = -\frac{1}{2}(w \cdot x^{+1} + w \cdot x^{-1}) \quad (15)$$



**Figura 16.** Cálculo de vectores soporte y maximización del margen

➤ Casos linealmente no separables

Para el caso no lineal existen dos casos que vale la pena mencionar: El primero de estos se presenta cuando los datos pueden ser separables con margen máximo pero en un espacio de características (el cual es de una mayor dimensionalidad y se obtiene a través de una transformación a las variables del espacio de entrada) mediante el uso de una función kernel como se expresa en las siguientes funciones (ver Figura 17).

Función de transformación

$$x \rightarrow \phi(x) \quad (16)$$

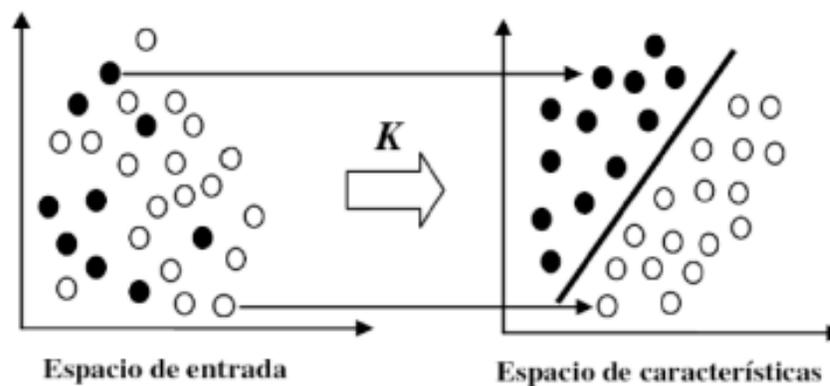
Función de kernel

$$K(x_i, x_j) = \phi^T(x_i) \phi(x_j) \quad (17)$$

Aplicando la función kernel

$$F = (\alpha) \sum_{i=1}^M \alpha_i - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^M \alpha_i \alpha_j y_i y_j K(x_i, x_j) \quad (18)$$

$$K(x, x') = \langle \Phi(x), \Phi(x') \rangle \quad (19)$$



**Figura 17.** Transformación del espacio de entrada a un espacio de características por medio de un kernel.

Los tipos de kernel más usados son:

- Lineales

$$K(x_i, x_j) = x_i^T x_j \quad (20)$$

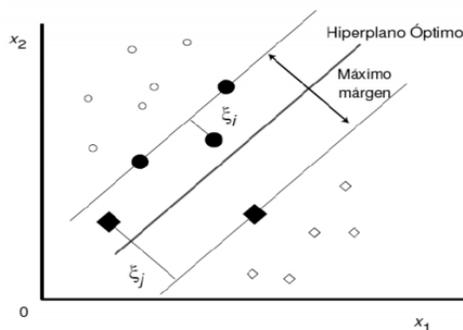
- Polinomiales

$$K(x_i, x_j) = (x_i^T x_j + 1)^d \quad (21)$$

- Radial basis function (RBF)

$$K(x_i, x_j) = \exp(-\gamma \|x_i - x_j\|^2) \quad (22)$$

El segundo caso especial de las svm denominado “Soft Margin” o margen blando, es utilizado cuando no es posible encontrar una transformación de los datos que permita separarlos linealmente, bien sea en el espacio de entrada o en el espacio de características como se expresa en la siguiente imagen. Esto incluye la constante C que determina la holgadura del margen y este debe ser estimado apriori, por último tener en cuenta que la elección de la C y el tipo de kernel influyen directamente en el desempeño de las svm (ver Figura 18). No es difícil ampliar las ideas generales del caso separable al caso no separable introduciendo una variable  $\xi_i$  de holgura en las restricciones y plantear un nuevo conjunto de restricciones:



**Figura 18.** Maximización del margen con soft margin

$$x_i \cdot w + b \geq +1 - \xi_i \quad \text{para } y_i = +1 \quad (23)$$

$$x_i \cdot w + b \geq -1 + \xi_i \quad \text{para } y_i = -1 \quad (24)$$

$$\xi_i \geq 0 \quad \forall_i = 1, \dots, n \quad (25)$$

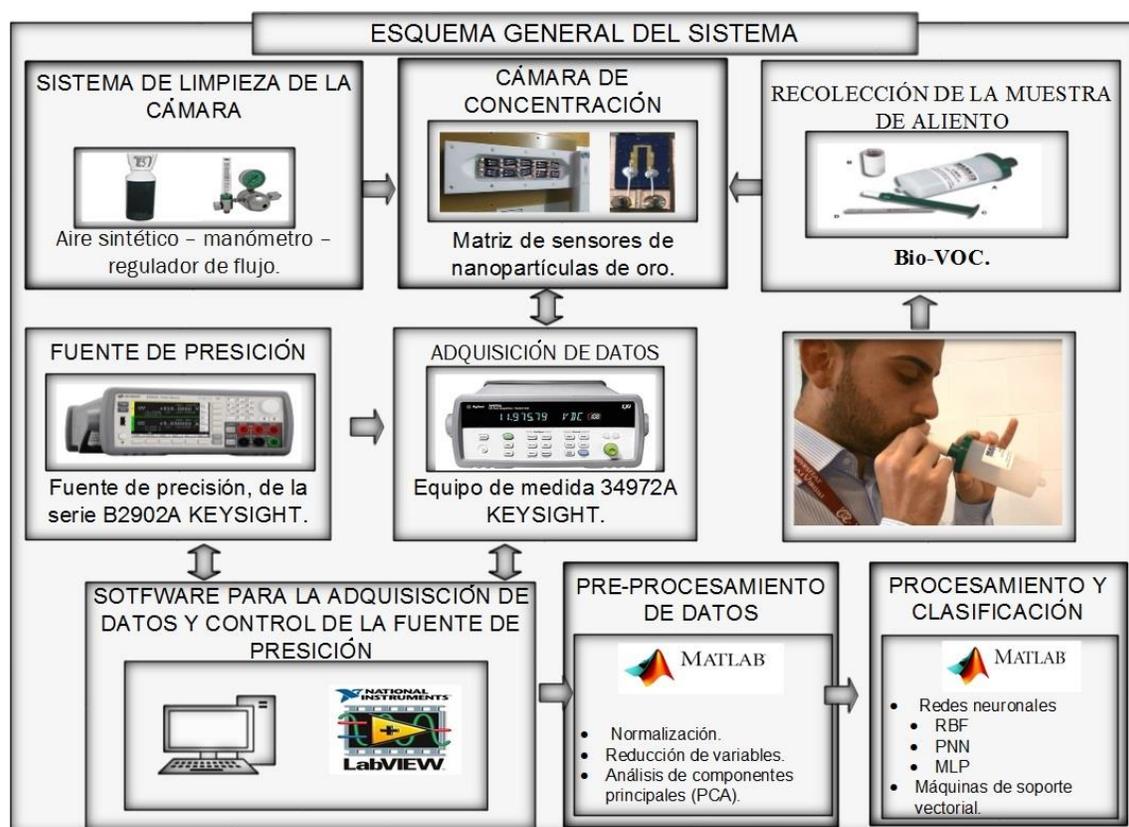
Ya que en el caso de margen suave, necesariamente se cometen errores, parece natural asignar a la función objetivo un coste extra que en cierto modo penalice los errores (función de pérdida). Por todo ello, una opción lógica sera plantear la función de minimización.

$$\frac{1}{2} \|w\|^2 + C \sum_{i=1}^n \xi_i^k \quad (26)$$

## CAPITULO 5. DESARROLLO DEL EQUIPO SENSORIAL

### 5.1. Descripción general.

En la Figura 19 se presenta el esquema general del sistema, el cual comprende de una matriz de sensores de nanopartículas de oro, fuente de precisión, tarjeta de adquisición de datos, sistema de limpieza de la cámara y un equipo de cómputo para aplicar técnicas de reconocimiento de patrones. El Bio-VOC es el muestreador que permite realizar la recolección de la muestra de aliento exhalado.



**Figura 19.** Esquema general del sistema de olfato electrónico.

## 5.2. Recolección de la muestra de aliento

Como parte principal del desarrollo del sistema para el diagnóstico del Cáncer Gástrico se estudiaron dos métodos de recolección de la muestra de aliento:

- 1) El primer método compuesto por Bolsas Mylar, Bolsas de volumen muerto, filtro bacterial y boquilla fue estudiado a partir del procedimiento o protocolo de muestreo realizado por el Doctor Hosam H y colaboradores del “Department of Chemical Engineering & Russell Berrie Nanotechnology Institute Technion –Institute of Technology” de Israel. En este procedimiento se realiza el proceso de limpieza de los pulmones donde el paciente debe inhalar a través de la boquilla del dispositivo y luego exhalar hacia el aire ambiente. Luego en el proceso de adquisición de la muestra el paciente debe llenar completamente dos bolsas con el aire exhalado, donde los compuestos serán enviados a una etapa de medición y/o de almacenamiento de la muestra (ejemplo: Tubos Tenax).

Se observó que con este método el paciente puede presentar fatiga ya que al inicio se debe lavar los pulmones a través de la inhalación y exhalación continua por la boca; a su vez se le debe incluir un dispositivo (Clip) en la nariz, con el objetivo de cerrar los orificios nasales y evitar que inhale por este mismo lugar. Lo anterior podría darle una sensación de ahogo al paciente con lo que podría generar una medida errónea, incomodidad del paciente o motivo de deserción a la prueba. Las bolsas deben ser purgadas con Nitrógeno puro (99.95 %) con el fin de que se puedan reutilizar nuevamente.

- 2) El segundo sistema de muestreo llamado Bio-VOC, es un dispositivo integrado de bajo costo, de fácil uso y que no requiere personal calificado para ser usado en el monitoreo Biológico de COVs en el aliento. A comparación con el método de muestreo anterior aquí no es necesario realizar la agrupación de diferentes mecanismos, ya que el sistema viene fabricado en una sola unidad y elementos más flexibles para la extracción de la muestra. En el Bio-VOC solo se necesita agregar una boquilla y un tubo Tenax para el almacenamiento de la muestra, con el fin de completar la unidad de muestreo. En este mecanismo los pacientes no deberán hacer un lavado previo de los pulmones, a comparación con sistemas compuesto con bolsas Mylar. El lavado de los dispositivos Bio-VOC se hace con una preparación de agua destilada y un desinfectante (ejemplo: Amukina) con el objetivo de preparar nuevamente el dispositivo para la realización de otro conjunto de medidas.

El Bio-VOC, fue el muestreador seleccionado para la realización de las diferentes pruebas con tubos pre-concentradores (Tenax).

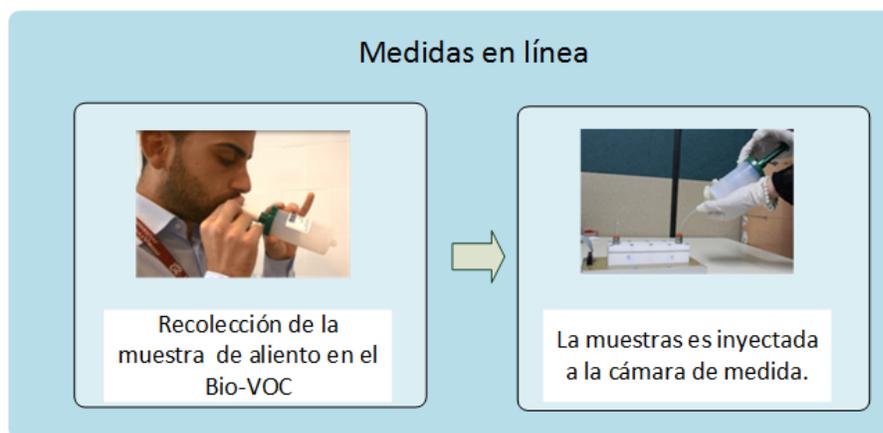
Mediante una planificación previa por el Dr gastroenterólogo Julián David Martínez Marín se definió que los pacientes seleccionados debían ser de ambos sexos, con diferentes niveles de la enfermedad y pacientes voluntarios o de control. Los pacientes de control podrían presentar otras afectaciones que conlleven a identificar de mejor forma la enfermedad, como úlceras gástricas, el *Helicobacter Pilory*, entre otras causas.

Se desarrolló el protocolo de muestreo, donde a los pacientes voluntarios se le adquirieron las muestras de aliento en la Unidad de gastroenterología y endoscopia digestiva (GASTROSUR S.A.S) en una locación del Hospital Universitario la Samaritana en la Ciudad de Bogotá.

Para el acondicionamiento de las muestras de aliento exhalado se exploraron dos metodologías diferentes, en ambos casos se empleó el dispositivo Bio-COV como muestreador.

- **Medidas en línea**

En el primer método el aliento recolectado en este dispositivo se inyecta directamente en la cámara de medida que aloja la matriz de sensores, como se aprecia en la figura 20.

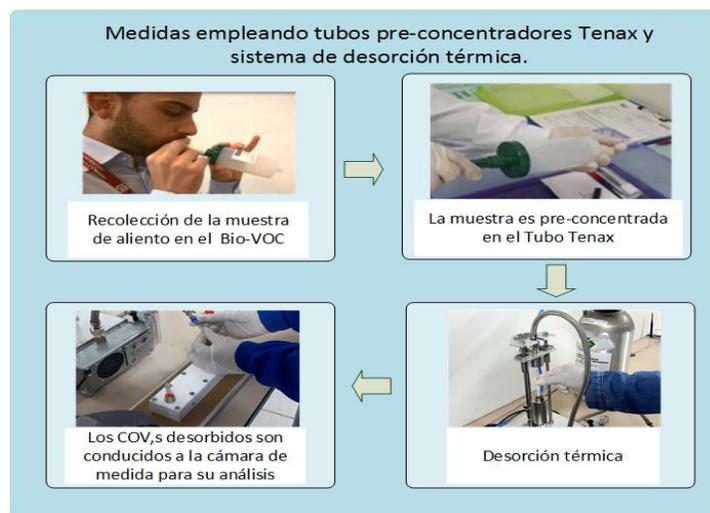


**Figura 20.** Medidas en línea

- **Medidas empleando tubos pre-concentradores y sistema de desorción térmica**

En el segundo método se utilizan tubos Tenax como pre-consentadores, la muestra recolectada en el Bio-VOC se pasa a través del tubo eliminando la humedad y reteniendo los COV,s de interés. Para extraer los COV,s atrapados se emplea un sistema

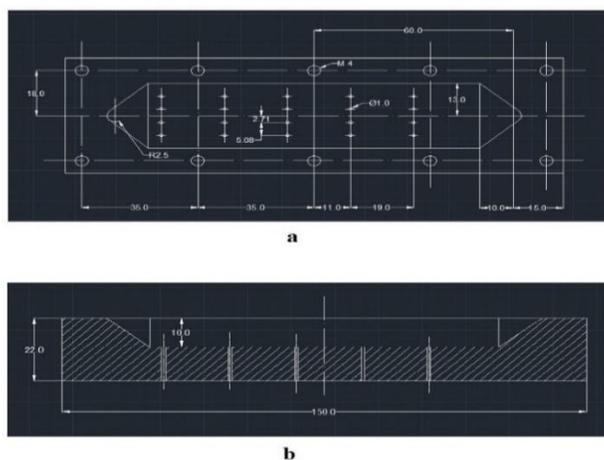
de desorción térmica que permite calentar los tubos para desorber los volátiles y arrastrarlos a través de un flujo de nitrógeno hasta la cámara de medida.



**Figura 21.** Medidas empleando tubos pre-concentradores y sistema de desorción.

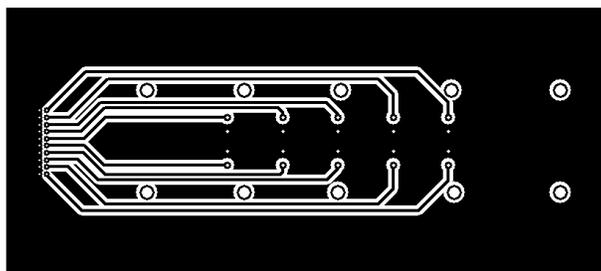
### 5.3. Cámara de medida

La cámara de sensores fue construida con material “Teflón”, el cual es un polímero que se caracteriza por resistir temperaturas de unos 300° C durante largos periodos sin sufrir modificaciones. Es resistente a la mayoría de los ácidos y a las bases de muchos disolventes orgánicos. En la figura 22 se observan los planos de la cámara fabricada.



**Figura 22.** Diseño de la Cámara de medida. a) Vista Superior b) Corte lateral

La cámara esta soportada sobre una base que la compone el circuito impreso (PCB) y un marco fabricado en aluminio, el circuito impreso permite llevar las terminales de los sensores a un único conector de 20 pines.



**Figura 23.** Diseño del circuito PCB.

La cámara aloja en su interior una matriz de 10 sensores de nanopartículas de oro (Figura24).



**Figura 24.** Vista interior de la cámara de sensores.

En la parte superior (Ver Figura 25), contiene dos orificios con conectores especiales para intercambiar los conductos que transportan las partículas de aliento para ser detectadas, dispone de un único conector al cual están conectadas las terminales de los sensores.



**Figura 25.** Cámara de medida.

### **5.3.1. Sensores de nanopartículas de oro.**

Los sensores de nanopartículas de oro que se utilizaron en la investigación fueron fabricados por la Universidad Rovira I Virgili (URV). Este proceso se efectuó en dos pasos. Al principio las AuNPs o GNP fueron depositadas sobre un sustrato base, mediante la técnica avanzada de deposición de gas (AGD), seguido por un proceso de recubrimiento por inmersión para la funcionalización de las GNP con ligandos orgánicos.

El material activo de los sensores son AuNPs de oro funcionalizados con distintos compuestos orgánicos. Las AuNPs aseguran la conducción eléctrica, mientras el material orgánico reacciona con los compuestos del aliento.

A continuación, se describe su proceso de fabricación

Los nanomateriales producidos se caracterizaron completamente empleando diferentes técnicas tales como: Microscopía electrónica de Barrido (SEM), Difracción de Rayos X (XRD), Espectroscopia de Fotoelectrones de Rayos X (XPS) y la Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).

#### **5.3.1.1. Preparación de las nanopartículas**

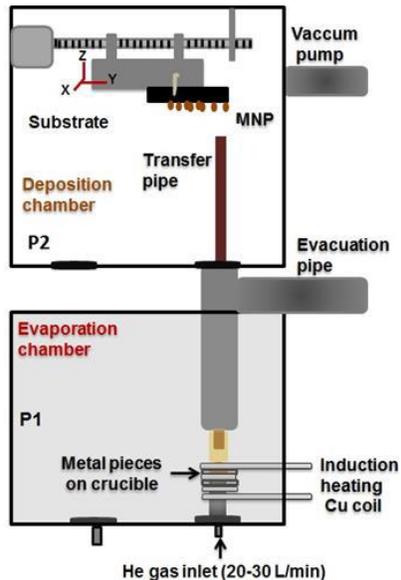
Las nanopartículas de oro se prepararon y se depositaron sobre diferentes sustratos que emplean la técnica de deposición de gas avanzado (Granqvist., 1976).

Los sustratos de vidrio se utilizaron para el análisis con XRD, los sustratos de silicio con el SEM y XPS, fluoruro de sustratos de calcio (transparente) para el análisis FTIR. Electrodo de oro coplanar paralelo se colocaron sobre sustratos de silicio para medidas eléctricas.

Antes de la deposición de la AuNPs por AGD, los sustratos de silicio y los dispositivos de detección se sonicaron sucesivamente durante 5 minutos en propanol y durante 5 minutos en acetona en un baño de ultrasonidos a temperatura ambiente, y finalmente se enjuagaron con agua desionizada para retirar las impurezas.

La configuración de los equipos AGD fue adaptada en base a estudios previos realizados por un grupo de investigadores que informaron la fabricación de películas delgadas de nanopartículas de oro. (Ederth, et al, 2002; Ederth, et al, 2000).

En la figura 26 se muestra la representación esquemática de AGD.



