



Guía práctica Día 2

En el último ejercicio de la guía anterior nos encontramos con la limitación de la amplitud que tenía la señal que adquiriríamos desde el generador de señales. Si bien modificamos la resolución a la cual la digitalizábamos con el Arduino, esto sólo nos permitía “verla” más grande. Lo que realmente deseamos es poder amplificarla. Aquí es donde entra en juego el Amplificador Operacional (“op-amp”, por su nombre en inglés, *operational amplifier*). En esta guía vamos a adentrarnos en el funcionamiento de un op-amp, sus configuraciones y cómo reducir el ruido que contamina a la señal que queremos amplificar.

Amplificadores operacionales	1
Ejercicio A. Adquiriendo una señal usando la configuración de “cable largo”	2
Ejercicio B. Reemplazando el “cable largo” por un headstage	5
Ejercicio C. Señales diferenciales	7
C.1. Electrodo de referencia	9
C.2. Retroalimentación negativa	11
C.3. Retroalimentando solo el 50% de la señal	13
C. 4. Amplificador operacional inversor	14
C. 5. Reemplazando la tierra con una fuente de voltaje constante (CC)	15
C. 6. Agregando la referencia a la entrada no inversora (V+)	16
C. 7. Finalmente... el amplificador diferencial	18
Amplificadores de instrumentación	20

Amplificadores operacionales

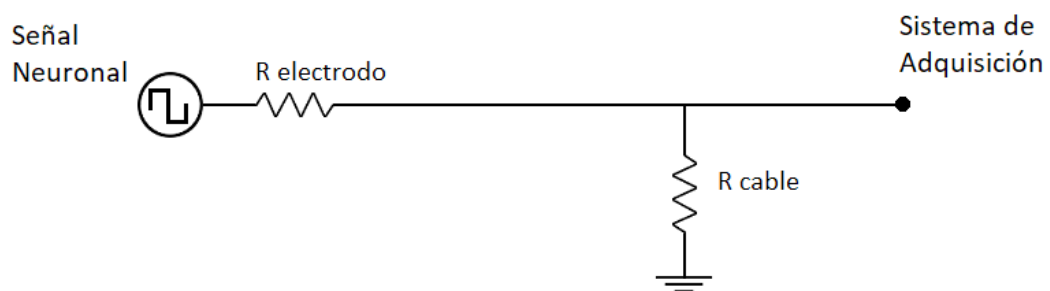
Usar un amplificador operacional permite que prácticamente no consumamos corriente de la fuente que vamos a registrar. Por ello, podremos medir tensiones de fuentes aún cuando éstas no puedan entregar corriente, como es el caso de las células. Esto implica que la perturbación de la señal debido a la propia medición será despreciable.

Para entender el funcionamiento del op-amp, vamos a usar la señal del generador que utilizamos en la guía anterior (<http://onlinetonegenerator.com/>) o de la aplicación para el móvil (Android) (<https://bit.ly/3C4DyNe>), como si fuera una señal neuronal. Vamos a observar qué le ocurre a esta señal si sólo tenemos un cable que la transmite desde el electrodo modelado hasta el Arduino, y luego reemplazaremos el cable largo por un op-amp.



Ejercicio A. Adquiriendo una señal usando la configuración de “cable largo”

Armaremos un circuito equivalente a tener un electrodo que capta una señal neuronal y un cable largo que conecta este electrodo con el sistema de registro (sin el uso de un *headstage*¹ que medie entre ambas partes). Vamos a usar una resistencia para representar la impedancia del electrodo. Con otra resistencia vamos a representar la atenuación de la señal que se produce debido a la impedancia del cable largo. Recordemos que usaremos el Arduino como si fuera nuestro sistema de adquisición y registro de la señal.



