

Diseño de *buffer* de muy baja capacitancia de entrada para medición no invasiva de biomasa

1st Fernando Amor
 Instituto LEICI (UNLP-CONICET)
 Facultad de Ingeniería, UNLP
 La Plata, Argentina
 fernando.amor@ext.ing.unlp.edu.ar

2nd Marcelo Haberman
 Instituto LEICI (UNLP-CONICET)
 Facultad de Ingeniería, UNLP
 La Plata, Argentina
 marcelo.haberman@ing.unlp.edu.ar

3rd Martín Jamilis
 Instituto LEICI (UNLP-CONICET)
 Facultad de Ingeniería, UNLP
 La Plata, Argentina
 martin.jamilis@ing.unlp.edu.ar

4th Hernán De Battista
 Instituto LEICI (UNLP-CONICET)
 Facultad de Ingeniería, UNLP
 La Plata, Argentina
 deba@ing.unlp.edu.ar

Resumen—En este trabajo se propone el diseño y se valida experimentalmente un circuito de *buffer*, con vistas a ser empleado como parte del *front-end* analógico de un sensor de biomasa de acoplamiento capacitivo que involucra mediciones a cuatro puntas. Primero se estimaron los parámetros requeridos del *buffer*, siendo uno muy importante la baja capacitancia parásita de entrada. Luego se diseñó un circuito para reducir activamente este fenómeno, basándose en técnicas de realimentación positiva de la señal medida (*bootstrapping* de fuente de alimentación). Se realizaron ensayos iniciales en placas de prueba, y posteriormente se diseñó y construyó una placa de circuito impreso (PCB) para los experimentos finales. Por último, se realizaron ensayos de barridos en frecuencia para distintas capacitancias de acoplamiento con el *buffer* en la PCB. Mediciones realizadas a través de capacitores de 5,6pF y 10pF, que con *buffers* convencionales hubiesen resultado en atenuaciones de 10dB y 7dB respectivamente, mediante el circuito propuesto permiten medir potenciales con una atenuación menor a 0,5dB y 0,2dB en cada caso. Entonces, en el instrumento a desarrollar, dos de estos circuitos permitirán realizar la medida diferencial de tensión de la solución biológica independientemente del valor de las capacitancias de acoplamiento.

I. INTRODUCCIÓN

Este trabajo se enmarca en un proyecto de desarrollo de instrumental de laboratorio para sensado de biomasa por medio de sus propiedades eléctricas. Para ello se deben realizar mediciones de impedancia en frecuencias del orden de las radiofrecuencias, aproximadamente entre 100 kHz y 10 MHz. Como además se desea trabajar en forma no invasiva, estas mediciones deben realizarse por fuera del proceso, empleando electrodos con acoplamientos capacitivos. Todo esto obliga a un cuidadoso diseño y ensayos del *front-end* del sensor y de los electrodos asociados.

I-A. Instrumentación y control en bioprocesos

El foco central de los procesos biotecnológicos, por definición, lo componen los microorganismos (MO). En biotecnología e industria de bioprocesos se hace uso de MO tales como levaduras y bacterias para obtener productos de interés y valor agregado. Uno de los sistemas más comunes para desarrollar bioprocesos es cultivar MO en suspensión en medios líquidos que contienen todos los nutrientes necesarios para su crecimiento o proliferación. Estos medios se denominan de cultivo.

Trabajo financiado por los proyectos PPID 2020/I014 y PPID 2020/I015 de la UNLP, PUE-0053 y PIP2021-0331 de CONICET, y PICT 2019-3476 de Agencia I+D+i.

Este proceso suele llevarse a cabo en un biorreactor, que suele ser un tanque o columna contenedor del medio de cultivo que provee las condiciones ambientales adecuadas, esterilidad, y permite la adición de sustancias necesarias. A grandes rasgos, las mediciones llevadas a cabo en estos procesos pueden agruparse en dos categorías, por la forma en que son llevadas a cabo: en línea con el proceso, es decir, midiendo variables del proceso directamente en el proceso mismo; y fuera de línea, retirando muestras del proceso y analizándolas posteriormente, ya sea físicamente en el mismo sitio u otro.

La instrumentación y control en bioprocesos es muy importante, y por lo general se realiza fuera de línea. En la industria de procesos de tratamientos de aguas, por ejemplo, se ha demostrado que la instrumentación, control y automatización incrementa entre un 10% y 30% la capacidad biológica de remover nutrientes y permite reducir costos de operación con tiempos de amortización cortos [1]. En concordancia con esto, la iniciativa PAT [2] resalta la importancia en la industria biotecnológica de la adquisición de datos en línea y de las herramientas de control de procesos para entender y manejar la variabilidad de los procesos, mejorar la calidad de los productos, y optimizar y escalar los procesos.