**Figura 26.** Equipo avanzado de deposición de gas adoptado para la fabricación de nanopartículas metálicas.

### 5.3.1.2. Funcionalización de nanopartículas de oro con ligandos orgánicos

Un número de seis compuestos orgánicos diferentes fueron seleccionados para la funcionalización de las nanopartículas de oro. A continuación, se mencionan los siguientes:

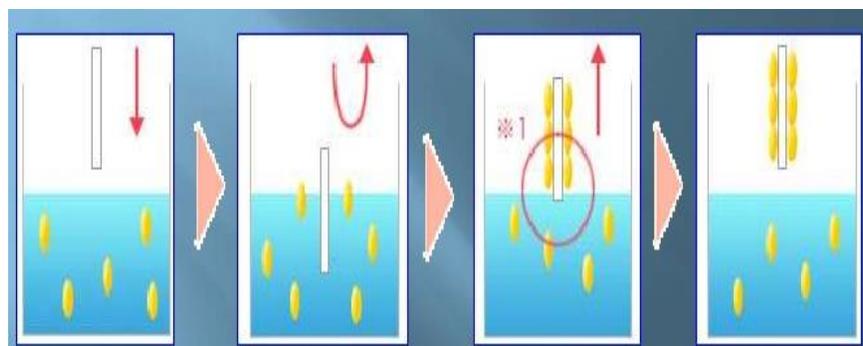
- Butanotiol :  $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_3\text{SH}$
- Decanotiol :  $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_9\text{SH}$
- Dodecanotiol :  $\text{CH}_3 (\text{CH}_2)_{11}\text{SH}$
- 4 -metoxi-  $\alpha$  - toluenotiol :  $\text{CH}_3\text{OC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{SH}$
- 11 -mercapto- 1 - undecanol :  $\text{HS} (\text{CH}_2)_{11}\text{OH}$
- 2 - mercaptobenzoxazol :  $\text{C}_7\text{H}_5\text{NOS}$ .

Los compuestos orgánicos contienen un grupo Tiol, que se unen fuertemente a las nanopartículas de oro por que tienen una fuerte afinidad del azufre al oro (Grönbeck, H., 2000). Estos fueron seleccionados en base a informes anteriores que mostraron que los sensores de gases de químicos basados en nanopartículas de oro funcionalizadas con los ligandos orgánicos, presentan características prometedoras para la detección de contaminantes ambientales (por ejemplo, formaldehído, acetaldehído), así como biomarcadores volátiles para la detección de enfermedades en muestras de aliento no invasivos. (Peng et al., 2009).

Dos métodos han sido probados para la funcionalización de las nanopartículas de oro con ligandos orgánicos:

El primer método consistió en aplicar 1 ml del compuesto sobre la superficie de la muestra con las nanopartículas de oro previamente depositados por AGD, y se dispuso el recubrimiento de la muestra a un valor de 3000 rpm, durante 5 minutos. Este primer método no dio buenos resultados para nuestro propósito, porque la mayoría de la disolución se extendió por toda la superficie de la muestra durante el proceso de spin-coating.

El segundo método consistió en recubrimiento por inmersión (Ver figura 27) de las muestras en la disolución durante 1 hora aproximadamente. Para evaporar el disolvente, las muestras se secaron a 50 °C durante 1 hora, usando una rampa de temperatura de 20 min para alcanzar la temperatura de secado. Este método fue el que se seleccionó para la fabricación de los sensores de gases.



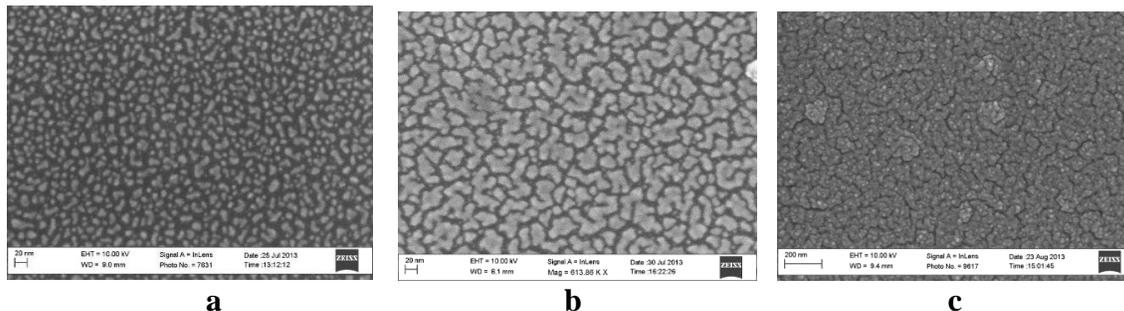
**Figura 27.** Proceso de recubrimiento por inmersión

### 5.3.1.3. Caracterización de nanomateriales

#### Estudios morfológicos:

Se llevaron a cabo estudios morfológicos empleando el equipo SEM. El número de ciclos de deposición utilizados durante la deposición de las nanopartículas por AGD tuvo una influencia directa sobre la morfología de las AuNPs (véanse las Figuras 28a y 28c).

Un solo ciclo de deposición condujo a la deposición de nanopartículas de oro aisladas (Figura 28a). Cuando se incrementó el número de ciclos de deposición a dos, el AuNPs ya comenzó a aglomerarse en pequeños grupos (Figura 28b), mientras que se formó una delgada película de AuNPs compacta cuando se emplearon ocho ciclos de deposición (Figura 28c).



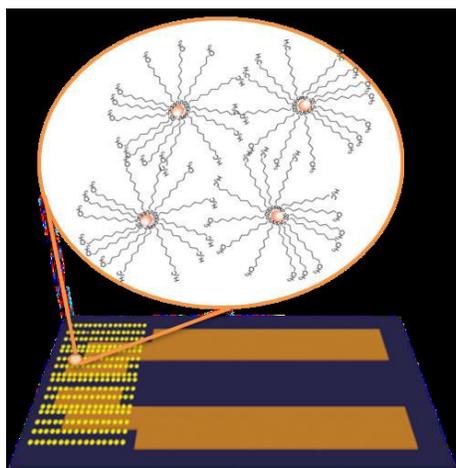
**Figura 28.** Imágenes de SEM de la NP Au depositado por AGD utilizando diferentes ciclos de deposición: a) uno; b ) dos; c ) ocho.

Fuente: Reporte Universidad de Uppsala 2013  
Tomado de: Universitat Rovira I Virgili

#### 5.3.1.4. Caracterización

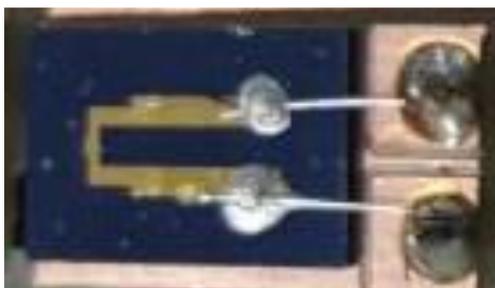
La caracterización eléctrica de las muestras se llevó a cabo mediante la medición de la resistencia eléctrica entre los electrodos de oro. El análisis de las muestras de AuNPs mostradas en las Figuras 28a y 28b, demostró que no hubo ninguna formación de algún contacto eléctrico entre los electrodos de los dispositivos de detección para el caso de estas muestras, por lo que este resultado fortaleció nuestro hallazgo inicial con respecto a la formación de nanopartículas aislados de oro. La resistencia eléctrica medida en el caso de las muestras de AuNPs mostrados en la Figura 28c estaba en unidades de Ohms, indicando la formación de una película continua, que es inadecuada para aplicaciones de detección de gas semiconductor.

La funcionalización de las AuNPs con los ligandos orgánicos condujo a la formación de las cadenas de los nanomateriales.



**Figura 29.** formación de las cadenas de los nanomateriales.

Es importante señalar aquí que en algunos casos fue necesario repetir el proceso de recubrimiento por inmersión varias veces a fin de obtener un camino continuo. Por lo tanto, podemos afirmar que una distancia mayor entre los electrodos de los dispositivos de detección haría más difícil o incluso imposible la conexión eléctrica entre los electrodos. Un fenómeno muy diferente se observó en el caso de la funcionalización con ligandos orgánicos de la muestra de la Figura 28b. Inmediatamente después de la funcionalización AuNPs, la resistencia eléctrica entre los sensores estaba en el rango de decenas de MOhms. Sin embargo, el nanomaterial formado se demostró no ser estable, y la resistencia eléctrica continuó disminuyendo durante el tiempo, cayendo a las decenas de nivel kOhm después de transcurrido unos meses. Lo anterior podría atribuirse a un proceso de conglomeración lenta y continúa de los grupos AuNPs que ocurren después de funcionalización AuNPs con ligandos orgánicos. Los sensores diseñados se muestran en la Figura 30.



**Figura 30.** Sensor de gas de AuNPs.

En la Tabla 4, se describen los sensores utilizados para las pruebas de detección del aliento exhalado:

**Tabla 4.** Sensores AuNPs.

No.	Nomenclatura	Resistencia	Valores medidos (Equipo DAQ)	AuNPs + Ligando
1	E5F	1.3/1.24M $\Omega$ , 40.5, 56 k $\Omega$	<b>0.346,92 M<math>\Omega</math></b>	F: 2-Mercaptobenzoxazole
2	E17M	0.1 /01 M $\Omega$	<b>0.252,78M<math>\Omega</math></b>	M: Methyl-3-Mercaptopropionate
3	E15B	450/445 k $\Omega$ 0.445 M $\Omega$	<b>0.505,56M<math>\Omega</math></b>	B: 1-Decanethiol
4	E18B	6.55/4.02M $\Omega$	<b>0.641,0M<math>\Omega</math></b>	B: 1-Decanethiol
5	E16F	1.6/1.7 k $\Omega$	<b>1.507,0 K<math>\Omega</math></b>	F: 2-Mercaptobenzoxazol
6	E17K	1.89 k $\Omega$	<b>1.561,7 K<math>\Omega</math></b>	K:11-Mercaptoundecanoic acid
7	E6D	192/191 k $\Omega$	<b>10.941,4K<math>\Omega</math></b>	D: 4-Methoxy - $\alpha$ -toluenethiol
8	E2D	6.8/6.7 M $\Omega$	<b>6.786,9 M<math>\Omega</math></b>	D: 4-Methoxy - $\alpha$ -toluenethiol
9	E16A	7.2/7.0 k $\Omega$	<b>0.758,66M<math>\Omega</math></b>	A: 1-Butanethiol
10	E10G	6.28/5.76M $\Omega$	<b>6.182.4 M<math>\Omega</math></b>	G:Octadecylamine

Estos sensores como se mencionó anteriormente fueron desarrollados en la URV, con el objetivo de realizar las pruebas con el aliento exhalado. Tal y como se observa en la tabla, se fabricaron sensores de nanopartículas de Oro con diferentes ligandos orgánicos. Los valores medidos reales fueron obtenidos con los equipos de medición de KEYSIGHT. Estas pruebas fueron realizadas en el tercer piso del Bloque SI IIDTA de la Universidad de Pamplona.

### 5.3.2. Sistema de limpieza de la cámara

Después de analizar una muestra se debe llevar a cabo la recuperación de los sensores. Este proceso hace referencia a la limpieza de la cámara después de haber inyectado una muestra de aliento. Lo que se busca es que todos los COV's atrapados dentro de la cámara sean expulsados hacia el exterior, incluyendo aquellos que se hallan depositado en la capa activa

de los sensores, permitiendo que estos recuperen su línea base y así la cámara quede lista para hacer el análisis de una nueva muestra.

Se implementó un sistema de limpieza constituido por un cilindro de aire sintético comprimido, un manómetro y un flujómetro, (ver figura 31.)



**Figura 31.** Sistema de limpieza de la cámara de medida.

El manómetro permite visualizar y regular la presión de salida del aire AS, con el flujometro se visualiza y controla el flujo de aire que se suministra a la cámara.

### **¿Por qué aire sintético?**

El aire sintético (AS), es una mezcla de gases que carecen de color, olor y sabor. La composición de la misma es constante, manteniéndose aproximadamente en un 21% de oxígeno y de 79% de nitrógeno gaseoso en volumen. El aire no presenta peligro de inflamabilidad y no es corrosivo cuando está exento de humedad.

Para alcanzar su pureza o composición específica, es compuesto sintéticamente y almacenado en cilindros especiales de acero como gas no licuado a alta presión.

## **5.4. Acondicionamiento de las señales.**

Para el acondicionamiento de las señales provenientes de la matriz de sensores se emplearon, una fuente de precisión y una tarjeta de adquisición de datos de alta resolución las cuales se describen a continuación.

### 5.4.1. Descripción de la fuente de precisión

En la Figura 32 se observa la fuente de precisión, de la serie B2902A KEYSIGHT. La Fuente de Precisión combina las capacidades de una fuente de corriente y tensión, un medidor de corriente y tensión, con la capacidad de cambiar fácilmente entre estas diversas funciones en un solo instrumento (Agilent T., 2010). Esta fuente de última generación fue útil para la alimentación de los sensores AuNPs.



**Figura 32.** Fuente de precisión B2902A KEYSIGHT.

### Características

- Amplia cobertura de hasta 210 V, 3 A DC / 10,5 A de pulso.
- Resolución de medición mínima de 10 fA / 100 nV (6½ dígitos).
- Resolución mínima de origen de 10 fA / 100 nV (6½ dígitos).
- La pantalla a color del panel frontal de 4.3 "admite los modos de vista gráfica y numérica.
- Generación de forma de onda arbitraria (AWG) de alta resolución y funciones de barrido de lista (Intervalo mínimo de 10  $\mu$ s).
- Capacidad de digitalización de alta velocidad (máxima frecuencia de muestreo de 100000 puntos / s).
- Software de aplicación gratuito para facilitar el control de instrumentos basado en PC.
- Controladores IVI-COM y SCPI que admiten el conjunto de comandos SMU convencional para compatibilidad.
- LXI Core Conformant, USB2.0, GPIB, LAN y interfaz de E / S digital

### 5.4.2. Tarjeta de adquisición de datos

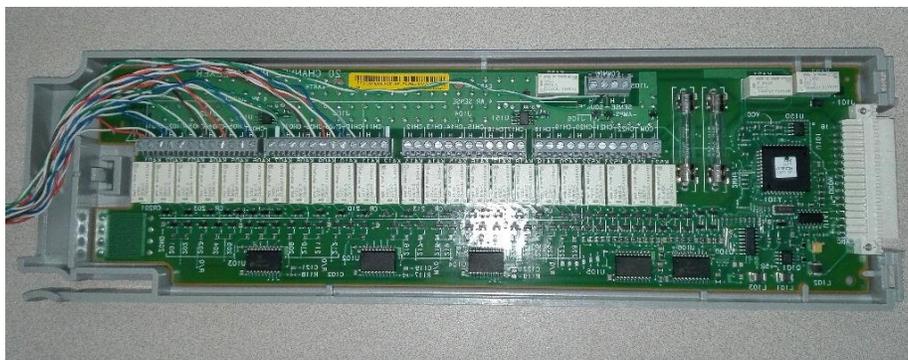
Para la adquisición de los datos, se utilizó el equipo de medida 34972A LXI/Data Acquisition, KEYSIGHT. (Ver Figura 33).

La unidad del interruptor Keysight 34972A Adquisición de Datos / Data Logger se compone de una unidad central de 3 ranuras con un built-in 6 DMM ½ dígitos y 8 módulos de conmutación y control diferentes.



**Figura 33.** Equipo de medida 34972A LXI/Data Acquisition, KEYSIGHT.

El 34972A puede aceptar cualquiera de los módulos plug-in 34970A. Los módulos plug-in también cuentan con terminales de tornillo y cuentan con cierre de relé para que pueda crear un registrador de datos compacto. Este sistema de adquisición de datos cuenta con todas las funciones o unidad de conmutación de bajo costo que es fácil de conectar, configurar y utilizar en aplicaciones de campo. Para el acondicionamiento de las señales de los sensores de GNP son ideales, permite medir la corriente de cada uno de los sensores conectados al módulo de conmutación.



**Figura 34.** Módulo plug-in 34970A

### Características principales y especificaciones

- 3-ranuras de la unidad de adquisición de datos LXI con 6 ½ dígitos DMM (22 bits) y 8 módulos plug-in para elegir.
- Mide 11 señales de entrada diferentes, incluyendo la temperatura con termopares, RTD y termistores.
- Resistencia de 2 o 4 hilos; frecuencia y período.
- Acepta todos los módulos plug-in de conmutación y control 34970A y es compatible con el conjunto de comandos SCPI 34970A.
- 1 Gbit LAN y USB 2.0 para una fácil conectividad con el PC.
- Puerto de memoria USB para el almacenamiento o la transferencia de datos.
- Interfaz web gráfica para facilitar la puesta en marcha y control.

#### 5.4.3. conexión de los equipos

La matriz de sensores GNP está conectada a los 10 primeros canales del módulo multiplexor 34972A. Aunque este instrumento puede medir diferentes parámetros (tensión, resistencia, frecuencia, entre otras) se configura para medir la corriente de cada uno de los canales. El B2902A está conectado a las entradas comunes del módulo multiplexor del 34972A con el objeto de ser el instrumento que proporciona el voltaje de alimentación de los sensores.

Estos dos instrumentos son configurados y controlados a través de una interfaz desarrollada en la plataforma de Labview. La comunicación entre la interfaz de usuario y los dos equipos se realiza por conexión USB.

En la figura 35 se aprecia la conexión de los diferentes equipos.

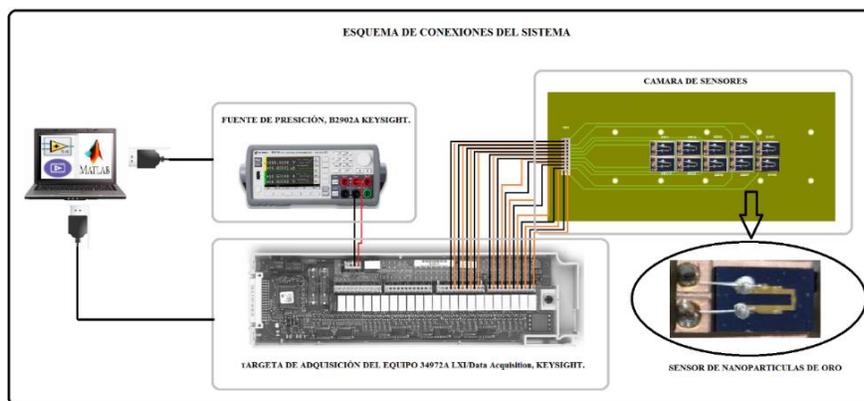


Figura 35. Conexión de los equipos.

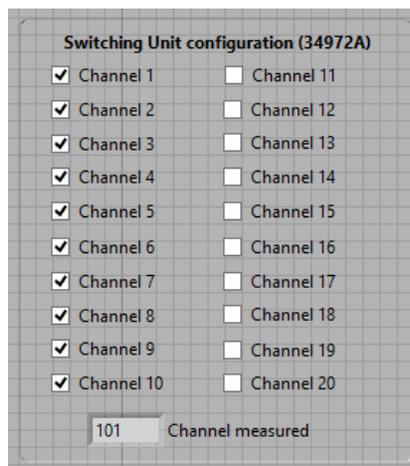
#### 5.4.4. Interfaz gráfica para la adquisición y monitoreo de las señales del sistema

En la Figura 36 se observa el diseño de la Interfaz en Labview, el cual consta de un panel de configuración, panel de selección y la visualización de las señales que se van adquiriendo.



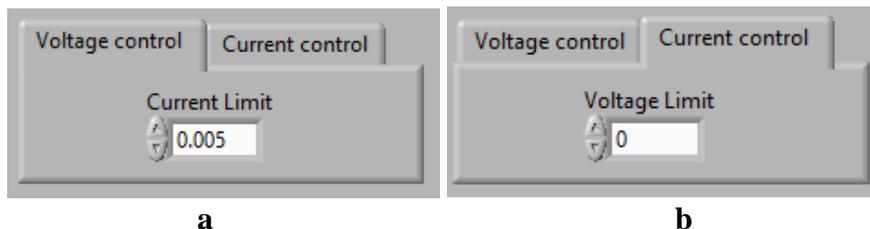
**Figura 36.** Interfaz gráfica para la adquisición y monitoreo de las señales del sistema.

El software permite seleccionar hasta 20 canales a medir, en nuestro caso la cámara de medida está conectada a los diez primeros.



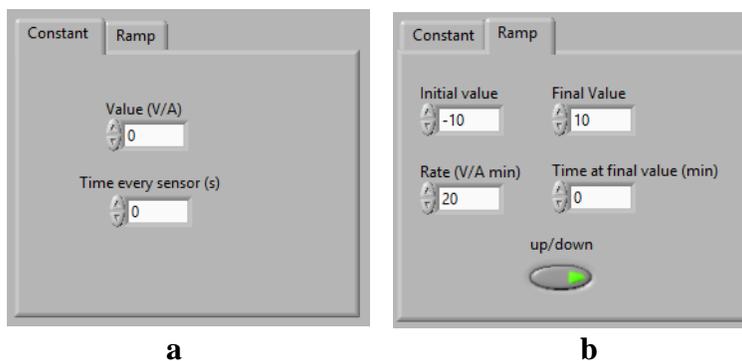
**Figura 37.** Panel de selección de canales.