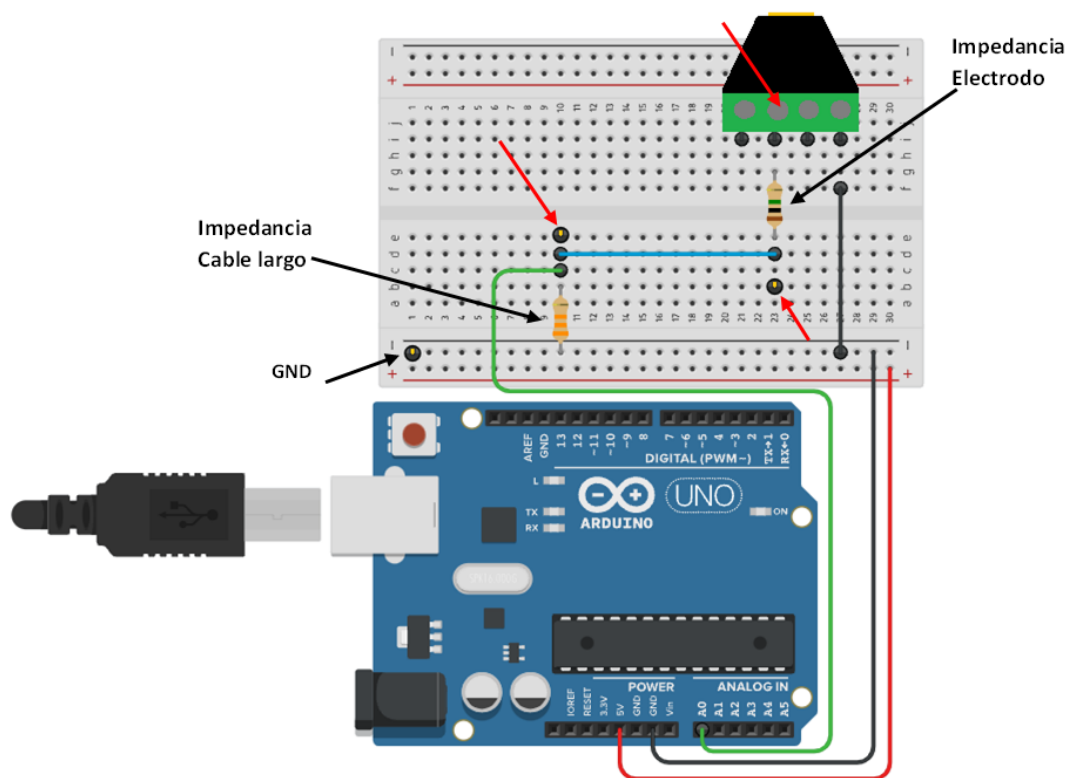
1. Conectar al *protoboard* el jack hembra de 3.5mm y el cable stereo plug 3.5mm - plug 3.5mm entre este y la salida de audio de la computadora, tal como lo hicimos en la guía anterior (y como figura en el esquema a continuación).
2. Conectar, mediante un cable macho-macho, el pin de tierra del jack al riel de GND del *protoboard*.
3. Conectar una resistencia de $1\text{M}\Omega$ entre el pin del canal derecho (R) del jack y un pin libre del *protoboard*. Esta resistencia simulará la impedancia propia de un electrodo.
4. Conectar una resistencia de $22\text{K}\Omega$ entre el riel de GND del *protoboard* y otro pin libre del mismo. Esto simulará la pérdida de señal a través de tierra al usar un cable realmente largo.
5. Conectar con un cable los terminales libres de las resistencias de $1\text{M}\Omega$ y la de $22\text{K}\Omega$.
6. Conectar mediante un cable macho-macho la resistencia de $22\text{K}\Omega$ y el puerto A0 del Arduino.
7. Conectar un pin de medición (o un cable macho-macho) a la resistencia de $22\text{K}\Omega$. Este será el “punto de lectura” de la señal previa a ser adquirida por el sistema de adquisición.
8. Conectar otro pin de medición (o un cable macho-macho) a la resistencia de $1\text{M}\Omega$. Este será el “punto de lectura” de la señal luego de ser “captada” por el electrodo.

¹ Un *headstage* es un conjunto de componentes electrónicos que se ubican cerca del electrodo de registro (para evitar pérdidas de señal) donde se amplifica y filtra la señal antes de la adquisición.



-
- The diagram shows an Arduino Uno microcontroller board connected to a breadboard. A large black cable is plugged into the breadboard. A green electrode is also connected to the breadboard. Wires connect the breadboard to the Arduino's power and digital pins. Labels with arrows point to the 'Impedancia Cable largo' (long cable impedance), 'GND', and 'Impedancia Electrodo' (electrode impedance).

13. Ahora, mediremos los valores de voltaje en diferentes puntos del circuito equivalente mediante el uso del multímetro (escala de 200mV en posición V~). Para ello, colocar la punta de medición negra en el pin de medición en GND y la punta roja en cada uno de los puntos indicados con las flechas rojas de la imagen (pin del canal R- “en la célula”, pin de resistencia de $1M\Omega$ - “luego del electrodo” y pin de lectura - “entrada al sistema de registro”). Completar la primera columna de la tabla.