Una variable clave a medir en línea para el monitoreo y control es la concentración de MO viables en el medio líquido. Esta variable resulta un claro indicador del estado de avance del proceso, y es necesario para la implementación de leyes de alimentación a lazo cerrado para la optimización del proceso [3].

I-B. Medición de concentración de MO

Las características deseadas de un instrumento de medición de concentración de MO de aplicación industrial pueden condensarse en: ser calibrable, poseer una característica lineal y ser preciso tanto en altas como en bajas concentraciones de MO. Si además físicamente debe hallarse en contacto con el medio de cultivo, se agrega que el dispositivo debe ser esterilizable, resistente a cambios en presión y temperatura, resistente a la corrosión, biológicamente inactivo y estable en el tiempo frente a ciclos de fermentaciones, esterilizaciones y lavados [4].

Respecto a las técnicas para la medición en línea de esta variable, emplear un espectrómetro de masa para monitorear la evolución de dióxido de carbono y tasa de consumo de oxígeno

arroja señales relativamente ruidosas. Y el empleo de métodos basados en sondas de densidad ópticas, o espectroscopías láser, Raman y de fluorescencia, resulta sensible no solo a los MO sino también a residuos biológicos que se van acumulando en el medio, y además pierden linealidad a partir de una determinada concentración de MO [5]. Podrían ser empleados estos últimos para medir concentraciones elevadas de MO, pero requieren de diluciones de muestras para evitar su saturación, perdiendo la condición de medición en línea con el proceso [6].

I-C. Espectroscopía dieléctrica aplicada a medición de biomasa

La espectroscopía dieléctrica (ED), caracterización de las propiedades dieléctricas del medio a distintas frecuencias, puede emplearse como técnica de cuantificación de biomasa en procesos biotecnológicos [7]. Esta técnica es capaz de muestrear en línea con el proceso, de forma no destructiva y en tiempo real, permitiendo generar conjuntos de datos para monitoreo de tendencias. Como además la concentración de MO es una variable relevante en la industria de bioprocesos, esto torna a la ED una herramienta compatible con estrategias de control capaces de cumplir con los lineamientos PAT [8]. Esta técnica presenta un rango de medición más amplio que los métodos ópticos, porque no satura para elevadas concentraciones de MO [9].

I-C1. Principio físico de la ED: Se parte de aplicar un campo eléctrico variable a la solución biológica, que puede pensarse como un medio acuoso con carga iónica. Los MO, al estar conformados por una membrana celular hidrófoba e impermeable a los iones en solución y un interior de elevada conductividad eléctrica, muestran un comportamiento dipolar inducido. Debido principalmente al tamaño individual de los MO, va a ocurrir un fenómeno de pérdida de la polarización inducida en las membranas celulares al aumentar la frecuencia. Esta caída en la capacitancia, que ocurre aproximadamente entre 100 kHz y 10 MHz , es llamada curva de dispersión β , Fig. 1. El valor de capacitancia residual a altas frecuencias, C_∞ , se atribuye al medio de cultivo. Corrigiendo este valor de offset, la altura de la curva, ΔC , representa la concentración de MO en la solución [10].

Esta relación de ΔC con la fracción celular volumétrica en la solución, P , se desarrolla a través de las ecuaciones (1) y (2). Primero, (1) permite convertir los valores de capacitancia C a permitividad relativa ϵ_r , mediante la constante de celda k , que depende fundamentalmente de la geometría de los electrodos de medición (ϵ_0 es la permitividad eléctrica del vacío). Entonces, ΔC se traduce a $\Delta\epsilon_r$. Finalmente, (2) muestra la relación lineal entre $\Delta\epsilon_r$ y P . Aquí, r es el radio celular y C_m la capacitancia por unidad de área de la membrana celular. Puede suceder que en algunos bioprocesos la célula varíe su tamaño, pero por lo general se considera r como un valor estable característico del microorganismo. El valor de C_m suele suponerse fijo, de valor aproximado $0,01\text{ F/m}^2$. Entonces, la permitividad (y por lo tanto la capacitancia) se incrementa en forma monótona con la concentración de

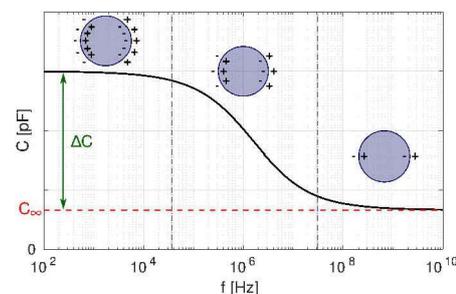


Figura 1. Curva característica de la dispersión β , acompañada de diagramas que representan la polarización de las células respecto a la frecuencia. Pueden distinguirse dos mesetas, en bajas y en altas frecuencias. La capacitancia residual C_∞ es propia del medio y no de las células, por lo que ΔC puede correlacionarse linealmente con la concentración de MO como muestran las ecuaciones (1) y (2).