La interfaz permite realizar control por voltaje o control por corriente, en dependencia del tipo de control seleccionado se puede definir el límite de voltaje o corriente para proteger a la matriz de sensores, si se supera este límite la fuente se desactiva para evitar posibles daños en los circuitos.



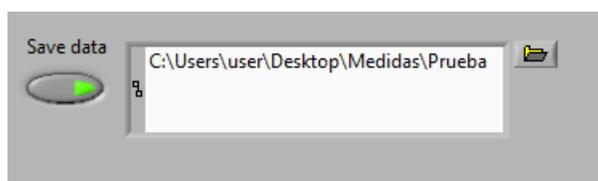
**Figura 38.** Tipo de control: a) Control por voltaje, b) Control por corriente.

Se pueden controlar tanto la salida delantera como la trasera de la fuente, la salida delantera (Output1) admite aplicar tensiones constantes y tipo rampa, la salida trasera (Output2) no puede hacer perfiles de tensión ya que sólo trabaja con tensiones constantes. En los paneles se puede configurar el valor del voltaje que se desea aplicar a los sensores y tiempos de adquisición.

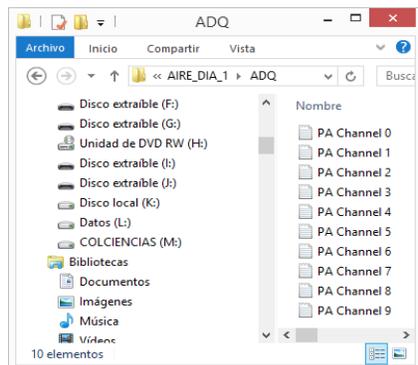


**Figura 39.** Salidas: a) Output2, b) Output1

Para cada uno de los canales seleccionados, se crea automáticamente un fichero txt en el que se guardan los datos adquiridos, son creados en la dirección que se especifique. (ver figura 40-41)



**Figura 40.** Dirección para guardar los datos.



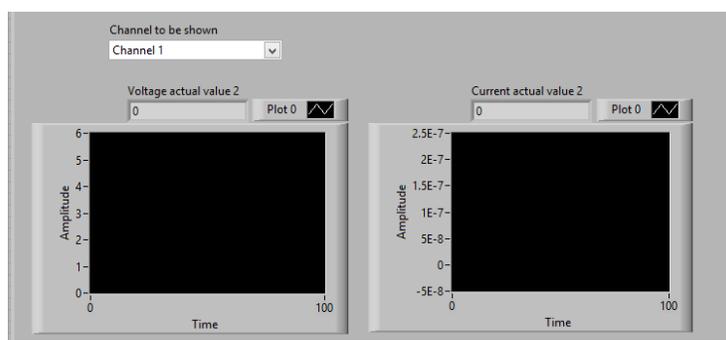
**Figura 41.** Archivos txt correspondientes a cada canal.

El fichero contiene la información de cada canal, la primera columna es el tiempo dado por el RTC del PC, la segunda la corriente y la última la tensión.

Time	Current	Voltage
3580320467.323	1.577	5.000
3580320467.435	1.682	5.000
3580320467.548	2.054	5.000
3580320467.661	2.085	5.000
3580320467.772	1.822	5.000
3580320467.885	1.917	5.000
3580320467.998	2.154	5.000
3580320468.110	2.181	5.000
3580320468.222	1.836	5.000
3580320468.333	2.088	5.000

**Figura 42.** Información contenida en los ficheros txt.

En los paneles inferiores se pueden visualizar las señales de voltaje y corriente del canal que este activado (Ver figura 43).



**Figura 43.** Panel de visualización de las señales adquiridas.

### 5.4.5. Adquisición de datos

La adquisición de datos, de los 10 sensores se realizó en serie, ya que el equipo de medida 34972A LXI/Data Acquisition solo permite conmutar un canal a la vez, por ello no es posible hacer una toma de datos en paralelo, este tipo de adquisición favorece la vida útil de este tipo de sensores, ya que no es recomendable mantenerlos energizados por periodos largos de tiempo.

Se realizó un barrido ascendente de los 10 canales, con un tiempo de adquisición de 10 segundos por canal, este barrido se repite cíclicamente durante un tiempo determinado, estos tiempos son definidos en el software desarrollado en Labview.

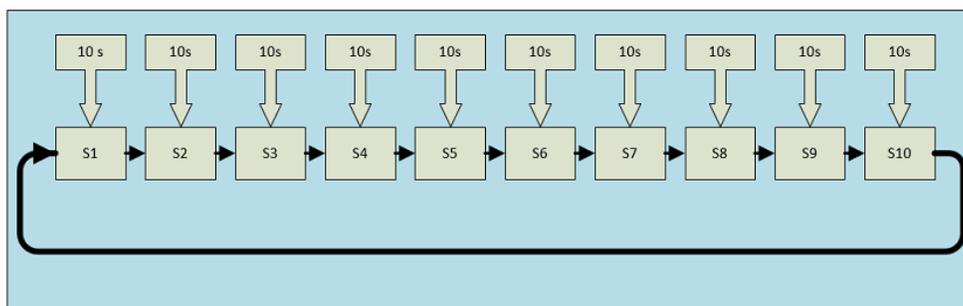


Figura 44. Esquema de adquisición de datos.

## 5.5. Pre-procesado de datos

Los ficheros txt son cargados a Matlab para seleccionar los datos de interés (**corriente**) y aplicarles los métodos de pre-procesado de datos, para extraer la máxima información de las señales adquiridas se exploraron 3 métodos típicos de pre-procesado de datos: Auto-escalado, centrado, y normalización por matriz. A continuación, se describen muy brevemente las funciones de cada uno de ellos.

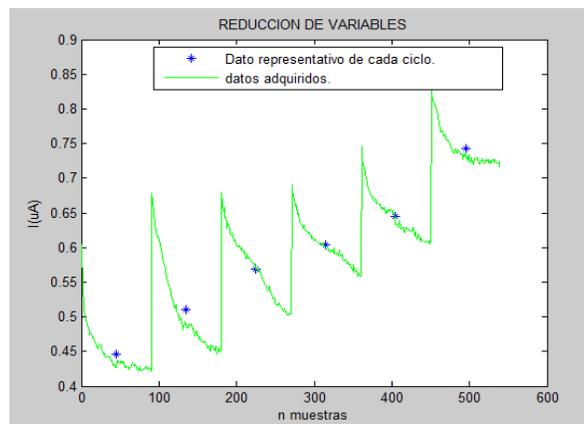
- Auto-escalado (“Autoscaling”): Con este método, se realizan cálculos individuales por columna (es decir, por sensor o parámetro del sensor). El método calcula el valor medio y la varianza con los valores obtenidos para las medidas para un sensor (columna) determinado. A continuación, se le resta el valor medio a todos los datos de dicha columna y el resultado se escala por la desviación estándar. De esa forma, todas las columnas de datos (variables) presentan una media igual a cero y una varianza igual a la unidad.

El objetivo de esta normalización es la de dar igualdad de escala a cada una de las variables o parámetros que describen cada medida. El éxito de este escalado radica en que, a priori, asigna la misma importancia numérica a cada una de las variables que describen una medida, independientemente de su naturaleza o sensor del que provengan. De todas formas, hay que tener cuidado ya que este proceso puede incrementar notablemente el ruido existente en señales débiles.

- Centrado (“mean centring”): En esta normalización a cada una de las columnas (variables) se le resta su valor medio. Es decir, toda medida es descrita por variables de media nula. Este tipo de centrado es fundamental para los métodos lineales aplicados en este estudio (PCA), ya que sin él no funcionan adecuadamente.
- Normalización por matriz: Divide toda la matriz por el elemento máximo de la misma. En este caso solo un elemento valdrá la unidad. De esta forma se consigue que la matriz de datos contenga valores entre “0” y “1”.

La reducción de variables constituye otra etapa de vital importancia en el pre-procesamiento de datos, el algoritmo PCA suele ser clasificado como un método no supervisado de reconocimiento de patrones, también es comúnmente usado como método de reducción de variables, es un algoritmo lineal que basa su funcionamiento en la correlación entre variables. El análisis busca unas componentes principales (scores), sobre las que se pueden proyectar las contribuciones de cada una de las variables (Loads). Los scores son tomados como las variables que representan la información original, reduciendo el número de datos. Este algoritmo fue implementado como técnica de reducción de variables en el pre-procesado de los datos.

Analizando la respuesta eléctrica de los sensores se optó por implementar otra estrategia de reducción de variables basada en el comportamiento de la señal.



**Figura 45.** Reducción de variables basada en el comportamiento de la señal.

En la figura 45 se puede apreciar la respuesta de uno de los sensores con los datos ya normalizados, donde se identifican 6 ciclos, esto se debe al proceso de adquisición de datos explicados en el ítem 5.4.5 “Adquisición de datos”.

Para reducir el número de datos se determinó que cada uno de los ciclos se constituiría por un único valor, representando así la señal original de 540 puntos con solo 6 valores.

Para obtener el valor representativo de cada ciclo (símbolo color azul) se calculó el promedio de los 90 puntos originales. Con este método se logra realizar una reducción significativa de los datos.

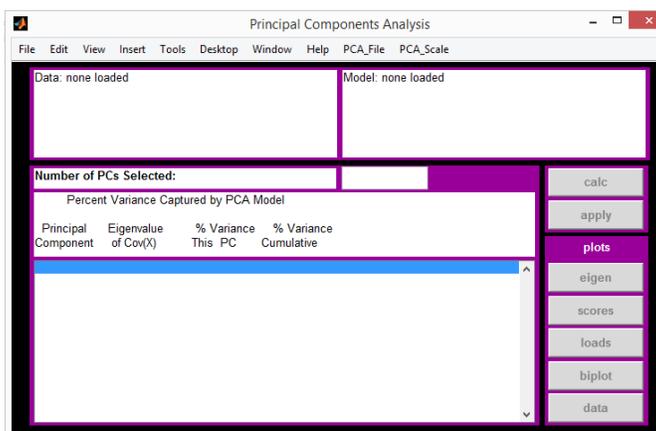
La plataforma utilizada para la ejecución de los algoritmos de normalización y reducción de variables fue MATLAB versión 2014<sup>a</sup>

## 5.6. procesamiento de datos y reconocimiento de patrones

Para poder identificar ó clasificar cada una de las especies o clases presentes en el estudio (Cáncer Gástrico y control). se emplean técnicas de reconocimiento de patrones supervisadas y no supervisadas.

### 5.6.1. Análisis no supervisado (PCA)

El algoritmo PCA suele ser clasificado como un método no supervisado de reconocimiento de patrones, ya que su uso más extendido con los sistemas de olfato electrónico se limita a representar bidimensionalmente un conjunto de medidas, para ver si se pueden determinar agrupaciones (“clusters”) espontáneas entre las diferentes medidas realizadas previamente.



**Figura 46.** Interfaz gráfica para el análisis PCA.

El algoritmo PCA se ejecuta en una interfaz gráfica en la que se carga la matriz de datos y un vector con las etiquetas de cada una de las medidas, el GUIDE permite el auto-escalado y centrado de los datos, una vez calculados los scores se pueden proyectar las variables sobre las dos primeras componentes principales para determinar las agrupaciones (“clusters”).

### **5.6.2. Análisis supervisado**

Redes Neuronales Artificiales (RNA) o Artificial Neural Networks (ANN) son aplicadas con el fin de discriminar o clasificar el conjunto de medidas de cada una de las clases presentes en el estudio (Cáncer Gástrico y control). también se destaca el uso de las máquinas de soporte vectorial (SVM) como clasificadores.

Se desarrollaron una serie de algoritmos de redes neuronales como método de reconocimiento de patrones y clasificadores. En concreto, las redes implementadas fueron

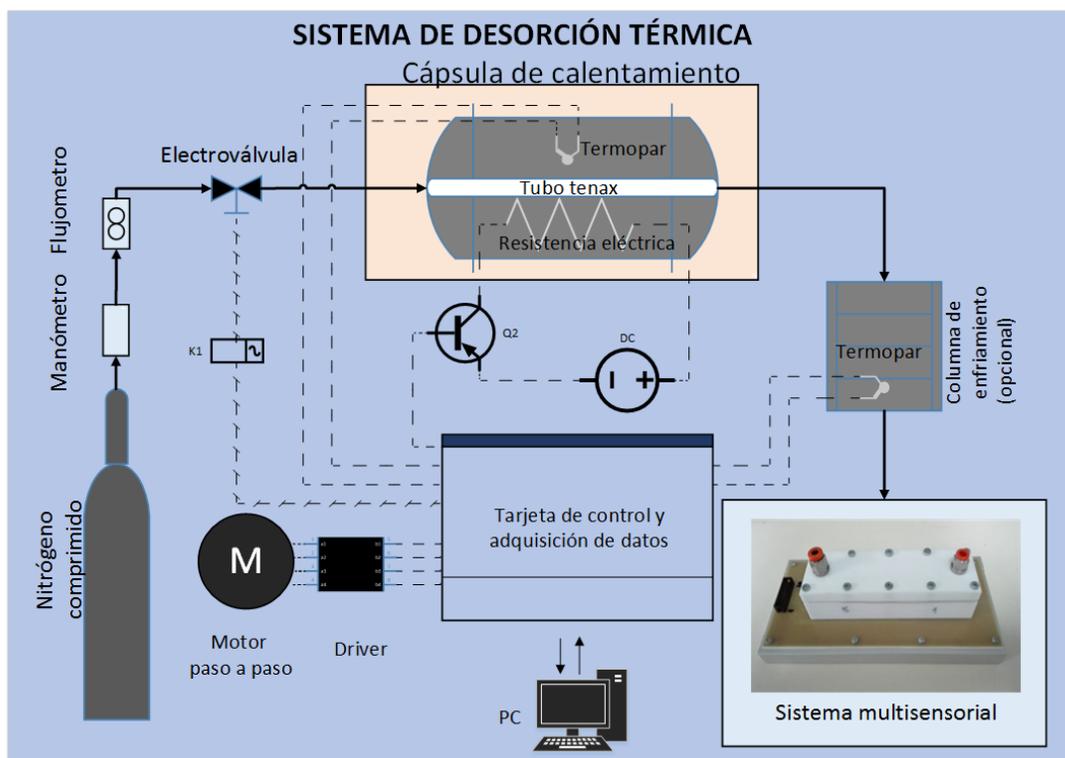
- Redes neuronales multicapa perceptrón (MLP)
- Función de base radial (RBF).
- Red neuronal probabilística (PNN).

En recientes años, el uso de las máquinas de soporte vectorial se ha convertido en una herramienta ideal en los procesos de clasificación, generando resultados en muchos casos mejores que los obtenidos con las mismas redes neuronales. En nuestro caso se decidió explorar esta técnica y realizar un análisis comparativo con las redes neuronales.

La plataforma utilizada para la ejecución de los modelos clasificadores fue MATLAB versión 2014<sup>a</sup>

## **5.7. Sistema de desorción térmica**

Se desarrolló un sistema de desorción térmica portable, de bajo costo y que se puede acoplar de manera directa al sistema multisensorial. El sistema permitió analizar el conjunto de muestras que fueron pre-concentradas en tubos Tenax con la finalidad de eliminar la humedad y atrapar los compuestos volátiles. En la Figura 47 se ilustran los dispositivos que componen el sistema de desorción.



**Figura 47.** Esquema del sistema de desorción térmica

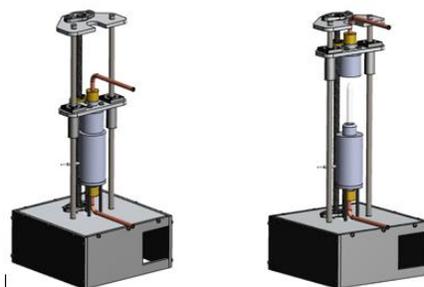
### 5.7.1. Descripción del funcionamiento

El tubo Tenax se introduce en la cápsula de calentamiento y esta es sellada herméticamente, con ayuda de la resistencia eléctrica se calienta hasta alcanzar la temperatura de desorción (200-250°C). Dentro de la cápsula se incorpora un termopar para controlar la temperatura en lazo cerrado. El incremento de la temperatura libera los VOCs atrapados en los absorbentes, para extraerlos del tubo se abre la electroválvula permitiendo el paso de nitrógeno puro a través de este. La presión (0-50 psi) y el flujo (50-500 ml/min) se controlan manualmente con el nanómetro y flujómetro. El flujo de nitrógeno arrastra los VOCs conduciéndolos al sistema multisensorial para ser analizados

Una tarjeta de control y adquisición de datos permite manipular los automatismos del sistema y establecer comunicación con una interfaz de supervisión y control.

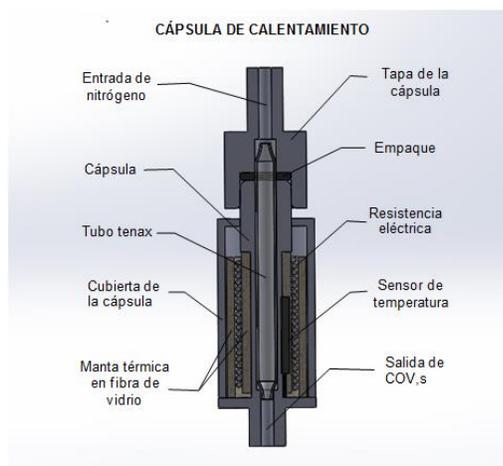
### 5.7.2. Diseño del sistema.

El sistema fue diseñado en Software CAD en 3D SOLIDWORKS, este modelo virtual permitió ajustar las medidas de cada una de las piezas que lo componen, realizar su ensamble y simular su comportamiento. El software genera los planos de las piezas para su posterior proceso de mecanizado. En la Figura 48 se puede apreciar el modelo virtual diseñado.



**Figura 48.** Diseño del sistema de desorción térmica

En la vista de sección transversal Figura 49 se ilustra como está constituida internamente la cápsula de calentamiento. La resistencia eléctrica se ubica alrededor de la cápsula, esta a su vez está cubierta por una manta térmica para impedir que el calor sea trasferido hacia el exterior obligándolo a transferirse hacia el interior donde se encuentra ubicado el tubo Tenax. El sensor de temperatura se instala en la parte inferior porque allí es donde se encuentran situados los absorbentes que contienen los VOCs.



**Figura 49.** Vista de sección transversal de la capsula de calentamiento.

Entre el cuerpo y la tapa de la cápsula se coloca un empaque resistente a altas temperaturas para que quede sellada herméticamente, evitando que la muestra sea contaminada por agentes externos o que sea diluida durante la desorción. El empaque también obliga al flujo de nitrógeno a circular por el interior del tubo para tener certeza que los VOCs sean arrastrados.

Para evitar la contaminación de las muestras durante su calentamiento, los componentes que tienen contacto con ellas se fabricaron en acero inoxidable SAE-316, SAE-316L.

### 5.7.3. Mecanizado de las piezas

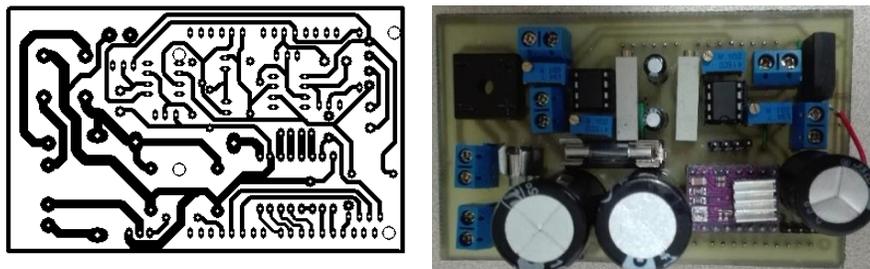
A partir de los planos generados por el software CAD se mecanizaron las piezas aplicando procesos de torneado, fresado y taladrado entre otros.



**Figura 50.** Mecanizado de las piezas del sistema de desorción térmica.

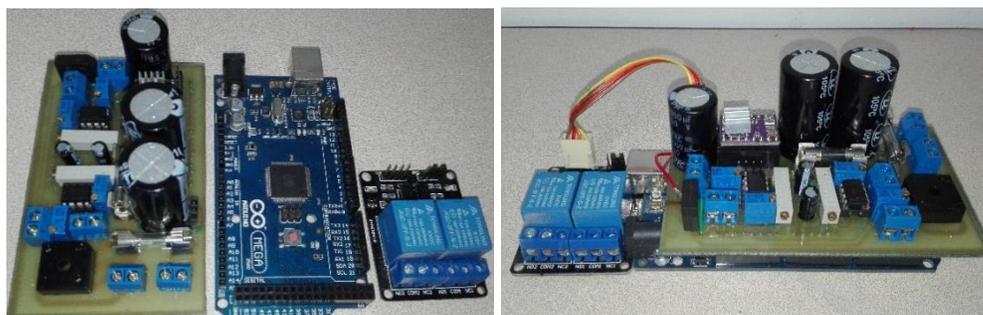
### 5.7.4. Componentes electrónicos.

