



Universidad Nacional de La Plata
Facultad Ingeniería
Departamento de Electrotecnia

Identificación de sistemas. Aplicación a la evaluación
in vitro de la calidad ósea en tejido trabecular humano.

TESIS
presentada para el grado de
DOCTOR EN INGENIERÍA

Ing. Ramiro Miguel IRASTORZA

Director: Dr. Fernando Vericat
Co-Director: Dr. Miguel Angel Mayosky

setiembre de 2010

Esta tesis se realizó en el Instituto de Física de Líquidos y Sistemas Biológicos (IFLYSIB-CCT-CONICET-La Plata) y en el Departamento de Ciencias Básicas (GAMEFI) de la Facultad de Ingeniería de la UNLP siendo el Departamento de referencia Electrotecnia. Los experimentos de ultrasonido se realizaron en el Departamento de Mecánica del Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI) y con la colaboración del Gabinete de Biomecánica de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Buenos Aires. Las densitometrías óseas se realizaron en el centro TIEMPO dirigido por la Doctora Zulema Man.

Agradecimientos

A mis padres, sin ellos todo esto no hubiera sido posible.

A Celes, mi esposa y novia que me acompaña en todos los proyectos.

A toda mi familia, principalmente a mis tres hermanitas y a mi abuelo Ricardo.

A mi director Fernando Vericat, quien desde el primer momento me apoyó y siempre está pendiente de mis necesidades, tanto en mi carrera de investigación como en la docencia en la Facultad de Ingeniería, muchas gracias.

A todo el IFLYSIB, los que estuvieron y los que siguen estando. En particular a Osvaldo, Hector, Ariel, Santiago, Andrés, Gastón, Ivana y especialmente a Manuel y Luis. Quisiera mencionar al director del instituto durante mi tesis, el Dr. J. Raúl Grigera, y agradecer también a Lola, fundamental en todo momento en el IFLY.

A la Facultad de Ingeniería de la UNLP particularmente a mi co-director Miguel Mayosky y a mi gran amigo, pero mejor compañero de estudio, Fabricio Garelli.

Al CONICET, que financió toda esta etapa de mi carrera.

A la Profesora Eugenia Blangino del la FI-UBA, sin su aporte esta tesis no se hubiera realizado.

A Martín Cagnoli del INTI y el Dr. Sergio Valente, muchas gracias por todo.

A la Dra. Zulema Man y a los profesionales del centro TIEMPO.

A todo el Laboratoire de biomatériaux et de bioingénierie de la Université Laval y su director Diego Mantovani. Especialmente a Matteo y Bernard. Por supuesto, debo agradecer a mis grandes amigas Marta y Manuela, ayuda fundamental en la última etapa de esta tesis.

A los pibes de Madariaga, mi gran grupo de amigos. Siempre están ahí.

Finalmente a los sarasa y su “música”, ambos imprescindibles en mi vida.

Índice general

1. Introducción	1
2. Tejido óseo	5
2.1. Descripción del sistema	5
2.1.1. Tejido óseo trabecular humano	5
2.1.2. Matriz ósea	7
2.1.3. Células óseas	8
2.2. Análisis clínicos actuales	9
2.3. Estudio del sistema <i>in vitro</i>	11
2.3.1. Preparación de muestras	11
2.3.2. Mediciones clínicas aplicadas a muestras <i>in vitro</i>	12
3. Mediciones dieléctricas	15
3.1. ¿Por qué?	15
3.2. Reseña sobre la teoría dieléctrica	16
3.2.1. Introducción	16
3.2.2. Polarización Eléctrica	17
3.2.3. Relajación dieléctrica	20
3.3. Métodos de medición	25
3.3.1. Mediciones en baja frecuencia	26
3.3.2. Mediciones en alta frecuencia	26
3.4. Líneas coaxiales abiertas	28
3.4.1. Modelo teórico: formulación variacional	29
3.4.2. El modelo empírico	30
3.4.3. Simulaciones	31
3.5. Propiedades dieléctricas en tejido óseo	33
3.5.1. En hueso trabecular	34
4. Mediciones de Ultrasonido	39
4.1. ¿Por qué?	39
4.2. Reseña sobre US	40
4.3. Mediciones de US	42
4.3.1. Transmisión	42

4.3.2. Reflexión: Backscattering	44
4.4. Ultrasonido en tejido óseo	47
5. Identificación de Sistemas	49
5.1. Introducción a Sistemas Dinámicos	50
5.1.1. Sistemas lineales	50
5.1.2. Sistemas lineales de orden fraccionario	53
5.2. Identificación de Sistemas	54
5.2.1. Regresor lineal en sistemas lineales	56
5.2.2. Regresor lineal en sistemas de orden fraccionario	59
5.3. Identificación en sistemas lineales	59
5.3.1. Identificación con Bases Ortogonales discretas	60
5.3.2. SRIVC	62
5.4. Identificación en sistemas fraccionarios	68
5.4.1. SRIVCF	68
5.5. Evaluación y validación del modelo	71
5.6. Simulación y testeo de algoritmos	72
5.6.1. Sistemas lineales fraccionarios	73
5.6.2. Testeo de algoritmos de identificación	77
6. Resultados	87
6.1. Resultados en mediciones dieléctricas	87
6.1.1. Equipamiento	87
6.1.2. Experimento 1: modelo matemático multi-capa	89
6.1.3. Experimento 2: Resultados en matrices de colágeno	93
6.1.4. Experimento 3: Resultados en muestras humanas	96
6.2. Resultados en mediciones de Ultrasonido	100
6.2.1. Equipamiento	104
6.2.2. Experimento 1: medición por transmisión	104
6.2.3. Experimento 2: medición por reflexión	105
6.3. Resultados de comparados en muestras humanas	107
7. Observaciones finales	113

Capítulo 1

Introducción

En los mamíferos, incluido el hombre, los tejidos esqueléticos se limitan a tres tipos: colágeno denso, cartílago y tejido óseo. Si bien, en definitiva, todos pueden englobarse en la denominación común de tejidos conectivos, poseen diferencias bien marcadas. El tejido conectivo de colágeno denso se puede describir como una variante del tejido conectivo común (ver pag.222 de [33]), mientras que el cartílago y el tejido óseo son formas muy especializadas de tejido conectivo. En esta tesis nos ocuparemos del tejido óseo, que como es sabido se caracteriza por poseer una gran rigidez además de resistencia a la tensión y a la compresión. El tejido óseo está formado principalmente por una matriz mineralizada compuesta mayormente por colágeno (casi en un 90%) y por sales minerales (fosfato de calcio cristalino formando cristales similares a la hidroxiapatita). Esto hace que estos tejidos sean el reservorio de calcio del organismo. Además de la matriz mencionada, el tejido óseo posee una parte celular (las células osteoprogenitoras, los osteoblastos, los osteocitos, las células de recubrimiento óseo y los osteoclastos) encargada, entre otras cosas, del crecimiento y de la resorción del tejido. A nivel macroscópico se pueden diferenciar dos tipos de tejido óseo: el trabecular (o esponjoso) y el cortical (compacto). En esta tesis estudiamos principalmente el tejido óseo trabecular que se encuentra generalmente en las extremidades de los huesos largos.

Este interesante material posee una gran cantidad de mecanismos que aún no han sido explicados satisfactoriamente razón por la cual continúa siendo ampliamente estudiado. Tal es así que existe una gran diversidad de publicaciones específicas sobre el tema (Bone, Journal of Bone and Mineral Metabolism, Calcified Tissue International, Journal of Bone and Mineral Research, Osteoporosis International, Bone Marrow Transplantation, Revista Argentina de Osteología, etc.).

Por otro lado, la osteoporosis y la osteopenia son dos patologías óseas que traen aparejadas grandes dificultades tanto a nivel personal como social ya que no solamente son responsables de una disminución significativa en la calidad de vida de las personas que la padecen (principalmente mujeres postmenopáusicas), sino que también económicamente son causantes de un importante encarecimiento de los sistemas de salud (para un revisión completa de estos aspectos ver [69]). Actualmente las formas de diagnóstico de estas patologías consisten en la medición de algunos parámetros (T-score, Z-score [16, 97]) rela-

cionados principalmente con el nivel de calcio del tejido óseo. En efecto, la definición de osteoporosis de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el año 1993 era: “Enfermedad caracterizada por poca masa ósea y deterioro de la micro-arquitectura del tejido óseo que predispone a una mayor fragilidad del hueso y en consecuencia aumenta el riesgo de fractura”. Como la micro-arquitectura no puede ser medida directamente se recomendaba que el diagnóstico se realice mediante un marcador correlacionado que es el *nivel de calcio* [48]. Se supone entonces que cuanto más calcio posea el tejido menos probabilidad de fracturarse tendrá. Estudios recientes han demostrado que la correlación frecuentemente reportada entre densidad mineral “areal” y resistencia ósea, no se mantiene al asociar los cambios positivos inducidos por tratamientos corrientes en la densidad mineral ósea (DMO) y en la incidencia de nuevas fracturas en pacientes con osteopenias severas [13, 69]. Esto se debe a que lamentablemente la DMO no provee información biomecánica relevante como para evaluar la resistencia ósea o predecir fracturas. Estos motivos hacen que el estudio en tejidos óseos tenga amplia vigencia en la actualidad y que sea continua la búsqueda que realiza la comunidad científica de nuevas técnicas que brinden información complementaria.

Una alternativa que actualmente tiene gran aplicación es el ultrasonido (US) [7, 11, 35]. Sin embargo los parámetros que se miden normalmente en las aplicaciones médicas de esta técnica no brindan la información complementaria deseable, por cuanto las mediciones se limitan a observar correlaciones con la DMO (y en consecuencia en general sólo se obtiene información sobre el contenido de calcio). No debe extrañar, entonces, la cantidad de investigaciones dirigidas a determinar nuevos parámetros relevantes del tejido óseo que introduzcan información más allá de la brindada por la DMO [10, 35, 64, 93], tales como la orientación de las trabéculas y su tamaño en hueso trabecular. En su mayoría son trabajos de mediciones *in vitro*. El US en los tejidos biológicos y las características del tejido que éste pueda detectar continúan siendo, en consecuencia, temas abiertos en la investigación.

Por otro lado, trabajos recientes han reportado altas correlaciones entre las propiedades dieléctricas y eléctricas de tejidos óseos con la DMO, el contenido de colágeno, el contenido de calcio y el grado de porosidad, entre otros [8, 44, 47, 81–84, 95]. Por el momento las mediciones han sido realizadas *in vitro*. En los trabajos experimentales de Sierpowska et al. [81–83] se midieron las correlaciones de las propiedades dieléctricas y eléctricas con la mayoría de las componentes del tejido óseo trabecular humano (en estado *fisiológico*¹) hasta alrededor de los 10MHz . En los trabajos de Invancich et al. [44] se midió hueso cortical bovino en estado nativo (aunque no fisiológico, se midió en agua bi-destilada) y en estado desmineralizado con la intención de buscar alguna explicación a nivel molecular: como afecta el contenido de calcio a las fibras de colágeno. En cuanto al modelado teórico, recientemente en el trabajo de Bonifasi et al. [8] se lograron resultados que relacionan la porosidad del hueso trabecular con la parte real de la permitividad dieléctrica compleja y con la conductividad. En el trabajo de Katz et al. [47] también se desarrolló un modelo

¹cuando se dice en estado fisiológico el hueso se almacenó y se midió en solución fisiológica estándar, por ejemplo: phosphate buffered solution (PBS)

teórico dieléctrico para la detección de cambios de densidad mineral en hueso.

El tema central de esta tesis es la utilización de las propiedades dieléctricas como técnica alternativa para la evaluación de la calidad ósea. Para esto desarrollamos algunos experimentos *in vitro* en el rango de frecuencias que va desde los 80MHz hasta 1300MHz. Estos experimentos apuntan en última instancia a establecer la posibilidad de diagnosticar patologías óseas en humanos. Con ese fin muchos de los experimentos se llevan a cabo en tejido óseo trabecular humano en estado fisiológico. Para una evaluación biomecánica no destructiva de las muestras desarrollamos algunos experimentos de ultrasonido también en condiciones fisiológicas *in vitro*. Además, para una evaluación contrastada con técnicas clínicas se observa la DMO de las muestras *in vitro* utilizando equipamiento clínico. En todos los casos se busca realizar mediciones no invasivas o no destructivas para la reutilización de las muestras en sucesivos ensayos.

Otro tema al que apunta esta tesis es a desarrollar un marco general para el procesamiento de señales provenientes de la reflectometría en dominio de tiempo (técnica que empleamos en la estimación de las propiedades dieléctricas del hueso). Se busca extender algunos modelos matemáticos para dieléctricos multicapa y además con exponentes no lineales en frecuencia (tales como dieléctricos tipo Cole-Cole). Para el procesamiento de las mediciones dieléctricas en tiempo se utiliza la técnica denominada *Identificación de Sistemas*. En particular, identificación de sistemas de tiempo continuo y de sistemas fraccionarios. En ambos casos, desarrollamos el software necesario. Para la identificación en sistemas de orden no entero (fraccionarios) exploramos la simulación computacional, necesaria para la etapa de identificación.

La tesis está organizada de la siguiente manera.

En el *capítulo 2* se describe el tejido a estudiar junto con las muestras, su preparación y almacenado. También se comenta el estado actual de la tecnología en la mediciones clínicas de la salud ósea. Finalmente se muestran los estudios clínicos realizados a las muestras en cuestión.

En el *capítulo 3* se realiza una reseña sobre las mediciones dieléctricas con especial énfasis en la utilización de líneas coaxiales abiertas (con sus modelos teóricos y empíricos) y las técnicas de medición en dominio de tiempo (time domain reflectometry, TDR). Al final del capítulo se realiza una revisión de la literatura sobre las propiedades dieléctricas y eléctricas de tejidos óseos.

En el *capítulo 4* se comentan los principios físicos que rigen la propagación de ondas acústicas en los tejidos y los dos tipos de experimentos que se practicaron: por transmisión y reflexión.

En el *capítulo 5* se introducen los sistemas dinámicos, tanto lineales como fraccionarios. Se detallan las herramientas utilizadas para el procesamiento de las señales que resultan de las mediciones dieléctricas: técnicas de *Identificación de Sistemas*. Estas técnicas se aplican con los dos enfoques tanto en tiempo discreto como en continuo. A su vez se aplican a sistemas fraccionarios. En las últimas secciones de este capítulo consideramos la evaluación y validación de los modelos mediante simulación y testeo de los algoritmos. Para remarcar

las aplicaciones originales las hemos escrito en itálica

En el *capítulo 6* se muestran los experimentos que hemos realizado junto con los resultados. Finalmente en el *capítulo 7* se describen brevemente las conclusiones.

Capítulo 2

Tejido óseo

En este capítulo se comentarán las características principales del tejido óseo trabecular humano. Con ese fin primeramente se describirán las características del colágeno y de algunos de los componentes principales de la matriz ósea y sus células. A continuación, se comentarán algunos métodos clínicos actuales para la medición de la calidad ósea. Finalmente se detallará la preparación de las muestras que utilizamos en esta tesis: muestras de hueso trabecular humano y también de tejido óseo bovino. Estas últimas, tanto cortical como trabecular, se almacenaron en estado no fisiológico y posteriormente se modificaron con el objetivo de observar el comportamiento de la matriz en sí. Se pretendió en este caso “aislar” la respuesta de la matriz mineralizada y completamente desmineralizada. Para las muestras humanas, en cambio, se prefirió trabajar en estado fisiológico y observar su contenido mineral con métodos clínicos tradicionales. En particular se les practicó un ensayo clínico de densitometría.

2.1. Descripción del sistema

2.1.1. Tejido óseo trabecular humano

El tejido en estudio en esta tesis es el óseo, particularmente, hueso trabecular humano proveniente de la cabeza de fémur. El fémur pertenece a un tipo especial de huesos del esqueleto humano: los huesos largos. En este tipo de huesos las regiones de la diáfisis y epífisis están bien definidas. En la Fig.2.1 se muestra un esquema de tibia (hueso largo) con las zonas mencionadas anteriormente. En relación a la estructura y organización de los

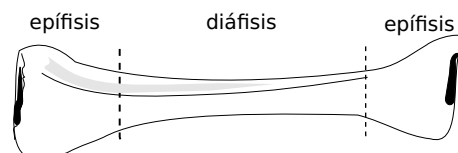


Figura 2.1: Hueso largo: tibia.

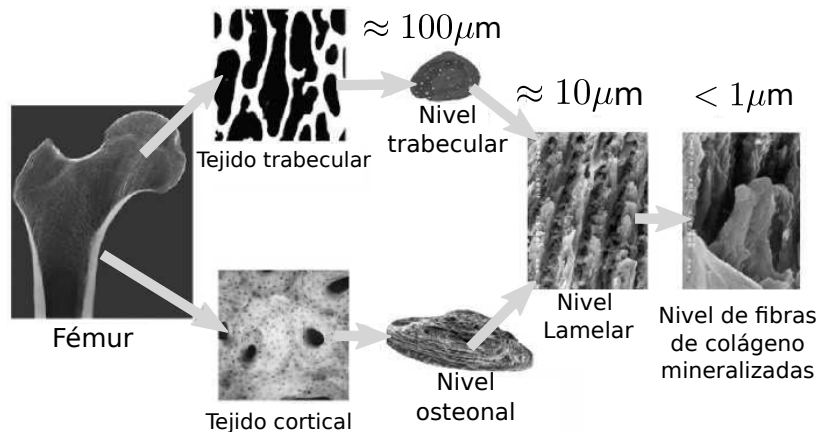


Figura 2.2: Niveles jerárquicos de tejido óseo. Reproducción de *D. Vashishth, International Journal of Fatigue 29 (2007) 1024–1033*.

huesos largos se puede decir que se trata de tejidos con diferentes niveles jerárquicos. En la parte izquierda de la Fig.2.2 se muestra un esquema en el cual se pueden ver las diferencias macroscópicas:

- Tejido trabecular o esponjoso (“cancellous”). Consiste en un arreglo tridimensional de listones finos u hojas llamadas trabéculas. Se lo encuentra en la zona interna de la mayoría de los huesos. Estas trabéculas se entrecruzan en distintas direcciones y forman un reticulado esponjoso, cuyos espacios huecos intercomunicantes están ocupados por la médula ósea.
- Tejido cortical o compacto. Está constituido por placas densas y sólidas con pequeños canales. Se lo encuentra en la corteza de la epífisis y en la diáfisis de los huesos largos. También se lo encuentra en los huesos planos. Está rodeado por el periósteo, que es tejido conectivo denso y provee el potencial osteogénico (osteoblastos). En las zonas articulares, está cubierto por cartílago hialino.

A nivel microscópico el hueso cortical tiene una estructura compuesta por cilindros (osteones) de láminas concéntricas (lamelas) que a su vez están formadas por fibras de colágeno tipo I orientadas paralelamente al eje del hueso.

En el hueso esponjoso, las trabéculas (de un tamaño de alrededor de $200\mu m$) son tejidos calcificados en arreglos en forma de mosaicos laminares; forman numerosas cavidades interconectadas que constituyen la porosidad del tejido. Estos mosaicos laminares están formados por matrices anisotrópicas compuestas por cristales minerales y fibras de colágeno. El elemento básico estructural del tejido óseo trabecular es la osteona trabecular (ver Fig.2.2). Tiene la forma de un disco plano de unos $70\mu m$ de espesor y una longitud promedio de $600\mu m$. El disco está formado por alrededor de 20 láminas paralelas. El espesor de las trabéculas varía entre 10 y $400\mu m$. En el tejido óseo que soporta pesos en condiciones

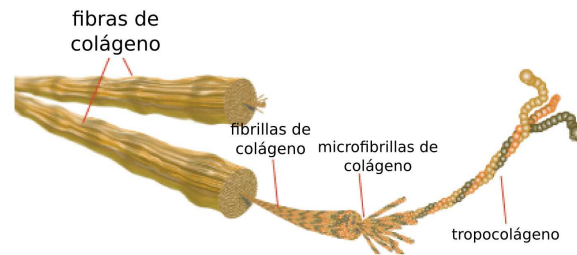


Figura 2.3: Fibras de colágeno.

normales, las trabéculas son más gruesas en la dirección de carga. De esta manera son más resistentes a la compresión.

2.1.2. Matriz ósea

La matriz ósea extracelular se compone de una matriz orgánica y de sales inorgánicas. La orgánica está formada por fibras de colágeno incluidas en una sustancia fundamental. En adultos el colágeno representa alrededor del 90 % de la matriz orgánica. Se estima que la dureza y la resistencia a la compresión del tejido óseo son atribuibles al contenido de sales inorgánicas (minerales), mientras que las propiedades elásticas y resistencia a la tracción deben atribuirse al colágeno.

Colágeno

Las fibras de colágeno del tejido óseo se componen fundamentalmente por colágeno del tipo I, es decir, el mismo tipo general del tejido conectivo. El grosor de las fibras es variable entre $1 - 10\mu m$. Las fibras a su vez están compuestas por fibras más delgadas denominadas fibrillas ($0,2 - 0,5\mu m$ de diámetro). Con microscopía electrónica se observa que las fibrillas están compuestas por microfibrillas paralelas de un diámetro aproximado de $50nm$. Las microfibrillas son la unidad fibrilar del colágeno y poseen un rayado transversal característico periódico de $68nm$. Finalmente, estas microfibrillas están compuestas por unidades más pequeñas denominadas tropocolágeno, que son moléculas alargadas rígidas de unos $300nm$ de largo y $1,5nm$ de espesor. Cada molécula de tropocolágeno está compuesta por 3 cadenas polipeptídicas, denominadas cadenas alfa, arrolladas entre sí en una espiral triple.

Sales minerales

Los componentes minerales inorgánicos del tejido óseo representan en el adulto alrededor del 75 % del peso seco y están compuestos en su mayor parte por depósitos de fosfato

de calcio cristalino. Los cristales son casi idénticos a los del mineral hidroxiapatita, con fórmula general $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. Tienen la forma de varas finas de unos $3nm$ de espesor y hasta $60nm$ de largo. Se disponen en paralelo, en relación estrecha con las fibras de colágeno.

Además del fosfato de calcio el hueso contiene numerosos iones diferentes: magnesio, potasio, sodio, carbonato y citrato.

2.1.3. Células óseas

Existen cinco tipos de células óseas: las osteoprogenitoras, los osteoblastos, los osteocitos, las células de recubrimiento óseo y los osteoclastos.

Las *células osteoprogenitoras* durante la formación de hueso se dividen y desarrollan en células formadoras de hueso y osteoblastos. Esto ocurre durante la vida fetal y la etapa de crecimiento, en adultos en cambio se observan en relación con la curación de fracturas.

Los *osteoblastos* son células formadoras de hueso, es decir, sintetizan y secretan la matriz ósea orgánica (fibras de colágeno, proteoglucanos, entre otras moléculas pequeñas como la osteocalcina). La remodelación ósea es activada por los osteoblastos como respuesta a estímulos mecánicos. Además secretan varias citoquinas¹ y factores de crecimiento de efecto local sobre la formación y la resorción del hueso.

En las zonas con formación de hueso los osteoblastos forman una capa semejante a un epitelio de células cúbicas sobre la superficie del tejido óseo recién formado. Los que quedan atrapados en la matriz ósea se transforman en *osteocitos*. Es posible que los osteocitos desempeñen un papel importante en la comunicación del estado del tejido óseo hacia la superficie, hacia las células de recubrimiento óseo y también a los osteoclastos. Aparentemente los osteocitos tienen capacidad para registrar campos piezoeléctricos. En consecuencia es posible que los osteocitos intervengan así en el mantenimiento de la calidad de tejido óseo [33].

Las *células de recubrimiento óseo* se originan a partir de osteoblastos que han finalizado la formación de hueso y recubren como una capa de epitelio plano simple todas las superficies óseas internas y externas en las que no hay actividad de osteoblastos u osteoclastos.

Los *osteoclastos* son células que degradan el hueso. Son células grandes de formas muy variadas (diámetro máximo de $100\mu m$) que poseen múltiples núcleos. Estas células primero demineralizan la matriz ósea adyacente con ácidos y subsecuentemente disuelven el colágeno con enzimas. Tras la finalización de la resorción se cierra la superficie ósea libre con una línea de cemento² que se forma inmediatamente después y el osteoclasto se desplaza con rapidez por sobre la superficie del hueso para comenzar una posible nueva resorción.

¹Las citoquinas o citocinas son un grupo de proteínas de bajo peso molecular constituidas por 120-180 aminoácidos. Controlan muchas funciones fisiológicas críticas como el control de la proliferación, diferenciación y fenotipo celular, la regulación de la hematopoyesis, la regulación de la respuesta inmune innata y adaptativa, la remodelación tisular y osteogénesis y otros mecanismos del metabolismo celular.

²Capa de matriz ósea pobre en fibras de colágeno que no posee elementos vasculares.

2.2. Análisis clínicos actuales

Actualmente existen varios métodos físicos para la evaluación de la calidad ósea ya sea *in vitro* o *in vivo* (ver por ejemplo: [52]). En estudios más recientes [82] se utiliza la denominada micro Tomografía Computada, que permite reconstruir imágenes 3D de alta resolución de manera no destructiva mediante radiación de rayos X. La búsqueda de métodos alternativos de evaluación es intensa, sin embargo la densidad mineral ósea continúa siendo el parámetro más frecuentemente utilizado en clínica. En general se busca que los métodos de evaluación de la DMO sean precisos, reproducibles, sensibles, baratos y de mínima radiación ionizante. En las prácticas clínicas actuales se dispone de cuatro modalidades principales para medir masa ósea:

- *Densitometría de fotón simple (SPA)*. Medición de fotón simple, por lo general del antebrazo o del calcáneo. Se explora el antebrazo por lo menos en dos lugares con un haz mono-energético de fotones de una fuente de $I125^3$ que se recuperan y se analizan. A mayor densidad ósea corresponde la recuperación de un haz fotónico más débil. El antebrazo se sumerge en una cubeta con agua para calcular los efectos sobre los tejidos blandos que rodean los huesos. Los lugares de exploración se determinan por el grado de separación entre el radio y el cúbito y un programa de detección de los contornos. Hay equipos más actualizados en donde la fuente de $I125$ fue reemplazada por un tubo de rayos X.
- *Densitometría ósea radiográfica dual (DEXA o DPX o DXA)*. Densitometría radiografía dual (doble fotón) (DPX o DEXA) de la columna vertebral, del cuello de fémur, de la región trocantérea del fémur o de todo el esqueleto. Esta técnica desplaza la fotónica dual DPA (con radioisótopos) y hoy se la considera el “gold entandar” en densitometría ósea. Mediante esta técnica se explora el lugar donde se va a efectuar la medición con un haz de rayos X de energía doble (ó dual). En este caso la atenuación del haz de alta energía es inversamente proporcional a la densidad ósea. En esta técnica se evalúa la densidad del tejido blando con el haz de baja energía. La zona de exploración la determina el operador con la ayuda de un programa de detección de contornos. Las máquinas más modernas poseen detectores que pueden realizar tanto una exploración lateral como anteroposterior para medir la densidad ósea del cuerpo vertebral. Las regiones que se indican en la literatura como las óptimas para la medición de la densidad en dos sitios distintos, para poder establecer con certeza el diagnóstico de osteopenia u osteoporosis. Uno de los sitios más habituales es el cuello femoral.
- *Tomografía computada cuantitativa*. Tomografía computada cuantitativa (QCT de sus siglas en inglés) de la columna vertebral. Dentro de esta técnica también se encuentra la pQCT. Se denomina Tomografía computada cuantitativa periférica y se aplica en las extremidades. Las imágenes se obtienen mediante rayos X. En esta

³I-125 es un radioisótopo del yodo que tiene una vida media de 60 días y una energía fotónica de 28keV en la banda γ .

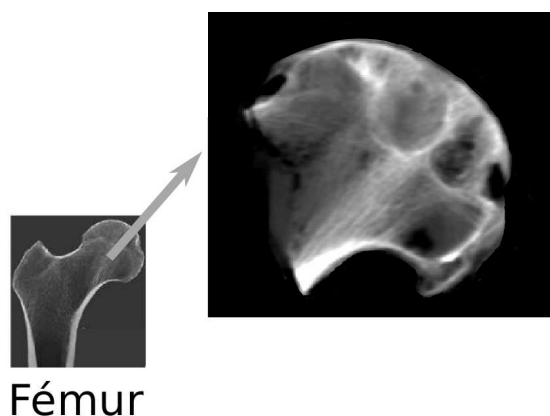


Figura 2.4: Imagen de cabeza de fémur de la muestra F12 obtenida mediante QCT con un tomógrafo odontológico.

técnica se realiza un corte tomográfico en la mitad de la vértebra lumbar y se compara con un patrón. Se selecciona un área de interés (generalmente una porción trabecular del cuerpo vertebral) y se calcula la densidad ósea por comparación con los estándares de un patrón.

Posiblemente sea el mejor método para valorar masa ósea aunque la irradiación del paciente es mayor que la de los densitómetros DPX habituales.

La alternativa de la pQCT se utiliza para mediciones periféricas de antebrazo con una dosis no muy elevada de radiación. Es posible con esta técnica separar la parte cortical y trabecular y diferenciar así sus respectivos contenidos de calcio. Por medio de este método se han logrado determinar parámetros biomecánicos (Strength – Strain Index SSI). Este parámetro está siendo validado a través de pruebas de resistencia biomecánica.

En la Fig.2.4 se muestra la QCT realizada a una de nuestras muestras mediante un equipo odontológico. Se procesaron las imágenes con el programa Medical image examiner Amide. Como se aprecia en la figura, se puede reconstruir una imagen 3D de gran resolución. Se puede observar la dirección principal de la trabéculas en el sentido de la carga.

- *Ultrasonido.* Se trata de una técnica relativamente nueva en lo referente a su aplicación a huesos que sirve para estudiar otros aspectos de la estructura además de la densidad ([35] y referencias allí). Exceptuando pQCT, las técnicas mencionadas antes buscan determinar la densidad mineral del tejido óseo y de esta manera predecir la salud del mismo. Las mediciones mediante ultrasonido constituyen una técnica que potencialmente podría obtener información complementaria no captada por los métodos absorciométricos. Tiene la ventaja de que es económico, portátil y además no existe riesgo de radiación.

Los parámetros que se miden son la atenuación ultrasónica de amplia banda de ultrasonido (BUA) y la velocidad del sonido (SOS) en los huesos. Se han encontrado altos valores de correlación entre estos parámetros y la DMO, aunque particularmente en la osteoporosis esta correlación no es tan grande.

Los lugares más estudiados han sido el calcáneo y la rótula (con predominio de trabecular). Recientemente se ha desarrollado una nueva técnica que permite medir la velocidad del ultrasonido en el hueso cortical de la tibia y que utiliza una sonda transductora diseñada para minimizar los efectos de los tejidos blandos que la rodean.

2.3. Estudio del sistema *in vitro*

La motivación del estudio de sistemas *in vitro* viene dada por la posibilidad de aislar las respuestas de los diferentes componentes del tejido óseo. Así, en esta tesis, utilizamos tejido óseo bovino para el estudio de la matriz ósea tanto en tejido cortical como trabecular. Más precisamente, se busca aislar la respuesta del colágeno y su relación con la mineralización en estado natural y desmineralizado totalmente. Para las muestras de tejido trabecular humano se prefirió trabajar en condiciones lo más próximas al estado *in vivo*. En la actualidad, se busca preservar las muestras en un tampón salino denominado comúnmente PBS⁴. En esta sección se comentará la preparación de las muestras que están basadas en métodos probados en la literatura (ver [44, 83]). También mostraremos las mediciones de DMO que realizamos en nuestras muestra humanas.

2.3.1. Preparación de muestras

En estado no fisiológico

Se prepararon muestras de fémur bovino adulto. Las muestras fueron extraídas de la cabeza femoral (muestras trabeculares, $n = 4$) y de la diáfisis (muestras corticales, $n = 4$). Durante el procedimiento de corte, cada muestra se lavó con frecuencia con agua destilada fría para evitar desnaturalización térmica [44]. Después del cortado y mecanizado de las mismas, fueron dejadas en remojo en agua bidestilada a $3^{\circ}C$ con agitación continua durante un mes a fin de eliminar los iones. En las mediciones invasivas, las muestras fueron transformadas en cilindros de 7 mm de diámetro con un agujero concéntrico de 3 mm de diámetro. Después de eso, las muestras fueron inmersas en agua bidestilada (repetiendo el procedimiento detallado anteriormente) y, finalmente se extrajeron de la heladera 1 hora antes de las mediciones dieléctricas. En las mediciones no invasivas, el tejido fue cortado y almacenado en cubitos de 1 cm y se repitió el proceso de las muestras invasivas.

En las muestras corticales invasivas, la extracción se realizó de tal manera que las orientaciones de las fibras de colágeno sean normales al campo eléctrico. Esta orientación de

⁴PBS (de sus siglas en inglés Phosphate buffered saline) es una solución tampón de uso común en la investigación biológica. Es una solución de agua salada, que contiene cloruro de sodio, fosfato de sodio, cloruro de potasio y fosfato de potasio. El tampón ayuda a mantener un pH constante. La osmolaridad y la concentración de iones de la solución por lo general coinciden con las del cuerpo humano (isotónica).

las fibras colágeno sólo es factible en este tipo de muestras. La estructura trabecular es altamente anisotrópica, por lo que no es posible alinear el campo eléctrico con la dirección normal de las fibras. Una situación similar se produce en las medidas no invasivas tanto de muestras trabeculares y corticales.

Después de la primera medición, las muestras fueron completamente desmineralizadas sumergiéndolas en una solución de EDTA (0.5mol / l con un pH = 7,5) durante 14 días, cambiando completamente la solución después de 7 días. Los frascos fueron agitados de forma continua. Después de la desmineralización las muestras fueron dializadas con agua bidestilada para eliminar el EDTA.

En estado fisiológico

Las muestras de las que se dispuso corresponden de donantes vivos a los cuales se les realizó un reemplazo total de cadera y dieron por escrito su consentimiento para el estudio. Son pacientes ancianos y algunas muestras provienen de huesos artrósicos. El protocolo seguido fue:

1. Extracción de las muestras (Dr. Sergio Valente) y freezado inmediatamente después de la extracción ($-20^{\circ}C$). Este es el procedimiento utilizado también en el almacenado en bancos de huesos.
2. Freezado posterior en solución fisiológica PBS.
3. Medición de DMO de la cabeza de fémur extraída (ver sección 2.3.2).
4. Corte de muestra cilíndrica en zona 2 (ver Fig.2.5). Las muestras fueron extraídas del interior de cabeza femoral con sierras de baja velocidad y enjuagando constantemente con PBS. De esta manera se evita la desnaturalización del colágeno además de mantener lo mejor posible el estado fisiológico.
5. Medición de DMO de la muestra cilíndrica (ver sección 2.3.2).
6. Mediciones de US.
7. Freezado en PBS
8. Mediciones dieléctricas.

2.3.2. Mediciones clínicas aplicadas a muestras *in vitro*

Como se adelantó previamente, una estimación de la salud ósea en general y de la fragilidad ósea en particular se puede cuantificar midiendo la masa ósea en regiones de interés o en todo el cuerpo. Puesto que la masa ósea, medida en gramos, depende del tamaño del hueso y el tamaño de la región de interés, suele ser normalizada a la zona de hueso para crear una densidad ósea areal en gramos por unidad de área (g/cm^2) o por volumen del

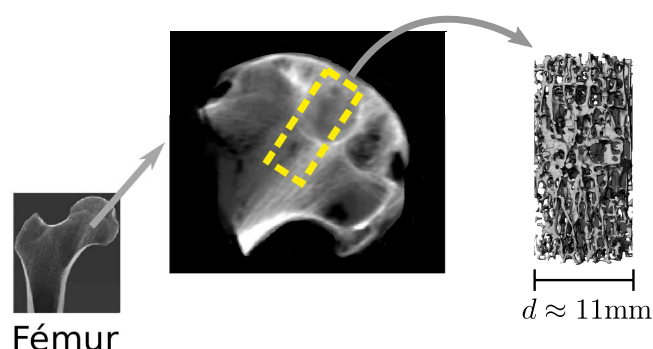


Figura 2.5: Zonas de medición de cabeza de fémur.

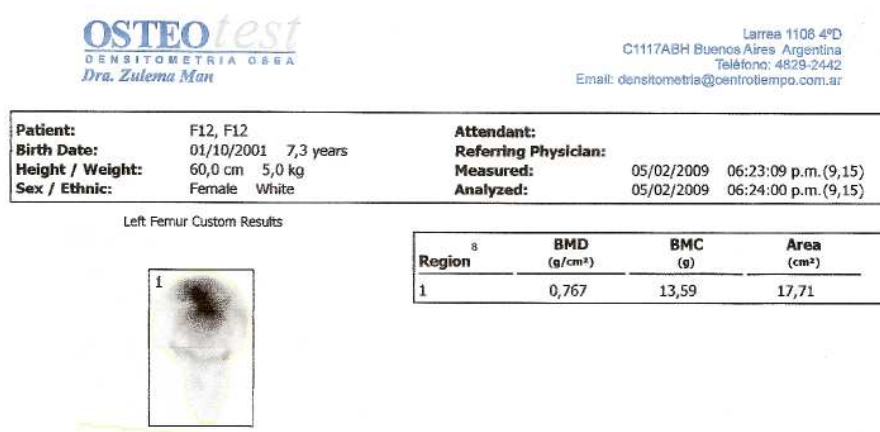


Figura 2.6: Resultado de densitometría en muestra in vitro. Cabeza de fémur de muestra F12.

hueso, que representa una densidad ósea volumétrica en gramos por unidad de volumen (mg/cm^3).

Tanto la densidad ósea de areal y la densidad ósea volumétrica se las conoce como densidad mineral ósea (DMO). Las regiones de interés más comunes para diagnosticar la osteoporosis son las áreas más frágiles o las más susceptibles a fracturas, es decir, la columna vertebral y fémur proximal. Todas las regiones pueden medirse utilizando la absorciometría de proyección dual de rayos X (DXA).

Las mediciones con equipos clínicos en nuestras muestras fueron realizadas en el centro TIEMPO gracias a la colaboración de la Dra. Zulema Man y su equipo técnico ⁵. Se midieron, primeramente la cabeza de fémur (ver Fig.2.6) y luego la muestra cilíndrica extraída para las mediciones de ultrasonido y dieléctricas (ver Fig.2.7).

Los resultados de las densitometrías se muestran en la Tabla2.1.

⁵<http://centrotiempo.com.ar/>

Cuadro 2.1: Resultados de las densitometrías.
 PIEZA DMO (cilíndrica) [gr/cm^2] DMO (cabeza) [gr/cm^2]

F15	0.217	0.435
ENE1	0.262	0.530
F10	0.270	0.373
ENE3	0.272	0.458
A5	0,288	x
ENE2	0.306	0.769
F12	0.403	0.767
ENE5	0.409	1.577
A4	0,474	x

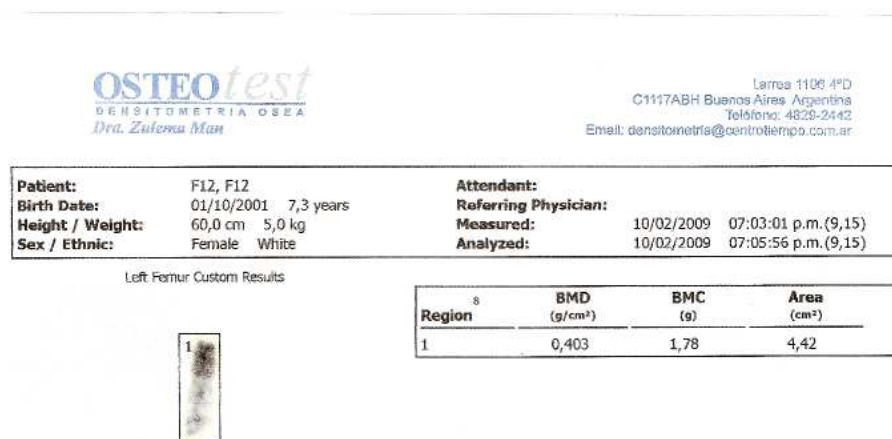


Figura 2.7: Densitometría en muestra in vitro. Muestra cilíndrica de muestra F12.

Capítulo 3

Mediciones dieléctricas

Las mediciones dieléctricas y eléctricas en tejidos biológicos tuvieron sus trabajos fundacionales en los estudios realizados por Herman P. Schwan. Sus aportes más destacados fueron en mediciones a baja frecuencia [74]. Por otro lado, en un intento por tabular las características dieléctricas y eléctricas de los tejidos, años más tarde los grupos de Stuchly [6] y Gabriel [26], publicaron varios trabajos que tienen amplia vigencia en la actualidad. De hecho, la mayoría de las simulaciones mediante técnicas numéricas (FDTD, FEM, etc) utilizan parámetros publicados en esos trabajos.

En este capítulo se reseñan algunas de las razones que motivan el estudio de las propiedades eléctricas y dieléctricas del hueso. Se continuará con un resumen sobre la teoría de dieléctricos. Seguidamente se comentarán algunos resultados teóricos sobre líneas coaxiales abiertas y finalmente se realiza una revisión de las mediciones dieléctricas en tejido óseo encontrados en la literatura.

3.1. ¿Por qué?

A nuestro entender existen varias razones que justifican el interés por las propiedades dieléctricas en hueso: En primer lugar está siempre la curiosidad científica por entender cada vez más la naturaleza. En este caso particular, el estudio de estructuras biológicas con características casi óptimas para la respuesta mecánica es científicamente muy interesante. Pero además existen motivos prácticos y de relevancia médica que inducen fuertemente a este tipo de estudios. Entre muchísimos otros podemos mencionar:

- *Tecnología en biomateriales.* En la fabricación de biomateriales o de materiales biológicos [60] y de su uso como matrices (scaffolds), combinándolos con materiales bioactivos o células, es deseable un gran conocimiento en las propiedades físicas para la generación de un medio viable alrededor de los implantes (por citar un ejemplo [40]).
- *Proceso de regeneración en huesos.* Una aplicación que ha adquirido cierta preponderancia los últimos años es la *regeneración en huesos*. Basados en el trabajo de Fukada et al. [24] y en la estimulación celular para la reparación de tejidos, existe una gran

variedad de equipos clínicos de magneto terapia (PEMF de sus siglas en inglés Pulse Electro Magnetic Field therapy). El efecto producido con estos equipos no es para nada conocido [75]. Por consiguiente, es interesante entender al menos la respuesta dieléctrica del hueso, con el objeto de cuantificar las tensiones y corrientes inducidas en los mismos cuando una terapia de este tipo es aplicada.