microorganismos viables en la solución [11]. Valores típicos de rangos de ΔC comprenden unidades o decenas de picofaradios [12].

$$\epsilon_r = \frac{Ck}{\epsilon_0} \quad (1)$$

$$\Delta\epsilon_r = \frac{9PrC_m}{4\epsilon_0} \quad (2)$$

I-C2. Instrumentación tradicional de la medida: La metodología tradicional de instrumentación de ED a soluciones biológicas involucra mediciones con electrodos en contacto con el medio de cultivo. Esto de por sí presenta dos desafíos importantes: la resolución del pequeño ángulo de fase entre las componentes real e imaginaria de la impedancia, y la polarización de los electrodos [13]. El primer problema es inherente a las características eléctricas comunes a las soluciones biológicas: la conductividad de los medios de cultivo resulta elevada frente a la relativamente pequeña capacitancia de la concentración de MO. La segunda cuestión es más bien dependiente de la instrumentación. Si bien se han empleado celdas de medición con dos electrodos, las de cuatro ofrecen el atractivo de reducir el efecto de la polarización en la superficie de los electrodos de medición [14]. Esto se logra haciendo circular corriente eléctrica a través de dos de los electrodos y el medio, y midiendo la caída de potencial entre los otros dos.

I-C3. Mediciones empleando acoplamiento capacitivo: Aislar galvánicamente los electrodos del medio de cultivo en principio permite hacer despreciable el efecto de la polarización [15]. Si además se colocan en la pared externa del biorreactor o por fuera de una cámara de medida en línea con el bioproceso (Fig. 2), se relajan los requisitos mecánicos y biológicos de un instrumento de este tipo ya detallados en I-B. Desde el punto de vista del instrumento, se forma un acoplamiento capacitivo con el generador de señal, como se aprecia en la Fig. 3. Si bien esta configuración atenúa el campo eléctrico impuesto por los electrodos de polarización en la solución respecto a electrodos sumergidos [16], se han logrado obtener espectros de procesos en el rango de frecuencias

de interés, aproximadamente entre $100kHz$ y $10MHz$ [15] [17]. Otra cuestión que toma relevancia con el acoplamiento capacitivo es el efecto de las capacitancias parásitas con el entorno. Al ser de alta impedancia los electrodos de medición, esto torna muy susceptible al instrumento a la influencia de interferencias de campo eléctrico, independientemente de la estrategia de inyección y detección de la señal [18]. Las capacitancias parásitas de entrada a los amplificadores, que pueden ser incluso del mismo orden que las de acoplamiento, entonces atentan contra la alta impedancia de entrada del instrumento. Esto obliga a diseños especiales de amplificadores: en principio, de muy bajas capacitancias de entrada y con un cuidadoso manejo de blindajes y electrodos de guarda.

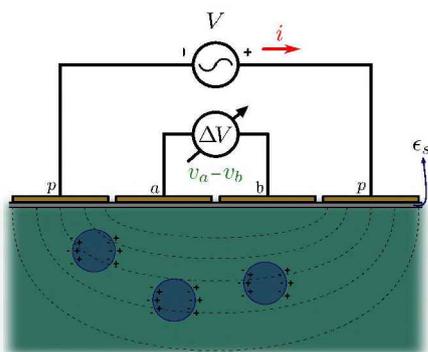


Figura 2. Esquema de los elementos de un sensor para ED con acoplamiento capacitivo. Para este caso, los electrodos p prácticamente forman un capacitor a través de la superficie dieléctrica de permitividad ϵ_s y la solución. Los electrodos de medida a y b también son capacitivos. Al ser externo al proceso, se evitan los requisitos mecánicos y de bioseguridad. Pero requiere de un cuidadoso diseño del *front-end* analógico para evitar degradar las señales.

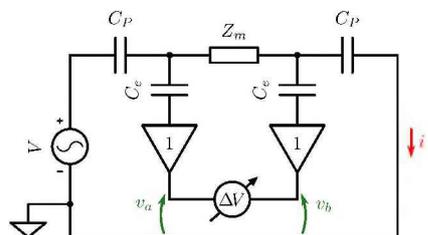


Figura 3. Circuito equivalente para un esquema de medición con cuatro electrodos con acoplamiento capacitivo. Se miden el diferencial de potencial complejo $v_a - v_b$ entre los electrodos de medición modelados por C_e , y la corriente compleja i que circula a través de los electrodos C_p . Se conoce además la fase de la fuente de tensión V empleada. La impedancia Z_m modela a la solución biológica.