Se diseñó un circuito impreso para el acondicionamiento de las señales de los sensores de temperatura. Este circuito también permite conectar la fuente de alimentación, conexión con el driver del motor paso a paso, controlar el relé para abrir y cerrar la electroválvula, controlar la potencia suministrada a la resistencia eléctrica y la conexión con la tarjeta de control (Ver figura 51).



**Figura 51.** Circuito de control.

Una tarjeta arduino mega permite hacer la lectura de los sensores de temperatura, manipular los automatismos del sistema y establecer comunicación con una interfaz de supervisión y control.



**Figura 52.** Tarjeta de control y circuitos de acondicionamiento.

### 5.7.5. Ensamble

Las piezas fabricadas se limpiaron y ensamblaron. En la figura 54 se puede apreciar el sistema de desorción térmica que se desarrolló, la electrónica asociada al proceso se sitúa en la base del sistema para mayor comodidad y seguridad (Ver figura 53).



**Figura 53.** Ubicación de los componentes electrónicos.

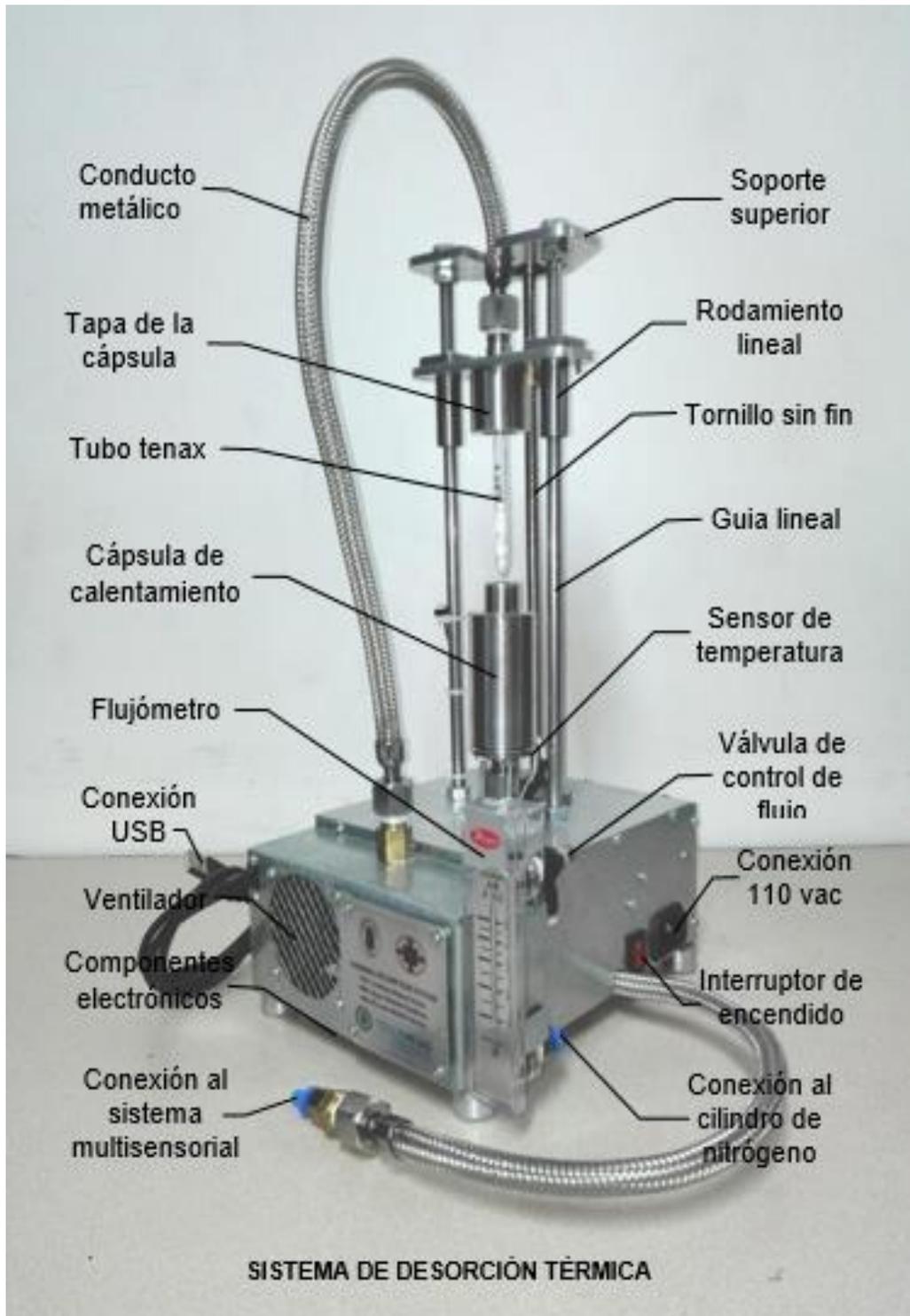


Figura 54. Sistema de desorción térmica desarrollado.

La apertura y cierre de la cápsula se realiza de manera automatizada, el mecanismo de tornillo sin fin convierte el movimiento circular de un motor paso a paso en movimiento lineal desplazando la tapa de la cápsula a lo largo de las guías.

El flujómetro permite visualizar y manipular el flujo del nitrógeno que conduce los VOCs al sistema multisensorial. El sistema requiere de un cilindro de nitrógeno con regulador de presión para ser acoplado como se muestra en la siguiente figura.



**Figura 55.** Sistema de desorción térmica acoplado al cilindro de nitrógeno.

### 5.7.6. Software

El sistema de desorción térmica es controlado a través de una interfaz gráfica desarrollada en labview, En la interfaz se configuran los tiempos de cada fase del proceso y la temperatura de desorción, se puede manipular los diferentes automatismos y visualizar la temperatura y fase actual en la que se encuentra el proceso.



**Figura 56.** Interfaz gráfica para el control del sistema de desorción térmica.

En los paneles ubicados a la izquierda se puede visualizar y manipular el estado de la válvula y capsula de calentamiento, se pueden abrir y cerrar cuando el usuario lo considere necesario. Los tiempos de cada fase del proceso de desorción se definen en el panel superior derecho, la evolución de la temperatura dentro de la capsula puede ser visualizada en el grafico central, el usuario puede definir la temperatura de desorción en un rango de 50 a 300°C. En el panel restante se puede visualizar la fase actual en la que se encuentra el proceso.

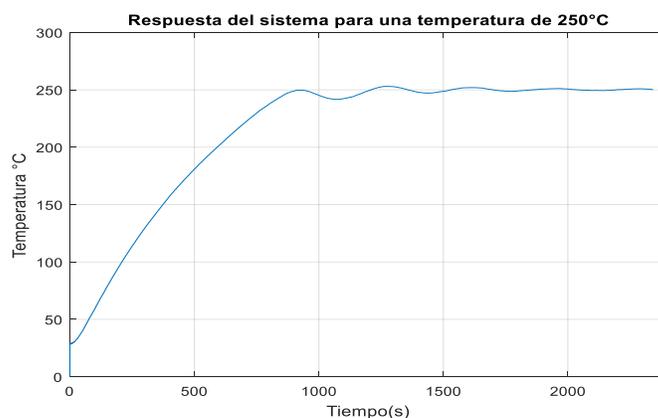
### Secuencia de trabajo

La secuencia de trabajo ya se encuentra definida dentro del algoritmo que controla el sistema, este genera cuadros de dialogo indicando el inicio o terminación de cada una de las etapas del proceso.

El proceso de desorción se divide en cuatro etapas

- *Calentamiento de la cápsula*

Una vez sean definidos los tiempos y temperatura de desorción el programa se puede ejecutar, la temperatura dentro de la capsula empieza a incrementar hasta alcanzar la temperatura deseada, la temperatura es controlada por un algoritmo PID que se implementó en la tarjeta arduino. En figura 57 se observa la respuesta del sistema de control para una temperatura de 250°C.



**Figura 57.** Respuesta del sistema a una temperatura de 250°C.

El tiempo requerido para que la temperatura alcance los 250°C es de 20 minutos (1200s), cuando se llega a la temperatura de desorción la capsula se abre y se despliega un cuadro de dialogo indicándolo, esta etapa solo se ejecuta una vez después de encender el sistema.

- *Desorción de los COV,s*

El tubo Tenax se ingresa dentro de cápsula y esta se cierra, los COV,s retenidos dentro del tubo son desorbidos por el incremento de la temperatura y pueden ser conducidos al sistema multisensorial.

- *Conducción de los COV,s al sistema multisensorial*

La válvula se abre permitiendo el paso del flujo de nitrógeno a través del tubo Tenax, este arrastra los COV,s desorbidos conduciéndolos a la cámara de medida para su análisis. Este programa se sincroniza con el de adquisición de datos del sistema sensorial.

- *Limpieza*

La cápsula se abre para que el tubo Tenax sea retirado y proceder con la limpieza, esta se realiza con nitrógeno, un flujo constante fluye por los conductos expulsando los VOS,s que pudiesen haber quedado atrapados, de esta manera el sistema queda listo para proceder con la desorción de una nueva muestra. Para retirar y colocar los tubos en la cápsula se debe emplear una pinza, ya que la temperatura de estos puede causar quemaduras graves.

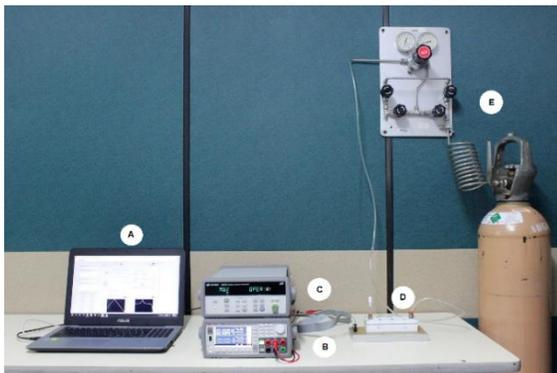
## CAPITULO 6. ANÁLISIS Y RESULTADOS

### 6.1. pruebas preliminares del sistema con muestras de aliento de fumadores y no fumadores.

Una vez estandarizado el protocolo a seguir, se realizaron pruebas preliminares. La finalidad de estas pruebas fue comprobar si el sistema estaba en la capacidad de discriminar entre muestras de aliento de pacientes sanos y pacientes con cuadros clínicos de fumadores.

#### 6.1.1. Área de trabajo.

En la figura 58 se presentan los equipos y la organización necesaria para la toma de muestras en donde, (A) Equipo de cómputo, (B) Fuente de precisión, (C) Equipo de adquisición de datos, (D) Cámara de sensores, (E) sistema de limpieza con aire sintético.



**Figura 58.** Esquema general para inicio de las medidas.

- Se realizaron las muestras en un espacio de trabajo adecuado aislado de grupos de personas.
- Se ubicó los materiales de medida, sobre una superficie limpia.
- Las puertas y ventanas permanecieron cerradas durante la sesión de laboratorio para evitar la contaminación por corrientes de aire.
- Al inicio y término de una práctica la superficie de trabajo permaneció limpia.

### 6.1.2. Referente al personal que realizó la prueba y los pacientes.

- Al ingresar al laboratorio se tuvo en cuenta el debido porte de la bata, tapabocas y guantes.
- Se lavaron las manos a la hora de entrar y al término de cada sesión de trabajo, secándolos con toallas de papel.
- Los equipos se emplearon según las instrucciones o los procedimientos operativos estandarizados, al igual que los protocolos correspondientes a la práctica.
- Las boquillas son de carácter desechable, por tanto, se usó una por paciente.
- El BioVOC para cada adquisición de muestra por paciente estaba completamente esterilizado con anterioridad.

### 6.1.3. Adquisición de muestras de aliento.

- Las muestras preliminares se adquirieron a pacientes sanos y a pacientes con cuadros clínicos de fumadores. (5 fumadores y 5 sanos para un total de 10).
- Se informó con anterioridad al paciente el proceso a seguir.
- Se preparó el BioVOC para adquirir la muestra. (Figura 59).



**Figura 59.** Bio-VOC para la recolección de la muestra.

- Se ajustó la boquilla de cartón al otro extremo del BioVOC.
- Se entregó al paciente el dispositivo y seguido se retiró el tapón color blanco.
- El paciente exhaló una muestra de aliento, hasta sentir que se agotaba el aliento (Figura 60).



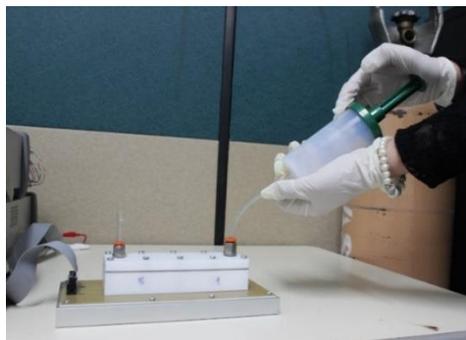
**Figura 60.** Adquisición de muestra de aliento.

- Finalizada la primera exhalación, se ajustó nuevamente el tapón color blanco en la parte inferior del BioVOC.
- Se retiró la boquilla y ajustó el embolo de rosca (Figura 61).



**Figura 61.** Ajuste del embolo de rosca.

- Se retiró el tapón color blanco y aseguró a la manguera que conecta a la cámara de sensores.
- Luego, se realizó el traspaso de aliento, ejerciendo presión en el embolo, durante 10 segundos (Figura 62).



**Figura 62.** Traspaso del aliento a la cámara de medida.

- Una vez realizado el proceso, se retiró el Bio-VOC, se sellaron los extremos de la cámara e inició la adquisición.
- Para los 10 pacientes se realizó el mismo proceso (Ver figura 63).



**Figura 63.** Pacientes.

#### **6.1.4. Adquisición de datos.**

##### **1. Limpieza previa de la cámara**

En este proceso se realiza una limpieza previa de la cámara de mediada con un flujo constante de aire sintético (20 L/min), paralelo a ello se adquieren los datos de la línea base de los sensores durante 10 minutos, finalizado el tiempo se sellan los orificios para evitar que la cámara se contamine.

##### **2. Adquisición de la respuesta de los sensores a el aliento.**

En esta etapa, se inyecta la muestra de aliento recolectada en el Bio-VOC. se procede a abrir los orificios de la cámara, se conecta a través de la manguera el Bio-VOC a la cámara y se inyecta el aliento, una vez logrado, se retira el Bio-VOC, se sellan nuevamente los orificios de la cámara. El tiempo de adquisición de la respuesta eléctrica de los sensores a el aliento es de 10 minutos.

##### **3. Recuperación de los sensores (Limpieza)**

Finalmente se abren los orificios de la cámara para dar inicio a la limpieza y recuperación de los sensores. El tiempo de la limpieza también es de 10 minutos.

En la tabla 5 se pueden observar los tiempos y las etapas del protocolo de medida.

**Tabla 5.** Tiempos de limpieza, adquisición y recuperación de las muestras.

Fase	Tiempo (Minutos)
Limpieza previa de la cámara	10
Adquisición de la respuesta de los sensores a el aliento	10
Recuperación de los sensores	10

### 6.1.5. Resultados y análisis.

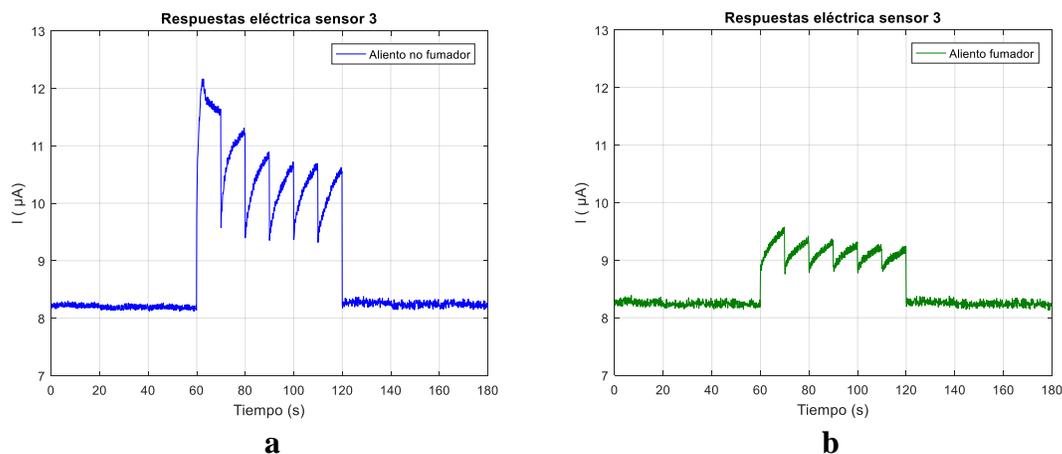
Como resultado preliminar se adquirieron 11 medidas en total, las cuales corresponden:

- 5 muestras de aliento fumadores
- 5 muestras de aliento no fumadores
- 1 muestras de aire del medio ambiente donde se realizó el ensayo.

#### 6.1.5.1 Respuesta eléctrica de los sensores.

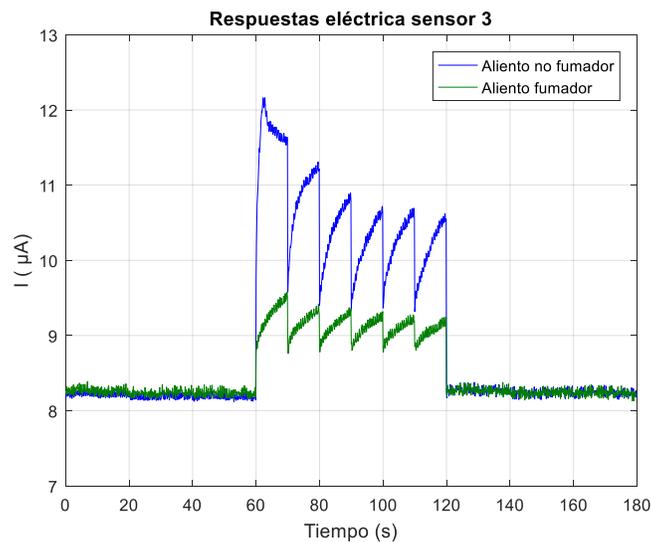
Se graficaron y analizaron las respuestas eléctricas de los sensores, se llegó a la conclusión de que los que mejor responden y son capaces de discriminar entre el aliento de un fumador y un no fumador son los sensores 3,4,8 y 9 según la tabla 4.

En las figuras 64a y 64b, se observa el comportamiento del sensor 3 se pueden distinguir las tres etapas, limpieza, adquisición y recuperación. Se evidencia que la limpieza con aire sintético favorece la recuperación de los sensores.



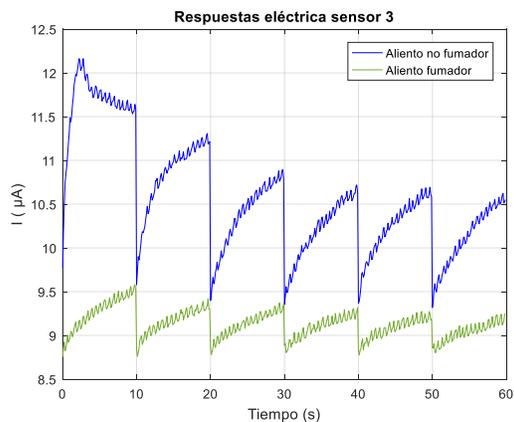
**Figura 64.** Respuesta eléctrica del sensor 3: a) Aliento no fumador, b) Aliento fumador.

El sensor tiene la capacidad de discriminar entre las dos clases se estudió, ya que el comportamiento de su respuesta eléctrica difiere para cada uno de los casos. (Ver figura 65).

