

Sensores micrométricos para el monitoreo de variables electroquímicas y biológicas

Rosa María **Woo García**
Leandro **García-González**
Francisco **López Huerta**

A lo largo de la historia los seres humanos han desarrollado capacidades físicas artificiales para facilitar la vida cotidiana, la posibilidad de aumentar la capacidad sensorial a partir de transductores y, en específico, mediante sensores, fundamentales en el avance y consolidación de la cuarta revolución industrial. Los sensores son dispositivos cada vez más importantes para la toma de decisiones que mejorarían la calidad del agua, el aire, la comida, las medicinas. Los procesos en los que se encuentren involucradas las propiedades químicas o físicas deben ser supervisados constantemente para mejorar la calidad o la eficacia del producto o proceso. Por ejemplo, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), calcula que en el año 2019 se perdió un 18 % del desperdicio total de alimentos exclusivamente por las condiciones de acidez en el campo, por causas climatológicas y por las prácticas utilizadas en la recolección de las frutas, hortalizas, raíces, tubérculos y cultivos oleaginosos; por ello es necesaria la determinación continua de las variables ambientales involucradas en el proceso de siembra, cultivo y cosecha.

A comienzos del siglo 21 el uso de microsensores electroquímicos basados en la tecnología de semiconductores, para la supervisión de parámetros ambientales, han ganado interés debido a las bondades que presenta frente a los sensores convencionales basados en electrodos de vidrio. Los sensores son dispositivos que transforman señales de diversos dominios de energía hacia el dominio de las señales eléctricas. Cada vez es más común el uso de sistemas multisensores, prueba de ello es el auge del mundo del Internet de las Cosas (IoT), donde diversos dispositivos se encuentran interconectados en una red de comunicación. Para la realización de estos sistemas se incluyen sensores inteligentes basados en la tecnología de fabricación Metal Óxido Semiconductor Complementaria (CMOS), pues en ella se conjunta la capacidad de integración del sensor con su electrónica, es decir, que en el mismo circuito integrado (chip) se implementa tanto la circuitería que desarrolla el sensado, el procesamiento de señales, autodiagnóstico, autoidentificación, calibración e interfaz, con la gran ventaja de reducir los costos, sumando la posibilidad de reducir el tamaño de los dispositivos. Adicionalmente, los microsensores basados en transistores de efecto de campo (FET por sus siglas en Inglés) cumplen las funciones de robustez, facilidad de uso y lectura de resultados, teniendo como ventaja la ausencia de manipulación de reactivos y la minimización del tamaño de la muestra a medir.

Una de las necesidades con mayor demanda en los procesos farmacéuticos, alimentarios y de investigación ambiental, es la de cuantificar la concentración de iones existentes en una solución, así como el de construir instrumentos para la lectura exacta de los mismos. Fue a principios del siglo pasado cuando los fundamentos teóricos sobre las unidades de medida de acidez y basicidad nacen en la industria y los dispositivos para evaluarla se generan en la academia para, en concreto, cuantificar la concentración de iones hidrógeno (medir pH) en medios acuosos y con ello tomar

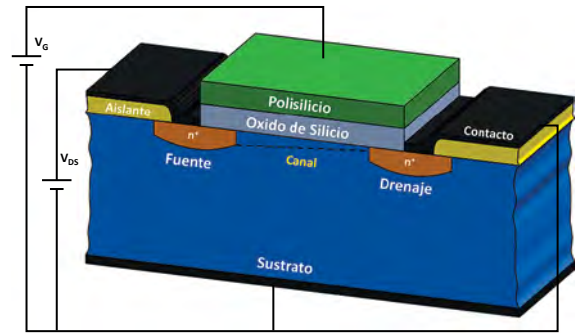


Figura 1. Estructura del transistor MOSFET.

decisiones para controlar de mejor manera los procesos de fermentación de alcohol, de la actividad enzimática en el extracto de malta para la elaboración de panes y galletas, de catálisis para acelerar la velocidad de las reacciones.