I-D. Capacitancias parásitas a la entrada de un amplificador

Las capacitancias parásitas de entrada de un amplificador operacional (AO) pueden modelarse con cuatro capacitores, como se muestra en la Fig. 4A. Aquí, la capacitancia parásita de modo diferencial, C_{inD} , no produce efectos apreciables porque la realimentación negativa es muy efectiva en mantener el mismo potencial en ambas entradas. Pero esto no ocurre con las capacitancias de modo común: C_{inP} , C_{inN} y C_{inM} [19]. Esta última modela la capacitancia del AO con el medio

externo que lo rodea, por lo que podría suprimirse diseñando un electrodo de guarda adecuado. C_{inP} y C_{inN} son internas, propias del AO, y referidas a los nodos de alimentación. Suelen ser del orden de los picofaradios, distintas entre sí, y pueden variar con la frecuencia. En las hojas de datos a menudo estas capacitancias aparecen agrupadas como una sola de modo común referida a masa, $C_{inC} = C_{inP} + C_{inN}$. Sin embargo, para este trabajo no resulta conveniente condensarlas de este modo. El circuito de la Fig. 4B modela el efecto de estas capacitancias sobre la tensión de entrada al amplificador.

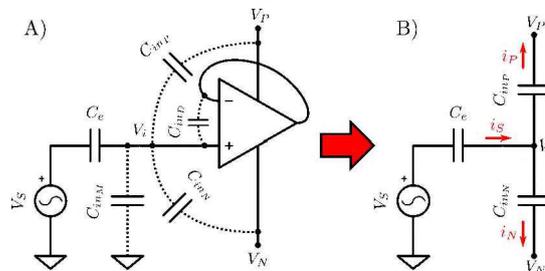


Figura 4. (A) Modelo de uno de los circuitos de *buffer* de la Fig. 3, con sus capacitancias parásitas. En esta instrumentación, C_{inD} queda sin efecto por la realimentación negativa y C_{inM} se reduce considerablemente empleando guardas activas que rodeen al electrodo de medida. (B) Circuito equivalente que se forma a la entrada del amplificador por efecto de C_{inP} y C_{inN} . Lo ideal para la medida es que la corriente i_S sea prácticamente nula.

I-D1. Efecto en la medida de C_{inP} y C_{inN} : Al acoplar capacitivamente la señal a medir con el amplificador, por efecto de C_{inP} y C_{inN} se generan las corrientes i_P y i_N en el circuito de la Fig. 4B (3).

$$\begin{aligned} i_P &= sC_{inP} (V_i - V_P) \\ i_N &= sC_{inN} (V_i - V_N) \end{aligned} \quad (3)$$

Por otra parte, la corriente i que circula por el capacitancia de acoplamiento C_e es

$$i = (V_S - V_i) sC_e \quad (4)$$

El potencial a la entrada del amplificador, desde (3) y (4) resulta entonces (5).

$$V_i = V_S - \frac{C_{inP}}{C_e} (V_i - V_P) - \frac{C_{inN}}{C_e} (V_i - V_N) \quad (5)$$

Para atenuar lo menos posible la señal V_S entonces, es deseable que la capacitancia de acoplamiento C_e sea lo más alta posible y/o que las parásitas C_{inP} y C_{inN} sean de valor ínfimo. La primera depende principalmente de la geometría de los electrodos y del material dieléctrico que contiene el medio de cultivo, por lo que si bien es un parámetro de diseño del instrumento su manipulación presenta límites prácticos (principalmente debido al tamaño). Simulaciones y experimentos previos con electrodos cilíndricos de $780mm^2$ de área y pared plástica menor a $2mm$ arrojaron valores de C_e de alrededor de $25pF$. Como los valores típicos de $C_{inP,N}$ son del mismo orden, es necesario analizar estrategias para reducir el valor efectivo de estas capacitancias al mínimo posible.

I-E. Técnica de bootstrapping

El efecto atenuador que producen $C_{in,P,N}$ en (5) existe porque los potenciales de alimentación del AO son, en principio, de corriente continua. Pero si pudiera lograrse que estos potenciales variaran en el tiempo de la misma manera que la señal de entrada, $(V_i - V_P) = (V_i - V_N) = 0$ y, en consecuencia, $V_i = V_S$ en (5). Esto se consigue acoplando en corriente alterna la salida del amplificador a sus nodos de alimentación, como lo muestra la Fig. 5.

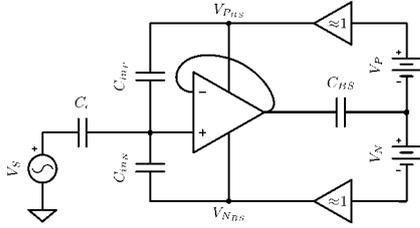


Figura 5. Esquema eléctrico simplificado del circuito de *buffer* propuesto. El acoplar en corriente alterna la salida del *buffer* a las tensiones de alimentación V_P y V_N permite mantener constantes las caídas de tensión en las capacitancias parásitas $C_{in,P}$ y $C_{in,N}$, anulando su efecto atenuador de la señal de entrada V_S (5).

Esta técnica es conocida como *bootstrap* de fuente, que en otras palabras es la realimentación positiva de tensión de la salida del AO a sus fuentes de alimentación. Se impone por esta topología que la ganancia de la etapa debe ser unitaria [20]. Por ser una realimentación positiva, debe prestarse especial cuidado en la implementación para no inestabilizar el lazo: la ganancia de estas realimentaciones debe ser menor que 1. Se presenta entonces un compromiso entre la performance del *bootstrap* y la estabilidad del amplificador. Realimentando V_i a los terminales de alimentación del AO por medio de una ganancia $\alpha_i(s) \lesssim 1$ resulta en (6) [21].

$$\begin{aligned} V_{P_{BS}} &= V_i \alpha_P(s) + V_P \\ V_{N_{BS}} &= V_i \alpha_N(s) - V_N \end{aligned} \quad (6)$$

Reemplazando V_P por $V_{P_{BS}}$ y V_N por $V_{N_{BS}}$ en (5), y considerando solo en corriente alterna al circuito, puede obtenerse la función transferencia $\frac{V_i}{V_S}$ (7).

$$\frac{V_i}{V_S} = \left(1 + \frac{C_{in,P}}{C_e} (1 - \alpha_P(s)) + \frac{C_{in,N}}{C_e} (1 - \alpha_N(s)) \right)^{-1} \quad (7)$$

Definiendo $\gamma_i(s) = 1/(1 - \alpha_i(s))$, puede pensarse al problema en términos de ganancias de *bootstrap* γ . Como $\alpha \approx 1$, γ resulta un valor elevado de ganancia. Entonces, (7) puede reescribirse como (8).

$$\frac{V_i}{V_S} = \left(1 + \frac{C_{in,P}}{C_e \gamma_P(s)} + \frac{C_{in,N}}{C_e \gamma_N(s)} \right)^{-1} \quad (8)$$

Como se mencionó previamente, $C_{in,P,N}$ son de valores desconocidos pero del orden de C_e . Entonces, las elevadas ganancias de *bootstrap* dominan los últimos dos términos de

(8) e idealmente se logra una atenuación casi nula de la señal V_S a la entrada del *buffer*.

En este trabajo, para validar el funcionamiento del circuito *buffer*, se dimensionó y construyó un prototipo y luego se ensayó su respuesta en frecuencia empleando distintas capacitancias de acoplamiento, implementadas con capacitores cerámicos. Al ser solamente una parte del instrumento a desarrollar (ver Fig. 3), no se realizaron aún ensayos con muestras biológicas.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Debido a que se desea aprovechar al máximo el ancho de banda del AO, se emplearon transistores en modo colector común para las realimentaciones positivas. De este modo, se dispuso de suficiente ancho de banda para ajustar las ganancias de *bootstrap* sin perder la estabilidad. La Fig. 6 muestra el diagrama del circuito implementado.

Se realizaron ensayos iniciales en placas de prueba con el fin de ajustar los valores de los componentes. Una vez logrado el funcionamiento deseado, se diseñó en CAD una placa PCB (Fig. 7). Se buscaron tanto funcionalidades operativas, como el empleo de *jumpers* para conectar o desconectar el *bootstrap* de la salida del AO, como protección frente a interferencias electromagnéticas, fundamentalmente de campo eléctrico. Para esto último se buscó proteger la pista de entrada no inversora al AO con un electrodo de guarda activa.

Como AO se empleó un *LMV796* (U_1). Sus características destacadas son: un producto ganancia ancho de banda unitario de 17MHz , densidad espectral de ruido referida a la entrada de $5,8\text{nV}/\sqrt{\text{Hz}}$, y una tensión de fuente requerida de entre $1,8\text{V}$ y $5,5\text{V}$. Físicamente el AO es un circuito integrado con un solo operacional, de montaje superficial, con encapsulado *SOT-23*. Los otros dos componentes activos del circuito son transistores BJT *BC547B* (Q_1) y *BC557B* (Q_2), NPN y PNP de propósito general. Sus productos ganancia ancho de banda exceden los 100MHz .

Se nota el agregado de resistencias $R_{pol} = 20\text{M}\Omega$ frente al modelo más ideal de la Fig. 4B. Estas resistencias permiten el ingreso de la corriente de polarización al AO, manteniendo el nivel de tensión continua de la entrada no inversora en aproximadamente $V_{cc}/2$. Respecto a su efecto en la función transferencia para corriente alterna (6)-(8), no presentan un efecto apreciable a las frecuencias de interés (mayores a 100kHz), ya que sin considerar el *bootstrap* conforman un filtro pasa-altos con la capacitancia de acoplamiento con frecuencias de corte del orden del kHz . Con la utilización del *bootstrap*, estas resistencias se incrementan en el mismo factor en que se reducen las capacitancias parásitas. Por lo tanto, la frecuencia de acoplamiento del filtro pasa-altos se reduce (Fig. 8). Ambas resistencias R_{pol} , por estar directamente vinculadas al nodo de entrada, fueron blindadas por una guarda activa realizada con cinta de cobre (ver Fig. 7). La conexión a la entrada del AO se realizó con un cable coaxial. El electrodo de guarda activa, conformado por una pista en la PCB circundante a la entrada no inversora, el blindaje de cinta de cobre y la

maña del cable coaxil, se conectó a V_o por medio de una resistencia $R_G = 10\Omega$, como muestra la Fig. 6.