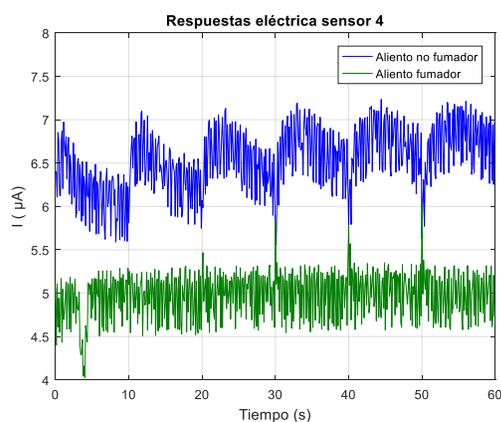


**Figura 65.** Respuesta eléctrica del sensor 3.

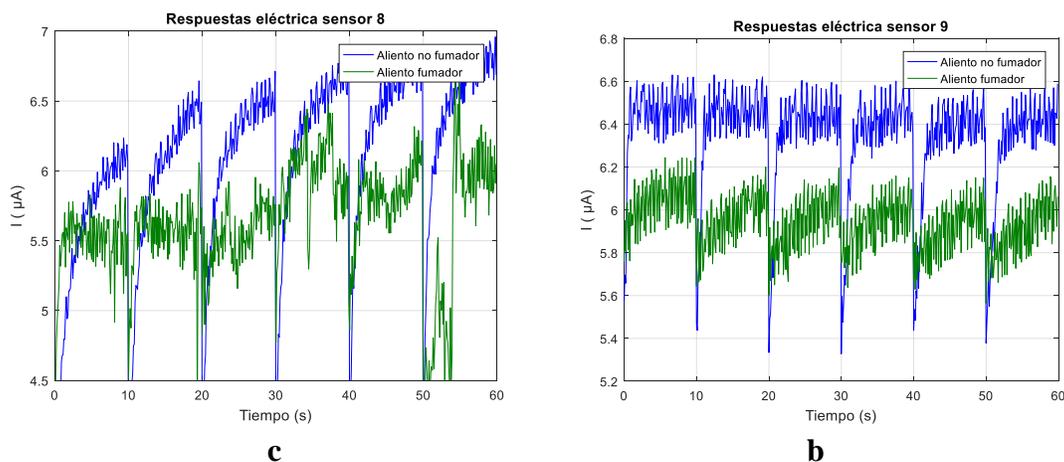
Este análisis se aplicó al grupo de sensores seleccionados, sus respuestas difieren para cada una de las clases de estudio (fumadores y no fumadores), pero presentan el mismo comportamiento para muestras de la misma clase. En los gráficos se muestran el comportamiento de estos cuatro sensores durante la etapa de adquisición cuando el aliento fue inyectado a la cámara.



**a**



**b**



**Figura 66.** Respuestas eléctricas de los sensores que presentaron buen desempeño: a) Sensor 3, b) Sensor 4, c) Sensor 8, d) Sensor 9.

En la tabla 6 se relacionan el conjunto de sensores que presentaron buen desempeño durante estas pruebas preliminares con el sistema.

**Tabla 6.** Sensores sensibles al aliento de fumadores y no fumadores.

Ubicación de los sensores en la cámara	Nomenclatura	Resistencia	AuNPs + Ligando
Sensor 3	E6D	192/191 k $\Omega$	D: 4-methoxy - $\alpha$ -toluenethiol
Sensor 4	E17M	0.1 /01 M $\Omega$	M: Methyl-3-mercaptopropionate
Sensor 8	E18B	11.7/11.2 M $\Omega$	B: 1-decanethiol
Sensor 9	E15B	450/445 k $\Omega$	B: 1-decanethiol

### 6.1.5.1 Análisis PCA

El análisis de la respuesta eléctrica permitió seleccionar los sensores que discriminaban de manera correcta entre fumadores y no fumadores, con este grupo de sensores se realizó un análisis PCA.

- PCA con auto-escalado de datos

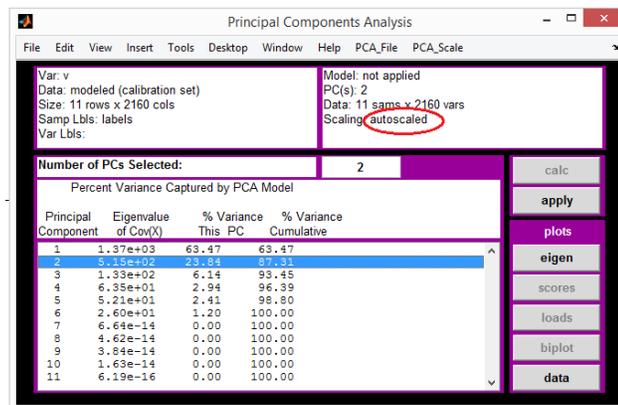


Figura 67. Análisis PCA con auto-escalado de datos.

Por medio de un pre-procesado a la matriz de datos (un auto-escalado), la varianza total capturada fue del 87.31% para los dos primeros PC's.

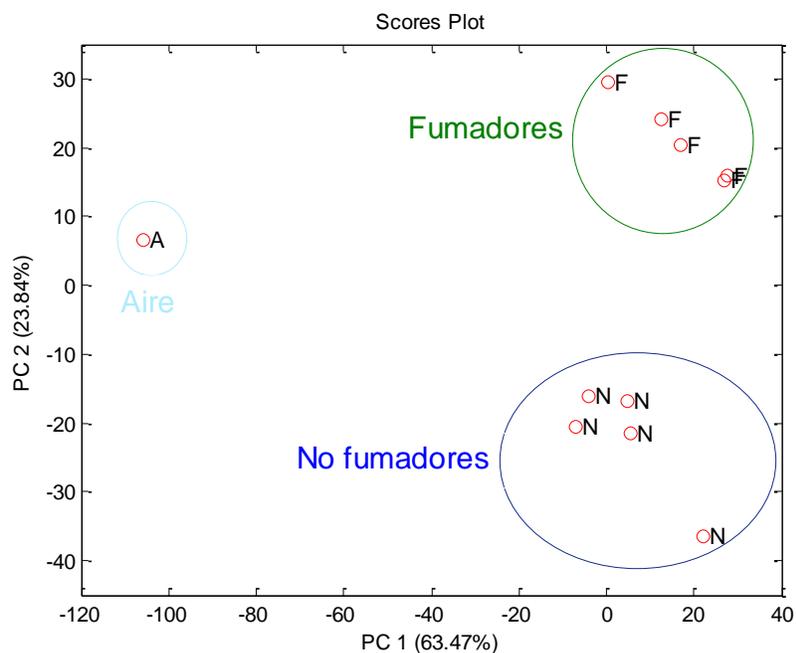
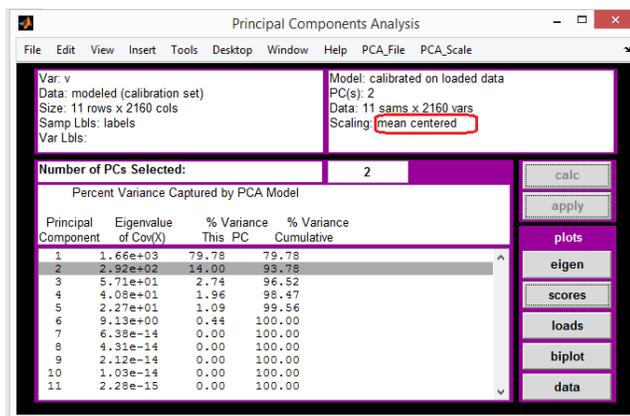


Figura 68. Resultados con el análisis de componentes principales PCA (Auto-escalado)

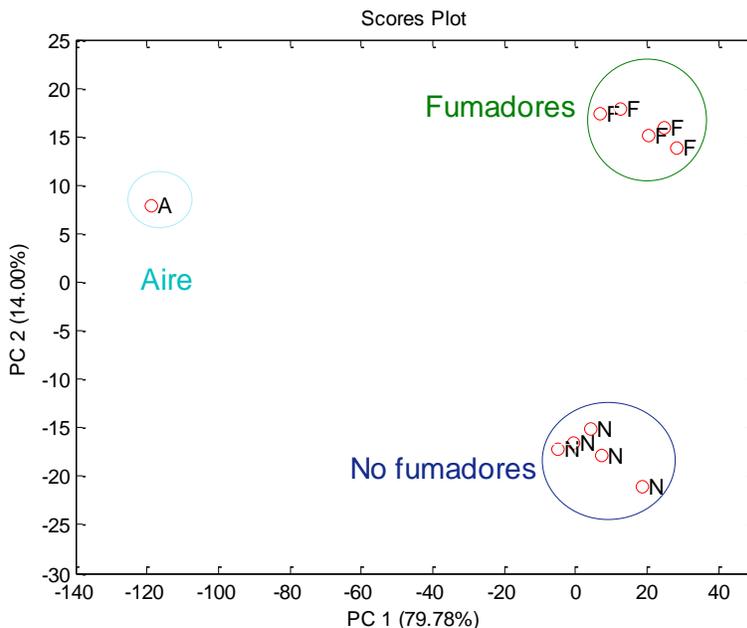
En la figura anterior se presenta la discriminación en tres diferentes clusters correspondientes a fumadores, no fumadores y una medida del aire ambiente del recinto donde se realizó la toma de muestras de aliento de los 10 voluntarios.

- **PCA con centrado de datos**



**Figura 69.** Análisis PCA con centrado de datos.

Por medio de un pre-procesado a la matriz de datos (centrado de datos), la varianza total capturada fue del 93.78% para los dos primeros PC's.



**Figura 70.** Resultados con el análisis de componentes principales PCA (centrado de datos).

También se observa una buena discriminación de los tres clusters lo que demostró el funcionamiento correcto del sistema y la viabilidad de este tipo de sensores para el análisis de aliento exhalado.

## **6.2. Toma de muestras en pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico (CA) y pacientes de control (C- pacientes con gastritis).**

Después de haber obtenido resultados satisfactorios en las pruebas preliminares se procedió a realizar la toma de muestras en pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico (CA) y pacientes de control (C- pacientes con gastritis). Esta toma de muestras se realizó en las instalaciones de Hospital Universitario de La Samaritana-Bogotá (GASTROSUR SAS).



**Figura 71.** Hospital Universitario de La Samaritana-Bogotá (GASTROSUR SAS).

### **6.2.1. Aspectos generales.**

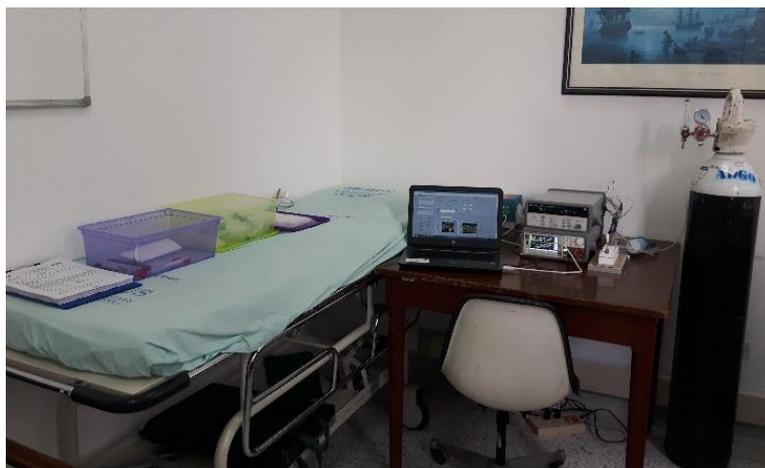
A continuación, se proporciona la información que se consideró relevante y pertinente para la toma de muestras en pacientes con diagnóstico de cáncer gástrico (CA) y pacientes control (C- pacientes con gastritis). Esto se realizó con el objetivo de cumplir con los requisitos de un proceso seguro, confiable y oportuno del examen, aportando así un servicio y un diagnóstico que fuera acorde a las necesidades de los pacientes, de los profesionales médicos y del equipo de salud.

### 6.2.1.1 Bioseguridad en Toma de Muestras

- Uso de bata durante todo el desarrollo de la actividad de toma de muestras.
- Uso de tapabocas cuando exista riesgo de salpicaduras de fluidos biológicos.
- Uso de guantes protectores.
- Lavado de manos antes y después de cada procedimiento
- Uso de jabón líquido y toallas de papel para el secado de manos, en su defecto alcohol-gel.

### 6.2.2.2 Descontaminación de áreas de trabajo:

- Superficies de trabajo ordenadas antes y después de las actividades de toma de muestras (Ver figura 72)
- Descontaminación de superficies (mesones) de trabajo.
- Contenedores de basura tapados.
- Las puertas y ventanas cerradas durante la sesión de laboratorio para evitar la contaminación por corrientes de aire.



**Figura 72.** Lugar de toma de muestras.  
Hospital Universitario de La Samaritana-Bogotá (GASTROSUR SAS)

### 6.2.2.3 Generalidades en toma de muestras.

Para la adquisición de las muestras en los pacientes, se tuvo en cuenta unas reglas previamente establecidas con el fin de evitar resultados erróneos. En el documento del “Consentimiento informado” (Ver anexo 1), se determinó los aspectos necesarios a nivel médico que el paciente debía cumplir para poder realizar el examen.

A continuación se describe paso a paso el protocolo para la adquisición de la muestra. Para cada paciente, se adquirieron dos muestras almacenadas en dos tubos Tenax, cada uno con doble exhalación.

Para un análisis en tiempo real, se muestrearon dos exhalaciones por paciente, las cuales se inyectaban directamente a la cámara de sensores y se guardaba la data para posteriormente ser procesada.

**Tabla 7.** Protocolo para la adquisición de las muestras.

<b>1. Consentimiento informado</b>	
<p>Informar al paciente el objetivo del estudio, el proceso a seguir en la toma de la muestra y realizar el registro en el consentimiento informado los datos personales.</p>	
<b>2. Toma de muestras en el TUBO TENAX</b>	
<p><b>A.</b> la ruptura de los extremos de los tubos Tenax con la herramienta cutter, la cual permite hacer un corte fino y delicado.</p>	

**B. Preparar el Bio-VOC:**

- Insertar el tapón color blanco en la parte inferior del dispositivo.
- Ajustar la boquilla al otro extremo.
- Al momento de entregar el Bio-VOC al paciente, retirar el tapón color blanco. El paciente procede a exhalar una muestra de aliento, hasta sentir que ha expulsado la totalidad del interior de los pulmones.



**C.** Finalizada la primera exhalación, ajustar nuevamente el tapón color blanco en la parte inferior del Bio-VOC, Retirar la boquilla y ajustar el embolo de rosca.

**D.** Retirar el tapón color blanco y asegurar el tubo Tenax (tener en cuenta que la parte que es contigua a la extremidad del Bio-VOC del tubo, es la que no posee el material absorbente-gránulos). Y finalmente realizar el traspaso de aliento al tubo ejerciendo presión en el embolo, durante 10 segundos



Una vez realizado el proceso, retirar el tubo y asegurar los extremos del mismo. Rotular cada tubo con el código del paciente y embalar.

Ejemplo: **CO G 17**

(CO-Colombia, G-paciente con cáncer gástrico, 17- número del paciente).

Ejemplo: **CO C 17**

(CO-Colombia, C-paciente control, 17- número del paciente)



### 3. Toma de muestras en TIEMPO REAL (Realizar los pasos descritos en los ítems A y B)

Para las muestras en “Línea”, una vez exhalado el aliento en el Bio-VOC, conectar directamente a la cámara de sensores y realizar el traspaso de aliento ejerciendo presión en el embolo, durante 10 segundos.



### 4. Toma de muestras de aire (medio ambiente)

Se debe adquirir una muestra del ambiente, para ello, usar un nuevo Bio-VOC, preparar el material tal y como se describe en los ítems anteriores.

Ejemplo: **AIR SAMPLE DAY 18**



Cada paciente proporcionó dos muestras al sistema en tiempo real, y dos muestras para el almacenamiento de la misma en los tubos Tenax, estos últimos se conservaron a una temperatura de 4°C para su posterior análisis.

#### 6.2.2. Adquisición de datos de las medidas en línea.

En la tabla 8 se pueden visualizar los tiempos empleados durante la adquisición de los datos para las medidas. En total para cada muestra en línea de cada paciente, la duración fue de 20 minutos.

**Tabla 8.** Tiempos empleados durante la adquisición de los datos para las medidas.

Fase	Tiempo (Minutos)
Limpieza previa de la cámara	5
Adquisición de la respuesta de los sensores a el aliento	10
Recuperación de los sensores	5

### 6.2.3. Resultados y análisis.

Se lograron recolectar un total de 66 muestras, correspondientes a 33 pacientes (Por cada paciente se adquirieron dos muestras), de los cuales 16 corresponden a pacientes con CA y 17 a pacientes control.

Para los análisis de pre-procesamiento y procesamiento se tuvieron en cuenta 52 muestras, las restantes no se incluyeron, algunas de ellas porque los resultados de biopsia arrojaron otro diagnóstico y otras por inconvenientes durante la recolección y etapa de sensado.

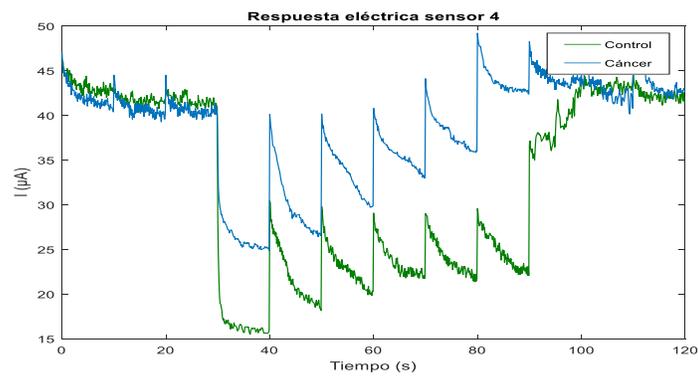
#### 6.2.3.1 Respuesta eléctrica de los sensores.

Al analizar el comportamiento eléctrico de los sensores frente a las muestras, se determinó que respondieron mejor a la hora de sensar los compuestos volátiles exhalados de los pacientes voluntarios, los sensores 4, 8 y 9, los cuales se describen en la tabla 6:

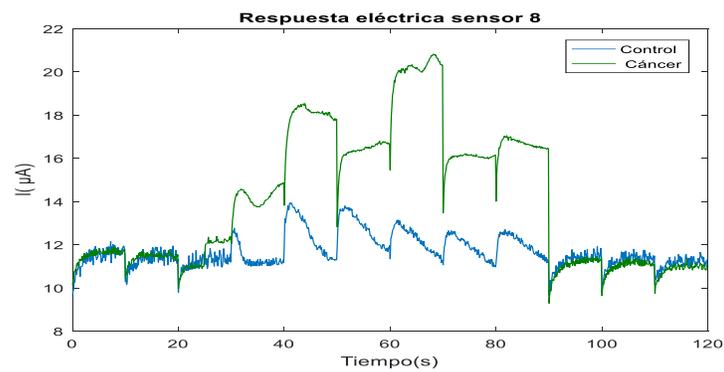
**Tabla 9.** Sensores sensibles al aliento de pacientes con cáncer gástrico y controles.

Ubicación de los sensores en la cámara	Nomenclatura	Resistencia	AuNPs + Ligando
Sensor4	E17M	0.1 /01 M $\Omega$	M: Methyl-3-mercaptopropionate
Sensor 8	E18B	11.7/11.2 M $\Omega$	B: 1-decanethiol
Sensor 9	E15B	450/445 k $\Omega$	B: 1-decanethiol

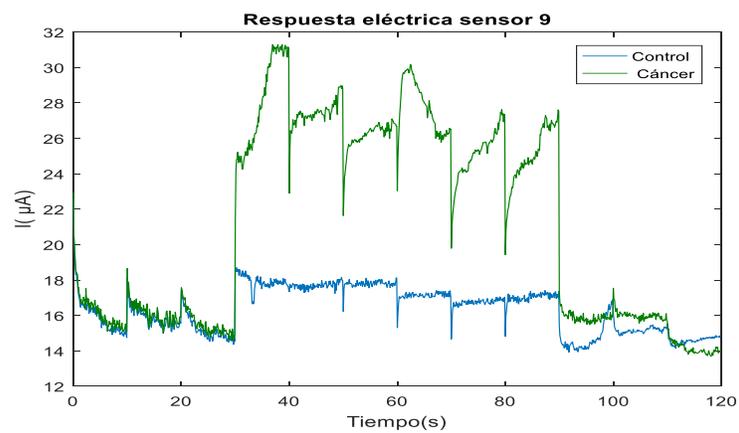
En las figuras 73,74 y 75 se presenta la respuesta eléctrica de estos tres sensores a una muestra de cada una de las clases (cáncer gástrico y control), su comportamiento es diferente para cada uno de los casos, se puede predecir que estos sensores pueden discriminar entre las dos clases de estudio.