En 1970, Piet Bergveld desarrolló un dispositivo capaz de medir actividad iónica en medios ambientes biológicos y electroquímicos, registrando el nivel de pH en una solución; este dispositivo lo denominó ISFET, pues su principio de funcionamiento es similar al del transistor de efecto de campo metal-óxido-semiconductor (MOSFET) de canal N de enriquecimiento. A partir del dispositivo de Bergveld, se han desarrollado microsensores basados en la combinación de la tecnología microelectrónica con la síntesis de materiales nanoestructurados, membranas sensibles y películas delgadas para la cuantificación de analitos.

Para comprender el funcionamiento del microsensor FET se debe partir del análisis simple del transistor MOSFET, un interruptor diminuto conformado por 4 terminales: sustrato, fuente, compuerta y drenaje. Su estructura interna consiste en dos regiones con una alta concentración de electrones libres (material tipo n^+), una porción de material conductor (polisilicio) y una capa delgada de óxido de silicio que realiza la función de aislante entre el contacto de compuerta y el sustrato. En la Figura 1 se puede observar la estructura de un transistor MOSFET.

La función principal del MOSFET es controlar el flujo de corriente entre la fuente y el drenaje

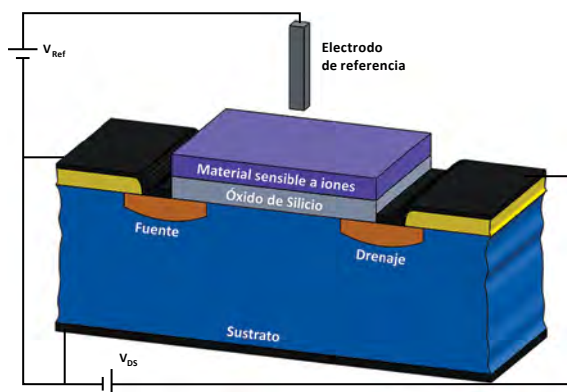


Figura 2. Estructura microsensor FET.

mediante la magnitud del voltaje que se aplica en la terminal de compuerta. A diferencia del transistor MOSFET, los microsensors FET (Figura 2) no poseen el metal conductor en la compuerta, es así como el óxido básico o una membrana selectiva se expone directamente en la solución a medir (electrolito).

Al establecer el contacto entre el óxido y un electrolito de interés, los fenómenos electroquímicos que se presenten en dicha unión, influyen en la activación del dispositivo y, por tanto, en la magnitud de la corriente que fluye en las terminales fuente a drenaje. Para la adecuada operación del microsensor es necesario contar con un electrodo de referencia que sea capaz de fijar un potencial estable y reproducible, sin importar el grado de actividad iónica de la solución a medir, asegurando así que la medición del sensor es debido al cambio en el potencial interfacial generado entre el óxido básico y el electrolito.

La sensibilidad que presente el microsensor FET depende en gran medida del material de detección de la especie iónica de interés, qué tan reactivo puede llegar a ser el material con el electrolito y, en específico, con el analito, puesto que pueden presentarse iones de interferencia ante los cuales se genere una reacción no deseada.

A lo largo de las últimas décadas se han estudiado y desarrollado algunas películas delgadas (Figura 3) combinadas con nanoestructuras de óxidos básicos y nitruros, las cuales llegan a tener sensibilidad a iones específicos como el calcio, sodio,

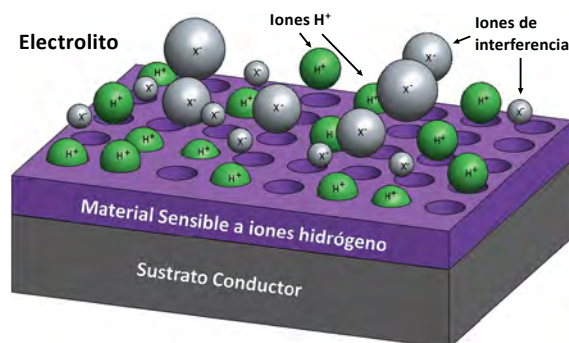


Figura 3. Película de material sensible a iones de hidrógeno.

potasio, plata, cloro, así como antígenos, especies moleculares o analitos en volúmenes pequeños.

