



Medidor de pH extracelular en tejidos epiteliales usando transistores de efecto de campo sensibles a iones.

Hernández PR*

* Tesis doctoral, 1995. CINVESTAV, Departamento de Ingeniería Eléctrica, Sección de Bioelectrónica. Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, C.P. 07300 México D.F. Phernand@mail.cinvestav.mx, Tel: 52-57473800 ext. 6201.

El monitoreo de elementos químicos en el cuerpo humano, generalmente se realiza extrayendo muestras de los líquidos corporales. Posteriormente, éstas son transportadas al laboratorio para su análisis y los resultados son entregados al especialista tiempo después. Durante el tiempo transcurrido en el análisis, la condición del paciente pudo haber cambiado radicalmente y el tratamiento, que aplicado oportunamente pudiera salvar vidas, llega demasiado tarde. Esto puede ser cierto en áreas hospitalarias con pacientes cuya condición puede cambiar radicalmente en tiempos muy cortos. Estas áreas incluyen las unidades de cuidados intensivos para recién nacidos y adultos, el área de cirugía, la unidad de cuidados coronarios y las unidades de cirugía de trasplante y diálisis renal extracorpórea. La necesidad de contar con la información más rápidamente, ha planteado la idea de desarrollar instrumentos capaces de realizar las mediciones directamente en la sangre del paciente, acortando el tiempo análisis-reporte y aumentando la posibilidad de poder aplicar los tratamientos adecuados oportunamente.

El sensado químico en tejidos es un campo poco explorado. La iniciativa se ha encaminado a estudios directos en sangre, en donde las condiciones y riesgos han limitado su aplicación. Una opción de medir directamente en tejidos, presentaría las siguientes ventajas: a) Rapidez en la obtención de resultados en lí-

nea, permitiendo una terapia flexible e inmediata. b) Existen variables químicas que aún cuando proporcionan alarmas inespecíficas son más tempranas que otras variables clásicas, pudiendo disponer oportunamente de otros recursos de análisis para distinguir el origen de la alarma.

Las mediciones de concentraciones iónicas *in vivo*, necesariamente involucran procesos de miniaturización de los sensores. La medición de pH arterial, ha sido reportada usando electrodos de vidrio miniaturizados y una aguja de Courmand para introducirla en la arteria.

Los esfuerzos por miniaturizar a los sensores y el gran desarrollo que ha tenido la microelectrónica en los últimos tiempos, han provocado la obtención de buenos resultados en el diseño de sensores iónicos basados en las técnicas de fabricación de dispositivos semiconductores. Tal es el caso de los transistores de efecto de campo con sensibilidad iónica (ISFET), los cuales han proporcionado a los investigadores y médicos una herramienta prometedora para introducirse en el organismo y tratar de conocer más acerca del comportamiento iónico en su ambiente fisiológico.

El proyecto que se presenta en el documento, trata del diseño y construcción de un medidor de pH extracelular en tejidos, que incluye el diseño, la fabricación y caracterización del sensor tipo ISFET, la instrumentación electrónica basada en un microcontrolador

enfocada a mediciones automáticas y las pruebas de biocompatibilidad en tejido vivo y mediciones de pH *in vitro*.

La evolución de los ISFET ha sido lenta y aún cuando ya se tienen algunos sensores fabricados comercialmente, su uso sigue siendo, en la mayoría de los casos, experimental. Presentan aún problemas de montaje y de encapsulamiento, lo que origina que estos procesos sean manuales, laboriosos y riesgosos en su ejecución.

En el proyecto se hizo la propuesta, se diseñó y fabricó un sensor químico tipo ISFET con contactos traseros y geometría original basada en el proceso de difusiones profundas. El planteamiento propuesto se basa en la fabricación de un transistor de efecto de campo de compuerta aislada con una nueva estructura con conexiones para fuente, drenaje y sustrato por el lado opuesto a la zona de compuerta. Esta estructura se logró con difusiones con una profundidad aproximada de 100 micras por las dos caras de una oblea devastada de 200 o 300 micras, que permitieron la conexión eléctrica a través de la oblea. Posteriormente se fabricó la estructura MOS superficial.

Como resultado se tiene un sensor cuya disposición reduce importantemente los problemas de encapsulamiento antes planteados y deja establecido un diseño y una metodología para su fabricación, utilizando tecnología planar, conjunto de procesos accesibles en cualquier laboratorio de microelectrónica.