Las ganancias γ se fijaron con los divisores de tensión formados por las resistencias $R_{BS} = 100\Omega$ y $R_b = 22k\Omega$, en conjunto con la resistencia $R_t = 1k\Omega$ que permite una ganancia en los transistores poco menor a 1. Esto arroja valores de $\gamma = 221$. El capacitor $C_b = 82pF$ conectado a la base de Q_1 tuvo que agregarse para reducir el ancho de banda de $V_{P_{BS}}$ por motivos de estabilidad del AO. La alimentación de corriente continua del AO queda fijada aproximadamente en $V_{P_{BS}} = V_{CC} - 1V = 4V$ y $V_{N_{BS}} = 1V$. En todo momento, la diferencia de tensión entre ambas líneas de alimentación resulta en $V_{P_{BS}} - V_{N_{BS}} = 3V$, la cual resulta apropiada. Los capacitores C_{BS} de $10\mu F$ permiten que solo se realimenten a la fuente del AO señales por encima del Hz .

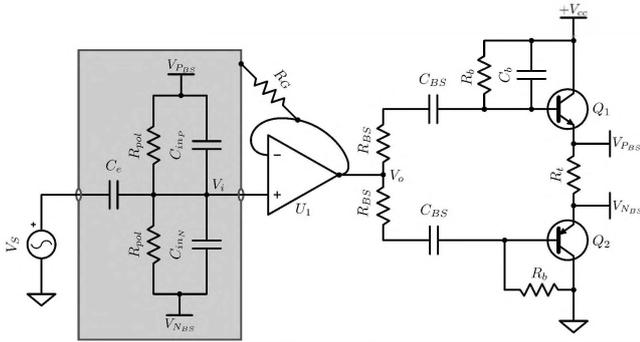


Figura 6. Circuito del amplificador implementado. Las realimentaciones de tensión positivas se llevaron a cabo mediante transistores. Se nota el agregado de resistencias de polarización R_{pol} para la entrada del AO. Las ganancias de *bootstrap* se fijaron con los divisores resistivos formados por R_{BS} y R_b . C_{BS} desacopla la tensión continua entre V_o y la base de los transistores. Los componentes dentro del área gris se hallan blindados electromagnéticamente por la guarda activa, que se compone por una pista en la PCB, el blindaje y la malla del cable coaxil, y está conectada a V_o a través de la resistencia R_G .

Se realizaron ensayos con un osciloscopio Agilent Infini-vision MSO-X 2024A, empleando señales de su generador de funciones de onda como V_S . La placa se alimentó con $+5V_{CC}$ provenientes de una fuente de alimentación de banco Korad KD3305d. El osciloscopio se configuró para adquirir en modo promediador, para un número de 2048 pantallas. Las puntas se configuraron con atenuación $\times 10$. Una punta se conectó al generador de señal (V_S) y otra a la salida del AO (V_o), a través de una resistencia de 100Ω dispuesta en la placa para este fin. La salida del generador de funciones se acopló capacitivamente al *buffer* mediante capacitores cerámicos (C_e) dispuestos dentro de una caja de aluminio, conectada galvánicamente al electrodo de guarda activa. Los valores de C_e para los ensayos fueron de 1,2, 5,6 y 10 pF . Por cada capacitor de acoplamiento se realizaron barridos en frecuencia entre $100Hz$ y $10MHz$, y se registraron las respuestas del circuito con y sin *bootstrap*. También se registraron respuestas a una señal de onda cuadrada de frecuencia $100kHz$. La amplitud de V_S para todos los ensayos fue de $350mV_{pp}$.



Figura 7. Placa construida físicamente. Se notan tanto los componentes soldados como el electrodo de guarda activa extendido con cinta de cobre para blindar electromagnéticamente las resistencias de polarización. La entrada del AO se encuentra conectada mediante un segmento de unos $10cm$ de cable coaxil a un terminal BNC. La malla del cable se halla conectada a la guarda activa.

III. RESULTADOS

Las relaciones V_i/V_S obtenidas en los experimentos, en módulo, se observan en la Fig. 8. La Fig. 9, por su parte, muestra la respuesta de todas las configuraciones experimentadas a una señal de entrada de tipo onda cuadrada.