**Figura 73.** Respuesta eléctrica del sensor 4



**Figura 74.** Respuesta eléctrica del sensor 8



**Figura 75.** Respuesta eléctrica del sensor 9

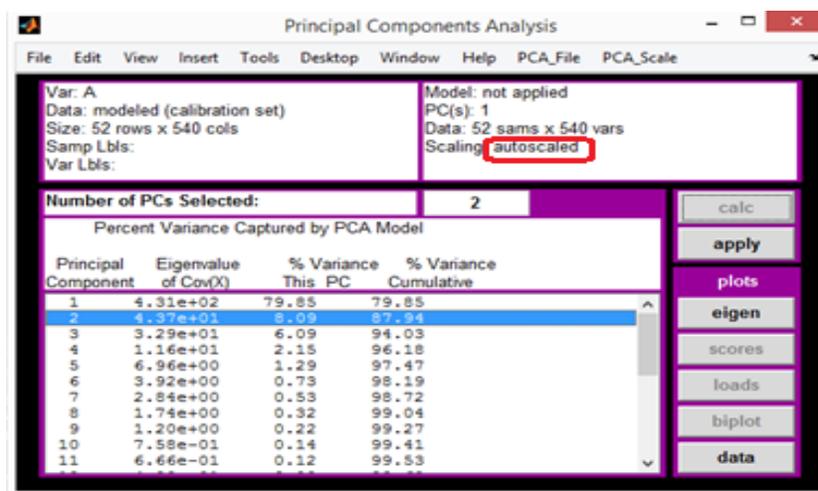
Después de analizar la totalidad de las medidas se identificó que los sensores 8 y 9 presentaron un comportamiento óptimo durante las primeras medidas realizadas, se prevé que existe una probabilidad que su vida funcional se vio afectada proporcionando disminución en la respuesta eléctrica en el momento de realizar la discriminación de las medidas posteriores.

### 6.2.3.2 Análisis no supervisado (PCA)

EL conjunto de medidas está conformado por un total de 52 muestras, de las cuales 28 corresponden a pacientes con cáncer gástrico y 24 son de pacientes de control (gastritis), por lo que la matriz de datos es en general de (52 \* 540). Como primer método de pre-procesado de datos se aplicó normalización por matriz, de esta forma se consigue que la matriz de datos contenga valores entre “0” y “1”. Posterior a esta normalización se realizó un análisis por componentes principales con auto escalado y centrado de datos.

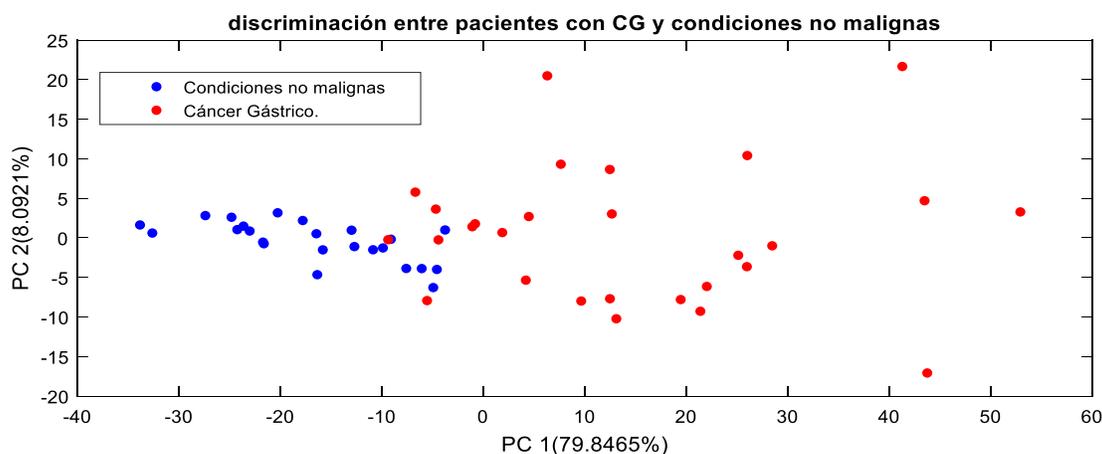
Es importante mencionar que los resultados analizados con PCA fueron aplicados al sensor cuatro, que como se ha mencionado anteriormente, es el sensor que mejor respondió y discrimino entre las dos clases estudiadas en este trabajo

- **PCA con auto-escalado de datos**



**Figura 76.** Análisis PCA con auto-escalado de datos.

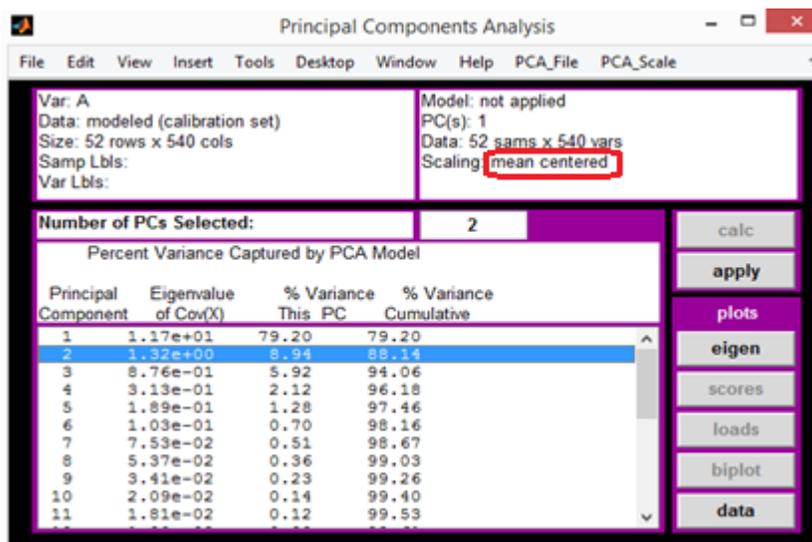
Por medio de un pre-procesado a la matriz de datos (auto-escalado), la varianza total capturada fue del 87.94% para los dos primeros PC's.



**Figura 77.** Resultados con el análisis de componentes principales PCA (Auto-escalado)

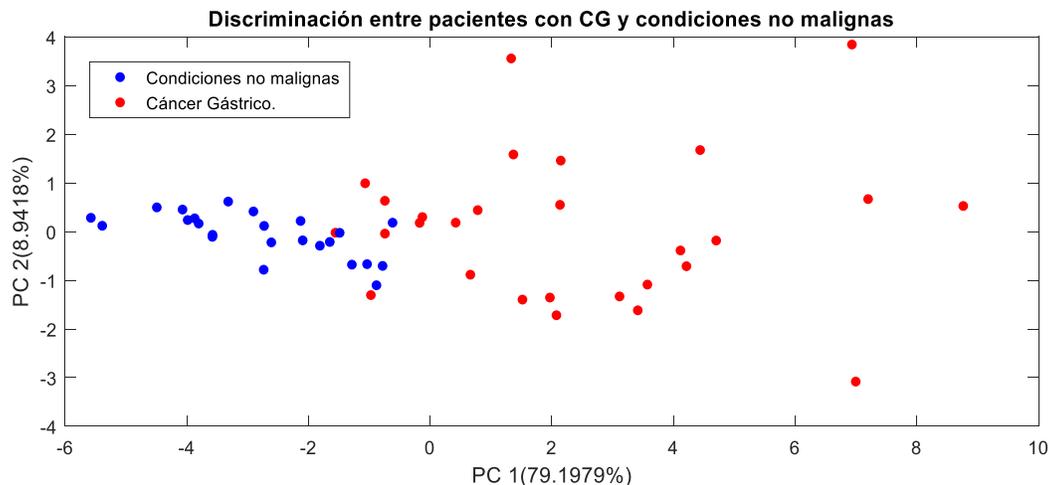
El análisis PCA (Ver figura 77) con auto-escalado discrimina los dos grupos de estudio, *Pacientes con cáncer gástrico(rojo) - Pacientes Control(azul)*, la importancia de su uso radica en que sin necesidad de dar a conocer previamente la clase a la cual pertenece la muestra, ésta la agrupa en el cluster correspondiente.

- **PCA con centrado de datos**



**Figura 78.** Análisis PCA con centrado de datos.

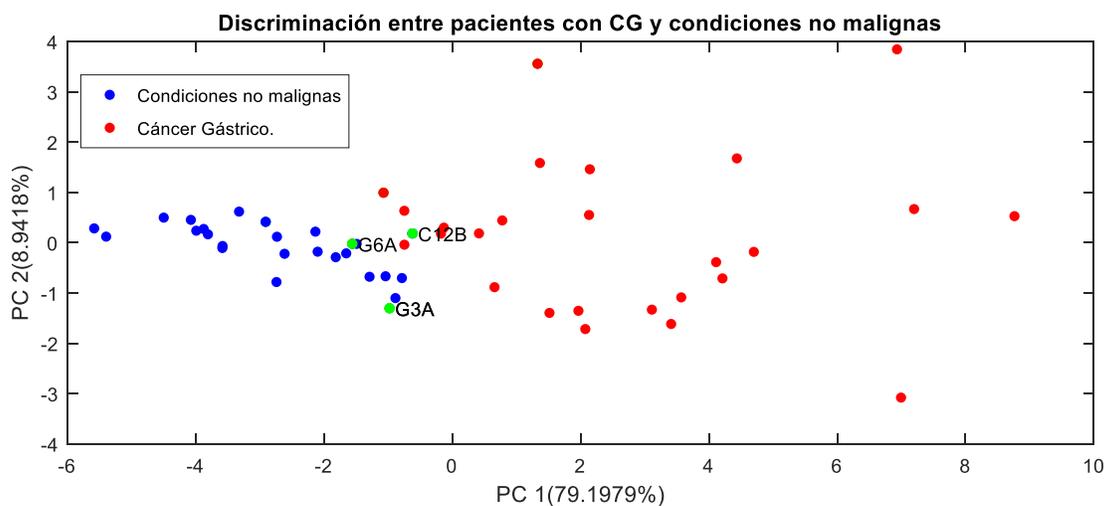
Por medio de un pre-procesado a la matriz de datos (centrado de datos), la varianza total capturada fue del 88.14% para los dos primeros PC's.



**Figura 79.** Resultados con el análisis de componentes principales PCA (centrado de datos)

Los resultados son similares a los que se obtienen con auto-escalado, en ambos casos se logra discriminar entre los dos grupos de estudio (cáncer y controles), este resultado demostró la buena repetitividad y selectividad de este sensor. Las categorías de las medidas se validaron con el historial clínico de los pacientes. (**Ver anexo 2**)

Para comprender un poco las posibles razones de solapamiento de algunas muestras, tal y como se muestra en la figura 80, nos remitimos a los historiales clínicos de los pacientes. Las 3 muestras que presenta solapamiento se resaltan en color verde.



**Figura 80.** Análisis PCA, Muestras zona de solapamiento.

<b>MUESTRA C12B</b>	<b>MUESTRA G3A</b>	<b>MUESTRA G6A</b>
Paciente de control número 12, segunda muestra. Sexo: femenino Edad: 83 Diagnóstico: Úlceras antrales Exhalación: normal Estado físico: Estable	Paciente de cáncer número 3, primera muestra. Sexo: femenino Edad: 79 Diagnóstico: CA Exhalación: dos exhalaciones por muestra Estado físico: Crítico	Paciente de cáncer número 6, primera muestra. Sexo: femenino Edad: 66 Diagnóstico: CA Exhalación: normal Estado físico: Normal (inicial). Observaciones: Consumió changua

De donde podemos inferir que son medidas de pacientes que presentan particularidades en su estado físico y/o en la toma de las muestras; lo que conlleva a deducir que posiblemente fueron algunas de las razones por las cuales el resultado no fue tan satisfactorio.

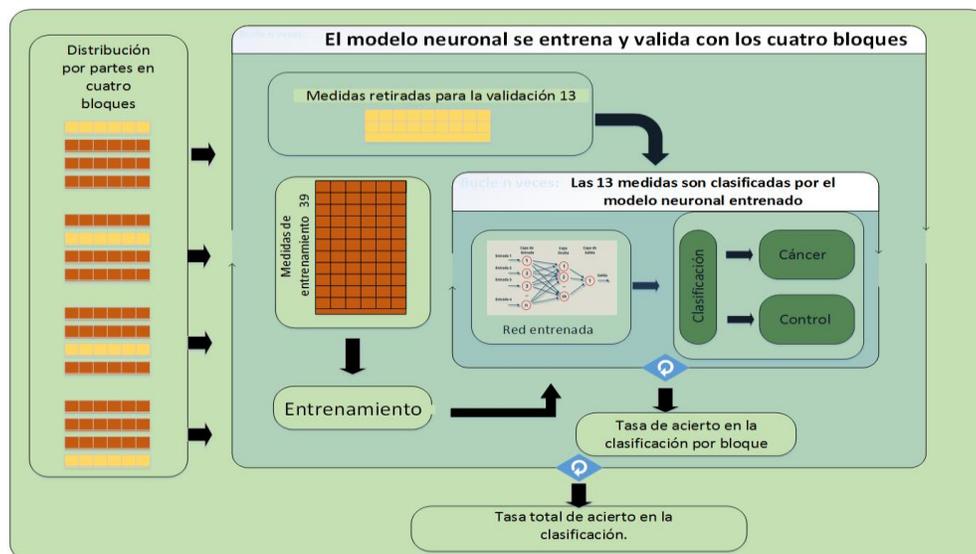
### **6.2.3.2 Análisis Supervisado (Métodos de reconocimiento de patrones).**

Como paso posterior al análisis no supervisado empleando técnicas multivariadas como son los análisis de componente principales (PCA), con resultados prometedores, se procedió a emplear otras técnicas supervisadas de clasificación y reconocimiento de patrones específicamente las redes neuronales Artificiales (RNA) y las máquinas de soporte vectorial (SVM), para determinar los porcentajes de acierto en la clasificación entre las dos categorías determinadas (Cáncer Gástrico y control). Las diferentes técnicas utilizadas tomaron como referencia los datos obtenidos del proceso de preprocesamiento, es decir, luego de pasar por las etapas de normalización y reducción de variables, explicados anteriormente en el numeral 5.5. La plataforma utilizada para la ejecución de los modelos clasificadores fue MATLAB versión 2014.

Después de realizar la reducción de variables la matriz de datos es en general de (52 \* 6). Se realizaron varias pruebas con la información recopilada empleando las técnicas mencionadas, las cuales se resumen a continuación:

Inicialmente se realizó el uso de las redes neuronales como estrategia de clasificación, en la actualidad son altamente utilizadas como modelos alternos de cómputo para solución de problemas complejos

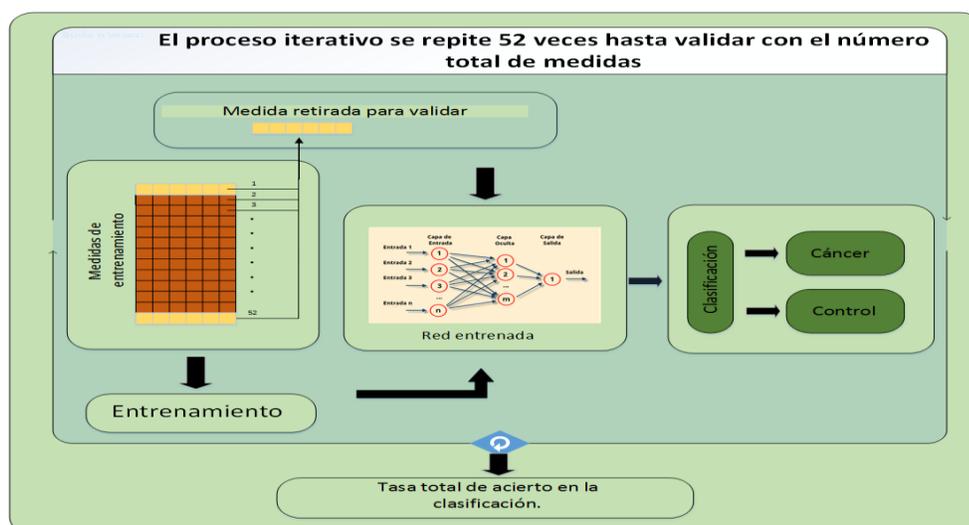
- Clasificación con redes neuronales multicapa perceptrón (MLP), función de base radial (RBF), red neuronal probabilística (PNN), empleando en la fase de entrenamiento la totalidad de las muestras, dando un resultado del 100 % de clasificación, pero es importante mencionar, que dicho resultado no es conveniente tomarlo como referencia ya que el hecho de entrenar y validar con la misma información no nos da confiabilidad en el momento de analizar los resultados.
- Clasificación con las mismas redes neuronales anteriores, pero realizando una distribución por partes (Ver figura 81), es decir, un 75 por ciento de los datos fueron empleados para entrenar los modelos neuronales (39 muestras) y el 25 por ciento restante utilizados para la validación (13 muestras). Para tener un mayor uso de esta distribución se crearon 4 bloques, aplicando a cada uno de ellos la técnica en mención, seleccionando de forma aleatoria las muestras para el 75 y 25 por ciento respectivamente, dando resultados entre el 82.27 y el 92.3 % por ciento de acierto, dando en promedio una relación de 12 aciertos y un fallo para el mejor de los casos, el cual fue utilizando el modelo neuronal con topología PNN.



**Figura 81.** Distribución por partes

- Se realizó una prueba uniendo la técnica PCA, como estrategia de reducción de la dimensión de las variables, para luego realizar la técnica por partes mencionada anteriormente, dando un resultado no tan deseado llegando al 76.9 por ciento de clasificación.
- Otra de las estrategias empleadas para evaluar la clasificación, es la técnica conocida como leave one out (dejar uno por fuera)(Ver figura 82) la cual consiste

en generar un ciclo de evaluación en donde secuencialmente se va dejando una muestra del conjunto a evaluar por fuera y con las restantes se realiza el proceso de entrenamiento, para luego evaluar y validar el modelo entrenado con la muestra retirada, realizando  $n$  ciclos similares según el número de muestras totales siendo al final validadas todas las muestra retiradas, dando un porcentaje de acierto en función de la totalidad de dichas muestras, en nuestro caso, del total de 52 muestras, el ciclo de leave one out se realizó 52 veces, evaluándose en cada uno de los casos con las diferentes redes neuronales definidas (MLP,RBF,PNN). Evaluando todas las posibilidades el mejor resultado se obtuvo con la red neuronal probabilística con un porcentaje de acierto de 92.3077 %, con 48 aciertos de las muestras correspondientes a cada una de las dos clases, por consiguiente, 4 fallos del total de 52 muestras.



**Figura 82.** Técnica leave one out (dejar uno por fuera).

En recientes años, el uso de las máquinas de soporte vectorial se ha convertido en una herramienta ideal en los procesos de clasificación, generando resultados en muchos casos mejores que los obtenidos con las mismas redes neuronales, ello es debido a factores como optimizar el mínimo riesgo estructural, entre otros, a través del manejo y control de elementos como la función kernel o el parámetro de costo  $C$ , en otras palabras, un SVM permite construir hiperplanos en un espacio de dimensionalidad que puede ser utilizado en problemas de clasificación o regresión.

En nuestro caso se decidió explorar esta técnica e intentar mejorar los resultados obtenidos con las diferentes redes neuronales implementadas, evaluando en cada caso diferentes modelos SVM, variando en cada uno de ellos las diferentes opciones de funciones kernel (Polinomial, lineal, gaussiano, spline, entre otros).

- Inicialmente se realizó la misma estrategia de distribución de la información por partes usadas con las redes neuronales (75 para entrenar y 25 para validar), empleando en este caso, como modelo de clasificación las máquinas de soporte vectorial con una función kernel polinomial y un valor de C de 1000, generando unos resultados promedio de 92.3077 por ciento de clasificación, es decir, 12 muestras con aciertos y una muestra no clasificada correctamente.
- Finalmente, se dejó como ultima estrategia por mostrar la que se consideró como el mejor resultado obtenido una vez valorada todas las estrategias implementadas, ella es el uso de las máquinas de soporte vectorial en acople a la técnica de evaluación leave one out utilizada igualmente con las redes neuronales y que fue explicada anteriormente,, en este caso se logró llegar a un porcentaje de acierto en la clasificación del 94.2308 %, llevando a un total de 49 muestras bien clasificadas y únicamente 3 muestras no clasificadas correctamente.  
Las tres muestras clasificadas como fallos corresponden a las mismas que no se ubicaron de forma correcta en el plano bidimensional obtenido en el análisis no supervisado PCA, es decir, la muestra C12B4 (muestra de control clasificada como muestra de cáncer), muestra G3A4, muestra G6A4 (muestras de cáncer clasificadas como muestras de control).

La tabla 10, representa de forma resumida y sintetizada los resultados explicados y analizados anteriormente.