CASOS DE ESTUDIO DE MICROSENSORES FET PARA EL MONITOREO DE VARIABLES ELECTROQUÍMICAS Y BIOLÓGICAS

Las primeras variaciones de la estructura de Bergveld, fueron las diseñadas por Matsuo y colaboradores en 1981, quienes desarrollaron un microsensor FET añadiendo una capa de nitruro de silicio depositado sobre óxido de silicio, el dispositivo presenta una sensibilidad al pH muy cercana a la respuesta Nernstiana, que se caracteriza por otorgar 52-56 milivolts por cada unidad de pH (mV/pH); el nitruro de silicio muestra menos reactividad a iones interferentes con el hidrógeno, como los iones sodio y potasio, por lo tanto este microsensor es selectivo, haciéndolo buen candidato para medir pH.

Posteriormente se diseñaron dispositivos para la detección y medición de concentración de creatinina, glucosa, urea, triglicéridos; estos microsensors FET son también conocidos como CHEMFET. Dentro de esta categoría también se encuentran los que utilizan membranas selectivas para la detección de especies moleculares, películas enzimáticas, polisiloxanos, poliuretanos y otros polímeros derivados de metacrilato, demostrando mayor rendimiento en cuanto a reproducibilidad y estabilidad a largo plazo en comparación

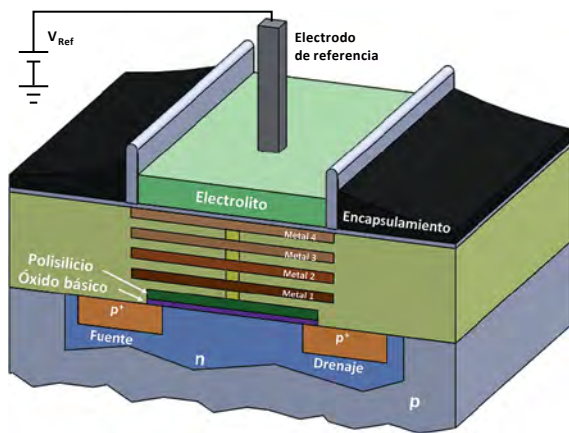


Figura 4. Estructura del pixel de matriz de microsensors FET.

con los primeros sensores FET de membranas basadas en cloruro de polivinilo.

Algunas nanoestructuras son sintetizadas de manera independiente al dispositivo FET, siendo incorporadas de manera externa mediante una compuerta extendida, ya que ambos procesos de fabricación no son compatibles; estos microsensors reciben el nombre de (EGFET por las siglas en inglés de *Extended-gate field effect transistor*). También se han investigado transistores de efecto de campo basados en nanotubos de carbón (CNT-ISFET), utilizando óxido de hafnio como material dieléctrico de compuerta, obteniendo sensibilidad de 60 mV/pH (Dutta *et al.*, 2019). Se ha propuesto un tipo de *effect* cuyo material sensible son nanofojas de óxido de wolframio, teniendo una sensibilidad de 63 mV/pH, esta mejora en sensibilidad y respuesta se atribuye al aumento significativo en el número de sitios de adsorción de iones en la superficie de la estructura de las nanofojas (Kuo *et al*, 2018).

Un caso de estudio extraordinario son las imágenes de concentración y flujo, que consisten en realizar la lectura de la densidad de un analito en una solución delimitada en un área, con la finalidad de obtener una alta resolución química. Se ha diseñado un arreglo matricial de microsensors ISFET (Figura 4) de 64 x 64 elementos, obteniendo imágenes