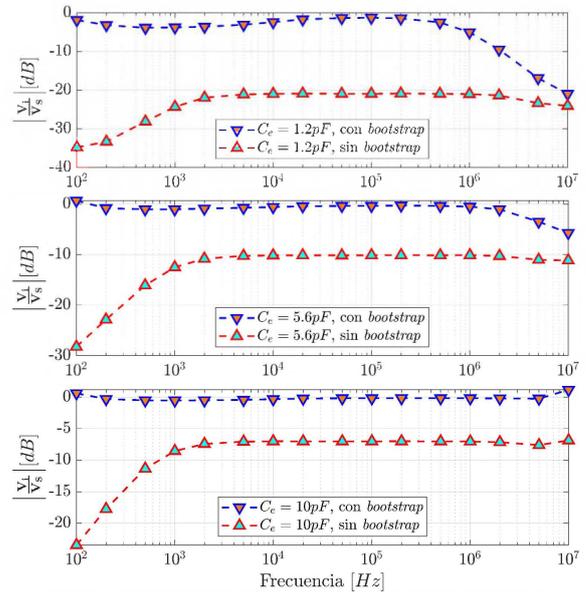


Figura 8. Relaciones V_i/V_S medidas experimentalmente. Se nota la disminución en la atenuación que logra la estrategia de *bootstrap* de fuente. También la mejora con y sin *bootstrap* en la respuesta en frecuencia conforme aumenta el valor de la capacitancia de acoplamiento.

IV. DISCUSIÓN

Las curvas de las funciones transferencia obtenidas (Fig. 8) confirman el comportamiento teórico del circuito, aunque pueden notarse ciertos comportamientos en frecuencia no modelados. Estos pierden notoriedad conforme se incrementa la capacitancia de acoplamiento. Ensayos en simulación del circuito parecen indicar que estos comportamientos se deben a dinámicas de los transistores. Se halla en desarrollo un modelo analítico que permita auxiliar el ajuste de parámetros del circuito.

Las capacitancias parásitas de entrada efectivas, computadas desde los resultados por medio de (8), arrojan valores simi-

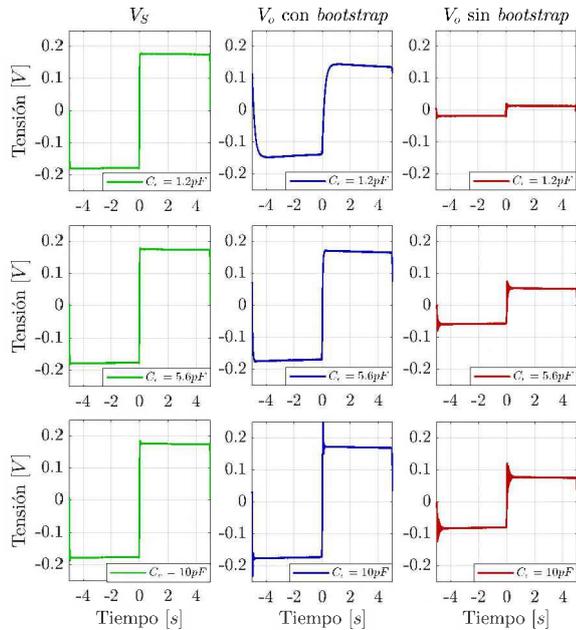


Figura 9. Respuesta del *buffer* a una señal de onda cuadrada de 100kHz , para todos los ensayos. En la columna de la izquierda, la señal de entrada al circuito. En la central, la salida del AO empleando *bootstrap* de fuente. Y a la derecha, la misma salida pero desconectando el *bootstrap*.

lares respecto a las distintas capacitancias de acoplamiento, considerando el ancho de banda útil. En líneas generales, $C_{in_{ef}} \simeq 200\text{fF}$ con *bootstrap*, y $C_{in_{ef}} \simeq 12\text{pF}$ sin él. La ganancia de *bootstrap* efectiva entonces resulta aproximadamente de 60 en lugar del valor de 221 computado teóricamente. Una posible hipótesis para explicar este efecto sería que la ganancia en corriente (hFE) de los transistores empleados no sea lo suficientemente alta. A futuro se realizarán ensayos para verificar esto.

Si bien se considera que el trabajo validó la estrategia de reducción de la capacitancia de entrada para el circuito dado, el sensor que se desea desarrollar podría requerir trabajar a mayores frecuencias que las ensayadas. La continuación del presente trabajo involucra implementar un nuevo *buffer* basado en un AO de mayor producto ganancia ancho de banda. No obstante esto, los resultados experimentales muestran que, para $C_e = 10\text{pF}$, el ancho de banda parece ser suficiente. Esto permite tener en cuenta este circuito para potencialmente monitorear un bioproceso cuya curva de dispersión β presente su meseta de altas frecuencias hacia los 10MHz o menos. El hecho que las capacitancias de acoplamiento de electrodos simuladas y medidas sean mayores a 10pF (25pF aproximadamente) también favorece a esta idea.

V. CONCLUSIONES

El circuito de *buffer* propuesto demostró servir al propósito con el que se lo diseñó: lograr un *front-end* capacitivo para la medida de tensión, cuya respuesta sea insensible a la capacitancia de acoplamiento.