- *Tomografía de impedancia eléctrica.* Un punto interesante que se estudia en esta tesis, es la potencial aplicación en la evaluación de la calidad ósea. Tal como se publicó recientemente en los trabajos de simulación [8] y [47] la comunidad científica está realizando esfuerzos en la aplicación de métodos inversos para la evaluación de la calidad ósea por medio de la llamada Tomografía de Impedancia. Esto es a partir de la medición dieléctrica (o de la conductividad) del hueso estimar en el peor de los casos la densidad mineral ósea. En el trabajo de Bonifasi et al. [8] se obtiene, además, una estimación de la porosidad del hueso trabecular mediante la medición de la permitividad y la conductividad. Estos trabajos así como también el creciente interés en los métodos tomografía de impedancia (por ejemplo: ver proyecto EIDORS [2]) constituyen una motivación para la correcta evaluación de las propiedades dieléctricas y eléctricas del tejido óseo. Como ventaja extra es interesante notar que debido al rango de frecuencias este tipo de tecnologías constituirían radiaciones no ionizantes y relativamente económicas.

3.2. Reseña sobre la teoría dieléctrica

3.2.1. Introducción

El objetivo de esta sección es introducir tanto los conceptos esenciales sobre dieléctricos como también una descripción de la teoría macroscópica y su relación con parámetros y con comportamientos microscópicos de la materia.

La manera más usual para introducir la idea de respuesta dieléctrica y polarización en un medio material es a través de un condensador plano en presencia de un campo eléctrico (Fig.3.1). En el caso en que el medio entre las placas es el vacío, se inducirá una carga $+Q$ y $-Q$. Y entonces la capacidad será $C_0 = Q/V$. Por efecto del campo eléctrico externo aplicado sobre las placas del capacitor y dependiendo de las características de la sustancia colocada dentro del mismo se producirá, a nivel microscópico, un reordenamiento de las moléculas denominado polarización. Se inducirá la carga $+P$ y $-P$, por tanto ahora la carga neta será $Q + P$ y la capacidad cambiará a:

$$C = \frac{Q + P}{V} \quad (3.1)$$

Macroscópicamente, el resultado observado será un aumento de la capacidad respecto a su valor en vacío. La constante de proporcionalidad que hay entre esas dos capacidades es lo

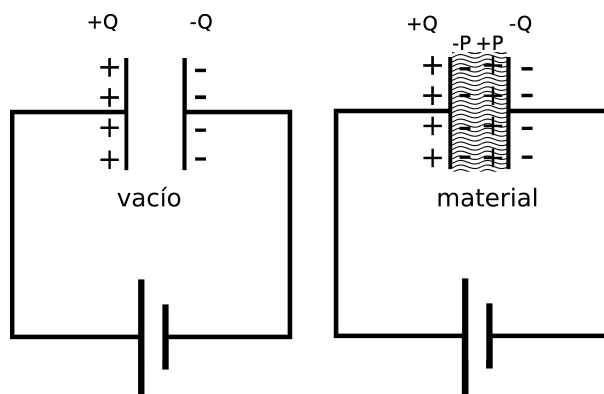


Figura 3.1: Capacitor de placas paralelas.

que comúnmente se denomina permitividad dieléctrica:

$$\varepsilon = \frac{C}{C_0} \quad (3.2)$$

En el caso que el campo eléctrico se mantiene constante con el tiempo la permitividad será una constante y hablamos de la permitividad estática o constante dieléctrica. Si en cambio el campo eléctrico varía con cierta frecuencia, macroscópicamente la capacidad ya no será más constante sino que variará con la frecuencia del campo y consecuentemente lo hará la permitividad dando lugar a los fenómenos asociados de relajación y absorción dieléctrica.

3.2.2. Polarización Eléctrica

Descripción general

La polarización eléctrica puede explicarse si consideramos un sistema formado por muchísimas (del orden del número de Avogadro) unidades (por ejemplo átomos o moléculas). Estas unidades, como comentaremos más adelante, en presencia de un campo externo reorientan sus cargas ya sea por rotación o por simple desplazamiento de las mismas siendo el resultado equivalente a pequeños dipolos que tienden a orientarse con el campo. La orientación no es perfecta debido a las fluctuaciones térmicas (ver Fig.3.2). Como resultado tenemos una polarización eléctrica macroscópica que tiende a alinearse pero en sentido opuesto con el campo aplicado de manera que el campo eléctrico resultante que siente el sistema ha disminuido. Si el campo eléctrico aplicado E se mantiene constante con el tiempo, entonces la polarización y el campo externo seguirán en una situación de equilibrio como la descrita.

Si ahora hacemos que el campo aplicado varíe en el tiempo con cierta frecuencia los pequeños dipolos (permanentes o inducidos) y consecuentemente también la polarización tratarán de seguir la orientación del campo aplicado. Dependiendo del valor del tiempo característico que requieren las unidades microscópicas, ya sean moléculas, iones, átomos o electrones, para alcanzar cierta polarización se dan dos situaciones:



Figura 3.2: Reorientación de los dipolos de un sistema al aplicar un campo eléctrico (esquemático)

1. El campo E varía dentro de un periodo del orden del tiempo característico mencionado, entonces de esta forma las unidades no se mueven lo suficientemente rápido como para “seguir” el campo, mejor dicho la polarización no está en equilibrio con el campo eléctrico o visto de otra manera la polarización y el campo externo están desfasados.
2. La otra situación es cuando el campo eléctrico es lento respecto de los tiempos característicos, lo que da la posibilidad que la polarización $P(t)$ esté instantáneamente en equilibrio (siga en fase) con el campo.

En general, para un dieléctrico lineal e isótropo, las relaciones entre la polarización P y el campo externo E y entre el desplazamiento D y E son:

$$P = \chi E \quad (3.3)$$

$$D = \varepsilon E \quad (3.4)$$

Siendo χ la susceptibilidad eléctrica. Su relación con la permitividad eléctrica se puede expresar como:

$$\chi = \frac{(\varepsilon - 1)}{4\pi} \quad (3.5)$$

Para campos variables en el tiempo la polarización y el desplazamiento están desfasados con el campo eléctrico aplicado lo cual implica que tanto la susceptibilidad eléctrica como la permitividad son magnitudes complejas. En particular la permitividad se indica en general ε^* , y se escribe:

$$\varepsilon^*(j\omega) = \varepsilon'(j\omega) - j\varepsilon''(j\omega) \quad (3.6)$$

donde $\varepsilon'(\omega)$ es la componente dispersiva y $\varepsilon''(\omega)$ es el factor de pérdida o componente disipativa.

En la Fig.3.3 podemos apreciar gráficos típicos de ambas componentes en función de la frecuencia. Para bajas frecuencias ε^* coincide con la constante dieléctrica y con $\varepsilon'(\omega)$ siendo la componente disipativa nula. El comportamiento general de la Fig.3.3 es común a muchas sustancias y se puede explicar mediante tres mecanismos que dan lugar a tres tipos polarización: orientacional, atómica y electrónica. En el próximo punto comentaremos un poco más sobre esta cuestión.

Al aumentar la frecuencia, $\varepsilon'(\omega)$ decae siempre que el rango de frecuencia sea menor que el

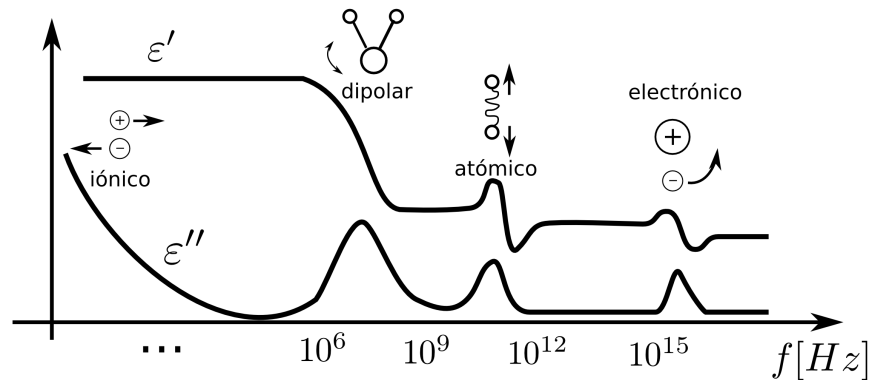


Figura 3.3: Comportamiento de la permitividad en sustancias polares.

óptico y predominan en esta región los efectos de *relajación* que se relacionan usualmente con la polarización por orientación. Para frecuencias mayores se observan picos abruptos, estas *resonancias* están asociadas con las polarizaciones atómicas y electrónicas.

Dieléctricos polares y no polares

En las sustancias dieléctricas se pueden clasificar en relación a la distribución de carga de las partículas constituyentes en polares y no polares.

- **Dieléctricos polares:** un dieléctrico polar es aquél cuyas componentes (átomos, moléculas etc.) presentan una distribución asimétrica de sus cargas positivas respecto de las negativas (aunque la carga neta podría ser nula) y por consiguiente, cada una de las partículas posee (aún en ausencia de campo eléctrico externo) un momento dipolar permanente, que en el caso de la Fig.3.2 puede considerarse igual a $q \cdot d$ (siendo q las cargas netas positiva y negativa y d la distancia entre los sitios en que están centradas). Entonces en presencia de un campo eléctrico externo el dipolo permanente intentará orientarse en el sentido del campo y se producirá el efecto antes nombrado de rotación u orientación. Si el dieléctrico en cuestión no presenta carga neta la fuerza de traslación será nula. Según ya comentamos, esta alineación no será completa, dado que existe una competencia entre la orientación inducida por el campo y las fluctuaciones en la orientación de los dipolos por efecto térmico. Si bien entonces, el ángulo de rotación promedio es de sólo fracciones de grado, para un sistema de muchas partículas el efecto es considerable y se manifiesta macroscópicamente a través de la permitividad. Teóricamente la obtención del momento dipolar de una molécula a partir de su estructura, se realiza mediante cálculos cuánticos. No obstante si se puede realizar la medición experimental del momento dipolar, el cálculo de la permitividad dieléctrica de un arreglo de dichas moléculas es, en principio, un problema mecánico-estadístico clásico.

- **Dieléctricos no polares:** un dieléctrico no polar es aquel cuyas partículas no poseen un momento dipolar permanente pero que, en presencia de un campo eléctrico externo, este último favorece la formación de un dipolo inducido mediante la separación de las cargas positivas de las negativas de la partícula en cuestión. Como se deduce de los párrafos anteriores las partículas no polares no contribuyen a la polarización orientacional, la consecuencia es que la permitividad se mantiene prácticamente constante para un amplio rango de frecuencias y cuando se produce relajación es a frecuencias relativamente altas. El valor de la permitividad a frecuencias bajas es generalmente menor que el observado en sustancias polares. Otra diferencia entre sustancias polares y no-polares es que la permitividad dieléctrica es fuertemente dependiente de parámetros tales como la temperatura y la presión para las primeras y no tanto para las no-polares.

Mecanismos de polarización

Como se mencionó anteriormente al aplicar un campo eléctrico variable con el tiempo a un material se dan varios tipos de contribuciones a la polarización. Una clasificación general es la que divide a los diferentes efectos como: de traslación o deformación (da lugar a dipolos inducidos) y los de orientación o rotación (de los dipolos permanentes). Dentro de los primeros se pueden distinguir, la polarización electrónica, que se produce por el desplazamiento de la densidad electrónica respecto al núcleo positivo debido al campo eléctrico aplicado. Esta polarización se produce a frecuencias del orden de las transiciones electrónicas entre distintos niveles de energía en el átomo (visible, ultravioleta y rayos X). Otro tipo de polarización es la atómica, producida por el desplazamiento relativo de los átomos que modifica o provoca el momento dipolar molecular. Esta se produce a las frecuencias propias de vibración del átomo en las moléculas (infrarrojo).

Los mecanismos de orientación o rotación se producen por la orientación de los momentos dipolares permanentes que debe competir con el movimiento térmico de las mismas, esto es a frecuencias mucho menores que las anteriores, del orden de los 0,01 a 1GHz.

3.2.3. Relajación dieléctrica

Descripción general

Como se adelantó existen dos tipos de comportamientos en dieléctricos bajo acción de campos variables en el tiempo, *relajación* y *resonancia*. El primero corresponde principalmente a la desaparición de las contribuciones orientacionales a la polarización y el segundo a tiene que ver con la polarización por inducción o deformación.

En esta tesis el mecanismo que tendremos principalmente en cuenta se refiere a la orientación de las partículas, es decir, los estudios se van centrar en los procesos de relajación. A continuación se desarrollarán estos conceptos en lo que se conoce como “Teoría macroscópica de la dispersión dieléctrica”. De aquí en adelante los vectores P , E y D son por unidad

de volumen. Definimos P_1 como polarización por distorsión y P_2 como parte remanente de la polarización. La primera es establecida rápidamente con el campo, y la segunda es la que tarda en llegar al estado de equilibrio (relaja a frecuencias relativamente bajas y tiene que ver con la polarización orientacional). Asumiendo que la velocidad de incremento de P_2 es proporcional a su separación del punto de equilibrio:

$$\frac{\partial P_2}{\partial t} = \frac{P - P_1 - P_2}{\tau} \quad (3.7)$$

donde P es el valor de la polarización en equilibrio y τ es el tiempo de relajación. Si se aplica un campo senoidal ($E = E_0 e^{j\omega t}$) la Ec. 3.7 tiene solución:

$$P_2 = \frac{\varepsilon (\varepsilon_0 - n^2) E_0}{4\pi (1 + j\omega\tau)} e^{j\omega t} \quad (3.8)$$

donde ε , ε_0 y n son, respectivamente, la permitividad del vacío, la permitividad a frecuencia cero y el índice de refracción (asociado con la polarización electrónica).

Entonces teniendo en cuenta las dos formas de polarización definidas, el total será:

$$P = P_1 + P_2 = P' - jP'' = \frac{\varepsilon (n^2 - 1) E}{4\pi} + \frac{\varepsilon (\varepsilon_0 - n^2) E}{4\pi (1 + j\omega\tau)} \quad (3.9)$$

La relación de la Ec. 3.9 con la permitividad compleja es:

$$\varepsilon^* (j\omega) = \varepsilon' (j\omega) - j\varepsilon'' (j\omega) = 1 + \frac{4\pi (P' - jP'')}{\varepsilon E} = n^2 + \frac{(\varepsilon_0 - n^2)}{1 + j\omega\tau} \quad (3.10)$$

Como se aprecia en la Ec. 3.10 la permitividad tiene parte real e imaginaria. Como lo hemos planteado aquí con un sólo tiempo de relajación (ver Ec. 3.7) la respuesta obtenida se denomina respuesta dieléctrica *tipo Debye*.

Función de respuesta dieléctrica

El valor del vector desplazamiento $D(t)$ en función del campo eléctrico puede ser escrito como sigue:

$$D(t) = \varepsilon_\infty E(t) + \int_{-\infty}^t E(t) \frac{d\varphi(t-t')}{dt} dt' \quad (3.11)$$

donde:

ε_∞ : valor de la permitividad compleja cuando la frecuencia tiende a infinito.

$\varphi(t) = \varepsilon_\infty + \phi(t)$: es la *función de respuesta dieléctrica*.

$$\phi(t) = (\varepsilon_0 - \varepsilon_\infty) \left[1 - \frac{P(t)}{P(0)} \right]$$

donde ε_0 es la permitividad cuando al frecuencia tiende a cero.

La permitividad compleja y la función de respuesta dieléctrica es:

$$\varepsilon^* (j\omega) = j\omega \mathcal{F} \{ \varphi(t) \} \quad (3.12)$$

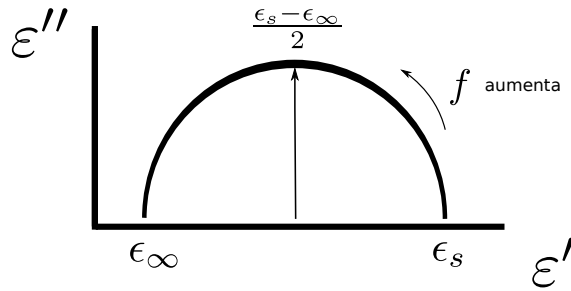


Figura 3.4: Diagrama Cole-Cole para un Debye.

donde $\mathcal{F}\{\bullet\}$ significa la transformada de Fourier de (\bullet) . Es de esperar que el vector polarización siga el campo (y análogamente, decaiga cuando la excitación es anulada) de una forma exponencial, de hecho, si:

$$\frac{P(t)}{P(0)} \sim e^{-\frac{t}{\tau}} \quad (3.13)$$

se llega a una relación del tipo *Debye*, (τ representa el tiempo de relajación dieléctrica). En algunos materiales existe más de un tiempo de relajación, esto es tenemos una distribución de tiempos de relajación. Ocurre que, en general, la relación de *Debye* no es suficiente para describir el comportamiento dieléctrico en tejidos biológicos, que . Necesariamente se deben utilizar fórmulas empíricas que se describirán a continuación.

Representación en el plano complejo

- *Respuesta tipo Debye*. Se dijo entonces que en el estudio de los materiales se suele partir de la idea de que los mismos poseen solo un tiempo de relajación τ_r (o frecuencia angular ω_r), y que el comportamiento sigue una relación llamada Debye, ésta es:

$$\varepsilon^*(j\omega) = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{\left(1 + j\frac{\omega}{\omega_r}\right)} = \epsilon_\infty + \frac{\epsilon_0 - \epsilon_\infty}{(1 + j\omega\tau_r)} \quad (3.14)$$

donde ϵ_0 y ϵ_∞ son los parámetros definidos en la Ec.3.11.

En los diagramas llamados *Cole-Cole* se grafica ε'' versus ε' y el correspondiente a un dieléctrico Debye tiene la forma que se aprecia en la Fig. 3.4. Notar que se trata de una semi-circunferencia.

- *Respuesta tipo Cole-Cole (C-C)*. Algunos materiales, particularmente en largas cadenas moleculares, no siguen la semi-circunferencia de las sustancias tipo Debye. Para salvar este inconveniente Cole y Cole modificaron la Ec. 3.14 de la siguiente manera:

$$\varepsilon^*(j\omega) = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{\left[1 + \left(j\frac{\omega}{\omega_r}\right)^{1-\alpha}\right]} \quad (3.15)$$

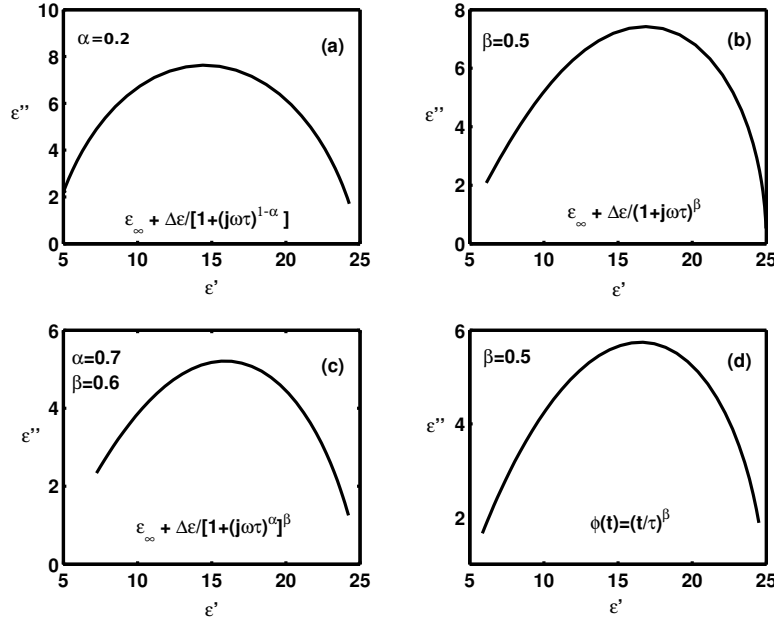


Figura 3.5: Diagramas cole-cole de diferentes tipos de relajaciones. (a) Cole-Cole, (b) Cole-Davidson, (c) Havriliak-Negami y (e) Kohlrausch-Williams-Watts.

donde $\Delta\epsilon = \epsilon_0 - \epsilon_\infty$ el parámetro α es empírico, por ejemplo en el caso de hueso cortical bovino este parámetro se encontró cerca de 0,6 y con una frecuencia de relajación $f_r \approx 5kHz$, donde $\omega_r = 2\pi f_r$. En la Fig.3.5a) se grafica un ejemplo con $\alpha = 0,2$

- *Respuesta tipo Cole-Davidson (C-D)*. Este comportamiento es observado, por ejemplo, en el glicerol y tiene la forma:

$$\epsilon^*(j\omega) = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{\left(1 + j\frac{\omega}{\omega_r}\right)^\beta}. \quad (3.16)$$

El parámetro β toma valores menores que 1, un ejemplo para $\beta = 0,5$ se muestra en la Fig.3.5b).

- *Respuesta tipo Havriliak-Negami (H-N)*. Esta es otra parametrización más general que las anteriores y la ecuación es la siguiente:

$$\epsilon^*(j\omega) = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{\left[1 + \left(j\frac{\omega}{\omega_r}\right)^\alpha\right]^\beta} \quad (3.17)$$

La Fig.3.5c) muestra el caso particular de α y β con valores de 0,7 y 0,6, respectivamente.

- *Respuesta de tipo Raicu (R)*. Aunque esta denominación no está formalmente aceptada por la comunidad científica en general, en esta tesis decidimos llamarla así porque fue propuesta por Raicu en 1999 [66,67]. Esta representación contiene a las anteriores y su forma es:

$$\varepsilon^*(j\omega) = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{\left[\left(j\frac{\omega}{\omega_r} \right)^\alpha + \left(j\frac{\omega}{\omega_r} \right)^{1-\beta} \right]^\gamma} \quad (3.18)$$

α , β y γ están en el intervalo $[0, 1]$.

- *Respuesta con más de un tiempo de relajación*. Existen materiales que tienen varios tiempos de relajación, como por ejemplo las macromoléculas. Esto se ve evidenciado en que ε'' tiene más de un máximo. Para tener en cuenta este fenómeno, Von Schweider (1907) propuso una distribución de tiempos de relajación:

$$\varepsilon^*(j\omega) = \epsilon_\infty + \sum_k \frac{\Delta\epsilon_k}{\left(1 + j\frac{\omega}{\omega_{rk}} \right)}. \quad (3.19)$$

Luego también se sugirió una distribución continua de tiempos de relajación, con lo que la sumatoria anterior se transforma en una integral.

- *Respuesta temporal de Kohlrausch-Williams-Watts (KWW)*. Esta relajación se observa en el dominio del tiempo y la Ec. 3.13 toma la forma de una “exponencial estirada”:

$$\frac{P(t)}{P(0)} \sim e^{-\left(\frac{t}{\tau_\beta}\right)^\beta} \quad (3.20)$$

nuevamente $0 < \beta \leq 1$ y $\frac{1}{\tau_\beta} = \omega_r$ es la frecuencia de relajación. La respuesta correspondiente en el espacio de frecuencias es [41]:

$$\frac{\varepsilon_i^*(j\omega) - \epsilon_\infty}{\Delta\epsilon} = \begin{cases} 1 - \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(-1)^k \Gamma\left(\frac{k+1}{\beta}\right)}{\beta \Gamma(k+1)} (-j\omega\tau_\beta)^{k+1} & \text{cuando } |j\omega\tau_\beta| \rightarrow 0 \\ 1 - \sum_{k=0}^{\infty} \frac{(-1)^k \Gamma(\beta k+1)}{\Gamma(k+1)} (-j\omega\tau_\beta)^{-\beta k} & \text{cuando } |j\omega\tau_\beta| > 0 \end{cases} \quad (3.21)$$

donde $\Gamma(x)$ denota función gamma completa complementaria.

Relajaciones en tejidos biológicos

Tal como se mostró en la Fig.3.3 la permitividad en las sustancias polares disminuye con la frecuencia. Los tejidos biológicos así como también diversas suspensiones en celulares presentan curvas de relajación como las que se muestra en la Fig. 3.6 a). En ella se ven cuatro regiones denominadas α , β y γ separadas por zonas de variación constante (mesetas). en algunos materiales biológicos también existe una región δ que se superpone entre β y γ . Es una dispersión “pequeña” y está comprendida entre 0,1 y 3GHz. Cada una de las relajaciones mencionadas se adjudica a diferentes procesos o mecanismos o que contribuyen a la polarización dieléctrica:

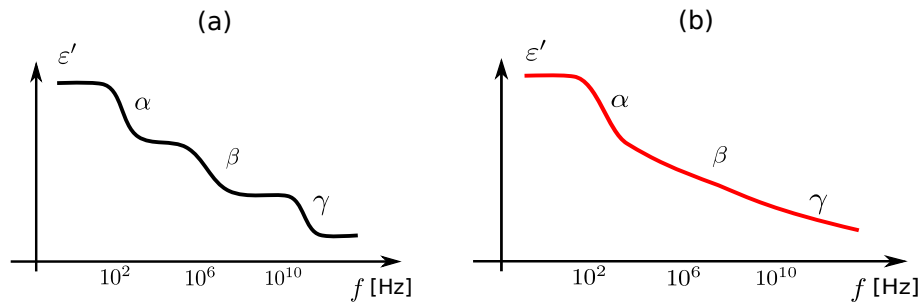


Figura 3.6: Comportamiento de la permitividad en tejidos biológicos. (a) Diferentes relajaciones bien marcadas. (b) Relajaciones más “anchas”.

- *Región α* . Entre mHz y kHz . Se atribuye a la difusión de iones, contra iones, etc.
- *Región β* . $[0,1 - 100MHz]$. Generalmente debido a las cargas capacitivas de membranas celulares, orientación de dipolos de las proteínas de los tejidos.
- *Región γ* . $[0,1 - 100GHz]$. Se piensan como mecanismos dipolares adjudicados al agua.
- *Región δ* . $[0,1 - 3GHz]$. Como es sabido los tejidos biológicos poseen gran cantidad de agua, no solo agua libre (en el bulk), sino también otras moléculas de agua que interactúan de manera diferente con las proteínas o lo que constituya el tejido. A este “tipo” de agua se la suele denominar agua ligada y tiene incidencia en este rango de frecuencias. Por otro lado, los tejidos biológicos poseen, en general, moléculas grandes con cadenas laterales que interactúan también con el campo eléctrico aplicado en esta región.

Si bien las regiones anteriores se observan en muchos sistemas biológicos, son frecuentes las dispersiones superpuestas y más “anchas”, en algunos casos sin mesetas (ver Fig.3.6 b)). Es también usual en el estudio dieléctrico de tejidos biológicos agregar la conductividad iónica (σ_{dc}) a la permitividad compleja (a las Ecs. 3.16-3.19), aunque no es una estrictamente una relajación.

3.3. Métodos de medición

En cuanto a la adquisición de los datos experimentales, en general existe una gran oferta de equipamiento y técnicas para mediciones dieléctricas de laboratorio. Una excelente revisión de las técnicas para RF y Microondas se puede encontrar en la referencia [12]. Otro material interesante a modo de introducción es la nota de aplicación de Agilent [61]. En nuestro caso, se utilizaron tres equipos de medición: en baja frecuencia, un Analizador de impedancia HP4192A (Hewlett-Packard), que cubre el rango hasta los $10MHz$. Mientras que en alta frecuencia (hasta $1.3GHz$) con un analizador de redes escalar (Scalar Network

Analyzer (SNA) HP8711A desde 10 a 1300MHz) y en dominio de tiempo con un set completo de TDR (de sus siglas en inglés Time Domain Reflectometry) marca Hewlett-Packard. Este último consta de un grupo Hewlett-Packard TDR/Sampler 1815B con un osciloscopio Hewlett-Packard 1801A y un muestreador un con un diodo HP1106A.

A continuación se resumen los principios en que se basa el equipamiento usado y se describen brevemente las celdas de medición utilizadas en cada uno de los casos.

3.3.1. Mediciones en baja frecuencia

Según mencionamos, en baja frecuencia (para nosotros $< 10MHz$) se utilizó un Analizador de Impedancias HP 4192A. El principio de funcionamiento del mismo se basa en un circuito puente auto balanceado (ver [1]). Este tipo de equipos posee una calibración tanto en corto como en circuito abierto que permite desafectar las capacidades espúreas debidas al cableado y las conexiones. En principio este equipo tiene un rango que va desde los $5KHz$ hasta los $13MHz$, en nuestro caso, solo lo utilizaremos desde $1MHz$ hasta $10MHz$. Esto es así porque tomaremos estas mediciones como datos complementarios a los de alta frecuencia.

3.3.2. Mediciones en alta frecuencia

En general para altas frecuencias ($> 100MHz$) se utilizan analizadores de redes vectoriales. En los cuales la medición se realiza en el dominio de la frecuencia a través de osciladores muy precisos.

Debido a que estos sistemas son demasiado costosos existen alternativas más económicas en frecuencia, tales como los analizadores de redes escalares, con los que se puede medir módulos pero no fases. Como se mencionó anteriormente, en este trabajo se utiliza un equipo de este tipo, más específicamente un HP8711A. Por otro lado, los reflectómetros de 6 puertos también son económicos y trabajan en el dominio de la frecuencia. Tienen como ventaja que se puede obtener información de módulo y fase pero como desventaja poseen un rango de frecuencias limitado.

Otra de las alternativas económicas que aún poseen una amplia aplicación (ver [23] y [21] entre otros), son las mediciones en dominio de tiempo. Este tipo de metodologías se basa en la aplicación de señales transitorias a la muestra y en la posterior medición de su respuesta. Las señales pueden ser, por ejemplo, pulsos o escalones de amplio espectro. Es decir, lo que se busca es excitar tantas frecuencias como sea posible a través de una sola señal de excitación. Este tipo de medición será descrita con algún detalle a continuación dado que el procesamiento de datos obtenidos por este medio constituye un aporte importante de esta tesis.

Mediciones en dominio de tiempo

Los métodos de reflectometría en dominio de tiempo consisten en aplicar un escalón de tensión ($V_0(t)$) y observar la respuesta ($R(t)$). Esto es posible por el retardo producido

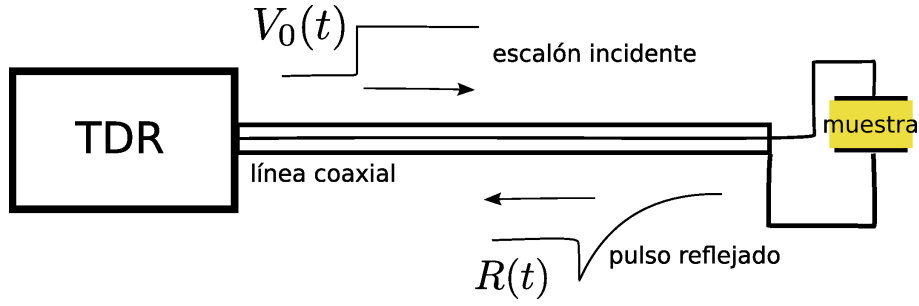


Figura 3.7: Mediciones en dominio de tiempo: reflectometría.

en la línea de transmisión (que en general son coaxiales, ver un diagrama simplificado en Fig.3.7). Las señales enviadas y recibidas están separadas en tiempo y se pueden discriminar fácilmente una de otra. A continuación describimos algunos de los modelos que se suelen utilizar para el procesamiento de estas señales.

Modelo directo. La aproximación más frecuentemente adoptada para caracterizar dieléctricamente una muestra (ver Fig.3.7), implica la medición del coeficiente de reflexión al final de la línea. Este valor es utilizado para calcular la permitividad compleja. En algunos casos, este problema tiene una relativa complejidad matemática. Sin embargo, se puede modelar la muestra con un circuito equivalente de la siguiente forma:

$$Y = C_0 \varepsilon^* + C_f \quad (3.22)$$

donde C_0 es la capacidad de la celda y C_f es la capacidad debido a campos del borde (se denomina *fringe capacitance*). La permitividad puede estimarse mediante mediciones de calibración a costo de reducir la precisión de la medida. Si se adopta entonces un modelo de capacitor con pérdidas el coeficiente de reflexión ($\Gamma(j\omega)$) es el siguiente:

$$\Gamma(j\omega) = \frac{\mathcal{F}\{R(t)\}}{\mathcal{F}\{V_0(t)\}} = \frac{1 - j\omega Z_0(C_0 \varepsilon_{ap}^* + C_f)}{1 + j\omega Z_0(C_0 \varepsilon_{ap}^* + C_f)} \quad (3.23)$$

donde Z_0 es la impedancia característica de la línea¹. Aclaramos que en esta tesis este modelo se usará sólo para simulación.

Modelo diferencial. El rango de frecuencias utilizado en esta tesis permite suponer que los modelos físicos usados sean electrostáticos, de esta manera los modelos equivalentes (o de parámetros concentrados) tienen la suficiente aproximación. Como se explica en [21,22], numéricamente los modelos diferenciales tienen un comportamiento más adecuado (si se comparan con el *modelo directo*). La cancelación del ruido diferencial también es una mejora que introducen estos métodos. Aunque estos métodos fueron ampliamente estudiados para

¹Tomando el coeficiente de reflexión como una función de transferencia en el dominio de Laplace $\Gamma(s = j\omega) \equiv H(s)$ y usando la Ec. 3.14 el sistema puede ser visto como una función de transferencia de un sistema lineal e invariante en el tiempo (ver capítulo 5).

celdas coaxiales capacitivas, aquí desarrollamos los mismos conceptos para líneas coaxiales abiertas. La muestra al final de la línea (de impedancia característica Z_0) es modelada como un capacitor con pérdidas. Si se le aplica un pulso de tensión $V_0(t)$ la carga eléctrica del mismo varía según:

$$Q(t) = C_0 \left[\varepsilon_\infty V_0(t) + \int_0^t \dot{\varphi}(t-t') V_0(t') dt' \right] \quad (3.24)$$

donde ε_∞ es la permitividad cuando la frecuencia tiende a infinito y $\dot{\varphi}(t)$ es la derivada con respecto al tiempo de la función de respuesta dieléctrica.

Por otro lado, según [22] $Q(t)$ puede escribirse:

$$Q(t) = \frac{2}{Z_0} \int_0^t \left[f_3(t') - \frac{f_3(\infty)}{f_2(\infty)} \right] dt' \quad (3.25)$$

donde $f_2(t)$ y $f_3(t)$ son las diferencias entre la muestra y el corto circuito ($R(t) + V_0(t)$) y entre el circuito abierto y la muestra ($V_0(t) - R(t)$), respectivamente. Operando sobre estas dos expresiones y definiendo $F = \frac{1}{C_0 Z_0}$ y $K = \frac{f_3(\infty)}{f_2(\infty)}$ queda:

$$\int_0^t f_3(t') dt' = \int_0^t \left[K + \frac{\varepsilon_\infty}{F} \delta(t-t') + \frac{1}{F} \dot{\varphi}(t-t') \right] f_2(t') dt' \quad (3.26)$$

donde $\delta(t)$ es la delta de Dirac.

Remarcamos que este tipo de medición es más robusta que el método directo y constituye el método elegido en esta tesis para el procesamiento de las señales.

3.4. Líneas coaxiales abiertas

Cuando se debe realizar una medición en un tejido biológico es de gran interés tratar de que el preparado de la muestra la afecte lo menos posible, dado que la manipulación de la misma puede llegar a causar efectos no deseados en la medición. Además, al almacenarla, se trata de mantener las condiciones fisiológicas lo mejor posible. Si bien en general las muestras no constituye un tejido vivo, la idea es en lo posible no “modificarlas” de tal manera de conservarlas en condiciones cercanas a las originales. Es por eso que el uso de líneas coaxiales abiertas ha sido tan difundido en la caracterización de tejidos biológicos incluso *in vivo* dado que este tipo de líneas coaxiales exigen una menor manipulación de las muestras. [4, 20, 26, 28, 54, 87]. En lo que sigue se resumen algunos conceptos sobre la formulación variacional de una línea coaxial abierta a un medio multi-capa. Además se muestran los resultados que obtuvimos a partir de proponer un modelo empírico para un medio de cuatro capas.

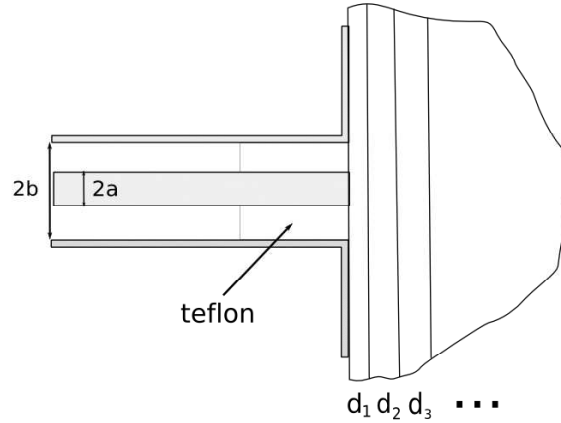


Figura 3.8: Línea coaxial abierta en contacto con un medio multi-capa.

3.4.1. Modelo teórico: formulación variacional

La capacidad estática² de una estructura arbitraria que tiene dos conductores a potencial cero y V_0 , respectivamente [20], puede ser expresada como sigue:

$$C = \frac{1}{V_0^2} \int_v \varepsilon (\Delta V)^2 dv \quad (3.27)$$

donde v es el volumen del capacitor, V es el potencial eléctrico y ε es la permitividad del material entre ambos. La expresión (3.27) es un funcional de la función potencial³. Se asume que el sistema opera a una frecuencia tal que sólo haya propagación de los modos transversal electro-magnético (TEM). En el caso particular de una línea coaxial abierta se asume además que existen los modos TM_{on} cerca del final de la línea (ver Fig. 3.8). Esta última suposición es necesaria para cumplir las condiciones de contorno en la interfase línea-material y entre cada una de las capas. Puede demostrarse que si nos restringimos a aquellas funciones de potencial que satisfacen las condiciones de borde, la función de potencial correcta da el mínimo global del funcional. Esto significa que el funcional es estacionario. De acuerdo con estas suposiciones, la capacidad de una línea coaxial abierta en contacto con un medio multi-capa o un medio semi-infinito está dado por la siguiente expresión:

$$C = \frac{2\pi\varepsilon_1\varepsilon_0}{V_0^2} (P_{00} + 2g_1P_{01} + 2g_2P_{02} + 2g_1g_2P_{21} + \dots + g_1^2P_{11} + g_2^2P_{22} + \dots) + 2\pi\varepsilon_t\varepsilon_0 \sum_{i=1}^I g_i^2 p_i t_i \quad (3.28)$$

²por “estática” queremos decir que la línea no radia en el medio

³un funcional es una expresión cuyo valor numérico depende de la función que es sustituida en ella.

donde para $I = 2$, los coeficientes g_i se hallan mediante:

$$\begin{bmatrix} P_{11} - V_0^2 \frac{\varepsilon_t}{\varepsilon_1} p_1 t_1 & P_{12} \\ P_{21} & P_{22} - V_0^2 \frac{\varepsilon_t}{\varepsilon_1} p_2 t_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} g_1 \\ g_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -P_{01} \\ -P_{02} \end{bmatrix} \quad (3.29)$$

donde:

$$t_i = \frac{b^2}{2} [\alpha_i J_1(p_i b) + \beta_i Y_1(p_i b)]^2 - \frac{a^2}{2} [\alpha_i J_1(p_i a) + \beta_i Y_1(p_i a)]^2$$

Aquí J_i y Y_i son las funciones de Bessel de primer y segundo tipo. Los coeficientes α_i , β_i y p_i son determinados numéricamente de las condiciones de borde: $T_i(a) = T_i(b) = 0$, donde $T_i(\rho) = \alpha_i J_0(p_i \rho) + \beta_i Y_0(p_i \rho)$ y de las condiciones de normalización $\alpha_i^2 + \beta_i^2 = 1$.

Los coeficientes P_{mn} dependen del material a medir y del número de capas. Por ejemplo, para un medio de cuatro capas la obtuvimos de la siguiente manera.

$$P_{ij} = \int_0^\infty F_i(\lambda) F_j(\lambda) \frac{1 - R_T e^{-2\lambda d_2}}{1 + R_T e^{-2\lambda d_2}} \lambda^2 d\lambda \quad (3.30)$$

donde R_T se define como:

$$R_T = \frac{R_1 - R_{t_2} e^{-2\lambda d_2}}{1 + R_1 R_{t_2} e^{-2\lambda d_2}} \quad (3.31)$$

y

$$R_{t_2} = \frac{R_2 - R_3 e^{-2\lambda d_3}}{1 + R_2 R_3 e^{-2\lambda d_3}} \quad (3.32)$$

$$R_i = \frac{\varepsilon_i - \varepsilon_{i+1}}{\varepsilon_i + \varepsilon_{i+1}} \quad (3.33)$$

donde d_i y ε_i es el ancho y la permitividad compleja relativa de la capa i . El resto de las definiciones son:

$$F_0(\lambda) = \frac{V_0}{\lambda^2 \ln(a/b)} [J_0(b\lambda) - J_0(a\lambda)]$$

$$F_i(\lambda) = \frac{V_0 p_i^2}{p_i^2 - \lambda^2} \{ b J_0(b\lambda) [\alpha_i J_1(p_i b) + \beta_i Y_1(p_i b)] - a J_0(a\lambda) [\alpha_i J_1(p_i a) + \beta_i Y_1(p_i a)] \}.$$

En las formulaciones anteriores debe resaltarse que la aproximación del modelo electrostático limita el rango de frecuencias. En consecuencia las dimensiones de la línea deben ser mucho menores que la longitud de onda en el medio, en otras palabras $2a/\lambda \ll 1$.