Punto de medición	Amplitud de la señal en la configuración de cable largo	Amplitud de la señal en el sistema con el amplificador operacional
a. Pin del canal R (en la célula)		
b. Pin de resistencia $1M\Omega$ (luego del electrodo)		
c. Pin de lectura (entrada al sistema de registro)		
Porcentaje de pérdida		

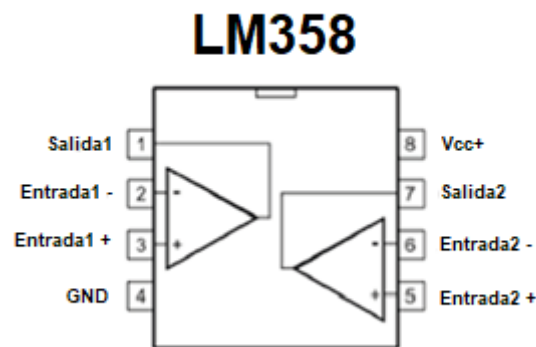
¿Cuánta señal se pierde con este sistema de registro?



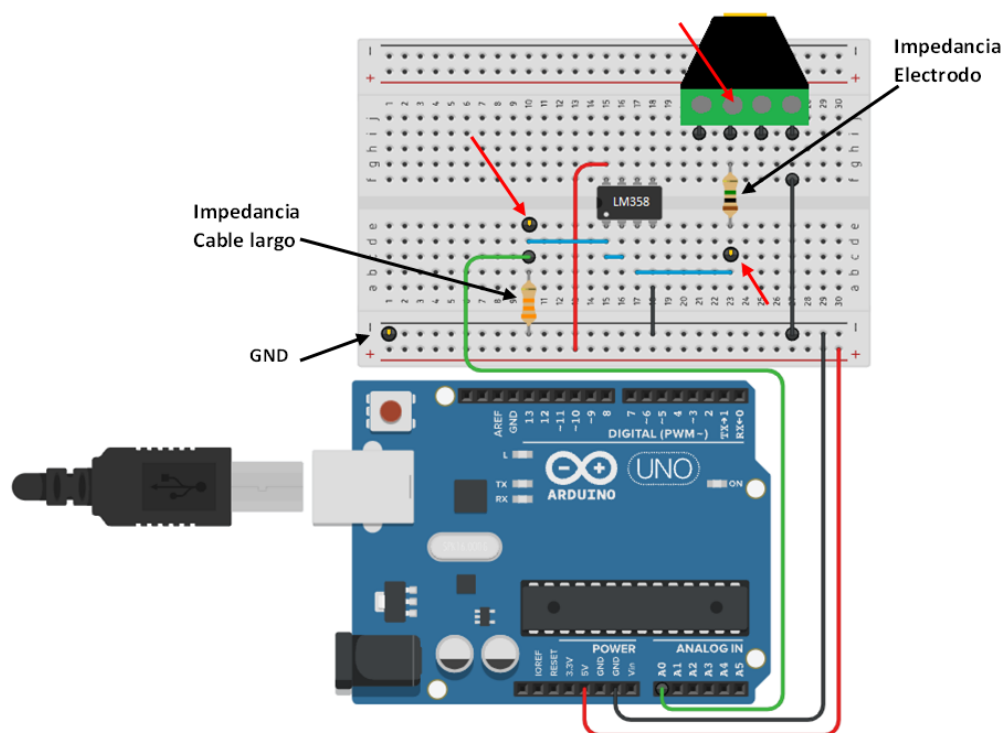
Ejercicio B. Reemplazando el “cable largo” por un *headstage*

Ahora vamos a ver si podemos mejorar este sistema de registro al reemplazar el cable largo con un *headstage*. Vamos a usar uno de los componentes más básicos de un *headstage*, un amplificador operacional.

En la imagen se detalla el *pin-out* (patillaje) del amplificador operacional que vamos a usar, el LM358. El encapsulado del chip tiene una muesca (corte en forma de semicírculo) o un punto que indica el orden de los pines del mismo. El primer pin se corresponde con el que se encuentra inmediatamente a la izquierda de la muesca. Los números de los pines restantes aumentan secuencialmente en sentido antihorario alrededor del encapsulado del chip.