**Tabla 10.** Resultados técnica supervisada.

<b>Técnica supervisada</b>	<b>Porcentaje de clasificación</b>
Red MLP entrenamiento por partes (distribución 4 bloques)	82.27%
Red RBF entrenamiento por partes (distribución 4 bloques)	90.38%
Red PNN entrenamiento por partes (distribución 4 bloques)	92.30%
PCA unido PNN por partes	76.9%
Leave one out red MLP	88.46%
Leave one out red RBF	90.38%
Leave one out red PNN	92.30%
SVM entrenamiento por partes (kernel polinomial)	92.30%
SVM entrenamiento leave one out (kernel lineal)	94.23 %

### 6.3. Análisis de las muestras pre-concentradas en los tubos tenax utilizando el sistema de desorción térmica.

Las muestras que fueron pre-concentradas en los tubos Tenax estuvieron almacenadas a una temperatura de 4°C, con el sistemas de desorción térmica desarrollado fue posible extraer los COV,s para ser analizados con el sistema multisensorial. En la figura 83 se observa este conjunto de muestras.



**Figura 83.**Muestras pre-concentradas en los tubos Tenax

Las muestras fueron desorbidas y analizadas en la Universidad de Pamplona (SB tercer piso), la figura 84 muestra los equipos y materiales utilizados.



**Figura 84.** Equipos y materiales utilizados en la desorción y análisis de las muestras.

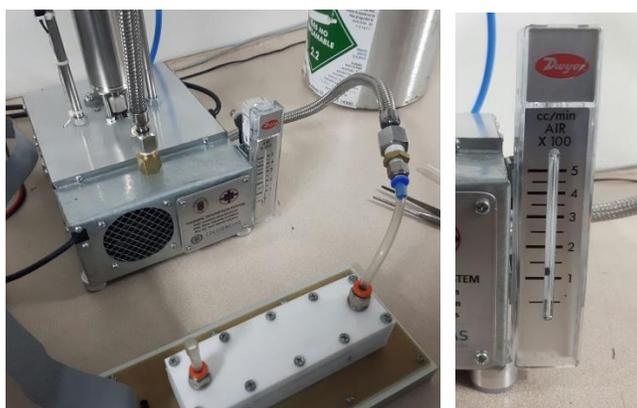
### 6.3.1. procedimiento

Los tapones asegurados a los extremos del tubo para evitar que las muestras se han diluidas o contaminadas por agentes externos se retiran, el tubo se introduce en la cápsula de calentamiento y esta se cierra (Ver figura 85).



**Figura 85.** Inserción del tubo en la capsula de calentamiento.

Transcurrido el tiempo de desorción, los COV,s son liberados y pueden ser conducidos hasta la cámara de medida para su análisis, el flujo de nitrógeno (100mL) que los conduce, puede visualizarse en el flujometro, también puede ser controlado con una válvula auxiliar que se encuentra en su parte superior.



**Figura 86.** Conduccion de los COV,s a la cámara de medida.

Después que los COV,s son enviados y analizados por el sistema multisensorial, el tubo Tenax se retira con la ayuda de una pinza (Ver figura 87), la alta temperatura(250°C) puede causar quemaduras graves.



**Figura 87.** Manera correcta de retirar el tubo Tenax con pinza.

Después de retirar el tubo se procede con la limpieza del sistema para poder realizar la desorción de una nueva muestra.

En la tabla 11 se muestran los parámetros empleados en el proceso de desorción térmica.

**Tabla 11.** Parámetros empleados en el proceso de desorción térmica

Parámetros	Valores
Temperatura de desorción	250°C
Flujo de desorción	100 mL
Tiempo de desorción	5 minutos
Tiempo de extracción de los COV,s	10 minutos
Tiempo de limpieza	5 minutos

El software de adquisición de datos del sistema multisensorial se sincroniza con el del sistema de desorción térmica, cuando los COV,s son conducidos a la cámara de medida, también se realiza la adquisición de la respuesta de los sensores a los COV,S desorbidos. Los datos se guardan en los ficheros para su posterior análisis.

### 6.3.2. Resultados y análisis.

Se desorbieron un total de 33 muestras de las cuales 16 corresponden a pacientes con cáncer gástrico y 17 a pacientes control, es importante mencionar que las muestras llevaban un periodo de 16 meses almacenadas, aun así conservaban los COV,s.

### 6.3.2.1 Respuesta eléctrica de los sensores.

El análisis de la respuesta eléctrica de los sensores evidencio la presencia de los COV,s desorbidos, se presenta un cambio significativo en la respuesta del sensor cuando estos son conducidos a la cámara de medida.

Se graficaron y analizaron las respuestas eléctricas de los sensores, en las figuras 88 y 89 se muestran las respuestas de los sensores que presentaron cambios significativos ante la presencia de los COV,s desorbidos.

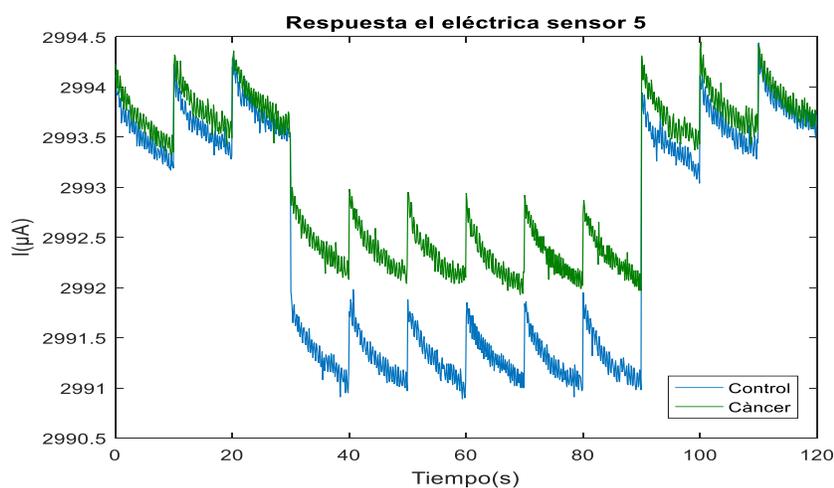


Figura 88. Respuesta eléctrica del sensor 5.

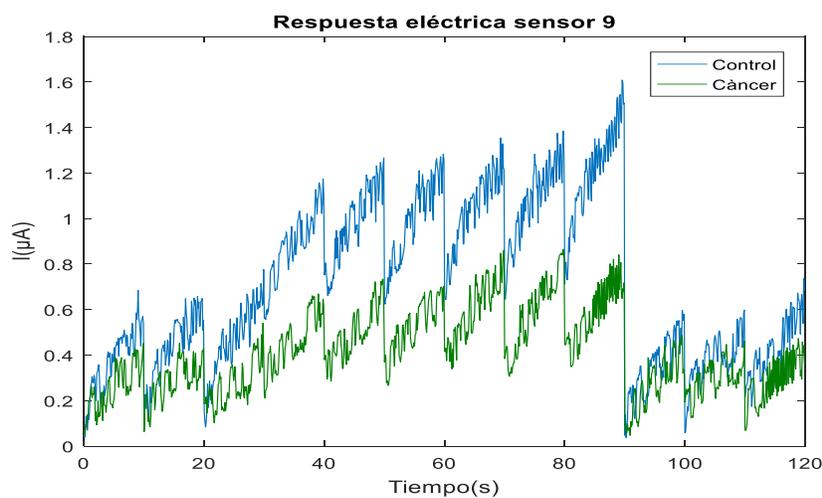


Figura 89. Respuesta eléctrica del sensor 9.

Los sensores 5 y 9 presentaron un buen comportamiento, además de responder ante la presencia de los COV,s discriminan entre muestras de diferente clase, sus respuestas difieren para cada una de las clases de estudio (cáncer y control), pero presentan el mismo comportamiento para muestras de la misma clase.

En la tabla 12 se evidencian las propiedades de estos sensores.

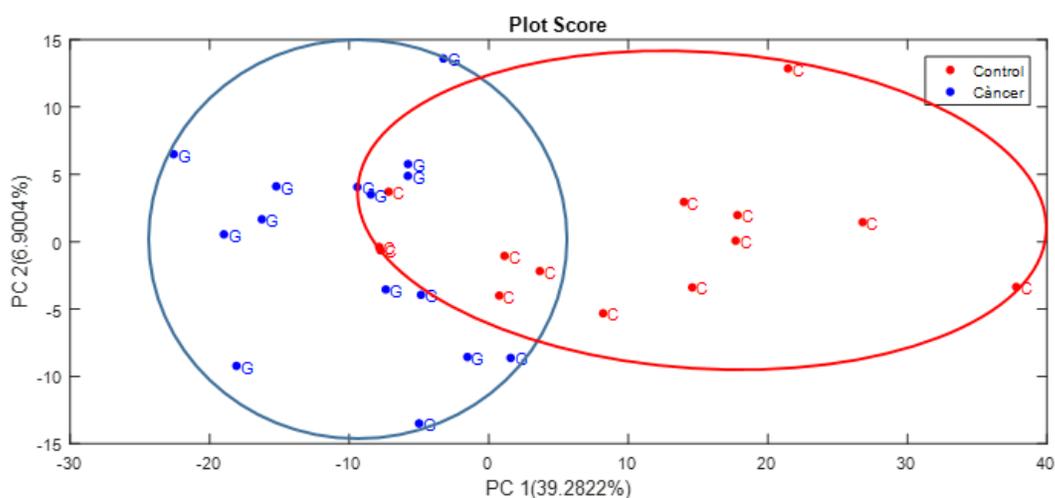
**Tabla 12.** Sensores sensibles a los COV,s desorbidos.

Ubicación de los sensores en la cámara	Nomenclatura	Resistencia	AuNPs + Ligando
Sensor 5	E16F	1.6/1.7 k $\Omega$	F: 2-Mercaptobenzoxazol
Sensor 9	E15B	450/445 k $\Omega$	B: 1-decanethiol

A este conjunto de datos también se les aplicaron las técnicas de pre-procesamiento y procesamiento de datos mencionadas en el apartado 5.5 y 5.6

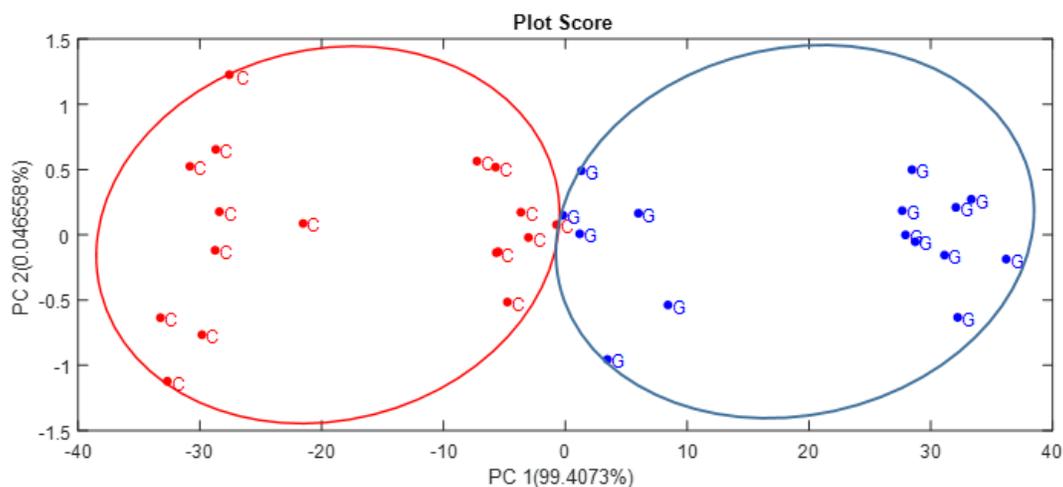
### 6.3.2.2 Análisis no supervisado (PCA)

El análisis de componentes principales se aplicó a los dos sensores de manera independiente, para el sensor 9 (Figura 90) La varianza total capturada fue del 45.37% para los dos primeros PC's, se evidencia el solapamiento de algunas de las muestras, pero se pueden identificar dos clúster correspondientes a las clases de estudio.



**Figura 90.** Resultados con el análisis de componentes principales PCA (auto-escalado) sensor 9.

El análisis de componentes principales para el sensor 5 (Figura 91) discrimina de manera eficaz entre los dos grupos de estudio (cáncer-control), se identifican claramente dos clusters donde se ubican de manera correcta las muestras. La varianza total capturada fue del 99.44% para los dos primeros PC's,



**Figura 91.** Resultados con el análisis de componentes principales PCA (auto-escalado) sensor 5.

### 6.3.2.2 Análisis Supervisado (Métodos de reconocimiento de patrones).

Se emplearon técnicas supervisadas de clasificación y reconocimiento de patrones específicamente la red neuronal probabilística (PNN) y las máquinas de soporte vectorial (SVM), estos dos modelos fueron los que presentaron los mejores porcentajes de acierto en la clasificación durante el análisis de las medidas en línea.

Estas dos técnicas tomaron como referencia los datos obtenidos del proceso de pre-procesamiento, es decir, luego de pasar por las etapas de normalización y reducción de variables, explicados en el numeral 5.5.

- Se realizó una prueba uniendo la técnica PCA, como estrategia de reducción de la dimensión de las variables, para los modelos clasificadores se utilizó la técnica de entrenamiento leave one out (dejar uno por fuera) los porcentajes de acierto fueron del 70.96% para la red PNN y del 77,41% para SVM.

- Aplicando la estrategia de reducción de la dimensión de las variables basada en la respuesta eléctrica del sensor, y empleando entrenamiento leave one out se obtiene un porcentaje de acierto en la clasificación del 93,5484% tanto para la red PNN como los SVM. Las dos muestras clasificadas de manera incorrecta por los dos modelos son las que se encuentran en la frontera entre los dos clusters vistos en el análisis PCA.

**Tabla 13.** Resultados técnica supervisada.

<b>Técnica supervisada</b>	<b>Porcentaje de clasificación</b>
PCA unido PNN entrenamiento leave one out	70.96%
PCA unido SVM entrenamiento leave one out	77.41%
PNN entrenamiento leave one out	93.54%
SVM entrenamiento leave one out (kernel lineal)	93.54%

Evaluando los resultados obtenidos con el análisis PCA y modelos clasificadores se evidencia el buen funcionamiento del sistema de desorción térmica desarrollado, a pesar de que las muestras llevaban 16 meses almacenadas, aun conservaban los COV,s .

## CONCLUSIONES

El muestreador Bio-VOC y los tubos pre-concentradores Tenax demostraron ser idóneos para el acondicionamiento de las muestras de aliento, conduciendo a los buenos resultados obtenidos con el sistema multisensorial.

Los sensores respondieron a las muestras de aliento exhalado de tanto los voluntarios fumadores como los no fumadores, mostrando diferentes respuestas características para cada grupo de estudio y una buena recuperación después de la evacuación de los COVs.

El análisis PCA reveló excelente potencial de discriminación entre diferentes medidas realizadas con la matriz de sensores, lo que sugiere la idoneidad de los sensores de AuNPs para aplicaciones de análisis de aliento.

Con el sistema multisensorial desarrollado se analizaron un conjunto de muestras de aliento de pacientes con cáncer gástrico y pacientes de control, queda demostrado que si existen biomarcadores característicos que permiten detectar el cáncer gástrico a través del aliento exhalado.

El sistema de desorción térmica permitió desorber las muestras pre-concentradas en los tubos Tenax, este tipo de pre-concentradores mostraron un excelente desempeño durante el estudio, las muestras de aliento fueron almacenadas durante 16 meses conservando su integridad.

El algoritmo PID implementado para controlar la temperatura de la cápsula asegura las mismas condiciones de desorción para todas las medidas, contribuyendo a la repetitividad en las respuestas de los sensores.

La automatización del proceso de desorción térmica además de asegurar las mismas condiciones para todas las medidas, evita que la muestra sea contaminada por agentes externos o que sea diluida durante la desorción, la escasa intervención del analista minimiza el riesgo de contaminación y pérdida de analitos.

De todos los modelos clasificadores implementados, los mejores resultados se obtuvieron con las máquinas de soporte vectorial. En las medidas realizadas en línea se obtuvo un porcentaje de acierto en la clasificación del 94.23 %, para las medidas empleando la técnica de desorción térmica el porcentaje de acierto fue de 93.54%.

Según referencias tomadas de los expertos el porcentaje patrón definido para la valoración por endoscopia, es cercano al 95%, si se compara con los obtenidos con los modelos

evaluados, específicamente con los SVM entrenados empleando leave one out ( 94.23 % ) se puede concluir que los resultados con el sistema desarrollado de detección de cáncer gástrico empleando el sistema multisensorial es prometedor y podrá seguramente consolidarse como estrategia paralela a las técnicas utilizadas en la actualidad.

## Referencias bibliográficas

- Aleixandre, M., Lozano, J., Gutiérrez, J., Sayago, I., Fernández, M.J., & Horrillo, M. C. (2008). Portable e-nose to classify different kinds of wine. *Sensors and Actuators B: Chemical*. Volume 131, 71-76.
- Ali, Z., James, D., Hare, W.T., Rowell, F.J., & Scott, S.M. (2003). Gas-phase pre- concentration for a quartz crystal microbalance based electronic nose, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Vol:71, pág: 163-171.
- Amal, H., Funka, K., Liepniece-Karele, I., Skapars, R., Leja, M., & Haick, H. (2013), Volatile Markers Can Discriminate Between Gastric Cancer and Benign Conditions, *Gastroenterology*, 144(5), S-353. DOI: 10.1016/S0016-5085(13)61300-1.
- Amann, A., & Smith, D. (2013). *Volatile Biomarkers: Non- Invasive Diagnosis in Physiology and Medicine*; 1ª Edición; Amsterdam; Elsevier; 129-131.
- Amann, A., & Smith, D. (2013). *Volatile Biomarkers: Non- Invasive Diagnosis in Physiology and Medicine*; 1ª Edición; Amsterdam; Elsevier; 189-190.
- Anker, J. N., Hall, W. P., Lyandres, O., Shah, N. C., Zhao, J., & Van Duyne, R. P. (2008). Biosensing with plasmonic nanosensors. *Nature materials*, 7(6), 442-453.
- Astruc, M., Christine, D., & Didier. (2004). Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, Quantum-Size-Related Properties, and Applications toward Biology, Catalysis and Nanotechnology. *Chem. Rev.*, págs. 293-346.
- Beauchamp, J., Herbig, J., Gutman, R., & Hansel, A. (2008). *Journal of Breath Research*; 2; 046001.
- Boyle, B., operations vicepresidente of Owlstone, (2006): *Electronic nose that sniffs out trouble*. Horizon. Spring.
- Bosch, S. R., Director de Tesis Jesús Brezmes, (2001): *Tesis Doctoral, Diseño y Realización de una nariz electrónica para la discriminación de aceites*. Universitat Rovira I Virgili. España
- Busto, O., Martí, M.P., & Guasch, J. (2002): *La nariz electrónica en el Control de Calidad de los Vinos*. Tecnología del vino. Laboratorios y Enología, 31-36
- Boisselier, E., & Astruc, D. (2009). Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity. *Chemical society reviews*, 38(6), 1759-1782.
- Bishop, & Christopher, M. (1995). *Neural Networks for Pattern Recognition*. Oxford University Press, Inc., New York, NY, USA. ISBN 0198538642.
- Burrascano, P., Fiori, S., & Mongiardo, M. (1999). A review of artificial neural networks applications in microwave computer-aided design. *International Journal of RF and Microwave Computer-Aided Engineering*, 9(3), pp. 158-174.
- Cadena, J.A., Cadena, J.M., & Pérez, S.M. (2008) aplicación de redes neuronales probabilísticas en la detección de fallas incipientes en transformadores. *Scientia et Technica Año XIV, No 39, septiembre de 2008*. Universidad Tecnológica de Pereira. ISSN 0122-1701
- Canhoto, O., Pinzari, F., Fanelli, C., & Magan, N. (2004). Application of electronic nose technology for the detection of fungal contamination in library paper. *International Biodeterioration & Biodegradation*. Volume 54, 303 – 309.
- Charumporn, B., & Omatu, S. (2002). Classifying Smokes Using an Electronic Nose and Neural Networks. *IEEE Proceedings of the 41st SICE Annual Conference*. Volume 5, 2661 – 2665.

- Castro, M., Kumar, B., Feller, J.F., Haddi, Z., Amari, A., & Bouchikhib, B. (2011). Novel e-nose for the discrimination of volatile organic biomarkers with an array of carbon nanotubes (CNT) conductive polymer nanocomposites (CPC) sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 159(1), 213–219. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925400511006186>
- Cao & Guozhong. (2004.) *Nanostructure and Nanomaterials*. Imperial College Press.
- Cortijo, F. (2003): *Técnicas Supervisadas, Aproximación no Paramétrica, Reconocimiento de patrones*. Universidad de Granada. España.
- Chaturvedi, D.K. (2008). *Soft Computing Techniques - Studies in Computational Intelligence*. Springer-Verlag, London.
- Cybenko, G. (1989). Approximation by superpositions of sigmoidal functions. *Math. Control, Signals, Syst.*, 2, pp. 303-314.
- Di Francesco, F., Fuoco, R., & Trivella, M. (2005). *Microchemical Journal*; 79; 405- 410.
- Díaz, J. A. (2006): “Vulcanología: invento de una nariz electrónica capaz de oler gases” (en línea). Centro de Alta Tecnología de San José, Costa Rica. Turcon.
- Durán, C., Velazquez, A., & Gualdrón, O. (2012). Implementation of an electronic nose to detect patients with COPD from exhaled breath, *Revista Ingeniería y Desarrollo de la Universidad del Norte*, 30 (2), 143-159. <http://www.scielo.org.co/pdf/inde/v30n2/v30n2a02.pdf>
- Durán, C. M., Director de Tesis Jesús Brezmes, (2005): *Tesis Doctoral, Diseño y optimización de los subsistemas de un sistema de olfato electrónico para aplicaciones agroalimentarias e industriales*. Universitat Rovira I Virgili. España.
- Daniel, M. C., & Astruc, D. (2004). Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chemical reviews*, 104(1), 293-346.
- El Barbri, N., Llobet, E., El Bari, N., Correig, X., & Bouchikhi, B. (2008). Application of a portable electronic nose system to assess the freshness of Moroccan sardines. *Materials Science and Engineering: C*. Volume 28, 666-670.
- Electronic Sensor Technology: “Applications: Homeland Security”, (en línea), (2017).
- Ehmann, R., Boedeker, E., Friedrich, U., Sagert, J., Dippon, J., Friedel, G., & Walles, T. (2012). Canine scent detection in the diagnosis of lung cancer: revisiting a puzzling phenomenon, *European respiratory journal*, 2012, 39 (3), 669-676. DOI: 10.1183/09031936.00051711.
- Ederth, J., Kish, L., Olsson, E., & Granqvist, C. (2002). In situ electrical transport during isothermal annealing of nanocrystalline gold films, *Journal of Applied Physics*. 91, 1529, <http://dx.doi.org/10.1063/1.1427399>
- Ederth, J., Kish, L., Olsson, E., & Granqvist, C. (2000). Temperature dependent electrical resistivity in nanocrystalline gold films made by advanced gas deposition, *Journal of Applied Physics*, 88, 6578, <http://dx.doi.org/10.1063/1.1322384>.
- Fraden, J. (2004). *Handbook of Modern Sensors Physics, Designs and Applications*. 3th Edition, Springer. USA.
- Fuoco, R., Ceccarini, A., Onor, M., & Marrara, L. (1999). Analysis of priority pollutants in environmental samples by on-line supercritical fluid chromatography cleanup–cryo- trap–gas chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 846 387–393,
- Faraday, M. (1857). *Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light*. [ed.] Royal Society of London. s.l. : Philos. págs. 145-181. Vol. 147.

- Gardner, J.W. & Barlett, P.N., (1999), *Electronic Noses: Principles and Applications*. Oxford University Press.
- Gardner, J. W., Woo, H. S., Hines, E. L., & Dow, C.S., (2000). An electronic nose system for monitoring the quality of potable water. *Sensors and Actuators B: Chemical*. Volume 69, 336–341.
- Goschnick, J., Koronczi, I., Frietsch, M., & Kiseley, I., (2005). Water pollution recognition with the electronic nose KAMINA. *Sensors and Actuators B: Chemical*. Volume 106, 182–186.
- Gardner, J.W & Bartlett, P. (1994). A brief history of electronic noses, *Sensors and Actuators B*, 18(1-3), 210-220, DOI:10.1016/0925-4005(94)87085-3.
- Griffin, M. (2003). *Electronic Noses: Multisensor Arrays* (en línea), The Coffee Research Institute : Coffee Chemistry Studies and Coffee Science Experiments. <http://www.coffeeresearch.org/science/ourresearch.htm>.
- Granda, J. (2009). *Propiedades magnéticas de nanopartículas de oro*. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones, Tesis.
- Gutiérrez & Osuna R., (2002). Pattern Analysis for machine olfaction: a review. *Sensors Journal, IEEE*, Volume 2, 189- 202.
- Granqvist, C., & Buhrman, R., (1976). Ultrafine metal particles, *Journal of Applied Physics*, 47, 2200-2219. <http://dx.doi.org/10.1063/1.322870>
- Grönbeck, H., Curion, A. I., & Andreoni, W. (2000). Thiols and disulfides on the Au (111) surface: The headgroup-gold interaction, *Journal of the American Chemical Society*. 122 (16), 3839– 3842, DOI: 10.1021/ja993622x.
- Hakim, M., Billan, S., Tisch, U., Peng, G., Dvorkind, I., Marom, O., Abdah-Bortnyak, R., Kuten, A., & Haick, H. (2011). Diagnosis of head and neck cancer from exhaled breath, *British Journal of Cancer*, 104 (10), 1649-1655. DOI: 10.1038/bjc.2011.128.
- Haykin, S. (2007). *Neural Networks: A Comprehensive Foundation* (3rd Edition). Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ, USA. ISBN 0131471392.
- Haykin, S (2008). *Neural Networks and Learning Machines* (3rd Edition). Prentice Hall, 3a edición. ISBN 0131471392.
- Hornik, K., Stinchcombe, M., & White, H. (1989). Multilayer feedforward networks are universal approximators. *Neural Networks*, 2(1), pp. 359-366.
- Hamacher, T., Niess, J., Lammers, P. S., Diekmann, P., & Boeker, P. (2003). Online measurement of odorous gases close to the odour threshold with a QMB sensor system with an integrated preconcentration unit, *Sensors and Actuators B*, Vol: 95, pág: 39- 45.
- Ishida, H., Tanaka, H., Taniguchi, H., & Moriizumi, T., (2004). Mobile Robot Navigation Using Vision and Olfaction to Search for a Gas/Odor. *Proceedings of 2004 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems*. Volume 1, 313-318. Japón.
- Janusz, G., Tomasz, G., Elżbieta, P., Malgorzata, G., & Jan, N. (2000). Dry purge for the removal of water from the solid sorbents used to sample volatile organic compounds from the atmospheric air, *The Analyst, The Royal Society of chemistry*, 125, pág: 2112-2117.
- Kischkel, S., Miekish, W., & Sawacki, A. ( 2010). *Clinica Chimica Acta*; 411, 1637-1644.
- Li, J., Peng, Y., & Duan, Y. *Oncology/Hematology*; 2013; 87; 28-40.
- Lebrun, M., Plotto, A., Goodner, K., Ducamp, M.N., & Baldwin, E. (2008). Discrimination of mango fruit maturity by volatiles using the electronic nose and gas chromatography. *Postharvest biology and technology*. Volume 48, 122-131.

- Lamagna, A., Reich, S., Rodríguez, D., Boselli, A., & Cicerone, D., (2008). The use of an electronic nose to characterize emissions from a highly polluted river. *Sensors and Actuators B: Chemical*. Volume 131, 121–124.
- López, R., Sonia, Al-Qadi & Carmen. (2009). *Nanopartículas metálicas: oro* [ed.] Real academia nacional de farmacia. Madrid: s.n., págs. 223-248.
- Martínez, J. D., Garzón, M. A., Lizarazo, J. I., Marulanda, J. C., Molano, J. C., Rey, M. H., & Hormaza, N. (2010). Características de los pacientes con cáncer gástrico del departamento de Cundinamarca, remitidos al Hospital Universitario de la Samaritana entre los años 2004 y 2009 *Revista Colombiana de Gastroenterología*, vol. 25, núm. 4, octubre-diciembre, 2010, pp. 344-348 Asociación Colombiana de Gastroenterología Bogotá, Colombia.
- Mostacero, S., & Fernández, A. (2012). Cáncer gástrico. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada acreditado*; 11(3).
- Minh, T., Blake, D., & Galassetti, P. (2012). *Diabetes Research and Clinical Practice*;97; 195-205.
- Moreno, I., Caballero, R., Ramón, G., & Matía, F., Jiménez, A. (2009). *La Nariz Electrónica: Estado del Arte*, Vol. 6, Núm. 3, Julio 2009, pp. 76-91
- Mildner-Szkudlarz S. and Jelén, H. H. (2008). The potential of different techniques for volatile compounds analysis coupled with PCA for the detection of the adulteration of olive with.
- Mazzatenta, A., Di Giulio, C., & Pokorski, M. (2013). *Respiratory Physiology and Neurobiology*; 187; 128-134.
- Mashir, A., & Dweik, R. (2009). *Advanced Powder Technology*;20; 420-425.
- Madsen, R., Lundstedt, T., & Trygg, J. (2010). *Analytica Chimica Acta*; 659; 23-33
- Miekish, W., & Schubert, J. G. (2004). *Noelde-schomburg; Clinica chimica acta: international journal of clinical chemistry*; 347; 25-39.
- Mochalski, P., King, J., Unterkofler, K., & Amann A. (2013). *Analyst*; 138; 1405-1418.
- Mochalsi, P., Wzorek, B., Sliwka, I., & Amann, A. (2009). *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in Biomedical and Life Sciences*; 877; 189-196.
- Mazzone, P., Hammel, J., Dweik, R., Na, J., Czich, C., Laskowski, D., & Mekhail, T. (2007), Diagnosis of lung cancer by the analysis of exhaled breath with a colorimetric sensor array. *Thorax*, (62), 565–568.
- Muñoz, M.G. (2013). *Nanopartículas de Au y Pd: síntesis, funcionalización y aplicaciones catalíticas*. Barcelona: Universitat de Barcelona.
- Martinez, A. M., & Kak, A. C. (2001). PCA versus LDA. *IEEE Transactions on Pattern. Analysis and Machine Intelligence*, 23(2), 228–233. <http://doi.org/10.1109/34.908974> ministerio del medio ambiente. (2002). *Guia minero ambiental de explotacion*.
- Meireles, M. R., Almeida, P. E., & Simoes, M. G. (2003). (Acomprehensive review for industrial applicability of artificial neural networks). *Industrial Electronics, IEEE Transactions on*, 50(3), pp. 585-601.
- Nagle, H. T., Gutiérrez-Osuna R., Kermani, B. G., & Schiffman, S. S. (2002). *Environmental Monitoring*. To appear in *Handbook Machine Olfaction: Electronic Nose Technology*, Wiley-VCH.
- Oliver, K.D., Adams, J. R., Hunter, E., Daughtrey, Jr., McClenny, W.A., Yoong, M. J., Pardee, M., Almasi, E. B., & Kirshen, N. (1996). Technique for Monitoring Toxic VOCs in Air: Sorbent Preconcentration, Closed Cycle Cooler Cryo-focussing, and GC/MS, *Analysis Environmental. Sci. Technol.* 30, pág:1939-1945.
- Parkin, D.M., Bray, F., Pisani, F., & Pisani, P. (2002). *Global cancer statistics*, *CA Cancer J Clin.* 2005; 55:74-108.

- Phillips, M. (1992). *Scientific American*; 267; 74-79.
- Phillips, M., Herrera, J., & Krishnan, S. (1999). *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*; 729; 75-88.
- Pauling, L., Robinson, A., & Teranishi, R. (1971). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*; 1971; 68; 2374-23
- Persaud, K., & Dodd, G. (1982). Analysis of discrimination mechanisms of the mammalian olfactory system a model nose. *Nature*, Volume 299, 352-355.
- Pan, L., Liu, R., Peng, S., Chai, Y., & Yang, S., (2007). A wireless electronic nose network for odours around livestock farms. *IEEE, 14th International Conference on Mechatronics and Machine Vision in Practice. M2VIP 2007*, 211 – 216.
- Peng, G., Hakim, M., Broza, Y. Y., Billan, S., Abdah-Bortnyak, R., Kuten, A., Tisch, U., & Haick, H. (2010). Detection of lung breast, colorectal and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors, *British journal of Cancer*, 103, 542-551. DOI: 10.1038/sj.bjc.6605810.
- Pearce, T. C., Schiffman, S. S., Nagle, H. T., & Gardner, J. W. (2003). *Handbook of Machine Olfaction. Electronic Nose Technology*. Wiley-Vch.
- Peng, G., Trock, E., & Haick, H. (2008). Detecting Simulated Patterns of Lung Cancer Biomarkers by Random Network of Single-Walled Carbon Nanotubes Coated with Nonpolymeric Organic Materials. *Nano Lett*, 8 (11), 3631–3635. DOI: 10.1021/nl801577u.
- Pearce, T. C., Schiffman, S. S., Nagle, H. T., & Gardner J. W. (2003). *Handbook of Machine Olfaction. Electronic Nose Technology*. Wiley-Vch.
- Peng, G., Tisch, U., Adams, O., Hakim, M., Shehada, N., Broza, Y., Billan, S., Abdah-Bortnyak, R., Kuten, A., & Haick, H. (2009). Diagnosing lung cancer in exhaled breath using gold nanoparticles, *Nature Nanotechnology*. *Nature Nanotechnology*, 4, 669 – 673, DOI:10.1038/nnano.2009.235.
- Reinhard, H., Sager, F., & Zoller, O. (2008). Citrus juice classification by SPME-GC-MS and electronic nose measurements. *LWT-Food Science and Technology*. Volume 41, 1906-1912.
- Ryan, M. (2001). Sniffing Out Air Quality with an Electronic Nose. *Space Life Sciences Research Highlights*. NASA.
- Ratray, N., Hamrang, Z., & Trivedi, D. (2014). *Trends in biotechnology*; 32; 538-548.
- Risby, T. H. (2002). *Disease Markers in Exhaled Breath: Basics Mechanisms and Clinical Applications*; 346; 113-122.
- Rodríguez-Gil G. (2004). El Poderoso Sentido del Olfato. En *Resources*, Volumen 11, N.2.
- Rubinson, K. A., & Rubinson J. F. (2001). *Análisis Instrumental*. Prentice Hall.
- Rodríguez, C. E. (2012). *Síntesis, Propiedades y Funcionalización de Clústeres Metálicos*. [ed.] Universidad de Santiago de Compostela. Facultad de Química. Santiago de Compostela.
- Stetter, J. R. & Penrose, W. R. (2001). The Electrochemical Nose (en línea). *Electrochemistry Enciclopedia*. Departamento of Biological, Chemical and Physical Sciences Illinois Institute of Technology Chicago.
- Sohn, J. H., Hudson, N., Gallagher, E., Dunlop, M., Zeller, L., & Atzeni M. (2008). Implementation of an electronic nose for continuous odour monitoring in a poultry shed. *Sensors and Actuators B: Chemical*. Volume 133, 60–69.
- Staples, E. J. (2007). Analysis of Odors from Explosives using an Electronic Nose, *Electronic Sensor Technology* (en línea).

- Shuster, G., Gallimidi, Z., Reiss, A. H., Dovgolevsky, E., Billan, S., Abdah-Bortnyak, R., Kuten, A., Enge, A., Shiban, A., Tisch, U., & Haick, H. (2011). Classification of breast cancer precursors through exhaled breath, *Breast Cancer Research*, 126(3), 791-796.
- Sigma-Aldrich, (2015), ORBO™ Sorbent Tubes For Gas & Vapor, <https://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/analytical-zproducts.html6>
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch S. R. (2005). *Fundamentos de Química Analítica*. Octava Edición. Thomson.
- Saha, K., Agasti, S. S., Kim, C., Li, X., & Rotello, V. M. (2012). Gold nanoparticles in chemical and biological sensing. *Chemical reviews*, 112(5), 2739-2779.
- Sánchez, L.G., Osorio, G.A., S. J. (2008). Introducción a kernel ACP y otros métodos espectrales aplicados al aprendizaje no supervisado. *Revista Colombiana de Estadística*, 31(1), 19-40.
- Schölkopf, B., Smola, A., & Müller, K.-R. (1998). Nonlinear Component Analysis as a Kernel Eigenvalue Problem. *Neural Computation*, 10(5), 1299-1319. <http://doi.org/10.1162/089976698300017467>
- Tikk, K., Haugen, J. E., Andersen, H. J., & Aaslung, M. D., (2008). Monitoring of warmed-over flavour in pork using the electronic nose-correlation to sensory attributes and secondary lipid oxidation products. *Meat Science*. Volume 80, 1254-1263.
- Xu, Z., Broza, Y. Y., Ionescu, R., Tisch, U., Ding, L., Liu, H., Song, Q., Pan, Y.Y., Xiong, F.X., Gu, K.S., Sun, G.P., Chen, Z.D., Leja, M., & Haick, H. (2013). A nanomaterial- based breath test for distinguishing gastric cancer from benign gastric conditions, *British Journal of Cancer*, 108(4), 941-950. DOI: 10.1038/bjc.2013.44.
- Yang, Liu., Jinzhu, Yang., Dazhe, Zhao., & Jiren, Liu. (2009). Computer aided detection of lung nodules based on voxel analysis utilizing support vector machines. *BioMedical Information Engineering*, 2009. FBIE 2009. International Conference on Future, vol., no., pp.90-93, 13-14 Dec. 2009 doi:10.1109/FBIE.2009.5405784
- Zheng, X., Liu, Q., Jing, C., Li, Y., Li, D., Luo, W. & Fan, C. (2011). Catalytic gold nanoparticles for nanoplasmonic detection of DNA hybridization. *Angewandte Chemie*, 123(50), 12200-12204.
- Zhang, H., Wang, J., Sheng, Y., & Chang M., (2008b). Evaluation of peach quality indices using an electronic nose by MLR, QPST and BP network. *Sensors and Actuators B: Chemical*. Volume 134, N.1, 332-338.
- Zhang, H., Wang J., Sheng Y. (2008a): Predictions of acidity, soluble solids and firmness of pear using electronic nose technique. *ScienceDirect, Journal of Food Engineering*, Volume 86, 370-378.

## Producción científica

### Ponencias

1. “Ultrapure Organically Modified Gold Nanoparticles for Breath Analysis” EUROSENSORS 2016, 4-7 September, Budapest, Hungary 2016.
2. “Exhaled Breath analysis of smokers and nonsmokers using sensors based ultrapure Organically Modified Gold Nanoparticles”, VII Congreso Latinoamericano de Ingeniería Biomédica – CLAIB 2016, 26 al 28 de octubre de 2016, Universidad Autónoma de Bucaramanga, Colombia.
3. “Fabrication of ultrapure monolayer capped Au nanoparticles chemical gas sensors for breathanalysis”. BIT 5th Annual Conference of Analytica X-2017, Fukuoka, Japan, March 22-24, 2017.

### Artículos publicados

1. Ultrapure Organically Modified Gold Nanoparticles for Breath Analysis, Procedia Engineering 168 (2016) 133 – 136, doi: 10.1016/j.proeng.2016.11.176.
  - a. (**Ver anexo 3**).
2. Exhaled Breath analysis of smokers and nonsmokers using sensors based ultrapure Organically Modified Gold Nanoparticles, Springer Nature Singapore Pte Ltd. (2017), IFMBE Proceedings 60, DOI: 10.1007/978-981-10-4086-3\_183, 729-780.
  - a. (**Ver anexo 4**).

### Artículo enviado:

1. Título: Exhaled breath analysis for gastric cancer diagnosis in Colombian patients.  
Revista: Oncotarget  
Factor de impacto: **5.168**  
Fecha de envío: 2018-02-14, Hora: 15:20:20
  - a. (**Ver anexo 5**).

This is a revision.

<b>Manuscript #</b>	039582R1
<b>Current Revision #</b>	1
<b>Other Version</b>	<a href="#">039582</a>
<b>Submission Date</b>	<a href="#">2018-02-14 15:20:20</a>
<b>Current Stage</b>	Under Review
<b>Title</b>	Exhaled breath analysis for gastric cancer diagnosis in Colombian patients
<b>Manuscript Type</b>	Research Paper
<b>Manuscript Comment</b>	We want to say that our article it is Original and neverless has been published previoulsy
<b>Corresponding Author</b>	Cristhian Durán Acevedo (Universidad de Pamplona)
<b>Contributing Authors</b>	Aylen Lisset Mogollón , Oscar Eduardo Guerrero , Tesfalem Welearegay , Julián Martínez Marín , <a href="#">Juan Martin Tarazona</a> , Zayda Constanza Acevedo , Kelvin de Jesus Saenz , Umut Cindemir , Lars Österlund , Radu Ionescu