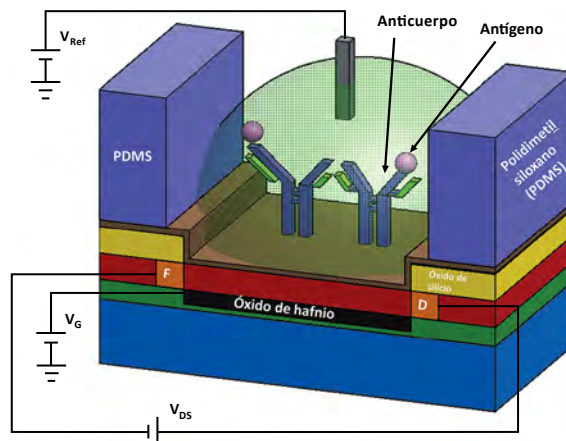


Figura 5. Elemento DG-ISFET de la matriz para la detección de bioanalitos.

del pH durante el fenómeno de difusión al inyectar ácido cítrico en hidróxido de sodio, pudiendo capturar la disminución progresiva del pH en un área de 715 micras cuadradas (Nemeth, 2013).

Probablemente, la secuenciación de ADN ha sido la aplicación más popular y exitosa de los microsensors FET. Los microarreglos para la detección de ADN se desarrollaron a principios de la década del 2000 con una abrumadora mejora en comparación con las técnicas químicas.

Para su medición se emplea la propiedad de que cada célula contiene filamentos de ADN de una secuencia particular; así, mediante la detección de anticuerpos y antígenos es posible secuenciar el genoma del organismo de interés sin la necesidad de someter a un ensayo clínico donde se determina dicha secuencia.

Se ha desarrollado un inmunoensayo electroquímico para la detección de bioanalitos en el ensayo Inmunoabsorbente ligado a enzimas con factor de complemento Humano (H-ELISA por sus siglas en inglés) generado por la enzima glucosa oxidasa, utilizando únicamente protones (sensado de pH) como medio de detección. Se diseñó un microsensor de transistor de doble compuerta sensible a protones (DG-ISFET).

El diseño se compone de una matriz de 16,384 elementos (128 x 128) de detección, como los que se muestran en la Figura 5. El sistema, además, detecta la proteína C reactiva y la inmunoglobulina E

hasta concentraciones de 12.5 y 125 picogramo por mililitro, respectivamente (Juang *et al.*, 2018).

DESAFÍOS

Es evidente que el futuro de los microsensores FET se encuentra en los arreglos de tipo matricial. En la actualidad, se desarrollan cada vez más sistemas con una densidad de microsensores mayor y con un aumento en el área de exposición. La tendencia es hacia el incremento del área de detección química con la finalidad de minimizar el ruido.

La integración de los microsensores FET y su circuito de lectura en un solo chip ha sido uno de los puntos claves en el desarrollo de estos dispositivos, buscando el escalamiento a la par de cualquier tecnología nanométrica. Sin embargo, este no ha sido el caso de los electrodos de referencia, cuya estructura continúa siendo similar a la de inicios de los años 90's. Una estructura novedosa consiste en incorporar en la compuerta del microsensor FET dos capacitores Metal-Aislante-Metal (MIM), cuyas terminales se encuentran conectadas a dos placas de sensado. Una de las placas de esta estructura presenta la misma función que el electrodo de referencia, con la gran ventaja de estar integrada dentro del mismo chip y, por lo tanto, se prescindiría del electrodo externo, reduciendo los costos de producción y el tamaño del microsensor.

Es necesario también dedicar esfuerzos para proponer nuevas topologías y esquemas de compensación, es decir, instrumentación más eficiente y robusta, donde la calibración y los tiempos de deriva se reduzcan. Se espera que se incorporen mecanismos para el manejo de factores como la estabilidad de la temperatura, la inmunidad al ruido e incluso la sensibilidad a la luz. Estos avances serán requisitos indispensables para que se originen nuevas aplicaciones de los microsensores FET.

Actualmente, en las instalaciones del Centro de Investigación de Micro y Nanotecnología en la Universidad Veracruzana, se están desarrollando materiales y nanoestructuras para la medición de pH aplicados en microsensores FET. Particularmente,

en el Laboratorio simulación y caracterización de circuitos integrados y MEMS, se diseñan etapas de instrumentación para la amplificación y acondicionamiento de las señales de este tipo de dispositivos.

CONCLUSIONES

Los microsensores FET son ideales para la integración en sistemas parcial o completamente automatizados, donde la prioridad es el desarrollo de sistemas analíticos miniaturizados que proporcionen análisis de alto rendimiento, donde existe un bajo consumo de reactivos, además de muestreo automático con acondicionamiento y calibración *in situ*. La capacidad de detección y selectividad de los diversos analitos depende en gran medida de los materiales y las nanoestructuras desarrolladas, colocadas como elemento sensible. Actualmente, los microsensores FET comienzan rápidamente a ganar terreno en el campo de los sensores químicos debido a su integración con la tecnología CMOS estándar, garantizando una escalabilidad predicha por la ley de Moore, duplicando cada dos años la densidad matricial de microsensores FET en un mismo chip. Existen algunas áreas de oportunidad para mejorar el acondicionamiento de estos dispositivos y, con ello, aumentar su confiabilidad con la finalidad de cumplir los criterios que permitirán fabricarlos en grandes volúmenes, haciéndolos accesibles en costo al público en general.

Hace ya 50 años, cuando Bergveld informó sobre el diseño de su microsensor FET, su principal motivación era realizar mediciones de pH donde no se podían colocar electrodos de vidrio. Actualmente, su invención se ha convertido en un dispositivo esencial en el campo de la detección, con una investigación en constante crecimiento que pronto integrará millones de microsensores FET para el sensado de analitos, secuencias de ADN, proteínas, iones, antígenos, ionóforos de manera autónoma y masivamente paralela.



© Carlos Mario Delacruz. De la serie *El espejo onírico*.

REFERENCIAS

Juang DS, Lin CH, Huo YR, Tang CY *et al.* (2018). Proton-ELISA: electrochemical immunoassay on a dual-gated ISFET array. *Biosensors and Bioelectronics* 117:175-182.

Zhang J, Zhao D, Yang H *et al.* (2019). Dual-mechanism model to describe the slow response of ISFETs. *IEEE Sensors Journal*, 19:7471-7478.

Keeble L, Moser N, Rodríguez-Manzano J and Georgiou P (2020). ISFET-based sensing and electric field actuation of DNA for on-chip detection: a review. *IEEE Sensors Journal*. 20:11044-11065.

Moser N, Keeble L, Rodríguez-Manzano J and Georgiou P (2019). ISFET arrays for lab-on-chip technology: a review. *26th IEEE International Conference on Electronics, Circuits and Systems (ICECS)* (pp. 57-60) IEEE.

Lee CS, Kim SK and Kim M (2009). Ion-sensitive field-effect transistor for biological sensing. *Sensors* 9(9):7111-7131.

Matsuo T and Esashi M (1981). Methods of ISFET fabrication. *Sensors and Actuators* 1:77-96.

Hazarika C, Neroula S and Sharma S (2019). Long term drift observed in ISFET due to the penetration of H⁺ ions into the oxide

layer. In *International Conference on Pattern Recognition and Machine Intelligence* (pp. 543-553). Springer, Cham.

Dutta JC, Thakur HR and Keshwani G (2019). High-performance dual-gate carbon nanotube ion-sensitive field effect transistor with high-k gate and low-k gate dielectrics. *IEEE Sensors Journal*, 19(14):5692-5699.

Kuo CY, Wang SJ, Ko RM and Tseng HH (2018). Super-Nernstian pH sensors based on WO₃ nanosheets. *Japanese Journal of Applied Physics* 57(4S):04FM09.

Nemeth B, Piechocinski MS and Cumming DR (2012). High-resolution real-time ion-camera system using a CMOS-based chemical sensor array for proton imaging. *Sensors and Actuators B: Chemical* 171:747-752.

Leandro García-González
Francisco López Huerta
Centro de Investigación en Micro y Nanotecnología
Universidad Veracruzana, México

Rosa María Woo García
Centro de Investigación en Micro y Nanotecnología
Universidad Veracruzana, México
Facultad de Ingeniería Eléctrica y Electrónica
Universidad Veracruzana, México

rwoo@uv.mx