1. Colocar el op-amp en el protoboard sobre el canal central. Notá que en el esquema está orientado con la muesca hacia la izquierda.
2. Conectar mediante cables el riel de voltaje +5V al pin Vcc+ del op-amp (pin 8) y el riel de GND al pin GND del op-amp (pin 4).
3. Conectar la salida del “electrodo de registro” (resistencia de $1M\Omega$) a la entrada + del amplificador operacional (pin 3) y la salida del op-amp (pin 1) al circuito que modela el cable largo (resistencia de $22K\Omega$).
4. Para terminar de configurar el conexionado del op-amp, conectar la salida del mismo (pin 1) con la entrada – (pin 2) mediante un cable.



5. Ahora, medir nuevamente con el multímetro en los mismos puntos que antes y completar la segunda columna de la tabla anterior.

¿Qué diferencia notás con este sistema de registro?

Pista:

Una vez que incluimos el *headstage*, el “cable largo” que usamos para registrar nuestra señal no puede degradarla, y podemos registrarla de forma casi íntegra. A pesar de que no estamos amplificando la señal (solo tenemos ganancia unitaria en el amplificador operacional), la estamos preservando mediante un “*buffer*” (como veremos en el ejercicio siguiente). El amplificador operacional está funcionando como un adaptador de impedancias entre el circuito del electrodo de registro y el cable de registro. De esta forma, el amplificador puede introducir en el cable tanta corriente como sea necesaria, sin drenar la corriente de la fuente de la señal (en este ejemplo, la célula). Por ello, la señal puede pasar sin pérdidas de un circuito a otro (antes y después del *headstage*).

Ejercicio C. Señales diferenciales

1. Desconectar el cable stereo plug 3.5mm-plug 3.5mm de la salida de audio de tu computadora. Mover este extremo del cable alrededor de la computadora. Luego,



tocar los terminales del plug con los dedos y observar lo que sucede en el Serial Plotter del Arduino IDE.

¿Qué pudiste observar? ¿Cuál es aproximadamente la amplitud de esta señal?

2. Comparar esta amplitud con la de un potencial de acción de una neurona (*spike*) (alrededor de 100 mV en los registros intracelulares - equivalente a alrededor de 20 divisiones del conversor AD).

¿Te parece que podrías llegar a distinguir un potencial de acción inmerso en ese nivel de ruido?

Hasta el momento, solo consideramos la señal que detectamos con el electrodo de registro en relación con la tierra. Ahora vamos a agregar un electrodo de referencia y ver cómo esto mejora el registro de los biopotenciales.

Para esta parte, usaremos un simulador de circuitos virtual. Usaremos una señal cuadrada que simulará los disparos de una neurona y, por otro lado, usaremos una señal sinusoidal que simulará una pequeña señal de EEG o ruido de línea de 50Hz. Esta última señal estará generalmente presente tanto en el electrodo de medición como en el electrodo de referencia.

Paso a paso, iremos construyendo el circuito “objetivo” que deseamos que tenga las siguientes características:

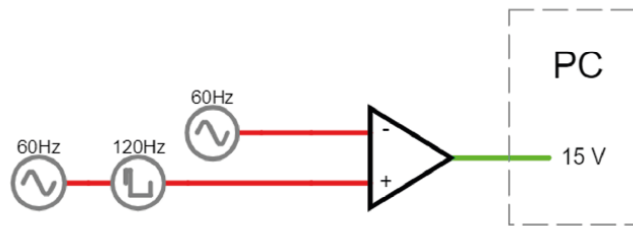
- Entrada para un electrodo que medirá la actividad de la neurona (*spikes*).
- Entrada para un electrodo de referencia que captará el ruido común.
- La salida tendrá que entregar la diferencia entre la señal medida (actividad neuronal) y el ruido captado por el electrodo de referencia, todo ello multiplicado por una ganancia.
- No deberá modificar la señal que registra (no deberá extraer corriente de las neuronas que mide).

C.1. Electrodo de referencia

1. Ingresar al simulador virtual (<https://tinyurl.com/yj5yiaso>).
2. Conectar el electrodo de referencia y el de registro al op-amp en configuración de lazo abierto (*open-loop*). Vamos a simplificarlo sin tener en cuenta la impedancia del electrodo y la pérdida del cable largo.
3. Conectar la salida del amplificador al sistema de adquisición (PC)



¿Qué señal se observa a la salida del amplificador operacional? ¿Qué valor de voltaje tiene esa señal?



Como observamos, pudimos restar con éxito la señal de referencia ya que a la salida del amplificador sólo vemos una señal cuadrada. Además, nuestra señal de entrada está protegida puesto que no estamos extrayendo corriente de la misma. Sin embargo, la señal cuadrada a la salida del amplificador tiene un valor de voltaje muy alto, lo que indica que la salida del amplificador está saturando. Esto se debe a la altísima ganancia interna que tiene el op-amp.