Los resultados obtenidos son concluyentes en dicho sentido: la atenuación para capacitancias de acoplamiento de 1,2, 5,6

y 10pF se redujo de 20, 10 y 7 dB a 2, 0,5 y 0,2 dB respectivamente, con anchos de banda útiles de hasta 600kHz , 4MHz y mayor a 10MHz .

REFERENCIAS

- [1] G. Olsson, M. Nielsen, Z. Yuan, A. Lynggaard-Jensen, and J.-P. Steyer, *Instrumentation, control and automation in wastewater systems*. IWA publishing, 2005.
- [2] Food and Drug Administration, "Guidance for industry: PAT. a framework for innovative pharmaceutical development, manufacturing, and quality assurance," 2004.
- [3] H. De Battista, J. Picó, F. Garelli, and J. L. Navarro, "Reaction rate reconstruction from biomass concentration measurement in bioreactors using modified second-order sliding mode algorithms," *Bioprocess and Biosystems Engineering*, vol. 35, pp. 1615–1625, 2012.
- [4] K. Kiviharju, K. Salonen, U. Moilanen, and T. Eerikäinen, "Biomass measurement online: the performance of in situ measurements and software sensors," *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 35, pp. 657–665, Apr 2008.
- [5] A. Bergin, J. Carvell, and M. Butler, "Applications of bio-capacitance to cell culture manufacturing," *Biotechnol. Adv.*, vol. 61, p. 108048, Oct 2022.
- [6] J. A. Myers, B. S. Curtis, and W. R. Curtis, "Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density," *BMC Biophysics*, vol. 6, p. 4, 2013.
- [7] C. Davey, H. Davey, D. Kell, and R. Todd, "Introduction to the dielectric estimation of cellular biomass in real time, with special emphasis on measurement at high volume fractions," *Anal. Chim. Acta*, vol. 279, pp. 155–161, Jul 1993.
- [8] J. Fernandes, J. Currie, K. Ramer, and A. Zhang, "Development of capacitance tools: at-line method for assessing biomass of mammalian cell culture and fixed cell calibration standard," *Biotechnol. J.*, vol. 14, p. 1800283, May 2019.
- [9] J. P. Carvell and J. E. Dowd, "On-line measurements and control of viable cell density in cell culture manufacturing processes using radio-frequency impedance," *Cytotechnology*, vol. 50, pp. 35–48, 2006.
- [10] J. Yardley, D. Kell, J. Barrett, and C. Davey, "On-line, real-time measurements of cellular biomass using dielectric spectroscopy," *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, vol. 17, pp. 3–35, 2000.
- [11] H. Schwan, "Electrical properties of tissue and cell suspensions," *Adv. biol. med. phys.*, vol. 5, pp. 147–209, 1957.
- [12] R. Fehrenbach, M. Comberbach, and J. O. Pêtre, "On-line biomass monitoring by capacitance measurement," *Journal of Biotechnology*, vol. 23, pp. 303–314, 1992.
- [13] B. Mazzeo and A. Flewitt, "Two- and four-electrode, wide-bandwidth, dielectric spectrometer for conductive liquids: Theory, limitations, and experiment," *J. Appl. Phys.*, vol. 102, p. 104106, Jul 2007.
- [14] B. Mazzeo, "Parasitic capacitance influence of potential-sensing electrodes on four-electrode liquid impedance measurements," *J. Appl. Phys.*, vol. 105, p. 094106, May 2009.
- [15] M. Hoffmann *et al.*, "Galvanic decoupled sensor for monitoring biomass concentration during fermentation processes," *Sens. Actuators B*, vol. 111–112, pp. 370–375, Nov 2005.
- [16] T. Reinecke *et al.*, "Continuous noninvasive monitoring of cell growth in disposable bioreactors," *Sens. Actuators B*, vol. 251, pp. 1009–1017, Nov 2017.
- [17] S. Narayanan, M. Nikkhah, J. S. Strobl, and M. Agah, "Analysis of the passivation layer by testing and modeling a cell impedance micro-sensor," *Sensors and Actuators A*, vol. 159, pp. 241–247, 2010.
- [18] C. Aliau-Bonet and R. Pallas-Areny, "Effects of stray capacitance to ground in bipolar water impedance measurements based on capacitive electrodes," in *XXI IMEKO World Congress - Full Papers*, (Praga), 2014.
- [19] S. Lányi and M. Pisani, "A high-input-impedance buffer," *IEEE Transactions on Circuits and Systems-I: Fundamental Theory and Applications*, vol. 49, pp. 1209–1211, August 2002.
- [20] S. Lányi, "The noise of input stages with low parasitic capacitance," *Measurement Science and Technology*, vol. 12, no. 9, pp. 1456–1464, 2001.
- [21] F. N. Guerrero and E. M. Spinelli, "A two-wired ultra-high input impedance active electrode," *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems*, vol. 12, pp. 437–445, April 2018.