3.4.2. El modelo empírico

De lo anteriormente expuesto surge un inconveniente: si deseamos estimar la permitividad de alguna capa en particular no es posible obtenerla fácilmente y se deben utilizar métodos inversos iterativos. Es decir, a partir de alguna capa conocida y de los anchos de

cada capa estimados, resolver la Ec. 3.28 (que es una ecuación trascendente) y compararla con la capacidad total medida. Una alternativa es aplicar métodos empíricos (ver por ejemplo [3, 4, 20]). En estos métodos se proponen algunas ecuaciones en función de las permitividades y del ancho de capa para obtener una “permitividad aparente” (ε_{ap}^*). Aunque la aproximación anterior es más exacta, implica integraciones numéricas que en la práctica no son del todo convenientes. En Alanen et al. [20] se propone la siguiente expresión para la permitividad de un medio de dos capas:

$$\varepsilon_{ap}^* = (\varepsilon_1 - \varepsilon_2)(1 - e^{-qd}) + \varepsilon_2 \quad \text{cuando} \quad \varepsilon_1 > \varepsilon_2 \quad (3.34)$$

$$\frac{1}{\varepsilon_{ap}^*} = \left(\frac{1}{\varepsilon_1} - \frac{1}{\varepsilon_2}\right)(1 - e^{-qd}) + \frac{1}{\varepsilon_2} \quad \text{cuando} \quad \varepsilon_1 < \varepsilon_2 \quad (3.35)$$

donde q es una constante que depende de las dimensiones de la línea coaxial abierta. Como se puede ver de la Ec. 3.35 es necesario tener algún conocimiento *a priori* sobre la muestra a medir.

En Alanen et al. [20] se desarrollan las fórmulas empíricas para un modelo particular de tres capas y es exitosamente aplicado a la medición de piel en humanos. Nosotros proponemos aquí, a partir de las ecuaciones anteriores, un modelo para un material de cuatro capas:

$$\varepsilon_{2-4}^* = \varepsilon_2(1 - e^{-q_2d_2}) + \frac{\varepsilon_3\varepsilon_4}{\varepsilon_3e^{-q_3d_3} + \varepsilon_4(1 - e^{-q_3d_3})}e^{-q_2d_2} \quad (3.36)$$

$$\varepsilon_{ap}^* = \frac{1}{(1 - e^{-q_1d_1})\left(\frac{1}{\varepsilon_1} - \frac{1}{\varepsilon_{2-4}^*}\right) + \frac{1}{\varepsilon_{2-4}^*}} \quad (3.37)$$

q_1 , q_2 y q_3 son constantes que se pueden encontrar numéricamente a partir de un ajuste con la Ec. 3.28 aplicando la siguiente relación:

$$\varepsilon_{ap}^* = \frac{C - C_f}{C_0}; \quad (3.38)$$

donde C_0 y C_f son las capacidades de la línea abierta al vacío y la debida a los campos electromagnéticos formados en la interfase (borde) de la muestra.

En este resultado se debe notar que antes de la deducción de la Ec. 3.37 es necesario asumir ciertas relaciones entre las permitividades de las capas (por ejemplo: $\varepsilon_1 < \varepsilon_2$). Además es necesario remarcar que este tipo de ecuaciones también son válidas para medios conductivos.

3.4.3. Simulaciones

En las secciones 3.4.1 y 3.4.2 se estudiaron dos maneras de obtener la permitividad aparente de un medio multicapa. Sin embargo, el modelo empírico aparecían las constantes q_i que, en principio, son desconocidas. Una manera de estimarlas sería midiendo un medio conocido, pero una más práctica es mediante la simulación con el modelo variacional. El

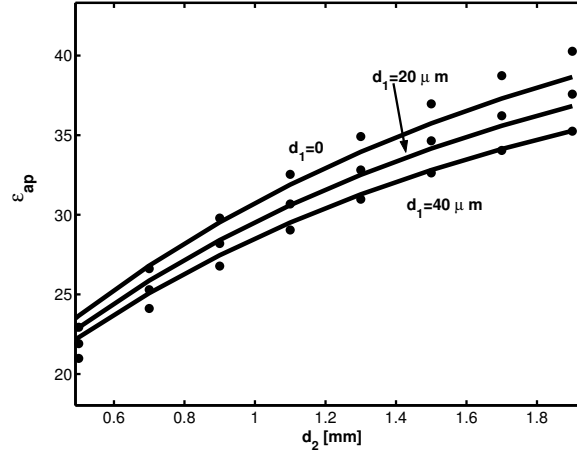


Figura 3.9: Permitividad dieléctrica aparente de una estructura de cuatro capas “vista” por una línea de 16mm. Simulación mediante método variacional (línea continua) y aproximación empírica (puntos). Los parámetros empíricos obtenidos fueron: $q_1 = 0,86$, $q_2 = 0,75$ y $q_3 = 0,56$.

procedimiento seguido es similar al descrito por Alanen et al. [20].

C_0 y C_f son calculados previamente usando la aproximación:

$$C(\varepsilon_i) = C_0\varepsilon_i + C_f \quad (3.39)$$

donde $C(\varepsilon_i)$ se obtiene a partir de la Ec. 3.28 aplicada a un medio semi-infinito. Luego se propone una ecuación empírica según el medio que se desea medir (2, 3 o 4 capas) y se realiza un ajuste con la Ec. 3.28 resuelta para la cantidad de capas correspondiente (con anchos de capa d_i y permitividades conocidas ε_i)⁴. Por ejemplo la Fig. 3.9 muestra una comparación entre el valor de la permitividad aparente teórica y empírica de un medio de cuatro capas con una línea de 16mm de diámetro externo. Se graficó en función del ancho de la segunda capa variando $d_1 = 0, 20\mu m$ y $40\mu m$ y para $d_3 = 0,1mm$. Las constantes dieléctricas de cada capa fueron: 10, 50, 8 y 40. Se obtuvieron resultados cambiando los parámetros anteriores y las constantes empíricas fueron: $0,86/0,75/0,56mm^{-1}$ y $0,54/0,74/0,61mm^{-1}$ para q_1, q_2 y q_3 en líneas de diámetro externo 10mm y 16mm, respectivamente.

En la Fig.3.10 se testeó el modelo empírico de tres capas para una línea de 16mm de diámetro externo en las siguientes configuraciones:

- En las Figs.3.10 (a) y (c) se cumple: $\varepsilon_1 > \varepsilon_2$ y $\varepsilon_2 < \varepsilon_3$.
- En las Figs.3.10 (b) y (d) se cumple $\varepsilon_1 > \varepsilon_2$ y $\varepsilon_2 > \varepsilon_3$.

En la Fig.3.10 (c) se ve que la aproximación no es muy buena cuando varía el ancho de la segunda capa. Otro punto a destacar es que para los dos modelos las constantes empíricas

⁴Todas las rutinas y programas para los cálculos de esta sección los desarrollamos en código Matlab.

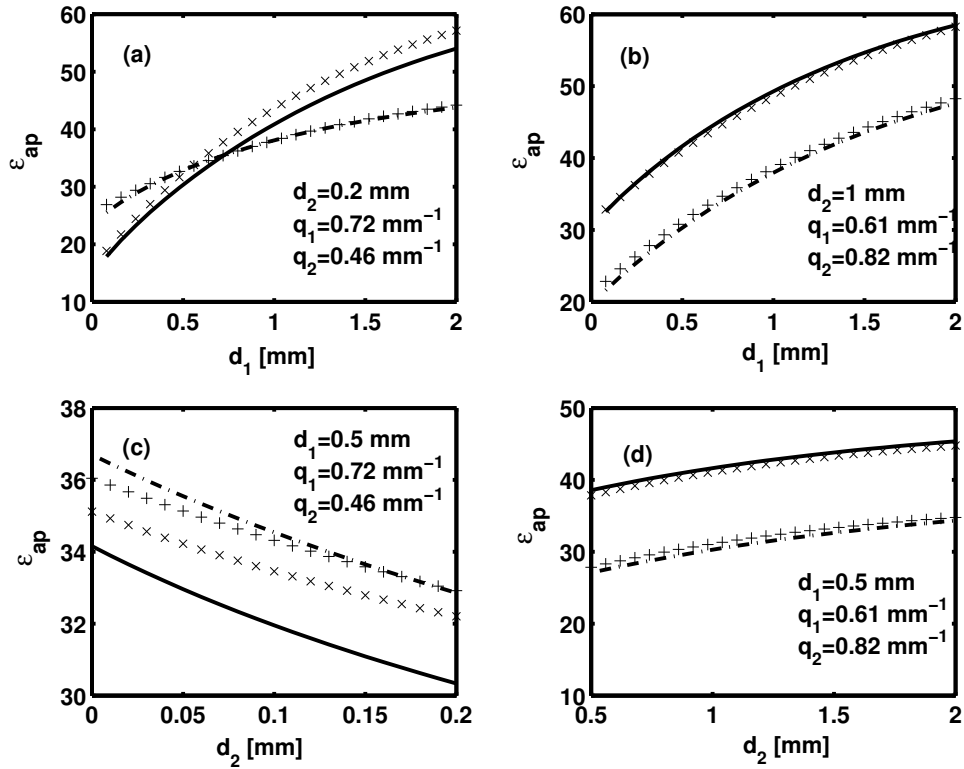


Figura 3.10: Comparación entre las curvas empíricas (líneas con “+” y “x”) y el modelo teórico (curvas continuas y punteadas) para un modelo de tres capas. En (a) y (c) $\varepsilon_1 > \varepsilon_2$ y $\varepsilon_2 < \varepsilon_3$ (las constantes dieléctricas de cada capa 70, 5, 20 (curvas continuas) y 50, 10, 30 (curvas punteadas)). En (b) y (d) $\varepsilon_1 > \varepsilon_2$ y $\varepsilon_2 > \varepsilon_3$ (las constantes dieléctricas de cada capa se asumieron como 70, 40, 20 (curvas continuas) y 70, 30, 10 (curvas punteadas))

son diferentes.

En las simulaciones anteriores las permitividades de cada capa toman un valor constante. En las Figs.3.11 (a) y (b) fue simulado un medio de calibración a $T = 25^\circ C$ con valores extraídos de la literatura solución salina NaCl (al 0,45 % y $d_1 = 0,5mm$) / film de nylon ($\varepsilon_2 = 3$ y $d_2 = 0,1mm$) / 2-propanol (ver [79]).

3.5. Propiedades dieléctricas en tejido óseo

Como ya mencionamos, las mediciones dieléctricas en tejidos biológicos se remontan a los trabajos pioneros de H. P. Schwan [74]. Gran parte de las bases de datos usadas en la actualidad para la simulación de campos electromagnéticos en medios biológicos fueron mediciones recopiladas por [27, 29, 30] (ver sitio web <http://niremf.ifac.cnr.it/>). El grupo de S. S. Stuchly también contribuyó a la medición de propiedades dieléctricas en tejidos biológicos [6, 88]. En el caso particular de las mediciones en hueso, entre los primeros traba-

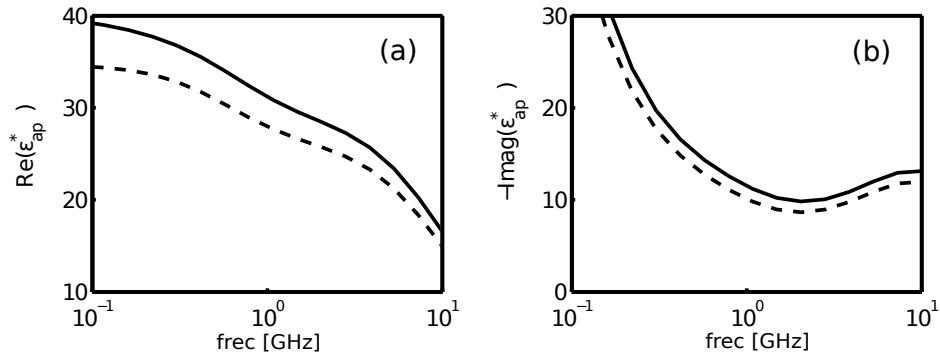


Figura 3.11: Simulaciones en un medio de tres capas con una respuesta Debye. (a) y (b) son la parte real e imaginaria de $\varepsilon_{ap}^*(j\omega)$ del medio: solución salina / film de nylon / 2-propanol. Las curvas teóricas son las líneas continuas y las empíricas las rayadas.

jos se encuentran los K.R. Foster (por mencionar alguno [49]) en los cuales se comenzó con mediciones del tipo invasivas (discos de hueso).

En esta sección haremos una breve reseña de literatura en cuanto a las propiedades dieléctricas en tejido óseo trabecular y comentaremos las propiedades de su componente orgánico principal: el colágeno.

3.5.1. En hueso trabecular

La dependencia con la frecuencia de las propiedades eléctricas del tejido óseo, es comparable con la de otros tejidos con bajo contenido celular, por ejemplo, los ligamentos [27, 29, 30]. El contenido de agua relativamente bajo de este tejido podría ser la razón principal de la diferencia en los valores de permitividad con los tejidos alto contenido celular.

En contraste con los numerosos datos existentes sobre el hueso compacto (ver entre otros [27, 73] y las referencias allí), los trabajos sobre el hueso trabecular son relativamente pocos y recientes [72, 81–83]. En el rango de frecuencia de interés de esta tesis encontramos algunos resultados en hueso trabecular ovino en [25]. A pesar de que los huesos compacto y trabecular son muy diferentes en estado fisiológico (debido, por ejemplo, las diferencias en la porosidad y la inclusión de la médula en el tejido trabecular), algunos hallazgos obtenidos en investigaciones de hueso compacto son aplicables al hueso trabecular. Resulta interesante observar que a tamaños menores que $10\mu m$ las estructuras de la matriz (colágeno + sales minerales) son muy similares. Sin embargo, la diferencia en su macroestructura hacen que los resultados deben ser interpretados con cautela al describir una matriz saturada de líquido. El comportamiento eléctrico de una matriz que contiene agua unida a sus moléculas difiere del comportamiento de una matriz seca. Aún más, si el fluido es PBS la diferencia también es notoria. En el trabajo de Kosterich y otros [50] se evalúa

Cuadro 3.1: Modelos dieléctricos de literatura para hueso trabecular y cortical [30].

tejido	ϵ_∞	$\Delta\epsilon_1$	f_{r1}^a	α_1	$\Delta\epsilon_2$	f_{r2}	α_2	$\Delta\epsilon_3$	f_{r3}	α_3	σ^b
trabecular	2,5	18	12×10^9	0,22	300	2×10^6	0,25	2×10^4	1×10^3	0,2	0,07
cortical	2,5	10	12×10^9	0,2	180	2×10^6	0,2	5×10^3	1×10^3	0,2	0,02

^aValor en Hz.^bValor en Sm^{-1} .Cuadro 3.2: Valores aproximados de ϵ' de literatura para hueso trabecular.

Especie	tipo de hueso	1MHz	10MHz	100MHz	1000MHz
Humano ^a	tibia distal (trabecular)	50-80	-	-	
Humano ^b	cóndilo femoral medial (trabecular)	~30	-	-	
Ovino ^c	cráneo (trabecular)	~800	~100	-	
Combinación ^d	trabecular	248,97	70,779	27,629	20,584

^aExtraído de referencia [72].^bExtraído de referencia [82].^cExtraído de referencia [25] a $37^\circ C$.^dValores extraídos de <http://niremf.ifac.cnr.it>

la respuesta dieléctrica hasta los 8MHz para hueso de rata preservado en soluciones salinas con diferentes concentraciones de sal. Los autores obtienen diferentes relajaciones para diferentes tipo de soluciones.

Las propiedades eléctricas de los diferentes componentes del hueso, como la médula ósea (ver por ejemplo sitio web <http://niremf.ifac.cnr.it/> basado en las investigaciones S. Gabriel y otros), el colágeno [37, 58], hidroxapatita [34] y el agua han sido ampliamente estudiadas. La combinación de estos componentes es responsable del comportamiento eléctrico del tejido trabecular, y por lo tanto los datos deben utilizarse con cuidado. Obviamente las interacciones entre estas fases no deben ser omitidas en la interpretación de las mediciones. La tabla 3.1 muestra los parámetros tomando un modelo tipo Cole-Cole de tres relajaciones de la referencia [30]. Es importante aclarar que los parámetros los autores obtuvieron estos valores haciendo una regresión con mediciones de diferentes tipos de hueso (animal y humano). Por otro lado, las Tablas 3.2 y 3.3 muestran los valores aproximados (extraídos de las figuras de las referencias citadas) de ϵ' y σ , respectivamente, para hueso trabecular. En estas tablas se tomaron valores para frecuencias mayores a $1MHz$, que es el rango de esta tesis.

De Mercato y García Sánchez [17] han sugerido que la conductividad en baja frecuencia el hueso trabecular es una consecuencia de la micro-estructura del tejido y su contenido líquido y esto lo apoya el trabajo de Kosterich [50] mencionado previamente. Es decir, la porosidad y los canales que eventualmente se forman podrían contribuir a la conductividad iónica.

En cuanto al resto de los componentes, en el trabajo de Sierpowska [83] se encontró que

Cuadro 3.3: Valores aproximados de σ de literatura para hueso trabecular en Sm^{-1} .

Especie	tipo de hueso	1MHz	10MHz	100MHz	1000MHz
Humano ^a	tibia distal (trabecular)	0,2-0,5	-	-	-
Humano ^b	cóndilo femoral medial (trabecular)	~0.085	-	-	-
Ovino ^c	cráneo (trabecular)	~0,09	~0,2	-	-
Combinación ^d	trabecular	0.0903	0.1228	0.1725	0.3639

^aExtraído de referencia [72].

^bExtraído de referencia [81].

^cExtraído de referencia [25] a $37^{\circ}C$.

^dValores extraídos de <http://niremf.ifac.cnr.it>

el contenido de grasa y de colágeno está altamente correlacionado con la permitividad. Utilizando baja frecuencia ($1kHz$) y alta ($300kHz$) los autores pueden predecir tanto el contenido de grasa como el de colágeno. En cambio, en línea con lo propuesto por De Mercato y García Sanchez, el contenido de agua lo encontraron correlacionado con la conductividad.

En colágeno

Las propiedades dieléctricas del colágeno han sido medidas por varios grupos (ver por ejemplo referencias [37, 58, 70, 80]). Existen algunas hipótesis con respecto al proceso de polarización en el rango de frecuencia de esta tesis. Por ejemplo, en [80] los autores adjudican la relajación a diferentes tipos de agua; bulk y más o menos ligada a la molécula de colágeno. En cuanto a la relación del colágeno con el grado de mineralización de la matriz ósea, existen trabajos que pueden dar alguna idea de cual es el fenómeno que ocurre. En trabajos previos de nuestro laboratorio [37], fueron estudiadas las propiedades de polvo hidratado de colágeno. Cambiando el contenido de agua se identificó un proceso de polarización con frecuencia de relajación entre 300 y 400MHz. Debido al cambio en la frecuencia de relajación con el cambio de contenido de agua se concluyó que el origen de esta polarización se podría deber a la distribución de carga en las cadenas laterales de la molécula de colágeno. De esta manera, se puede observar un mecanismo de polarización que es sensible a cambios en la rigidez del medio. Al comparar huesos bovinos en estado natural y completamente desmineralizado [44] también resultó en valores similares en cuanto a la frecuencia de relajación, del orden de 400 y 200MHz, respectivamente. Al observarse los valores de $\Delta\epsilon$ de la región mencionada, se concluyó que la eliminación de calcio podría incrementar la libertad de las cadenas laterales del colágeno y de esta manera aumentar su contribución a la permitividad dieléctrica. Al aumentar el momento de inercia de las moléculas, se reduciría la frecuencia característica.

Algunos trabajos recientes [15] se encontraron correlaciones entre las propiedades mecánicas y el entrecruzamiento inter-molecular del colágeno. Es decir, los autores observaron que combinando la densidad mineral con unos parámetros relacionados con el entrecruza-

miento del colágeno se obtenían mejores predicciones de las propiedades mecánicas. Esto es interesante, porque paralelamente Marzec y otros [58] evalúan la posibilidad de predecir el “grado” de entrecruzamiento en una matriz de colágeno mediante la medición de propiedades dieléctricas.

Capítulo 4

Mediciones de Ultrasonido

Como un complemento a las mediciones dieléctricas y de densidad mineral implementadas en esta tesis, la evaluación de las propiedades de ultrasonido (US) del tejido óseo constituyen una manera de estimar el comportamiento biomecánico de una forma más directa. De hecho el ultrasonido es una onda mecánica.

En este capítulo se comentarán las motivaciones que llevaron al estudio de las propiedades de US en esta tesis. Se hará una breve reseña sobre la aplicación de US en tejidos biológicos junto con las dos técnicas implementadas: transmisión y reflexión. Finalmente se revisará el estado actual de las mediciones de US en hueso trabecular, en particular.

4.1. ¿Por qué?

Hasta hace poco tiempo las mediciones de US en aplicaciones clínicas se consideraban efectivas sólo en ciertas regiones del cuerpo como tobillo y mano (ver Fig.4.1). Más recientemente se ha agregado el fémur proximal [7]. Los parámetros que se observan tal como se apuntó en el Capítulo 1 son: la velocidad del sonido en el hueso (sus siglas en inglés SOS) y la atenuación lineal que sufre la onda acústica en el mismo, denominado nBUA. Estos dos parámetros constituyen datos complementarios a la medición de la densidad mineral ósea. Esto es así, porque en los estudios que avalan estas aplicaciones se buscó la correlación entre DMO y SOS o nBUA.

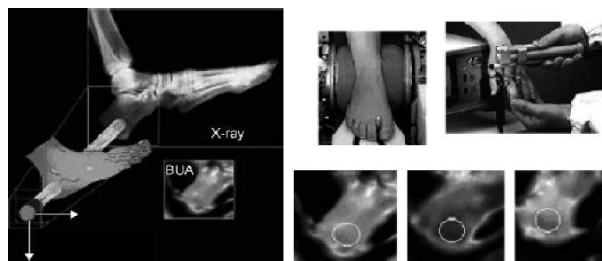


Figura 4.1: Mediciones clínicas de US. Extraído de [53]

Una motivación más que interesante que existe en el estudio del ultrasonido en huesos, es la naturaleza mecánica involucrada. Es bien sabido que en materiales homogéneos la velocidad del sonido es directamente proporcional al módulo elástico. Por otro lado, aunque se conoce que la atenuación en tejidos óseos está altamente correlacionada con la densidad mineral, los fenómenos físicos involucrados no están del todo explicados.

Si bien todavía no es de aplicación clínica, otro punto interesante es la posible evaluación de estructura mediante métodos de backscattering (ver por ejemplo [10]).

4.2. Reseña sobre US

Por ultrasonido se entiende toda aquella vibración mecánica con frecuencias mayores a las audibles por el humano (mayores que 20KHz). Estas vibraciones producen compresiones y decompresiones en las partículas acústicas formando una onda que se propaga en el medio. Distinto a lo que ocurre con las ondas electromagnéticas, en las ondas acústicas no puede haber propagación en el vacío. Las frecuencias usadas en ultrasonido varían según la aplicación, por ejemplo: para detección de submarinos se utilizan frecuencias del orden de los 30kHz , en la industria, para la evaluación de metales y soldaduras, por encima del MHz . En aplicaciones médicas se usan frecuencias de que van de 1MHz a 10MHz [45] aunque algunas aplicaciones recientes de imágenes de piel o imágenes intravasculares de vasos sanguíneos utilizan entre $20 - 30\text{MHz}$. En la llamada biomicroscopía de ojo el rango va de 50 a 100MHz y lo que se conoce como microscopía acústica, que se usa en la caracterización de muestras muy finas, va desde 1 a 2GHz

Las ondas de ultrasonido (también llamadas ondas de presión) se pueden propagar de diferentes maneras:

- Ondas longitudinales: la oscilación de las partículas es en la misma dirección que la propagación de la onda. Este es el único modo por el cual existe transmisión en los líquidos y el más comúnmente utilizado en los tejidos.
- Ondas transversales: Si el medio es capaz de transmitir esfuerzos de cizalladura, lo que ocurre en la mayoría de los sólidos, las partículas pueden oscilar también en dirección transversal de la propagación de la onda.
- Ondas de Rayleigh: se propagan solamente en la periferia plana o curva de un sólido semi-infinito, siguiendo las irregularidades de la superficie del mismo.
- Ondas de Lamb: si el sólido semi-infinito se reduce en espesor, se obtiene una “chapa” en la que la onda puramente de superficie ya no puede existir como tal, a no ser que su longitud de onda sea considerablemente inferior.

Idealmente las ondas longitudinales y transversales se transmiten en medios infinitos. Si el medio es limitado, se producen reflexiones y refracciones en las superficies y como consecuencia estas alteraciones aparecen otros tipos de ondas.

Entre los parámetros generales que describen una onda se encuentran: la velocidad (c),

frecuencia (f), longitud de onda (λ) y su amplitud (A). Esta última, que para ser más específicos se denomina amplitud máxima de oscilación, se define como el desplazamiento máximo de una partícula de su posición cero. En cuanto a los parámetros particulares de las ondas sónicas, se encuentran la presión acústica y la velocidad instantánea de vibración. Para la primera, es evidente que en los puntos de gran densidad de partículas la presión es mayor que la presión en estado de reposo, mientras que en las zonas dilatadas es menor, entonces es necesario definir la presión instantánea P . La velocidad instantánea V es la propia de la partícula en su movimiento oscilatorio. La relación existente entre estos últimos se denomina *impedancia acústica* (Z):

$$P = \rho cV = ZV \quad (4.1)$$

donde ρ es la densidad del material. Esta relación es estrictamente válida para ondas planas cuyas crestas están en planos perpendiculares a la dirección de propagación [51].

Se define también la *intensidad* I como la energía que lleva la onda ultrasónica. Usualmente se toma la energía que pasa por unidad de área (1cm^2) por unidad de tiempo y se conecta con los parámetros anteriores mediante:

$$I = \frac{P^2}{2Z} \quad (4.2)$$

En US se denomina superficie límite a aquella que separa dos medios con propiedades elásticas diferentes. Entonces, por ejemplo, si un material se encuentra rodeado de vacío, la onda se reflejará en la superficie y retornará. Si por el contrario a ese material hay otro adherido, la onda se propagará más o menos alterada en dirección, intensidad y modo. En el caso de una onda plana incidiendo de manera ortogonal en una superficie plana que separa dos medios diferentes, una parte se refleja y vuelve en la misma dirección y otra se propaga manteniendo además el sentido. Se puede definir entonces los coeficientes de reflexión (R) y transmisión (T):

$$R = \frac{I_r}{I_i} \quad \text{y} \quad T = \frac{I_t}{I_i} \quad (4.3)$$

donde los subíndices i , r y t significan incidente, reflejada y transmitida. Haciendo el balance de energía se sabe que $R + T = 1$ y teniendo en cuenta la Ec. 4.2, se llega a:

$$R = \left(\frac{Z_2 - Z_1}{Z_2 + Z_1} \right)^2 \quad \text{y} \quad T = \frac{4Z_2Z_1}{(Z_2 + Z_1)^2}. \quad (4.4)$$

Cuando la incidencia no es normal se obtienen las siguientes ecuaciones:

$$R = \left(\frac{Z_2 \cos \theta_2 - Z_1 \cos \theta_1}{Z_2 \cos \theta_2 + Z_1 \cos \theta_1} \right)^2 \quad \text{y} \quad T = \frac{4Z_2Z_1 \cos \theta_2 \cos \theta_1}{(Z_2 \cos \theta_2 + Z_1 \cos \theta_1)^2}. \quad (4.5)$$

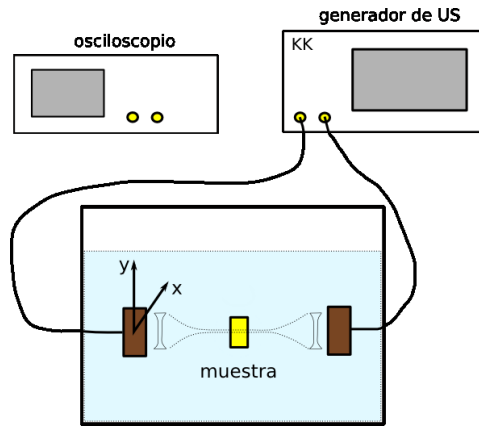


Figura 4.2: Esquema del sistema de medición de las propiedades de ultrasonido por transmisión.

4.3. Mediciones de US

4.3.1. Transmisión

Las mediciones por transmisión de US en general son llevadas a cabo mediante el *método de sustitución* [11]. En la Fig.4.2 se muestra un esquema del sistema de medición. El sistema consiste en dos palpadores (transductores, piezo eléctricos), transmisor y receptor montados coaxialmente separados por el doble de su distancia focal. La muestra se coloca, entonces, en el centro de los transductores. Tanto los palpadores como la muestra se encuentran sumergidos en una cuba de agua (o como es nuestro caso en particular en PBS). En este tipo de metodologías se emite un pulso por el palpador T (una onda acústica longitudinal) que incide de manera normal a la muestra y la onda transmitida es recibida por el palpador R. Para desafectar las transferencias tanto de los palpadores como del equipo de medición etc, primero se mide el pulso sin la muestra y se obtiene la señal de calibración o referencia, cuyo espectro tiene la siguiente forma:

$$A^r(f) = A_0(f) A_d^r(f) \quad (4.6)$$

donde $A_0(f)$ es la transferencia de la instrumentación, esto incluye: el espectro de la señal eléctrica que se aplica al palpador T, y las transferencias de los palpadores T y R. $A_d^r(f)$ es la función de transferencia del efecto del paso de la onda por el PBS (difracción). En este experimento se supone despreciable la atenuación que sufre la onda en el medio (PBS). Si la onda acústica atraviesa una muestra de ancho ℓ entonces el espectro de la señal recibida será:

$$A(f) = A_0(f) T(f) A_d(f) e^{-\alpha(f)\ell} \quad (4.7)$$

donde $A_d(f)$ y $\alpha(f)$ representan la difracción y la atenuación en la muestra, respectivamente. $T(f)$ es el producto de los coeficientes de transmisión de las interfaces PBS-muestra y muestra-PBS (o la referencia). Si se conocen las impedancias acústicas (Z) de ambos

miembros tomará la forma:

$$T(f) = \frac{4Z_r \cdot Z(f)}{[Z_r + Z(f)]^2}, \quad (4.8)$$

donde $Z_r = \rho_r V_r$ y $Z(f) = \rho V(f)$, son las de la referencia y la muestra, respectivamente. ρ_r y ρ , son las densidades del medio y la muestra, y V_r y $V(f)$ las respectivas velocidades. Los dos parámetros más utilizados para la generación de imágenes de US, como se adelantó en la sección 4.2, son la velocidad del sonido (*SOS*) y el *nBUA* (de sus siglas en inglés normalized broadband ultrasonic attenuation, se lo denomina normalizado porque se lo divide por el ancho de la muestra). De acuerdo con el desarrollo que se hizo en los párrafos anteriores, se podría obtener entonces el *nBUA*, que define como la pendiente del *coeficiente de atenuación* ($\alpha(f)$) cuando se grafica en función de la frecuencia f (si nos referimos al parámetro clínicamente aceptado deberíamos restringirnos entre 0,2 y 0,8MHz). En lo que sigue se detallarán algunas aproximaciones necesarias para la obtención del *nBUA*, más adelante nos referiremos al cálculo de *SOS*.

Si se realiza el cociente entre las ecuaciones 4.7 y 4.6, se desafectan las transferencias de los palpadores. Al logaritmo natural del módulo de este cociente se lo suele llamar *atenuación aparente* y se lo denota $\hat{\alpha}(f) \cdot \ell$:

$$\hat{\alpha}(f) \ell = \text{Ln} \left(\frac{|A^r(f)|}{|A(f)|} \right) = \alpha(f) \ell + \underbrace{\text{Ln} \left(\frac{|A_d^r(f)|}{|A_d(f)|} \right)}_{\text{pérdidas por difracción}} - \underbrace{\text{Ln} (|T(f)|)}_{\text{pérdidas por transferencia}} \quad (4.9)$$

y a $\hat{\alpha}(f)$ se lo denomina coeficiente de atenuación aparente.

Según la Chaffaï et al. [11], si una onda acústica que viaja por un fluido atraviesa un hueso poroso saturado en fluido (que es nuestro caso) las *pérdidas por transferencia* son menores que el 1%, ya sea por reflexión o por conversión de modo. En otras palabras, la mayoría de la energía incidente se transfiere como una onda rápida longitudinal. Esto sugiere que las pérdidas por cambio de impedancia acústica son despreciables. Por otro lado, para tener en cuenta las *pérdidas por difracción* es posible realizar una corrección teórica de los espectros medidos, tanto de la referencia como el de la muestra (ver [94]). Sin embargo en el trabajo de Droin et al. [19] se realizó un estudio particular en hueso trabecular y, para las velocidad del sonido en hueso (del orden de 1500 a 1650m/seg), los errores cometidos en el coeficiente de atenuación debido a la difracción están por debajo de los $\pm 0,05dB/cm$ y por lo tanto pueden ser despreciadas.

En cuanto al otro parámetro (*SOS*), se han intentado obtener estimas robustas a través de sucesivos trabajos [18, 19, 92] logrando en algunos casos resultados interesantes. Wear en [92] realiza un estudio teniendo en cuenta sonómetros clínicos comerciales, en el que se detallan los inconvenientes que existen en cada uno de los enfoques y el por qué de las discrepancias en los valores publicados. Existen dos enfoques para el cálculo de este parámetro, en *dominio de tiempo*, utilizando “marcadores” en la forma de onda temporal y en frecuencia, observando la velocidad de fase. En la Fig.4.3 se muestra una señal típica con los marcadores para la medición en tiempo de la velocidad del sonido. Una vez que se obtiene ese marcador, se toma la diferencia del tiempo de vuelo con un medio de referencia

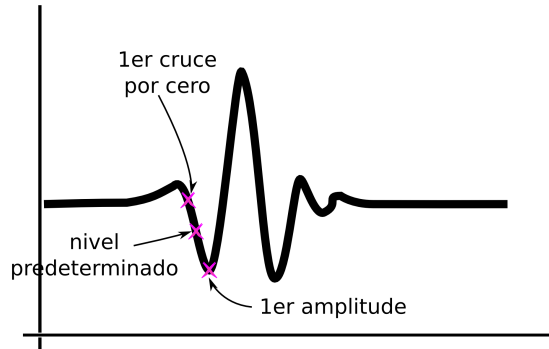


Figura 4.3: Cálculo de la velocidad del sonido en hueso.

(la llamaremos Δt), en general es agua o PBS. Entonces se obtiene la siguiente expresión:

$$SOS = \frac{V_r}{1 + \frac{V_r \Delta t}{\ell}} \quad (4.10)$$

donde V_r y ℓ son la velocidad de sonido en la referencia (agua o PBS) y el ancho de la muestra, respectivamente.

En tejido óseo, las mediciones en tiempo de SOS se ven afectadas principalmente por la alta atenuación lineal y por la difracción. Por esta razón, en algunos trabajos, se utiliza también el enfoque en el dominio de la frecuencia (medición de la velocidad observando la fase, ver por ejemplo [92]). En un trabajo publicado recientemente [18] se utilizó un enfoque diferente a los clásicos utilizando la transformada wavelet continua. El tiempo de vuelo se calcula entonces observando un gráfico tiempo-frecuencia de la señal, de tal manera de obtener el máximo coeficiente (en valor absoluto) de la transformada (denominado comúnmente C_{ab} , donde a y b son análogos a la frecuencia y al tiempo)¹.

4.3.2. Reflexión: Backscattering

Lo interesante en las medidas por reflexión es que se utiliza un solo palpador, aunque más interesante aún es que se pueden obtener parámetros de micro-estructura. Esto es, las partículas dispersoras, en el caso del hueso trabecular, serían las trabéculas y según Chaffai et al. [10] se puede obtener información del ancho de trabécula y número de trabéculas (densidad). Si bien la aplicación clínica en huesos todavía no es corriente, existe un gran interés en obtener modelos adecuados capaces de relacionar; tamaño, separación, orientación, etc de las partículas dispersoras (ver por ejemplo: [9, 71, 93]).

Contrariamente a lo que ocurre en las mediciones por transmisión, en general no hay acuerdo total en la literatura sobre cuál es el parámetro a observar en mediciones por reflexión. Entonces aparecen definiciones tales como: (broadband ultrasonic backscatter, *BUB* [39]),

¹Esta metodología no será comentada en esta tesis, el procedimiento es similar al utilizado en [18].

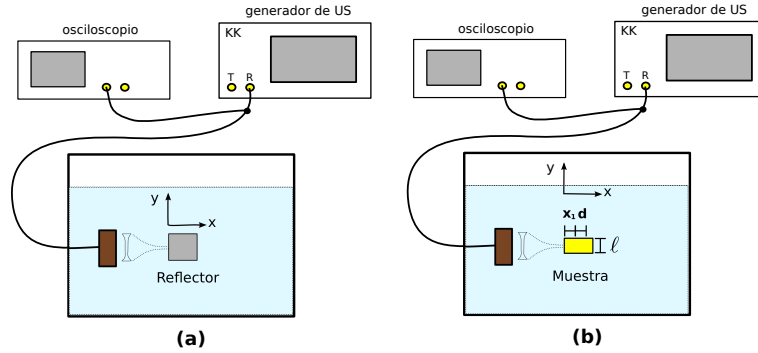


Figura 4.4: Experimento de reflexión: backscattering. a) Primero se mide un reflector perfecto y luego se compara con la muestra (b).

(integrated reflection coefficient, IRC [39]), (apparent integrated backscatter, AIB [42]). En el desarrollo que sigue los iremos definiendo a medida que aparezcan.

Un diagrama esquemático del experimento se muestra en la Fig.4.4. Se pueden ver nuevamente el palpador (ahora en una configuración pulso-eco) y la muestra sumergidos en la cuba de agua o PBS. La muestra se coloca a la distancia focal del transductor. De nuevo se supone despreciable la atenuación en el líquido. El método utilizado también se denomina de *sustitución* dado que, para desafectar la transferencia del palpador, se coloca primero una pieza de acero inoxidable (o alguna referencia estándar) a la distancia focal y se “deconvoluciona”² con la señal reflejada en la muestra de interés. Esta deconvolución se realiza de forma análoga a la sección 4.3.1, transformando las señales al dominio de la frecuencia. Observando el haz sónico en la Fig.4.4, aunque es esquemática, no es difícil pensar que la región de sensado no está determinada claramente. Para salvar este inconveniente se utiliza la denominada Short Fourier transform (SFT) y se observa una ventana temporal en la región de interés, que en principio tendría que ser centrada en la distancia focal. La mayoría de los trabajos utilizan una ventana Hamming que, con una estimación de la SOS en la muestra, se puede dimensionar para sensar la longitud deseada (en la Fig.4.4 esa longitud sería d). Una vez aplicada la SFT en ambas señales, se elevan al cuadrado para el cálculo de los respectivos espectros de potencia y se puede obtener así una estimación del *coeficiente de dispersión aparente*:

$$\hat{\mu}_B(f) = \frac{S_B(f)}{S_r(f)} \quad (4.11)$$

donde $S_B(f)$ y $S_r(f)$ son los espectros de potencia de la muestra y la referencia, respectivamente. Estas estimas se ven afectadas por la *difracción* y *atenuación* que sufre la onda en su recorrido por la muestra. Es importante notar que como se busca caracterizar un propiedad del material, la medición debe ser independiente del *volumen sensado*, por consiguiente este efecto debe ser compensado. En cuanto a la difracción, existen diversas maneras de compensarla, en este desarrollo no se realizará corrección por difracción. Para

²utilizamos este término porque en la literatura es frecuente.

una descripción detallada del tema ver la referencia [71]. Se define entonces el *coeficiente de dispersión* con las correcciones pertinentes de la forma:

$$\mu_B(f) = \widehat{\mu}_B(f) \cdot C(f, x) \cdot F_{vol}(f) \quad (4.12)$$

donde $C(f, x)$ y $F_{vol}(f)$ son las correcciones por atenuación y volumen, respectivamente. La corrección debido al volumen se detalla en [89]. Brevemente,

$$F_{vol}(f) = \frac{k^2 a^2}{8\pi d \left[1 + \left(\frac{ka^2}{4F} \right)^2 \right]} \quad (4.13)$$

donde a es el radio del palpador y F es la distancia focal. Este término asume que el perfil de directividad del palpador (en la región de sensado) es gaussiano y que la longitud de correlación de las partículas dispersoras son mucho más pequeñas que el radio del palpador y que el ancho del haz sónico. El factor $C(f, x)$ se obtiene siguiendo el razonamiento de [62]:

$$C(f, x) = \frac{4\alpha(f) d \cdot e^{4\alpha(f)(x_1 - \frac{d}{2})}}{1 - e^{-4\alpha(f)d}}. \quad (4.14)$$

En la Fig.4.4 se muestran las definiciones x_1 y d para este caso. La Ec.4.14 depende de la atenuación, que puede ser obtenida por transmisión o bien a partir del siguiente razonamiento. Supongamos que se expresa el espectro de potencia mediante:

$$S_B(f) = B(f) e^{-2\alpha(f)2z_1} \quad (4.15)$$

donde $B(f)$ contiene la información de la transferencia debido a la dispersión y que por lo tanto no depende de la atenuación. Por esta razón se puede aplicar logaritmo a la Ec.4.15 y si esto se hace para varias distancias z_1 conocidas, se puede construir una recta y estimar por regresión lineal $\alpha(f)$.

A continuación se resumen los parámetros más frecuentemente hallados en la literatura.

- Broadband Ultrasonic Backscatter (*BUB*), se mide en [dB] y se calcula de la siguiente manera:

$$BUB_{dB} = \frac{\int_{f_{min}}^{f_{max}} [\mu_B(f)]_{dB} df}{f_{max} - f_{min}} \quad (4.16)$$

- Apparent Integrated Backscatter (*AIB*), se mide en [dB] y en este caso no se hace ninguna corrección:

$$AIB_{dB} = \frac{\int_{f_{min}}^{f_{max}} [\widehat{\mu}_B(f)]_{dB} df}{f_{max} - f_{min}} \quad (4.17)$$

- Integrated Reflection Coefficient (*IRC*), se mide en [dB], pero este parámetro no tiene en cuenta la zona anterior (la de los otros parámetros) sino la interfase PBS-muestra:

$$IRC_{dB} = \frac{\int_{f_{min}}^{f_{max}} [R_{r-h}(f)]_{dB} df}{f_{max} - f_{min}} \quad (4.18)$$

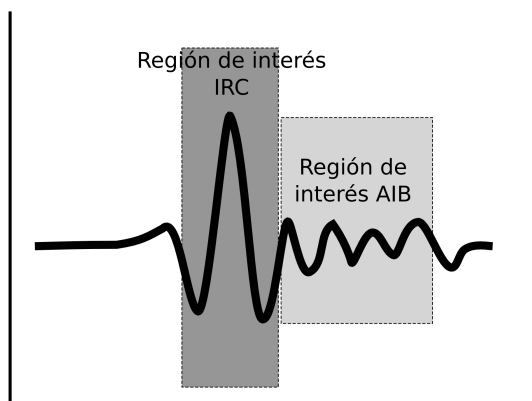


Figura 4.5: Regiones de interés de los parámetros observados en un experimento por reflexión.

donde $R_{r-h}(f)$ es el coeficiente de reflexión de la interfase PBS / muestra (es una función de las impedancias acústicas del PBS y la muestra).