A partir de esto, podemos darnos cuenta que no podemos usar al op-amp simplemente como un amplificador diferencial en lazo abierto ya que cualquier pequeña diferencia de voltaje entre las entradas inversora (V-) y no inversora del mismo (V+) se amplificará tanto que producirá que la salida se sature y entregue un valor de voltaje igual al valor de alimentación del amplificador (15 V en este caso).

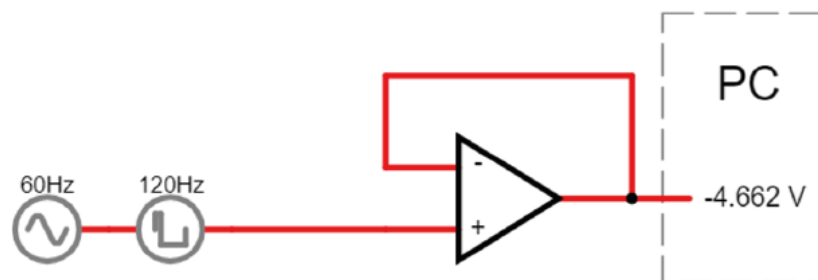
¿Qué características de nuestro circuito “objetivo” obtuvimos hasta ahora?

- Entrada para un electrodo que mida la actividad de la neurona (*spikes*). **SI**
- Entrada para un electrodo de referencia que captará el ruido común. **SI**
- La salida tendrá que entregar la diferencia entre la señal medida (actividad neuronal) y el ruido captado por el electrodo de referencia, todo ello multiplicado por una ganancia. **SI, pero... muy grande y satura.**
- No modificar la señal que registra (no debe extraer corriente de las neuronas que mide). **SI**

C.2. Retroalimentación negativa

Como vimos anteriormente, necesitamos hacer algo para evitar que sature la salida del amplificador. Para ello, podemos proporcionarle una retroalimentación negativa al op-amp, conectando la salida hacia la entrada inversora (V-) y usando la entrada no inversora (V+) para conectar la señal del electrodo de registro.

4. Desconectar el electrodo de referencia de la entrada inversora del amplificador.
5. Conectar, mediante un cable, la salida del amplificador a la entrada inversora (V-).



¿Qué señal se observa a la salida del amplificador operacional ahora? ¿Cuál es la ganancia?

En este caso, el amplificador se comportará igual que antes, es decir, entregará a la salida la diferencia entre la señal de sus entradas V_- y V_+ , multiplicada por la enorme ganancia interna del mismo. La salida comenzará a aumentar rápidamente su valor. Sin embargo, a medida que la misma adquiere el valor del terminal V_+ , las entradas V_+ y V_- tendrán el mismo valor de voltaje y, por lo tanto, la diferencia entre ambas dará un valor nulo y no habrá señal para amplificar.

Vemos que solucionamos el problema de saturación de la salida del amplificador, sin embargo, el amplificador no es capaz de amplificar nuestra señal ni de usar el electrodo de referencia para restar la señal de ruido.

A esta configuración del amplificador se la conoce como *buffer* y tiene la particularidad de que aporta una gran impedancia de entrada a la señal que se registra en V_+ , por lo que no la modifica (no consume corriente de la misma).

¿Qué características de nuestro circuito “objetivo” obtuvimos hasta ahora?

- Entrada para un electrodo que mida la actividad de la neurona (*spikes*). **SI**
- Entrada para un electrodo de referencia que captará el ruido común. **NO**
- La salida tendrá que entregar la diferencia entre la señal medida (actividad neuronal) y el ruido captado por el electrodo de referencia, todo ello multiplicado por una ganancia. **NO.**
- No modificar la señal que registra (no debe extraer corriente de las neuronas que mide). **SI**

C.3. Retroalimentando solo el 50% de la señal

Comencemos por resolver la falta de amplificación de la señal. Supongamos que ahora retroalimentamos a la entrada (V_-) del amplificador con un porcentaje del voltaje de salida (por ejemplo, 50%). Como antes, el amplificador hará la diferencia entre las entradas



V+ y V- e incrementará el valor en su salida (en este caso, el doble) hasta que las entradas V+ y V- se igualen nuevamente. **De esta forma, podemos variar la proporción de la señal de salida que queremos retroalimentar y, así, ajustar la ganancia del amplificador.** Para hacer esto, tenemos que dividir el voltaje de salida entre la parte que queremos retroalimentar y la parte de la cual nos vamos a deshacer, enviándola a tierra.