La definición de los parámetros de fabricación fueron:

- Obleas de silicio con resistividad entre 22 y 32 $\Omega \cdot \text{cm}$, con una orientación $\langle 100 \rangle$.
- Espesor del óxido de silicio de compuerta en 1000 Å.
- Se utilizó nitruro de silicio como material sensible a iones hidrógeno con un espesor de 900 Å depositado con la técnica LPCVD.
- Se consideraron tres largos de canal; 30, 40 y 50 μm y tres anchos respectivamente; 300, 500 y 1000 μm .
- Se trabajó con arreglos de tres transistores con diferentes factores geométricos.
- A los dispositivos fabricados se les evaluó:
- La calidad del óxido delgado de compuerta por la técnica de capacitancia determinando la densidad de estados superficiales.
- Las curvas de drenaje $I_D - V_D$.
- La transconductancia g_m .
- El voltaje de umbral V_T .

Se les caracterizó electroquímicamente utilizando una solución Tampón combinada, un electrodo de referencia de plata-cloruro de plata de doble unión y

se le comparó con un electrodo de vidrio combinado.

Como segunda parte, se desarrolló la instrumentación electrónica basada en un microcontrolador, que permite realizar las siguientes funciones:

- Calibración a tres puntos con estándares de pH, igual a 7 para ajuste del cero; 4 y 10 para ajuste de pendiente.
- medir automáticamente pH utilizando sensores tipo ISFET, con resolución de centésimas de unidad de pH.
- Compensación en temperatura.
- Validación de los datos mediante la comparación de lecturas estables sucesivas.
- Programación del tiempo entre cada medición mediante el establecimiento del tiempo de muestreo.
- Definición del número de lecturas de pH a realizarse.
- Almacenamiento de los datos capturados.
- Transmisión a una computadora personal para su procesamiento y análisis.

El sistema permite hacer seguimientos de hasta 24 horas.

El instrumento fue aplicado a mediciones de pH *in vitro* de monocapas celulares de túbulo distal de riñón de perro. La monocapa celular se formó en un soporte especial, que permite tener acceso a las zonas apical y basolateral. Se utilizó un puente de Agar para formar la celda con el electrodo de referencia; como patrón de referencia se utilizó un electrodo de vidrio combinado. De esta aplicación, se obtuvieron respuestas prácticamente iguales.

Por el enfoque dado al proyecto hacia mediciones *in vitro* e *in vivo*, las pruebas de biocompatibilidad fueron necesarias. Se hizo una evaluación del sensor de tipo microscópica, además de la macroscópica para conocer cuantitativamente los efectos reactivos a largo plazo. Se utilizó vidrio como control y tanto el vidrio como el sensor fueron introducidos en cámaras independientes de teflón que a su vez fueron implantados en tejido subcutáneo del cuello de conejos sanos en cuatro grupos experimentales de cuatro conejos cada uno. Los resultados de biocompatibilidad de implantaciones, por una semana para evaluación de reacciones agudas, y de ocho para la evaluación de reacciones crónicas fueron satisfactorios.

En el presente trabajo se fabricó un sensor químico con contactos traseros, como estrategia atractiva que permita la conjunción de fabricación, montaje y encapsulamiento con procesos industriales.

Eléctricamente, el dispositivo fabricado puede considerarse inadecuado, ya que las pruebas realizadas en él, indicaron fugas de corriente tanto en la zona de compuerta como en las largas uniones p-n formadas por las difusiones profundas. Sin embargo, la evalua-

ción electroquímica indicó que se obtuvo un sensor químico con buenas características de sensibilidad, linealidad y estabilidad.

El propósito de medir el pH de líquido extracelular en tejidos, condicionó el diseño a obtener un instrumento portátil, seguro, fácil de operar, además de características especiales para el muestreo programable y automático que permita hacer un seguimiento temporal, un almacenamiento de datos o la transmisión de los mismos a una computadora personal. El haber basado el diseño en un microcontrolador, nos permitió optimizar su funcionamiento fácilmente y nos presenta la perspectiva de adaptación para usarlo adicionalmente en otras aplicaciones.

Finalmente, para el desarrollo del proyecto, se pudo contar con un apoyo multidisciplinario de diferentes instituciones, además del CONACyT, que involucró las siguientes áreas:

- Electrónica de dispositivos semiconductores (Electrónica del Estado Sólido-CINVESTAV, INAOE, Centro Nacional de Microelectrónica, España)
- Electroquímica (Sensors i Biosensors, Universitat Autònoma de Barcelona)
- Fisiología y Patología (CINVESTAV)
- Instrumentación (Bioelectrónica-CINVESTAV, Instituto Tecnológico de La Laguna)