La Fig.4.5 muestra donde se tiene que ubicar las ventanas para observar cada parámetro mencionado en la región de interés.

4.4. Ultrasonido en tejido óseo

La interacción entre las ondas ultrasónicas y los tejidos biológicos no está totalmente explicada. Si bien en general hay coincidencia en la literatura sobre la dependencia aproximadamente lineal de la atenuación con la frecuencia, el mecanismo físico que hay detrás no es del todo conocido. Existen algunas proposiciones en las cuales se sugiere explicarlo con la relajación mecánica a escala macromolecular, tal como en el caso de la espectroscopía dieléctrica pero no están del todo aceptadas (ver por ejemplo [35]).

Un factor limitante entonces en las mediciones de US es la atenuación que sufre la onda al penetrar el tejido, y como se dijo antes es mayor a medida que aumento la frecuencia. En el caso del hueso la atenuación es más alta que en los tejidos blandos y por eso el rango de frecuencias típicas es de 0.5 a 1MHz.

En el caso del hueso trabecular, la situación es todavía más compleja que para tejidos blandos. La interacción viscosa entre la matriz mineralizada y los fluidos (grasa, médula ósea, etc) puede contribuir significativamente a la absorción. También existen conversiones de modo que a su vez contribuyen a la atenuación.

Los valores publicados en hueso trabecular son bastante disímiles, esto se debe principalmente a la diversidad biológica, la orientación de la medición, los métodos experimentales utilizados, preparación de la muestra, etc. Tomando el caso de mediciones por transmisión la Tabla 4.1 presenta los parámetros SOS y $nBUA$ junto con las respectivas DMO por unidad de área o volumétrica. La mayoría de los grupos coinciden en realizar las mediciones

Cuadro 4.1: Valores medidos por transmisión hallados en la literatura.

$BMD [g/cm^3]$	$BMD [g/cm^2]$	$nBUA [dB/MHzcm]$	$SOS [m/seg]$	Referencia
200.7	-	12.4	1516	[10]
123.7	-	18.83	1529	[64]
-	0.828	-	1515-1589	[38]
-	0.85-0.83	-	1561-1585	[18]
0.225	-	13.1	2005	[39] ^a
-	-	5-30	1600-3500	[42] ^b

^aEstas mediciones fueron realizadas en muestras con grasa y en PBS.

^bEstas mediciones fueron realizadas en muestras con grasa, en solución salina y a frecuencias mayores que $1MHz$

Cuadro 4.2: Valores de los parámetros medidos por reflexión hallados en la literatura.

$BUB [dB]$	$AIB [dB]$	$IRC [dB]$	Referencia	$f [MHz]$
$-22,8 \pm 4,9$	-	$-20,8 \pm 3,6$	[39]	1
$-12,32 \pm 5,66$	-	-	[64]	0.4-1.2
$-12,32 \pm 6,0$	-	-	[10]	0.5
-	$[-42, -34]$	-	[42]	1.0-3.0 ^a

^aEstas mediciones fueron realizadas en muestras con grasa.

sobre las muestras desgrasadas, sino se aclara lo contrario esa es la situación.

La Tabla 4.2 resume algunos valores encontrados en la literatura que fueron obtenidos por reflexión. Existe una gran cantidad de trabajos que se ocupan de la búsqueda de modelos teóricos que representen una configuración pulso-eco, para de esta manera tener alguna información del tamaño, orientación, etc de las partículas dispersoras (ver por ejemplo la referencia [9]).

Capítulo 5

Identificación de Sistemas

En este capítulo se introducirán algunas formas de obtener modelos matemáticos de sistemas dinámicos basados en mediciones sobre el sistema. El capítulo está dividido en tres partes: introducción a los sistemas dinámicos, introducción a identificación de sistemas y finalmente un testeo de los algoritmos desarrollados mediante simulación. Las introducciones, tanto a sistemas dinámicos como a la identificación, estarán dirigidas al problema que se busca resolver: modelar la respuesta dieléctrica del tejido óseo.

Tal como se vio en el capítulo 3 las aproximaciones empíricas permiten obtener un modelo de función de transferencia que relaciona la señal aplicada con la medición de la muestra. Ahora bien, en el caso de una respuesta Debye (ver sección 3.2.3) la frecuencia aparece elevada a una potencia entera. En cualquier otro tipo de dieléctrico la frecuencia aparecerá elevada a un número no entero lo que resulta en un *sistema dinámico fraccionario*. Este capítulo comienza con una introducción a sistemas dinámicos en su representación como función de transferencia y luego una breve introducción a los sistemas de orden fraccionario. Se estudiarán algunas formas de obtener modelos matemáticos a partir de mediciones sobre el sistema. Por definición esto es lo que se conoce como *Identificación de Sistemas*. Los modelos físicos de sistemas dinámicos de interés en esta tesis son de tiempo continuo (TC). En la identificación de sistemas existen dos aproximaciones para la obtención de modelos de TC: indirecta y directa. En la primera, se obtiene un modelo discreto a partir de los datos y luego se lo transforma a continuo. En cambio en el enfoque directo se obtiene el modelo continuo a partir de los datos. Se comentará la identificación en tiempo discreto (TD) utilizando bases ortogonales discretas, que es un método indirecto. Luego se continuará con la aproximación directa, identificando el sistema en TC. Cerrando el tema de introducción a la identificación y lo que es un aporte significativo de esta tesis, se mostrarán algunos resultados utilizando identificación de sistemas fraccionarios en TC. Finalmente se observará el comportamiento de los métodos anteriores mediante la simulación en los sistemas de interés.

A lo largo de este capítulo se desarrollarán ejemplos de ejemplificación desarrollados por el autor de esta tesis. Los ejemplos se encuentran en letra *cursiva (itálica)*.

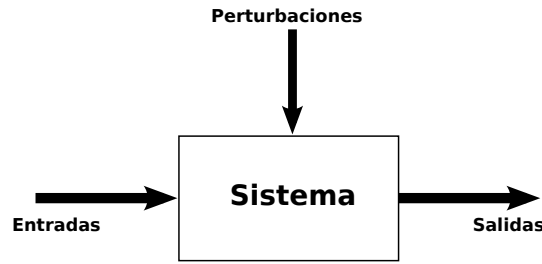


Figura 5.1: Sistema dinámico.

5.1. Introducción a Sistemas Dinámicos

De manera general se puede decir que un *sistema* es un objeto en el cual interactúan variables y produce señales observables. Estas señales son usualmente llamadas *salidas* ($y(t)$) y los estímulos externos que puede manejar un observador se denominan *entradas* ($u(t)$). Existen otros estímulos externos que no pueden ser controlados por el observador que se denominan *perturbaciones* (ver Fig.5.1), se representarán mediante $\xi(t)$. En un *sistema dinámico* el valor de la señal de salida en un instante depende, no sólo de los estímulos en ese instante, sino también de los estímulos anteriores. Un sistema se denomina *estacionario* si la respuesta del sistema a una misma entrada es la misma independientemente del instante en que se la aplica. Un sistema se dice *causal* cuando las salidas no dependen de estímulos futuros.

Un sistema *lineal* es aquél en cual se cumple el principio de superposición, es decir, que la respuesta a una combinación lineal de una serie de entradas dadas se corresponden con la combinación lineal de las salidas individuales respectivas. En lo que sigue se extenderá este concepto y los modelos y formas de representar un sistema lineal (para una descripción detallada ver las referencias [55]). También se comentará sobre los sistemas de orden fraccionario, motivados por las Ecs.3.15-3.18 en las cuales aparecen ordenes de derivación no entera [91].

5.1.1. Sistemas lineales

Un sistema continuo, lineal, invariante en el tiempo y estacionario puede ser completamente descrito por su respuesta al impulso ($g(t)$), dado que la respuesta a un estímulo cualquiera puede ser calculada por:

$$y(t) = g(t) * u(t) = \int_{-\infty}^{\infty} g(\tau) u(t - \tau) d\tau. \quad (5.1)$$

Cuando se observan principios físicos es habitual obtener representaciones en ecuaciones diferenciales. Una manera alternativa de representar el sistema anterior es:

$$\frac{d^n y(t)}{dt^n} + a_1 \frac{d^{n-1} y(t)}{dt^{n-1}} + \dots + a_n y(t) = b_0 \frac{d^m u(t)}{dt^m} + b_1 \frac{d^{m-1} u(t)}{dt^{m-1}} + \dots + b_m u(t) \quad (5.2)$$

donde a_i y b_i son coeficientes reales, m y n son números enteros. Esta ecuación puede ser escrita de la siguiente manera:

$$A(p)y(t) = B(p)u(t) \quad (5.3)$$

donde:

$$\begin{aligned} A(p) &= p^n + a_1p^{n-1} + \dots + a_n \\ B(p) &= b_0p^m + b_1p^{m-1} + \dots + b_m, \quad n \geq m \end{aligned}$$

donde p denota el operador derivada, por ejemplo: $px(t) = \frac{dx(t)}{dt}$. Operando con la Ec. 5.3 se llega a:

$$y(t) = \frac{B(p)}{A(p)}u(t) = G(p)u(t). \quad (5.4)$$

En los razonamientos anteriores el único tipo de estímulo externo que se ha tenido en cuenta son las entradas. Para considerar las perturbaciones se puede pensar el siguiente modelo (conocido también como modelo de *error de ecuación* [56, 57, 96]):

$$A(p)y(t) = B(p)u(t) + v(t) \Rightarrow y(t) = G(p)u(t) + \xi(t) \quad (5.5)$$

en el cual $\xi(t) = \frac{1}{A(p)}v(t)$ representa las perturbaciones o errores de toda naturaleza. La fuente de $\xi(t)$ pueden ser: errores de medición, perturbaciones, dinámica no modelada o combinaciones de estos factores. La igualdad de derecha de la Ec. 5.5 es llamada modelo de *error de salida*. Aquí, $G(p)u(t)$ representa la salida libre de ruido. Una característica importante de ambos modelos (*error de ecuación* y *error de salida*) es que $v(t)$ o $\xi(t)$ no se conocen de antemano. Existen dos enfoques para su caracterización: el *determinístico* (por ejemplo: se asume que esta señal está acotada) y el *probabilístico*. En este último caso se asume que $\{\xi(t)\}$ es un proceso estocástico continuo¹.

Por otro lado, si se toma la transformada de Laplace a la Ec. 5.2 se obtiene la representación en *función de transferencia*:

$$Y(s) = G(s)U(s) \quad (5.6)$$

donde $Y(s)$ y $U(s)$ son las transformadas de Laplace de la salida y la entrada, respectivamente y

$$G(s) = \frac{b_0s^m + b_1s^{m-1} + \dots + b_m}{s^n + a_1s^{n-1} + \dots + a_n}. \quad (5.7)$$

La Ec. 5.7 es una función racional de polinomios de s elevado a potencias enteras. Se obtuvieron hasta ahora algunas representaciones de sistemas dinámicos en TC. La Ec. 5.1 representa al sistema mediante la respuesta al impulso y la Ec. 5.4 lo hace utilizando el operador derivada. Por su parte en la Ec. 5.5 tenemos en cuenta la perturbación. Por último se mostró la representación en función de transferencia. Una descripción más detallada se puede encontrar en las referencias [32].

¹más adelante se explicará con más detalle las implicancias teóricas y algunas formas de salvar este inconveniente

Ejemplo 1. Dieléctrico tipo Debye como sistema

En el capítulo 3 se llegó a la siguiente expresión (Ec. 3.26):

$$\int_0^t f_3(t') dt' = \int_0^t \left[K + \frac{\epsilon_\infty}{F} \delta(t-t') + \frac{1}{F} \dot{\varphi}(t-t') \right] f_2(t') dt' \quad (5.8)$$

Esta ecuación se puede considerar como un sistema dinámico continuo e invariante en el tiempo tomando lo que está entre corchetes como la respuesta al impulso. Aplicando la transformada de Laplace se tiene una representación similar a la Ec. 5.6:

$$G(s) = \frac{\epsilon(s)}{F} + \frac{K}{s} = \frac{F_3(s)}{sF_2(s)} \quad (5.9)$$

donde $F_2(s)$ y $F_3(s)$ son las transformadas de Laplace de $f_2(t)$ y $f_3(t)$, respectivamente. Suponiendo que se toma un dieléctrico Debye puro entonces:

$$\epsilon(s) = \epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{\left(1 + \frac{s}{\omega_r}\right)} \Rightarrow G(s) = \frac{1}{F} \left(\epsilon_\infty + \frac{\Delta\epsilon}{\left(1 + \frac{s}{\omega_r}\right)} \right) \quad (5.10)$$

suponiendo $K = 0$ (esto es $f_3(\infty) = 0$) y expresado en la forma de la Ec. 5.7, queda:

$$G(s) = \frac{b_0 s + b_1}{s + a_1} \quad (5.11)$$

donde:

$$b_0 = \frac{\epsilon_\infty}{F} \quad b_1 = \frac{\epsilon_0 \omega_r}{F} \quad a_1 = \omega_r$$

La representación de sistemas lineales que ha tenido más desarrollo en métodos de identificación, es la de sistemas de TD. En este caso el sistema será completamente descrito mediante la ecuación:

$$y(t_n) = \sum_{k=-\infty}^{\infty} g_d(t_k) u(t_n - t_k) \quad (5.12)$$

que es equivalente a la Ec.5.1 para sistemas de TC y las señales muestreadas se denotan $\{u(t_k); y(t_k)\}$. La Ec.5.2 se transforma en una ecuación en diferencias y la parametrización del modelo teniendo en cuenta una perturbación estocástica discreta ($\xi(t_k)$) deviene en:

$$y(t_k) = G_d(q^{-1}) u(t_k) + \xi(t_k) = \frac{B_d(q^{-1})}{A_d(q^{-1})} u(t_k) + \frac{1}{A_d(q^{-1})} v(t_k) \quad (5.13)$$

donde:

$$\begin{aligned} A_d(q^{-1}) &= 1 + a_1q^{-1} + \dots + a_{n_a}q^{-n_a} \\ B_d(q^{-1}) &= b_1q^{-1} + \dots + b_{n_b}q^{-n_b}. \end{aligned}$$

El operador q^{-1} equivale al retardo de una muestra, por ejemplo: $q^{-1}x(t_k) = x(t_{k-1})$. Cabe aclarar que los coeficientes a_i y b_i de la Ec.5.13 no son los mismos que los de la Ec.5.3. La transformada Z nos da una función de transferencia discreta del sistema anterior:

$$Y(z) = \frac{b_1z^{-1} + \dots + b_{n_b}z^{-n_b}}{1 + a_1z^{-1} + \dots + a_{n_a}z^{-n_a}}U(z) + \xi(z). \quad (5.14)$$

5.1.2. Sistemas lineales de orden fraccionario

Como motivación del uso de este tipo de aproximación de reciente aplicación en el área del sistemas [78], se comenzará desarrollando un ejemplo con un dieléctrico particular.

Ejemplo 2. Sistema fraccionario: dieléctrico Cole-Cole

En el ejemplo 1 se utilizó un dieléctrico tipo Debye. Si en cambio el dieléctrico es de tipo Cole-Cole en lugar de la Ec. 5.11 para la función de transferencia tendremos:

$$G(s) = \frac{\frac{\epsilon_\infty}{F}s^{1-\alpha} + \frac{\epsilon_s\omega_r^{1-\alpha}}{F}}{s^{1-\alpha} + \omega_r^{1-\alpha}}. \quad (5.15)$$

En la Ec. 5.15, s aparece elevada a una potencia no entera y por definición de transformada de Laplace se sabe que:

$$\mathcal{L}\{D^\nu x(t)\} = s^\nu X(s) \quad (5.16)$$

donde $x(t) = 0 \forall t < 0$, $\nu \in \mathbb{R}^+$ y D^ν denota la derivada fraccionaria, esto es, el concepto de derivación aplicado a un orden arbitrario.

$$D^\nu \triangleq \left(\frac{d}{dt}\right)^\nu \quad (5.17)$$

Existen algunas definiciones que permiten calcular la derivada de orden fraccionario. La definición de *Riemann-Liouville*:

$${}_R D^\nu x(t) = \frac{1}{\Gamma(m-\nu)} \left(\frac{d}{dt}\right)^m \left(\int_0^t \frac{x(\tau)}{(t-\tau)^{1-(m-\nu)}} d\tau\right) \quad (5.18)$$

con $t > 0$, $\nu > 0$ y $m = \lfloor \nu \rfloor + 1$. Donde $\lfloor \bullet \rfloor$ significa parte entera de \bullet . Cuya transformada de Laplace es:

$$\mathcal{L}\{{}_R D^\nu x(t)\} = s^\nu X(s) - \sum_{k=0}^{m-1} s^k x^{\nu-k-1}(0) \quad (5.19)$$

siendo $x^\ell(0)$ la derivada de orden ℓ evaluada en el origen. Notar que para calcular estos valores necesitaríamos conocer las derivadas fraccionarias en el origen. Una definición que incorpora las derivadas enteras en el origen es la de *Caputo*:

$${}_C D^\nu x(t) = \frac{1}{\Gamma(m-\nu)} \int_0^t \frac{x^{(m)}(\tau)}{(t-\tau)^{\nu-m-1}} d\tau \quad (5.20)$$

cuya transformada de Laplace es:

$$\mathcal{L}\{{}_C D^\nu x(t)\} = s^\nu X(s) - \sum_{k=0}^{m-1} s^k x^{(k)}(0). \quad (5.21)$$

Existen otras definiciones con diferentes particularidades, para una introducción a las mismas ver referencia [91].

Hasta el momento se definieron algunas herramientas como para comenzar el estudio de ecuaciones fraccionarias en general. Siguiendo el esquema de la Ec. 5.2 la representación de un sistema dinámico, lineal y de orden fraccionario es:

$$D^{\alpha_n} y(t) + a_1 D^{\alpha_{n-1}} y(t) + \dots + a_n D^{\alpha_0} y(t) = b_0 D^{\beta_m} u(t) + b_1 D^{\beta_{m-1}} u(t) + \dots + b_m D^{\beta_0} u(t) \quad (5.22)$$

donde $\alpha_j > \alpha_{j-1}$ y $\beta_j > \beta_{j-1}$. Aplicando transformada de Laplace relajando las condiciones iniciales se llega a una función de transferencias de la forma:

$$G(s) = \frac{b_0 s^{\beta_m} + b_1 s^{\beta_{m-1}} + \dots + b_m}{s^{\alpha_{n-1}} + a_1 s^{\alpha_{n-1}} + \dots + a_n} \quad (5.23)$$

donde α_k y $\beta_k \in \mathbb{R}^+$. En los sistemas de *orden conmensurable* se cumple:

$$\alpha_k, \beta_k = k\nu, \text{ donde } \nu \in \mathbb{R}, k \in \mathbb{Z}.$$

Los sistemas de *orden racional* son aquéllos que, además de ser de orden conmensurable, el número ν es racional ($\nu = \frac{p}{q}$ donde $p, q \in \mathbb{Z}^+$).

Es importante aclarar que para estos sistemas se pueden estudiar condiciones de estabilidad, respuesta al escalón, controlabilidad, observabilidad (ver [91] [78]) y lo que es más importante para el objetivo de esta tesis, cómo aproximar estos sistemas por sistemas lineales [5]. A este punto nos referiremos en la sección 5.6.

5.2. Identificación de Sistemas

Esta técnica se define como el área de la teoría de sistemas que intenta determinar modelos matemáticos particulares a partir de mediciones sobre el sistema. La literatura que aborda este tema es abundante [32, 55, 85].

Un sistema lineal invariante en el tiempo se puede expresar como se indicó en la Ec. 5.5. Se

asume que una señal de entrada $\{u(t), t_1 < t < t_N\}$ es aplicada en ese intervalo de tiempo y muestreada en los instantes t_1, t_2, \dots, t_N . Se denotan los datos como $\{u(t_k); y(t_k)\}$. Entonces, si existen “suficientes” datos experimentales es posible construir modelos matemáticos simples que describan el sistema en un cierto rango de operación. Esto es lo que se conoce como *Identificación de Sistemas*.

El proceso de Identificación de Sistemas se puede resumir como sigue:

- Generación de un conjunto de datos. Lo denotaremos $Z^N = \{u(t_k); y(t_k)\}_{k=1}^{k=N}$.
- Elección de la estructura del modelo.
- Elección del criterio de ajuste entre los datos y el modelo.
- Elección de una forma de evaluar el sistema, proceso conocido como validación del modelo.

Para la *generación de datos*, una condición que debe cumplir la señal de entrada $u(t)$ es lo que se denomina *convergencia de excitación*. La entrada debe ser lo suficientemente rica como para excitar todos los modos dinámicos del sistema. Sólo pueden identificarse los modos que son observables desde las salidas y son suficientemente excitados desde las entradas (i.e., la parte controlable y observable del sistema).

En cuanto a la elección de la estructura de modelo, básicamente, en la identificación de sistemas se suele hablar de modelos de *caja-blanca*, *gris* y *negra*. En los primeros, todos los parámetros del sistema tienen un significado físico. Los modelos tipo *caja-negra* son útiles en los casos en que el sistema a identificar es desconocido o de ecuaciones de muy compleja resolución, como consecuencia los parámetros no tienen significado físico. En esta tesis, cuando se utilicen métodos de identificación de sistemas fraccionarios, se estará aplicando un modelo tipo caja-gris.

De manera general se puede decir que un proceso de estimación del modelo involucra los siguientes pasos. La predicción de la salida del sistema en el instante k viene dada por una función $g(\bullet)$ (llamada predictor) de los datos pasados y de la parametrización específica:

$$\hat{y}(t_k, \theta) = g(\theta, Z^{k-1}). \quad (5.24)$$

donde θ representa el conjunto de los parámetros involucrados.

El procedimiento general en la estimación de un modelo es el siguiente:

1. Formar la secuencia de errores de predicción:

$$\varepsilon(t_k) = y(t_k) - \hat{y}(t_k, \theta) \quad \text{para } k = 0, 1, \dots, N \quad (5.25)$$

2. En algunas circunstancias es conveniente atenuar o resaltar ciertos rangos de frecuencia en el error de predicción, esto se logra mediante un filtrado lineal $F(\bullet)$:

$$\varepsilon_F(t_k) = F(\bullet) \varepsilon(t_k) \quad (5.26)$$

donde \bullet puede ser el operador derivada o retardo según sea continuo o discreta la estimación.

3. Luego se debe aplicar alguna norma y medir la misma, para cuantificar el error de predicción. De esta manera se busca una función escalar positiva $\ell(\bullet)$ del error de predicción filtrado.

$$\ell(\varepsilon_F(t_k)) \quad (5.27)$$

4. El último paso es minimizar con respecto a los parámetros teniendo en cuenta algún criterio, la suma de esas normas para todos los tiempos:

$$\hat{\theta} = \underset{\theta}{\operatorname{argmin}} V_N(\theta) \quad (5.28)$$

donde:

$$V_N(\theta) = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \ell(\varepsilon_F(t_k, \theta)) \quad (5.29)$$

Particularmente, el sistema a identificar en esta tesis se modela como un sistema de tiempo continuo. En general, en la construcción de modelos físicos se utilizan mayormente ecuaciones diferenciales que son inherentemente continuas en tiempo. En identificación de sistemas en el dominio de tiempo existen principalmente dos aproximaciones para obtener un modelo del sistema continuo: la aproximación *indirecta*, primero identifica un modelo discreto para luego convertirlo a continuo, y la aproximación *directa*, en la cual el modelo se identifica directamente en tiempo continuo. En el caso de sistemas continuos de orden fraccionario se tomará solamente el enfoque directo.

A continuación se definirán algunas expresiones que serán útiles para las secciones 5.3 y 5.4 y se comentarán algunos resultados que se obtienen al utilizar un enfoque probabilístico.

5.2.1. Regresor lineal en sistemas lineales

- Aproximación indirecta. En la búsqueda de un modelo discreto que represente los datos muestreados uniformemente se debe optar por una estructura de modelo, tal como se adelantó previamente. Por ejemplo, en el caso que se tome una parametrización de *error de ecuación*, la (Ec.5.13) puede ser reescrita de la siguiente manera:

$$y(t_k) = \varphi^T(t_k) \theta + v(t_k) \quad (5.30)$$

donde:

$$\theta = [a_1 \ a_2 \ \dots \ a_{n_a} \ b_1 \ b_2 \ \dots \ b_{n_b}]$$

$$\varphi^T(t_k) = [-y(t_{k-1}) \ \dots \ -y(t_{k-n_a}) \ u(t_{k-1}) \ u(t_{k-n_b})].$$

En este caso el predictor puede ser:

$$\hat{y}(t_k, \theta) = \varphi^T(t_k) \theta \quad (5.31)$$

escogiendo una norma particular:

$$\ell = (\varepsilon_F(t_k, \theta))^2 \Rightarrow \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N (y(t_k) - \hat{y}(t_k, \theta))^2. \quad (5.32)$$

Esta ecuación es lineal en los parámetros y la estima de mínimos cuadrados es:

$$\hat{\theta}_{LS} = \left[\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi(t_k) \varphi^T(t_k) \right]^{-1} \cdot \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi(t_k) y(t_k). \quad (5.33)$$

Esta estima es un caso particular del método de *error de predicción* (PEM, de sus siglas en inglés), en el cual la solución analítica no existe y se utilizan métodos recursivos.

Si la caracterización de la perturbación es la probabilística, se puede estudiar la consistencia² y la covarianza de la estima de mínimos cuadrados. Para asegurar la consistencia de esta estima se debe cumplir que los procesos sean ergódicos y además que el *regresor* $\varphi(t_k)$ sea no correlacionado con el *ruido* $v(t_k)$. Esto se puede dar si el ruido es blanco *independiente e idénticamente distribuido* (*iid*) o si el vector regresor es una secuencia determinística. Lo anterior puede resumirse en el siguiente lema:

Lema 1. Propiedades estadísticas de la estima de mínimos cuadrados [55, 86]

Dada la estructura de modelo de la Ec. 5.30 se supone que $v(t_k) = e(t_k)$ es ruido blanco con media nula y covarianza σ^2 . Tomando N datos y una realización del ruido v_N , se puede expresar la Ec. 5.30 en forma matricial:

$$Y_N = \Phi^T \theta + v_N \quad (5.34)$$

Se asume también que existe θ_0 (valor verdadero del conjunto de parámetros) y que cumple:

$$Y_N = \Phi^T \theta_0 + v_N \quad (5.35)$$

Entonces:

1. $\hat{\theta}_{LS}^N$ es una estima insesgada de θ_0 , esto significa que $E\{\hat{\theta}_{LS}^N\} = \theta_0$.

Si además los regresores son determinísticos, entonces también se cumple:

2. La estimación de la covarianza da una cuantificación de la incertidumbre de la estima.

$$\text{cov}\{\hat{\theta}_{LS}^N\} = \sigma^2 (\Phi \Phi^T)^{-1} \quad (5.36)$$

²Una estima $\hat{\theta}_N$ se dice *consistente* si se verifica $\hat{\theta}_N \rightarrow \theta_0$ para $N \rightarrow \infty$

3. Y finalmente para obtener una estimación no desviada de σ^2 se debe calcular:

$$\hat{\sigma}_N^2 = \frac{N}{N - n_p} V_N(\theta_{LS}^N) \quad (5.37)$$

donde n_p es la dimensión de θ y $V_N(\theta_{LS}^N)$ se define como en la Ec.5.32.

La demostración de este lema se puede encontrar en las referencias [55, 86].

Entonces según el lema anterior, la única forma de que la estima de mínimos cuadrados sea insesgada es que la perturbación ($v(t_k)$, o en su forma matricial v_N) sea ruido blanco. Se estudiará una forma de relajar esta condición en sistemas de TD en la sección 5.3.1.

Por otro lado, es sabido que existen grandes desventajas en la discretización de sistemas continuos en tiempo. En este caso, el problema más importante es la baja sensibilidad cuando la tasa de muestreo (T_s) es alta. Esto se explica porque el plano \mathcal{Z} es una transformación del plano \mathcal{S} a través de la relación e^{sT_s} . Como consecuencia el plano semi-infinito (todas funciones de transferencia continua) se mapea dentro del círculo unidad y se cumpliría:

$$T_s \rightarrow 0 \Rightarrow z \rightarrow 1. \quad (5.38)$$

Entonces es evidente que no es posible reconstruir el sistema continuo original, al menos cuando el tiempo de muestreo tiende a cero. Para atenuar este efecto no deseado, se suelen tomar diferentes aproximaciones del operador de retardo (q^{-1}), denominados modelos discretos no convencionales (para una discusión detallada del tema ver la referencia [68]). Un enfoque que en los últimos años a tomado cierta preponderancia es el de la aproximación directa.

- Aproximación directa. Como muestra la Ec. 5.5 un sistema continuo puede ser parametrizado con una ecuación de error de salida. Siguiendo un razonamiento similar al anterior se puede llegar a una estima de mínimos cuadrados a partir de la ecuación (súper-índice (n) indica derivada n -ésima):

$$y^{(n)}(t) = \varphi^T(t) \theta + v(t) \quad (5.39)$$

donde:

$$\varphi^T(t) = \begin{bmatrix} \theta = [a_1 & a_2 & \dots & a_{n_a} & b_1 & b_2 & \dots & b_{n_b}] \\ -y^{(n-1)}(t) & \dots & -y(t) & u^{(m)}(t) & \dots & u(t) \end{bmatrix}.$$

La norma a minimizar en este caso puede formularse como sigue:

$$\ell = \int_0^{t_N} (\varepsilon(t, \theta))^2 dt \quad (5.40)$$

donde $\varepsilon(t, \theta) = y^{(n)}(t) - \hat{y}^{(n)}(t)$. Lo que resulta en una estima de mínimos cuadrados continua dada por:

$$\hat{\theta}_{LSC} = \left(\int_0^{t_N} \varphi(t) \varphi^T(t) dt \right)^{-1} \left(\int_0^{t_N} \varphi(t) y^{(n)}(t) dt \right) \quad (5.41)$$

Como se puede ver aparecen las derivadas de la entrada y la salida. Generalmente no se dispone de estos datos razón por lo cual se utilizan algunas estrategias que más adelante se comentarán. Otro punto importante es el modelado del ruido. Existen inconvenientes tanto prácticos como teóricos debido a que se está modelando un proceso estocástico continuo. Pospondremos el estudio de la modelización probabilística y las propiedades estadísticas para la sección 5.3.2.

En lo que sigue en lugar de usar las formas continuas de las Ecs. 5.39-5.41 utilizaremos sus versiones discretas para su cálculo numérico. Es decir, evaluaremos las ecuaciones en un instante de tiempo arbitrario $t = t_k$.

5.2.2. Regresor lineal en sistemas de orden fraccionario

Una forma de obtener una estima de una ecuación similar a la Ec. 5.41 aparece en el trabajo de Malti et al. [56]. Partiendo de la siguiente ecuación diferencial:

$$y(t) + a_1 D^{\alpha_{n-1}} y(t) + \dots + a_n D^{\alpha_0} y(t) = b_0 D^{\beta_m} u(t) + b_1 D^{\beta_{m-1}} u(t) + \dots + b_m D^{\beta_0} u(t) + v(t) \quad (5.42)$$

operando:

$$y(t) = \varphi^T(t) \theta + v(t) = \left[-D^{\alpha_{n-1}} y(t) \quad \dots \quad -D^{\alpha_0} y(t) \quad D^{\beta_m} u(t) \quad D^{\beta_{m-1}} u(t) \quad \dots \quad D^{\beta_0} u(t) \right] \cdot \begin{bmatrix} a_1 \\ \vdots \\ a_n \\ b_1 \\ \vdots \\ b_m \end{bmatrix} + v(t) \quad (5.43)$$

y minimizando una norma similar a la Ec. 5.40, se puede llegar a una estima de mínimos cuadrados. Aquí nuevamente aparecen las derivadas (aunque fraccionarias) de la entrada y la salida. De manera equivalente a como se comentó la sección anterior la solución a este problema se describirá en la sección 5.4.

5.3. Identificación en sistemas lineales

Como se mostró en la sección anterior, la estima de mínimos cuadrados de un sistema discreto es insesgada si el ruido $v(t_k)$ es blanco *independiente e idénticamente distribuido* (*iid*) o si el vector regresor es una secuencia determinística, caso contrario será sesgada. En

la sección 5.3.1 se comentará un método de identificación para sistemas discretos (método indirecto) en el cual el vector regresor es una secuencia determinística, de esta manera la estima es insesgada y robusta al ruido coloreado.

Por otra parte, es sabido que la estima de mínimos cuadrados de TC también es sesgada. En la sección 5.3.2 se justificará esta afirmación y además se corregirá el sesgo mediante la implementación de la estima **Simplified Refined Instrumental Variables** para sistemas Continuous (SRIVC).

5.3.1. Identificación con Bases Ortogonales discretas

Por construcción, como se mostrará más adelante, la descomposición por bases ortogonales determina la naturaleza determinística de los regresores obtenidos, porque éstos no dependen de la salida. En consecuencia, la estima será insesgada. Por otro lado, las estructuras tipo *caja-negra*, como las que se viene trabajando hasta el momento, no permiten incorporar información *a priori* sobre la dinámica del sistema. Las bases ortonormales, salvan esta limitación.

Para describir la descomposición en bases ortogonales de funciones de transferencia discretas del tipo a la introducida en la Ec. 5.14, es necesario primero formular algunos conceptos. Un espacio funcional de *Hilbert* ($\mathcal{H}_2(\mathcal{T})$ dado $\mathcal{T} = \{z : |z| = 1\}$) es un espacio con producto interno completo con respecto a la métrica inducida por la norma. Se asocia este espacio con todas las funciones discretas racionales y causales en el dominio \mathcal{Z} . Una base ortonormal del espacio de Hilbert es tal, si es un conjunto completo, i.e. si verifica:

$$\langle \mathcal{B}_k, \mathcal{B}_\ell \rangle = \delta_{k\ell} \quad (5.44)$$

donde $\delta_{k\ell}$ es la delta de Kronecker y además:

$$\text{span}(\{\mathcal{B}_k(q^{-1})\}_{k=0}^{\infty}) = \mathcal{H}_2(\mathcal{T}) \quad (5.45)$$

esto es, genera todo el espacio. Esto implica que cualquier función perteneciente a ese espacio de Hilbert puede ser representada por una combinación lineal de las bases.

En este contexto se puede pensar el modelo visto en la Ec. 5.13 de la siguiente manera:

$$y(t_k) = G_d(q^{-1})u(t_k) + \xi(t_k) = \sum_{i=0}^{\infty} \mathbf{b}_i \mathcal{B}_i(q^{-1})u(t_k) + \xi(t_k). \quad (5.46)$$

donde los \mathbf{b}_i son los coeficientes en principio desconocidos y $\{\mathcal{B}_i(q^{-1})\}_{i=0}^{\infty}$ son las bases ortogonales.

La estima de mínimos cuadrados correspondiente tomando j términos de la serie es la misma que la Ec. 5.33 con la salvedad que el llamado *vector de regresión* $\varphi^T(t_k)$ tiene la forma:

$$\varphi^T(t_k) = [\mathcal{B}_0(q^{-1})u(t_k) \quad \mathcal{B}_1(q^{-1})u(t_k) \quad \cdots \quad \mathcal{B}_{j-1}(q^{-1})u(t_k)]. \quad (5.47)$$

Este regresor es robusto con respecto al ruido dado que no depende de salidas pasadas por lo tanto no va a estar correlacionado con el ruido $\xi(t_k)$ y consecuentemente la estima

obtenida será insesgada.

Existe una gran diversidad de bases ortonormales como, por ejemplo, de Laguerre, de Kautz o la que utilizaremos en esta tesis cuya definición es:

$$\mathcal{B}_\ell(q^{-1}) = \left(\frac{\sqrt{1 - |\zeta_\ell|^2}}{q^{-1} - \zeta_\ell} \right) \prod_{i=0}^{\ell-1} \frac{1 - \bar{\zeta}_i q^{-1}}{q^{-1} - \zeta_i}, \quad \ell > 0 \quad (5.48)$$

$$\mathcal{B}_0(q^{-1}) = \frac{\sqrt{1 - |\zeta_0|^2}}{q^{-1} - \zeta_0}$$

donde ζ_ℓ son los modos estables ($|\zeta_\ell| < 1$) elegidos arbitrariamente. De allí su nombre Bases ortonormales de polos fijos. Una vez construido el regresor (Ec.5.47) se puede obtener la estima de mínimos cuadrados:

$$\hat{\theta}_{OBFP} = \left[\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi(t_k) \varphi^T(t_k) \right]^{-1} \cdot \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi(t_k) y(t_k). \quad (5.49)$$

Una extensa bibliografía y una discusión detallada se puede encontrar en [36].

Algoritmo OBFP

En este caso utilizamos algoritmos desarrollados por J.C.Gómez [36], que adaptamos convenientemente tanto a las herramientas de identificación de sistemas de *matlab* (desarrollado por Ljung y otros) como al análisis de mediciones de propiedades dieléctricas tal como se detalla en los pasos siguientes.

En caso que el dieléctrico a medir tenga solo una capa, el algoritmo es simple, se deben conocer los valores aproximados de los polos dominantes y se construyen las bases ortogonales para luego hacer el cálculo de la estima de mínimos cuadrados. Si en cambio el material a medir tiene varias capas, el algoritmo puede ser resumido en los siguientes puntos:

1. **Estimar la dinámica dominante**

Se puede realizar identificando previamente el sistema con un método convencional de sistemas discretos (por ejemplo: PEM), por consiguiente utilizar esos polos dominantes, o bien mediante conocimiento previo de los valores del dieléctrico a medir. Por ejemplo: si es un material de tres capas y se estima que $\varepsilon_1 > \varepsilon_2$ y $\varepsilon_2 < \varepsilon_3$, entonces se aplica la Ec. 3.34 entre la primer y segunda capa y luego se combina con la Ec. 3.35 para la tercera. Con estas ecuaciones se tiene una expresión en la que se reemplazarán los valores aproximados de los dieléctricos a medir.

2. **Encontrar los polos discretos**

Si en el paso 1 se construyó una función de transferencia continua, el paso siguiente es obtener los polos discretos mediante $\varphi_\ell = \exp(p_\ell T_s)$, donde los φ_ℓ son los polos discretos, p_ℓ son los continuos y T_s es el intervalo de muestreo.

3. **Obtener las bases ortogonales**

Aquí se utiliza la Ec. 5.48.

4. Cálculo de la estima de mínimos cuadrados

Una vez obtenida la la estima mediante la Ec. 5.49, se debe validar el sistema y si es necesario iterar cambiando los polos dominantes.

5.3.2. SRIVC

SRIVC (de su denominación en inglés Simplified refined instrumental variable method for continuous time systems) es el método utilizado para salvar algunos de los inconvenientes mencionados en la sección 5.2.1.

En el enfoque directo (Ec.5.39) aparecen las derivadas de la entrada y la salida. En la mayoría de los casos no se tienen estas mediciones, por lo que en la identificación de sistemas continuos se adiciona un paso previo de acondicionamiento de las señales. En ese sentido existen varios métodos: funciones modulantes, funciones ortogonales, aproximación mediante la ecuación integral y a través de *funcionales de los momentos de Poisson* (PMF de sus siglas en inglés). Estos métodos en su mayoría están íntimamente relacionados con la metodología conocida como *filtros de variable de estado* (SVF de sus siglas en inglés). En el caso de los PMF, la idea básica es tomar la transformada de i -ésima de PMF de la entrada y la salida en el intervalo de $[0, t_0]$. Se define como:

$$\mathcal{M}_i \{f(t)\}_{t_0} = \int_0^{t_0} f(t) p_i(t_0 - t) dt \quad (5.50)$$

donde:

$$p_i(t_0 - t) = \beta^{i+1} \frac{(t_0 - t)^i}{i!} e^{-\lambda_c(t_0 - t)} \quad (5.51)$$

con β y $\lambda_c \in \mathbb{R}$ y $t_0 > 0$.

Filtros de variables de estados (SVF)

La transformada anterior puede ser calculada eficientemente como la salida de $i + 1$ filtros en cascada de la forma $\beta / (s + \lambda_c)$, denominados cadena de filtros de Poisson [31]. Esta idea se puede generalizar a cualquier filtro. Por ejemplo, evaluando en cada instante $t = t_k$, si a la siguiente ecuación:

$$p^n y(t_k) + a_1 p^{n-1} y(t_k) + \dots + a_n y(t_k) = b_0 p^m u(t_k) + b_1 p^{m-1} u(t_k) + \dots + b_m u(t_k) + v(t_k) \quad (5.52)$$

se aplica un filtro de la forma:

$$F(p) = \frac{1}{(p + \lambda_c)^n} \quad (5.53)$$

entonces se llega a:

$$\begin{aligned} & \frac{p^n}{(p + \lambda_c)^n} y(t_k) + a_1 \frac{p^{n-1}}{(p + \lambda_c)^n} y(t_k) + \dots + a_n \frac{1}{(p + \lambda_c)^n} y(t_k) = \\ & = b_0 \frac{p^m}{(p + \lambda_c)^n} u(t_k) + b_1 \frac{p^{m-1}}{(p + \lambda_c)^n} u(t_k) + \dots + b_m \frac{1}{(p + \lambda_c)^n} u(t_k) + v(t_k) \frac{1}{(p + \lambda_c)^n} \end{aligned} \quad (5.54)$$

Esto se puede ver como si se filtraran la salida, la entrada y el ruido por filtros de la forma:

$$F_i(p) = \frac{p^i}{(p + \lambda_c)^n} \quad (5.55)$$

cuya respuesta al impulso la definiremos como $f_i(t)$. La Ec. 5.54 entonces puede ser reescrita como:

$$y_f^{(n)}(t_k) + a_1 y_f^{(n-1)}(t_k) + \dots + a_n y_f(t_k) = b_0 u_f^{(m)}(t_k) + b_1 u_f^{(m-1)}(t_k) + \dots + b_m u_f(t_k) + v_f(t_k) \quad (5.56)$$

definiendo ahora $x_f^i(t_k) = f_i(t_k) * x(t_k)$.

Reescribiendo la ecuación anterior podemos llegar a una similar a la Ec. 5.39, un modelo de regresión. Se puede obtener la estima de mínimos cuadrados, minimizando un error arbitrario. Por ejemplo aplicando la Ec.5.32, para un sistema de TC, el resultado es similar al obtenido en sistemas discretos:

$$\hat{\theta}_{LSSVF} = \left[\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi_f(t_k) \varphi_f^T(t_k) \right]^{-1} \cdot \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi_f(t_k) y_f^{(n)}(t_k). \quad (5.57)$$

Notar que los regresores ahora están filtrados, eligiendo el parámetro λ se pueden diseñar los filtros que tendrán un comportamiento pasabajo y resuelven de esta manera, el problema de la estimación de las derivadas.

Para observar el comportamiento estadístico de esta estima se puede operar de manera similar que con sistemas discretos y se arriba a la misma conclusión. Para que la estima sea asintóticamente insegada y consistente, el modelo de ruido $v(t_k)$ en la Ec. 5.39 debe ser blanco y de media cero. Esto se puede verificar al observar la esperanza de la estima cuando $N \rightarrow \infty$. Para esto debemos suponer que existe un vector de parámetros θ_0 y una realización del ruido $v_{0f}(t_k)$ y que ambos representan la salida medida del sistema:

$$y_f^{(n)}(t_k) = \varphi_f^T(t_k) \theta_0 + v_{0f}(t_k) \quad (5.58)$$

Introduciendo Ec. 5.58 en Ec. 5.57:

$$\hat{\theta}_{LSSVF} = \left[\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi_f(t_k) \varphi_f^T(t_k) \right]^{-1} \cdot \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi_f(t_k) (\varphi_f^T(t_k) \theta_0 + v_{0f}(t_k)) \quad (5.59)$$

y operando se llega a:

$$\hat{\theta}_{LSSVF} - \theta_0 = \left[\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi_f(t_k) \varphi_f^T(t_k) \right]^{-1} \cdot \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi_f(t_k) v_{0f}(t_k). \quad (5.60)$$

Si suponemos que los sistemas son ergódicos entonces cuando $N \rightarrow \infty$ se cumple:

$$E \left\{ \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi_f(t_k) \varphi_f^T(t_k) \right\} \rightarrow R_{\varphi_f \varphi_f}$$

$$E \left\{ \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \varphi_f(t_k) v_{0f}(t_k) \right\} \rightarrow R_{\varphi_f v_{0f}}$$

donde $R_{\varphi_f \varphi_f}$ y $R_{\varphi_f v_{0f}}$ son la autocorrelación del vector regresor y de éste con el ruido, respectivamente. $R_{\varphi_f v_{0f}}$ será distinto de cero siempre, dado que el regresor depende de la salida y sus derivadas, y éstas dependen implícitamente del ruido. Esto significa que la estima siempre será sesgada (no consistente). Otro punto importante que hay que resaltar es que en el modelo de error de salida (parte derecha de la Ec. 5.5) aunque el ruido $\xi(t_k)$ sea blanco, la estima $\hat{\theta}_{LSVF}$ también será no consistente.

Variables instrumentales (IV): aplicación al algoritmo SRIVC

Lo anterior constituye la motivación de gran número de trabajos en los que se busca obtener una estima insesgada de los parámetros. Uno de los métodos más desarrollados es el de variables instrumentales (IV de su denominación en inglés). La idea entonces es modificar la *ecuación normal* (Ec. 5.57), de tal manera que los regresores no estén correlacionados con el ruido. Una manera muy simplificada de introducir el método puede ser la siguiente. Dado que la finalidad de los métodos de identificación es minimizar el error de predicción del modelo, se puede partir de la siguiente ecuación:

$$0 = y_f^{(n)}(t_k) - \hat{y}_f^{(n)}(t_k, \theta) = y_f^{(n)}(t_k) - \varphi_f^T(t_k) \theta \quad (5.61)$$

multiplicando a ambos miembros por un vector $\hat{\varphi}_f(t_k)$ que denominaremos instrumentos o *variables instrumentales* y que no esté correlacionado con $v_f(t_k)$:

$$0 = \hat{\varphi}_f(t_k) y_f^{(n)}(t_k) - \hat{\varphi}_f(t_k) \varphi_f^T(t_k) \theta. \quad (5.62)$$

Operando y sumando todo el conjunto de datos se llega a la estima de variables instrumentales:

$$\hat{\theta}_{IV} = \left[\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \hat{\varphi}_f(t_k) \varphi_f^T(t_k) \right]^{-1} \cdot \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \hat{\varphi}_f(t_k) y_f^{(n)}(t_k). \quad (5.63)$$

Es claro que es una versión muy simplificada de la estima y que hasta ahora no se ha mencionado nada de la elección de los instrumentos, más que su “no correlación” con el ruido.

Profundizando este punto sería conveniente además pedirle a la estima no sólo consistencia, sino también varianza mínima (*estima óptima*). Para esto se puede partir de la elección de una función de error de predicción como la siguiente:

$$\varepsilon(t_k) = y(t_k) - \frac{B(p, \theta)}{A(p, \theta)} u(t_k). \quad (5.64)$$

La motivación de esta elección es que si $\xi(t_k)$ tiene distribución gaussiana y con media cero entonces de aquí sale la estima de Máxima Verosimilitud (ver [32] capítulo 4). Se puede modificar esta ecuación como sigue:

$$\varepsilon(t_k) = \frac{1}{A(p, \theta)} [A(p, \theta) y(t_k) - B(p, \theta) u(t_k)] = A(p, \theta) y_f(t_k) - B(p, \theta) u_f(t_k). \quad (5.65)$$

En la parte derecha se intercambi6 el orden del filtrado e $y_f(t_k)$ y $u_f(t_k)$ son las se~nales filtradas por el filtro continuo $\frac{1}{A(p, \theta)}$.

La Ec. 5.65 puede ser reescrita como un modelo de regresi6n:

$$y_f^{(n)}(t_k) = \varphi_f^T(t_k) \theta + v_f(t_k) \quad (5.66)$$

remarcando que tanto $y_f^{(n)}(t_k)$, $\varphi_f^T(t_k)$ y $v_f(t_k)$ est6n filtradas por $\frac{1}{A(p, \theta)}$. Partiendo de esta ecuaci6n se puede llegar a una estima similar a la SVF pero el filtro es diferente al definido en la Ec. 5.55, de hecho esta es una generalizaci6n del m6todo SVF. Se sabe entonces que ser6 una estima sesgada por la correlaci6n intr6nseca de la salida con el ruido. Siguiendo con el razonamiento de las dos 6ltimas secciones, se debe corregir el sesgo mediante variables instrumentales. La manera 6ptima (de m6nima varianza) ser6 definiendo la salida libre de ruido como los instrumentos. Por tanto, el vector regresor $\hat{\varphi}_f(t_k)$ se puede definir como:

$$\hat{\varphi}_f(t_k) = [-x_f^{(n-1)}(t_k) \quad -x_f^{(n-2)}(t_k) \dots -x_f(t_k) \quad u_f^{(m)}(t_k) \dots u_f(t_k)] \quad (5.67)$$

donde $x_f^i(t)$ es la derivada i -6sima de la salida del sistema libre de ruido $x(t) = G(p)u(t)$, filtrada por $\frac{1}{A(p, \theta)}$. Si bien esto no es realizable en principio, porque justamente lo que se quiere estimar es el modelo libre de ruido (no se conoce *a priori*), se puede realizar el proceso iterativamente comenzando por una primera estimaci6n dada por la estima $\hat{\theta}_{LSSVF}$. Lo anterior puede resumirse en un lema:

Lema 2. Propiedades estad6sticas de la estima SRIVC

La estima SRIVC resulta de la siguiente ecuaci6n:

$$\hat{\theta}_{SRIVC}^j = \underset{\theta}{\operatorname{argmin}} \left\| \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \hat{F}(p) \hat{\varphi}(t_k) \hat{F}(p) \varphi^T(t_k) \hat{\theta}_{SRIVC}^{j-1} - \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \hat{F}(p) \hat{\varphi}(t_k) \hat{F}(p) y^{(n)}(t_k) \right\|^2 \quad (5.68)$$

donde $\|x\|^2 = x^T \cdot x$ que en nuestro caso es igual a x^2 porque es un sistema siso. El valor inicial de la estima ($\hat{\theta}_{SRIVC}^0$) puede ser $\hat{\theta}_{LSSVF}$ (o una obtenida con filtros de Poisson) y el filtro continuo $\hat{F}(p)$ es la estima de $\frac{1}{A(p, \hat{\theta}_{SRIVC}^{j-1})}$ de la iteraci6n anterior (se omite

aquí la notación $\hat{F}(p, \hat{\theta}_{SRIVC}^{j-1})$ que sería la correcta).

Entonces:

1. Esta estima es insesgada si cumple las siguientes condiciones (ver referencias [32, 86]):

$$\begin{cases} E\{\hat{F}(p)\hat{\varphi}(t_k)\hat{F}(p)\varphi^T(t_k)\} \text{ es no singular} \\ E\{\hat{F}(p)\hat{\varphi}(t_k)\hat{F}(p)\xi(t_k)\} = 0 \end{cases} \quad (5.69)$$

2. Para un sistema de lazo abierto la cota de Cramér-Rao para cualquier método insesgado indica que la covarianza óptima es:

$$P_{\theta}^{opt} = [E\{F(p)\varphi(t_k)F(p)\varphi^T(t_k)^T\}]^{-1} \quad (5.70)$$

donde:

$$\begin{aligned} \varphi(t_k) &= [-x^{(n-1)}(t_k) \quad -x^{(n-2)}(t_k) \dots -x(t_k) \quad u^{(m)}(t_k) \dots u(t_k)] \\ F(p) &= \frac{1}{A_0(p)} \end{aligned} \quad (5.71)$$

$A_0(p)$ es el denominador de la función de transferencia libre de ruido y las derivadas de la salida $x^{(i)}(t_k)$ son las obtenidas a partir del sistema libre de ruido.

En la Fig. 5.2 se muestra un diagrama que representa la obtención de la estima SRIVC a partir de una primera iteración dada por $\hat{\theta}_{LSSVF}$.

En el lema anterior se muestra la covarianza mínima que se puede obtener. Para esto es necesario conocer el denominador exacto del sistema a identificar. Se puede demostrar que la covarianza calculada mediante:

$$\hat{P}_{\theta} = \hat{\sigma}^2 \left[\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \hat{\varphi}_f(t_k) \hat{\varphi}_f^T(t_k) \right]^{-1} \quad (5.72)$$

tiende en probabilidad al valor verdadero P_{θ} . Esta justificación excede la temática de esta tesis, una explicación detallada se puede encontrar [32] pag.106. En esta expresión $\hat{\sigma}^2$ es la estima de la varianza de los residuos.

Algoritmo SRIVC

Tal como se adelantara, para la identificación en sistemas continuos utilizamos el toolbox para matlab (CONTSID) desarrollado por H.Garnier y otros. Este toolbox tiene la facilidad de iniciar el algoritmo SRIVC con diferentes aproximaciones. En nuestro caso siempre inicializamos con filtros de Poisson con una frecuencia de corte convenientemente seleccionada.

En general el algoritmo se puede detallar como sigue:

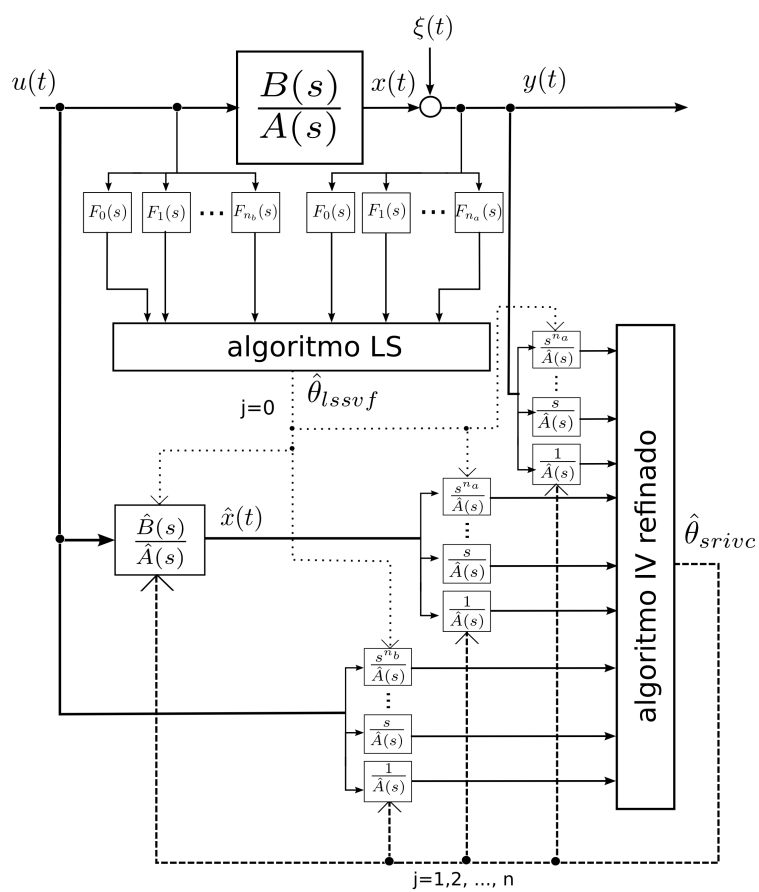


Figura 5.2: Algoritmo SRIVC (ver definiciones de filtros y variables en texto).

1. Generar una función de transferencia inicial ($j=0$).

En general utilizamos filtros de Poisson (Ec. 5.55). Usar esta estima para prefiltrar las iteraciones subsiguientes.

2. Iteraciones. Desde $j=1$ a convergencia

a) Generación de variables instrumentales: $\hat{x}(t, \hat{\theta}^{j-1})$

Se debe utilizar el modelo estimado en la iteración previa $j-1$.

b) Prefiltrado con el nuevo filtro continuo

El filtro continuo será entonces:

$$\frac{1}{A(p, \hat{\theta}^{j-1})} \quad (5.73)$$

c) Generar la nueva estima: $\hat{\theta}^j$.

3. Cálculo de la covarianza.

Una vez que la iteración converge calcular la estima de la covarianza:

$$\hat{P}_\theta = \hat{\sigma}^2 \left[\frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \hat{\varphi}_f(t_k) \hat{\varphi}_f^T(t_k) \right]^{-1} \quad (5.74)$$

5.4. Identificación en sistemas fraccionarios

En su tesis O. Cois [14] estudia la identificación de sistemas de orden fraccionario tanto en su versión continua como discreta. En esta sección nos ocuparemos solamente de la identificación de sistemas fraccionarios continuos. Los resultados que se obtienen en este tipo de sistemas son similares a los obtenidos en sistemas lineales continuos (sección 5.3.2). Por consiguiente parte de las discusiones son similares y no se reiterarán aquí. Se extenderán los conceptos de filtros de Poisson a sistemas fraccionarios así como también SVF y la estimación a través de variables instrumentales.

5.4.1. SRIVCF

Filtros de variables de estados fraccionarios (SVFF)

En una serie de trabajos recientes [14, 56, 57] se considera una simple extensión de los filtros de Poisson continuos a sistemas de orden fraccionario a partir de la siguiente ecuación:

$$F_\gamma(s) = \frac{1}{\left(\left(\frac{s}{\lambda_c} \right)^\gamma + 1 \right)^{N_f}} \quad (5.75)$$

donde λ_c debe ser elegida cercana a la frecuencia más alta que se desea identificar y, recordando la Ec. 5.42, N_f debe cumplir:

$$\gamma N_f \geq \max(\alpha_n, \beta_m)$$

de tal manera de lograr el efecto pasabajo deseado. Aplicando este filtro a la Ec. 5.42

$$y_f(t) + a_1 D^{\alpha_{n-1}} y_f(t) + \dots + a_n D^{\alpha_0} y_f(t) = b_0 D^{\beta_m} u_f(t) + b_1 D^{\beta_{m-1}} u_f(t) + \dots + b_m D^{\beta_0} u_f(t) + v_f(t) \quad (5.76)$$

donde $D^\beta x_f(t) = \mathcal{L}^{-1} \{F_\gamma(s)\} * D^\beta x(t)$, se puede obtener el modelo de regresión deseado. Los operadores $\mathcal{L}^{-1} \{\bullet\}$ y $(*)$ representan la transformada inversa de Laplace y la convolución, respectivamente.

Minimizando la forma discreta de la norma de la Ec. 5.40 se puede obtener una estima como la dada por la Ec. 5.57, con la diferencia que el vector regresor tiene ahora la forma:

$$y_f(t_k) = \varphi_f^T(t_k) \theta + v_f(t_k) = \begin{bmatrix} -D^{\alpha_{n-1}} y_f(t_k) & \dots & -D^{\alpha_0} y_f(t_k) & D^{\beta_m} u_f(t_k) & D^{\beta_{m-1}} u_f(t_k) & \dots & D^{\beta_0} u_f(t_k) \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} a_1 \\ \vdots \\ a_n \\ b_1 \\ \vdots \\ b_m \end{bmatrix} + v_f(t_k) \quad (5.77)$$

De aquí se puede encontrar la estima de mínimos cuadrados de filtros de variables de estados fraccionarios ($\hat{\theta}_{LSSVFF}$). Al igual que la que se encontró para sistemas lineales de TC, también es sesgada y se pueden generalizar los conceptos que se comentaron en la sección 5.3.2. Es posible también generalizar el uso de variables instrumentales para corregir el sesgo y por consiguiente obtener una estima óptima cuando el ruido aditivo es blanco con el algoritmo iterativo SRIVC pero ahora para sistemas fraccionarios (SRIVCF). En la Fig. 5.3 se muestra un esquema del algoritmo SRIVCF.

Se pueden generalizar todos los conceptos desarrollados para la estima SRIVC. Es decir, $\hat{\theta}_{SRIVCF}$ es insesgada si el ruido es blanco y es eficiente con una estimación de covarianza similar a la de la Ec.5.74.

Algoritmo SRIVCF

Para la utilización de este algoritmo desarrollamos un software propio para Matlab que utiliza para la simulación de los sistemas fraccionarios el software Ninteger (ver sección 5.6). A continuación detallamos los pasos y cálculos que realiza el algoritmo.

Hay que remarcar que el índice fraccionario debe conocerse de antemano, es decir, en todas las estimaciones el índice al cual está elevada la frecuencia debe ser conocido (por ejemplo: en s^α , α no es un parámetro a estimar por el SRIVCF). El procedimiento implica entonces hacer una búsqueda de este valor.

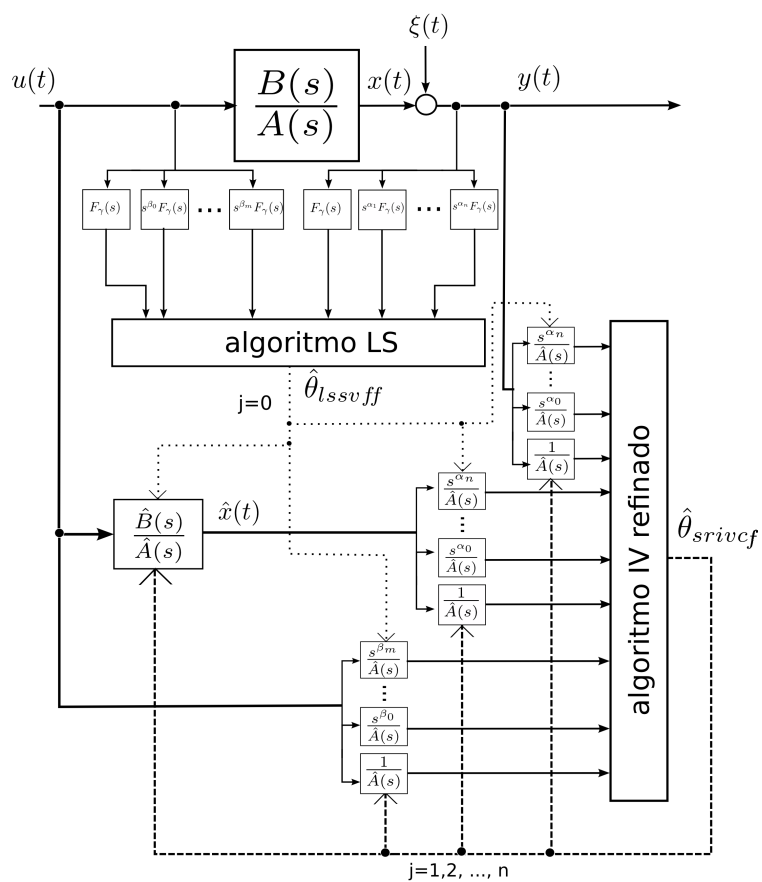


Figura 5.3: Algoritmo SRIVCF (ver definiciones de filtros y variables en texto).

1. Generar una función de transferencia inicial (j=0).

Una vez seleccionado el índice fraccionario, filtrar la entrada y la salida medidas por medio de Ec. 5.75 para estimar $\hat{\theta}_{LSSVFF}$ cuya versión matricial es:

$$\hat{\theta}_{LSSVFF} = (\Phi_f^T \Phi_f)^{-1} \Phi_f^T Y \quad (5.78)$$

donde:

$\Phi_f = [\varphi_f(t_1) \ \varphi_f(t_2) \ \cdots \ \varphi_f(t_N)]^T$ e Y es el vector de salidas.

Remarcando que es necesario conocer α_i y β_i pues para obtener el regresor en cada instante de tiempo se debe saber qué derivada calcular (ver Ec. 5.77).

2. Iteraciones. Desde j=1 a convergencia.

a) Generación de variables instrumentales: $\hat{x}(t, \hat{\theta}^{j-1})$

Se debe utilizar el modelo estimado en la iteración previa j-1.

b) Prefiltrado con el nuevo filtro continuo

Las señales filtradas serán:

$$\begin{aligned} D^{\beta_i} u_f(t) &= u(t) * \mathcal{L}^{-1} \{ F_{\beta_i}^{j-1}(s) \} = u(t) * \mathcal{L}^{-1} \left\{ \frac{s^{\beta_i}}{A(p, \hat{\theta}^{j-1})} \right\} \\ D^{\alpha_i} y_f(t) &= y(t) * \mathcal{L}^{-1} \{ F_{\alpha_i}^{j-1}(s) \} = y(t) * \mathcal{L}^{-1} \left\{ \frac{s^{\alpha_i}}{A(p, \hat{\theta}^{j-1})} \right\} \\ D^{\alpha_i} \hat{x}_f(t) &= \hat{x}(t) * \mathcal{L}^{-1} \{ F_{\alpha_i}^{j-1}(s) \} = \hat{x}(t) * \mathcal{L}^{-1} \left\{ \frac{s^{\alpha_i}}{A(p, \hat{\theta}^{j-1})} \right\} \end{aligned} \quad (5.79)$$

c) Generar la nueva estima: $\hat{\theta}^j$.

$$\hat{\theta}_{SRIVCF}^j = \left(\Phi_f^{j-1 T} \Phi_f \right)^{-1} \Phi_f^{j-1 T} Y \quad (5.80)$$

3. Cálculo de la covarianza.

Una vez que la iteración converge calcular la estima de la covarianza:

$$\hat{P}_\theta = \hat{\sigma}^2 \left(\Phi_f^{j-1 T} \Phi_f^{j-1} \right)^{-1} \quad (5.81)$$

5.5. Evaluación y validación del modelo

En las secciones anteriores se detallaron formas de obtener estimas eficientes e insesgadas del vector de parámetros. Una vez estimados los modelos, el procedimiento siguiente consiste en seleccionar el mejor en algún sentido. En el caso particular de esta tesis, los

parámetros estimados tienen relación directa con parámetros físicos del sistema, esto limitará en primera instancia la elección de la estructura del modelo identificado. Esta limitación es aún mayor si se están midiendo dieléctricos cuyo comportamiento en frecuencia es conocido (Debye, C-C, C-D, etc.). En el caso de los tejidos biológicos, en cambio, se debe buscar la estructura de modelo que mejor “explique” los datos. Los parámetros que observaremos en esta tesis son los siguientes:

1. Coeficiente de determinación R_T^2 .

$$R_T^2 = 1 - \frac{\sigma_{\hat{\varepsilon}}^2}{\sigma_y^2} \quad (5.82)$$

donde $\sigma_{\hat{\varepsilon}}^2$ es la varianza del ruido estimado y σ_y^2 es la varianza de la salida medida.

2. El siguiente parámetro denominado YIC, tiene en cuenta el grado de parametrización del modelo, cosa que el coeficiente de determinación no.

$$YIC = \ln \frac{\sigma_{\hat{\varepsilon}}^2}{\sigma_y^2} + \ln \left(\frac{1}{n_{\theta}} \sum_{i=1}^{n_{\theta}} \frac{\hat{p}_{ii}}{\hat{\theta}_i^2} \right) \quad (5.83)$$

n_{θ} es el número de parámetros a identificar y \hat{p}_{ii} es la diagonal principal de la matriz de covarianza (\hat{P}_{θ}). La parte izquierda de la ecuación tiene en cuenta el error de salida y la parte derecha el grado de parametrización dado que constituye una medida de la matriz de covarianza que debe ser invertida para el cálculo de los parámetros. Mientras peor condicionada sea esa matriz, más grande será ese número lo que significa que el sistema está sobreparametrizado.

3. El parámetro J_{dB} se define de la siguiente manera:

$$J_{dB} = 10 \log_{10} \left(\frac{\sum_{k=1}^N (y_m(kT_s) - \hat{y}(kT_s))^2}{\sum_{k=1}^N y_m^2(kT_s)} \right) \quad (5.84)$$

donde y_m y \hat{y} son las salidas medida y estimada, respectivamente. Otro parámetro similar es el *FIT* (ver definición en [55]).

Por el momento, validaremos el sistema con la misma señal que identificamos el modelo. La situación ideal sería utilizar una excitación independiente a la utilizada en la etapa de identificación y comparar la salida del modelo estimado con la medida. En el capítulo 6 se comentará una forma alternativa de validación aplicada en esta tesis.

5.6. Simulación y testeo de algoritmos

En el ejemplo 1, se obtuvo la función de transferencia del sistema a identificar. Reemplazando en la Ec. 5.9 algún modelo de dieléctrico (Debye, Cole-Cole, etc) se pueden

obtener ya sean funciones de transferencias lineales o fraccionarias. Tal como se remarca en la sección 3.3.2, el método diferencial de medición en dominio de tiempo es el que escogimos para el procesamiento de las señales obtenidas de la reflectometría en dominio de tiempo. Como se puede ver en las ecuaciones del ejemplo 1, las señales entrada y salida del sistema son $f_2(t)$ y $f_3(t)$, respectivamente y ambas son combinaciones que utilizan la respuesta del sistema. En consecuencia para observar el funcionamiento de los algoritmos de identificación se necesita conocer la respuesta del sistema para obtener las mediciones $f_2(t)$ y $f_3(t)$. Por lo tanto se hace necesario el uso del *modelo directo*.

El procedimiento general para la simulación será:

1. Si se desea simular un dieléctrico de varias capas utilizar las Ecs. 3.34)-3.37.
2. Escoger un modelo de dieléctrico (Ecs. 3.14- 3.21) para cada capa.
3. Utilizar la Ec. 3.23 del modelo directo. La repetimos aquí para aclarar el procedimiento.

$$\Gamma(s) = \frac{\mathcal{L}\{R(t)\}}{\mathcal{L}\{V_0(t)\}} = \frac{1 - sZ_0(C_0\varepsilon_{ap}(s) + C_f)}{1 + sZ_0(C_0\varepsilon_{ap}(s) + C_f)} \quad (5.85)$$

4. Simular entonces la respuesta $R(t)$ a un escalón aplicado $V_0(t)$. Según el dieléctrico elegido se obtendrá un sistema lineal o un sistema fraccionario, para la simulación del primero se pueden utilizar rutinas convencionales (toolbox de control de Matlab[®]), para los sistemas fraccionarios será necesario hacer algunas aproximaciones.

Sobre este último punto se detallarán a continuación los procedimientos seguidos. Para la simulación de sistemas lineales no se detallarán aquí los pasos necesarios solo diremos que utilizamos las clásicas rutinas `lsim` y `clsim` de matlab que ya han sido ampliamente probadas. Para la simulación de sistemas fraccionarios, en cambio, se deben realizar algunas aclaraciones. Comenzaremos por este último punto para terminar con la implementación de algunos ejemplos con diferentes tipos de dieléctricos aplicando los algoritmos de identificación explicados anteriormente.

5.6.1. Sistemas lineales fraccionarios

El software elegido para la simulación es el desarrollado por D. Valério [90]. Es un conjunto de rutinas de matlab (toolbox matlab) de distribución gratuita y de código abierto. Posee la mayoría de las herramientas necesarias para la simulación de sistemas de orden fraccionario, así como también una detallada bibliografía.

Según Aoun et al [5] los métodos para la simulación de sistemas fraccionarios se pueden clasificar en tres, los basados en:

- el cálculo de la expresión analítica de salida.
- aproximación por un modelo racional lineal discreto.
- aproximación por un modelo racional lineal continuo.

Aproximación de $s^{-\alpha}$

En esta tesis se utilizará solamente el tercer método. En particular, el enfoque dado por *Matsuda* y otros en [59]. La idea básica es aproximar el operador s^α (con $0 < \alpha < 1$) en el plano complejo. Uno de los métodos más comúnmente utilizados en la síntesis de este tipo de funciones es la aproximación por fracciones continuadas. Si se lo compara con una expansión en serie de potencias, tiene la ventaja de una convergencia más rápida. Si se desea aproximar la función de transferencia fraccionaria $G(s)$, el resultado puede expresarse de la siguiente manera:

$$G(s) \approx A_0(s) + \frac{B_1(s)}{A_1(s) + \frac{B_2(s)}{A_2(s) + \frac{B_3(s)}{A_3(s) + \dots}}} \quad (5.86)$$

siendo $A_i(s)$ y $B_i(s)$ funciones racionales de la variable s o constantes (ver [90]). La aproximación se realiza a partir de conocer la función a determinar (por ejemplo: $f(x)$) en ciertos puntos x_0, x_1, \dots calculando:

$$f(x) \approx d_0(x_0) + \frac{x - x_0}{d_1(x_1) + \frac{x - x_1}{d_2(x_2) + \frac{x - x_2}{d_3(x_2) + \dots}}} \quad (5.87)$$

donde las siguientes funciones se calculan de forma recursiva:

$$\begin{aligned} d_0(x) &= f(x) \\ d_{k+1}(x) &= \frac{x - x_k}{d_k(x) - d_k(x_k)}, \quad k = 0, 1, 2, \dots \end{aligned}$$

Lógicamente, esta aproximación es válida en un rango de frecuencias predeterminado. Por ejemplo, en la Fig. 5.4 se muestra la aproximación a un integrador de orden fraccionario $\frac{1}{s^{0,25}}$ en el rango $\omega \in [0,01, 100]$ cortando la Ec. 5.87 en $N = 10$ y $N = 30$ (siendo ω la frecuencia angular, $s = j\omega$). Como se puede observar el error cometido para $N = 30$ es muy bajo con la desventaja que aumenta el grado del sistema, haciendo menos eficiente su simulación.

Ejemplos de sistemas fraccionarios

Utilizando las herramientas del apartado anterior se mostrarán ahora algunos sistemas ejemplo para observar la precisión de las aproximaciones. El primer sistema ($H_1(s)$) posee una respuesta al escalón conocida dada por:

$$\text{Sistema 1} \longrightarrow H_1(s) = \frac{1}{s^{0,25}} \Rightarrow y_1(t) = \frac{1}{\Gamma(1, 25)} t^{0,25}.$$

La comparación en tiempo de las aproximaciones dadas por el método de *Matsuda* para $N = 10$ y $N = 30$ se muestran en la Fig.5.5. Se observa que el error cuadrático es muy bajo, por debajo de 10^{-5} para $N = 10$.

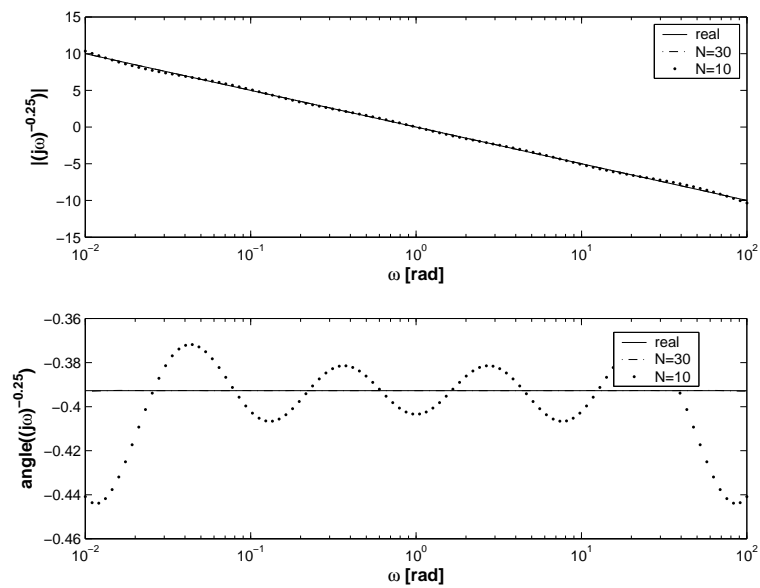


Figura 5.4: Aproximación de un integrador fraccionario $\frac{1}{s^{0,25}}$.

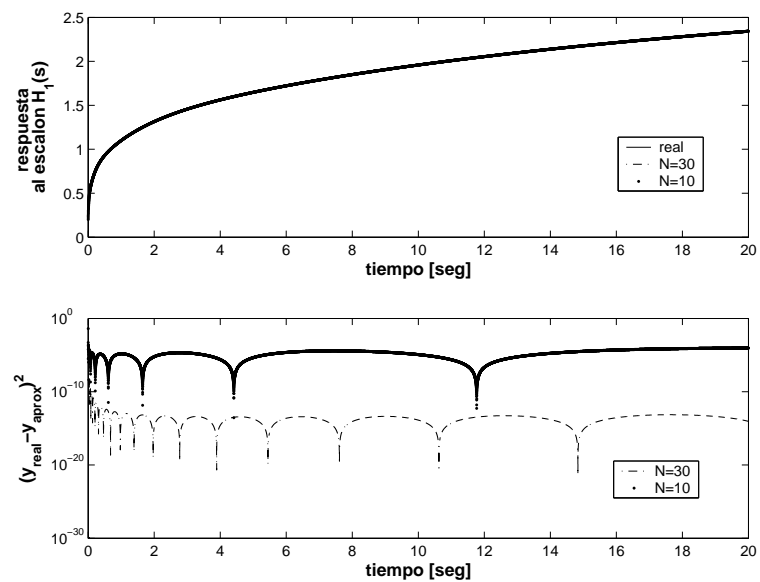


Figura 5.5: Respuesta al escalón del sistema $H_1(s)$.

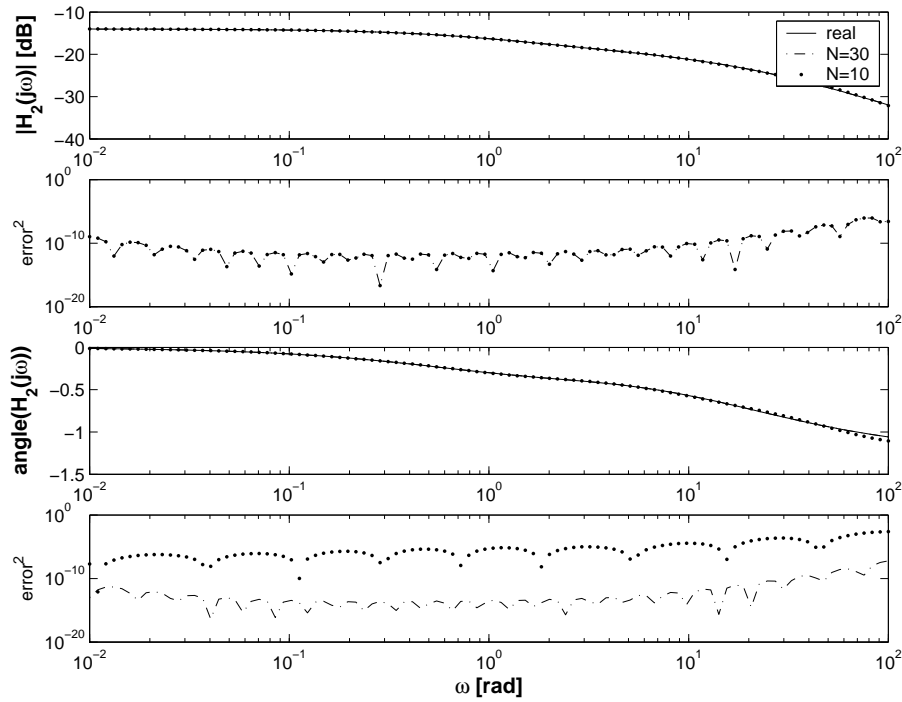


Figura 5.6: Respuesta en frecuencia en módulo y fase del sistema $H_2(s)$ y errores comparados con el sistema real.

En el Sistema 2, la expresión de la respuesta temporal es un tanto más complicada, razón por la cual se muestran las respuestas en frecuencia con sus respectivos errores, en módulo y fase (ver Fig.5.6).

$$\text{Sistema 2} \longrightarrow H_2(s) = \frac{0,1}{(s^{0,8} + 1)} + \frac{1}{(s^{0,8} + 10)}$$

Por último simularemos un ejemplo variando el orden del polinomio N . Tal como muestra la Ec.5.15 si se mide un dieléctrico Cole-Cole se obtiene un sistema dinámico fraccionario. La aproximación por un sistema lineal de una función de transferencia fraccionaria puede realizarse utilizando cualquier método de identificación de sistemas en el dominio de la frecuencia (ver por ejemplo [65]). En la Fig 5.7 se muestran la diferencias entre el clásico algoritmo de Levy (se utilizaron rutinas de Matlab) y la aproximación de Matsuda para un dieléctrico Cole-Cole con parámetros $\epsilon_\infty/\Delta\epsilon/\tau/\alpha$ iguales a $4/25/0,4nseg/0,2$, respectivamente. Como se puede ver la convergencia de Matsuda es más rápida en términos de N .

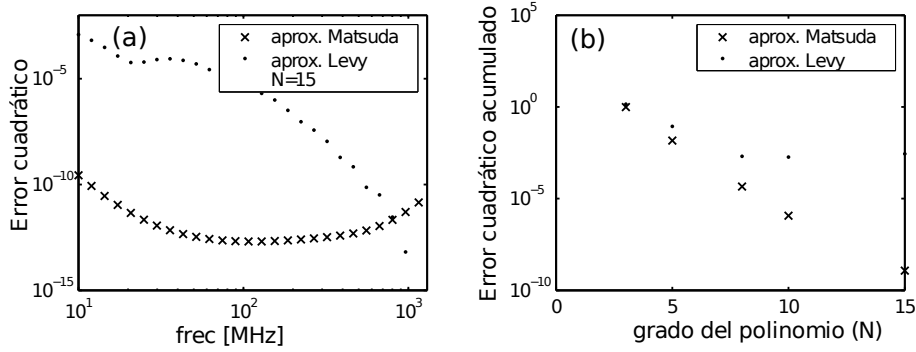


Figura 5.7: Aproximación de sistema fraccionario por uno lineal utilizando el algoritmo de Levy y el algoritmo de Matsuda.

5.6.2. Testeo de algoritmos de identificación

Identificación en sistemas lineales

En la siguiente sección se mostrará la identificación con bases ortogonales (método indirecto) para un medio multicapa de calibración y como segundo ejemplo se observará la problemática de identificar polos separados en frecuencia con los algoritmos SRIVC (método directo del CONTSID para matlab) y OE de matlab.

Ejemplo 3. Cálculo de las bases ortogonales para un medio de 4 capas

En el siguiente ejemplo simularemos un medio de cuatro capas. Todas ellas tienen permitividad constante o respuesta Debye. Supongamos que el dieléctrico de cuatro capas es un medio de calibración como sigue: film de nylon / agua / film de nylon / 1-butanol con los respectivos anchos 0,01/0,5/0,1/ ∞ mm. Entonces la función de transferencia a identificar es la siguiente:

$$G(s) = \frac{\varepsilon_{ap}(s)}{F} + \frac{K}{s} \quad (5.88)$$

donde $\varepsilon_{ap}(s)$ viene dada por Ec. 3.37, utilizando parámetros de literatura ($\varepsilon_1 = 3 / \varepsilon_2 = 5 + \frac{75-5}{1+s/(2\pi 10^9)}$ / $\varepsilon_3 = 3 / \varepsilon_4 = 2,4 + \frac{17,3-2,4}{1+s/(2\pi 10^9)}$).

Para identificar la misma, primeramente se deben encontrar los parámetros del modelo empírico utilizando la Ec. 3.37 combinada con la Ec. 3.28. De esta manera se obtiene una permitividad aparente ($\varepsilon_{ap}(s)$). Luego a partir de la siguiente ecuación:

$$\Gamma(s) = \frac{1 - sZ_0(C_0\varepsilon_{ap}(s) + C_f)}{1 + sZ_0(C_0\varepsilon_{ap}(s) + C_f)} \quad (5.89)$$

se construye la función de transferencia a la que se le debe aplicar el escalón ($V_0(t)$) que se aplica en los métodos de reflectometría.

El procedimiento general para estimar el sistema utilizando bases ortogonales y el modelo diferencial es el siguiente. entonces el procedimiento para su identificación es:

1. Estimar la dinámica dominante con la Ec. 3.36 utilizando los valores aproximados de los anchos de cada capa 0,03/0,45/0,14 mm y los valores de permitividad $\varepsilon_1 = \varepsilon_2 = 3$ y valores de literatura para agua y 1-butanol. Entonces la permitividad aparente de la cual se extraerá la dinámica dominante a priori, viene dada por:

$$\varepsilon_{ap}^*(s) = \frac{3,4216 (s + 3,811 \times 10^{11}) (s + 3,45 \times 10^9)}{(s + 8,1 \times 10^{10}) (s + 2,894 \times 10^9)}$$

2. Encontrar los polos discretos aproximados (si el intervalo de muestreo es $T_s = 14\mu\text{sec}$):

$$\begin{aligned}\xi_0 &= \exp(p_0 T_s) = \exp(-2,894 \times 10^9 \text{sec}^{-1} 14\mu\text{sec}) \simeq 0,9621 \\ \xi_1 &= \exp(p_1 T_s) = \exp(-8,1 \times 10^{10} \text{sec}^{-1} 14\mu\text{sec}) \simeq 0,3396\end{aligned}$$

3. Generar las bases con las Ecs. (5.48): $\mathcal{B}_0(q)$ y $\mathcal{B}_1(q)$.
4. Obtener la estima de mínimos cuadrados y validar los sistemas en tiempo y frecuencia. En el siguiente ejemplo:

$$y_k = \sum_{i=0}^1 \hat{\mathbf{b}}_i \mathcal{B}_i(q) u_k + \nu_k$$

que puede ser expresado como:

$$y_k = \varphi_k^T \hat{\mathbf{b}} = [\mathcal{B}_0(q) u_k, \mathcal{B}_1(q) u_k] \cdot \begin{bmatrix} \hat{\mathbf{b}}_0 \\ \hat{\mathbf{b}}_1 \end{bmatrix}$$

donde $\hat{\bullet}$ significa “estimado” y $\hat{\mathbf{b}}$ puede ser analíticamente obtenido (ver detalles en [36]).

Ejemplo 4. Sistema con polos separados en frecuencia.

Se comentó la problemática de identificar polos separados en frecuencia. La Fig.5.8 muestra la habilidad de la identificación en tiempo continuo mediante un ejemplo de simulación. Se propone simular una medición con la línea de 10mm de diámetro externo de un dieléctrico con la siguiente permitividad:

$$\varepsilon(s) = 4 + \frac{180}{\left[1 + \left(\frac{s}{2\pi 1\text{MHz}}\right)\right]} + \frac{4}{\left[1 + \left(\frac{s}{2\pi 400\text{MHz}}\right)^{1-0,2}\right]} + \frac{18}{\left[1 + \left(\frac{s}{2\pi 10\text{GHz}}\right)\right]}. \quad (5.90)$$

Una vez simuladas las señales se le agregó ruido blanco de media cero ajustando la varianza hasta conseguir 10dB de relación señal a ruido (SNR). El ruido fue generado usando la rutina de Matlab `randn` con una semilla igual a 654564. Los resultados de la identificación en DT (mediante la rutina `oe` del toolbox de identificación de Matlab) y CT (mediante la

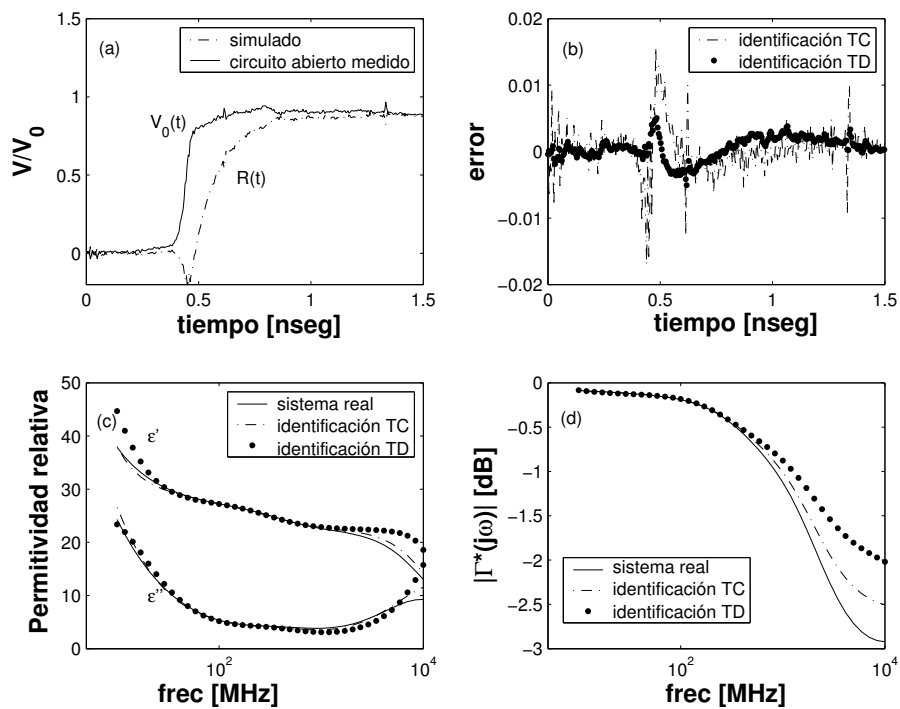


Figura 5.8: Simulación de identificación de dos polos separados con identificación de sistemas continuos. (a) Escalón aplicado y respuesta simulada. (b) Identificación DT (rutina oe de Matlab) y CT (rutina srivc de CONTSID). (c) Parte real e imaginaria de la permitividad relativa del sistema verdadero y el estimado. (d) Módulo y fase del coeficiente de reflexión verdadero y estimado.

rutina `srivc` del toolbox `CONTSID`) se muestran en la Fig. 5.8. Notar que la aproximación continua mejora la estimación del polo rápido (alta frecuencia, ver Figs.5.8 c) y d)). Es importante remarcar que los resultados son buenos en baja frecuencia a pesar que la ventana de tiempo observada es de 7nseg. Además en la Fig. 5.8 c) se puede ver que el sistema lineal aproxima relativamente bien al fraccionario (Cole-Cole).

Identificación en sistemas lineales fraccionarios

Se mostrarán ejemplos de identificación de modelos con dieléctricos Cole-Cole en medios de una sola capa. Esto se puede extender fácilmente a medios multi-capas.

Ejemplo 5. Sistema de un polo Cole-Cole

Para la demostración de la identificación de sistemas fraccionarios, comenzaremos con un dieléctrico Cole-Cole con parámetro α (ver Ec. 3.15). Supongamos que es un dieléctrico de una capa entonces la permitividad será:

$$\varepsilon(s) = \varepsilon_{\infty} + \frac{\Delta\varepsilon}{\left[1 + \left(\frac{s}{\omega_r}\right)^{1-\alpha}\right]}.$$

Suponiendo conductividad nula (y que observamos la señal en una ventana de tiempo lo suficientemente grande) entonces el parámetro $K \rightarrow 0$ (ver Ec.5.9), entonces la función de transferencia a identificar será:

$$G(s) = \frac{Y(s)}{U(s)} = \frac{\varepsilon(s)}{F}$$

donde $Y(s) = \frac{F_3(s)}{s}$ y $U(s) = F_2(s)$. Reemplazando la ecuación anterior se llega a:

$$G(s) = \frac{\frac{\varepsilon_{\infty}}{F} \left[1 + \left(\frac{s}{\omega_r}\right)^{1-\alpha}\right] + \frac{\Delta\varepsilon}{F}}{\left[1 + \left(\frac{s}{\omega_r}\right)^{1-\alpha}\right]}$$

$$\approx \frac{b_0 + b_1 s^{1-\alpha}}{1 + a_1 s^{1-\alpha}}.$$

Para obtener el regresor lineal de esta ecuación se debe observar el equivalente en tiempo:

$$y_f(t_k) = \varphi_f^T(t_k) \theta + v_f(t_k) =$$

$$= \begin{bmatrix} -D^{1-\alpha} y_f(t_k) & u_f(t_k) & D^{1-\alpha} u_f(t_k) \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} a_1 \\ b_0 \\ b_1 \end{bmatrix}$$

$$+ v_f(t_k)$$

Cuadro 5.1: Dieléctrico simulado.

ϵ_∞	$\Delta\epsilon$	f_r [MHz]	α
2,4	20	80	0,2

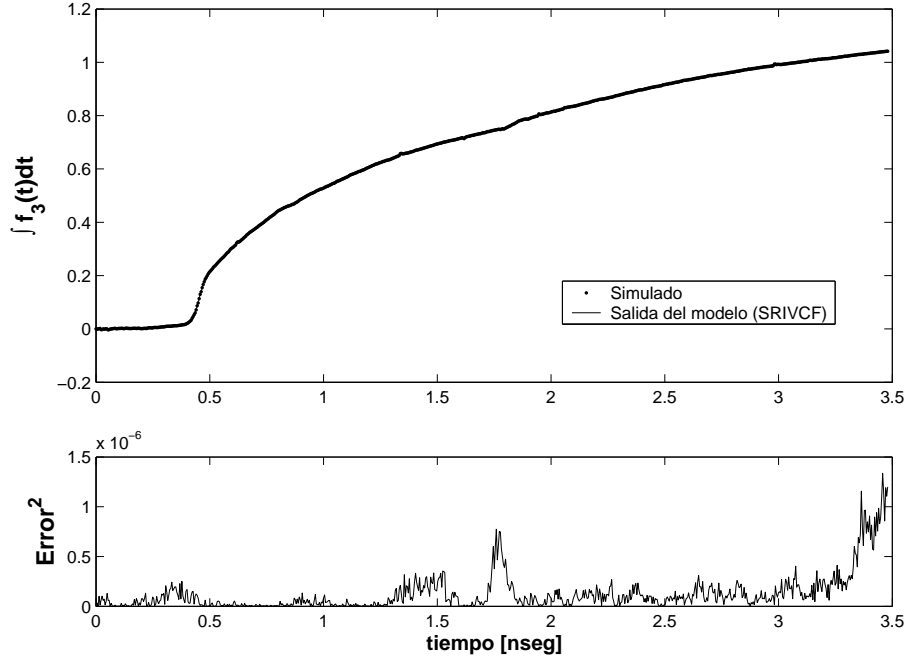


Figura 5.9: Salida del sistema fraccionario del ejemplo 5.

donde: $D^\beta x_f(t) = \mathcal{L}^{-1} \{F_\gamma(s)\} * D^\beta x(t)$ y $F_\gamma(s)$ es un filtro generalizado de Poisson o un filtro óptimo fraccionario. En esta ecuación también se tuvo en cuenta el modelado probabilístico ($v_f(t_k)$).

Como ejemplo se simula un dieléctrico con las características que se muestran en la Tabla 5.1 y el filtro utilizado para obtener la estima inicial de mínimos cuadrados es del tipo:

$$F_\gamma(s) = \frac{1}{\left[1 + \left(\frac{s}{2\pi \times 10^9}\right)^\gamma\right]}.$$

Las salidas de los sistemas simulado e identificado mediante el algoritmo SRIVCF se muestran en la Fig. 5.9. También se grafica el cuadrado del error de salida. Como se puede ver las dos señales están casi solapadas. En la Fig. 5.10 se muestran la parte real e imaginaria de los valores reales comparados con los identificados. Se compara en este caso con un sistema lineal con el mismo número de coeficientes (utilizando la rutina `srivc` del toolbox para matlab `CONTSID`). La elección del filtro de Poisson no tiene mayor incidencia en la estima final del SRIVCF, siempre y cuando no se filtren las frecuencias de interés. En este caso el valor elegido fue $\gamma = 0,8$. En la Tabla 5.2 se muestran los parámetros de evaluación

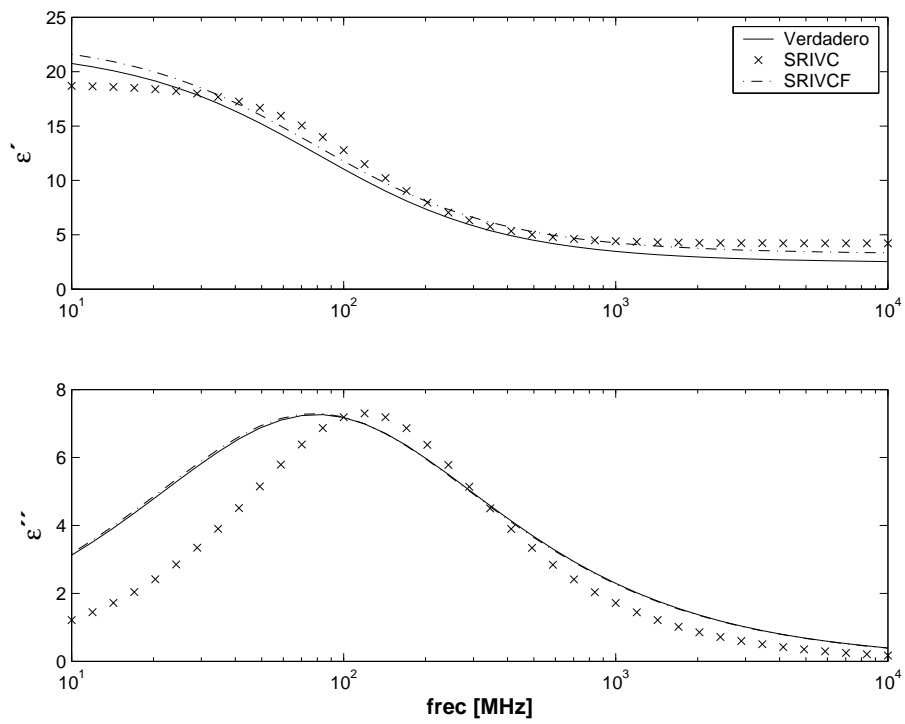


Figura 5.10: Permittividad de los sistemas identificados comparadas con el sistema verdadero del ejemplo 5.

Cuadro 5.2: Datos de evaluación del modelo identificado del ejemplo 5 variando el exponente fraccionario (α).

α	$J[dB]$	$YIC[dB]$	$FIT\%$
0,05	-40,4	-16,4	97,70
0,10	-42,9	-13,8	98,28
0,15	-50,6	-14,8	99,29
0,20	-69,0	-23,4	99,91
0,25	-51,3	-13,6	99,35
0,30	-45,4	-9,4	98,72

Cuadro 5.3: Mejor modelo identificado del ejemplo 5 ($\alpha = 0,2$).

Algoritmo	\hat{a}_1	\hat{b}_0	\hat{b}_1
<i>LSSVFF</i>	$3,6045 \times 10^{-8}$	$7,4889 \times 10^{-11}$	$5,2367 \times 10^{-9}$
<i>SRIVCF</i>	$3,8443 \times 10^{-8}$	0,7532	$4,1497 \times 10^{-9}$
Verdadero	$3,7998 \times 10^{-8}$	0,7280	$2,9638 \times 10^{-9}$

de los modelos identificados con *SRIVCF* cuando se varía el exponente fraccionario desde 0,05 a 0,3.

Como era de esperar los mejores parámetros se obtienen con $\alpha = 0,2$, el valor verdadero. Notar, sin embargo que el criterio *FIT* tiene valores similares en todos los modelos. El mejor modelo se muestra en la Tabla 5.3 comparado

Si al ejemplo anterior se le agrega una conductividad iónica al modelo de permitividad entonces los resultados en tiempo se muestran en la Fig. 5.11 y las permitividades encontradas en la Fig. 5.12.

Ejemplo 6. Sistema de dos polos: uno Debye y uno Cole-Cole

El siguiente ejemplo muestra la identificación de un sistema con un polo Debye y otro Cole-Cole. Supongamos que es un dieléctrico de una capa entonces la permitividad será:

$$\varepsilon(s) = \epsilon_{\infty} + \frac{\Delta\epsilon_1}{1 + \frac{s}{\omega_1}} + \frac{\Delta\epsilon_2}{1 + \left(\frac{s}{\omega_2}\right)^{\alpha}} \quad (5.91)$$

y la función de transferencia a identificar será:

$$G(s) = \frac{\varepsilon(s)}{F}. \quad (5.92)$$

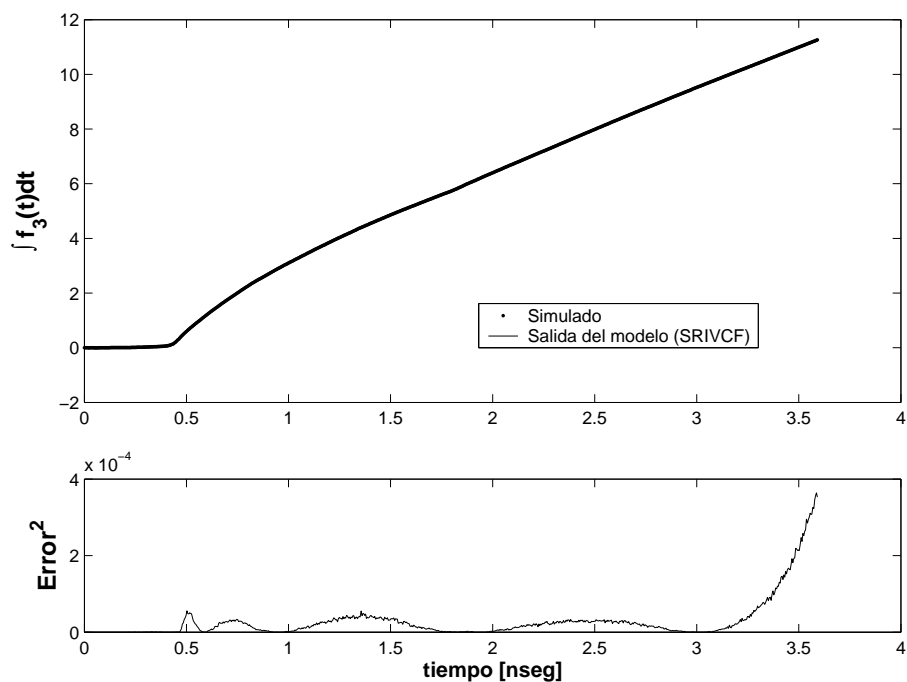


Figura 5.11: Salidas simuladas y estimadas con el sistema identificado del ejemplo 5 con el agregado de una conductividad.

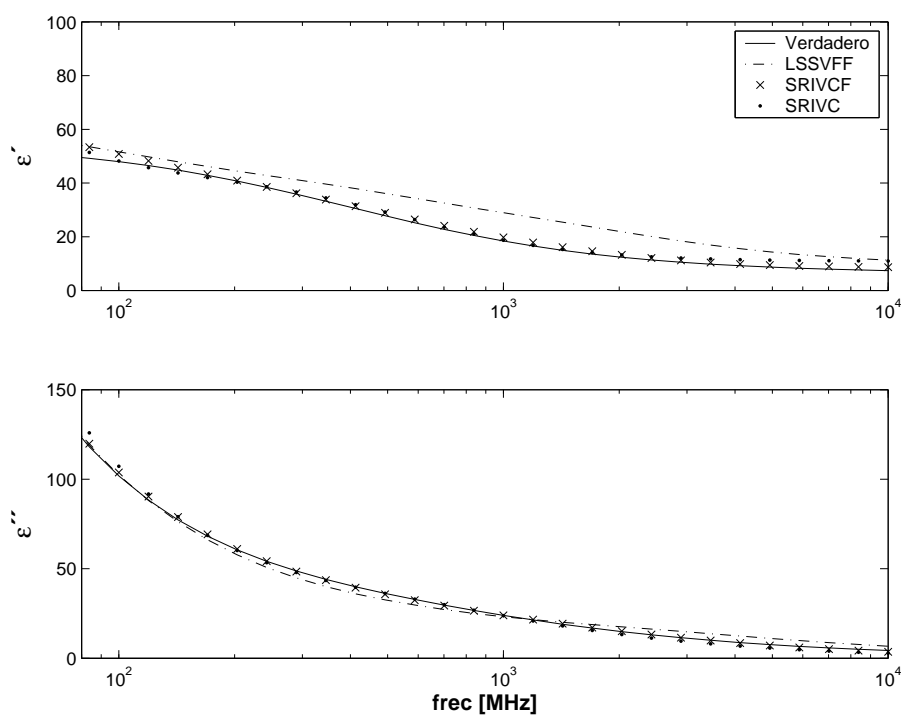


Figura 5.12: Permitividad de los sistemas identificados comparadas con el sistema verdadero del ejemplo 5 con el agregado de una conductividad.

En esta ecuación no aparece el factor $\frac{K}{s}$ porque el parámetro $K \rightarrow 0$ debido a que es un dieléctrico sin conductividad. Observando este modelo, el polinomio fraccionario a identificar será:

$$G(s) = \frac{\varepsilon(s)}{F} = \frac{\epsilon_{\infty} \left(1 + \frac{s}{\omega_1}\right) \left[1 + \left(\frac{s}{\omega_2}\right)^{\alpha}\right] + \Delta\epsilon_1 \left[1 + \left(\frac{s}{\omega_2}\right)^{\alpha}\right] + \Delta\epsilon_2 \left(1 + \frac{s}{\omega_1}\right)}{F \cdot \left(1 + \frac{s}{\omega_1}\right) \left[1 + \left(\frac{s}{\omega_2}\right)^{\alpha}\right]} \quad (5.93)$$

$$\approx \frac{b_0 + b_1s + b_2s^{\alpha} + b_3s \cdot s^{\alpha}}{1 + a_1s + a_2s^{\alpha} + a_3s \cdot s^{\alpha}}$$

su contraparte en tiempo, teniendo en cuenta la parte probabilística ($v(t)$), será:

$$y_f(t_k) = \varphi_f^T(t_k) \theta + v_f(t_k) =$$

$$= \left[\begin{array}{ccccccc} -\frac{dy_f(t_k)}{dt} & -D^{\alpha}y_f(t_k) & -D^{\alpha+1}y_f(t_k) & u_f(t_k) & \frac{du_f(t_k)}{dt} & D^{\alpha}u_f(t_k) & D^{\alpha+1}u_f(t_k) \end{array} \right] \cdot \begin{bmatrix} a_1 \\ a_2 \\ a_3 \\ b_0 \\ b_1 \\ b_2 \\ b_3 \end{bmatrix} + v_f(t_k) \quad (5.94)$$

donde: $D^{\beta}x_f(t) = \mathcal{L}^{-1}\{F_{\gamma}(s)\} * D^{\beta}x(t)$ y $F_{\gamma}(s)$ es un filtro generalizado de Poisson o un filtro óptimo fraccionario.

Capítulo 6

Resultados

En este capítulo se comentarán los resultados de esta tesis. Se divide en tres secciones, una referida a las mediciones dieléctricas, otra referida a las de ultrasonido y finalmente se comparan con la literatura y se correlacionan los resultados en muestras humanas.

Entre los resultados dieléctricos hemos desarrollado tres experimentos. Primeramente se validarán los resultados teóricos obtenidos en la sección 3.4 con medios multi-capa de propiedades dieléctricas conocidas, esto constituye el experimento 1¹. En el experimento 2 estudiamos las propiedades dieléctricas en hueso bovino comparando mediciones invasivas y no invasivas. En el experimento 3, lo que consideramos el aporte más significativo de esta tesis, se estudian las propiedades dieléctricas en hueso trabecular humano. Cabe destacar que en los experimentos 2 y 3 se utilizaron configuraciones del tipo dos capas (haciendo uso de los modelos testeados en el experimento 1) para salvar el inconveniente del contacto línea-muestra en el caso de superficies tan irregulares como la de las muestras óseas (ver [43, 63]).

En la sección de los resultados de ultrasonido se presentará el desarrollo de los experimentos por transmisión y reflexión. Si bien no son experimentos novedosos, para el procesamiento se utilizó la técnica de onditas (en transmisión) cuya aplicación al ultrasonido es bastante reciente.

Por último compararemos los resultados obtenidos en las muestras humanas con datos de literatura y se correlacionarán los parámetros medidos.

6.1. Resultados en mediciones dieléctricas

6.1.1. Equipamiento

En general en la mayoría de los experimentos desarrollados utilizamos el siguiente equipamiento. Para las mediciones dieléctricas en tiempo un osciloscopio de muestreo Hewlett-

¹Las validaciones en mediciones dieléctricas generalmente se realizan utilizando alcoholes (n-propanol, etanol, n-butanol, etc. ver [79]). En la tesina de grado del autor se obtuvieron las constantes de celda (C_0 y C_f) mediante mediciones en medios semi-infinitos de alcoholes. Es decir, la línea coaxial abierta sumergida en el alcohol. Estos resultados no se presentarán en esta tesis.

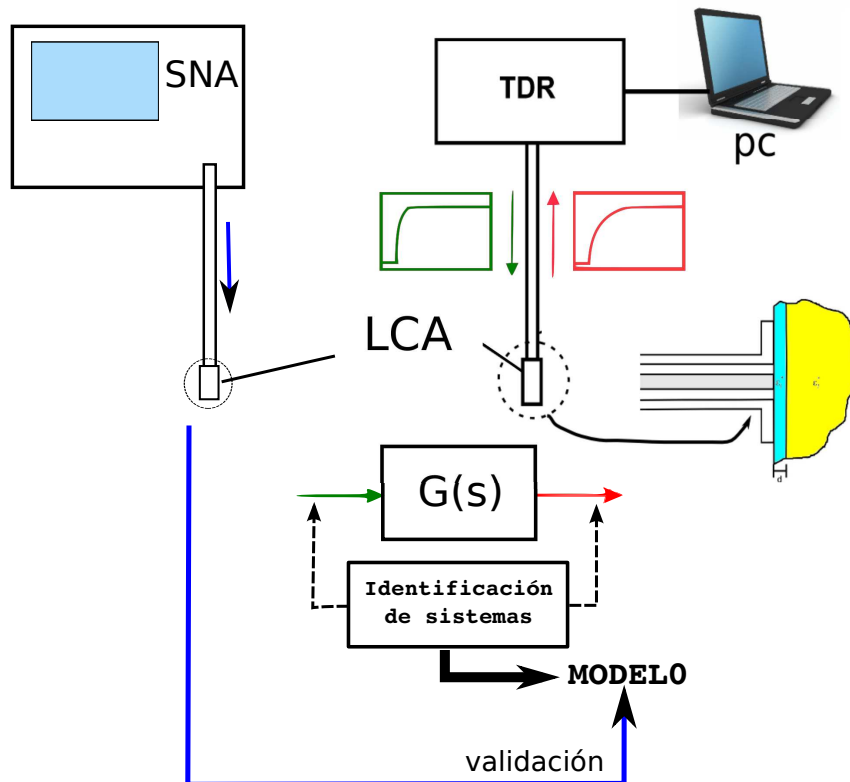


Figura 6.1: Esquema del equipamiento usado en las mediciones dieléctricas en dominio del tiempo y mediciones complementarias para validación.

Packard 1801A que junto con partes adicionales como Hewlett-Packard TDR/Sampler 1815B plug in, una cabeza de muestreo HP1106A y un diodo túnel HP1106 constituyen el conjunto generador de señal rápida y adquisidor. Con este equipamiento se obtuvieron las señales para el proceso de identificación. De esta manera se genera un escalón de tensión de $200mV$ de $35pseg$ de tiempo de subida. Esto hace que la señal de entrada del sistema tenga un amplio espectro². Esta señal es aplicada a la celda (la línea coaxial abierta por ejemplo). Como medición complementaria de validación (además de los parámetros presentados en la sección 5.5) también se midió el módulo del coeficiente de reflexión ($|\Gamma^*(s)|_{med}$ con $s = j\omega$) de la línea con un Analizador de Redes Escalar (SNA) HP8711A desde 10 a $1300MHz$. Para cuantificar el ajuste del sistema identificado con una medición completamente independiente, utilizaremos una magnitud relacionada con esta medición complementaria que denominamos FIT_f . Compara los coeficientes de reflexión en frecuencia calculado y

²En general se pueden utilizar otras entradas (con un espectro más plano, por ejemplo: señales binarias pseudoaleatorias (PRBS)) para los procesos de identificación que cumplan con la condición de persistencia de la excitación (ver [55]).

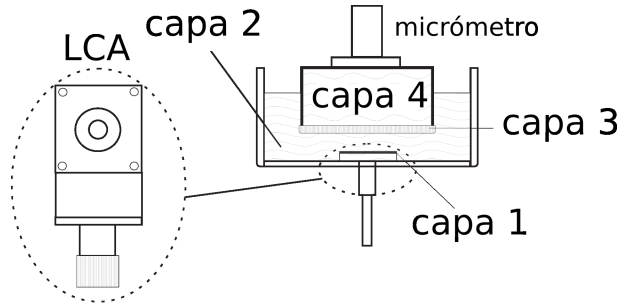


Figura 6.2: Medio multicapa de calibración.

medido:

$$FIT_f = 100 \frac{[1 - \text{norm}(|\Gamma^*(j\omega)|_{id} - |\Gamma^*(j\omega)|_{med})]}{\text{norm} [|\Gamma^*(j\omega)|_{med} - \overline{|\Gamma^*(j\omega)|_{med}}]} \quad (6.1)$$

donde $|\Gamma^*(j\omega)|_{id}$ es el módulo de coeficiente de reflexión calculado con la admitancia resultante del proceso de identificación:

$$Y(j\omega)|_{id} = j\omega \left(C_0 \varepsilon_{ap}^*(j\omega)|_{id} + C_f \right)$$

En la Fig. 6.1 se esquematiza el proceso de mediciones dieléctricas y las mediciones complementarias para validación.

Las conexiones entre los instrumentos de medición y las muestras se realizaron mediante líneas coaxiales flexibles marca Pasternack® y conectores tipo N. En cuanto a las celdas utilizadas además de la línea APC7 con su correspondiente circuito abierto ($2b = 7mm$ utilizado como celda coaxial abierta), fabricamos dos líneas coaxiales abiertas con diámetro externos $2b = 10mm$ y $16mm$, respectivamente. Otra celda utilizada en algunos de los experimentos fue la celda invasiva desarrollada por Yu D. Feldman ([22]), que consiste en un capacitor cilíndrico al final de una línea APC7 (ver experimento 2).

La temperatura fue controlada mediante un crióstato LAUDA RE106.

6.1.2. Experimento 1: modelo matemático multi-capa

En el este experimento se busca observar la validez del modelo matemático para líneas coaxiales abiertas descrito en la sección 3.4. Se desarrolló el dispositivo mostrado en la Fig. 6.2. Para la verificación con diferentes líneas coaxiales, se le pueden adaptar fácilmente líneas de diferente diámetro externo. Los tipos de estructuras que se pueden implementar son film/líquido/film/líquido. Consta de un calibre que permite medir el ancho de la segunda capa, mientras que la primera (film de nylon que recubre la línea coaxial abierta) y la tercera (film de nylon) se mantienen de ancho constante. La cuarta capa consta de un recipiente cuyo fondo es la tercer capa.

Para la medición de un medio tres capas, se debe remover el film de nylon que recubre la

Cuadro 6.1: Medio de dos capas de comparado con el modelo empírico utilizando una línea coaxial abierta de $10mm$ de diámetro externo (se toma el parámetro empírico $q = 0,85mm^{-1}$ y $d_1 = 0,5mm$).

	identificado			empírico	
	ϵ_s	ϵ_∞	FIT_f	ϵ_s	ϵ_∞
2-propanol	11.8	6.2	63%	7.9	2.5
1-butanol	7.5	2.9	68%	7.3	2.5
etanol	9.8	2.6	63%	9.6	3.0

línea coaxial abierta. Las estructuras en este caso serán líquido/film/líquido.

Sin el film de nylon que recubre la celda coaxial y adaptando un cubo de teflón al calibre (como segunda capa) se puede medir un medio de dos capas.

En la Tabla 6.1 se muestran los resultados de un modelo de dos capas del tipo: alcohol/teflón con un ancho de la primer capa $d_1 = 0,5mm$ identificado con bases ortogonales (Algoritmo OBFP ver sección 5.3.1) inicializado a partir de valores de frecuencia de relajación de literatura. Se compara con un modelo empírico previamente obtenido utilizando las Ecs. (3.28) y (3.34).

Los experimentos con cuatro capas se detallan a continuación. La primer capa es de nylon ($d_1 \approx 0,01mm$) cubriendo la línea coaxial abierta. En la capa dos de ancho variable generalmente se utilizó agua destilada o solución fisiológica. La capa tres es otro nylon de ancho aproximado de $0,1mm$ y la capa cuatro se cambió midiendo varios alcoholes.

Como ejemplo de aplicación del procedimiento explicado en la sección 5.3, se midió una configuración de calibración de cuatro capas: film de nylon / agua destilada / film de nylon / 1-butanol con espesores $0,01/0,5/0,1/\infty mm$, respectivamente. Para el proceso de identificación seguimos el ejemplo 3 detallado en el capítulo 5. La Fig. 6.3 muestra los resultados obtenidos con una línea coaxial abierta de $16mm$ de diámetro externo. En la Fig. 6.3 a) se ven las dos señales medidas en tiempo, entrada ($f_2(t)$) y salida ($f_3(t)$) del sistema a identificar. En la Fig. 6.3 b) se muestra la integral de la salida estimada comparada con la medida³. En la Fig. 6.3 c) se muestran los datos de validación en frecuencia comparado con la estimación dada por la permitividad estimada (Ec. 6.1). Algo para remarca es que si tenemos en cuenta que la frecuencia de relajación del 1-butanol a $25^\circ C$ es $314MHz$ y reemplazamos los valores tanto en el modelo teórico variacional como en el empírico notaremos que la frecuencia de la permitividad aparente se corre a $460MHz$. Esto interesantemente se verifica en las funciones de transferencia estimadas en las mediciones (ver Fig.6.3 d)).

En la Fig. 6.4 se muestra otro arreglo, esta vez de tres capas: agua/film de nylon/2-propanol, variando el ancho de la capa de agua con una línea de $10mm$ de diámetro externo.

³Se debe aclarar que en los métodos de identificación es necesario que las funciones de transferencia de los sistemas a identificar sean propios, es decir que el grado del polinomio denominador sea mayor o igual al del numerador. Esta es la razón por la cual se debe utilizar como función de salida la integral de $f_3(t)$ (por ejemplo ver Ec. 5.9)

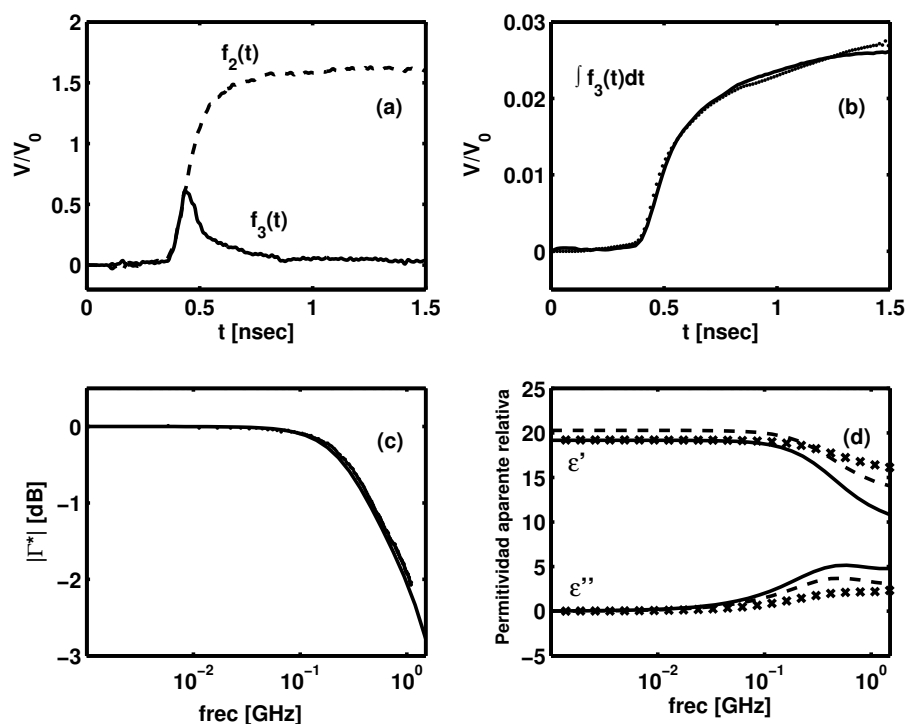


Figura 6.3: Calibración en una geometría de cuatro capas usando una línea coaxial abierta de 16mm de diámetro externo (ver texto). (a) Señales de entrada y salida filtradas. (b) Datos de validación en tiempo (modelo estimado en línea continua y medido en línea de puntos). (c) Datos de validación en frecuencia (modelo estimado en línea continua y medido en línea de puntos). (d) Permittividad aparente estimada (línea continua), empírica (x) y teórica (en línea a rayas).

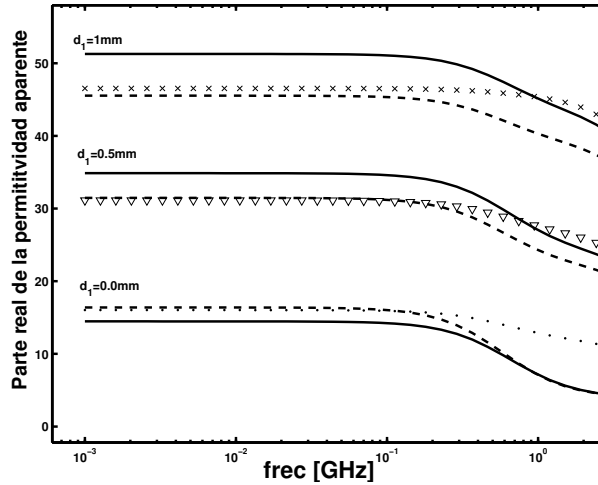


Figura 6.4: Modelos de tres capas comparados: teóricos (en línea continua), empíricos (en rayada) y medidos (en x, ∇ y puntos). Las tres capas fueron: agua (con ancho variable) / film de nylon ($d_2 = 0, 1mm$) / 2-propanol con una línea coaxial abierta de $10mm$.

Cuadro 6.2: Datos de validación en frecuencia. Parámetros FIT_f para medios de tres y cuatro capas.

	3 capas ($10mm$ o.d.)			4 capas ($16mm$ o.d.)		
$d_1 [mm]$	~ 0.0	0.5	1.0	0.01		
$d_2 [mm]$	0.1			~ 0.0	0.5	1.0
estructura 1	75 %	74 %	84 %	81 %	82 %	78 %
estructura 2	50 %	55 %	62 %	51 %	72 %	61 %

Las Figs. 6.4-6.5 muestran distintos medios de calibración y los resultados de las mediciones. La Tabla 6.2 muestra los datos de validación en frecuencia (FIT_f) obtenidos en medios de tres y cuatro capas, usando las líneas de $10mm$ y $16mm$ de diámetro externo, respectivamente. En el arreglo de tres capas se utilizó agua / nylon / 2-propanol, esto es la estructura 1. La estructura 2 de tres capas en lugar de agua se utilizó 0,45 % de solución salina. Para el medio de cuatro capas, la línea de $16mm$ de diámetro externo se cubrió con un film de nylon. Los medios son similares a los comentados anteriormente. La Fig.6.5 muestra los datos de validación del medio de cuatro capas.

Como resultado más interesante de este experimento se puede destacar la verificación del modelo variacional de una línea coaxial abierta a un medio multicapa. Si bien en las referencias [4,20] se midieron algunos, en esta tesis se comparan varios medios de calibración con distintas configuraciones y más capas, hasta un máximo de cuatro. El acuerdo con los modelos empíricos es relativamente bueno, lo que alienta su utilización en el modelado de sistemas multicapa.

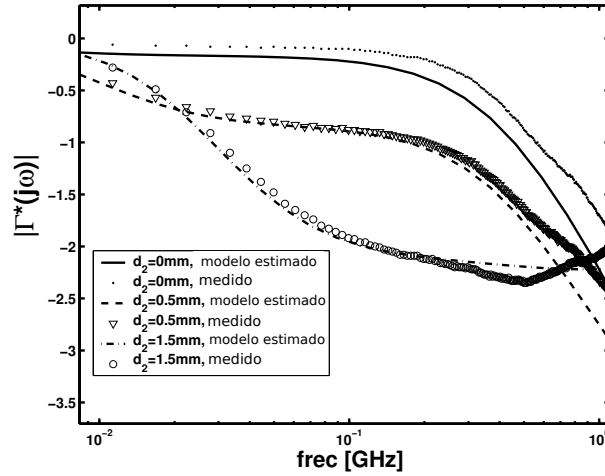


Figura 6.5: Datos de validación en frecuencia para un medio de cuatro capas usando una línea de 16mm con ancho variable de la segunda capa: film de nylon ($d_1 = 0,01\text{mm}$) / 0,45% solución de NaCl / film de nylon ($d_3 = 0,1\text{mm}$) / 2-propanol.

6.1.3. Experimento 2: Resultados en matrices de colágeno

En este caso, el experimento se diseñó para obtener una estima de las propiedades dieléctricas de las muestras cúbicas y de los discos de hueso bovino descritos en la sección 2.3.1. Se comparan las mediciones en estado nativo y totalmente desmineralizado de tal manera de observar si se cumplen los resultados propuestos por los autores en [44], pero ahora en mediciones no invasivas. Las muestras se midieron exactamente después de extraídas de heladera (ver capítulo 2 sección 2.3.1). Como se adelantara, se realizaron mediciones del tipo invasivas (disco de tejido óseo) y no invasiva (cubos). En las primeras se secó previamente la muestra y se introdujo en la celda invasiva (capacitor cilíndrico). En las no invasivas se midió fijando un espesor de $0,5\text{mm}$ entre la línea coaxial abierta (10mm de diámetro externo) y la muestra. Llenando el espacio intermedio con agua bi-distilada. Como consecuencia se mide un arreglo del tipo bi-capa. El objetivo de esta configuración es salvar los inconvenientes de contacto línea-muestra.

A continuación se describe el procedimiento:

1. Extracción de la muestra de la heladera hasta lograr que esté a temperatura ambiente.
2. Enjuague de la muestra con la misma tanda de agua bi-distilada que se utilizará para formar la primer capa.
3. Llenado del dispositivo de la Fig. 6.8 (o introducción del disco de hueso en el capacitor cilíndrico) y estabilización de la temperatura a 20°C .
4. Medición con TDR con ancho de la primer capa fijo en $d_1 = 0,5\text{mm}$ (o en el caso de los discos, medir la celda coaxial capacitiva).