6. Agregar las resistencias necesarias al circuito que estamos simulando, para construir un amplificador con una ganancia de 2. Para ello, usar lo aprendido sobre divisores de tensión.

Luego de que intentes hacerlo por tu cuenta... podrás encontrar la respuesta aquí: <https://tinyurl.com/ygcbtkhy>.

¡Ahora logramos proteger nuestra señal y amplificarla!

¿Qué características de nuestro circuito “objetivo” obtuvimos hasta ahora?

- Entrada para un electrodo que mida la actividad de la neurona (spikes). **SI**
- Entrada para un electrodo de referencia que captará el ruido común. **NO**
- La salida tendrá que entregar la diferencia entre la señal medida (actividad neuronal) y el ruido captado por el electrodo de referencia, todo ello multiplicado por una ganancia. **NO, pero.. tenemos una ganancia razonable.**
- No modificar la señal que registra (no debe extraer corriente de las neuronas que mide). **SI**

C. 4. Amplificador operacional inversor

Ya resolvimos cómo variar la ganancia del amplificador modificando la relación entre las resistencias que lo retroalimentan. Ahora, vamos a ver como incluir nuevamente el electrodo de referencia en nuestro circuito.

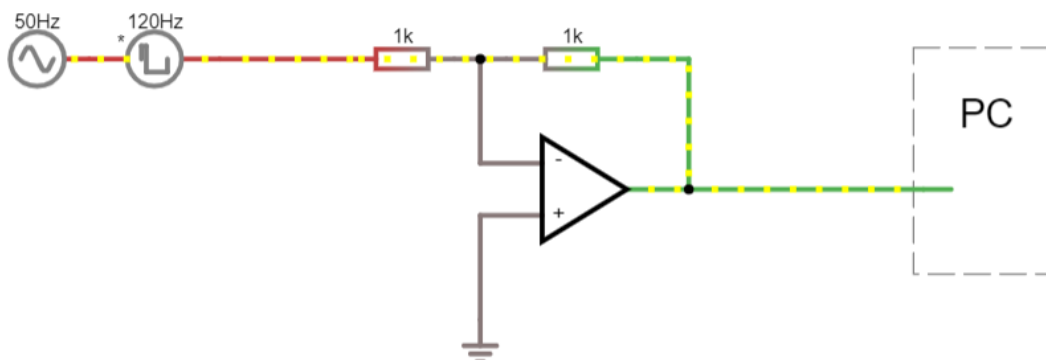
Para ello tenemos que dejar libre una de las entradas del amplificador. Por lo tanto, haremos que la señal de entrada y la retroalimentación compartan la entrada inversora (V-) del amplificador para que éste no sature.

Primero, vamos a construir un op-amp inversor.

7. Armar un divisor resistivo entre la retroalimentación del op-amp y la entrada de la señal del electrodo de registro. Conectar la entrada V- en la salida del divisor resistivo (punto medio).
8. Conectar la entrada V+ a tierra. De esta forma, esta entrada tendrá un valor de 0V.



Electrodo de registro



Ahora el op-amp tendrá que emitir el voltaje necesario para mantener el valor de la entrada V- al nivel de la tierra, es decir a 0V. Si, en cambio, tuviéramos otro valor de voltaje en V+, el amplificador mantendría a V- en ese voltaje.

¿Qué valor de voltaje tiene que emitir el amplificador para mantener la entrada V- a 0V?

Entonces, el amplificador tendrá que proporcionar un voltaje directamente opuesto al que le entra para mantener la entrada V- a 0V (o al voltaje que pongamos en V+). Por ello, a V- en esta configuración se la denomina “tierra virtual”. A pesar de que el voltaje de la entrada V- se mantiene en 0 V, el circuito funciona sin problema ya que la corriente fluye a través del resto del circuito (pero no hacia el amplificador debido a su gran impedancia de entrada).

C. 5. Reemplazando la tierra con una fuente de voltaje constante (CC)

Hasta aquí, hemos armado un amplificador inversor. Esto nos permite dejar libre la entrada V+, que hasta este momento tenemos conectada a tierra, y conectarla a otra cosa.

9. Desconectar la entrada V+ y conectarla a una fuente de tensión continua de + 2.5V.

¿Qué sucede con la salida?

