



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD PROFESIONAL

INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA



***“INNOVACIÓN TECNOLÓGICA DE UN SISTEMA FOTOACÚSTICO
APLICADO EN LA CARACTERIZACIÓN Y ESTIMULACIÓN DE
TEJIDOS BIOLÓGICOS”***

TRABAJO ESCRITO CORRESPONDIENTE A LA OPCIÓN DE TITULACIÓN:
CURRICULAR EN LA MODALIDAD DE:
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO BIOMÉDICO

PRESENTA:

ISAI LORENZO REYES ROCANDIO

DIRIGIDA POR:

DR. PEDRO ALEJANDRO LOMELÍ MEJÍA

DR. ALFREDO CRUZ OREA

DR. JORGE ISAAC CHAIREZ ORIA

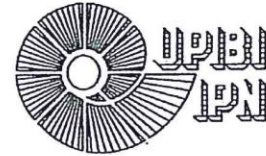


Ciudad de México Mayo 2016





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA

SUBDIRECCIÓN ACADÉMICA

ACTA DE TRABAJO ESCRITO

En la Ciudad de México el día 31 de Mayo del 2016, siendo las 18:00 se reunieron los integrantes de la Comisión de Evaluación para Opción Curricular con el fin de revisar el trabajo escrito titulado: Innovación tecnológica de un sistema fotoacústico aplicado* que presenta el alumno Isai Lorenzo Reyes Rocandio con número de boleta 2012620330, aspirante a (Programa Académico). Ing. Biomédica

Después de intercambiar opiniones los integrantes de la Comisión de Evaluación manifiestan APROBAR EL TRABAJO ESCRITO, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes para la opción curricular de titulación.

COMISIÓN REVISORA.

Alfredo Cruz Orea [Signature] Pedro A. Domínguez Mejía [Signature]
Nombre y firma (Director) Nombre y firma

Guadalupe Flores Sánchez [Signature] Adrián Octavio Ramírez Morales [Signature]
Nombre y firma Nombre y firma

Jorge Isaac Chávez Orea [Signature]
Nombre y firma
Presidente

en la caracterización y estimulación de tejidos biológicos



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD PROFESIONAL

INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA



CARTA DE SESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de México el día 31 de Mayo del 2016, el que suscribe Isai Lorenzo Reyes Rocandio, alumno del Programa Académico Ingeniería Biomédica con número de boleta 2012620330, de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo escrito bajo la Dirección de Dr. Jorge Isaac Chairez Oria y cede los derechos del trabajo titulado ***“Innovación Tecnológica De Un Sistema Fotoacústico Aplicado En La Caracterización Y Estimulación De Tejidos Biológicos”*** al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con los fines académicos que desarrolla.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser solicitado en la siguiente dirección de correo electrónico: reyroc_isal@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá citar la fuente y dar el agradecimiento correspondiente.

Isai Lorenzo Reyes Rocandio
Nombre y firma

Dedicatorias

A mis padres, Leonor y Alvaro por enseñarme a nunca darme por vencido, por creer en mí y seguirme apoyando en todo momento.

A mis hermanas Irais y Helem por su apoyo incondicional y siempre impulsarme a seguir adelante.

A todas esas personas que estuvieron conmigo a lo largo de la carrera que siempre creyeron en mí y siempre me alentaron a seguir adelante.

Agradecimientos

Gracias a la Dra. Erendira Georgina Estrada Villaseñor patóloga del INR, por proporcionar las muestras de tejido biológico utilizadas en este trabajo.

Gracias a mis asesores Dr. Isaac, Dr. Pedro y Dr. Alfredo por su paciencia y tenerme la confianza para la elaboración del proyecto, compartirme sus conocimientos y darme tantas lecciones de vida y de conocimiento.

Contenido

RESUMEN.....	1
ABSTRACT	3
1 Introducción	4
2 Justificación	6
3 Planteamiento	7
4 Propuesta de solución	7
5 Objetivos.....	8
5.1 General:	8
5.2 Objetivos particulares:.....	8
6 Marco Teórico.....	8
6.1 ESPECTROSCOPIA FOTOACUSTICA	9
6.2 Aplicaciones del efecto fotoacústico	12
6.3 Estudios de Fotoacústica en Sólidos [1]	12
6.4 Tipos de celdas Fotoacústicas	12
<i>Celda fotoacústica cerrada</i>	12
<i>Celda fotoacústica abierta</i>	13
6.5 Teoría Fotoacústica Rosencwaig-Gersho (R-G)	13
6.6 Generación de la señal Acústica	20
6.7 Variaciones de Presión en la Cámara Fotoacústica	20

6.8	Casos límite en la teoría del efecto fotoacústico en sólidos	22
	<i>Caso 1</i>	24
	<i>Caso 1.1:</i>	24
	<i>Caso 1.2:</i>	24
	<i>Caso 1.3:</i>	24
	<i>Caso 2:</i>	24
	<i>Caso 2.1:</i>	24
	<i>Caso 2.2:</i>	25
	<i>Caso 2.3:</i>	25
7	Aplicaciones Médicas del efecto Fotoacústico.....	26
7.1	Radioterapia	26
7.2	Conocer la difusividad térmica (α [m ² /s]) [3]	26
7.3	Distribución de un fármaco en la piel [3]:	27
7.4	Procesamiento de imágenes [3].....	27
8	LA interacción de la LUZ EN LOS TEJIDOS.....	30
8.1	Propiedades ópticas de los tejidos [20, 21].....	30
8.2	Interacción de la luz en los tejidos [20].....	32
8.3	Efectos al incidir luz en los tejidos [20]	34
8.4	Efectos fotoquímicos	34
8.5	Efectos electromecánicos.....	34

8.6	Efectos térmicos [20].....	35
8.7	Propiedades ópticas de la piel [22]	35
8.8	Estratum corneum.....	36
8.9	Epidermis [20, 22].....	37
8.10	Dermis.....	37
8.11	Interacciones tisulares [20, 22]	40
8.12	Fototermólisis selectiva [22]	42
9	Clasificación de quemaduras [24].....	43
9.1	Quemaduras de primer grado [24].....	44
9.2	Quemaduras de segundo grado	44
9.3	Quemaduras de tercer grado	45
9.4	Clasificación de quemaduras según Benaim	46
	Son quemaduras leves.....	49
	Son quemaduras graves	49
10	METODOLOGÍA.....	50
10.1	Estructura metodológica	50
10.2	Etapa 1 Diseño del sistema integrado automatizado de análisis de espectroscopia fotoacústica	50
10.3	Etapa 2 Instrumentación [1].....	51
10.3.1	Fuente de luz	52
10.3.2	Técnica de modulación.....	52

10.3.3	Celda Fotoacústica.....	53
10.3.4	Detectores acústicos.....	54
10.3.5	Preamplificadores [1]	57
10.4	Etapa 3 Integración electrónica y de comunicaciones del sistema de análisis del espectrómetro fotoacústico	57
10.5	Desarrollo del software para la operación de las diferentes secciones del sistema de análisis de espectroscopia fotoacústica	60
10.5.1	Labview [29]	60
10.5.2	Instrumentos Virtuales (VI).....	60
10.5.3	Panel Frontal y Diagrama de bloques [29]	60
10.5.4	Ventajas	61
10.6	Etapa 4 Subrutinas del programa principal	61
11	ETAPA 5 Creación de la aplicación y los instaladores del software desarrollado	66
12	Etapa 6 Interfaz Gráfica de usuario	68
13	Validación del sistema	70
14	Evaluación del sistema de análisis de espectroscopía fotoacústica empleando muestras de tejido	74
15	Propuesta de aplicación	79
16	CONCLUSIONES.....	80
17	SITIOS EN DONDE SE REALIZO EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	81
18	Referencias	81

Índice de figuras

Figura 1 Software desarrollado para el espectrómetro fotoacústico.....	1
Figura 2 Producción de señal fotoacústica.....	1
Figura 3 Espectro de absorción óptico de piel de mano quemada.....	2
Figura 4 El Espectrófono de Bell [5].....	4
Figura 5 Celda fotoacústica cerrada [14].....	13
Figura 6 Celda fotoacústica abierta [14].....	13
Figura 7 Representación esquemática del proceso de generación de la señal fotoacústica.	14
Figura 8 Esquema de la sección transversal de la celda fotoacústica cerrada [2].	15
Figura 9 Distribución espacial de la temperatura dependiente del tiempo dentro de la capa de gas adyacente a la superficie del sólido [2].	20
Figura 10 Decaimiento de la luz a lo largo de la muestra [15].	23
Figura 11 Decaimiento de la temperatura en función de la profundidad en la muestra [15].	23
Figura 12 Casos limite en el modelo R-G [15].....	25
Figura 13 Arreglo experimental en bloques para la formación de imágenes mediante técnica fotoacústica.....	29
Figura 14 Coeficientes de absorción de los tejidos.	31
Figura 15 Espectro de absorción del agua.....	31
Figura 16 Espectro de absorción de la hemoglobina [20].....	32
Figura 17 El diagrama representa las cuatro posibles interacciones, cuando la luz incide en la piel. .	36
Figura 18 Capas que componen la piel [23].....	36
Figura 19 Espectro de absorción óptico de la hemoglobina, relación entre su absorción respecto al barrido de longitudes de onda [22].	39
Figura 20 El diagrama representa la ventana óptica que existe en la piel para las diferentes longitudes de onda [22].....	40
Figura 21 Diagrama de la interacción densidad de potencia-tiempo [20].	41
Figura 22 Efectos mecánicos y ópticos posibles al aplicar luz láser.....	42
Figura 23 Quemadura de primer grado (daño en la epidermis) [23].	44
Figura 24 Quemadura de segundo grado [23].....	45
Figura 25 Quemadura de tercer grado [23].....	45

Figura 26 Secciones del cuerpo para determinar el grado de quemadura [25].	48
Figura 27 Diseño experimental para estudios fotoacústicos [3].	51
Figura 28 Lámpara de arco de luz Xenón 450-1000W [26].	52
Figura 29 Chopper óptico SR540 [27].	53
Figura 30 Configuraciones posibles de forma radial Azimutal y longitudinal de un resonador [1].	55
Figura 31 Micrófono de Electreto [28].	56
Figura 32 Circuito de comunicación serial RS 232	58
Figura 33 Cable adaptador RS232-USB con drivers.	58
Figura 34 Cable adaptador DB9-MiniDIN	58
Figura 35 Cable BNC.	59
Figura 36 Ventana de administrador de dispositivos	59
Figura 37 CD de instalación de controlador de cable de adaptación RS232-USB.	59
Figura 38 Diagrama de flujo del programa general.	62
Figura 39 Subrutina de comunicación serial entre Labview y el motor a pasos.	63
Figura 40 Subrutinas de comunicación serial entre Labview y el amplificador Lock-in	64
Figura 41 Subrutina del posicionamiento del motor a pasos.	64
Figura 42 Subrutina de Posicionamiento, normalización y almacenamiento de datos	65
Figura 43 Subrutina de algoritmos matemáticos para graficar los datos.	65
Figura 44 Subrutina de almacenamiento de datos.	66
Figura 45 Subrutina de almacenamiento de datos de referencia de la muestra asignados por el usuario.	66
Figura 46 Ventana de creación de proyectos.	67
Figura 47 Ventana de la herramienta Build Specifications.	67
Figura 48 Venta de propiedades de la aplicación donde son asignadas las características de la aplicación.	67
Figura 49 Archivos de aplicación generados por la herramienta Build Specifications	68
Figura 50 Archivos de instalación del software desarrollado	68
Figura 51 Ventanas del motor de instalación del software desarrollado	69
Figura 52 Interfaz gráfica del Espectrómetro Fotoacústico y el usuario	70
Figura 53 a) Espectro de absorción óptico de la hemoglobina b) Espectro de absorción óptico de la piel negroide y piel caucásica [20].	71

Figura 54 Espectro de absorción óptico de una muestra de piel quemada donde se apreció la presencia de sangre.	71
Figura 55 Espectrómetro Fotoacústico montado en el laboratorio.....	72
Figura 56 Fibra óptica para focalizar la luz monocromática modulada.....	72
Figura 57 Celda Fotoacústica montada con una muestra de tejido biológico para hacer pruebas de validación.	73
Figura 58 Ejemplo de funcionamiento del software del espectrómetro.....	73
Figura 59 Espectro de emisión de la lámpara de xenón.....	74
Figura 60 Se muestra la mano amputada por quemadura eléctrica de donde se tomaron las diferentes muestras para la investigación.	75
Figura 61 a) Muestra de piel con quemada probable de segundo grado montada en la celda fotoacústica y su espectro de absorción óptico.	75
Figura 62 a) Muestra de piel quemada montada en la celda fotoacústica y su espectro de absorción óptico con quemadura probable de cuarto grado.....	76
Figura 63 a) Muestra de hueso esponjoso montada en la celda Fotoacústica b) Espectro de absorción óptico de una muestra de hueso esponjoso.....	77
Figura 64 a) Muestra de hueso cortical montada en la celda Fotoacústica b) Espectro de absorción óptico de una muestra de hueso cortical	77
Figura 65 a) Muestra de sarcoma epitelial b) Espectro de absorción óptico de una muestra de sarcoma epitelial.	78

Índice de tablas

Tabla 1 Coeficientes de absorción y dispersión para hueso trabecular, en función de las longitudes de onda de 514 y 830 nm (visible e infrarrojo cercano respectivamente) [20].	33
Tabla 2 Clasificación de las quemaduras según Benaim [21].	46
Tabla 3 Escala Lund y Browder [25].	48
Tabla 4 Datos clínicos para la valoración aproximada de la profundidad de la quemadura [25].	49

RESUMEN

El Instituto Nacional de Rehabilitación (INR) tiene la necesidad de analizar tejidos biológicos de una forma rápida y sencilla, dadas las implicaciones que en el diagnóstico puede tener este análisis. Por esta razón, se ha decidido implementar un laboratorio de espectroscopia fotoacústica como técnica básica de análisis por las ventajas que ofrece, como analizar muestras en los tres estados de agregación de la materia, trabajar con muestras traslucidas opacas o altamente dispersoras de luz, lo que no ocurre en técnicas de espectroscopia convencional. Sin embargo, el montaje experimental del espectrómetro fotoacústico aún no es comercial por lo que es necesario acoplar mecánica, eléctrica y electrónicamente cada uno de los dispositivos que lo compone.

Adicionalmente, se debe considerar el desarrollo de un software específico que pueda automatizar el funcionamiento del espectrómetro fotoacústico.

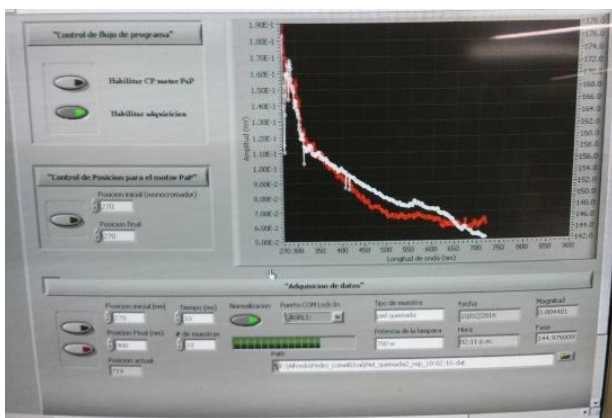


Figura 1 Software desarrollado para el espectrómetro fotoacústico

Dicho software se desarrolló en el lenguaje de programación grafica denominado Labview en forma de una aplicación ejecutable con su propio instalador. Esto le permitió evitar el uso del motor de instalación de Labview o de la instalación de alguna de sus librerías.

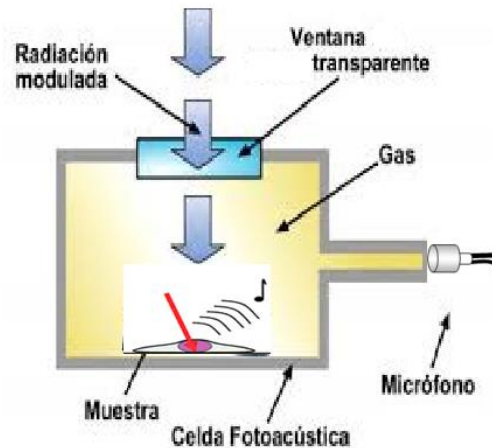


Figura 2 Producción de la señal fotoacústica

El software es capaz de establecer comunicación serial con cada uno de los dispositivos que lo requieren y automatiza el proceso de análisis de la muestra. Este proceso consiste en realizar un barrido de longitudes de onda para obtener los datos de absorción óptica de la muestra a analizar, para posteriormente ser procesados, almacenados y representados de forma gráfica.

Para acoplar electrónicamente cada uno de los dispositivos fue necesario estandarizar los protocolos de comunicación entre cada componente. Lo anterior se realizó mediante la implementación de infraestructura de hardware y controladores con los que ya contaba el INR.

En la espectroscopia fotoacústica, la muestra se coloca en un celda sellada herméticamente y acoplada con un micrófono de electreto. Esta muestra se ilumina con luz monocromática modulada. La luz incidente es absorbida por la muestra y los niveles de energía internos dentro de la misma se excitan, produciendo calor en el interior de la muestra. Esto genera como consecuencia variaciones de temperatura y de presión en el gas contenido en la celda lo que genera la señal fotoacústica, dicha señal es detectada por un transductor acústico y posteriormente amplificada mediante un amplificador Lock-in. La señal obtenida es procesada mediante el software desarrollado y se obtiene el espectro de absorción óptica de la muestra [1, 2].

La muestra a analizar en el espectrómetro fotoacústico no necesita de una preparación previa ni el uso de consumibles, por lo que representa una ventaja en la relación costo-beneficio para el INR.

Los espectros de absorción óptica en muestras biológicas dotan de información específica a los especialistas y su campo de aplicación es amplio [3].

Los espectros obtenidos por el espectrómetro fotoacústico son una herramienta auxiliar para los especialistas que determinan el grado y tipo de quemadura de un paciente con traumatismo

térmico y ayudan a determinar un mejor diagnóstico y tratamiento.

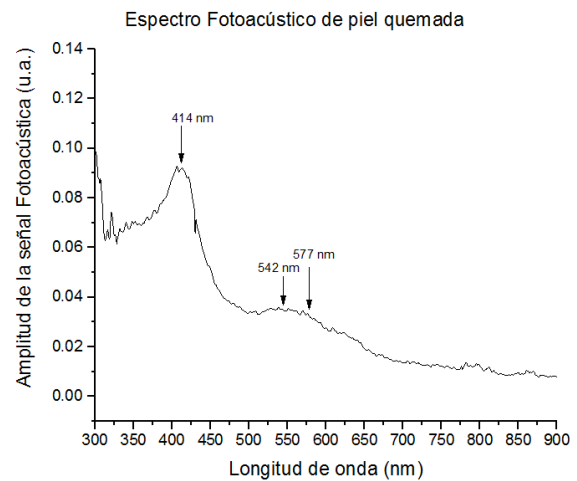


Figura 1 Espectro de absorción óptica de piel de mano quemada

REFERENCIAS

- [1] A. V. Ravi Kumar , «Applications of laser induced photoacoustic effect for the study of gases and solids,» India, 1992.
- [2] A. Rosencwaig y A. Gersho, «Theory of photoacoustic effect with solids,» *Journal of Applied Physics*, vol. XLVII, nº 1, pp. 64-69, 1976.
- [3] P. Lomelí, N. Castellanos, M. Méndez, A. Cruz y J. Jiménez, «Aplicaciones biofísicas de la fotoacústica,» *Investigación en discapacidad*, vol. 1, nº 2, pp. 90-94, 2012.

ABSTRACT

The National Institute of Rehabilitation has the need to analyze biological tissues quickly and easily. Therefore, it was decided to implement a laboratory photoacoustic spectroscopy serving as an analysis technique. This proposal was done in view of the advantages and features offered by this method. The analysis of tissue samples in the three states of matter, working with translucent opaque or highly scattering samples of light are enforced.

This possible solution does not occur in conventional spectroscopy techniques. However, the photoacoustic spectrometer experimental assembly is not yet commercial; so it is necessary to couple mechanical, electrical and electronic devices. This condition added the development of a specific software that automatize the operation of the photoacoustic spectrometer.

The software was developed in the graphical programming language Labview in the form of an executable application. This software has its own installer engine that does require the installation of Labview or any other of its libraries.

The software is able to establish serial communication with each of the devices. This scheme automates the entire process of the system. The analysis implies a sweep of wavelengths and obtain data from optical absorption for the sample to be analyzed subsequently, stored and represented graphically.

Electronically coupling of these devices is necessary to standardize the communication protocols between each component. This process was done by implementing infrastructure hardware and drivers according to the communication protocol for each device.

In photoacoustic spectroscopy the sample is placed in a sealed cell tightly coupled with a microphone electret, and this sample is illuminated with monochromatic light modulated incident light is absorbed by the sample and the levels of internal energy within it is excited, producing heat inside the sample.

This analysis generates as result variations in temperature and pressure in the gas in the cell which generates the photoacoustic signal, said signal is detected by an acoustic and subsequently amplified transducer through a Lock amplifier -in the obtained signal is processed by software developed and the optical absorption spectrum of the sample is obtained.

1 INTRODUCCIÓN

En 1880, Alexander Graham Bell describió que cuando un sólido es iluminado con un haz de luz modulada periódicamente dentro de una celda cerrada, un sonido audible podría ser oído mediante un tubo unido a la celda [4].

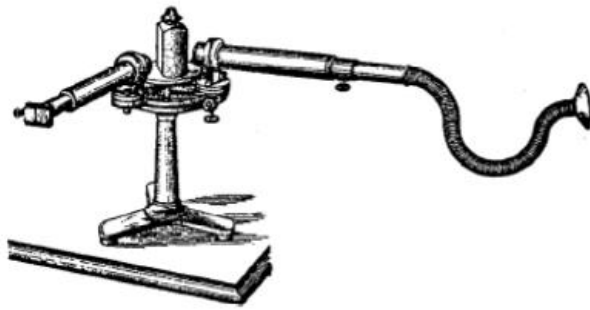


Figura 2 El Espectrófono de Bell [5].

En la figura 4 se muestra el Espectrófono de Bell. La luz solar entra por el tubo de la izquierda, una especie de telescopio donde un sistema de lentes la hace incidir sobre un prisma colocado en el centro, donde se separan en diferentes longitudes de onda, antes de incidir sobre un material sólido colocado a la entrada del tubo de la derecha y provocar el efecto fotoacústico [5].

Motivados por el descubrimiento de Bell, Tyndall [6] y Röntgen [7] descubrieron que una señal acústica también se puede producir cuando un gas se encuentra en una celda cerrada y es iluminada con luz modulada. Bell posteriormente experimentó con una variedad de sólidos, líquidos y gases. Su obra fue considerada como una curiosidad de ningún valor práctico y pronto fue olvidada [1].

Cincuenta años más tarde, fue reexaminado el efecto optoacústico o fotoacústico con gases. Desde entonces se ha convertido en una técnica bien establecida para el análisis de gases. Los fotones absorbidos por el gas se convierten en energía cinética de las moléculas de gas, lo que da lugar a fluctuaciones de presión dentro de la celda. Sin embargo, el efecto fotoacústico sobre sólidos, fue aparentemente ignorado durante 90 años, y una explicación teórica satisfactoria del efecto sobre los sólidos nunca fue publicada formalmente [2].

Recientemente, el interés en el efecto fotoacústico sobre sólidos se ha restablecido con el desarrollo de una técnica muy útil para la investigación espectroscópica de los materiales sólidos y semisólidos [1, 8].

El cambio de Optoacústica a Fotoacústica ha sido instituido para reducir la confusión con el efecto óptico-acústico en el que un rayo láser es desviado por las ondas acústicas en un cristal.

En la espectroscopia fotoacústica (EFA) de sólidos, la muestra a estudiar se coloca dentro de una celda cerrada que contiene un gas, tal como el aire, y un micrófono sensible. La muestra se ilumina con luz monocromática modula. La señal analógica desde el micrófono se aplica a un amplificador sintonizado cuya salida se registra como una función de la longitud de onda de la luz incidente. De esta manera, se obtienen los espectros fotoacústicos y se han encontrado estos espectros para corresponder, al menos cualitativamente, con los espectros de absorción óptica de los sólidos [1].

Una de las principales ventajas de la EFA es que permite obtener espectros similares a los espectros de absorción óptica en cualquier tipo de material sólido o semisólido, ya sea cristalino, polvo, amorfo, gel, frotis, etc. Esta capacidad se basa en el hecho de que sólo la luz absorbida se convierte en sonido [1].

La luz dispersada presenta un problema cuando se trata del análisis de muchos materiales sólidos mediante técnicas espectroscópicas convencionales. Por otro lado, este mismo estudio no presenta dificultades cuando se utiliza la EFA. Además, se ha encontrado experimentalmente que se pueden obtener buenos datos de absorción óptica con la técnica fotoacústica, sobre materiales que son totalmente opacos a la luz transmitida [7].

La EFA ya ha encontrado algunas aplicaciones importantes en la investigación y el análisis de sólidos y semisólidos inorgánicos, orgánicos y biológicos [1]. En particular, la EFA es capaz de analizar tejidos orgánicos como: músculo, nervio, epitelio, etc. Además de poder analizar muestras de tumores, se pueden conocer propiedades térmicas como es la difusividad térmica de una muestra biológica [3].

Mediante este tipo de técnica, se puede conocer el espectro de absorción óptico de una muestra biológica específica que se desee analizar, lo que permite desarrollar una investigación en torno a dicha muestra a partir de los espectros fotoacústicos obtenidos por el Espectrómetro Fotoacústico.

En este trabajo se sientan las bases para la implementación tecnológica de un Espectrómetro Fotoacústico, que operara en el Instituto Nacional de Rehabilitación. Dicho Espectrómetro no es comercial, por lo que es necesario adquirir los diferentes dispositivos que conforman su montaje experimental y posteriormente acoplarlos mecánica y eléctricamente.

Para lograr un análisis automático mediante el cual sea posible definir un barrido de longitudes de onda en una muestra y que a su vez almacene datos y genere un estudio gráfico, se debe desarrollar un

software específico el cual mediante interfaces electrónicas acople y automatice los diferentes dispositivos que componen el Espectrómetro Fotoacústico. Estos dispositivos se mencionan a lo largo de este trabajo. La necesidad de realizar el proceso de la determinación del espectro fotoacústico de esta manera, proviene de la alta sensibilidad que presenta este resultado con relación a la secuencia de pasos.

2 JUSTIFICACIÓN

El Instituto Nacional de Rehabilitación atiende diversas especialidades médicas como son: Ortopedia, Medicina de Rehabilitación, Investigación y Atención de Quemados, entre otros. Por esta razón, se pretende implementar un laboratorio de EFA, lo que permitirá abrir un nuevo campo de investigación dentro del Instituto para desarrollar nuevas técnicas de diagnóstico, rehabilitación e investigación científica en las diferentes especialidades anteriormente mencionadas.

La técnica de EFA es poco conocida y utilizada, debido a que no existe un equipo integrado que se pueda adquirir comercialmente y que sea de fácil instalación. Los diversos dispositivos que integran un espectrómetro fotoacústico son altamente especializados y delicados en su operación. Esto ha promovido el desarrollo de un software específico que esté dotado de interfaces electrónicas y mecánicas, las cuales le permitan acoplar y automatizar de forma computarizada el estudio de EFA.

El equipo que realiza el estudio de la EFA permite trabajar con muestras biológicas de tipos sólidas, semisólidas y líquidas. De hecho, el estudio de EFA no se ve afectado si las muestras son traslucidas o bien, causen dispersión de luz como ocurre en las pruebas de espectroscopia convencional. A través de este mismo estudio, se pueden determinar propiedades como la difusividad térmica. El espectrómetro fotoacústico tiene la ventaja adicional de no necesitar consumibles que deban usarse en cada prueba, así como realizar la prueba en un corto periodo de tiempo. Así, la energía utilizada para llevar a cabo la prueba es no destructiva. Un elemento adicional en favor de la EFA es tener un amplio campo de investigación cuyos resultados pueden incidir en diversos métodos de diagnóstico e incluso de tratamiento.

Las aplicaciones de la EFA son extensas, ya que pueden ir desde caracterización de tejido, estudios de difusividad térmica en hueso para la caracterización de biomateriales, la determinación de cuál es la máxima profundidad hasta la cual ha llegado el daño térmico en determinada área de un paciente con traumatismo térmico, esto entre otras aplicaciones potenciales que se le puede dar al Espectrómetro Fotoacústico. Todas estas ventajas de la EFA motivan el desarrollo de un sistema automatizado que pueda generar un estudio confiable, repetible y reproducible.

3 PLANTEAMIENTO

Los equipos de análisis y estimulación por la técnica de la EFA no son comerciales, por lo que es necesario adquirir los diferentes dispositivos que conforman su montaje experimental y posteriormente acoplarlos mecánicamente y eléctricamente para obtener el espectrómetro fotoacústico.

Para realizar las pruebas de la EFA, es necesario lograr que los diferentes dispositivos operen de forma coordinada por lo que es necesaria la automatización del Espectrómetro. Derivado de la necesidad anterior, es primordial desarrollar interfaces electrónicas que ayuden en el acoplamiento de los diferentes dispositivos, lo cuáles deberán ser controlados por un software específico. Este software tiene como meta principal la coordinación de cada uno de los elementos. Dicho software a desarrollar debe lograr un análisis automático mediante el cual sea posible definir un barrido de longitudes de onda en una muestra y que a su vez almacene los datos obtenidos del espectro fotoacústico de la muestra bajo análisis. El software deberá también incluir una opción para generar una representación gráfica a partir de los datos adquiridos o resguardados. El software debe poseer un conjunto de herramientas matemáticas que permitan realizar el análisis (al menos del tipo estadístico descriptivo) de los datos, así como tener la opción de compatibilidad con los diferentes sistemas operativos que puedan ejecutarse en diversos equipos de cómputo que posean diferentes generaciones tecnológicas.

4 PROPUESTA DE SOLUCIÓN

En este trabajo de investigación, se propone implementar un conjunto de interfaces electrónicas y mecánicas que permitan la coordinación y acoplamiento de los diferentes dispositivos que conformen el sistema automatizado del análisis del Espectrómetro fotoacústico. Las mencionadas interfaces deberán estar asociadas una a la otra, considerando particularmente la compatibilidad electrónica y de protocolos de comunicación entre cada elemento del sistema.

Cada una de las interfaces a desarrollar debe tener la capacidad de ejecutar una comunicación electrónica para que el software sea capaz de controlar cada una de las etapas individualmente, pero con el objetivo de que operen de forma simultánea. El software se debe desarrollar utilizando como principio de diseño el lenguaje gráfico de Labview, el cual controla cada una de las etapas mediante subrutinas para después automatizar todo el proceso en conjunto.

El software será desarrollado de manera que deberá tener la capacidad de instalarse en cualquier computadora, sin la necesidad de requerir el motor de operaciones de software adicional como Labview. De la misma forma, se considera que se deberá agregar una contraseña de seguridad de usuario que

garantice el resguardo de los datos almacenados en dicho software y sean utilizados únicamente por el personal autorizado.

Por último, como un requerimiento de diseño relevante, el software debe generar una interfaz interactiva y simple para el usuario, lo que debe simplificar la utilización del equipo a un usuario no experto en el tema de la espectroscopia fotoacústica.

5 OBJETIVOS

5.1 General:

Desarrollar una interfaz gráfica de usuario en el sistema integrado de simulación llamado LabView, a través del cual se pueda controlar automáticamente el funcionamiento de un Espectrómetro Fotoacústico.

5.2 Objetivos particulares:

1. Diseñar e implementar las etapas eléctricas y/o electrónicas para obtener la función adecuada de un espectrómetro fotoacústico, con los equipos electrónicos que previamente adquiridos por el Instituto Nacional de Rehabilitación.
2. Desarrollar un programa en el sistema integrado de simulación Labview para automatizar la adquisición y procesamiento de datos producidos por espectrómetro fotoacústico.
3. Validar el diseño y la implementación de los dispositivos utilizados en la integración y puesta en marcha del espectro fotoacústico.

6 MARCO TEÓRICO

Una de las aplicaciones más antiguas de la luz, o la materia en cualquier forma de energía radiante, ha sido el estudio de las propiedades de las sustancias. Este método puede ser denominado como la espectroscopia. La espectroscopia es por sí misma una ciencia completa que incorpora varios tipos de técnicas y disciplinas.

La forma más antigua de la espectroscopia, es la denominada espectroscopia óptica, lo que implica la interacción de fotones ópticos con la materia. Posee la ventaja de ser versátil y no destructiva en la naturaleza. La espectroscopia óptica ha encontrado muy diversas aplicaciones en la investigación de las distintas propiedades de la materia en todas sus formas [1].

La espectroscopia óptica convencional se basa en el principio básico en el cual los fotones pasan a través de la materia, o bien son absorbidos, transmitidos, reflejados o dispersos por ella. Todos estos fenómenos pueden ocurrir simultáneamente en la muestra. La mayoría de las técnicas de espectroscopia óptica se basan en la detección y el análisis de los fotones que se transmiten o reflejan en la muestra.

En los casos en que la muestra es muy transparente y por lo tanto la absorción es muy débil, o cuando la muestra es muy opaca, es muy difícil determinar la cantidad de absorción de los fotones por la muestra a través de la técnica convencional mencionada anteriormente [1].

Para las muestras opacas, técnicas como dispersión Raman [9], la reflexión difusa [10], la reflexión total atenuada etc. han sido utilizadas. Sin embargo, estas también tienen limitaciones en las regiones de longitud de onda a las que se podrían aplicar y la diversidad de muestras que podrían analizarse por estas técnicas es muy pequeña. Por otra parte, los datos de estas técnicas eran difíciles de analizar. Para este tipo de muestras que son: débilmente absorbente, con alta dispersión u opacas, y donde las mediciones utilizando técnicas de espectroscopia convencional no pueden ser utilizadas con eficacia, se introdujo una nueva técnica óptica para la detección espectroscópica y fue llamada EFA [1].

6.1 ESPECTROSCOPIA FOTOACUSTICA

La EFA se considera solo un re-descubrimiento de un antiguo resultado que fue propuesto originalmente por Alexander Graham Bell en 1880 [4]. En ese entonces, se denominó como el efecto óptico-acústico. Nombres como el efecto opto-térmico y opto-térmico fotoacústico todavía se utilizan para describir este fenómeno. La diferencia básica de este efecto con la espectroscopia óptica convencional es que, en la espectroscopia convencional, la cantidad de energía absorbida por la muestra irradiada se mide directamente por la luz transmitida o reflejada.

El efecto fotoacústico es esencialmente la generación y detección de efectos acústicos o termo-elásticos, que resultan de la absorción de cualquier tipo de radiación electromagnética modulada o pulsada. La absorción de la muestra provoca que los átomos o moléculas pasen a un nivel de excitación más alto [1]. Como consecuencia de la exposición y absorción de la muestra a una radiación modulada o pulsada, todos o parte de los átomos y moléculas excitadas pierden esta condición para regresar de nuevo al nivel inferior, a través de diversas vías de des-excitación no radiativa. Esto hace que el calor se genere en la muestra a la misma frecuencia de modulación de la luz incidente en la muestra.

Este calor generalmente aparece como la energía cinética de los gases y como energía de vibración de iones o átomos en líquidos. En la EFA, es este calor el que detectan los sólidos, y se realiza mediante la colocación de la muestra en una celda hermética que contiene un transductor acústico sensible [1].

El calor modulado producido en la muestra se transfiere a la capa media de gas no absorbente cerca de la superficie de la muestra contenida en la celda, haciendo que se comprima y se expanda. Por lo tanto, esta capa actúa como un pistón acústico que impulsa el resto del gas en la celda. Las variaciones de presión producidas de este modo se llevan al transductor acústico, que emite una señal eléctrica que es proporcional a la cantidad de absorción de la radiación por la muestra [1].

Tras el descubrimiento de Bell, el efecto fotoacústico fue perseguido por un corto tiempo [7] en los sólidos y líquidos y luego fue abandonado por la falta de posibilidades de aplicación. Fue hasta 50 años más tarde que este efecto fue reconsiderado por Viengerov que consideró su aplicación en una celda fotoacústica resonante para detectar la presión. Se encontró que la variación del espectro fue proporcional a la concentración de la molécula de gas absorbente. Esto se puede considerar como el inicio de la aplicación de la EFA para el análisis de trazas de compuestos en estado gaseoso [1].

Gorelik sugirió y mostro que la fase de la señal fotoacústica contenía información acerca de las tasas de transferencia de energía entre los grados de vibración y de libertad de traslación de un gas. Esto se demostró experimentalmente por Slobodskaya en 1948 [1].

La primera teoría para explicar la EFA y por tanto, su oficial reaparición desde su descubrimiento, se produjo en 1973 con la introducción de la teoría Rosencwaig-Gersho [2, 8], que es una teoría general para la generación y detección de la señal fotoacústica producida en una muestra colocada en una celda de gas-micrófono. Esta teoría tiene que ver con el proceso de generación de la señal y su dependencia de diversos parámetros como la frecuencia de modulación, los tiempos de relajación de la radiación y des-excitaciones no radiantes además de la potencia óptica incidente en una muestra sólida [1].

En la EFA es esencial la detección de calor producido en la muestra. Por esto, al EFA puede ser referida como una técnica calorimétrica. Como la propia muestra genera la señal fotoacústica, esta técnica se puede utilizar en una amplia gama de radiaciones electromagnéticas con la única limitación de que las ventanas ópticas adecuadas que corresponden a la longitud de onda de operación puedan utilizarse en la celda fotoacústica. En comparación con otras técnicas calorimétricas, la EFA es más simple, más rápida, no destructiva en la naturaleza, más sensible, tiene un tiempo de subida del detector superior, etc. [1]. Incluso, es capaz de detectar de manera efectiva las variaciones de presión que corresponden a variaciones de temperatura de aproximadamente $10^{-6} \text{ }^{\circ}\text{C}$ [11].

Con los transductores disponibles actualmente y técnicas de procesamiento de señales, un límite de detección de partes por billón (10^{-9} o *ppbV*) en el caso de líquidos y gases [12], han sido alcanzados de forma experimental con un límite teórico de aproximadamente 10^{-10}cm^{-1} para absorción. Para esta clase de estudios, se ha previsto para una potencia de láser de 1 watt [13].

Dado que se requiere la absorción de la luz para que se genere la señal fotoacústica, la luz dispersada o transmitida por la muestra no interfiere con las mediciones de fotoacústica inherentemente absorbentes. Esto es importante cuando se trabaja con muestras de gran transparencia. Esta propiedad de la EFA de que sea insensible a la luz dispersada la hace ideal para el estudio de las propiedades de alta dispersión como las que prevalecen en las muestras coloides [1].

Para materiales opacos, la EFA puede proporcionar el espectro de absorción, que es difícil de obtener con otras técnicas. Esta capacidad, junto con la información en la fase de la señal fotoacústica con respecto a la frecuencia de modulación, encuentra aplicaciones para ensayos no destructivos de superficies sólidas y sub-superficies a granel, así como en muestras de película delgada. Estos estudios forman una rama de EFA llamada Microscopía fotoacústica, que ha encontrado muchas aplicaciones industriales.

Dado que la EFA implica la medida de la cantidad de la energía absorbida que se basa a su vez en la ruta de des-excitación no radiativa, esta técnica es complementaria a otros procesos de estudios de radiación y fotoquímicos como fluorescencia etc. Así, la EFA se puede utilizar también para estudiar indirectamente la fluorescencia y otros procesos fotoquímicos en la muestra [1].

Además, el estudio de la muestra por la EFA puede proporcionar información que cuando se acopla a la obtenida por medición de la radiación por des-excitaciones, puede proporcionar una imagen completa de los procesos de energía de-excitación que se producen en la muestra. Esta técnica se ha utilizado ampliamente en gases, líquidos y sólidos para una variedad de aplicaciones [1], algunas de las cuales se discutirán más adelante.

Los inconvenientes de la técnica de EFA son que, dado que la señal fotoacústica es detectada por un transductor sensible de volumen, el tiempo de respuesta se limita al tiempo de tránsito de la onda de sonido en el gas dentro de la celda y por la respuesta de baja frecuencia relativamente más débil del micrófono. Estos factores limitan el tiempo de respuesta de un sistema típico de fotoacústico-gas-micrófono al orden de aproximadamente $100 \mu \text{segundos}$.

6.2 Aplicaciones del efecto fotoacústico

En las últimas dos décadas, el efecto Fotoacústico ha encontrado muchas aplicaciones en la espectroscopia de sólidos líquidos y gases, en la medicina y la biología, el análisis de trazas, vigilancia de la contaminación, la teledetección, la física de los semiconductores y materiales amorfos, en películas delgadas, entre otras [1].

6.3 Estudios de Fotoacústica en Sólidos [1]

Una variedad de propiedades en los sólidos se ha investigado en detalle mediante la técnica Fotoacústica. La investigación en EFA de sólidos implica tanto las mediciones de amplitud de la señal de fase y fotoacústica. Propiedades de las muestras como conductividad térmica, difusividad térmica, capacidad de calor, las transiciones de fase, umbral de daño por láser, análisis de superficie etc, han sido investigadas utilizando esta técnica.

La evaluación tanto de la conductividad térmica y la capacidad térmica de las muestras de sólidos es una de las principales aplicaciones de la EFA y estas cantidades han sido evaluadas simultáneamente para las muestras de cristal líquido en sus diferentes mesofases.

Debido a que las técnicas ópticas convencionales no se pueden aplicar a las muestras de dispersión muy ligera, se utilizó la técnica fotoacústica para tales muestras, además de aplicarse a las que tienen difusividad térmica baja y para las muestras altamente opacas, y para muestras difusas, como los semiconductores en polvo.

6.4 Tipos de celdas Fotoacústicas

Hay dos tipos de celdas Fotoacústicas para realizar los estudios de EFA, las cuales se describen a continuación:

Celda fotoacústica cerrada

La muestra absorbe la radiación de la luz a diferentes longitudes de onda proveniente de la luz incidente, en la región ultravioleta hasta la infrarroja pasando por la región de luz visible, y a frecuencia de modulación constante. Las muestras pueden ser ópticamente opacas o transparentes, y térmicamente delgadas o gruesas. Las variaciones de la temperatura dentro de la celda fotoacústica se deben a la absorción óptica que presenta la muestra y permite obtener información acerca de sus propiedades ópticas y térmicas que pueden observarse por el efecto fotoacústico [14]. Este tipo de celda fue utilizada para el presente trabajo de EFA.

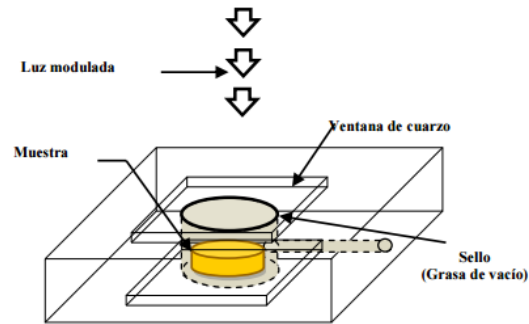


Figura 3 Celda fotoacústica cerrada [14].

Celda fotoacústica abierta

La muestra absorbe la radiación de la luz a frecuencia variable. La radiación absorbida por la muestra produce un flujo de calor modulado. Como resultado de este calentamiento periódico de la muestra, se origina una variación de presión dentro de la cámara oscilando a la frecuencia de modulación que está fijada por el modulador (Chopper mecánico) [14].

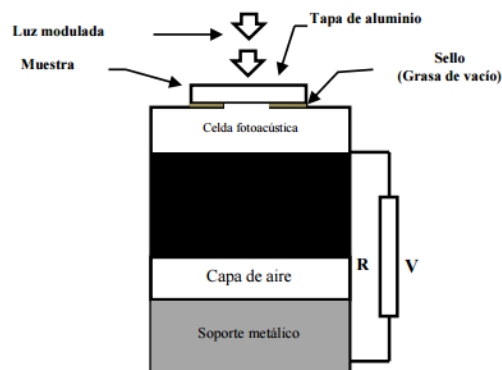


Figura 4 Celda fotoacústica abierta [14].

6.5 Teoría Fotoacústica Rosencwaig-Gersho (R-G)

La teoría se basa en el modelo de un pistón térmico-acústico. La muestra, colocada en un material de soporte se encuentra en una cavidad cerrada que contiene un gas no absorbente y el transductor acústico [2].

El calor generado se debe a la de-excitación no radiativa en la muestra irradiada y se presenta en forma modulada. Dicho calor se transfiere a una capa delgada del medio gaseoso en contacto con la superficie de la muestra. Es esta la capa de gas que juega un papel importante de la detección fotoacústica. Debido al calor modulado que se genera, esta capa delgada de gas se comprime y se expande, alternativamente, y por lo tanto actúa como un pistón acústico que actúa sobre el resto del gas en la celda. La representación esquemática del proceso de generación de señal fotoacústica en sólidos se muestra en la figura 7.

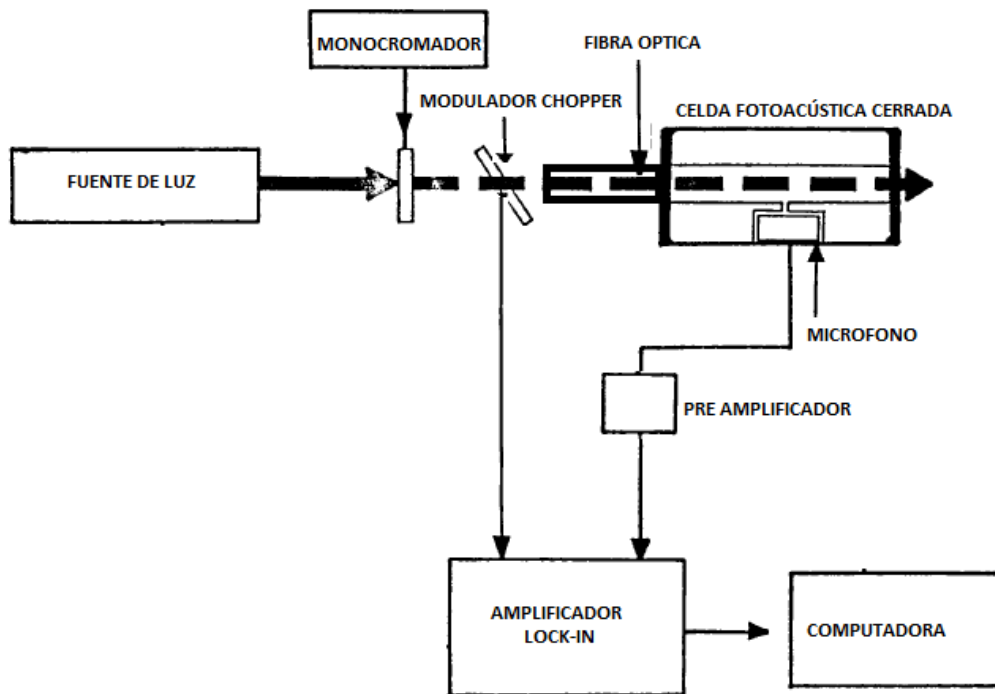


Figura 5 Representación esquemática del proceso de generación de la señal fotoacústica.

A continuación, se describe brevemente la teoría del efecto fotoacústico en sólidos desarrollada por Rosencwaig-Gersho [2].

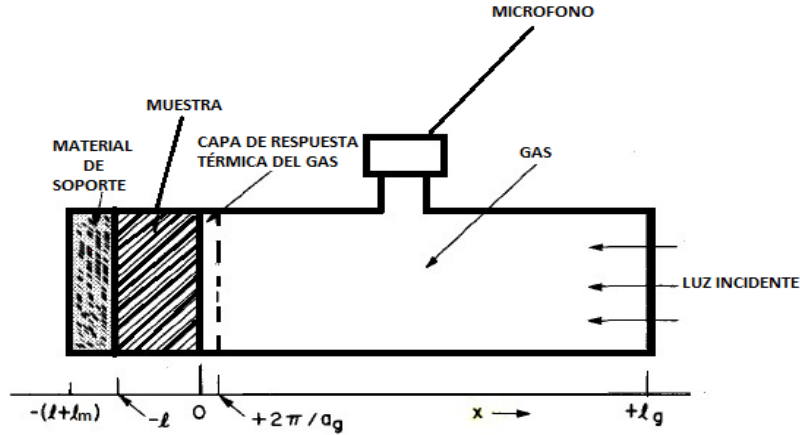


Figura 6 Esquema de la sección transversal de la celda fotoacústica cerrada [2].

De acuerdo al diagrama representado en la Figura 8, se ilumina la muestra con luz modulada y el calentamiento periódico producido en la muestra, debido a la absorción de luz, provoca un flujo de calor modulado de la muestra hacia el gas y hacia el soporte. La difusión de calor de la muestra hacia cada uno de los medios, tomando en cuenta que solo la muestra absorbe esta luz, se puede describir mediante la ecuación de difusión de calor en cada medio de la celda fotoacústica cerrada representado en el esquema de la figura 8. Para el caso de la muestra, la cual absorbe la luz incidente, su ecuación de difusión de calor según Rosencwaig-Gersho [2] se puede representar como:

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} = \frac{1}{\alpha_m} \frac{\partial \phi}{\partial t} - A e^{(\beta x)} [1 + e^{j\omega t}] \quad -l \leq x \leq 0 \quad (1.1.1)$$

Donde:

$$A = \frac{\beta I_0 \eta}{2k_m} \quad (1.1.2)$$

En la ecuación anterior, los parámetros incluidos corresponden a:

β = coeficiente de absorción óptico de la muestra

I_0 = intensidad de la luz incidente

η = eficiencia de conversión de la luz absorbida a calor

k_m = conductividad térmica de la muestra

Las ecuaciones de difusión de calor correspondientes al medio gaseoso y al soporte, las cuales no absorben la luz incidente, son:

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} = \frac{1}{\alpha_s} \frac{\partial \phi}{\partial t} \quad -l-l_s \leq x \leq -l \quad (1.1.3)$$

La siguiente ecuación describe en particular la difusión de calor del soporte

$$\frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} = \frac{1}{\alpha_g} \frac{\partial \phi}{\partial t} \quad 0 \leq x \leq l_g \quad (1.1.4)$$

Las soluciones de la ecuación de difusión para cada medio son:

$$\phi_m(x, t) = e_1 + e_2 x + d e^{\beta x} + [U e^{\sigma_m x} + V e^{-\sigma_m x} - E e^{\beta x}] e^{j\omega t} \quad (1.2.1)$$

$$-l \leq x \leq 0$$

Y la correspondiente solución para $\phi_s(x, t)$ es:

$$\phi_s(x, t) = \left(\frac{1}{l_s}\right) (x + l + l_s) W_0 + W e^{[\sigma_s(x+l)+j\omega t]} \quad (1.2.2)$$

$$-l - l_s \leq x \leq -l$$

Finalmente, la ecuación solución para $\phi_g(x, t)$ es

$$\phi_g(x, t) = \left(1 - \frac{x}{l_g}\right) \theta_0 + \theta e^{-\sigma_g x + j\omega t} \quad (1.2.3)$$

$$0 \leq x \leq l_g$$

Donde W, U, V, E y θ son constantes complejas e_1, e_2, d, W_0 y θ_0 son constantes reales y $\sigma_i = (1 + j)a_i$ con $a_i = \sqrt{\frac{\omega}{2\alpha_i}}$. En particular θ y W representan amplitudes complejas de las temperaturas periódicas en la frontera muestra-gas ($x = 0$) y frontera muestra-soporte ($x = -l$), respectivamente [15].

La solución que no depende del tiempo (dc) en el soporte de la celda y del gas, se puede asumir que la variación de la temperatura (en relación a la temperatura ambiente) es cero en ambos extremos de la celda, W_0 y θ_0 indican la componente dc de la temperatura (en relación a la temperatura ambiente) en las superficies de la muestra $x = -l$ y $x = 0$, respectivamente [2, 15]. La cantidad d , determinada por la ecuación 1.1.1 están determinada por:

$$d = -\frac{A}{\beta^2} \quad (1.3.1)$$

La ecuación específica para E esta descrita por

$$E = \frac{A}{(\beta^2 - \sigma_m^2)} = \frac{\beta I_0 \eta (1 - R)}{2k_m(\beta^2 - \sigma_m^2)} \quad (1.3.2)$$

Donde R es el coeficiente de reflexión y η es la eficiencia de conversión de luz a calor. Las condiciones de continuidad para la temperatura y el flujo de calor en las superficies de la muestra son:

$$\phi_g(0, t) = \phi_m(0, t) \quad (1.4.1)$$

En el caso de $\phi_s(-l, t)$, se tiene

$$\phi_s(-l, t) = \phi_m(-l, t) \quad (1.4.2)$$

Por otro lado, para existe una relación intrínseca entre las condiciones a la frontera de ϕ_g y ϕ_m , la cual está dada por:

$$k_g \frac{\partial \phi_g}{\partial x}(0, t) = k_m \frac{\partial \phi_m}{\partial x}(0, t) \quad (1.4.3)$$

De la misma forma para ϕ_s y ϕ_m , se tiene

$$k_s \frac{\partial \phi_s}{\partial x}(-l, t) = k_m \frac{\partial \phi_m}{\partial x}(-l, t) \quad (1.4.4)$$

Las ecuaciones 1.4.1 y 1.4.2 corresponden a la condición de continuidad en temperatura y las ecuaciones 1.4.3 y 1.4.4 corresponden a la continuidad de flujo de calor (Ley de Fourier). De las ecuaciones 1.4.1, 1.4.2, 1.4.3 y 1.4.4, se obtienen las componentes (dc) en las ecuaciones 1.2.1, 1.2.2 y 1.2.3 [2, 15].

$$\theta_0 = e_1 + d \quad (1.5.1)$$

$$W_0 = e_1 - e_2 l + d e^{-\beta l} \quad (1.5.2)$$

A partir de la descripción obtenida anteriormente para d , se puede obtener la siguiente forma equivalente:

$$-\left(\frac{k_g}{l_g}\right)\theta_0 = k_m e_2 + k_m \beta d \quad (1.5.3)$$

$$\left(\frac{k_s}{l_s}\right)W_0 = k_m e_2 + k_m \beta d e^{-\beta l} \quad (1.5.4)$$

De las ecuaciones 1.5.1, 1.5.2, 1.5.3, 1.5.4 se determinan los coeficientes e_1, e_2, d, W_0 y θ_0 , para las componentes independientes del tiempo de las soluciones 1.231 Aplicando las ecuaciones 1.4.1, 1.4.2, 1.4.3, 1.4.4 a la componente sinusoidal de la solución dada se obtienen:

$$\theta = U + V - E \quad (1.6.1)$$

$$W = U e^{-\sigma_m l} + V e^{\sigma_m l} - E e^{-\beta l} \quad (1.6.2)$$

$$-k_g \sigma_g \theta = k_m \sigma_m U - k_m \sigma_m V - k_m \beta E \quad (1.6.3)$$

$$K_S \sigma_S W = U e^{-\sigma_m l} - k_m \sigma_m V e^{-\sigma_m l} - k_m \beta E e^{-\beta l} \quad (1.6.4)$$

A partir de los componentes calculados previamente, la solución para la ecuación de difusión de calor del medio gaseoso se puede escribir como:

$$\left(1 - \frac{x}{l_g}\right) \theta_0 + \theta e^{(-\sigma_g x + j\omega t)} \quad (1.7)$$

Resolviendo las ecuaciones anteriores y tomando en cuenta las condiciones de frontera en las dos interfaces (muestra-gas) y (muestra –soporte), encontramos las constantes θ_0 y θ para la capa de gas, en la cual se generan las variaciones de presión que dan origen al efecto fotoacústico. Así la expresión para θ es:

$$\theta = \frac{\beta I_0}{2km(\beta^2 - \sigma_m^2)} \left(\frac{(r-1)(b+1)e^{(\sigma_m l)} - (r+1)(b-1)e^{(-\sigma_m l)} + 2(b-r)e^{(-\beta l)}}{(g+1)(b+1)e^{(\sigma_m l)} - (g-1)(b-1)e^{(-\sigma_m l)}} \right) \quad (1.8)$$

Donde:

$$b = \frac{k_s a_s}{k_m a_m} \quad (1.9)$$

$$g = \frac{k_g a_g}{k_m a_m} \quad (1.10)$$

$$r = (1-j) \frac{\beta}{2a_m} \quad (1.11)$$

$$a_i = \sqrt{\frac{\pi f}{\alpha_i}}, \quad i = g, s, m \quad (1.12)$$

Siendo θ la amplitud compleja de la temperatura en la frontera muestra-gas ($x = 0$).

6.6 Generación de la señal Acústica

El proceso de difusión de calor periódico produce una variación de temperatura periódica en el gas dada por la componente sinusoidal (ac) de la solución 1.2.3. Se puede observar en la Figura 9 que la componente de la temperatura dependiente del tiempo del gas se atenúa rápidamente con el incremento en la distancia desde la superficie de la muestra [2, 15]. Así, esta relación se puede describir como:

$$\phi_{ac}(x, t) = \theta e^{(-\sigma_g x + j\omega t)} \quad (1.13)$$

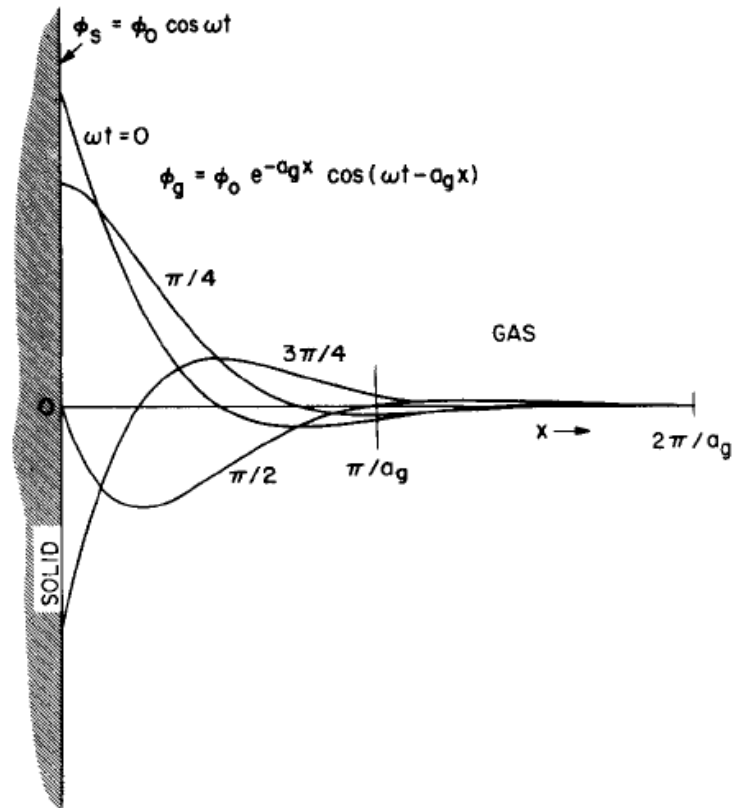


Figura 7 Distribución espacial de la temperatura dependiente del tiempo dentro de la capa de gas adyacente a la superficie del sólido [2].

6.7 Variaciones de Presión en la Cámara Fotoacústica

Analizando lo anterior se tiene que a una distancia de $\frac{2\pi}{\alpha_g} = 2\pi\mu_g$, donde μ_g es la longitud de difusión térmica en el gas de la cámara fotoacústica, la variación periódica de la temperatura en el gas se amortigua casi totalmente para esa distancia. Así, se puede tomar en cuenta solo una capa delgada en el gas, la cual actúa como un pistón hacia el resto del gas debido a la expansión térmica en ella, porque

es la capa que responde térmicamente a las variaciones periódicas de temperatura en la superficie de la muestra. Esta capa tiene un espesor de $2\pi\mu_g$ ($\approx 0.1cm$ a $\frac{\omega}{2\pi} = 100Hz$) [15]. Para poder evaluar la expansión térmica en dicha capa es necesario calcular el promedio espacial de la temperatura de esta capa en función de tiempo:

$$\bar{\phi}(t) = \left(\frac{1}{2}\pi\mu_g\right) \int_0^{2\pi\mu_g} \phi_{ac}(x,t) dx \quad (1.14)$$

De la ecuación anterior, se tiene:

$$\bar{\phi}(t) \cong \left(\frac{1}{2}\sqrt{2\pi}\right) \theta e^{j(\omega t - \frac{1}{4}\pi)} \quad (1.15)$$

Esta expresión se obtiene usando la aproximación $e^{-2\pi} \ll 1$. El desplazamiento del pistón debido al calentamiento periódico en la muestra, puede ser estimado usando la ley de los gases ideales.

$$\delta x(t) = 2\pi\mu_g \frac{\bar{\phi}(t)}{T_0} = \frac{\theta\mu_g}{\sqrt{2}T_0} e^{j(\omega t - \frac{1}{4}\pi)} \quad (1.16)$$

Donde $T_0 = \Phi + \theta_0$, Φ es la temperatura ambiente en las paredes de la celda y θ_0 es el incremento de la temperatura debido a la componente estacionaria del calor absorbido. Si se asume que el resto del gas responde a la acción del pistón adiabáticamente, entonces la presión acústica en la celda, debida al desplazamiento del pistón, puede determinarse a través de la ley de gas adiabático [15].

$$PV^\gamma = cte$$

De la cual el incremento de la presión puede determinarse:

$$\delta P(t) = \frac{\gamma P_0}{V_0} \delta V = \frac{\gamma P_0}{l_g} \delta x(t) \quad (1.17)$$

Donde P_0 y V_0 representan la presión ambiental y el volumen del gas, respectivamente y $-\delta V$ es el incremento en el volumen. De la ecuación 1.17 se tiene:

$$\delta P(t) = Q e^{j(\omega t - \frac{1}{4}\pi)} \quad (1.18)$$

$$Q = \frac{\gamma P_0 \theta}{\sqrt{2} l_g a_g T_0} \quad (1.19)$$

Finalmente, la expresión para la variación de presión sinusoidal en medio gaseoso de la celda fotoacústica se puede expresar como:

$$Q = \frac{\beta I_0 \gamma P_0}{2\sqrt{2} k_m l_g a_g T_0 (\beta^2 - \sigma_m^2)} \left(\frac{(r-1)(b+1)e^{(\sigma_m l)} - (r+1)(b-1)e^{(-\sigma_m l)} + 2(b-r)e^{(-\beta l)}}{(g+1)(b+1)e^{(\sigma_m l)} - (g-1)(b-1)e^{(-\sigma_m l)}} \right) \quad (1.20)$$

Esta ecuación es utilizada para evaluar la amplitud y fase de la onda de presión acústica producida en la celda por el efecto fotoacústico.

6.8 Casos límite en la teoría del efecto fotoacústico en sólidos

Dado que la solución descrita para el efecto fotoacústico es compleja, se han tomado algunos casos límites con respecto a las propiedades térmicas (muestras térmicamente delgadas o gruesas) y ópticas (muestras ópticamente transparentes u opacas) de la muestra, por lo cual se examinaron casos especiales en los cuales la expresión se vuelve relativamente simple. Estos casos se agrupan dependiendo la opacidad óptica de los sólidos la cual está determinada por la relación de la longitud de absorción óptica, $\mu_\beta = \frac{1}{\beta}$ y el espesor l del sólido [2, 15].

Para cada caso de opacidad óptica, tres casos son los que se consideran de acuerdo a la longitud de difusión térmica (μ_m) comparada con l y μ_β . Primeramente, se define un factor que siempre es constante en Q que es:

$$D = \frac{\gamma P_0 I_0}{2\sqrt{2} l_g T_0} \quad (1.21)$$

Para entender los diferentes casos que se tomarán en cuenta para simplificar la ecuación 1.20 se grafica tanto la variación de temperatura como la intensidad de luz absorbida, ambas en función de la profundidad en la muestra y se comparan con el espesor de la misma así diferentes casos se obtienen al comparar μ_β y μ_s con el espesor l :

CLASIFICACIÓN ÓPTICA

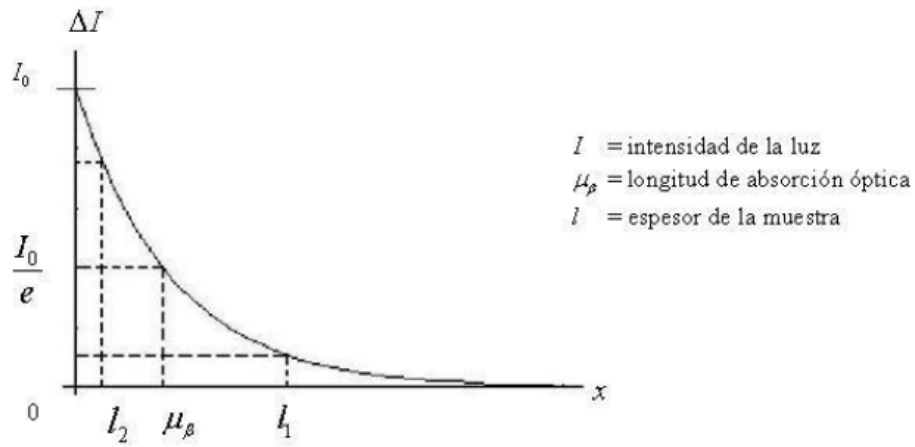


Figura 8 Decaimiento de la luz a lo largo de la muestra [15].

Si $l_2 < \mu_\beta \rightarrow$ ópticamente transparente $\beta l \ll 1$, $l_1 > \mu_\beta \rightarrow$ ópticamente opaca $\beta l \gg 1$

CLASIFICACIÓN TÉRMICA

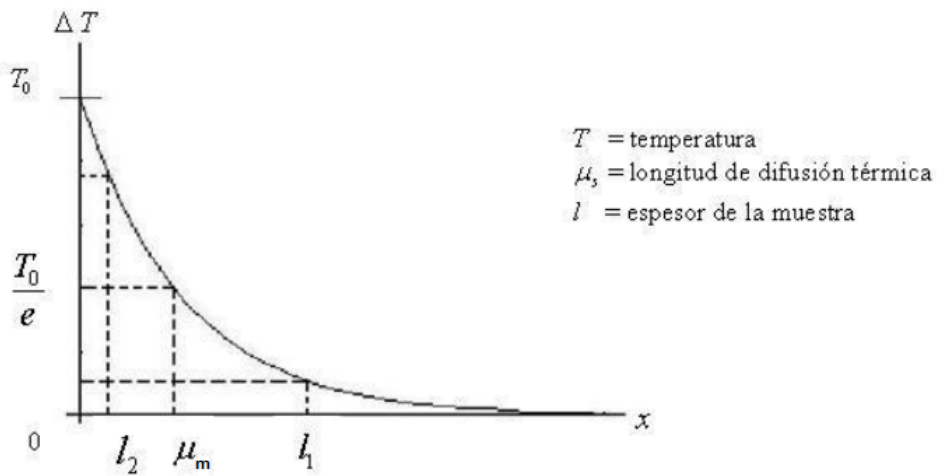


Figura 9 Decaimiento de la temperatura en función de la profundidad en la muestra [15].

Si $l_1 > \mu_m \rightarrow$ termicamente gruesa $|\sigma_m l| \gg 1$, $l_2 < \mu_m \rightarrow$ termicamente delgada $|\sigma_m l| \gg 1$

Caso 1

Sólidos Ópticamente Transparentes ($\mu_\beta > l$). En este caso la luz es absorbida en todo el espesor de la muestra, pero la intensidad del haz luminoso incidente (I_0) no llega a ser menor de $\frac{I_0}{e}$ cuando sale del lado opuesto al lado iluminado de la muestra.

Caso 1.1:

Sólidos Térmicamente Delgados ($\mu_m \gg l$; $\mu_m > \mu_\beta$). La señal acústica es proporcional a βl , y $\frac{\mu_s}{\alpha_g}$ es proporcional a $\frac{1}{\omega}$, la señal acústica depende de ω^{-1} . Para este caso $\mu_m \gg l$, las propiedades térmicas del material de soporte aparecen en la expresión de Q .

Caso 1.2:

Sólidos Térmicamente Delgados ($\mu_m > l$; $\mu_m < \mu_\beta$). Este caso también depende de las propiedades térmicas del material del soporte.

Caso 1.3:

Sólidos Térmicamente Gruesos ($\mu_m < l$; $\mu_m \ll \mu_\beta$). Aquí la señal acústica es proporcional a $\beta \mu_s$, dado que sólo la luz absorbida dentro de la primera longitud de difusión térmica μ_m , contribuye a la señal, a pesar de que la luz se absorbe a lo largo de la longitud l_m del sólido. También ya que $\mu_m < l_m$, las propiedades térmicas del material del soporte son reemplazadas por las de la muestra y la frecuencia varía como $\omega^{-\frac{3}{2}}$ [2, 15].

Caso 2:

Sólidos Ópticamente Opacos ($\mu_\beta \ll l$). En este caso la luz se absorbe a través de una longitud pequeña comparada con l_m .

Caso 2.1:

Sólidos Térmicamente Delgados ($\mu_m \gg l$; $\mu_m \gg \mu_\beta$). En este caso la "opacidad" fotoacústica al igual que la opacidad óptica, en el sentido de que la señal acústica es independiente de β . Este sería el caso

de un sólido muy absorbente como el grafito. La señal depende de las propiedades térmicas del material de soporte y varía como ω^{-1} .

Caso 2.2:

Sólidos Térmicamente Gruesos ($\mu_m < l$; $\mu_m > \mu_\beta$). En este caso aparecen los parámetros térmicos de la muestra.

Caso 2.3:

Sólidos Térmicamente Gruesos ($\mu_m \ll l$; $\mu_m < \mu_m$). Este caso trata de un sólido opaco, sin embargo como $\frac{\mu_m}{\mu_\beta}$, este sólido no es fotoacústicamente opaco, ya que solo la luz absorbida dentro de la longitud de difusión térmica μ_m contribuirá a la señal acústica, la cual es proporcional a β .

En el siguiente esquema se resume los diferentes casos abordados para la simplificación de la figura 12.

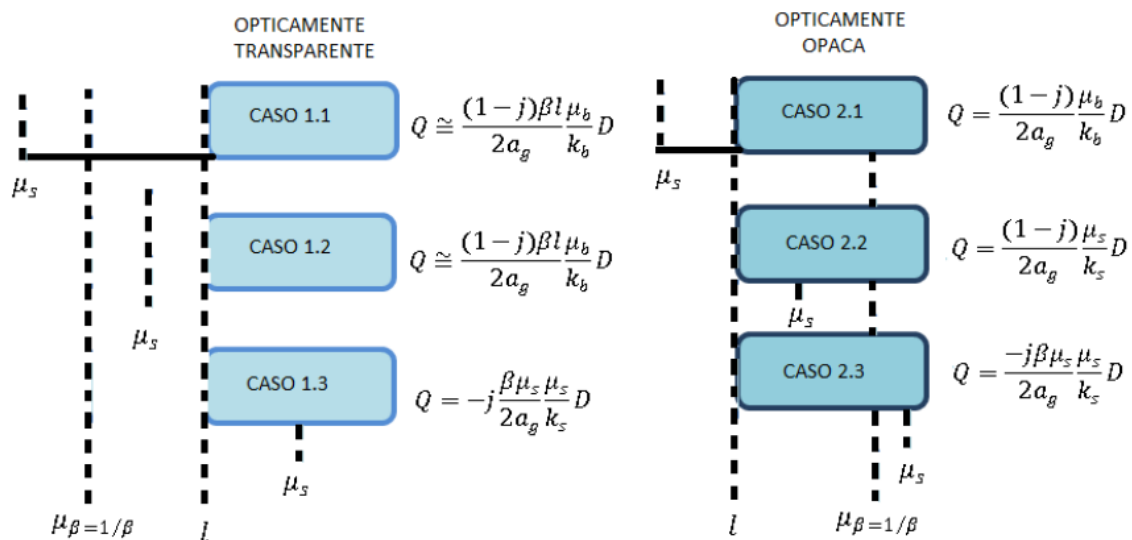


Figura 10 Casos límite en el modelo R-G [15].

Las ecuaciones desarrolladas para los casos especiales se utilizan para obtener una forma más simplificada las caracterizaciones térmicas y ópticas de muestras a partir de la amplitud y fase de la señal fotoacústica medida experimentalmente [15].

7 APLICACIONES MÉDICAS DEL EFECTO FOTOACÚSTICO

A continuación, se mencionarán algunos ejemplos de la aplicación de la EFA en el área médica:

7.1 Radioterapia

En esta área se puede determinar el tipo de láser conveniente para ciertas terapias, por ejemplo uno que permita la aceleración del proceso de cicatrización a nivel de las capas más superficiales de la piel, esto a partir de una investigación que permita conocer las propiedades ópticas y térmicas de la piel, es decir conocer una respuesta espectral de un barrido de longitudes de onda del tejido en estudio.

Lo recomendable es conocer las propiedades ópticas de la piel, tomar una biopsia y someterla a un barrido de diferentes longitudes de onda, conocer su respuesta de acuerdo con la ley de Lambert-Beer [16], pero esto sería muy difícil, ya que es necesario contar con muchas fuentes monocromáticas. Una posibilidad puede ser realizando un estudio por EFA. De esta forma, se puede obtener una respuesta espectral continua, en un rango de longitudes tan grandes como lo permitan las condiciones del equipo de fotoacústica empleado [3].

7.2 Conocer la difusividad térmica (α [m²/s]) [3]

La difusividad térmica es una propiedad característica de cada material, determina la «velocidad» con la cual se difunde el calor y depende de su densidad ρ [kg/m³], la orientación con la cual se haga una medición o se conduzca el calor, su conductividad térmica k [W/°Cm] y el calor específico C_p [J/kg °C]. Esta propiedad toma importancia en aplicaciones ortopédicas, por ejemplo, al colocar una placa metálica ortopédica después de alinear una fractura. Muchas veces, sucede que se llega a tener la sensación de «toques eléctricos» en torno al implante, sobre todo cuando se está expuesto a variaciones externas de temperatura [17]. Este problema se produce por el contacto entre dos superficies que conducen de forma diferente el calor: el hueso y el metal. Este gradiente de temperatura que se ha formado, a su vez, induce cambios del orden de milivoltios, que de alguna manera alteran los nervios que se encuentran en su vecindad. Esto se debe a que se unen materiales con coeficientes de difusividad térmica α [cm²/s] diferentes.

La razón mecánica de diseño por lo que se recomienda que muchos implantes tengan algún tipo de recubrimiento de tipo cerámico, es procurar una buena osteointegración, y desde el punto de vista termodinámico, lograr que la conducción de calor sea homogénea desde el implante hacia el hueso y viceversa. Generalmente, los fabricantes de implantes toman en cuenta características de tipo mecánico, como es la resistencia de los materiales, o bien, los efectos toxicológicos de los mismos, pero no los

efectos térmicos, una vez que ha pasado un tiempo de su colocación [18]. Al hacer estudios de difusividad térmica en huesos, se ha encontrado que el calor se transmite de forma diferente en hueso esponjoso y en hueso cortical, y aún más, difiere su dirección, dependiendo de la línea del corte de observación.

El calor se difunde mejor en la dirección de la porosidad (corte transversal), que en la dirección perpendicular a la porosidad (corte longitudinal). Este tipo de estudios se ha realizado con EFA, y tiene grandes ventajas, a diferencia de la espectroscopia convencional, en la que se requiere del apoyo de esferas de concentración, en virtud de que estas últimas utilizan un mecanismo de comparación entre la radiación incidente y la que pasa a través de la muestra.

En la EFA, el tamaño de las muestras puede ser del orden de 4 x 4 mm, sin ninguna preparación en particular. Se puede aplicar esta técnica de diagnóstico no invasiva con algunas variantes, para hacer estudios directamente en seres vivos, aun si hay algún tipo de neoplasia, o si se trata de una mujer embarazada.

7.3 Distribución de un fármaco en la piel [3]:

En algunos casos, es de gran interés conocer la distribución de algún fármaco; por ejemplo, la disposición de un analgésico como es el piroxicam, el cual puede aplicarse tópicamente, ya sea por medio de masajes, o a través de ultrasonido (fonoforesis).

Por fotoacústica, se puede conocer la eficiencia de su transporte, es decir, qué tan profundo ha llegado en las capas más internas de la piel en estudios *in vivo*. Lo anterior se debe a que, cambios en la concentración de la difusión de la droga alteran la distribución de las fuentes de calor, y en combinación con la absorción de la luz modulada conducen cambios en la señal fotoacústica detectada, la cual es directamente proporcional a la concentración del medicamento o droga aplicada.

Los resultados observados de estos estudios indican que no solamente la concentración final obtenida depende de la forma o método obtenido para aplicar una determinada droga, sino también del tipo de piel, y es natural, ya que sus propiedades ópticas son diferentes para cada individuo. De manera semejante, es posible evaluar qué tan hidratada se encuentra la piel.

7.4 Procesamiento de imágenes [3]

Probablemente, la aplicación más interesante de la fotoacústica para la medicina sea el procesamiento de imágenes, las cuales son vitales para el diagnóstico y la investigación médica, sobre todo cuando se

trata de casos clínicos donde lo que se busca es causar un mínimo de molestias al paciente y evitar posibles daños colaterales. Muchas tecnologías actuales tienen algún tipo de limitante técnica o económica. Tan sólo por mencionar uno, la tomografía axial computarizada (TAC) tiene el inconveniente de usar radiación ionizante, además de implicar fuertes sumas de dinero, tanto para instalación como para mantenimiento. La imagen por ultrasonido tiene un contraste pobre, y las técnicas ópticas puras de la proyección de imagen no pueden visualizar con eficacia las estructuras a varios centímetros de profundidad en el tejido, debido a la fuerte dispersión del tejido biológico, entre otras características.

Al tomar en cuenta esta problemática, se investigan nuevas tecnologías de diagnóstico, tal es el caso de la imagenología fotoacústica [19]. Esta técnica, relativamente nueva, fue desarrollada en 2002, por un grupo de investigadores de UCL (Biomedical Optics Research Laboratory, BORL) en Inglaterra, basados principalmente en la obtención de ondas acústicas generadas por la incidencia de un láser para visualizar la estructura interna de los tejidos.

Potenciales aplicaciones incluyen la evaluación del cerebro, enfermedades vasculares, anomalías de la piel y la detección temprana de cáncer de mama, de una manera no-invasiva y no-ionizante.

A partir de los principios básicos de la fotoacústica y de las propiedades ópticas de los tejidos, se ha desarrollado una nueva tecnología que combina lo mejor de ambas técnicas, denominada tomografía fotoacústica (PAT, por sus siglas en inglés), la cual es no-invasiva y no-ionizante.

En la figura 13 se muestra un diagrama de bloques de un arreglo experimental, para procesar imágenes por medio de técnicas fotoacústicas. La adquisición se hace combinando técnicas de ultrasonido y fotoacústica. Consta principalmente de un equipo láser pulsado en el rango de radiofrecuencia, con el cual se emite luz a alta frecuencia para la excitación de la muestra de estudio; un equipo para la detección ultrasónica de las ondas mecánicas que se generan cuando la muestra se somete a periodos de calentamiento y enfriamiento, debido a la incidencia periódica de la luz, y un equipo fotoacústico para la detección de la amplitud de señal, en función de la absorción de la longitud de onda por la muestra de estudio. El procesamiento de imágenes se hace principalmente con algoritmos matemáticos que permiten el procesamiento de la señal en un robusto equipo de cómputo. Se observa, de este diagrama en bloques, que es necesario lograr pulsos de luz láser, que deben coincidir con la luz que más fácilmente es absorbida por el tejido de estudio, a una determinada frecuencia en el rango de los miles de Hertz (radiofrecuencia).

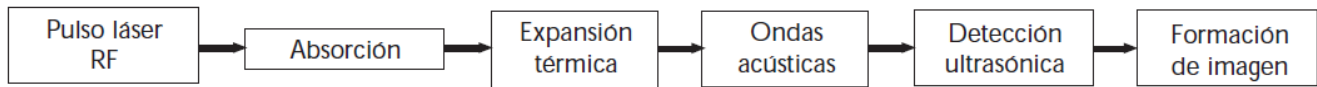


Figura 11 Arreglo experimental en bloques para la formación de imágenes mediante técnica fotoacústica.

Posteriormente, esta absorción causará efectos de dilatación y contracción, y se producirán ondas termoelásticas que generalmente están en la región del ultrasonido (frecuencias mayores a 20 kHz). Finalmente, la señal que se obtiene se procesa mediante algoritmos matemáticos y sofisticados sistemas de computación para obtener imágenes que pueden ser, inclusive, en tercera dimensión.

En esencia, una imagen fotoacústica es considerada como una imagen obtenida por ultrasonido, en la cual el contraste no depende de las propiedades mecánicas y elásticas del tejido, pero sí de sus propiedades ópticas, en particular de la absorción óptica. Como consecuencia, ofrece una mayor definición que la imagen de ultrasonido, con la habilidad de detectar hemoglobina, lípidos, agua y otros cromóforos que absorben luz, pero con una mayor trayectoria de penetración que la imagen obtenida ópticamente. Una de las grandes aplicaciones será en la detección de cáncer prostático y de mama, debido a que el crecimiento tumoral provoca neovascularizaciones. Los métodos de reconstrucción de la imagen a partir de las señales acústicas del detector no son una tarea fácil, continúan en evolución y dependen, en gran medida, de la aplicación clínica que se desee [3].

Una de las aplicaciones de la fotoacústica dentro del procesamiento de imágenes es conocer el daño tisular en pacientes que han sufrido algún tipo de quemadura. Conocer cuál es la profundidad máxima que se ha afectado, así como su extensión, es una tarea difícil, ya que lo que se busca es manipular, lo menos posible, estructuras que son muy sensibles al dolor. La hidratación de la piel, en estos casos, es una variable de gran importancia, que da una idea de qué tan grande es el daño tisular. La determinación visual, por sí sola es inexacta, aun al tratarse de personal altamente calificado. Una opción puede ser disponer de métodos ópticos, ya que no son invasivos, y por medio de la luz que se refleja es posible hacer un acertado diagnóstico. La tomografía óptica coherente (OCT), sensible a la polarización, es una técnica que puede, potencialmente, evaluar la profundidad de una quemadura *in vivo*, permite la alta resolución en la sección transversal de imágenes de la microestructura de los tejidos, de forma análoga a las imágenes obtenidas por ultrasonido, excepto que, en lugar de disponer de sonido, se usa luz infrarroja. Con esta tecnología se tiene la mejor opción para determinar la profundidad y extensión de una lesión tisular de este tipo [3].

8 LA INTERACCIÓN DE LA LUZ EN LOS TEJIDOS

8.1 Propiedades ópticas de los tejidos [20, 21]

Los tejidos biológicos tienen una ventana de absorción bien definida en el espectro electromagnético, que los identifica y diferencia ópticamente unos de otros.

La hemoglobina, a diferencia del agua y la grasa, cambia en función de la concentración de oxígeno, lo que depende del metabolismo del tejido. Entonces, los correspondientes cambios en absorción pueden proveer información fisiológica clínicamente útil.

En el rango espectral que va desde el ultravioleta UV-A, al infrarrojo cercano, los tejidos son normalmente sujetos a dispersión no homogénea, la cual puede ser debida a la presencia de grandes organelos celulares (mitocondria, lisosomas, membranas internas y aparato de Golgi)

Los tejidos orgánicos son ópticamente inhomogéneos, su índice de refracción es, en promedio, mayor que el del aire. Esto se toma en cuenta en la reflexión parcial de la radiación en los tejidos y en la interface aire-tejido (reflexión de Fresnel), mientras la radiación restante logra penetrar en el tejido, dispersiones y absorciones múltiples ocurren, dando como consecuencia un incremento en el diámetro del haz de luz, con lo que decae su trayectoria, un volumen cada vez mayor se incrementa y da lugar a una dispersión de la radiación en sentido contrario a la dirección del haz aplicado. Del espectro electromagnético absorben una fracción muy pequeña y bien definida, que se conoce como ventana de absorción y es función de varios parámetros (entre ellos el pigmento del tejido, el grado de rugosidad, la densidad de agua contenida). Esta ventana de absorción está en el rango de 0.1 a 1.5 μm y se muestra en las figuras 14,15 y 16.

Al analizar tejidos por la EFA, pueden existir considerables diferencias entre los coeficientes medidos *in vitro* e *in vivo*, debido a la forma en que se conserven. De los problemas más frecuentes que se tienen al estudiar tejidos están los siguientes:

- Depositarlos en solución salina, lo que incrementa su reflexión.
- Exponerlos a grandes cambios de temperatura, ya sea que se congelen o bien que se dejen secar.

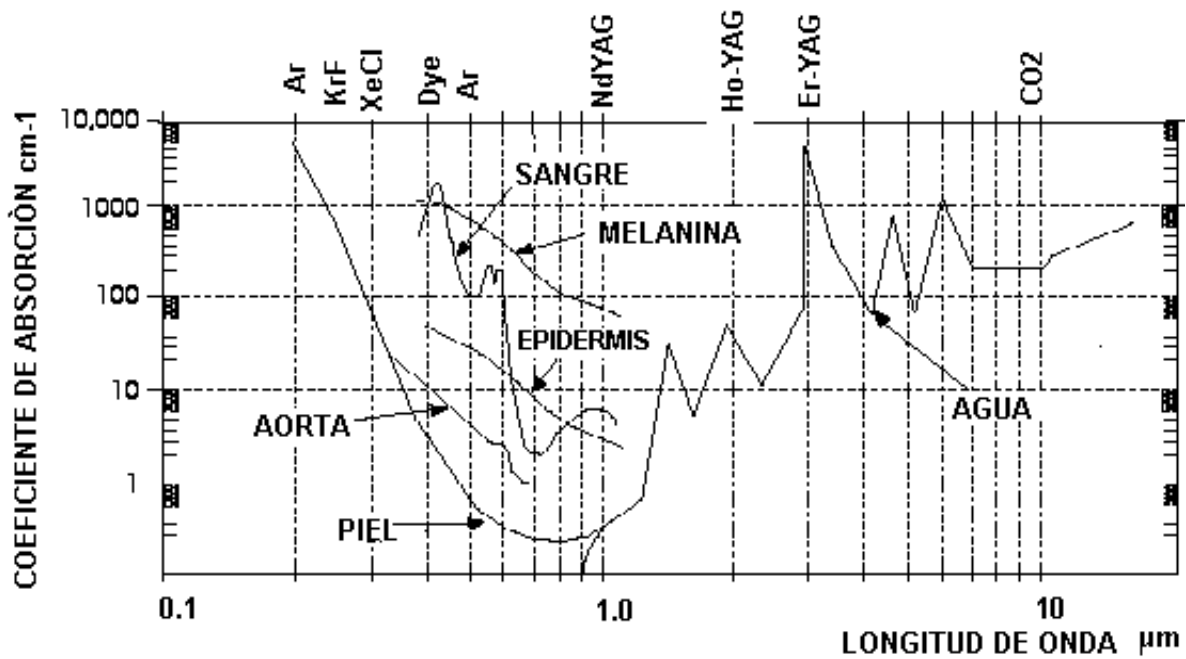


Figura 12 Coeficientes de absorción de los tejidos.

En la figura 14 se ilustran los diferentes espectros de absorción óptica de diferentes tejidos donde se puede ver claramente que cada uno tiene una respuesta diferente en las longitudes de onda del espectro electromagnético.

Figura 3.1

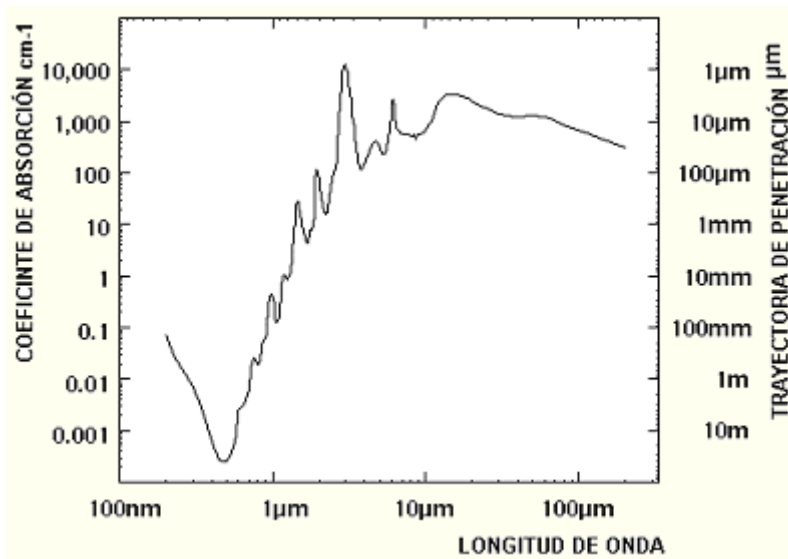


Figura 13 Espectro de absorción del agua.

El espectro ilustrado en la figura 15 se puede observar que el agua tiene una respuesta mayor en ciertas longitudes de onda pertenecientes al rango del infrarrojo.

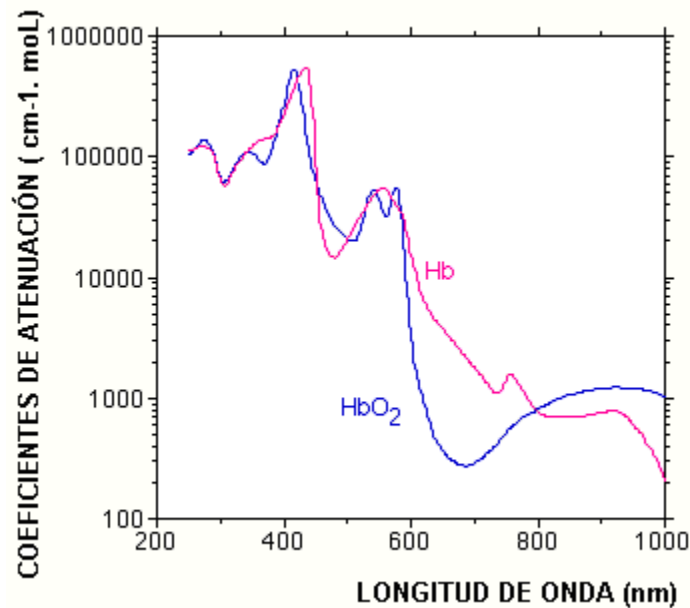


Figura 14 Espectro de absorción de la hemoglobina [20].

— Hemoglobina — Hemoglobina oxigenada

En la figura 16 se puede apreciar claramente la diferencia del espectro de absorción óptica entre la hemoglobina oxigenada donde a su vez podemos observar las bandas de absorción características de la hemoglobina entre 418 a 422 nanómetros y de 520 a 570 nanómetros que son las bandas mejor caracterizadas y más reconocidas.

8.2 Interacción de la luz en los tejidos [20]

Los aspectos ópticos y mecánicos no están separados en los tejidos orgánicos. Ellos realizaron experimentos *in vitro*, con piel humana (de dos donadores hispanos y tres caucásicos) para determinar sus propiedades ópticas como función de la presión. Cada muestra se sometió a compresión por medio de un sistema de resortes y placas. La reflexión y la transmisión de cada muestra se midieron con y sin carga, de aproximadamente 0.1 a 1 kg/cm². Bajo compresión el espesor de los tejidos se redujo hasta un 78 %. De lo anterior se encontró que la reflexión decrece mientras la transmisión se incrementa bajo compresión. Los coeficientes de absorción y dispersión, con respecto al grupo control sin carga, presentaron un incremento.

Farrar en 1999, publica un trabajo de caracterización de las propiedades ópticas de un hueso trabecular. (Tabla 3.1) Para este experimento, se dispuso de una esfera de un espectrofotómetro integrador. Se menciona que al aplicar luz láser de argón (514.5 nm), y luz de un diodo láser de 810 nm, a un hueso trabecular, se encuentran los siguientes resultados.

Tabla 1 Coeficientes de absorción y dispersión para hueso trabecular, en función de las longitudes de onda de 514 y 830 nm (visible e infrarrojo cercano respectivamente) [20].

	LONGITUD DE ONDA 514 nm	LONGITUD DE ONDA 810 nm
COEFICIENTES DE ABSORCIÓN [cm^{-1}]	89 ± 1.95	$0.0874 \pm .111$
COEFICIENTES DE DISPERSIÓN [cm^{-1}]	141.2 ± 15.8	94.44 ± 15.03
TRAYECTORÍA 1/e ALCANZADA [μm]	69	106

Entre las principales propiedades ópticas de los tejidos se tiene: la absorción y dispersión característica de cada tejido. La absorción de la radiación electromagnética es definida, por el coeficiente de absorción, de acuerdo a la ley de Beer-Lambert que esta descrita por:

$$I = I_0 e^{-\mu \sigma \Delta X}$$

Donde:

I = intensidad de la luz incidente

I_0 = intensidad de la luz transmitida

El coeficiente de absorción, puede ser expresado como

$$\mu_a = \rho\sigma_a$$

Donde:

ρ = la densidad de la partícula

σ_a = la sección transversal de la zona de absorción de la radiación.

El recíproco de μ_a es conocido como la trayectoria libre de absorción y es igual a la máxima trayectoria libre que un fotón puede alcanzar.

8.3 Efectos al incidir luz en los tejidos [20]

Dependen de la longitud de onda, intensidad de la luz aplicada, contenido de sangre, tiempo de exposición, cantidad de agua contenida en los mismos, atmósfera en la cual se aplique la luz, geometría del haz, modo de operación y coeficientes de absorción y dispersión, entre los más importantes parámetros, que han de tomarse en cuenta en una aplicación determinada, al considerar los efectos más conocidos: fotoquímicos, electromecánicos y térmicos.

8.4 Efectos fotoquímicos

Al aplicar potencias del orden de 30 mW es posible inducir efectos estimulantes en los tejidos. La estimulación láser normalmente se establece en el rango de 0.5 a 10 J/cm² con lo que es posible incrementar la síntesis de ADN, activar complejos enzimáticos, transformar prostaglandinas y producir efectos de microcirculación [20].

8.5 Efectos electromecánicos

Sucedan cuando una luz láser no es absorbida uniformemente en el tejido, ya que algunos átomos son más sensibles que otros, lo que hace que se incremente la energía de sus niveles. La energía concentrada es conducida a formar esfuerzos y a la ionización de esos estados atómicos energizados. Las células en la trayectoria de la onda de choque, que se propaga a la velocidad del sonido, son mecánicamente fragmentadas.

Este tipo de interacción requiere altas densidades de potencia, del orden de 10⁹ a 10¹² W/cm², con pulsos cortos y densidades de energía del orden de 100 J/cm², así como campos eléctricos del orden de 100 V/cm, que son comparables a los campos eléctricos, atómicos o intermoleculares. Esto induce la ruptura dieléctrica en los tejidos, resultando en un micro-plasma, o volumen ionizado con un gran número de

electrones. Una ruptura mecánica, localizada de tejido, ocurre debido a la onda de choque asociada con la expansión del plasma.

8.6 Efectos térmicos [20]

Al decrecer el tiempo de interacción y aumentar la densidad de potencia, se inducen efectos foto térmicos. La principal aplicación es la conversión de luz a calor. Al presentarse este efecto, lo que sucede es que, al absorber energía se genera un estado vibracional excitado de las moléculas y entonces las colisiones elásticas con las moléculas vecinas, dan como resultado un incremento en su energía cinética, esto conduce a una elevación de la temperatura.

Tanto la estructura, como la función de las células vivas, son determinadas por una amplia variedad de proteínas. Esas estructuras moleculares son térmicamente estables a la temperatura del cuerpo. Al elevar la temperatura de los tejidos a 60 °C, o más, las macromoléculas son energicamente activadas y una transición hacia la desnaturalización ocurre. Consecuentemente, una molécula de proteína, pierde su arreglo espacial y su función en la célula. Posteriormente, enzimas termolabiles (inestables térmicamente) tienen una reacción en el tejido, a lo cual sigue la necrosis.

8.7 Propiedades ópticas de la piel [22]

Debido a un proceso evolutivo, la piel humana ha desarrollado mecanismos ópticos y químicos para protegerse de la radiación electromagnética, en particular de la ultravioleta (UV). La piel es la primera barrera contra este tipo de radiación y es el sitio de muchas reacciones fotoquímicas. En el rango ultravioleta, la mayor parte de esta radiación es impedida para continuar a subcapas internas e interactúa con biomoléculas en la piel y vasos cutáneos. Cuando una luz láser incide en la piel, hay cuatro posibles efectos (Figura 17):

- Reflexión.
- Dispersión.
- Absorción.
- Transmisión.

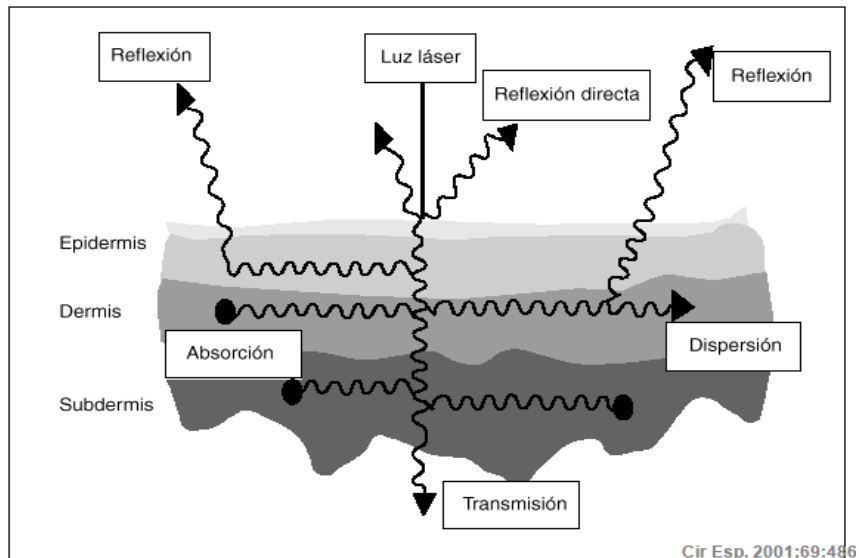


Figura 15 El diagrama representa las cuatro posibles interacciones, cuando la luz incide en la piel. La piel está constituida por capas, como se muestra en la figura 18 y cada una de ellas tiene un comportamiento óptico bien definido, así, se pueden mencionar las siguientes capas: *Estratum corneum*, Epidermis y Dermis.

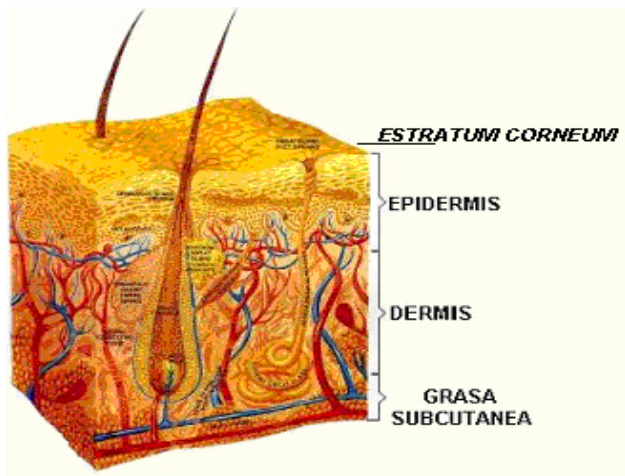


Figura 16 Capas que componen la piel [23].

8.8 Estratum corneum

Esta capa está formada por capas de grasa, células muertas con queratina (fibras protectoras de la piel) y lípidos que constituyen la capa más superficial de la epidermis y por lo tanto, de la piel. Esta estructura actúa como un difusor óptico debido a su superficie normalmente rugosa, de forma semejante a los difusores de acrílico que se colocan a los tubos fluorescentes. La primera interacción de la luz ocurre

aquí, donde cerca del 5-7 % de la radiación incidente es reflejada hacia atrás (hacia la superficie).

8.9 Epidermis [20, 22]

Actúa como un filtro óptico, cuyos cromóforos (estructuras orgánicas que absorben de forma selectiva la luz, por ejemplo: en la región del ultravioleta A, azul y amarillo, el cromóforo puede ser: hemoglobina. En la región del ultravioleta C y B, los cromóforos pueden ser: proteínas, ácido urocánico, melanina, ácido nucleico), el espesor es determinado tanto por factores genéticos como por la acción del medio ambiente, los cuales modifican el espesor, las fibras y la dispersión de la luz a la dermis. El principal cromóforo es la melanina, una proteína compleja macromolecular derivada de la tirosina, la cual absorbe fuertemente la luz visible y UV. Los melanocitos interactúan con los queratinocitos y facilitan la transferencia de melanina a la superficie y finalmente algo de melanina es depositada en el *estratum corneum*, en gránulos llamados melanosomas. Proporcionan protección contra daño actínico a la piel y a quemaduras por el sol.

La mayor absorción de la epidermis y el *estratum corneum*, de longitudes de onda menores a 220 nm, es debida principalmente a cadenas de péptidos. El contenido de melanina y su distribución juega un papel importante al determinar la transmisión, en la epidermis, de la radiación óptica. De todo el espectro, desde el UV hasta el infrarrojo cercano. La melanina tiene su mayor absorción en longitudes de onda cercanas a 1200 nm, como resultado de su estructura polimérica cromofórica. La absorción de la luz reemitida por cromóforos tales como hemoglobina o melanina, da a la piel su color. Análisis espectrales detallados pueden dar información acerca de los tejidos, concentración de sangre en los tejidos, concentración de bilirrubina o de algunas drogas. Así mismo, el cáncer de piel está relacionado inversamente con la cantidad de melanina presente.

8.10 Dermis

Es principalmente una mezcla semisólida de fibras, agua y gel viscoso, llamada sustancia basal. Consiste de agua y mucopolisacáridos.

Hay tres tipos de fibras presentes en esta subcapa:

- Colágeno
- *Reticulum*
- Elastina [20, 22]

El colágeno constituye aproximadamente el 70 % del peso en seco de la dermis, es una gran molécula de tejido constituida por fibrillas. La dispersión óptica, por fibras de colágena inmersas en la capa basal de tejido, determina la trayectoria de penetración en el tejido conectivo. Las longitudes de onda corta son dispersadas mucho más que las largas y su penetración es menor. En resumen, en la radiación UV un número grande de moléculas absorben esta radiación. Por ejemplo, en la piel, aún con ausencia de melanina, las longitudes de onda relativamente cortas, cercanas a 320 nm, alcanzan los vasos cutáneos, en la dermis.

Debido a una reemisión de la luz, por sustratos de la sangre, se tiene una componente del color correspondiente a esa longitud de onda en la piel. La sangre absorbe fuertemente las longitudes correspondientes al azul y al verde.

Las longitudes de onda corta en el espectro visible, pueden penetrar tan profundo como 0.5- 2.5 mm, posteriormente decae la intensidad de la luz conforme a la razón $1/e$ (e es la base de los logaritmos neperianos 2.71828...). En este caso, la dispersión y absorción ocurren con 15-40 % de la intensidad de la luz incidente que es reflejada. En el rango de 0.6-1.5 μm la dispersión es mayor que la absorción y la luz penetra hasta 8-10 mm. Simultáneamente, la intensidad de la luz reflejada se incrementa de 35-70% de la luz incidente, debido a una dispersión hacia atrás.

La piel se comporta como un filtro pasa altas, es decir, deja un paso casi libre para longitudes de onda larga (infrarroja cercano) y para longitudes de onda de alta energía, como puede ser la ultravioleta en la región C (del orden de 300 nm, y aún menores). La principal razón para usar fuentes de radiación en la región roja e infrarroja, en aplicaciones terapéuticas, es el hecho de que la hemoglobina no absorbe en estas últimas longitudes de onda y es posible alcanzar grandes profundidades en tejido vivo. Consecuentemente los tejidos sólidos tales como costillas y cráneo, absorben fácilmente longitudes de onda en el visible e infrarrojo cercano.

La alteración de ciertas bases en el ADN ha recibido mucha atención debido a su importancia en la regulación celular y replicación, la presencia de secuencias genéticas no redundantes y la relativa estabilidad de algunos de los productos del ADN. Sin embargo, muchos otros cambios fotoquímicos también ocurren afectando el RNA. Algunas de esas alteraciones pueden tener poca importancia, otras pueden cambiar la función celular, o conducir a la liberación de productos químicos que pueden afectar células o tejidos adyacentes.

Un beneficio de los efectos de la radiación UV al incidir en la piel, es el cambio de 7-dehidrocolesterol a vitamina D₃, lo que sucede en dos pasos: Primero la 7-dehidrocolesterol absorbe radiación en longitudes

de onda más cortas que 320 nm, y cambia a D₃. Esta reacción ocurre a través de la epidermis. Enseguida, la previtamina D₃, térmicamente se isomeriza al formar vitamina D₃, la que en forma selectiva se une a la vitamina D, separándola en los capilares. La vitamina D es de gran importancia en la fijación de calcio en los huesos, de aquí que sea importante saber que es necesaria la exposición al sol, pero con moderación.

Al ser absorbida la radiación electromagnética por los tejidos, hay múltiples dispersiones debido a eritrocitos y micro vasos, entonces la reología de la sangre y la distribución de micro- vasos, influye marcadamente en la distribución final de la energía láser. Es claro que los cambios fotobiológicos no necesariamente ocurren bajo la influencia de radiación láser monocromático coherente.

La ley de Grothus-Draper afirma que sólo puede haber efecto tisular si la luz es absorbida. Solamente el 4-7 % de la luz es reflejada por la piel. Ni la luz reflejada ni la que se transmite tiene efecto tisular.

Existen diferentes cromóforos en la piel que absorben longitudes de onda selectivamente. Si conocemos el espectro de absorción de un cromóforo, podemos dirigir la luz láser de una longitud de onda apropiada a este cromóforo para producir el efecto tisular deseado.

Los principales cromóforos de la piel son la hemoglobina, la melanina y el agua. Sus espectros de absorción son conocidos. En la figura 19 se muestran sus espectros ópticos correspondientes.

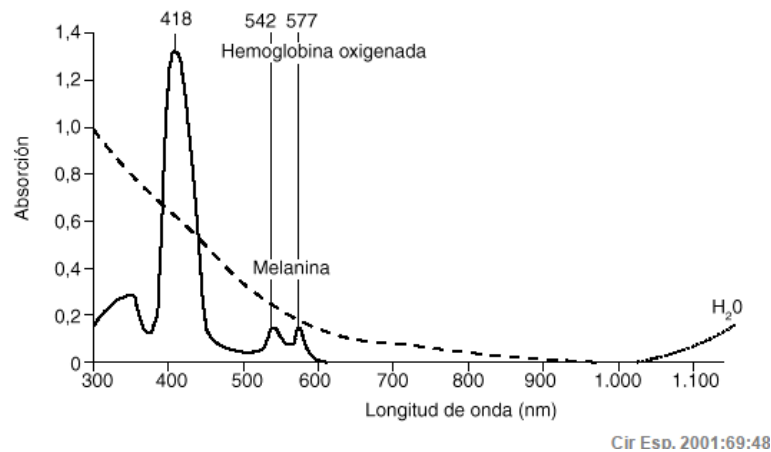


Figura 17 Espectro de absorción óptico de la hemoglobina, relación entre su absorción respecto al barrido de longitudes de onda [22].

La trayectoria máxima de penetración es inversamente relacionada con el coeficiente de absorción óptico para una longitud de onda en particular. Existe una ventana óptica en la piel relativa en la región de los 600-1.300 nm, como se muestra en la figura 20.

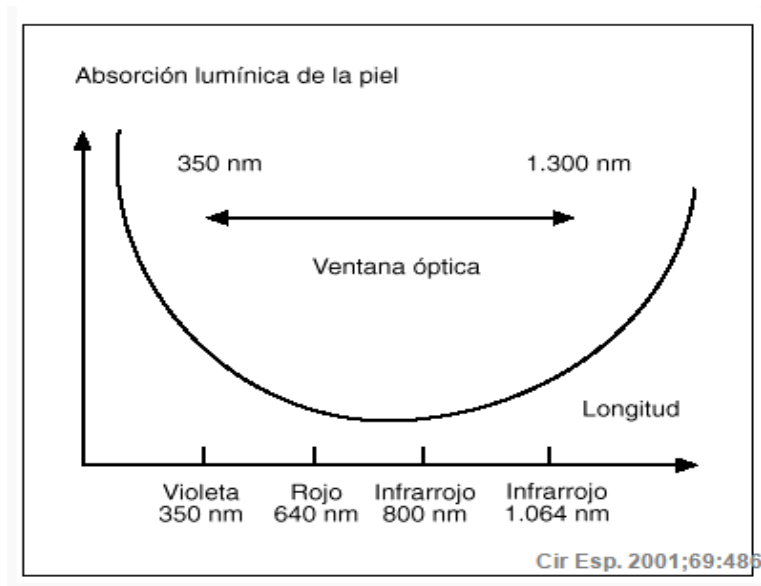


Figura 18 El diagrama representa la ventana óptica que existe en la piel para las diferentes longitudes de onda [22].

Las longitudes de onda por debajo de 300 nm tienen una fuerte absorción por las proteínas, contenidas en la melanina, el ácido urocánico y el ADN.

Las longitudes de onda mayores a 1300 nm poseen una penetración superficial a pesar de su gran longitud de onda. Tienen una fuerte absorción por el agua, que es el cromóforo dominante al final del espectro.

Como se puede observar en la figura 19, la hemoglobina tiene un pico de absorción en 420 nm, la penetración a esta longitud de onda es de 100 μ m, que es la región de la unión dermo-epidérmica. Para obtener un efecto biológico en los vasos dérmicos, es necesario penetrar más profundamente con una longitud de onda mayor. El pico de absorción de la hemoglobina a 577 nm es una opción mucho mejor, ya que esta longitud de onda penetra más profundamente y se absorbe menos por la melanina, dando lugar a menos alteraciones de la pigmentación, posteriores al tratamiento, observados comúnmente con el láser de argón, el cual tiene una longitud de onda cercana a 400 nm, aun cuando la absorción de la luz láser por la hemoglobina es sensiblemente menor que el pico a 420 nm.

8.11 Interacciones tisulares [20, 22]

Existen dos diferentes efectos tisulares producidos por la luz emitida por un láser a una determinada longitud de onda, el efecto térmico y el efecto mecánico. Dichos efectos dependen principalmente de la densidad de energía y del tiempo de aplicación como se muestra en la Figura 21. Para una misma

longitud de onda, seleccionada de acuerdo al coeficiente de absorción, los resultados pueden ser diferentes

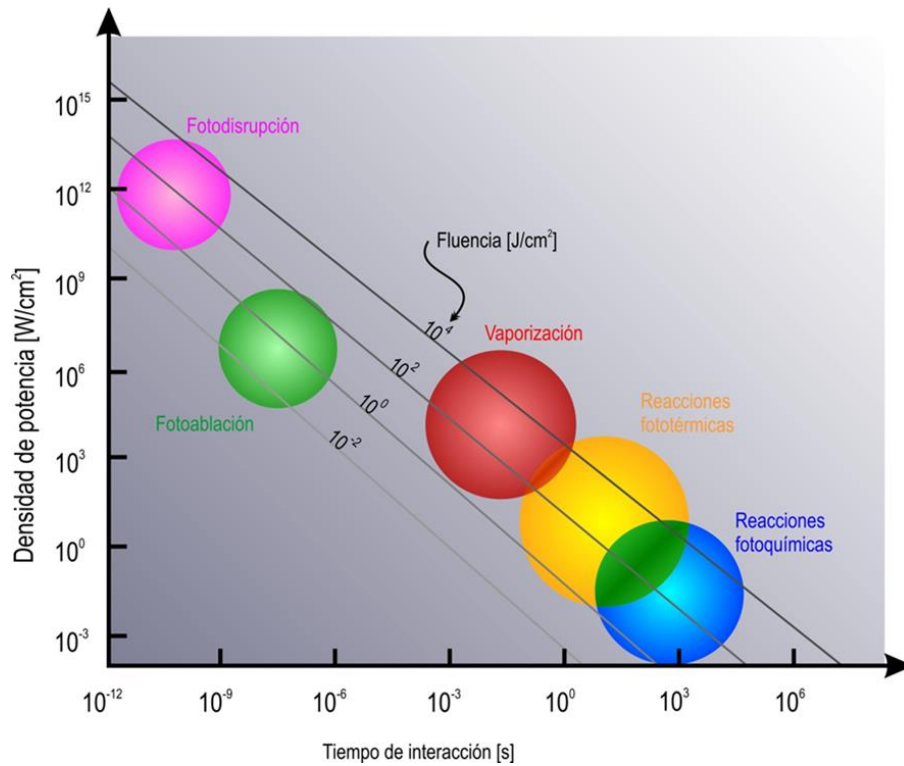


Figura 19 Diagrama de la interacción densidad de potencia-tiempo [20].

Uno de los parámetros importantes en la investigación de la interacción de la luz con los tejidos es el tamaño del diámetro del haz de luz. El otro efecto tisular producido por la luz emitida por un láser es el efecto mecánico, como se indica en la Figura 22. Debemos saber que los láseres pueden ocasionar también un efecto fotomecánico; esto ocurre cuando la duración del pulso es más corta que el TRT de la estructura diana. En este caso se produce una explosión termoelástica súbita debida al calor localizado espacialmente, por la diferencia de temperatura entre el objeto que se calienta y lo que le rodea.

Con pulsos muy cortos, el porcentaje de incremento en la temperatura puede ser notable, produciendo un súbito gradiente de temperatura entre el objeto y lo que le rodea. Este efecto se ha documentado con los láser utilizados en el tratamiento de lesiones vasculares, cuando se tratan vasos con pulsos de 1,5 μ s, el incremento de temperatura estimado en los eritrocitos es de 10^7 °C por segundo; este aumento

súbito de temperatura en los vasos puede ser responsable del inicio de ondas de presión que originan la rotura del vaso, el conocido efecto púrpura.

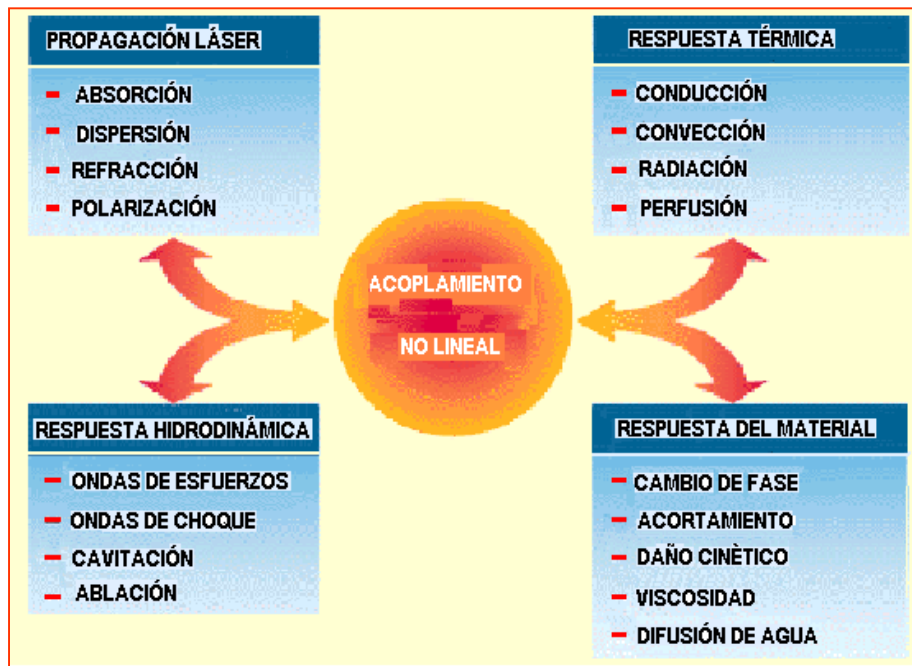


Figura 20 Efectos mecánicos y ópticos posibles al aplicar luz láser.

Existen más evidencias del daño fotoacústico producido por los láseres Q- switched. Los melanosomas son el objetivo en el tratamiento del pigmento endógeno; se produce un daño mecánico en el núcleo de los melanocitos y la rotura, fragmentos que posteriormente son fagocitados. Además, el daño mecánico producido en los tatuajes mediante láser puede ser el mecanismo primario por el que se remueve el pigmento.

8.12 Fototermólisis selectiva [22]

El concepto de fototermólisis selectiva se sigue de un entendimiento de las interacciones tisulares desencadenadas por el láser. La absorción específica de esta luz generada por un láser de unas características determinadas es necesaria para lograr un efecto tisular. El objetivo final de la cirugía mediante láser es dirigir la energía precisamente a un cromóforo específico de la piel sin causar daño en los tejidos adyacentes.

Existen tres variables para lograr esta precisión microscópica:

1. La longitud de onda debe ser absorbida con más avidez por el objeto específico que por las estructuras adyacentes.
2. La fluencia debe ser lo suficientemente alta para alterar térmicamente el objeto al que nos dirigimos.
3. La duración de la exposición debe ser menor del tiempo necesario para que el objeto se enfríe.

Si la anchura de pulso es igual o excede el TRT, se produce un daño no específico debido a la difusión de calor a las estructuras adyacentes. Contrariamente, si la anchura de pulso es demasiado corta, puede producirse: a) vaporización o daño por ondas de choque, y b) en el caso de lesiones vasculares, se produce un daño en la pared del vaso insuficiente para eliminarlo.

Ésta es la esencia de la fototermólisis selectiva. Eligiendo la longitud de onda que es absorbida selectivamente por el tejido diana, debería ser posible seleccionar la fluencia y la duración de pulso que dañará térmicamente esa estructura determinada sin lesionar los tejidos adyacentes.

9 CLASIFICACIÓN DE QUEMADURAS [24]

La piel humana resiste sin dañarse temperaturas de hasta 44° C. Por encima de este valor, se producen diferentes grados de lesión, directamente relacionados con la temperatura y el tiempo de exposición al agente causal. Paralelamente recordamos que la piel indemne representa una barrera infranqueable para los micro-organismos. La lesión de este órgano con solución de continuidad por efecto de una injuria térmica, química, eléctrica o biológica permite la colonización, infección e invasión, potencialmente responsables de un cuadro séptico grave, con la consiguiente falla multiorgánica y el compromiso severo de la vida del paciente.

El primer paso a dar por el especialista es evaluar la gravedad de la quemadura. Sabemos que este tipo de accidente se ubica dentro de las denominadas lesiones térmicas, que comprenden por un lado a los daños originados por el frío (congelación) y por otro a aquellos provocados por el calor (quemaduras). Estas últimas reconocen tres fuentes: los agentes biológicos, los físicos y los químicos. La profundidad de las quemaduras depende, entre otros factores, de la temperatura de la fuente y de la duración de la exposición a la misma. Así, por ejemplo, una quemadura profunda de la piel puede ser el resultado de la exposición a 50° durante dos minutos, pero si la temperatura fuera de 60° con cinco segundos bastaría. Considerando este criterio (profundidad) Converse-Smith han clasificado a las quemaduras en grados.

9.1 Quemaduras de primer grado [24]

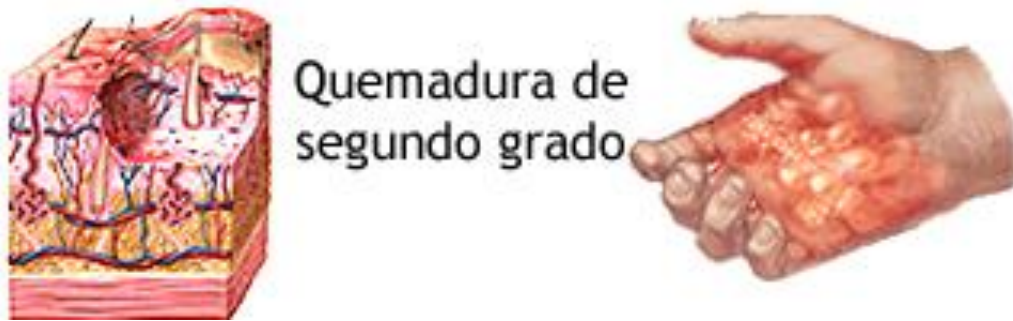
Así las catalogadas como de primer grado afectarán solo la epidermis y suelen ser el resultado de la acción solar o la exposición a una llama directa por muy corto tiempo, al no existir solución de continuidad será más difícil la aparición de una infección. Clínicamente la piel lesionada se observa eritematosa, sin ampollas y el paciente se queja de dolor en ese sitio, debido a la irritación de las terminales nerviosas sensitivas por las prostaglandinas. La “restitutio ad integrum” espontánea suele ser la regla al cabo de tres a cinco días. 5



Figura 21 Quemadura de primer grado (daño en la epidermis) [23].

9.2 Quemaduras de segundo grado

Las quemaduras clasificadas como de segundo grado superficial, afectan parcialmente a la dermis superficial; tienen como signo distintivo la aparición de ampollas y suelen ser resultado del contacto con el agua caliente u otros líquidos o deberse a la acción breve de la llama directa. La piel lesional o perilesional desarrolla un eritema muy sensible al tacto u otros estímulos y su superficie puede ofrecer un aspecto húmedo por el exudado, resultante de la acción de la energía calórica. El daño superficial puede curar espontáneamente en tres semanas, a partir de elementos epidérmicos locales, folículos pilosos y glándulas sebáceas, con muy poca o ninguna cicatriz. Las quemaduras de segundo grado profundas comprometen los dos tercios más profundos de la dermis. Los agentes etiológicos suelen ser la llama directa o la acción de líquidos calientes. La piel quemada puede presentarse pálida o de color rojo brillante, de consistencia dura o pastosa y puede haber o no ampollas. Esta zona suele ser insensible al ser punzada por lesión de las terminales nerviosas. La cura completa es lenta y demora alrededor del mes o más tiempo y puede cursar con alopecia permanente de la zona dañada.



Quemadura de segundo grado

Figura 22 Quemadura de segundo grado [23].

9.3 Quemaduras de tercer grado

Las quemaduras de tercer grado, también denominadas “de espesor total”, implican la destrucción completa de todo el espesor de la piel y aún pueden ser tan profundas como para afectar aponeurosis, músculos, tendones, nervios, periostio o huesos; estas últimas en realidad, serían las llamadas quemaduras de cuarto grado. Aquel compromiso comprende también la alteración de la sensibilidad cutánea; así, estas lesiones no son dolorosas debido a la necrosis de las terminaciones sensitivas del área. Este signo es de utilidad para valorar la profundidad de las quemaduras en sus primeras 24-48 hs., en el que el edema dificulta esta apreciación. Es entonces que la prueba de la ausencia de dolor al pinchazo, nos indicará que la lesión es profunda. Sus agentes causales pueden ser la llama directa intensa, agentes químicos muy agresivos o líquidos calentados a gran temperatura durante un período relativamente prolongado. Otro signo característico es la trombosis venosa observable a la inspección transcutánea. La escara será seca, blanquecina o negra y casi siempre puede ser necesaria la escarectomía, para prevenir la aparición de mayor isquemia o infecciones agravantes.



Quemadura de tercer grado

Figura 23 Quemadura de tercer grado [23].

Las secuelas posibles son de tipo: cosmética, funcional y a veces tan importantes que provocan amputaciones o la pérdida de órganos. La escarectomía puede requerir a su vez injertos cutáneos. Las cicatrices resultantes suelen ser irregulares con zonas atróficas o hipertróficas y con cierta frecuencia convertirse en queloides. Las quemaduras de este tipo localizadas en articulaciones pueden generar contracturas e impotencia funcional. En algunas oportunidades y luego de un tiempo prolongado en años, estas cicatrices pueden ser asiento de un epiteloma espinocelular.

9.4 Clasificación de quemaduras según Benaim

Otra clasificación utilizada para valorar la profundidad de las quemaduras es la de Benaim, quien las dividió en tres tipos (Tabla 2).

Tabla 2 Clasificación de las quemaduras según Benaim [25].

CLASIFICACIÓN DE LAS QUEMADURAS SEGÚN BENAİM F.			
Características	TIPO A (superficial)	TIPO A-B (Intermedia)	TIPO B (Total)
Aspecto Clínico	Flictenas Color Rojo Turgor Normal	↔	Sin flictenas Color blanco grisáceo Sin turgor
Dolor	Intenso	↔	Indoloro
Evolución	Regeneración	↔	Escara
Curación por	Epidermización (espontánea)	↔	Cicatrización o injerto
Resultado estético	Excelente	↔	Deficiente

1.- **Quemaduras tipo A:** comprende lesión de la epidermis y en ocasiones la dermis papilar, subdividida a su vez en: a- subtipo A o eritematosa: es la que suele observarse en verano por la exposición aguda y relativamente prolongada al sol; en ellas hay vasodilatación del plexo dérmico superficial, la piel está eritematosa, seca y turgente. El prurito y/o dolor resultante es debido a la irritación de las terminaciones nerviosas. La capa germinativa indemne permite la re-epitelización al cabo 7 a 10 días. b- subtipo A o flictenular: como la inflamación local provoca mayor vasodilatación, se origina

aumento de la permeabilidad del plexo dérmico superficial, desarrollando luego ampollas y edema. El severo estímulo de las terminaciones nerviosas ocasiona gran dolor. Las quemaduras de este tipo re-epitelizan de 10 a 14 días.

2.- **Quemaduras tipo AB:** se denominan así aquellas donde está comprometida la dermis papilar y permanece aún indemne la dermis reticular y además los segmentos más profundos de los anexos cutáneos. Los vasos dérmicos superficiales sufren trombosis por la gran temperatura y debido a la inflamación resultante existe vasodilatación del plexo dérmico profundo, con el consiguiente aumento de la permeabilidad. La piel lesionada adquiere un color blanquecino y luego de unos 10 días se forma una escara intermedia. Como los plexos nerviosos superficiales están afectados, los pacientes no refieren excesivo dolor. La reparación puede tener dos caminos, algunas epitelizarán luego de 14 a 21 días, aunque la piel resultante puede ser endeble y estéticamente deslucida; otras sin embargo evolucionan hacia la profundización.

3.- **Quemaduras tipo B:** hay compromiso de la piel en su totalidad; por lo tanto, los anexos cutáneos y las terminaciones nerviosas también están destruidos. Existe además trombosis de los dos plexos dérmicos (superficial y profundo); ambos sucesos determinan la insensibilidad de estas lesiones, además de provocar la formación de escara; así, la piel lesional estará indurada y será de color blanco grisáceo.

La extensión de la superficie cutánea quemada es de gran utilidad para evaluar la gravedad del paciente, pues del tamaño y otros signos de la quemadura dependerá la aparición del shock, siendo además un criterio relevante para elaborar el pronóstico (Tabla III)

Empleando la gráfica de Lund-Browder se puede evaluar con mayor exactitud el área afectada por la quemadura, tanto en niños como en adultos, (figura 26 y tabla 3).

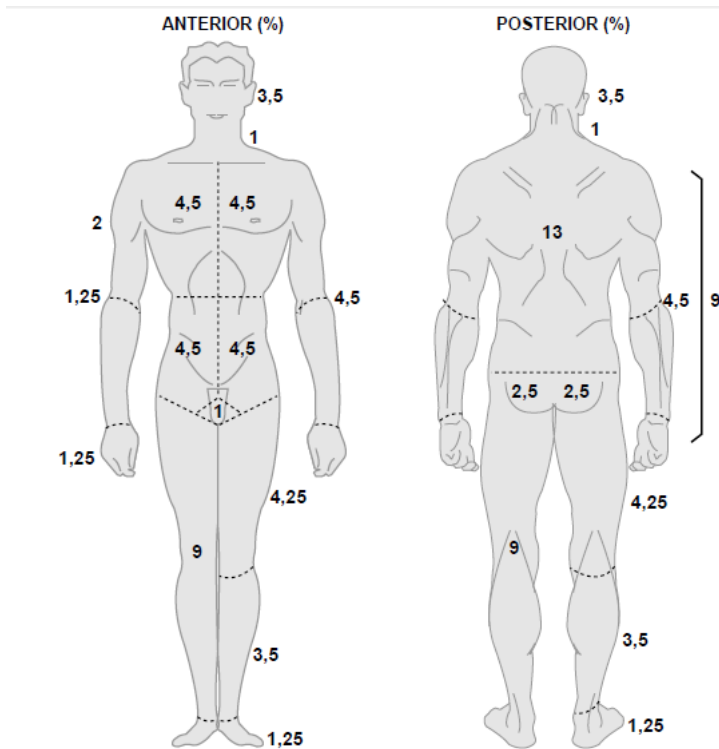


Figura 24 Secciones del cuerpo para determinar el grado de quemadura [25].

Tabla 3 Escala Lund y Browder [25].

Escala de Lund y Browder para calcular el porcentaje de quemaduras en niños, según la edad					
Región afectada	Recién nacido	1 año	5 años	10 años	15 años
Cabeza	19	17	15	11	9
Muslo	5.5	6.5	8	8.5	9.5
Pierna	5	5	5.5	6	6.5

La valoración de la profundidad no es siempre posible hacerla exactamente en el examen inicial, pero se puede conseguir una estimación aproximada por algunos datos clínicos (Tabla 4).

Tabla 4 Datos clínicos para la valoración aproximada de la profundidad de la quemadura [25].

Datos clínicos para valoración aproximada de la profundidad de la quemadura

Grado	Causa	Aspecto superficial	Color	Dolor
Primero	Llamarada. Luz ultravioleta.	Seco, sin ampollas, edema mínimo.	Eritematoso.	Intenso.
Segundo	Contacto con líquidos hirvientes llamas, químicos, luz ultravioleta.	Ampollas, superficie húmeda.	Del rojo cereza, a rosado, hasta el blanco.	Muy intenso.
Tercero	Contacto con líquidos sólidos, llama, químico, electricidad.	Seco, con escara de cuero, vasos carbonizados bajo la escara.	Diversos: blanco, céreo, nacarado, oscuro, caqui, caoba, negro, carbonizado.	Poco doloroso o ningún dolor. El pelo cae fácilmente.

De acuerdo a la importancia de la lesión se pueden clasificar de acuerdo a la American Burn Association en [25]:

- Quemaduras leves que pueden ser tratadas ambulatoriamente.
- Quemaduras moderadas que pueden ser tratadas en hospitales generales.
- Quemaduras graves que deben ser tratadas en centros especializados en quemaduras.

Son quemaduras leves:

- Quemaduras de I y II grado menores de 15 % en adultos y 10% en niños.
- Quemaduras de III grado menores de 2% en niños y adultos.

Son quemaduras moderadas:

- Quemaduras de I y II grado de 15-25 % de la superficie corporal (s.c.) en adultos, 10-20 % s.c. en niños.
- Quemaduras de III grado de 2-10% s.c. en niños y adultos.

Son quemaduras graves:

- Quemaduras de I y II grado mayores del 25% s.c. en adultos, mayores del 20% s.c. en niños.
- Quemaduras de III grado mayores del 10% s.c. en niños y adultos.

- Quemaduras eléctricas.
- Quemaduras químicas.
- Quemaduras por congelación.
- Quemaduras de vías aéreas.
- Quemaduras de partes delicadas, como manos, pies, cara, genitales, pliegues.
- Quemaduras de cualquier porcentaje con enfermedad médica importante asociada, como diabetes, enfermedad pulmonar, cardíaca, etc.
- Quemaduras con politraumatismo o fracturas asociadas.

10 METODOLOGÍA

10.1 Estructura metodológica

La metodología se integra por diferentes etapas las cuales se mencionan a continuación:

- Etapa 1 Diseño del sistema integrado automatizado de análisis de espectroscopia fotoacústica
- Etapa 2 Instrumentación
- Etapa 3 Integración electrónica y de comunicaciones del sistema de análisis de un espectrómetro fotoacústico
- Etapa 4 Subrutinas del programa principal
- Etapa 5 Creación de la aplicación y los instaladores del software desarrollado
- Etapa 6 Interfaz Gráfica de usuario

10.2 Etapa 1 Diseño del sistema integrado automatizado de análisis de espectroscopia fotoacústica

El diseño experimental que permite hacer estudios fotoacústicos se muestra en la figura 27 donde se observa una lámpara de Xenón, la cual proporciona luz blanca de alta intensidad, un monocromador que selecciona luz monocromática, un pulsador que interrumpe el paso de la luz a una frecuencia fija, fibra óptica que sirve para conducir la luz hasta la celda fotoacústica, un amplificador modulador (amplificador *Lock-in*) que amplifica la señal del micrófono, además permite conocer la relación de fase entre el ángulo del prisma del monocromador y la amplitud de la señal recibida. Una computadora personal se usa para controlar el monocromador, el amplificador *Lock-in* y el pulsador. Con las señales recibidas se pueden procesar imágenes de análisis fotoacústicos [3].

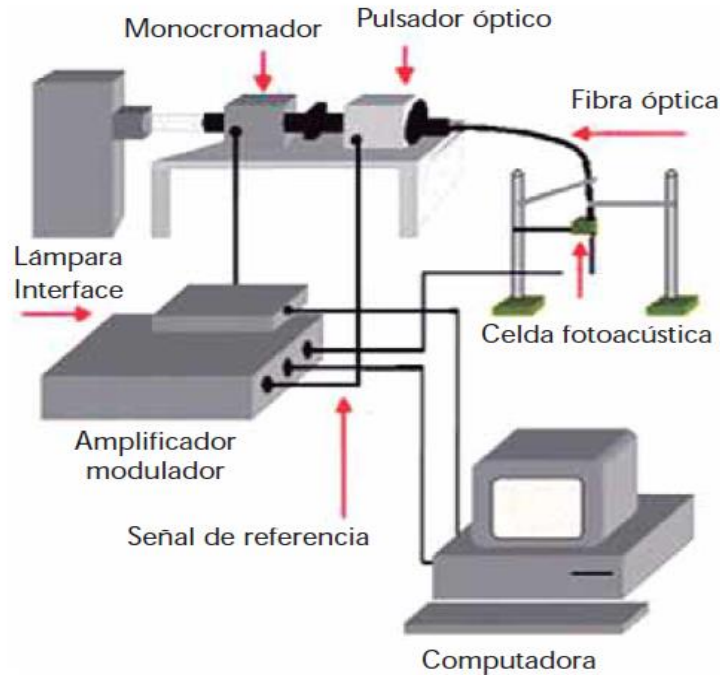


Figura 25 Diseño experimental para estudios fotoacústicos [3].

10.3 Etapa 2 Instrumentación [1]

Uno de los aspectos relevantes de las mediciones experimentales es la instrumentación asociada con el espectrómetro fotoacústico. La precisión y alcance de los datos recogidos dependen del diseño y la selección de los sistemas e instrumentos adecuados. Dependiendo de la técnica de detección de la señal que se elija, la combinación apropiada de instrumentos que permitan detectar, medir y registrar los parámetros que varían con exactitud, resolución y fiabilidad tendrá que ser utilizado en el experimento. En la mayoría de los casos de la espectroscopia óptica, los componentes básicos que intervienen son la fuente de luz, transductor acústico y toda la electrónica involucrada, se debe tener cuidado, especialmente en las señales de bajo nivel, para eliminar lo más posible, el ruido asociado con ella con el fin de obtener una mejor relación señal-ruido (SNR) [1].

En la actualidad, cada vez más instrumentos se utilizan en conjunción con los equipos de cómputo, que hacen del control del sistema y de la adquisición de datos una tarea mucho más fácil y siempre que sea posible, es preferible mantener la parte de instrumentación tan simple como sea posible.

Esta sección trata de la instrumentación involucrada en el diseño del espectro fotoacústico, y da una descripción detallada de los dispositivos empleados en la presente investigación.

Los requisitos básicos de la técnica de detección fotoacústica son los siguientes:

- i. Fuente de luz
- ii. Modulador de luz para fuentes de onda continua
- iii. Celda Fotoacústica
- iv. Transductor Acústico
- v. Detección y Procesamiento de la señal electrónica

10.3.1 Fuente de luz

En esta investigación se ha utilizado para los estudios de fotoacústica una lámpara de arco de xenón. Esta fuente tiene un amplio rango de radiación con un rango de longitudes de onda de los rayos ultra violeta hasta el infrarrojo pasando por el espectro de luz visible. La potencia máxima de esta lámpara es de 1000 watts.



Figura 26 Lámpara de arco de luz Xenón 450-1000W [26].

10.3.2 Técnica de modulación

Para generar la señal fotoacústica, es necesario modular la luz en el caso de una fuente de onda continua. El modulador también proporciona la señal de referencia para el amplificador lock-in para la detección de EFA de onda continua. En esta investigación se utilizó la modulación mecánica que se describe a continuación.

10.3.2.1 Chopper mecánico

Es la forma más simple de un modulador que consiste en un disco rotativo ranurado colocado en la trayectoria del haz de luz. Ofrece 100% de las profundidades de modulación de frecuencias de 5-8 kHz.

Dependiendo del número de ranuras en el disco rotativo, el rango de frecuencias en los que se pueden modular la luz continua es de 10 a 400 Hz con un disco de 6 ranuras de 400 a 4kHz con un disco de 30 ranuras. La desventaja de este dispositivo es que, a frecuencias más altas, las vibraciones mecánicas y de sonido asociados con la hoja de rotación rápida requiere el montaje chopper ser aislado acústicamente desde la celda fotoacústica.



Figura 27 Chopper óptico SR540 [27].

10.3.3 Celda Fotoacústica

La celda fotoacústica es la parte más importante de todo el sistema de megafonía. Por lo tanto debe ser cuidadosamente diseñada para su aplicación en particular. Debido a que la muestra se va a colocar dentro de la celda fotoacústica, el diseño depende en gran medida a la naturaleza de la muestra a estudiar [1]. Una celda fotoacústica debe de tener las siguientes características:

1. Apantallamiento acústico adecuado a la atmosfera ambiental.
2. Reducción al mínimo de las señales no deseadas debido a la interacción de la luz de excitación con las paredes de la celda, ventanas y micrófono.
3. La configuración debe ser adecuada, así como la colocación de las entradas del micrófono y de la muestra de gas.
4. Medios para maximizar la señal de celda fotoacústica

10.3.3.1 Celdas Fotoacústicas resonantes y no resonantes

Las características acústicas de la cavidad celda fotoacústica pueden utilizarse eficazmente para mejorar y amplificar la señal fotoacústica además de eliminar el ruido acústico no deseado implicado en la detección fotoacústica [1].

La frecuencia de respuesta de una celda fotoacústica depende de:

1. El proceso de generación fotoacústico en la celda
2. Las pérdidas debidas al flujo de calor de las paredes y ventanas de la celda fotoacústica
3. Respuesta Acústica de la celda fotoacústica
4. Respuesta electrónica de la detección del transductor

Para utilizar las propiedades acústicas de la celda, sus características de resonancia acústica tienen que ser analizados y los diferentes modos de resonancia que son excitados en la celda deben ser determinados. Estas características dependen de varios parámetros, como las dimensiones de la cavidad, las características de potencia, de la fuente de excitación etc. [1].

Las frecuencias de resonancia de una cavidad abierta de la sección transversal cilíndrica están dadas por [1]:

$$f_{kmn} = \frac{\pi c_0}{2} \left\{ \left(\frac{k}{L} \right)^2 + \left(\frac{\alpha_{mn}}{R_0} \right)^2 \right\}^{\frac{1}{2}}$$

Donde L es la longitud de la cavidad, c_0 la velocidad del sonido en el gas de llenado de la cavidad, R_0 es el radio de la celda k, m, n son los números longitudinal, azimutal y radial respectivamente.

α_{mn} es la solución cero de la derivada de m^{th} de la función de Bessel.

10.3.4 Detectores acústicos

La perturbación de la presión después de la absorción de la radiación se detecta mediante un transductor acústico apropiado y sensible como lo es el micrófono o un detector piezoeléctrico, en nuestro caso es un micrófono por ser de uso práctico y por tener un costo más bajo.

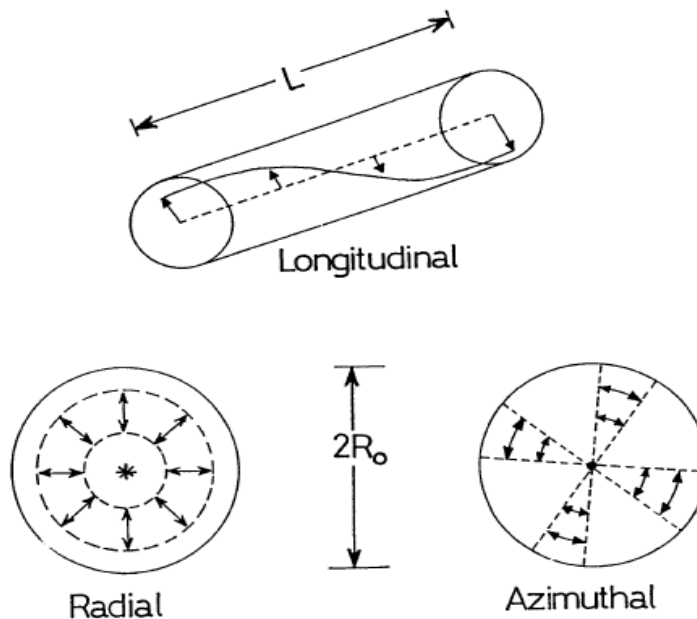


Figura 28 Configuraciones posibles de forma radial Azimutal y longitudinal de un resonador [1].

10.3.4.1 El micrófono

El micrófono de condensador convencional básicamente funciona según el principio de las variaciones de capacitancia debido a las ondas de sonido. Tiene dos placas paralelas, donde una placa es rígida y la otra actúa como un diafragma. El material dieléctrico entre las placas es el aire. Cuando las ondas acústicas se dirigen hacia él, el diafragma se ajusta a las vibraciones del sonido, alterando de ese modo la capacitancia del micrófono, lo que conduce a un cambio de voltaje que es detectado por un amplificador de alta impedancia de entrada. La señal del micrófono aumenta con el voltaje de polarización aplicado a través del micrófono.

Estos micrófonos tienen una respuesta generalmente plana hasta aproximadamente 15kHz, que es ideal para los estudios de Fotoacústica, tienen baja distorsión y poca respuesta a las vibraciones mecánicas. Responden bien a los impulsos de presión de pulso, lo que los hace adecuados también para estudios Fotoacústicos pulsados.

10.3.4.2 Micrófono de electreto.

El micrófono de electreto trabaja en el mismo principio que el micrófono de condensador, pero con la diferencia de que la capacitancia es proporcionada por un electreto, que es una lámina delgada de material con una polarización eléctrica permanente y alta constante dieléctrica. Un lado de la lámina de

electreto se metaliza y el lado aislante se coloca sobre la placa posterior fija. Las ondas de sonido que inciden sobre la cara metalizada provocan un cambio en las características de polarización del material electreto que a su vez proporciona un pequeño voltaje entre el electreto frontal metalizado y la placa posterior [1, 15].



Figura 29 Micrófono de Electreto [28].

Una relación de capacitancia grande entre la unidad de área del electreto permite fabricar micrófonos miniatura de alta sensibilidad. Estos micrófonos no necesitan voltaje de polarización debido a la polarización permanente del electreto. Debido a la pequeña capacitancia de dichos micrófonos, la impedancia de salida es alta (especialmente a bajas frecuencias) por lo tanto requiere el uso de amplificadores de alta impedancia de entrada. Algunos micrófonos de electreto miniatura comerciales han incorporado en los preamplificadores FET y por lo tanto la tensión de polarización tiene que ser suministrada. Estos micrófonos tienen una sensibilidad aproximada de 10mV por pascal y se pueden combinar de manera efectiva a un amplificador de baja impedancia de entrada.

10.3.4.3 Detección Electrónica

El sistema electrónico de detección en los estudios fotoacústicos, especialmente para la detección de señales de bajo nivel deben ser capaces de bajo ruido, baja distorsión, y la operación de alta ganancia en la región de frecuencias de interés. Además, la electrónica debe ser apropiada, dependiendo de si la detección fotoacústica es por ondas moduladas u ondas continuas.

10.3.5 Preamplificadores [1]

En el caso de muestras débilmente absorbentes, la señal fotoacústica correspondiente también es débil, y es necesario amplificarla apropiadamente antes de ser procesada. Los micrófonos de condensador ordinarios tienen una alta impedancia de salida y, por tanto, una alta impedancia de entrada por lo que es necesario pre-amplificadores con FET. Una buena diversidad de pre-amplificadores de alta ganancia está disponible comercialmente y también se puede construir utilizando FET o circuitos integrados de bajo ruido como NE536, AD50K, TL071 etc.

El nivel de ruido típico del micrófono es aproximadamente $\frac{4nV}{\sqrt{f[Hz]}}$ y puesto que el ruido en la señal fotoacústica también se amplifica, se requiere un equilibrio entre la relación señal a ruido (SNR) y la ganancia del amplificador de detección de señal fotoacústica óptima. Se ha de señalar que, incluso con los mejores circuitos electrónicos disponibles, el ruido del amplificador supera el ruido generado por el transductor en sí lo que resulta en una sensibilidad de detección muy por debajo de los límites teóricos determinados por el desplazamiento de la membrana del micrófono. El uso de amplificadores operacionales con bajo coeficiente de temperatura y la retroalimentación reduce sustancialmente el aumento del ruido con la temperatura en comparación con transistores o con FET como la etapa de entrada de pre-amplificadores. Micrófonos electreto comerciales (Knowles BT1753 y BT1759) han incorporado en los pre-amplificadores FET que hace que sea fácil de acoplar a la impedancia de entrada moderadamente baja de los amplificadores. Los preamplificadores diferenciales, junto con las celdas fotoacústicas ayudan en la eliminación de las señales debido a la absorción de la ventana, el ruido ambiental etc. Debe tenerse en cuenta que la respuesta de frecuencia del sistema de micrófono-preamplificador debe ser plana dentro de la gama de frecuencias de modulación que se utiliza.

10.4 Etapa 3 Integración electrónica y de comunicaciones del sistema de análisis del espectrómetro fotoacústico

El acoplamiento electrónico de cada uno de los dispositivos que compone el espectrómetro fotoacústico se realizó mediante la implementación de infraestructura de hardware y controladores de acuerdo al protocolo de comunicación de cada dispositivo. Los principales dispositivos que tienen comunicación con la computadora son el motor a pasos del monocromador y el amplificador Lock-in, en el caso de la comunicación del módulo de control del motor a pasos y la computadora se tuvo que desarrollar una interfaz mediante el circuito integrado Max 232 para que la señal de motor pudiera trabajar entre 12 y 16 volts lo que no se logró con un cable de adaptación RS232 a USB dicha interfaz se muestra en la figura 32.

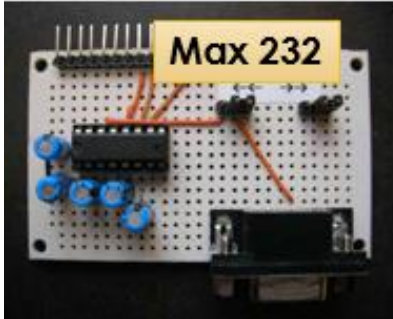


Figura 30 Circuito de comunicación serial RS 232

Para la comunicación entre el amplificador Lock-in y la computadora se ocupó un cable adaptador RS232 a USB, este mismo se ocupó para conectar el modulo desarrollado Max 232 a la computadora mediante conectores DB9 a USB, el cual se muestra en la figura 33



Figura 31 Cable adaptador RS232-USB con drivers

El módulo de control del motor a pasos se controla mediante un cable con conector DB9 conversión a MiniDin el cual se muestra en la figura 34.

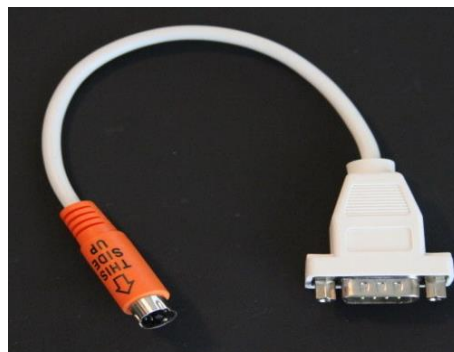


Figura 32 Cable adaptador DB9-MiniDIN

El amplificador Lock-in se conecta al modulador óptico para ajustar la frecuencia de trabajo del espectrómetro mediante cables BNC figura 35



Figura 33 Cable BNC

Es necesario estandarizar la comunicación de cada uno de los dispositivos para poder desarrollar la automatización del espectrómetro en conjunto por lo tanto es necesario instalar cada uno de los controladores de los diferentes dispositivos, esto debido a que cada dispositivo maneja su propio protocolo de comunicación.

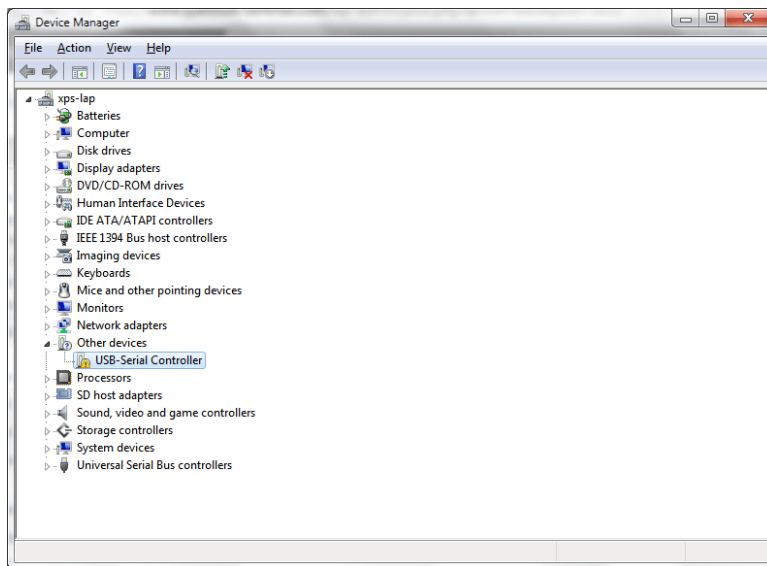


Figura 34 Ventana de administrador de dispositivos

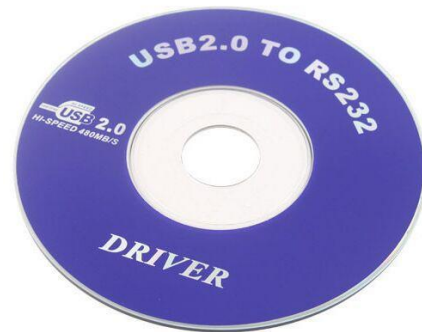


Figura 35 CD de instalación de controlador de cable de adaptación RS232-USB

Se realizaron pruebas de validación de la comunicación con cada uno de los dispositivos esto empleando comandos de prueba de comunicación serial con cada dispositivo y verificando que el controlador fuera el adecuado y estuviera instalado de forma correcta.

10.5 Desarrollo del software para la operación de las diferentes secciones del sistema de análisis de espectroscopia fotoacústica

10.5.1 Labview [29]

Labview (Laboratorio de Instrumentación Virtual Engineering Workbench) es un entorno de programación grafica desarrollado por National Instruments (NI), que utiliza un lenguaje de programación gráfica para crear los llamados instrumentos virtuales (VI), que son bloques en una interfaz intuitiva similar a la forma de un diagrama de flujo. Un diseño se logra mediante la integración de diferentes componentes o subsistemas dentro de un marco gráfico. Labview ofrece adquisición de datos, análisis y visualización de los mismos.

Es también un ambiente abierto a programación en C y código MATLAB, así como diversas aplicaciones tales como ActiveX y archivos DLL (Dynamic Link Libraries). En Labview los programas gráficos son llamados instrumentos virtuales (VIS). Dichos Instrumentos virtuales están basados en el concepto de la programación del flujo de datos. Esto significa que la ejecución de un bloque o un componente gráfico es dependiente del flujo de datos, o más específicamente un bloque se ejecuta cuando los datos se ponen a disposición en todas sus entradas.

Los datos de salida del bloque se envían a todos los otros bloques conectados. El flujo de datos de programación permite múltiples operaciones a realizar en paralelo desde su ejecución y es determinado por el flujo de datos y no por líneas secuenciales de código.

10.5.2 Instrumentos Virtuales (VI)

Un VI consta de dos componentes principales que son un panel frontal (FP) y un diagrama de bloques (BD). Un FP proporciona la interfaz de usuario de un programa, mientras que un BD incorpora su código gráfico. Cuando un VI se encuentra dentro del diagrama de bloques de otro VI, se llama un subVI. LabVIEW VIs son modulares, lo que significa que cualquier VI o subVI puede ser ejecutado por sí mismo.

10.5.3 Panel Frontal y Diagrama de bloques [29]

Una FP contiene las interfaces de usuario de un VI que se muestran en un BD. Las entradas a un VI se representan por los llamados controles. Perillas, botones y diales son algunos ejemplos de controles. Las salidas de un VI están representadas por los llamados indicadores, los gráficos, los LED (indicadores ligeros) y medidores son algunos ejemplos de indicadores.

Cuando se ejecuta un VI, su FP proporciona una pantalla o interfaz de usuario de controles (insumos) e indicadores (salidas).

Un BD contiene iconos de terminales, nodos, cables y estructuras, los iconos terminales son interfaces a través de la cual se intercambian datos entre un FP y un BD, Los iconos de terminales corresponden a controles o indicadores que aparecen en la FP, cada vez que un control o indicador se coloca en una FP, un icono de la terminal se agrega al correspondiente BD.

Un nodo representa un objeto que tiene conectores de entrada y / o salida y realiza una cierta función. Los SubVIs y funciones son ejemplos de nodos, los alambres establecen el flujo de datos en un BD.

Estructuras tales como repeticiones o ejecuciones condicionales se utilizan para controlar el flujo de un programa.

10.5.4 Ventajas

Las ventajas que proporciona el empleo de Labview son las siguientes:

- Reduce el tiempo de desarrollo de las aplicaciones en comparación con la programación basada en ambientes de texto.
- Da gran flexibilidad al sistema, permitiendo cambios y actualizaciones tanto del hardware como del software.
- Da la posibilidad a los usuarios de crear soluciones completas y complejas.
- Con un único sistema de desarrollo se integran las funciones de adquisición, análisis y presentación de datos.
- El sistema tiene un compilador gráfico para lograr la máxima velocidad de ejecución posible.
- Tiene la posibilidad de incorporar aplicaciones desarrolladas en otros lenguajes de programación.

Tiene la opción de desarrollar proyectos como aplicaciones con sus correspondientes instaladores lo que lo hace práctico pues no es necesario instalar Labview y todas las librerías ahorran tiempo y espacio de almacenamiento

10.6 Etapa 4 Subrutinas del programa principal

La elaboración del software es una parte muy compleja y extensa del proyecto ya que está compuesto por una serie larga de subrutinas por lo cual solo se mencionaran y describirán de forma breve las más relevantes. En la figura 38 se muestra el diagrama de flujo general del procedimiento de cada una de las etapas que debe realizar y controlar el software a desarrollar.

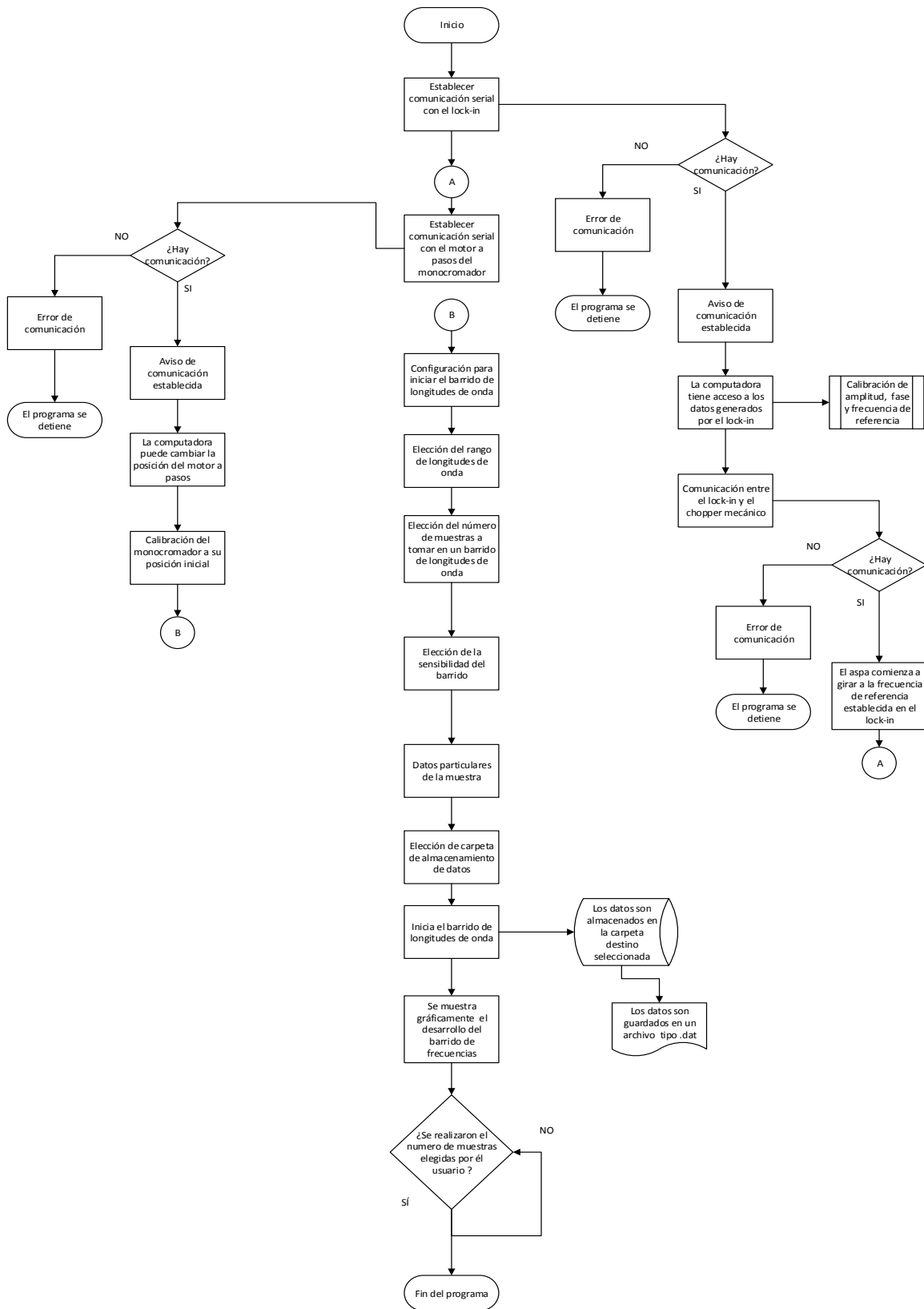


Figura 36 Diagrama de flujo del programa general

10.6.1.1 Subrutinas de comunicación serial

Para que el software pueda controlar la posición del monocromador y la obtención de datos del Lock-in se debe realizar subrutinas de comunicación serial entre Labview y los dispositivos mencionados.

A continuación se muestran en las figuras 39 y 40 las subrutinas de comunicación serial correspondientes al Amplificador Lock-in y el motor a pasos.

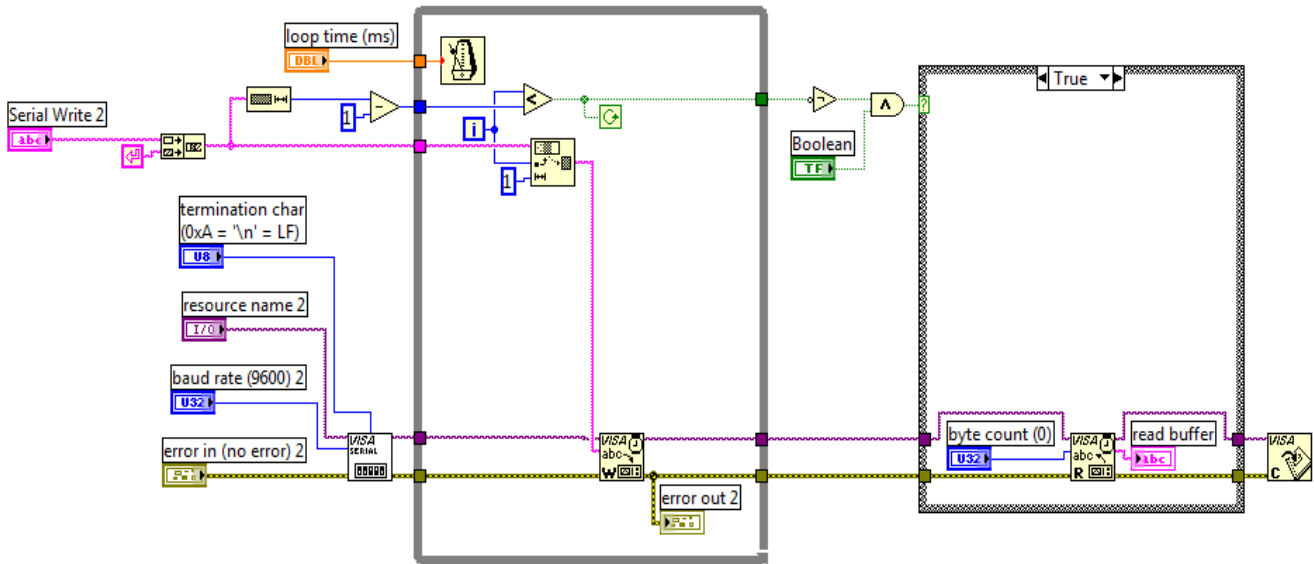


Figura 37 Subrutina de comunicación serial entre Labview y el motor a pasos

Mediante la librería Visa de Labview se puede configurar puertos virtuales COM de comunicación serial en donde por medio de lenguaje de programación grafica (bloques) podemos configurar el tipo de datos a leer y el tipo de datos a escribir así como determinar la velocidad de datos de la comunicación, el tipo de carácter que va leer, el tiempo de retardo entre cada dato, la elección del número de puerto donde se desea trabajar así como la apertura y cierre de comunicación así como implementar un aviso de confirmación o error de comunicación.

Esto se aplica a cada una de las subrutinas ajustándose a las características de cada uno de los dispositivos.

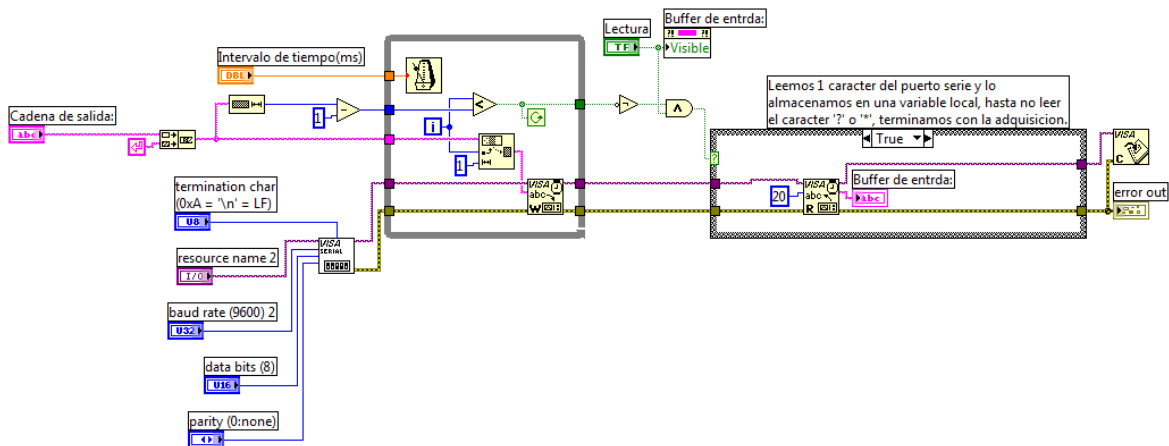


Figura 38 Subrutinas de comunicación serial entre Labview y el amplificador Lock-in

10.6.1.2 Subrutinas de calibración de monocromador

El monocromador debe ser calibrado para cada prueba, esto se realiza posicionando un motor a pasos caracterizado previamente en relación del número de pasos por nanómetro.

Se debe ajustar una posición inicial y una posición final para que el motor a pasos comience una secuencia de pasos hasta el punto final con lo que mueve la rejilla del monocromador y podemos obtener nuestro barrido de longitudes de onda nanómetro a nanómetro esta subrutina se muestra en la figura 41.

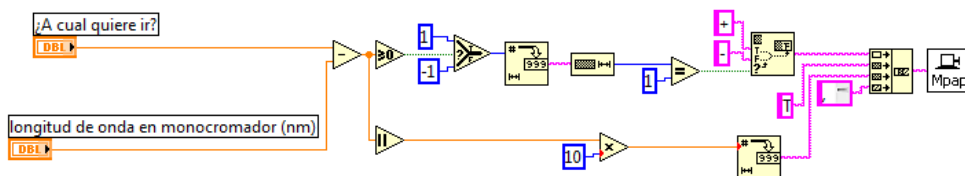


Figura 39 Subrutina del posicionamiento del motor a pasos

Al fijar una posición inicial y posición final de la posición del motor a pasos también se deben trasladar esos puntos de inicio y final a los datos de normalización ya que al hacer el barrido de frecuencias los datos obtenidos por el espectrómetro son normalizados en referencia al espectro de absorción óptica de la lámpara, estos datos de normalización son previamente almacenados y mediante otra subrutina se pueden posicionar en función de la configuración de punto inicial y final del barrido de frecuencias, la figura 42 muestra la subrutina general del posicionamiento inicial y final de los datos, la normalización y almacenamiento de los mismos.

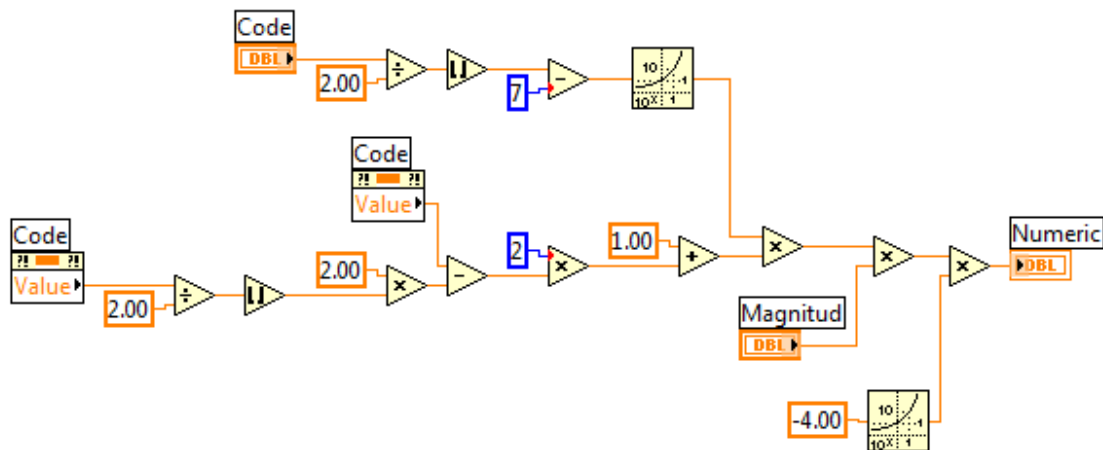


Figura 40 Subrutina de Posicionamiento, normalización y almacenamiento de datos

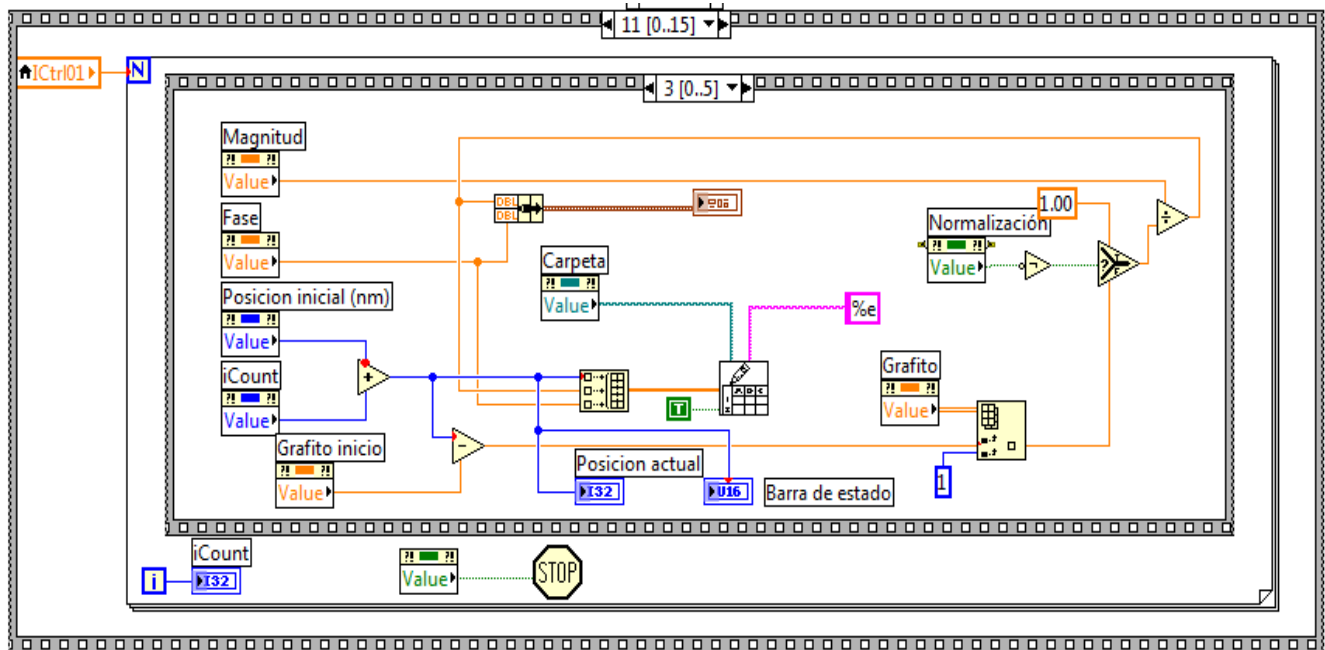


Figura 41 Subrutina de algoritmos matemáticos para graficar los datos.

Los datos obtenidos por el programa deben ser graficados, y almacenados en archivos de tipo .dat para tener compatibilidad con otros software, esto se logra mediante las subrutinas mostradas en las figuras 43, 44 y 45 en las cuales mediante algoritmos matemáticos los datos se ajustan y se les asigna un valor numérico y una escala para que se muestre y grafique adecuadamente en la pantalla de la interfaz gráfica y a su vez se va almacenando en un archivo .dat dentro de una carpeta que previamente fue definida por el usuario, el archivo será almacenado con datos de referencia de la muestra que asigna el usuario en la interfaz gráfica.

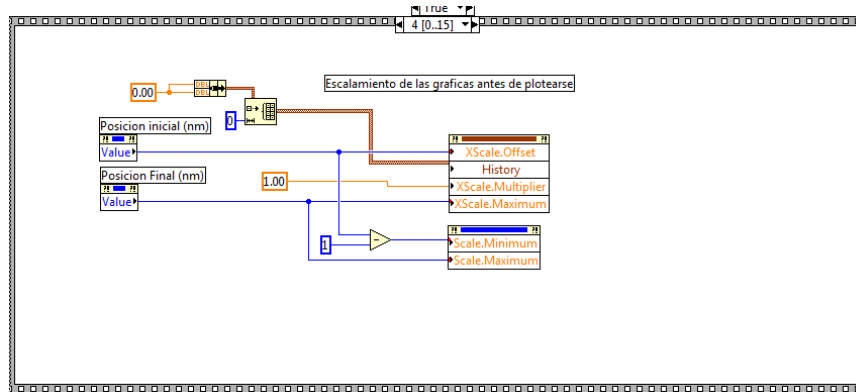


Figura 42 Subrutina de almacenamiento de datos.

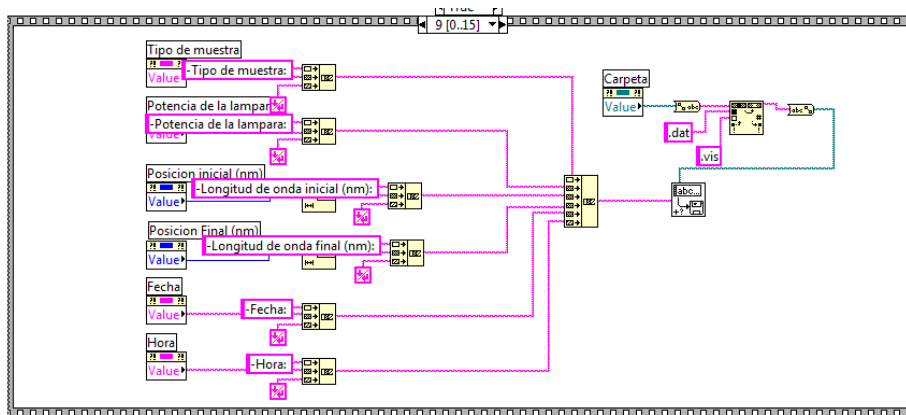


Figura 43 Subrutina de almacenamiento de datos de referencia de la muestra asignados por el usuario.

11 ETAPA 5 CREACIÓN DE LA APLICACIÓN Y LOS INSTALADORES DEL SOFTWARE DESARROLLADO

Para desarrollar la interfaz gráfica en forma de aplicación con su respectivo instalador es necesario desarrollar todas las subrutinas que componen el programa, después en el apartado de Labview creación de proyectos (figura 46). Mediante la herramienta Build Specifications (figura 47) crean el archivo .exe y sus correspondientes archivos de instalación. Esto se logra primeramente llenando campos de la ventana de especificación de aplicación (figura 48). Al llenar los campos agregaremos las características que se desean en el software como, nombre, compatibilidad, contraseña, icono, etc. Esto es necesario para generar los archivos de aplicación como se muestra en la figura 49.

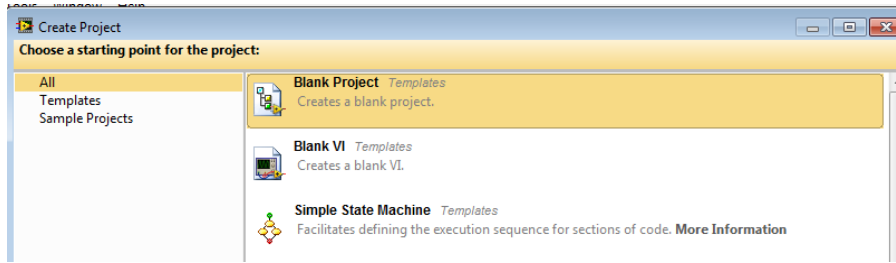


Figura 44 Ventana de creación de proyectos.

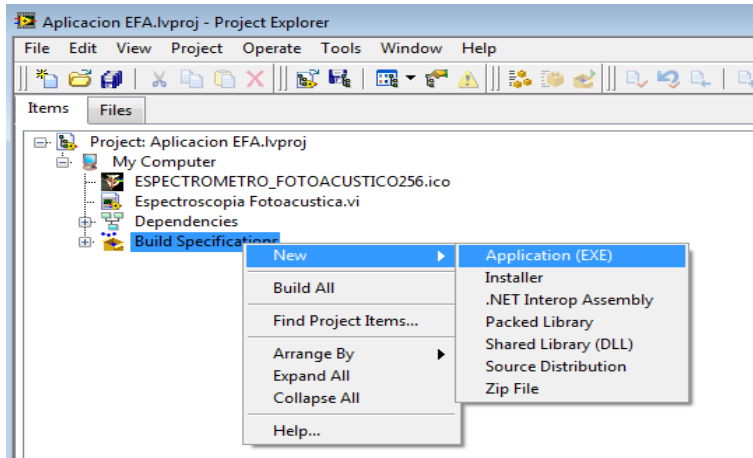


Figura 45 Ventana de la herramienta Build Specifications.

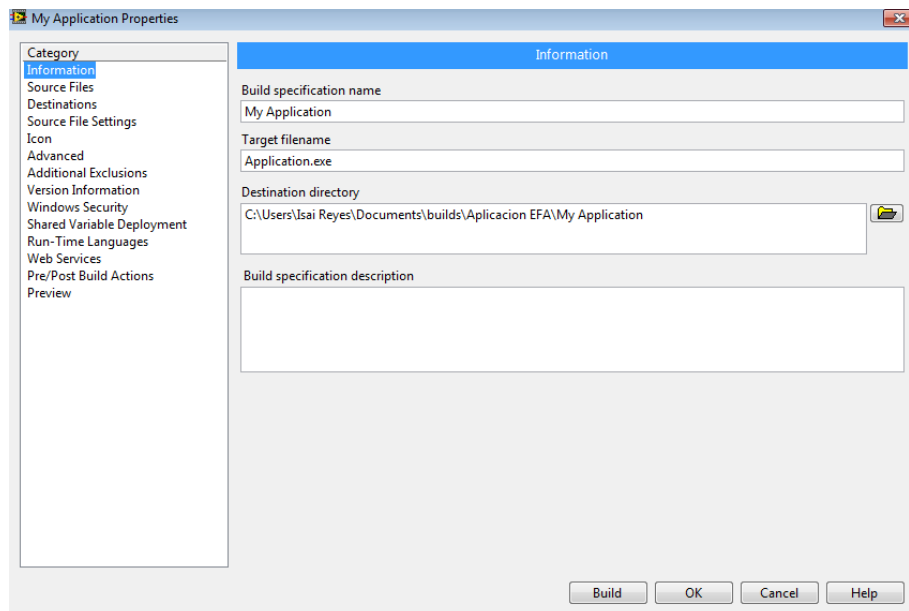


Figura 46 Venta de propiedades de la aplicación donde son asignadas las características de la aplicación.

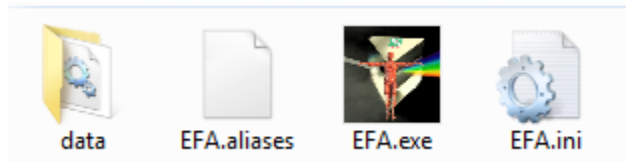


Figura 47 Archivos de aplicación generados por la herramienta Build Specifications

Una vez generados los archivos de aplicación nos dirigimos nuevamente a la herramienta Build Specifications en la opción installer donde aparecerá una ventana análoga a la de la configuración de aplicación, en la cual se definirá la compatibilidad del programa, el número de versión, así como agregarle características comerciales del software. Una vez cubiertos los campos compilaremos el programa obteniendo finalmente los archivos de instalación como se muestran en la figura 50.

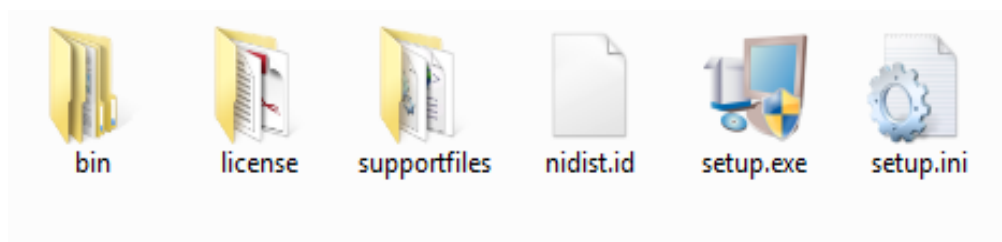


Figura 48 Archivos de instalación del software desarrollado

El archivo de instalación puede ser ejecutado en cualquier sistema operativo de Microsoft y se inicia el motor de instalación como cualquier otro programa sin la necesidad de software adicional como se muestra en la figura 51.

En el escritorio de nuestro sistema operativo y en el apartado de programas se generan los accesos directos de nuestra aplicación la cual podemos ejecutar desplegándose la ventana de interfaz gráfica de usuario del espectrómetro fotoacústico como se muestra en la figura 52.

12 ETAPA 6 INTERFAZ GRÁFICA DE USUARIO

En la interfaz encontramos un menú de calibración del monocromador, esto se debe realizar antes de cada prueba para determinar en rango de longitudes de onda que deseamos analizar. Se encuentra una pantalla grafica donde se van mostrando y graficando cada uno de los datos que se obtienen por el espectrómetro en tiempo real la cual está en parámetros de Amplitud vs Longitud de onda.

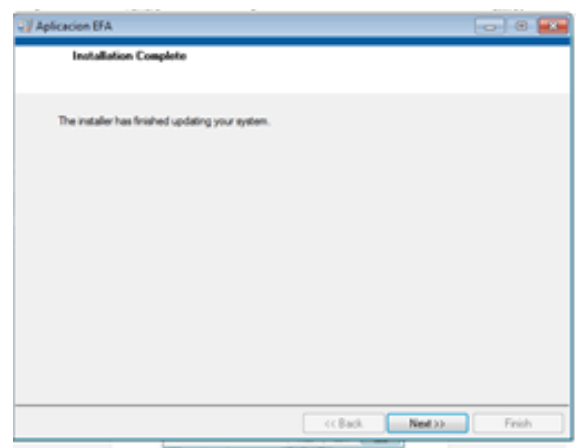
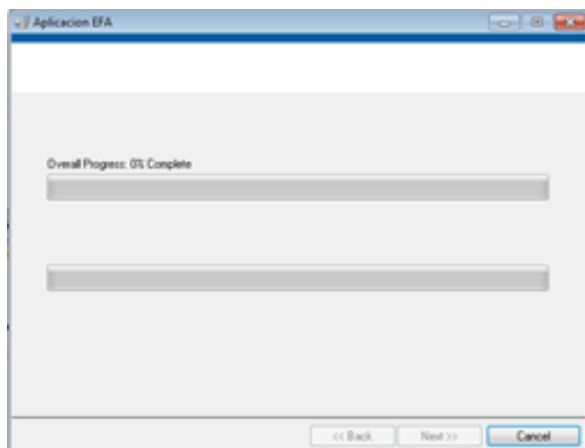
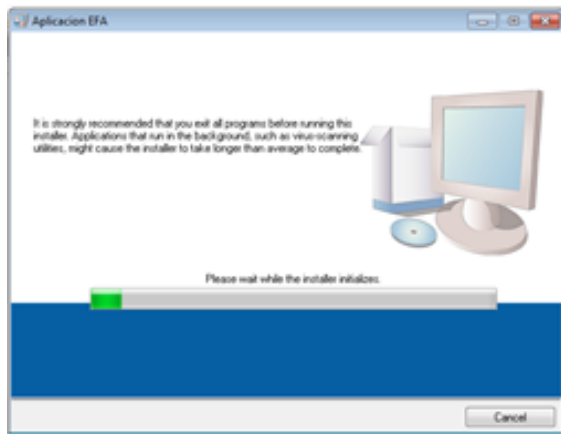


Figura 49 Ventanas del motor de instalación del software desarrollado

Se encuentra el apartado de adquisición de datos donde el usuario define el tiempo de radiación por cada longitud de onda, el número de muestras, la escala de sensibilidad, la carpeta donde se almacenan los datos, así como la asignación de los datos de referencia de la muestra a analizar (tipo de muestra, fecha, hora, etc).

Esto se realiza mediante la activación de un menú de seguridad donde no se puede activar la opción calibración de monocromador si se está haciendo un barrido de longitudes de onda y viceversa esto para proteger el equipo ya que podría dañarse y a su vez garantizar que el estudio se realice sin errores.

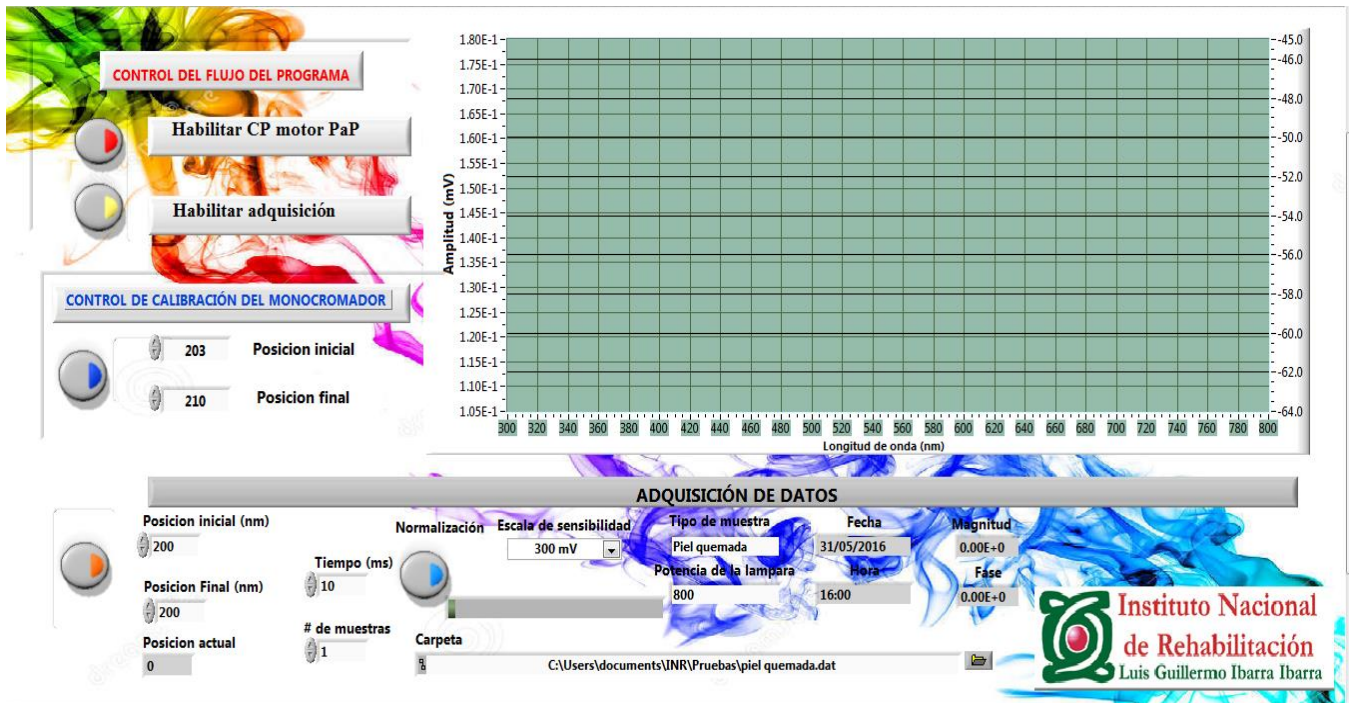
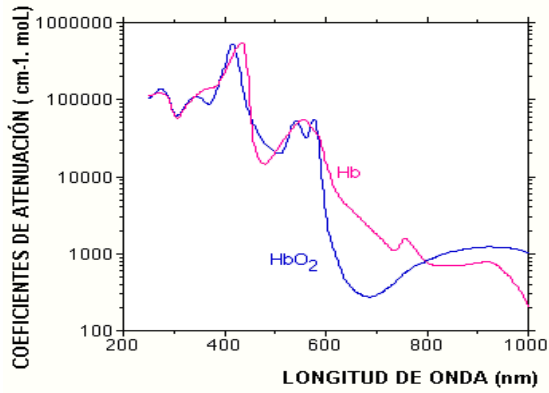


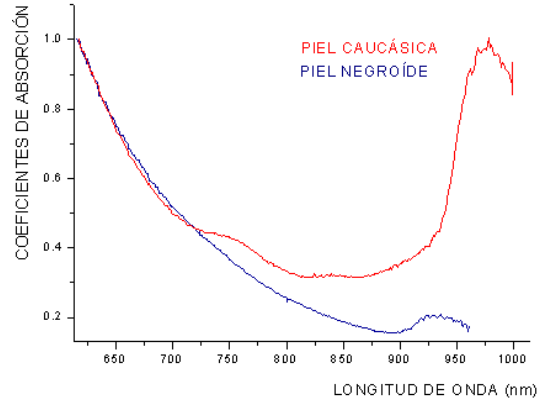
Figura 50 Interfaz gráfica del Espectrómetro Fotoacústico y el usuario

13 VALIDACIÓN DEL SISTEMA

Al comparar los espectros de absorción ópticos que se generaron en el espectrómetro fotoacústico coincidieron las bandas de absorción óptica y las tendencias del espectro de absorción óptica de algunas muestras ya reportadas como es el caso de la hemoglobina y de la piel como se muestra en la figura 53 y 54. Se observa que coincide la banda más representativa de la hemoglobina situada entre los 418 - 422 nm y se conserva la tendencia del espectro de la melanina.



a)



b)

Figura 51 a) Espectro de absorción óptico de la hemoglobina b) Espectro de absorción óptico de la piel negroide y piel caucásica [20].

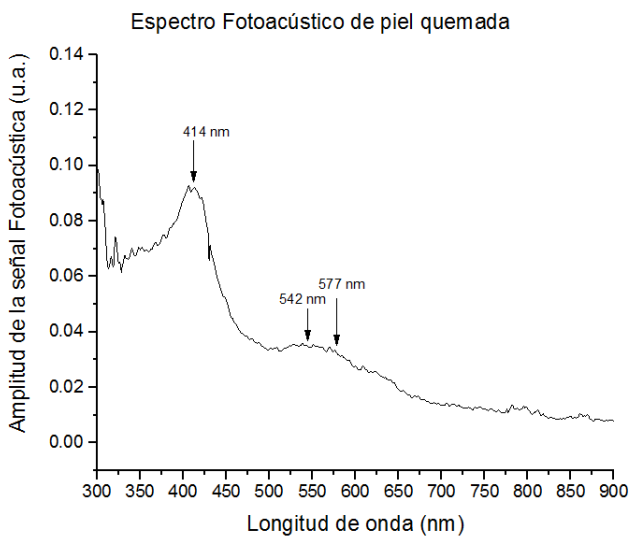


Figura 52 Espectro de absorción óptico de una muestra de piel quemada donde se apreció la presencia de sangre.

La figura 55 muestra el espectrómetro fotoacústico montado donde se señalan cada uno de los diferentes dispositivos que lo conforman.

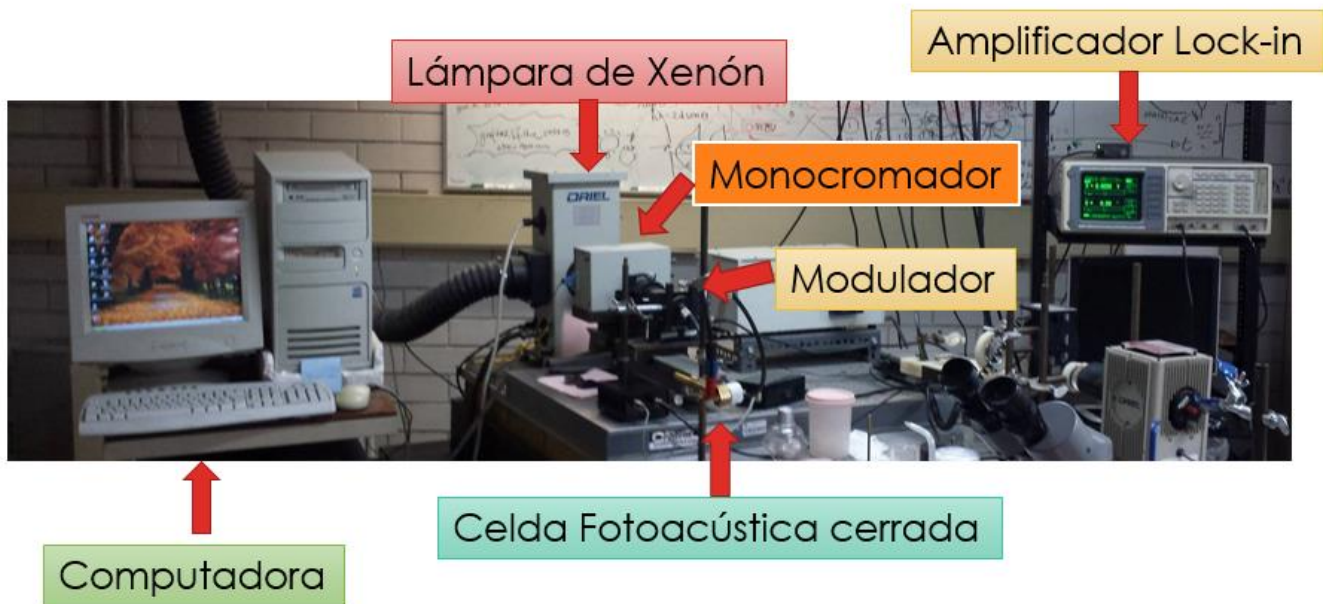


Figura 53 Espectrómetro Fotoacústico montado en el laboratorio.

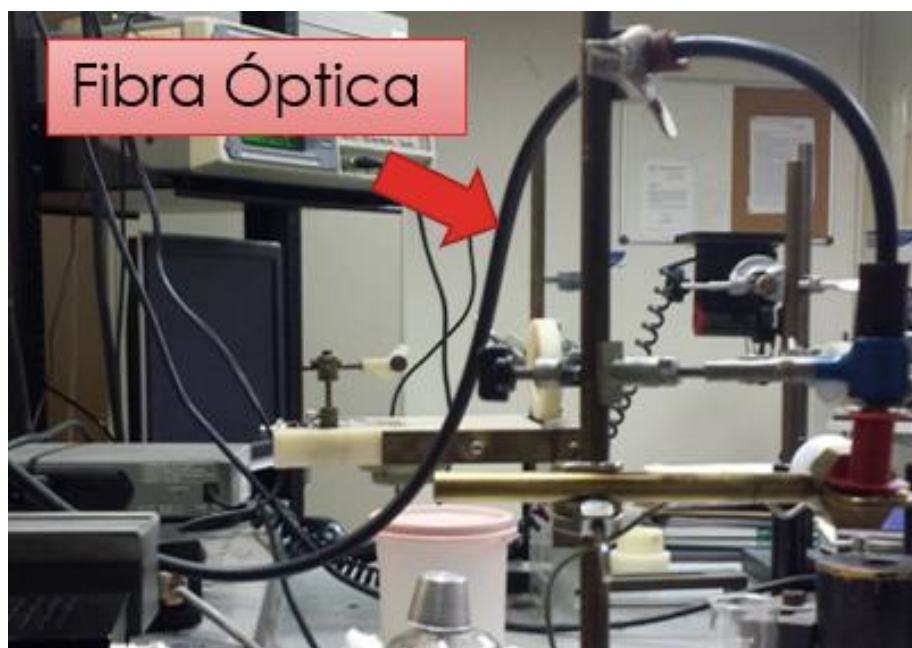


Figura 54 Fibra óptica para focalizar la luz monocromática modulada.



Figura 55 Celda Fotoacústica montada con una muestra de tejido biológico para hacer pruebas de validación.

En la figura 58 se ilustra el funcionamiento del software desarrollado realizando un barrido de longitudes de onda se observa cómo se grafica la amplitud y la fase de cada uno de los datos obtenidos lo que genera el espectro de absorción óptico.

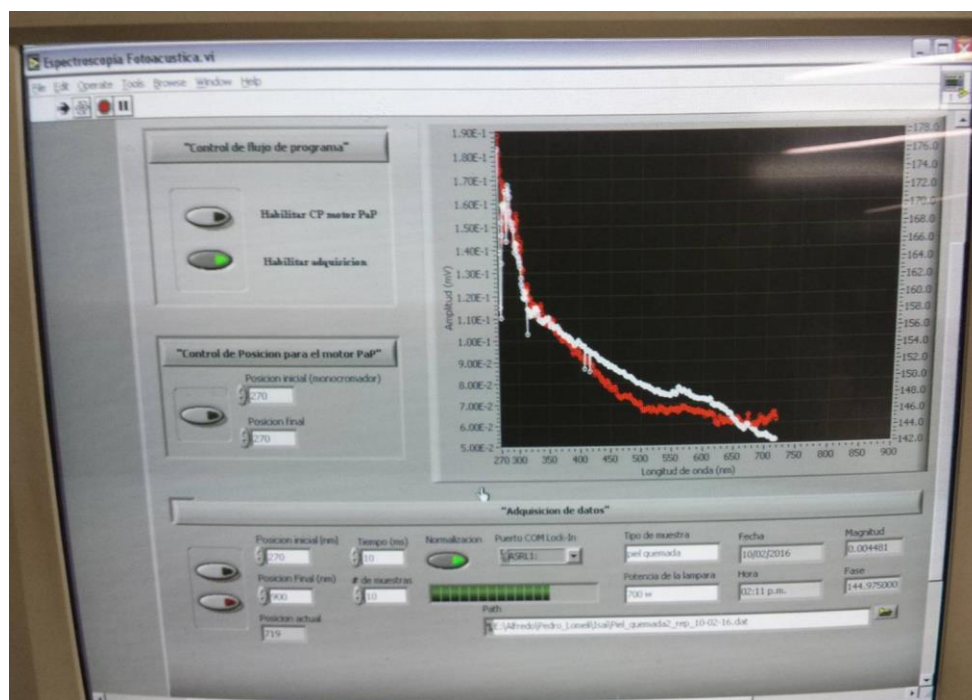


Figura 56 Ejemplo de funcionamiento del software del espectrómetro.

14 EVALUACIÓN DEL SISTEMA DE ANÁLISIS DE ESPECTROSCOPIA FOTOACÚSTICA EMPLEANDO MUESTRAS DE TEJIDO

Ya que la fuente de luz es una lámpara de xenón, la intensidad de la luz emitida por la lámpara varía con la longitud de onda de la misma, por lo que es necesario normalizar los espectros de absorción obtenidos. Para la obtención de dicho espectro de emisión se coloca polvo de grafito en la celda fotoacústica, ya que esta muestra es muy oscura (negra) la luz proveniente de la lámpara será completamente absorbida por dicha muestra, sin importar la longitud de onda de emisión de la lámpara, por lo que la señal fotoacústica solo dependerá de la longitud de onda obteniendo, así el espectro de emisión (de intensidad) de la lámpara

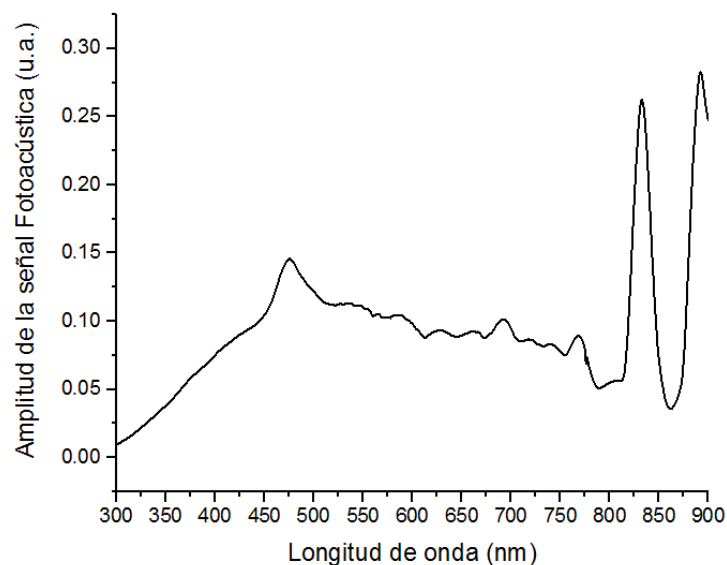


Figura 57 Espectro de emisión de la lámpara de xenón.

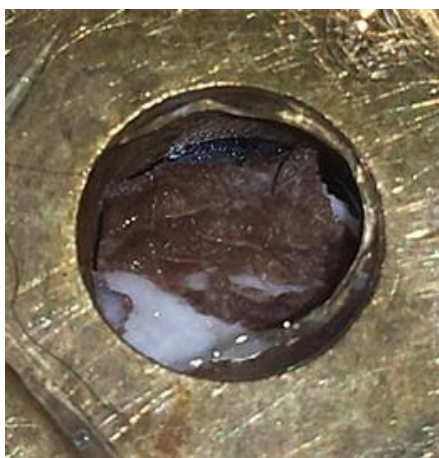
La obtención de los espectros de absorción ópticos de las muestras a analizar se obtuvieron a una frecuencia constante de modulación de la luz incidente de 17 Hz. Dicha frecuencia de modulación se eligió para optimizar la señal fotoacústica, también depende de la respuesta del micrófono la cual disminuye para frecuencias bajas.

Una vez concluida la instrumentación y adquisición del espectrómetro foto acústico se procedió a la obtención del espectro de absorción óptico de diversas muestras de tejidos biológicos. Las muestras analizadas fueron de huesos cortical, y esponjoso, piel quemada en diferentes grados y sarcoma epitelial, tomadas de la mano amputada por quemadura eléctrica de un paciente masculino de 17 años, las cuales fueron donadas por el departamento de patología del INR. Ver figura 60.

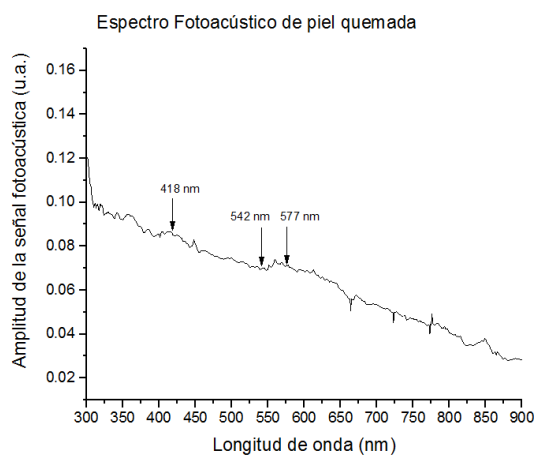


Figura 58 Se muestra la mano amputada por quemadura eléctrica de donde se tomaron las diferentes muestras para la investigación.

A continuación, se muestran los espectros de absorción óptica de cada una de las muestras mencionadas anteriormente.



a)

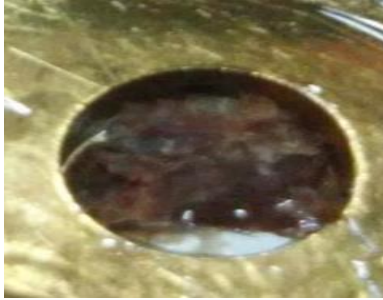


b)

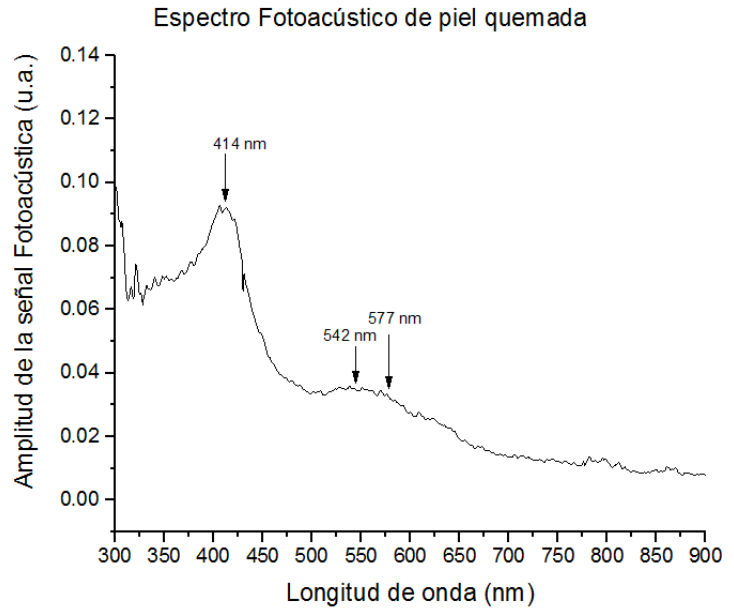
Figura 59 a) Muestra de piel con quemadura probable de segundo grado montada en la celda fotoacústica b) Espectro Fotoacústico de piel quemada.

En la figura 61 se observa, espectro de absorción óptico de piel con quemadura de tercer grado, de acuerdo a H. Robledo [22] . Se observan las bandas de absorción correspondientes a los máximos picos de absorción de la hemoglobina oxigenada [20].

El hecho de que las bandas de absorción correspondientes a la hemoglobina oxigenada sean apenas perceptibles se debe probablemente al hecho de que la quemadura haya sido superficial, sin llegar a dañar los vasos sanguíneos.



a)

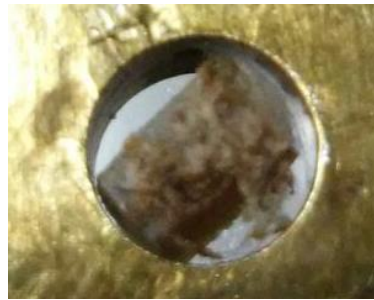


b)

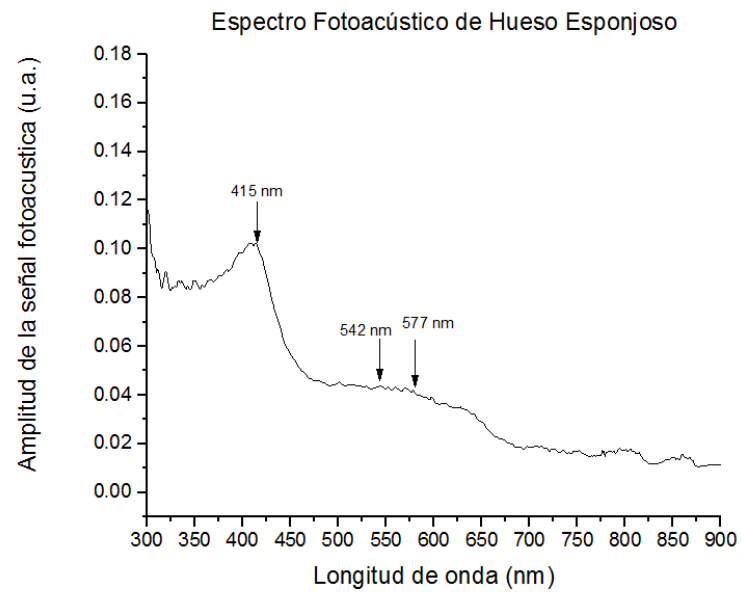
Figura 60 a) Muestra de piel quemada montada en la celda fotoacústica b) espectro de absorción óptico con quemadura probable de cuarto grado

En el espectro de absorción óptico de la figura 62 se observa, en el caso de piel con quemadura de tercer grado, que para esta muestra el espectro se aproxima al espectro de absorción óptico de la hemoglobina oxigenada, según la referencia descrita por H Robledo. Se observan las bandas de absorción señaladas en la figura 62 por los indicadores, los cuales corresponden a los máximos de las bandas de absorción de la hemoglobina oxigenada [20].

El hecho de que las bandas de absorción correspondientes a la hemoglobina oxigenada sean bastante definidas se debe probablemente al hecho de que la quemadura haya sido profunda, llegando a dañar los vasos sanguíneos, por lo que se tendría restos de sangre en esta muestra. Sin embargo la tendencia del espectro de absorción, quitando las bandas e absorción de la hemoglobina, se aproxima a la tendencia del espectro de absorción óptico de la melanina.



a)



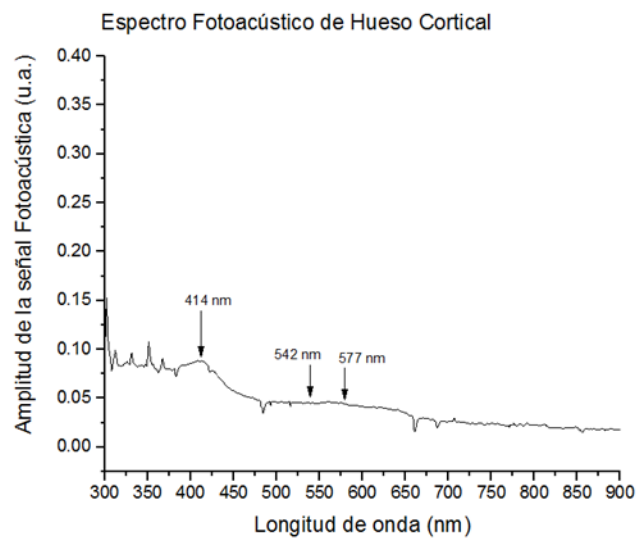
b)

Figura 61 a) Muestra de hueso esponjoso montada en la celda Fotoacústica b) Espectro de absorción óptico de una muestra de hueso esponjoso

En el espectro de absorción óptico del hueso esponjoso quemado se puede apreciar claramente el pico característico de la banda de absorción de la hemoglobina ya que está muy marcado en los 415 nm lo que indica que hay trazas de sangre en la muestra.



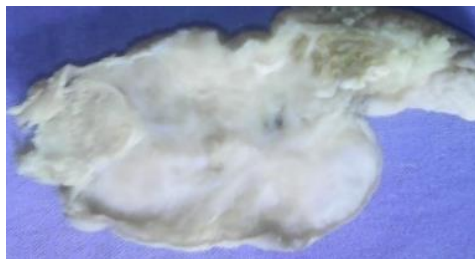
a)



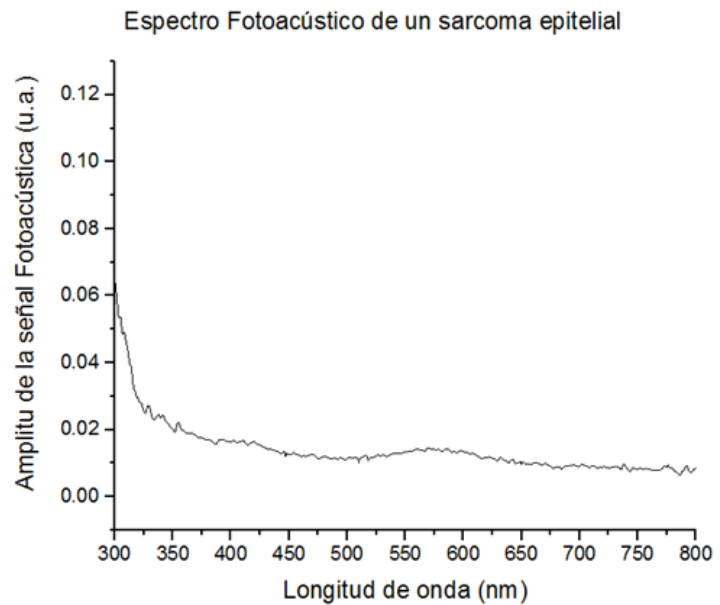
b)

Figura 62 a) Muestra de hueso cortical montada en la celda Fotoacústica b) Espectro de absorción óptico de una muestra de hueso cortical

Se observan algunas bandas de absorción de onda características de la hemoglobina, lo que indica la presencia de trazas de sangre sin embargo aparece una tendencia plana a partir de los 700nm y picos de absorción de onda de los 300nm a 375nm en la región ultravioleta esto es característico de los tejidos óseos [20] por lo cual podemos observar que mediante el espectrómetro se pueden diferenciar los tejidos a partir de su espectro de absorción óptica.



a)



b)

Figura 63 a) Muestra de sarcoma epitelial b) Espectro de absorción óptico de una muestra de sarcoma epitelial.

El espectro de absorción óptico indica que el sarcoma epitelial refleja el espectro visible y su absorción máxima está en el rango de UVa a partir de esta información es posible proponer un tratamiento con fototerapia para este tipo de tumor encontrando un foto sensibilizador adecuado y una detección temprana de esta patología.

15 PROPUESTA DE APLICACIÓN

A lo largo de este trabajo se han mencionado las diferentes aplicaciones médicas que se le puede dar a la Espectroscopia Fotoacústica, dado que la presente investigación experimental se realizó con muestras de tejidos epiteliales y óseos con cierto grado de quemadura para ambos casos, y además de una muestra de sarcoma epitelial, se debe mencionar el posible impacto de este trabajo en la investigación de estos tejidos.

En primera instancia, se considera el tejido epitelial con traumatismo térmico, seguido del tejido óseo y concluiremos hablando de la muestra de sarcoma epitelial, cabe mencionar que los espectros de absorción óptica obtenidos en el presente trabajo han sido comparados con otros trabajos aquí citados y hay concordancia en dichos espectros característicos de las muestras analizadas.

En la actualidad, la forma de determinar el grado de quemadura de un paciente con traumatismo térmico lo realiza personal especializado, dicha evaluación consta de una inspección visual en donde se evalúan diversos factores como el tipo de quemadura (eléctrica, química, radiación, etc.), la región del cuerpo afectada, la profundidad de dicha quemadura etc. la técnica expuesta en este trabajo propone un análisis complementario al diagnóstico y tratamiento de dicho especialista, dicho análisis lo puede dotar de información específica del tejido de interés lo que lo puede auxiliar en su diagnóstico y en la evaluación de la recuperación de su paciente. Las quemaduras no son uniformes en las regiones afectadas del cuerpo y algunas veces el tejido muerto se mezcla con materiales ajenos al cuerpo humano, lo que complica o altera la evaluación diagnóstica del especialista, esta técnica pueda auxiliar al especialista a demarcar las zonas afectadas asignándoles un grado de quemadura adecuado además de determinar si existen materiales ajenos al cuerpo humano que pudieron adherirse al tejido.

Al hablar de tejido óseo, el estudio arrojado por la técnica de Espectroscopia Fotoacústica puede aportar información de la estructura ósea de la muestra a analizar, y a su vez calcular la difusividad térmica de este, lo que puede ser de ayuda a la hora en que se determina el diagnóstico y tratamiento del paciente según sea el caso. En el caso del sarcoma epitelial no se encontró una referencia de estudio similar, pero se puede aportar un espectro característico que ayude a determinar su composición estructural y ampliar su investigación para en un futuro con una pequeña muestra posiblemente determinar la detección temprana de este en algún paciente o a partir del efecto fotoacústico generar un tratamiento que ayude a erradicarlo.

16 CONCLUSIONES

El espectrómetro fotoacústico montado e implementado, puede hacer análisis en muestras de tejidos biológicos en los tres estados de la materia (sólido, líquido, gas), aun con características translucidas, opacas o altamente dispersoras de luz, que en técnicas de espectroscopia convencional no se pueden analizar, la muestra no requiere una preparación previa y no se necesita el uso de consumibles, se realiza de una forma rápida y sencilla, a partir de la automatización dicho estudio redujo su tiempo requerido en un 50%.

Al no necesitar de consumibles el equipo tiene ventajas en la relación costo-beneficio ya que los análisis de las muestras usadas en el espectrómetro fotoacústico no generan un costo significativo al INR.

El espectrómetro fotoacústico implementado tiene una precisión en longitud de onda de ± 5 nm. Con un único sistema de desarrollo se integran las funciones de adquisición, análisis y presentación de datos además de que el software tiene compatibilidad en cualquier sistema operativo de Windows u otro sistema abierto como Linux, para ser instalado y usado no necesita de un software adicional. Dicho software da gran flexibilidad al sistema, permitiendo cambios y actualizaciones tanto del hardware como del software. Por lo tanto hace que el equipo sea versátil, eficiente y puede ser adecuado incluso a nuevos protocolos de operación.

Con la colaboración de especialistas se puede desarrollar un catálogo de espectros de absorción óptica característico de diferentes tejidos de interés así como desarrollar nuevas técnicas de diagnóstico, tratamiento y rehabilitación en las especialidades médicas que atiende el instituto.

Los espectros de absorción óptica en muestras biológicas dotan de información específica a los especialistas y su campo de aplicación es amplio y variado.

Los espectros obtenidos por el espectrómetro fotoacústico son una herramienta auxiliar para los especialistas que determinan el grado y tipo de quemadura de un paciente con traumatismo térmico y ayudan a determinar un mejor diagnóstico y tratamiento.

17 SITIOS EN DONDE SE REALIZO EL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

La investigación y desarrollo de la interfaz gráfica se lleva a cabo en el Instituto Nacional de Rehabilitación en el laboratorio de Biomecánica ubicado en: Calzada México Xochimilco No. 289, Colonia Arenal de Guadalupe, Delegación Tlalpan, C.P. 14389 México D.F. en conjunto con el departamento de Física del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional Unidad Zacatenco ubicado en: Av. Instituto Politécnico Nacional No.2508, Gustavo A. Madero, San Pedro Zacatenco, C.P. 07360 México, D.F. y la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología ubicada en: Av. Acueducto de Guadalupe S/N, Gustavo A Madero, Barrio La Laguna Ticoman, C.P. 07340 México, D.F.

18 REFERENCIAS

- [1] A. V. Ravi Kumar , «Applications of laser induced photoacoustic effect for the study of gases and solids,» India, 1992.
- [2] A. Rosencwaig y A. Gersho, «Theory of photoacoustic effect with solids,» *Journal of Applied Physics*, vol. XLVII, nº 1, pp. 64-69, 1976.
- [3] P. Lomelí, N. Castellanos, M. Méndez, A. Cruz y J. Jiménez, «Aplicaciones biofísicas de la fotoacústica,» *Investigación en discapacidad*, vol. 1, nº 2, pp. 90-94, 2012.
- [4] A. G. Bell, «On the production and reproduction of sound by light,» *American Journal of science*, vol. XX, nº 118, p. 305, 1880.
- [5] E. Marín, «Escuchando a la luz: breve historia y aplicaciones,» *Latin-American Journal of Physics Education*, vol. II, nº 2, pp. 209-2015, 2008.
- [6] J. Tyndall, «Action of an Intermittent Beam of Radiant Heat upon Gaseous Matter,» *Royal society of london* , vol. XXXI, pp. 307-317, 1881.

- [7] W. C. Röntgen, «On tones produced by the intermittent irradiation of a gas,» *Philosophical Magazine series* 5, vol. XI, pp. 308-311, 1881.
- [8] A. Rosencwaig, «Photoacoustic spectroscopy of solids,» *Optics Communications*, vol. 7, nº 4, pp. 305-308, 1973.
- [9] Wright G B, *Light Scattering of Solids*, Berlín: Springer- Verlag, 1969.
- [10] Wendlant W W and Hecht H G, *Reflectance Spectroscopy*, New york: Wiley, 1966.
- [11] Rosencwaig A, *Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy*, New York: Wiley Interscience, 1983.
- [12] M. W. Sigrist , S. Bernegger y P. L. Meyer , «"Photoacoustic, Photothermal and Photothermal Processes in Gases",» *Topics in current Physics*, vol. 46, p. 173, 1989.
- [13] V. P. Zaroy y V. S. Letokhoy , «Laser Opto-akoustic Spectroscopy,» *Springer series in optical sciences*, vol. 37, 1984.
- [14] F. A. Domínguez Pacheco, «Sistema fototérmico para la caracterización de semillas y granos de maíz,» Ciudad de México, 2010.
- [15] E. Contreras Gallegos, «Caracterización Térmica y Microscópica de materiales usando un micrófono electret en la técnica fotoacústica,» Ciudad de México , 2013.
- [16] A. Bozkurt, A. Rosen, H. Rosen y B. Onaral, «A portable near infrared spectroscopy system for bedside monitoring of newborn brain,» *Biomed Eng Online*, vol. 4, nº 29, 2005.
- [17] J. J. Jacobs , J. L. Gilbert y M. Robert , «Current Concepts Review - Corrosion of Metal Orthopaedic Implants,» *The Journal of Bone & Joint Surgery*, vol. 80, pp. 268-282, 1998.
- [18] J. Bodzenta, R. J. Bukowski, A. Christ y T. Pogoda, «Photoacoustic detection of drug diffusion into a membrane: theory and numerical analysis,» *International Journal of Heat and Mass Transfer*, vol. XLV, nº 22, pp. 4515-4523, 2002.

- [19] M. Halmeir, O. Scherzer y G. Zangerl , «A Reconstruction Algorithm for Photoacoustic Imaging based on the Nonuniform FFT,» *IEEE Transactions on Medical Imaging*, vol. 28, nº 11, pp. 1727-1735, 2009.
- [20] P. A. Lomelí Mejía, «Aceleración de la consolidación de la fractura ósea implementando láser,» Instituto Politecnico Nacional, México, 2004.
- [21] A. C. M. D. M. H. K. F. F. M. d. M. J. G. A. a. W. G. Z. R. Graaff, «Optical properties of human dermis in vitro and in vivo,» *OSA Publishing*, vol. XXXII, nº 4, pp. 435-447, 1993.
- [22] H. Robledo , «Principios generales de la luz láser en la cirugía cutanea y su interacción tisular,» *Cirugía Española* , vol. LXIX, nº 5, pp. 486-489, 2001.
- [23] J. L. Heller, «MedlinePlus,» 7 22 2014. [En línea]. Available: https://translate.googleusercontent.com/translate_c?depth=1&hl=es&prev=search&rurl=translate.google.com.mx&sl=en&u=https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/ency/imagepages/8600.htm&usg=ALkJrhgTpKWLHTScjfyk6PL6M23MHOmgsA. [Último acceso: 15 Abril 2016].
- [24] R. J. Schwartz, C. N. Chirino, S. V. Sáenz y T. V. Rodríguez, «Algunos aspectos del manejo del paciente quemado en un servicio de cirugía infantil: a propósito de 47 pacientes pediátricos. Ila. Parte,» *Revista argentina de dermatología*, vol. 89, nº 3, pp. 165-173, 2008.
- [25] C. E. Ramírez Rivero , J. J. Rivera, M. C. Cabezas, L. Bautista Lorenzo y J. Uribe Carvajal, «Manejo de Quemados».
- [26] Newport Corporation, «Newport,» Newport Corporation, 2016. [En línea]. Available: <https://www.newport.com/c/arc-lamp-sources>. [Último acceso: 20 Febrero 2016].
- [27] Direct Industry, «Direct Industry,» 2016. [En línea]. Available: <http://www.directindustry.es/prod/epsilon-technology-33099.html>. [Último acceso: 20 febrero 2016].
- [28] Reflexiona, «Reflexiona° shop,» 2013. [En línea]. Available: <http://www.reflexiona.biz/shop/audio/361--microfono-electret.html>. [Último acceso: 12 Mrzo 2016].
- [29] N. Kehtarnavaz y N. Kim, *Digital Signal Processing System-Level Design Using LabVIEW*, Texas: Newnes, 2005.

- [30] W. G. B, Light Scattering of solids, Berlín: Springer-Verlag, 1969.
- [31] A. Rosencwaig, Advances in Electronics and Electron, vol. XLVI, New York: Martin L., 1978.
- [32] M. M. R. P. F. S. a. S. M. U Zammit, «Photoacoustics as a technique for simultaneous measurement of thermal conductivity and heat capacity,» *Journal of Physics E: Scientific Instruments*, vol. XXI, nº 10, p. 935, 1988.