5. Repetir la medición con el SNA el mismo ancho de capa (o del capacitor en el caso de las mediciones invasivas).

En lo que respecta al procesamiento de las señales, se deben estimar los modelos con los diferentes algoritmos detallados en el capítulo 5. En este experimento seguimos los siguientes pasos:

1. Identificación con método indirecto (por ejemplo: rutina `oe` del toolbox de identificación de sistemas de Matlab y posteriormente convertir en continuo el sistema discreto identificado, rutina `d2c`).
2. Identificación mediante SRIVC, método directo⁴.
3. Validar los modelos comparando el coeficiente de reflexión medido con el SNA con el estimado a partir de la permitividad aparente obtenida anteriormente.
4. Desafectar la primer capa utilizando Ec. 3.34 y las propiedades dieléctricas del agua bi-destilada y ancho ($0,5mm$).
5. Obtención de $\varepsilon'(j\omega)$ y $\sigma(j\omega)$.

La Fig. 6.6 muestra una típica medición invasiva en un disco de hueso cortical en estado natural. En la Fig. 6.6 b) se muestra la comparación de los errores en tiempo (*salida medida - salida del sistema identificado*) de los sistemas identificados (discreto y continuo). En la Fig. 6.6 d) se muestra la permitividad y conductividad obtenida con el mejor modelo identificado. La Fig. 6.7 muestra una medición no invasiva de hueso trabecular utilizando el modelo de dos capas para salvar el problema del contacto.

Para interpretar estos datos se puede suponer un modelo de permitividad de la forma:

$$\varepsilon(s) = \varepsilon_{\infty} + \frac{\Delta\varepsilon_{bf}}{\left[1 + \frac{s}{\omega_{bf}}\right]} + \frac{\Delta\varepsilon_{mf}}{\left[1 + \frac{s}{\omega_{mf}}\right]} + \frac{\Delta\varepsilon_{af}}{\left[1 + \frac{s}{\omega_{af}}\right]}. \quad (6.2)$$

donde ω_{bf} , ω_{mf} y ω_{af} son las frecuencias de relajación en baja ($< 50MHz$), media ($50MHz < f < 1300MHz$) y alta frecuencia (de manera similar se definen los $\Delta\varepsilon_{if}$). En la Tabla 6.3 se muestran los parámetros Debye obtenidos para las muestras invasiva (discos) en el rango de frecuencias que va desde los $80MHz$ hasta $1300MHz$ para hueso cortical y trabecular en los estados natural y descalcificado.

En la Tabla 6.4 se muestran los parámetros Debye obtenidos para las muestras no invasivas de cortical y trabecular en estado nativo y desmineralizado. En ambas Tablas (6.3 y 6.4) el parámetro ε_{mf} es la parte real de la permitividad estimada evaluada en $f = 80MHz$ (este es el límite inferior de nuestra estimación mediante TDR).

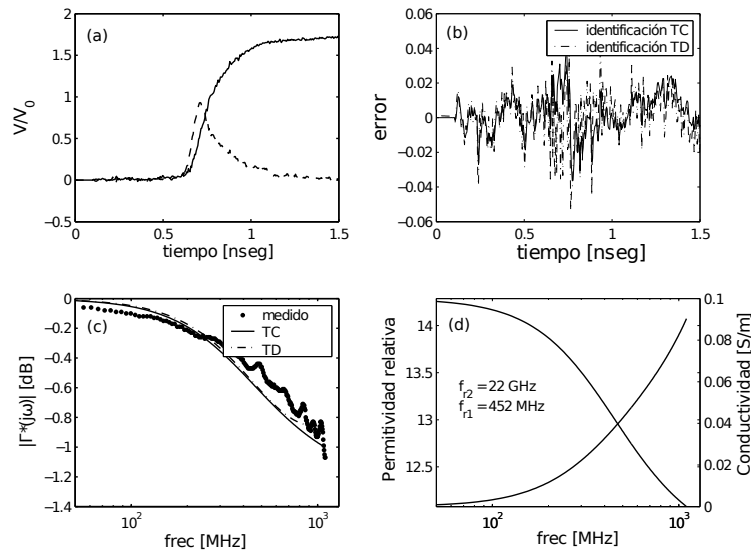


Figura 6.6: Medición invasiva en hueso cortical en estado natural. (a) Datos medidos en tiempo. (b) Errores con identificación con sistema discretos y continuos. (c) Validación en frecuencia. (d) Permitividad y conductividad obtenida con el mejor modelo.

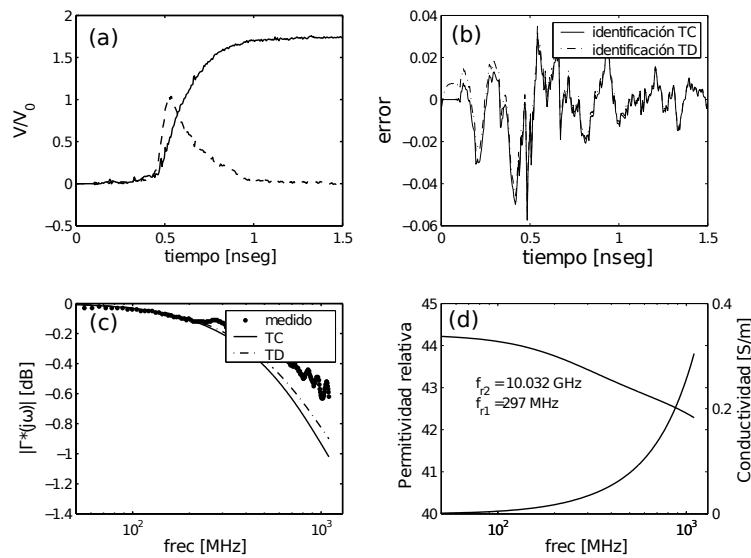


Figura 6.7: Medición no invasiva de 0,5mm de agua bi-distilada/hueso cortical en estado natural. (a) Datos medidos en tiempo. (b) Error observado con identificación discreta y continua. (c) Datos de validación en frecuencia. (d) Permittividad y conductividad obtenidas (luego de desafectar la primer capa) utilizando el mejor modelo.

Cuadro 6.3: Mediciones invasivas (discos) en hueso cortical y trabecular (Muestras 1 y 2, respectivamente). Parámetros extraídos de los mejores modelos de tiempo continuo (mejor FIT_f con algoritmo SRIVC).

	Muestra 1 (nat.)	Muestra 1 (desm.)	Muestra 2 (nat.)	Muestra 2 (desm.)
ϵ_{mf}	14,8	27,5	16,0	42,6
$\Delta\epsilon_{mf}$	2,1	1,8	1,8	2,3
f_r	452MHz	247MHz	580MHz	264MHz

Cuadro 6.4: Mediciones no invasivas (cubos) en hueso cortical y trabecular (Muestras 3 y 4, respectivamente). Parámetros extraídos de los mejores modelos de tiempo continuo (mejor FIT_f con algoritmo SRIVC).

	Muestra 3 (nat.)	Muestra 3 (desm.)	Muestra 4 (nat.)	Muestra 4 (desm.)
ϵ_{mf}	21,2	29,9	23,8	51,1
$\Delta\epsilon_{mf}$	2,8	2,8	3,7	7,8
f_r	350MHz	174MHz	442MHz	112MHz

Los resultados presentados en las Tablas 6.3 y 6.4, en principio, están de acuerdo con los presentados por [37, 44]. Esto es, que los procesos de polarización en los cientos de MHz son debidos al movimiento de las cadenas laterales de colágeno. La justificación de esta hipótesis es el aumento de la permitividad y la disminución de la frecuencia de la relajación debido al aumento del momento de inercia de la molécula de colágeno (las cadenas laterales están más libres).

En cuanto a la comparación de las mediciones invasivas y no invasivas, es claro que se obtienen valores de permitividad más elevados. Esto está de acuerdo con lo publicado en [83], en donde se encontraron correlaciones positivas con el contenido de agua. En nuestro caso, en las mediciones no invasivas las muestras estaban completamente embebidas en agua. Esto contribuye a que se llenen todos los poros del tejido, cosa que no ocurre cuando se miden los discos, en los cuales se secó previamente la muestra. Hay que destacar que los comportamientos son similares en ambos casos.

6.1.4. Experimento 3: Resultados en muestras humanas

Este experimento se diseñó para obtener una estima robusta de las propiedades dieléctricas de las muestras cilíndricas de hueso trabecular humano descritas en la sección 2.3.1. Como se explicó en la sección anterior los modelos multi-capas son útiles para salvar el inconveniente del contacto línea coaxial abierta-muestra. En la medición de las muestras cilíndricas trabeculares también optamos por una configuración de dos capas: la primera

⁴Si bien la propuesta de un modelo de sistema lineal no es del todo adecuado, para observar los resultados que se desean probar no se hace necesaria la aplicación de sistemas fraccionarios (ver [44]).

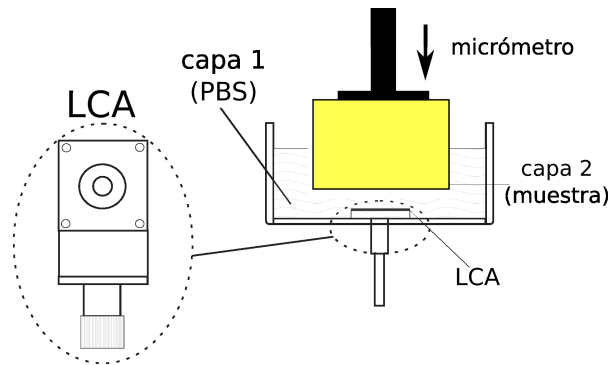


Figura 6.8: Configuración para la medición de muestras cilíndricas de hueso trabecular humano variando el ancho de la primera capa es PBS.

solución fisiológico (PBS en el que fueron almacenadas las muestras) y la segunda la muestra cilíndrica. Para esto, se debió adaptar el dispositivo de la Fig. 6.2 de tal manera que se pueda colocar la muestra cilíndrica. La Fig.6.8 muestra la configuración utilizada. En esta configuración se utilizó la línea coaxial abierta de $7mm$ de diámetro externo.

Calibración

Primeramente se calibró un medio de dos capas con un cilindro de teflon de tamaño similar al de las muestras humanas (ver Fig. 6.9) y se comparó con una muestra cúbica de teflon de tamaño mayor (suponiendo un medio semi-infinito). El objeto de esto es observar si una muestra de $11mm$ de diámetro puede ser “vista” como un medio semi-infinito. En la Fig. 6.9 se muestran las mediciones en tiempo de agua destilada y agua destilada / teflon variando el ancho de la segunda capa. Como se puede ver hay una buena coincidencia. En la Fig. 6.10 se muestra la conductividad aparente (extraída directamente en tiempo⁵) y la estimada mediante el modelo empírico (Ec. 3.34 con $q = 1,5192$) de otro medio de calibración: PBS / cilindro de teflon.

Procedimiento de medición

La idea central es tomar varios anchos de la primera capa (PBS) moviendo la segunda capa (muestra cilíndrica). Se utilizó la misma tanda de PBS para todas las muestras (del mismo contenedor), incluso los enjuagues previos a las mediciones también se hicieron con el mismo PBS.

1. Extracción de la muestra del freezer hasta lograr que esté a temperatura ambiente.

⁵Notar que la conductividad aparente (σ_{ap}) puede ser calculada directamente en tiempo mediante:

$$\sigma_{ap} = \frac{\epsilon_0 f_3(\infty)}{C_0 Z_0 f_2(\infty)}$$

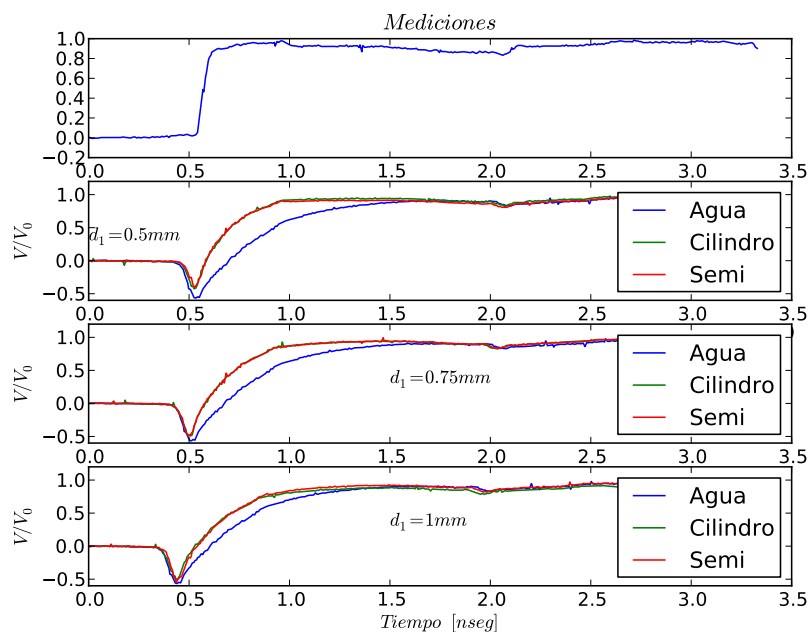


Figura 6.9: Calibración agua destilada / teflón con línea de 7mm variando la distancia de la capa de agua, medida con un cilindro de tamaño similar al de las muestras óseas y un cubo suficientemente grande como para simular una capa infinita en ambas direcciones.

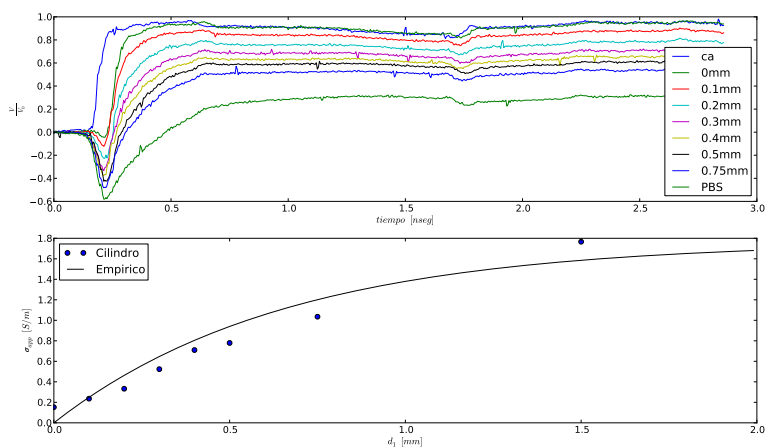


Figura 6.10: Calibración PBS/teflón con línea de 7mm variando la distancia de la capa de PBS, medida con un cilindro de tamaño similar al de las muestras óseas y un cubo suficientemente grande como para simular una capa infinita en ambas direcciones (parámetros del modelo empírico $C_0 = 0,051pF$, $q = 1,5192$ y σ es la conductividad medida en dominio de tiempo midiendo sólo PBS).

2. Enjuague de la muestra con la misma tanda de PBS que se utilizará para formar la primer capa.
3. Llenado del dispositivo de la Fig. 6.8 y estabilización de la temperatura a $20^{\circ}C$.
4. Medición con TDR desde ancho de la primer capa $\approx 0,0$ a $0,6mm$ con paso $0,1mm$.
5. Repetir la medición con el SNA con los mismos anchos de capa.
6. Finalmente también se realizaron mediciones complementarias con otras dos líneas coaxiales abiertas (5 y $10mm$ de diámetro externo) y en baja frecuencia.

En lo que respecta al procesamiento de las señales, se deben estimar los modelos con los diferentes algoritmos detallados en el capítulo 5. En este experimento seguimos los siguientes pasos:

1. Identificación mediante SRIVC, método directo.
2. Validar los modelos comparando el coeficiente de reflexión medido con el SNA con el estimado a partir de la permitividad aparente obtenida anteriormente.
3. Desafectar la primer capa utilizando Ec. 3.34 y propiedades dieléctricas del PBS (por literatura o medidas).
4. Mejora de los modelos utilizando SRIVCF. Búsqueda del exponente fraccionario.
5. Obtención de $\varepsilon'(j\omega)$ y $\sigma(j\omega)$ ⁶.

En la Fig. 6.11 se muestran los datos temporales de la salida medida y estimada por el algoritmo SRIVC para una muestra en particular. También se grafican los errores cuadráticos (notar que siempre son menores que 3×10^{-6}).

En la Fig. 6.12 se muestran los datos de validación de los modelos identificados mediante el algoritmo SRIVCF utilizando un modelo de un polo tipo Cole-Cole (exponente fraccionario $1 - \alpha$) y una conductividad. En la Fig. 6.12 (a) se muestra la búsqueda del exponente fraccionario para un ancho de la primer capa fijo en $0,1mm$ tratando de encontrar el menor valor de J_{dB} (ver la sección 5.5). Como se puede observar el mínimo se obtiene en $\alpha \approx 0,15$. En la Fig. 6.12 (b) se muestran los datos de validación en frecuencia midiendo el módulo del coeficiente de reflexión ($|\Gamma^*(j\omega)|$) con el analizador escalar (SNA).

En la Fig. 6.13 se grafica el valor medio de la permitividad y la conductividad de una muestra en particular en función del logaritmo de la frecuencia, las barras de error equivalen a una desviación estándar. En la Fig. 6.14 se grafican las permitividades y conductividades aparentes obtenidas de la muestra que se viene desarrollando, a partir de los modelos lineales y fraccionarios.

Al observar las Figs. 6.12 y 6.14 se puede decir que el modelo fraccionario identificado

⁶Para obtener una media y una desviación estándar de los parámetros medidos se utilizan todas las mediciones desde $0,0$ hasta $0,5mm$.

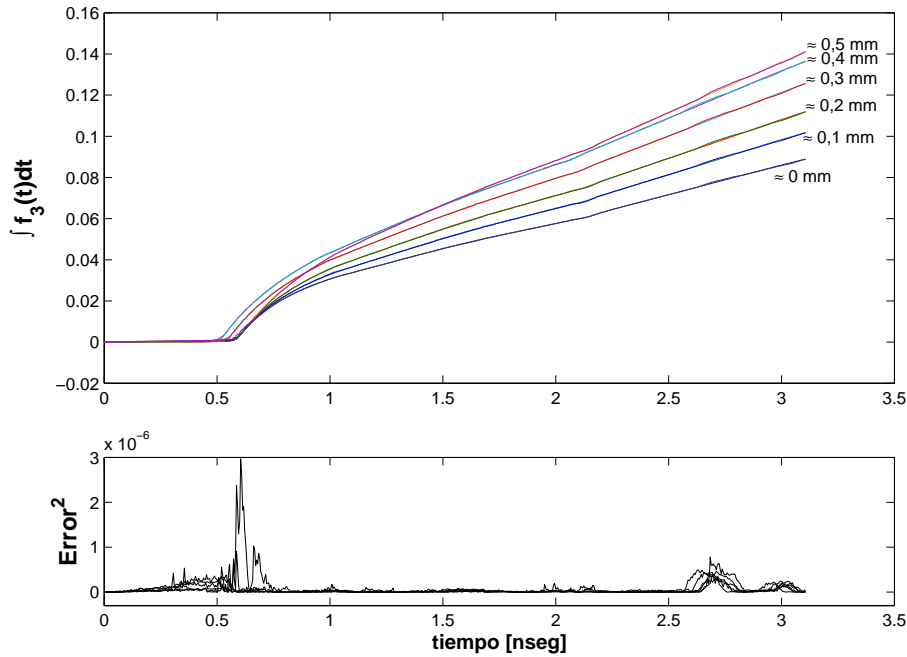


Figura 6.11: Datos en tiempo medidos y de los modelos identificados mediante el algoritmo SRIVC, para anchos de la primer capa desde $\approx 0,0$ a $0,5$ mm con paso $0,1$ mm. También se grafica el error cuadrático.

mejora la estimación de los valores para baja frecuencia (< 100 MHz). Esto se deduce de la validación con el coeficiente de reflexión (Fig. 6.12 b). El valor obtenido del parámetro J_{dB} para el modelo identificado con el algoritmo SRIVC fue siempre menor que el obtenido con los modelos fraccionarios. Esto indica que sin las mediciones en frecuencia no hubiéramos distinguido cual de los dos fue el mejor modelo. Hay que remarcar que en el rango que va desde los 100 MHz y 1300 MHz (nuestro límite en alta frecuencia) las estimas con los modelos lineales y fraccionarios son muy similares.

Si bien los rangos de frecuencia encontrados en literatura son menores a los de esta tesis, si se observan los valores extrapolados, los resultados mostrados hasta aquí están de acuerdo con los publicados por [72]. Esto es, valores medios de 80 para una frecuencia de 1 MHz. Si se extrapolan los valores de [81], los obtenidos en esta tesis son un poco mayores.

6.2. Resultados en mediciones de Ultrasonido

Las mediciones de ultrasonido se realizaron en las mismas muestras de tejido óseo trabecular humano mencionadas en el experimento 3 de mediciones dieléctricas.

Todos los experimentos de ultrasonido fueron desarrollados en cooperación con el Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI), en su sede Miguelete, y el Gabinete de Biomecánica de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de Buenos Aires (FI-UBA). En particular trabajamos con Martín Cagnoli y la profesora Eugenia Blangino.

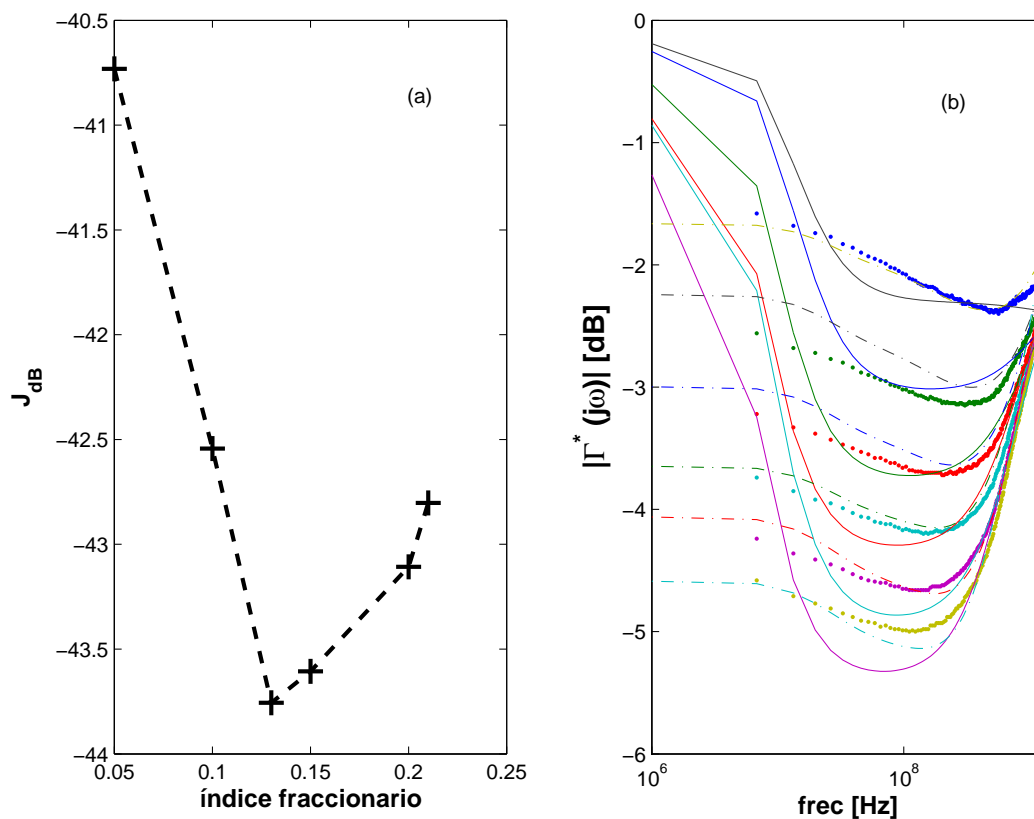


Figura 6.12: Búsqueda del “mejor” modelo. (a) J_{dB} para un ancho de primer capa fijo $0,1mm$ variando el índice fraccionario hasta conseguir el mínimo. (b) Coeficiente de reflexión ($|\Gamma^*(j\omega)|$) medido con SNA (en puntos), obtenido a partir del mejor modelo identificado con SRIVC (en líneas continuas) y del mejor modelo fraccionario identificado con SRIVCF (en líneas punto y raya). En todos los casos anchos de la primer capa van desde $\approx 0,0$ a $0,5mm$ con paso $0,1mm$.

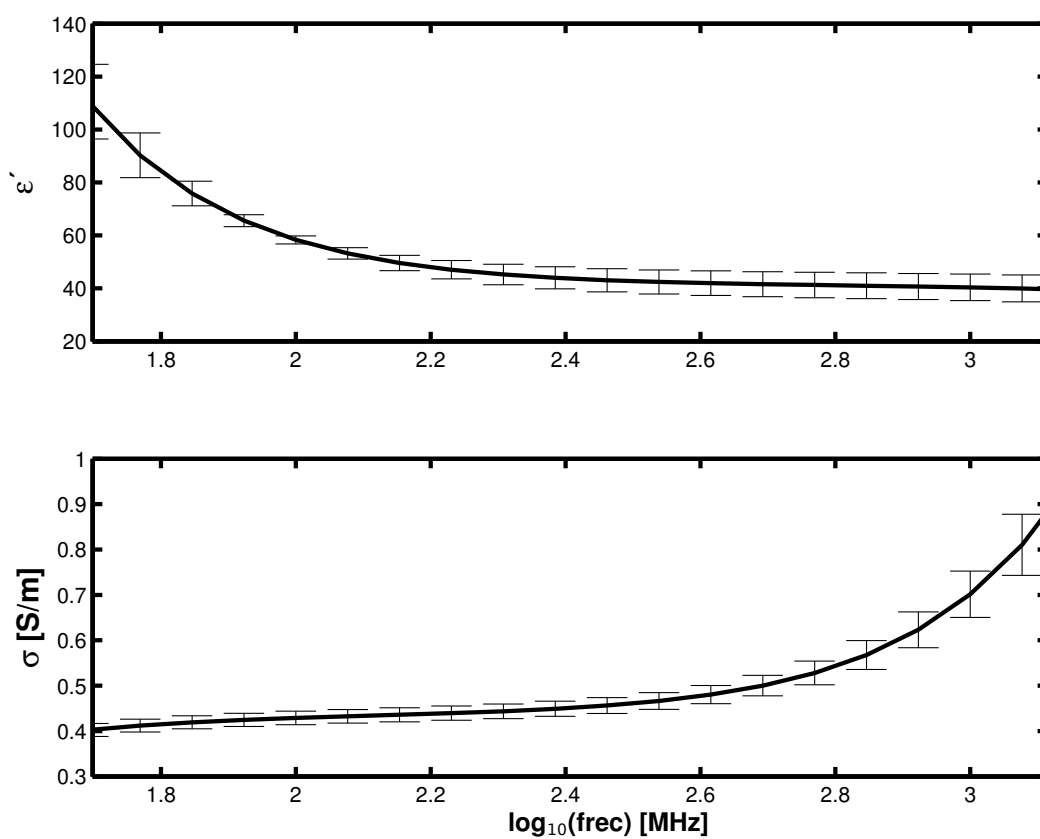


Figura 6.13: Datos en frecuencia obtenidos de los modelos identificados mediante el algoritmo SRIVC, para anchos de la primera capa desde $\approx 0,0$ a $0,5\text{mm}$ con paso $0,1\text{mm}$. Las barras de error equivalen a una desviación estándar.

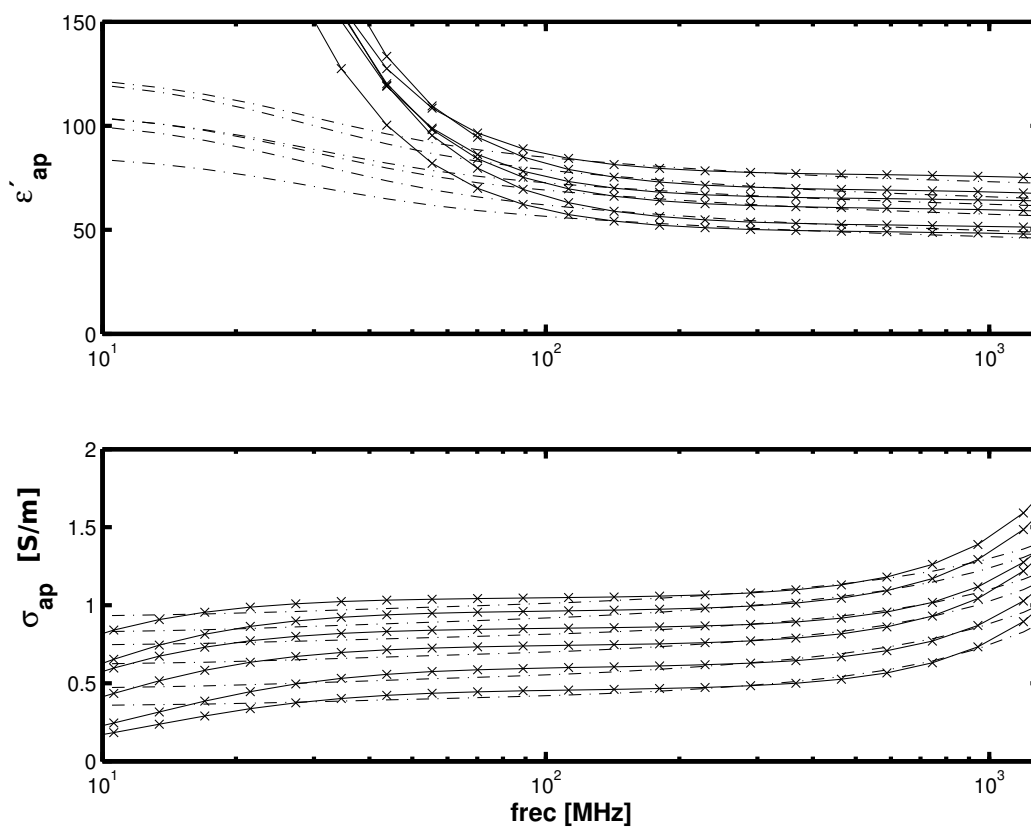


Figura 6.14: Permittividad aparente de la muestra estimada mediante SRIVC (continua y cruces) y SRIVCF (línea de punto y raya).

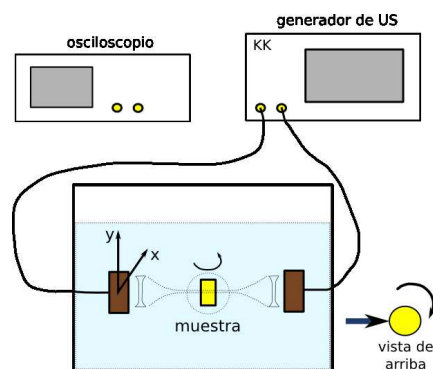


Figura 6.15: Experimento de ultrasonido: mediciones por transmisión.

6.2.1. Equipamiento

En estos experimentos se utilizó un generador de ultrasonido Krautkramer Serie USN 60. Usualmente este generador se utiliza como dispositivo de campo y posee cierto tipo de herramientas de visualización y adquisición. Como contrapartida, no permite la obtención de los datos crudos, razón por la cual se obtuvieron las señales interponiendo conectores en las entradas del generador y adquiriendo los datos mediante un osciloscopio Tektronik TDS 210.

Se utilizaron transductores de frecuencia central $0,5\text{MHz}$ para las mediciones de transmisión y de amplio espectro con frecuencia central en 1MHz para las mediciones por reflexión. En todos los casos los transductores fueron enfocados con lentes ópticas especialmente diseñadas.

En la Fig. 6.15 se muestran los dispositivos desarrollados para las mediciones de ultrasonido. La cuba de medición se llenó con PBS, previo a las mediciones se dejó reposar el líquido para la desgasificación del mismo así como también la estabilización de la temperatura. Las mediciones en este caso se realizaron a temperatura ambiente controlada ($T = 22^\circ\text{C}$). Para la adquisición y el procesamiento de las señales desarrollamos un conjunto de rutinas en Matlab (utilizando el paquete de ondas) y python (<http://www.python.org/>).

6.2.2. Experimento 1: medición por transmisión

La Fig. 6.15 muestra el experimento de transmisión. En este caso las muestras cilíndricas se ubicaron de manera vertical. La muestra puede ser girada en tres ángulos: 0° , 120° y -120° ⁷ (Ver Fig. 6.16). Se pueden controlar tanto el eje horizontal (x) como el vertical (y). Con el eje horizontal se procede a la búsqueda manual de la muestra hasta asegurarse que el haz sónico esté en el centro del cilindro. Después de esto se puede medir en varias posiciones verticales. En nuestro caso realizamos 6 mediciones por muestra, dos verticales y 3 “rotacionales” (0° , 120° y -120°). El procedimiento de medición fue el siguiente:

⁷Para el cálculo final se promediaron estos valores. Esta funcionalidad del dispositivo de medición se diseñó para otros objetivos que están fuera del interés de esta tesis.



Figura 6.16: Muestra de hueso trabecular humano previo al experimento por transmisión.

1. Estabilización de la temperatura y degasificación de la cuba con PBS.
2. Medición del PBS.
3. Medición de la muestra en ángulos: 0° , 120° y -120° y diferentes alturas.
4. Posterior cálculo de SOS y nBUA para cada señal.
5. Promedio y desviación estándar de cada parámetro con todas las señales de una muestra particular.

En las Figs. 6.17 y 6.18 se muestra el procedimiento para obtener las estimas de la velocidad del sonido utilizando onditas. Primero se realiza la transformada seleccionando como ondita madre el sombrero mexicano. Luego se encuentra el máximo (en la Fig. 6.17 el punto más blanco). Una vez encontrado el máximo se observa a qué tiempo ocurre. La Fig. 6.18 muestra los valores absolutos de los coeficientes C_{ab} para la escala a donde se encontró el máximo. Las cruces indican el valor máximo para la escala “ a ” que corresponde, como era de esperar, a $0,5MHz$. Es decir, da una idea del instante de tiempo en que arriba la mayor potencia cuando la frecuencia es $0,5MHz$. Esto constituye, tal como se comentó en el capítulo 4, una estima robusta del tiempo de vuelo de la onda y por consiguiente del cálculo de la velocidad del sonido en la muestra.

En cuanto a la obtención del nBUA se sigue el procedimiento descrito en la sección 4.3.1. En las Fig.6.19 se muestra la obtención del parámetro $nBUA$, hallando la pendiente de la recta estimada en el gráfico de la atenuación aparente $\hat{\alpha}(f)$ versus la frecuencia (ver Ec. 4.9).

6.2.3. Experimento 2: medición por reflexión

La Fig. 6.21 muestra el experimento de reflexión. Básicamente este experimento es similar al anterior con la diferencia que superficies planas de la muestra cilíndrica se ubicaron de forma perpendicular al transductor permitiéndose acercarse o alejarse de manera controlada (dirección x).

Sólo se calculó el parámetro AIB (ver Ec. 4.17). Se integró entre $0,6MHz$ y $1,25MHz$. Para observar el interior de la muestra se utilizó una ventana Hamming de 128 para la

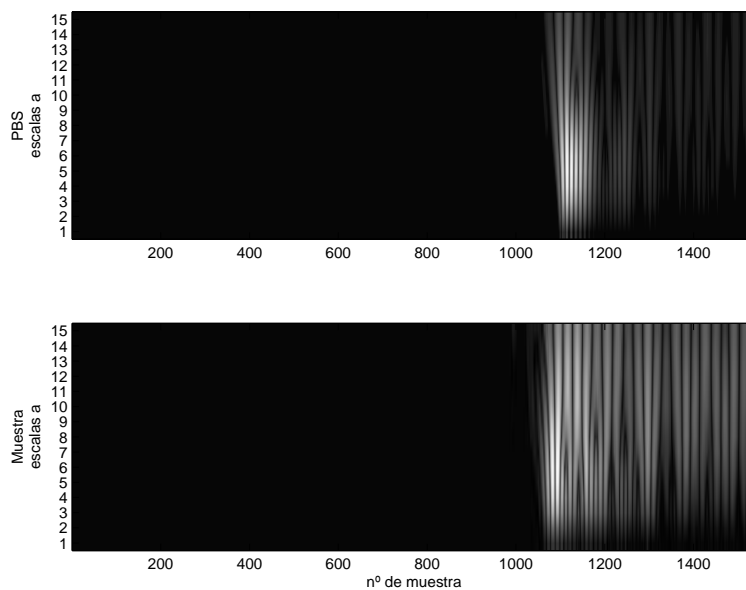


Figura 6.17: Coeficientes C_{ab} de la transformada ondita con los palpadores de $0,5MHz$.

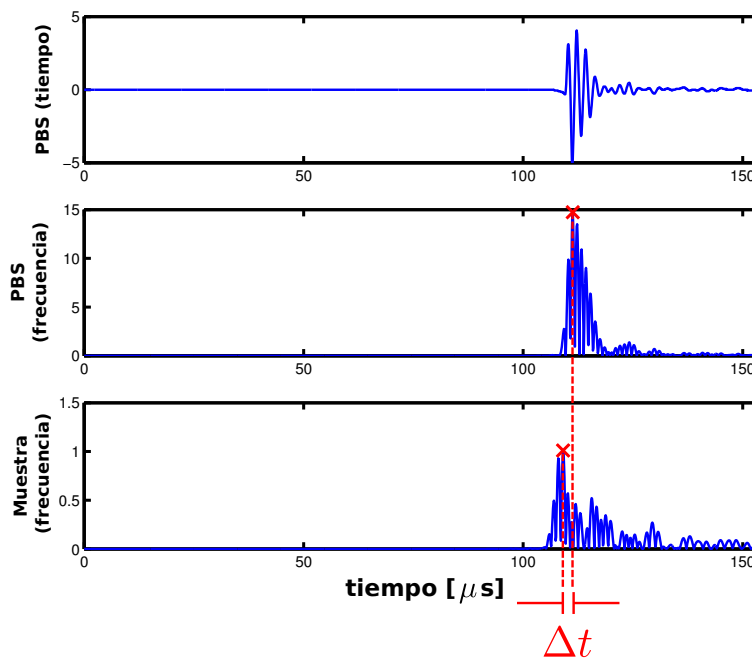


Figura 6.18: Cálculo de los coeficientes usando onditas, coeficientes en $f = 0,5MHz$.

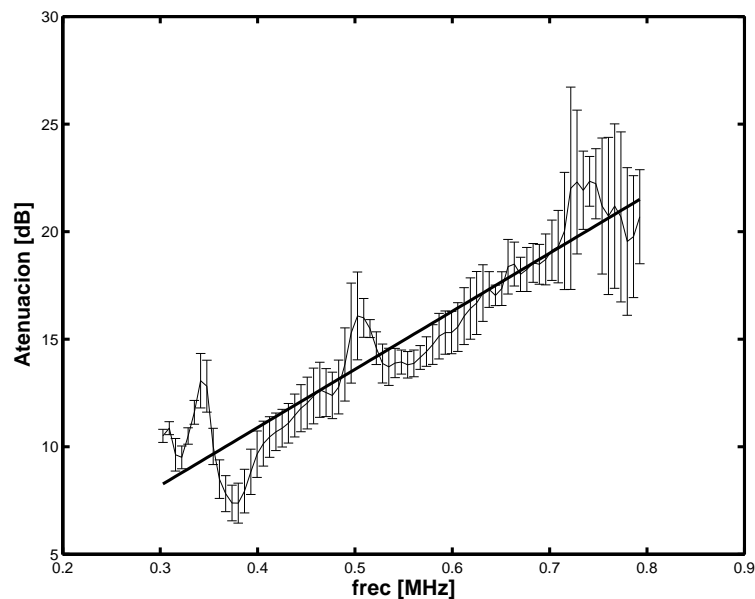


Figura 6.19: Atenuación para los diferentes ángulos y alturas para la estimación del nBUA. Las barras de error significan una desviación estándar.

muestra y de 256 para la referencia (el intervalo de muestreo fue de $0,4\mu\text{seg}$).

El procedimiento de medición fue el siguiente:

1. Estabilización de la temperatura y desgasificación de la cuba con PBS.
2. Medición del reflector ideal (bloque de aluminio en nuestro caso).
3. Medición de la muestra en diferentes distancias al transductor (moviéndonos en la dirección x).
4. Posterior cálculo de AIB para cada señal.
5. Promedio y desviación estándar de cada parámetro con todas las señales de una muestra particular.

6.3. Resultados de comparados en muestras humanas

En la Tabla 6.5 se muestran la media y desviación estándar de los parámetros medidos en esta tesis para las muestras de hueso trabecular humano.

Mediante tests de Pearson se estudiaron las correlaciones lineales entre los diferentes parámetros medidos. En la Fig. 6.24 se muestran las correlaciones más significativas entre

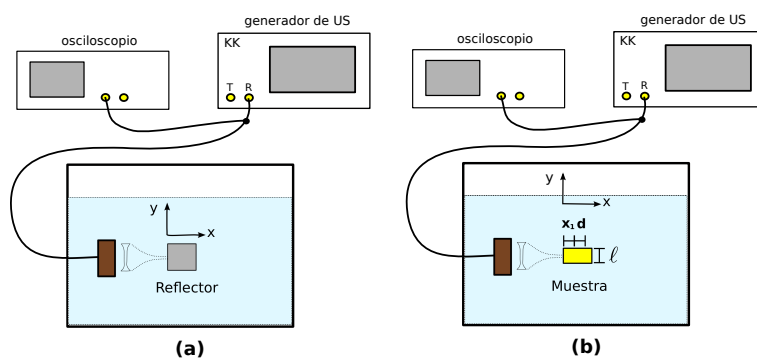


Figura 6.20: Experimento de ultrasonido: mediciones por reflexión. (a) Primero se obtiene la señal medida de un reflector perfecto. (b) Luego de la muestra.

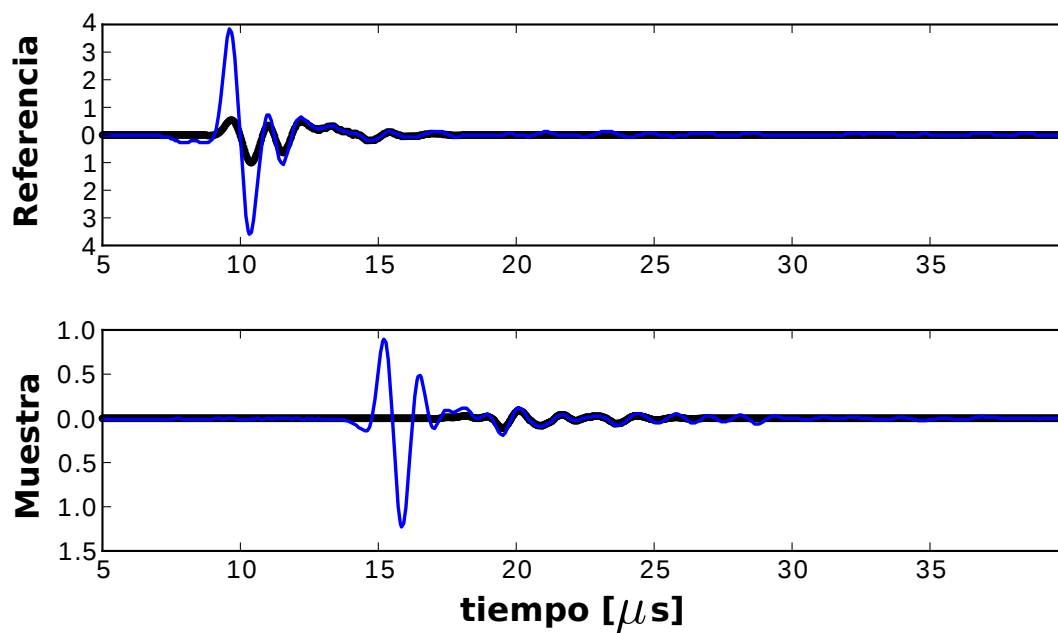


Figura 6.21: Mediciones por reflexión en tiempo. En cada una de las figuras se dibuja en línea de puntos el resultado de multiplicar la ventana Hamming con la señal medida (en línea continua).

Cuadro 6.5: Valores medidos en esta tesis.

Tipo de medición	Parámetro	Valor	Valor de literatura
Dieléctricas	ε' (10MHz)	165 ± 45	~ 100 [25]
	ε' (0,1GHz)	67 ± 14	27,629 ^a
	ε' (1GHz)	41 ± 5	20,584 ^a
	σ (10MHz)[S/m]	$0,034 \pm 0,09$	0,1228 ^a
	σ (0,1GHz)[S/m]	$0,51 \pm 0,17$	0,1725 ^a
	σ (1GHz)[S/m]	$0,76 \pm 0,18$	0,3639 ^a
Ultrasonido	SOS[m/seg] ^b	1679 ± 195	2005 [39]
	nBUA [dB/MHzcm] ^c	22 ± 9	13 [39]
	AIB[dB] ^d	-34 ± 7	(-42 - 34) [42]
Densitometría	BMD [g/cm ²] cilíndrica	$0,320 \pm 0,081$	

^aValores extraídos de <http://niremf.ifac.cnr.it>

^bObtenida mediante onditas a $f \approx 0,5MHz$.

^cLos valores de la pendiente se obtuvieron entre $0,4MHz < f < 0,7MHz$.

^dLos valores se obtuvieron integrando entre $0,6MHz < f < 1,25MHz$.

la DMO, la permitividad y la conductividad. Notar que se utilizaron las DMO desde 0,217 a 0,300. En el caso de ε' la correlación negativa es relativamente significativa ($p < 0,05$). Para las frecuencias que van desde los 500 hasta los 700MHz se obtienen valores de $R \approx -0,8$ con p-valores menores que 0,05. En cuanto a la conductividad los valores no son significativos. Se encontró un p-valor de 0,07 para la conductividad hallada directamente en tiempo (ver nota al pie en la sección 6.1.4) con valores de $R \approx -0,6$.

En la Fig. 6.23 se comparan con la DMO de la muestra cilíndrica. En las Fig. 6.23(a) se muestran las mediciones de SOS utilizando un umbral (ver Fig. 4.3 capítulo 4), es decir una marca en tiempo, mientras que en la (b) las mediciones se realizaron utilizando onditas (sombrero mexicano). Las barras de error se corresponden con una desviación estándar. Notar que el p-valor de la estima con onditas es menor, justificando el uso de esta técnica. Para las mediciones de nBUA se calculó entre 0,4MHz y 0,7MHz. Los valores de correlación en este caso no fueron significativos. Si bien en la literatura se encuentra que es posible observar una correlación negativa en muestras muy calcificadas, en general las correlaciones son positivas para valores menores que 0,300gr/cm². En nuestro caso podemos adjudicar este comportamiento extraño a dos cosas: las muestras pertenecen a pacientes artrósicos (huesos muy calcificados) y por otro lado nuestro transductor no es de amplio espectro (si bien la estima de la velocidad es buena, no se excitan frecuencias menores que 0,4 y mayores que 0,7MHz⁸).

Los resultados observados en el parámetro AIB están de acuerdo con los encontrados por Hoffmeister y otros [46].

Por último se realizaron modelos de regresión múltiple utilizando la densidad mineral ósea y los parámetros dieléctricos para varias frecuencias como predictores de los parámetros

⁸Recordar que el rango clínico de este parámetro es un poco mayor entre los 0,3 y 1,2MHz

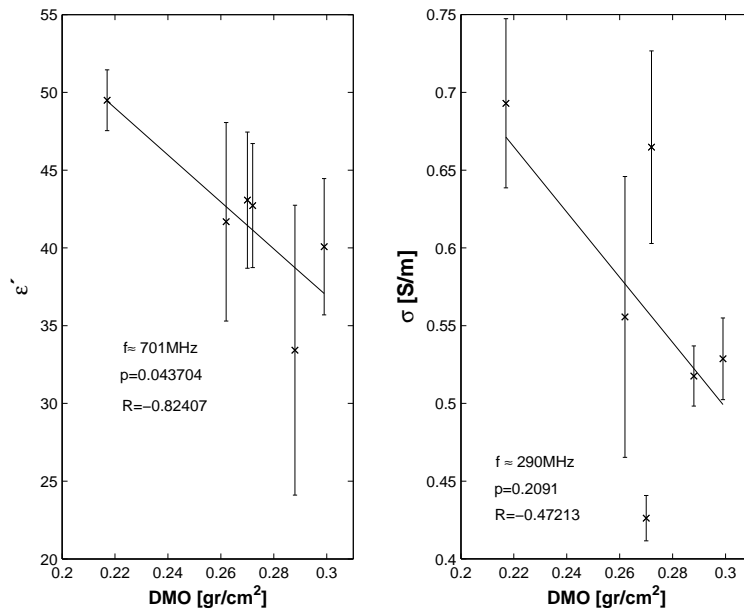


Figura 6.22: Correlaciones de parámetros de propiedades dieléctricas con densidad mineral ósea.

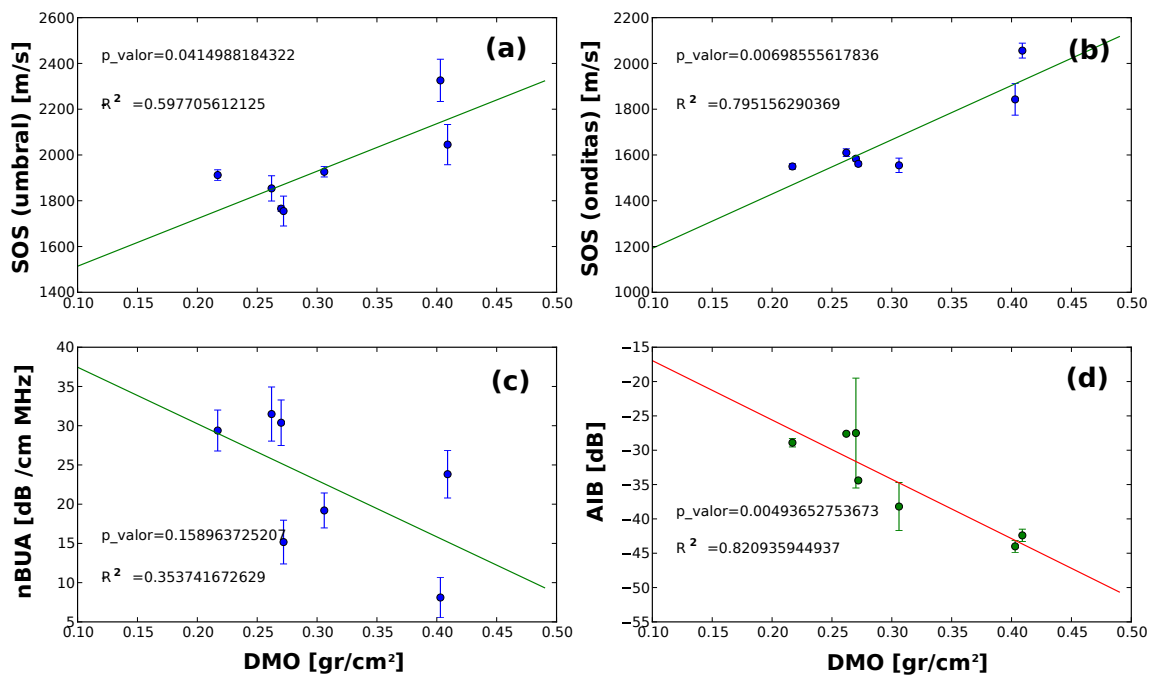


Figura 6.23: Correlaciones de parámetros de ultrasonido con densidad mineral ósea.

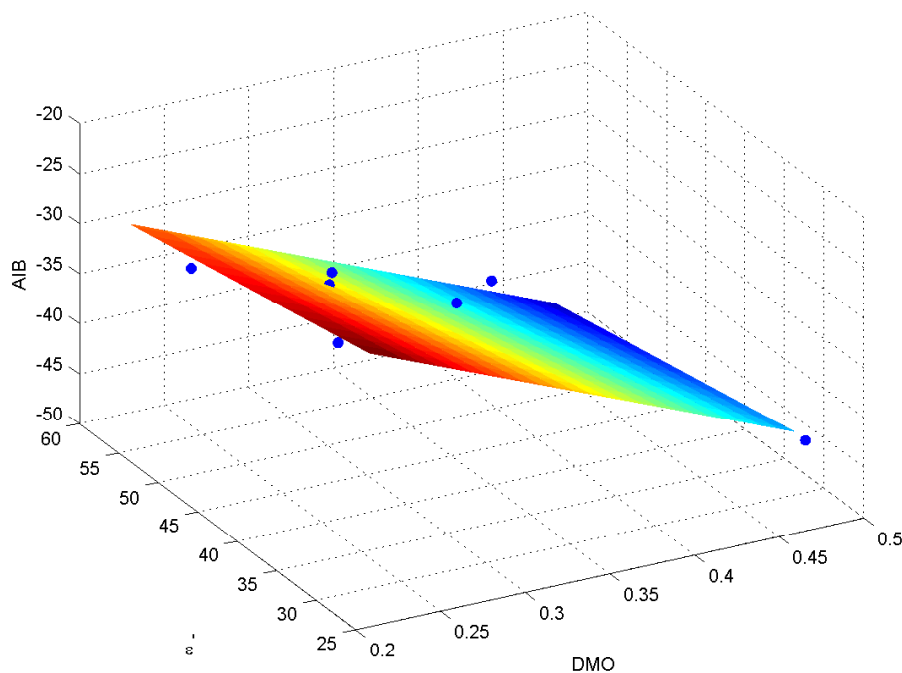


Figura 6.24: Regresión multivariable aplicada a la permitividad con DMO y como variable dependiente AIB para 700MHz.

de ultrasonido. Los más significativos se muestran en las Figs. 6.24 y 6.25. Los valores obtenidos para la regresión múltiple (realizada con rutina de matlab `regress`) se resumen en las Tablas 6.6 y 6.7.

La hipótesis cero en todos los casos es que las variables ε' , σ y DMO son independientes del parámetro de ultrasonido. El significado de los parámetros R, Valor crítico y p-valor son los siguientes. Por ejemplo para la predicción del AIB con DMO y ε' , con R de 0,87 dice que el modelo explica el 87% de los datos con un p-valor de 0,0149. En el caso de la permitividad, el mínimo p-valor obtenido fue siempre en $f = 3,4GHz$, que es una frecuencia que excede

Cuadro 6.6: Resumen estadístico de regresión múltiple para ε' y DMO como predictores de los parámetros de ultrasonido.

Parámetro	frecuencia	R	Valor crítico	p-valor
<i>AIB</i>	3,4GHz	0,8781	14,4012	0,0149
<i>AIB</i>	0,7GHz	0,8646	12,7673	0,0183
<i>SOS</i>	3,4GHz	0,9083	19,8048	0,0084
<i>SOS</i>	0,7GHz	0,7319	5,4603	0,0719

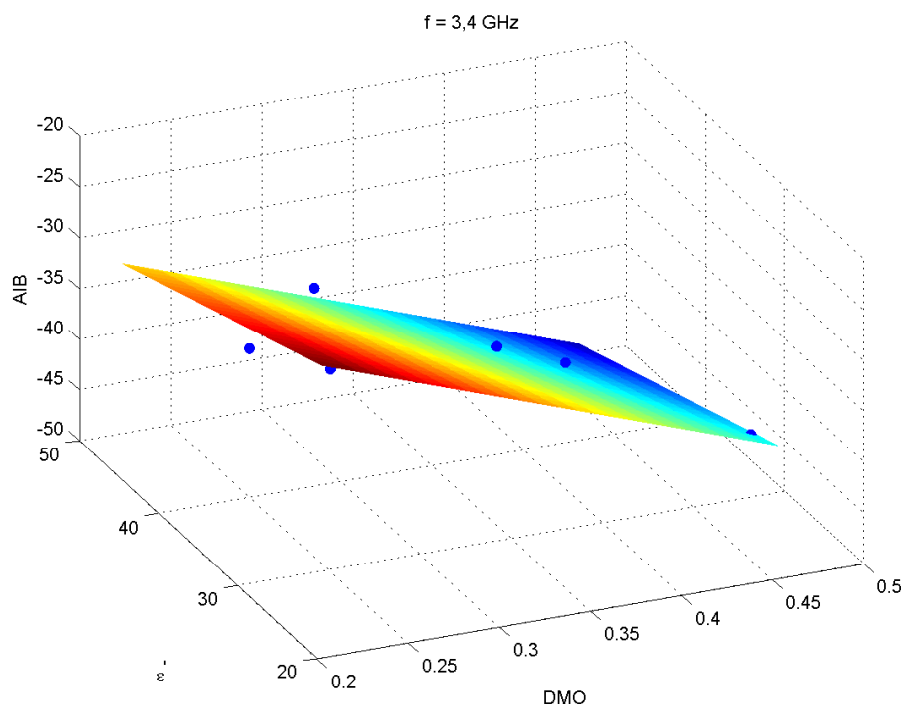


Figura 6.25: Regresión multivariable aplicada a la permitividad con DMO y como variable dependiente AIB para 3,4GHz.

la validez de nuestros métodos de medición. En el caso de $700MHz$ la estadística obtenida muestra un nivel significativo sólo en la predicción del parámetro AIB.

Un comportamiento similar se encuentra con la conductividad con la diferencia que al parecer no hay evidencia suficiente como para asegurar que el modelo explica el parámetro *SOS* (Notar los p-valores $> 0,03$).

Cuadro 6.7: Resumen estadístico de regresión múltiple para σ y DMO como predictores de los parámetros de ultrasonido.

Parámetro	frecuencia	R	Valor crítico	p-valor
<i>AIB</i>	3,4GHz	0,9505	38,3686	0,0025
<i>AIB</i>	0,2GHz	0,9410	31,9049	0,0035
<i>SOS</i>	3,4GHz	0,8331	9,9810	0,0279
<i>SOS</i>	0,2GHz	0,6615	3,9081	0,1146

Capítulo 7

Observaciones finales

En esta tesis consideramos el desarrollo de dos tipos de experimentos no destructivos sobre muestras de hueso: experimentos de ultrasonido y, principalmente, mediciones dieléctricas. La no invasividad o no destructividad constituye una cualidad importante en estudios experimentales sobre tejidos biológicos por varias razones. Entre estas podemos mencionar la posibilidad de reutilizar las mismas muestras para varias pruebas, y también la posibilidad de trabajar cerca de las condiciones fisiológicas con poco esfuerzo en lo referente a la preparación de las muestras. A esto habría que sumar la potencialidad de este tipo de mediciones para diagnósticos médicos. Por otro lado, debido al rango de frecuencias utilizado en las mediciones dieléctricas, la radiación electromagnética aplicada es del tipo no ionizante.

A nuestro conocimiento, tal como se mencionara en el capítulo 3, las propiedades dieléctricas en hueso trabecular a frecuencias mayores que $10MHz$ no han sido demasiado estudiadas. El conocimiento de las propiedades dieléctricas en tejidos biológicos en general es de suma importancia, particularmente en el rango que va desde 100 a $1000MHz$. Un ejemplo de utilización de las mismas es en los cálculos del “specific absorption rate” (SAR), un parámetro importante en el diseño de antenas de teléfonos celulares. La predicción de este tipo de parámetros se realiza mediante software de simulación¹ o mediciones en medios de referencia (phantom) con propiedades dieléctricas de literatura. Las mediciones en este rango de frecuencias constituyen entonces una contribución importante de esta tesis.

Las líneas coaxiales abiertas han sido utilizadas exitosamente en varios campos de la ciencia y la tecnología. Existe una gran cantidad de modelos matemáticos de estas líneas aplicadas a medios multi-capa, sin embargo la verificación experimental de los mismos no ha sido del todo analizada. En esta tesis, testeamos el comportamiento de un modelo teórico variacional y obtuvimos algunas aproximaciones empíricas para medios de hasta 4 capas con sus correspondientes validaciones experimentales (ver experimento 1 del capítulo 6). La motivación del uso de este tipo de modelos fue la aplicación en mediciones de superfi-

¹en general se suponen conocidas las permitividades y conductividades para cada capa de tejido y se resuelven las ecuaciones de Maxwell con métodos de diferencias finitas en dominio de tiempo

cies irregulares como la de los tejidos óseos (en el caso particular del tejido trabecular la situación es aún peor por la porosidad de la matriz).

En cuanto a la mediciones de ultrasonido, si bien los métodos no son novedosos, se aplicaron algunas técnicas que surgieron muy recientemente en la literatura, como la obtención de la velocidad del sonido mediante onditas. Si bien esto no es una aporte original, contribuyó al desarrollo de experimentos y dispositivos que serán utilizados para obtención de resultados en etapas futuras del autor de esta tesis.

Un aporte central de esta tesis es la aplicación de identificación de sistemas al procesamiento de señales provenientes de la reflectometría en dominio de tiempo. Esta interesante técnica permite la construcción de modelos matemáticos a partir de mediciones sobre el sistema. En nuestro caso particular, lo utilizamos para la medición de propiedades dieléctricas. El capítulo 5, donde se introducen los métodos de identificación, está orientado y ejemplificado principalmente al modelado de diferentes dieléctricos tanto multi-capas como uniformes y con respuestas Debye y Cole-Cole. Para el modelado de relajaciones más “anchas” (como la Cole-Cole) se hizo necesaria la aplicación de sistemas dinámicos de orden fraccionario. Esto también constituye un aporte interesante de esta tesis, ya que la identificación de este tipo de sistemas es de aplicación reciente. Todas estas herramientas se pueden utilizar en tiempo real dado que son algoritmos de rápida aplicación.

En cuanto a las propiedades dieléctricas del hueso trabecular humano se observaron correlaciones negativas ($R \approx -0,8$) entre la permitividad y la densidad mineral ósea para frecuencias entre $500MHz$ y $700MHz$ con p-valores menores que 0,05 para muestras con densidad mineral ósea entre 0,200 y $0,300gr/cm^2$. Este tipo de correlaciones contradice en cierta forma lo que observamos en las muestras bovinas (en estado no fisiológico), en las que se observó un crecimiento en la permitividad con la desmineralización de las muestras. Por otro lado, las relajaciones encontradas entre 200 y $500MHz$ en las matrices óseas bovinas, no son tan notorias en las muestras humanas en estado fisiológico. Hay que remarcar que el número de muestras observado es muy bajo, en consecuencia estos resultados podrían estar afectados por la variación biológica. Estos puntos constituyen una motivación interesante para continuar el estudio de este tipo de materiales en los que el comportamiento de la matriz en estado no fisiológico difiere del fisiológico. Por otra parte, existe un creciente interés en métodos de tomografía de micro ondas para la evaluación de tejidos blandos *in vivo* [76, 77]. Los resultados obtenidos en esta tesis permiten pensar que sería interesante la evaluación de estos métodos en mediciones dieléctricas en tejidos óseos.

La revisión de la literatura sobre el tema sugiere que la combinación de mediciones de propiedades dieléctricas y de ultrasonido no ha sido todo lo que, a nuestro criterio, podría haber sido explotada. Los resultados aquí presentados muestran que se debe tener especial cuidado en la interpretación de las mediciones en los materiales constituyentes de los tejidos óseos por separado. En ese contexto, para la predicción de parámetros biomecánicos es necesario el desarrollo de modelos físicos en los cuales se tengan en cuenta no sólo parámetros

de estructura y de propiedades de los materiales constituyentes sino también las relaciones entre los mismos, tanto parte orgánica e inorgánica como su parte biológica. Entendemos que el estudio de esta combinación puede ayudar a la construcción de este tipo de modelos y a la futura implementación de métodos alternativos de evaluación biomecánica del tejido *in vivo*.

Bibliografía

- [1] *4192A LF Impedance Analyzer, Operation and Service Manual.*
- [2] Electrical impedance tomography and diffuse optical tomography reconstruction software (eidors) project. <http://eidors3d.sourceforge.net/>, 2000.
- [3] A. Aimoto and T. Matsumoto. Noninvasive method for measuring the electrical properties of deep tissues using an open-ended coaxial probe. *Med. Eng. Phys.*, 18(8):641–646, 1996.
- [4] E. Alanen, T. Lahtinen, and J. Nuutinen. Measurement of dielectric properties of subcutaneous fat with open-ended coaxial sensors. *Phys. Med. Biol.*, 43:475–485, 1998.
- [5] Mohamed Aoun, Rachid Malti, François Levron, and Alain Oustaloup. Numerical simulations of fractional systems: An overview of existing methods and improvements. *Nonlinear Dynamics*, 38(1):117–131, 2004.
- [6] T. W. Athey, M. A. Stuchly, and S. S. Stuchly. Measurement of radio frequency permittivity of biological tissues with an open-ended coaxial line: Part i. *IEEE Trans. Microwave Theory Tech.*, MTT-30:82–86, 1982.
- [7] R. Barkmannlow, P. Laugier, U. Moser, S. Denckslow, M. Klausner, F. Padilla, G. Haiat, M. Hellershort, and C. C. Glüer. In vivo measurements of ultrasound transmission through the human proximal femur. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 4(7):1186–1190, 2008.
- [8] C. Bonifasi-Lista and E. Cherkhev. Electrical impedance spectroscopy as a potential tool for recovering bone porosity. *Physics in Medicine and Biology*, 54(10):3063, 2009.
- [9] S. Chaffai, V. Roberjot, F. Peyrin, G. Berger, and P. Laugier. Frequency dependence of ultrasonic backscattering in cancellous bone: Autocorrelation model and experimental results. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 108(5):2403–2411, 2000.
- [10] S. Chaffai, F. Peyrin, S. Nuzzo, R. Porcher, G. Berger, and P. Laugier. Ultrasonic characterization of human cancellous bone using transmission and backscatter measurements: Relationships to density and microstructure. *Bone*, 30(1):229–237, 2002.

- [11] S. Chaffai, F. Padilla, G. Berger, and P. Laugier. In vitro measurement of the frequency-dependent attenuation in cancellous bone between 0.2 and 2 mhz. *J. Acoust. Soc. Am.*, 108(3):1281–1289, 2000.
- [12] B. Clarke, A. Gregory, D. Cannell, M. Patrick, S. Wylie, I. Youngs, and G. Hill. A guide to characterisation of dielectric materials at rf and microwave frequencies. Technical report, National Physical Laboratory, The Institute of Measurement and Control, 87 Gower Street, London, 2003.
- [13] G. R. Cointry, R. F. Capozza, J. L. Ferretti, and H. M. Frost. Hacia un diagnóstico antropométrico de las osteopenias y un diagnóstico biomecánico de las osteoporosis. *MEDICINA (Buenos Aires)*, 63:737–747, 2003.
- [14] O. Cois. *Systemes Lineaires non entiers et identification par modele non entier: application en thermique* Olivier COIS. PhD thesis, L'UNIVERSITE BORDEAUX 1 ÉCOLE DOCTORALE DES SCIENCES PHYSIQUES ET DE L'INGÉNIEUR, 2002.
- [15] X. Banse M. D., T. J. Sims, and A. J. Bailey. Mechanical properties of adult vertebral cancellous bone: Correlation with collagen intermolecular cross-links. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(9):1621–1628, 2002.
- [16] M. T. Hermoso de Mendoza. Clasificación de la osteoporosis: Factores de riesgo. clínica y diagnóstico diferencial. *Anales Sis San Navarra*, 26(3):29–52, 2003.
- [17] G. de Mercato and F. Garcia-Sánchez. Dielectric properties of fluid-saturated bone: a comparison between diaphysis and epiphysis. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 26:313–316, 1988. 10.1007/BF02447087.
- [18] S. Dencks, R. Barkmann, F. Padilla, G. Haïat, P. Laugier, and C. C. Glüer. Wavelet-based signal processing of in vitro ultrasonic measurements at the proximal femur. *Ultrasound in medicine & biology*, 33(6):970–980, 2007.
- [19] P. Droin, G. Berger, and P. Laugier. Velocity dispersion of acoustic waves in cancellous bone. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, 45(3):581–592, 1998.
- [20] Alanen E., Lahtinen T., and Nütinen J. Variational formulation of open-ended coaxial line in contact with layered biological medium. *IEEE Trans. on Biomed. Eng.*, 45:1241–1248, 1998.
- [21] Y. Feldman, I. Ermolina, and Y. Hayashi. Time domain dielectric spectroscopy study of biological systems. *Dielectrics and Electrical Insulation, IEEE Transactions on*, 10(5):728–753, oct. 2003.
- [22] Yu. D. Feldman, Yu. F. Zuev, I. V. Ermolina, and V. A. Goncharov. Difference method of analysing dielectric data in the time domain. *Russ. J. Phys. Chem.*, 62(2):269–271, 1988.

- [23] P. Ferrari and G. Angénieux. Calibration of a time-domain network analyzer: A new approach. *IEEE Trans. on Instr. and Meas.*, 49:178–187, 2000.
- [24] E. Fukada and I. Yasuda. On the piezoelectric effect of bone. *Journal of the Phys. Soc. of Japan*, 12(10):1158–1162, October 1957.
- [25] C Gabriel, T Y A Chan, and E H Grant. Admittance models for open ended coaxial probes and their place in dielectric spectroscopy. *Physics in Medicine and Biology*, 39(12):2183, 1994.
- [26] C. Gabriel, S. Gabriel, and E. Corthout. The dielectric properties of biological tissues: I. literature survey. *Phys. Med. Biol.*, 41:2231–2249, 1996.
- [27] C Gabriel, S Gabriel, and E Corthout. The dielectric properties of biological tissues: I. literature survey. *Physics in Medicine and Biology*, 41(11):2231, 1996.
- [28] S. Gabriel, R. W. Lau, and C. Gabriel. The dielectric properties of biological tissues: Ii. measurement in the frequency range 10 hz to 20 ghz. *Phys. Med. Biol.*, 41:2251–2269, 1996.
- [29] S Gabriel, R W Lau, and C Gabriel. The dielectric properties of biological tissues: Ii. measurements in the frequency range 10 hz to 20 ghz. *Physics in Medicine and Biology*, 41(11):2251, 1996.
- [30] S Gabriel, R W Lau, and C Gabriel. The dielectric properties of biological tissues: Iii. parametric models for the dielectric spectrum of tissues. *Physics in Medicine and Biology*, 41(11):2271, 1996.
- [31] H. Garnier, P. Sibille, and A. Richard. Continuous-time canonical state-space model identification via poisson moment functionals. *Proceedings of the 34th Conference on Decision&Control*, 1995.
- [32] H. Garnier and L. Wang, editors. *Identification of Continuous-time Models from Sampled Data*. Advances in Industrial Control. Springer, 2008.
- [33] F. Geneser. *Histología*. Editorial médica Panamericana, tercera edición edition, 2000.
- [34] J. P. Gittings, C. R. Bowen, A. C. E. Dent, I. G. Turner, F. R. Baxter, and J. B. Chaudhuri. Electrical characterization of hydroxyapatite-based bioceramics. *Acta Biomaterialia*, 5(2):743–754, 2009.
- [35] C. C. Glüer. A new quality of bone ultrasound research. *Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, IEEE Transactions on*, 55(7):1524–1528, July 2008.
- [36] J. C. Gómez. *Analysis of dynamic system identification using rational orthonormal bases*. PhD thesis, The University of Newcastle, Australia, 1998.

- [37] J. R. Grigera, F. Vericat, K. Hallenga, and H. J. C. Berendsen. Dielectric properties of hydrated collagen. *Biopolymers*, 18(1):35–45, 1979.
- [38] G. Haiat, F. Padilla, R. O. Cleveland, and P. Laugier. Effects of frequency-dependent attenuation and velocity dispersion on in vitro ultrasound velocity measurements in intact human femur specimens. *Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, IEEE Transactions on*, 53(1):39–51, Jan. 2006.
- [39] Mikko A Hakulinen, Judd S Day, Juha Töyräs, Matti Timonen, Heikki Kröger, Harrie Weinans, Ilkka Kiviranta, and Jukka S Jurvelin. Prediction of density and mechanical properties of human trabecular bone in vitro by using ultrasound transmission and backscattering measurements at 0. 2?6. 7 mhz frequency range. *Physics in Medicine and Biology*, 50(8):1629, 2005.
- [40] Bo Han, Zhi Yang, and Marcel Nimni. Effects of moisture and temperature on the osteoinductivity of demineralized bone matrix. *Journal of Orthopaedic Research*, 23(4):855–861, 2005.
- [41] R. Hilfer. H-function representations for stretched exponential relaxation and non-debye susceptibilities in glassy systems. *Phys. Rev. E*, 65:061510–061511, 2002.
- [42] Brent K Hoffmeister, Julia A Auwarter, and Jae Y Rho. Effect of marrow on the high frequency ultrasonic properties of cancellous bone. *Physics in Medicine and Biology*, 47(18):3419, 2002.
- [43] R. M. Irastorza, M. Mayosky, and F. Vericat. Noninvasive measurement of dielectric properties in layered structure: A system identification approach. *Measurement*, 42(2):214–224, 2009.
- [44] A. Ivancich, J. R. Grigera, and C. Muravchik. Electric behaviour of natural and demineralized bones. dielectric properties up to 1ghz. *Jour. of Biol. Phys.*, 18:281–295, 1992.
- [45] D. Jennings, A. Flint, B. C. H. Firton, and L. D. M. Nokes. *Introduction to Medical Electronics Applications*. Edward Arnold, 1995.
- [46] Hoffmeister B. K., Johnson D. P., Janeski J. A., Keedy D. A., Steinert B. W., Viano A. M., and Kaste S. C. Ultrasonic characterization of human cancellous bone in vitro using three different apparent backscatter parameters in the frequency range 0.6–15.0 mhz. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, 55, 2008.
- [47] S. Katz, S. Zlochiver, and S. Abboud. Induced current bio-impedance technique for monitoring bone mineral density-a simulation model. *Annals of Biomedical Engineering*, 34(8):1332–1342, 2006.

- [48] Nikiforos Kollias, Haishan Zeng, Bernard Choi, Reza S. Malek, Brian J. Wong, Justus F. R. Ilgner, Eugene A. Trowers, Werner T. de Riese, Henry Hirschberg, Steen J. Madsen, Michael D. Lucroy, Lloyd P. Tate, Kenton W. Gregory, and Guillermo J. Tearney, editors. *Osteoporosis: Are we measuring what we intend to measure? In search of the ideal bone strength study*, volume 6078. SPIE, 2006.
- [49] J. D. Kosterich, K. R. Foster, and S. R. Pollack. Dielectric permittivity and electrical conductivity of fluid saturated bone. *IEEE Trans. on Biomed. Eng.*, 30(2):81–86, 1983.
- [50] Jeffrey D Kosterich, Kenneth R. Foster, and Solomon R. Pollack. Dielectric properties of fluid-saturated bone - the effect of variation in conductivity of immersion fluid. *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, 31:369–374, 1984.
- [51] H. Kuttruff. *Acoustic. An introduction*. Taylor & Francis, 2004.
- [52] Christian M. Langton and Christopher F. Njeh. *THE PHYSICAL MEASUREMENT OF BONE*. Institute of Physics Publishing Bristol and Philadelphia, 2004.
- [53] P. Laugier. Instrumentation for in vivo ultrasonic characterization of bone strength. *Ultrasonics, Ferroelectrics and Frequency Control, IEEE Transactions on*, 55(6):1179–1196, 2008.
- [54] M. Lazebnik, D. Popovic, L. McCartney, C. B. Watkin, M. J. Lindstrom, J. Harter, S. Sewall, T. Ogilvie, A. Magliocco, T. M. Breslin, W. Temple, D. Mew, J. H. Booske, M. Okoniewski, and S. C. Hagness. A large-scale study of the ultrawideband microwave dielectric properties of normal, benign and malignant breast tissues obtained from cancer surgeries. *Phys. Med. Biol.*, 52:6093–6115, 2007.
- [55] L. Ljung. *System Identification: Theory for the User*. Prentice Hall, second edition edition, 1999.
- [56] R. Malti, V. Stéphane, A. Oustaloup, and H. Garnier. An optimal instrumental variable method for continuous-time fractional model identification. *Proceedings of the 17th IFAC World Congress*, 17, 2008.
- [57] Rachid Malti, Stephane Victor, and Alain Oustaloup. Advances in system identification using fractional models. *Journal of Computational and Nonlinear Dynamics*, 3(2):021401, 2008.
- [58] E. Marzec and K. Pietrucha. The effect of different methods of cross-linking of collagen on its dielectric properties. *Biophysical Chemistry*, 132(2-3):89–96, 2008.
- [59] Khoichi Fujii Hironori Matsuda. H_∞ optimized wave-absorbing control: analytical and experimental results. *Journal of Guidance, Control, and Dynamics*, 16(6):1146–1153, 1993. cited By (since 1996) 13.

- [60] Marc André Meyers, Po-Yu Chen, Albert Yu-Min Lin, and Yasuaki Seki. Biological materials: Structure and mechanical properties. *Progress in Materials Science*, 53(1):1–206, 2008.
- [61] Agilent Note. Agilent basics of measuring the dielectric properties of materials. Technical report, Agilent Technologies, June 2006.
- [62] M. O’Donnell and J. G. Miller. Quantitative broadband ultrasonic backscatter: An approach to nondestructive evaluation in acoustically inhomogeneous materials. *Journal of Applied Physics*, 52(2):1056–1065, 1981.
- [63] R Olmi, M Bini, A Ignesti, and C Riminesi. Non-destructive permittivity measurement of solid materials. *Measurement Science and Technology*, 11(11):1623, 2000.
- [64] F. Padilla, F. Jenson, V. Bousson, F. Peyrin, and P. Laugier. Relationships of trabecular bone structure with quantitative ultrasound parameters: In vitro study on human proximal femur using transmission and backscatter measurements. *Bone*, 42(6):1193–1202, 2008.
- [65] R. Pintelon, P. Guillaume, Y. Rolain, J. Schoukens, and H. Van Hamme. Parametric identification of transfer functions in the frequency domain—a survey. *IEEE Transactions on Automatic Control*, 39:2245–2260, 1994.
- [66] Valerica Raicu. Dielectric dispersion of biological matter: Model combining debye-type and universal responses. *Phys. Rev. E*, 60(4):4677–4680, Oct 1999.
- [67] Valerica Raicu, Nobuko Kitagawa, and Akihiko Irimajiri. A quantitative approach to the dielectric properties of the skin. *Physics in Medicine and Biology*, 45(2):L1, 2000.
- [68] G. P. Rao and H. Unbehauen. Identification of continuous-time systems. *Control Theory and Applications, IEE Proceedings -*, 153(2):185–220, March 2006.
- [69] Jean-Yves Reginster and Nansa Burlet. Osteoporosis: A still increasing prevalence. *Bone*, 38(2, Supplement 1):4–9, 2006. Fighting Osteoporosis on Two Fronts.
- [70] Tasneem Zahra Rizvi and Muhammad Abdullah Khan. Dielectric relaxation in slightly hydrated bovine tendon collagen. *Journal of Physics D: Applied Physics*, 40(1):25, 2007.
- [71] V. Roberjot, S. L. Bridal, P. Laugier, and G. Berger. Absolute backscatter coefficient over a wide range of frequencies in a tissue-mimicking phantom containing two populations of scatterers. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, 43(5):970–978, 1996.
- [72] Subrata Saha and Paul Williams. Electric and dielectric properties of wet human cancellous bone as a function of frequency. *Annals of Biomedical Engineering*, 17:143–158, 1989. 10.1007/BF02368024.

- [73] Williams P. A. Saha S. . Electric and dielectric properties of wet human cortical bone as a function of frequency. *Biomedical Engineering, IEEE Transactions on*, 1992.
- [74] H. P. Schwan, G. Schwarz, J. Maczuk, and H. Pauly. On the low-frequency dielectric dispersion of colloidal particles in electrolyte solution. *J. Phys. Chem.*, 66(12):2626–2635, 1962.
- [75] Z. Schwartz, Fisher M., Lohmann C. H., Simon B. J., and Boyan B. D. Osteoprotegerin (opg) production by cells in the osteoblast lineage is regulated by pulsed electromagnetic fields in cultures grown on calcium phosphate substrates. *Annals of Biomedical Engineering*, 37(3):437–444, 2009.
- [76] S. Semenov. Microwave tomography: review of the progress towards clinical applications. *Phil. Trans. R. Soc.*, 13:3021–3042, 2009.
- [77] Serguei Semenov, James Kellam, Peter Althausen, Thomas Williams, Aria Abubakar, Alexander Bulyshev, and Yuri Sizov. Microwave tomography for functional imaging of extremity soft tissues: feasibility assessment. *Physics in Medicine and Biology*, 52(18):5705, 2007.
- [78] D. Shantanu. *Functional fractional calculus for system identification and control*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2008.
- [79] T. Shinomiya. Dielectric dispersion and intermolecular association for 28 pure liquid alcohols. the position dependence of hydroxyl group in the hydrocarbon chain. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 62(3):908–914, 1989.
- [80] N. Shinyashiki, N. Asaka, S. Mashimo, S. Yagihara, and N. Sasaki. Microwave dielectric study on hydration of moist collagen. *Biopolymers*, 29:1185–1191, 1990.
- [81] J Sierpowska, M A Hakulinen, J Töyräs, J S Day, H Weinans, J S Jurvelin, and R Lappalainen. Prediction of mechanical properties of human trabecular bone by electrical measurements. *Physiological Measurement*, 26(2):S119, 2005.
- [82] J. Sierpowska, M. A. Hakulinen, J. Töyräs, J. S. Day, H. Weinans, I. Kiviranta, J. S. Jurvelin, and R. Lappalainen. Interrelationships between electrical properties and microstructure of human trabecular bone. *Physics in Medicine and Biology*, 51(20):5289, 2006.
- [83] J. Sierpowska, M. J. Lammi, M. A. Hakulinen, J. S. Jurvelin, R. Lappalainen, and J. Töyräs. Effect of human trabecular bone composition on its electrical properties. *Medical engineering & physics*, 29(8):845–852, 2007.
- [84] J Sierpowska, J Töyräs, M A Hakulinen, S Saarakkala, J S Jurvelin, and R Lappalainen. Electrical and dielectric properties of bovine trabecular bone?relationships with mechanical properties and mineral density. *Physics in Medicine and Biology*, 48(6):775, 2003.

- [85] T. Söderström and P. Stoica, editors. *System identification*. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ, USA, 1988.
- [86] T. Söderström and P. Stoica. *System Identification*. Prentice Hall, 1989.
- [87] M. R. Stoneman, M. Kosempa, W. D. Gregory, C. W. Gregory, J. J. Marx, W. Mikkelsen, J. Tjoe, and V. Raicu. Correction of electrode polarization contributions to the dielectric properties of normal and cancerous breast tissues at audio/radiofrequencies. *Phys. Med. Biol.*, 52:6589–6604, 2007.
- [88] M. A. Stuchly, T. W. Athey, G. M. Samaras, and G. E. Taylor. Measurement of radio frequency permittivity of biological tissues with an open-ended coaxial line: Part ii-experimental results. *IEEE Trans. Microwave Theory Tech.*, MTT-30:87–92, 1982.
- [89] Mitsuhiro Ueda and Yasuhiko Ozawa. Spectral analysis of echoes for backscattering coefficient measurement. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 77(1):38–47, 1985.
- [90] D. Valério. *Ninteger v. 2. 3: Fractional control toolbox for MatLab*, 2005.
- [91] B. M. Vinagre and C. A. Monje. Introducción al control fraccionario. *Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial*, 3(3):5–23, 2006.
- [92] K. A. Wear. The dependence of time-domain speed-of-sound measurements on center frequency, bandwidth, and transit-time marker in human calcaneus in vitro. *J. Acoust. Soc. Am.*, 122(1):636–644, 2007.
- [93] K. A. Wear. The effect of phase cancellation on estimates of broadband ultrasound attenuation and backscatter coefficient in human calcaneus in vitro. *IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics, and frequency control*, 55(2):384–390, 2008.
- [94] W. Xu and J. J. Kaufman. Diffraction correction methods for insertion ultrasound attenuation estimation. *IEEE Trans. on Biomed. Eng.*, 40(6):563–570, 1993.
- [95] Takashi Yoshida, Wook-Cheol Kim, Koei Kawamoto, Toshiko Hirashima, Yoshinobu Oka, and Toshikazu Kubo. Measurement of bone electrical impedance in fracture healing. *Journal of Orthopaedic Science*, 14:320–329, 2009.
- [96] Peter Young. Parameter estimation for continuous-time models—a survey. *Automatica*, 17(1):23–39, 1981.
- [97] A. Zarate, M. Hernández, C. Morán, and L. Ángeles. El enfoque moderno de la osteoporosis. *Rev. Fac. Med. UNAM*, 46(2):49–51, 2003.