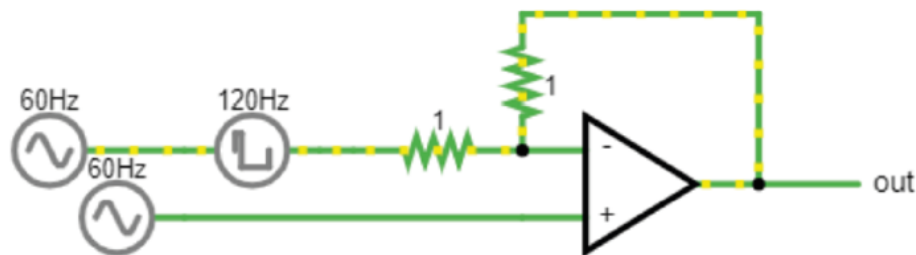
Inicialmente la entrada de la señal ya estaba invertida, y lo que hicimos es restarle a esa tensión una tensión adicional. Es decir, hemos desplazado verticalmente toda la señal, como si hubiéramos variado el *offset* del amplificador.



C. 6. Agregando la referencia a la entrada no inversora (V+)

Ya casi logramos nuestro cometido. Al dejar libre la entrada V+, vimos que podemos introducir otra señal por allí así que vamos a reemplazar la señal continua por la señal de ruido que queremos sustraer (la referencia).

10. Reemplazar la fuente de tensión continua de +2.5V por el electrodo de referencia.



¿Funcionó este nuevo cambio en el circuito? ¿Qué crees que es lo que está sucediendo? ¿Se te ocurre cómo solucionarlo? Realiza las modificaciones que creas convenientes en el circuito. ¿Te animás a intentarlo? La solución la podés encontrar en [Resolucion ej C6.pdf](#).

¿Qué características de nuestro circuito “objetivo” obtuvimos hasta ahora?

- Entrada para un electrodo que mida la actividad de la neurona (*spikes*). **SI**
- Entrada para un electrodo de referencia que captará el ruido común. **SI**
- La salida tendrá que entregar la diferencia entre la señal medida (actividad neuronal) y el ruido captado por el electrodo de referencia, todo ello multiplicado por una ganancia. **SI, pero..está invertida**
- No modificar la señal que registra (no debe extraer corriente de las neuronas que mide). **SI**

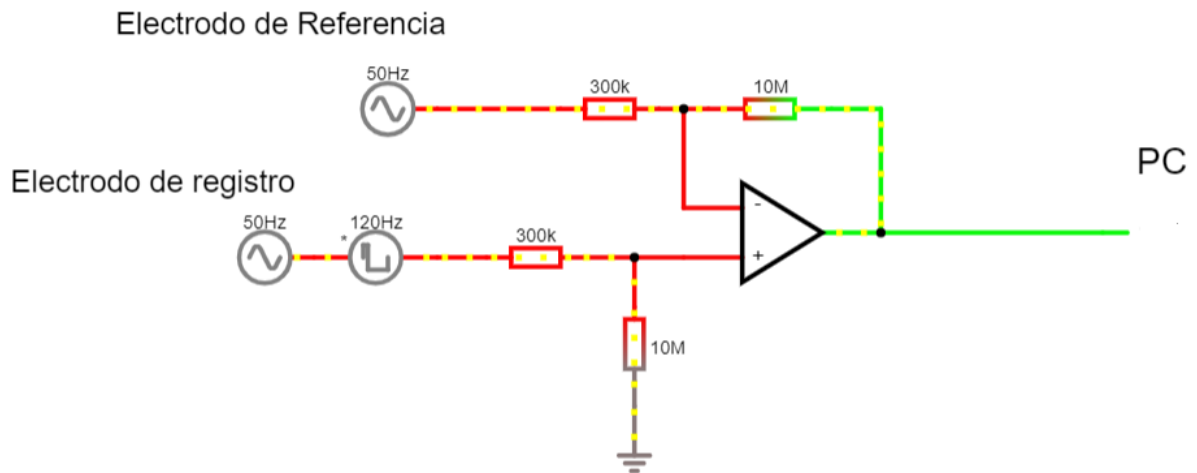
C. 7. Finalmente... el amplificador diferencial

¡Casi listo! Ya restamos nuestra señal de referencia y tenemos la señal de nuestra neurona limpia. Sin embargo, la señal aparece invertida. Por lo tanto, el último paso consistirá en intercambiar las entradas del amplificador.

11. Intercambiar el punto de entrada al amplificador de las señales que provienen del electrodo de medición y de referencia. Podés ver la solución [Resolucion ej C7.pdf](#).



12. Modificar las resistencias para obtener una ganancia de aproximadamente 33 veces, tal como se muestra en la imagen del amplificador diferencial (el circuito “objetivo”) a continuación.



Ya tenemos listo nuestro amplificador diferencial y cumple con las exigencias que le pedíamos:

- Tiene una entrada para el electrodo de medición (señal a medir).
- Tiene una entrada para el electrodo de referencia (ruido común).
- La salida es la diferencia de las señales de ambos electrodos multiplicada por una ganancia.
- No extrae corriente de la fuente a medir (la célula).

Extra: Vamos a experimentar un poco con este circuito:

1. Modificar el valor de la resistencia de 10 M de la parte superior (resistencia de realimentación). ¿Qué sucede?
2. Modificar la misma resistencia para que tenga un valor de 11 M. Así es como se vería aproximadamente la salida de un amplificador operacional normal. Existe algo de ruido, aunque no es tan terrible y puede distinguirse claramente la señal neuronal medida.
3. Modificar el nivel del ruido común. Para eso, cambiar el voltaje en ambas fuentes de 60Hz de 5V a 50V. ¿Qué sucede?



Amplificadores de instrumentación

A pesar de que el amplificador diferencial que construimos cumple con las premisas que le pedimos, dista de ser ideal y tiene algunas limitaciones:

- Al utilizar los divisores de tensión, estamos consumiendo una mínima corriente de la fuente a medir puesto que estamos disminuyendo la impedancia de entrada que ven los electrodos de registro y de referencia.
- Para modificar la ganancia, hay que variar al mismo tiempo la relación de las resistencias de ambos divisores de tensión en las entradas.
- Debido a limitaciones en la fabricación, las resistencias que agregamos no son exactamente iguales y tienen una cierta tolerancia. Esto significa que existe un desbalance en la impedancia de entrada y afecta a la Relación de Rechazo en Modo Común (CMRR, por sus siglas en inglés) del amplificador. Esto se parece al primer ejemplo en donde modelamos un cable largo, excepto que ahora tenemos dos cables de diferente longitud que conectan las entradas del amplificador con los electrodos.

Para hacer que este amplificador diferencial funcione lo más cercano posible a las premisas ideales que nos propusimos, cada electrodo y resistencia tendrían que ser iguales. Esto en la práctica es imposible. Sin embargo, podemos realizar algunas modificaciones para lograr acercarnos mucho y mitigar estas limitaciones.

¿Se te ocurre una primera aproximación que podrías hacer para aumentar la impedancia de entrada que ven los electrodos? La solución la podés encontrar en [Resolucion_amplificador_de_instrumentacion.pdf](#).

En esta guía aprendimos cómo proteger nuestra señal, como amplificarla y la forma de quitarnos de encima el ruido común. En la próxima guía vamos a hacer uso de un amplificador de instrumentación y electrodos de registro para obtener señal de biopotenciales, filtrarlas y visualizarlas en la computadora empleando lo que aprendimos en Arduino.



Este contenido es una traducción y adaptación de parte del material del curso “*Extracellular Electrophysiology Acquisition*” de Open Ephys, disponible en <https://ahleighton.github.io/OE-ephys-course/>, realizada por el Ing. Marcos Coletti y la Lic. Cecilia Herbert para el Taller práctico abierto IBRO-LARC: Adquisición de señales neuronales, en colaboración con la Lic. Azul Silva y la Dra. Verónica de la Fuente.

Este contenido está bajo licencia [Atribución/Reconocimiento-CompartirIgual 4.0 Internacional \(CC-BY-SA 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/). Esto significa que:

Sos libre de...

- **Compartir** — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato
- **Adaptar** — remezclar, transformar y construir a partir del material para cualquier propósito, incluso comercialmente.

Bajo los siguientes términos:

- **Atribución** — Debés dar crédito de manera adecuada, brindar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Podés hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que vos o tu uso tienen el apoyo de la licenciante.
- **CompartirIgual** — Si remezclás, transformás o creás a partir del material, debés distribuir tu contribución bajo la misma licencia del original.
- **No hay restricciones adicionales** — No podés aplicar términos legales ni medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Este resumen legible por humanos no es un sustituto de [la licencia](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/). Para ver una copia de esta licencia, visitá el siguiente vínculo: [https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0.](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

Nos apoyan generosamente:

