

Caracterización de un microsensor por espectroscopia electroquímica de impedancia

Prado Olivarez J.*
Padilla Medina J.A.*
Díaz Carmona J.*
Nadi M.**

* Departamento de Ingeniería
Electrónica, Instituto Tecnológico
de Celaya, México.

** LIEN, Université Henri Poincaré,
Faculte des Sciences et Techni-
ques, Nancy, Francia.

Correspondencia:

Juan Prado Olivarez
ITC, Av. Tecnológico esq. García
cubas S/N, Celaya Gto. 38010, México.
Tel: (461) 611 75 75, Ext. 215.
E-mail: jprado@itc.mx

Artículo recibido: 12/enero/2007

Artículo aceptado: 28/noviembre/2007

RESUMEN

El presente artículo describe un método para la obtención de las propiedades eléctricas de una disolución basado en la medición de la espectroscopia electroquímica de impedancia (EIS, por sus siglas en inglés) utilizando un sensor de dimensiones micrométricas. Los efectos de la impedancia de polarización en las mediciones también son presentados. El rango de frecuencia utilizado en las mediciones fue de 100 Hz a 1 MHz, con una temperatura de la solución de $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ y la medición se realizó utilizando un medidor LRC. Se utilizó un voltaje de 25 mV aplicado al microsensor, el cual consiste en una matriz de microelectrodos de platino que se aplica en tomografía de impedancia eléctrica (EIT, por sus siglas en inglés). Las dimensiones de los microelectrodos son de $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ y 180 nm de espesor. Para la caracterización del microsensor se utilizó una solución de cloruro de potasio, cuyas propiedades eléctricas son conocidas. Con el fin de comparar los datos obtenidos en la etapa de experimentación, se realizó una simulación numérica basada en el método de los elementos finitos (FEM, por sus siglas en inglés) del modelo teórico del microsensor. De acuerdo a los resultados obtenidos el método de medición propuesto permite confirmar la tendencia de los valores de las propiedades eléctricas reportados en otros trabajos de investigación a frecuencias superiores de 10 kHz, particularmente para la conductividad eléctrica.

Palabras clave:

Espectroscopia electroquímica de impedancia, célula de medición, impedancia de polarización, propiedades eléctricas.

ABSTRACT

This paper proposed measuring method to obtain electrical properties of a dissolution properties based on electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurement using a micrometric dimension sensor. Polarization impedance effects on the measurement are also reported. The used measurement frequency range is 100 Hz to 1MHz, with a serum temperature of $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$ and the measurements were made using a commercial LRC meter. A level voltage of 25 mV was applied to the microsensor, which is a matrix of platinum microelectrodes, having application in electrical impedance tomography (EIT). The microelectrodes dimensions are $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$ and a thickness of 180 nm. The microsensor characteristics were obtained from a potassium chloride solution, which electrical properties are well known. In order to compare the obtained experimentation data a

numeric simulation of the microsensor theoretical model was carried out, based on the finite element method (FEM). According to measurement results obtained with the proposed measuring method electrical properties values tendency reported in other researches, at higher frequencies than 10 KHz, were confirmed, specifically for electrical conductivity.

Key Words:

Electrochemical impedance spectroscopy, Microsensor, Polarization impedance, Electrical properties.

INTRODUCCIÓN

La espectroscopia de impedancia (IS, siglas en inglés) es un método relativamente nuevo y eficaz para caracterizar muchas de las propiedades eléctricas de materiales y sus interfaces con los electrodos. Algunas de las aplicaciones de la IS en la investigación son: los límites dinámicos de una carga móvil en un sistema electroquímico, las regiones de interfase para cualquier tipo de sólido o material líquido con características eléctricas tipo semiconductores y eventualmente aisladores (dieléctricos), con un tipo de conducción iónica y electrónica-iónica. Las mediciones eléctricas que evalúan el comportamiento electroquímico de un electrodo y/o un material electrolítico son usualmente realizadas utilizando células de medición que contienen dos electrodos simétricos y en su interior es colocada la muestra, los electrodos son de forma circular o rectangular. Sin embargo, si el dispositivo es para investigaciones de sensores químicos o cultivos celulares, la geometría simétrica no es confiable¹.

El método de la medición de impedancia se utiliza ampliamente en la electroquímica, en la cinética del electrodo, estudios de la doble capa (solución-electrolito), baterías, corrosión, electroquímica del estado sólido y bioelectroquímica especialmente membranas. Este es un método lineal, el cual significa que el sistema es perturbado por una onda seno de potencial o corriente de pequeña amplitud, tal que la respuesta contiene solamente el término de primer orden de la expansión de Taylor de corriente-potencial no lineal. Existe otro método para la medición de la impedancia como función de un potencial sinusoidal de pequeña amplitud (perturbación) y la frecuencia superpuesto a un potencial directo, donde el espectro de impedancia es medido para una variedad de valores de potencial directo, este método es llamado "Espectroscopia electroquímica de impedancia" (EIS, por sus siglas en inglés)². La EIS es algunas veces llamada

espectroscopia de impedancia en AC, es un método que puede ser utilizado en una amplia gama de frecuencias con pequeños disturbios, además es eficaz principalmente para el estudio de los procesos dinámicos del electrodo y del fenómeno sobre la superficie de este mismo³.

En la última década los equipos de investigación se han interesado en la caracterización dieléctrica a una escala celular a base de microsensors de medición de impedancia. La rápida expansión de técnicas de miniaturización ha permitido la realización de matrices de electrodos para la medición de la impedancia con dimensiones micrométricas y es posible que en poco tiempo sean dimensiones manométricas y serán útiles en la caracterización de ciertas sustancias biológicas o bioquímicas⁴. Los progresos recientes de la tecnología de microsistemas son evidentemente utilizados para fabricar dispositivos biomédicos miniaturizados para una variedad de aplicaciones. En la actualidad se desarrollan laboratorios encapsulados en un circuito integrado llamados Lab-on-Chip, como ejemplo están las prótesis neuronales^{5,6}. Estos sistemas ofrecen muchas ventajas sobre otros dispositivos, como son: 1. Las pequeñas dimensiones disponibles, 2. Un costo más reducido en la fabricación en serie, 3. La capacidad de incorporar adquisición, y el tratamiento de la señal así como las funciones de interfase de las diferentes etapas del sistema en un mismo circuito integrado. Tradicionalmente, el silicio y el vidrio han sido los dos materiales más frecuentemente utilizados para la fabricación de micro-máquinas y dispositivos MEMS (Micro-Electro-Mechanical Systems). Estos materiales presentan propiedades mecánicas apropiadas a una variedad de aplicaciones como los transductores (acelerómetros, giroscopios, etc...). Sin embargo, muchos dispositivos biomédicos requieren materiales en espuma o polímeros alternativos tales como el caucho de silicón, policarbonato, acrilato de isobornyl y la poliamida⁷. Los polímeros tienen menor costo y pueden ser utilizados dentro de los dispositivos desechables, evitan-

do las condiciones rigurosas de esterilización sobre reutilización.

La mayor parte de las aplicaciones de los MEMS dentro del dominio biomédico (BioMEMS) fueron desarrollados en un medio universitario durante los años 90. Posteriormente, numerosos dispositivos han sido comercializados. Así, los contadores secuenciales de ADN basados en MEMS están en desarrollo. De la misma forma, sistemas de detección de principios activos farmacéuticos han sido desarrollados dentro de un circuito integrado⁸. En efecto, la relación de las biotecnologías con la micro y nano-biotecnología, se resume en nano-biotecnología, la cual es una actividad en pleno desarrollo que presagia numerosas aplicaciones en el dominio de la detección biológica. Los dos principales obstáculos para el éxito de la comercialización de BioMEMS, son el control de calidad y una integración biocompatible. La biocompatibilidad constituye el 80% del costo final del dispositivo. Su implementación es igualmente un desafío debido a que dentro de estos casos, otros criterios, como las características físicas, deben ser considerados para su aplicación. El diseño y la ingeniería constituyen a diferentes niveles (material, dispositivo, sistema, pruebas y ensamble) las etapas críticas que pueden poner en entredicho el desarrollo final del dispositivo⁹. Los microelectrodos son la base del funcionamiento de una gran parte de los BioMEMS, muchos de estos funcionan con microelectrodos planos. Para la bioimpedanciometría, el modelado y la realización de los microelectrodos es crucial.

En el presente artículo se presenta la estructura de un microsensor que contiene una disolución de cloruro de potasio (KCl) elaborado por Hannan Instrument con código HI7030L, que permite formalizar los parámetros de influencia sobre las características eléctricas. Los valores de la intensidad y densidad de corriente, el potencial eléctrico y el campo eléctrico permiten deducir la impedancia compleja de la muestra y con ello, su permitividad relativa y su conductividad, lo cual resulta útil en la caracterización de una disolución de KCl. Este modelo es esencialmente numérico y calculado por el FEM con la ayuda del software Femlab. El análisis de los fenómenos de interfase electrodo-electrolito son simulados y comparados con los resultados experimentales. El microsensor se conforma de una matriz de microelectrodos planos de platino (100 μm x 100 μm x 180 nm) colocados sobre un sustrato de vidrio, el cual utiliza un depósito de plexiglas para colocar la muestra. Fue utilizada la configuración de dos electrodos para las mediciones, no es la

única configuración existente, aunque sí la más simple. Se utilizó un impedanciómetro para medir la impedancia compleja en el rango de medición fue de 100 Hz a 1 MHz, aplicando un potencial de 25 mV a cada par de microelectrodos. La temperatura fue controlada por un horno fabricado específicamente para el desarrollo de nuestro trabajo, éste utiliza dos focos de 6 watts, un ventilador y un termostato, la temperatura de la solución fue de $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$.

TEORÍA

Básicamente, para bajas frecuencias, la impedancia de una muestra dada se deduce de las ecuaciones de Maxwell en una formulación *quasi estática*. Es posible considerar el dominio de V , con conductividad σ , permitividad ϵ , y el potencial φ , como se muestra en la Figura 1.

De la ecuación de Laplace se tiene:

$$\nabla \cdot (\gamma \nabla \varphi) = 0$$

Con las condiciones límites:

$$\gamma (\partial \varphi / \partial n) = J$$

donde, $\gamma = \sigma + i\omega\epsilon$ es la unidad imaginaria $\sqrt{-1}$, ω es la frecuencia angular, J es la densidad de corriente sobre la superficie, y $(\partial / \partial n)$ es la normal derivada en la superficie. El objetivo es determinar las propiedades eléctricas de distribución γ , a partir de la medición de la impedancia sobre la superficie. Con referencia a la Figura 1, es posible obtener las ecuaciones y (2):

$$I_\varphi = \int_V (\sigma + j\omega\epsilon) \frac{\partial \varphi}{\partial n} dV \quad (1)$$

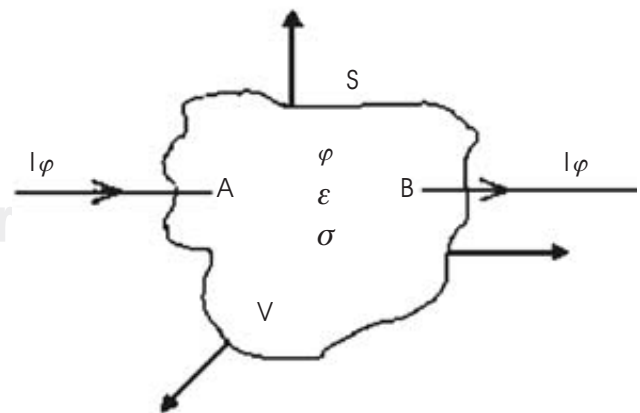


Figura 1. Definición del problema.

$$Z = \frac{\nabla\varphi}{I_\varphi} \quad (2)$$

donde φ indica el potencial de distribución sobre el campo eléctrico cuando la corriente I_φ es aplicada a dos electrodos $\varphi(A,B)$ y Z es la impedancia compleja entre ellos.

Factor de célula, conductividad y permitividad relativa

El factor de célula κ (m^{-1}), la conductividad σ (S/m) y la permitividad relativa ϵ_r , son, directamente proporcionales a la geometría de los electrodos. Las ecuaciones 3, 4 y 5, definen las variables κ , σ , y ϵ_r , para dos conductores de geometría circular o rectangular paralelos, separados por un medio dieléctrico¹⁰. Los electrodos están separados por una distancia L , el área del electrodo es A y se asume una corriente sinusoidal I_φ .

$$Z = \frac{L}{A} \cdot \frac{1}{\gamma} = \frac{L}{A} \cdot \frac{1}{\sigma + j\omega\epsilon_0\epsilon_r} = \kappa \frac{1}{\sigma + j\omega\epsilon_0\epsilon_r} \quad (3)$$

$$\kappa = |Z| \sqrt{\sigma^2 + (\omega\epsilon_0\epsilon_r)^2} \quad (4)$$

$$\theta = -\tan^{-1}\left(\frac{\omega\epsilon_0\epsilon_r}{\sigma}\right) \quad (5)$$

donde ϵ_0 (F/m) es la permitividad del espacio libre.

La admitancia Y ($S^{-1}m$) deducida de la ecuación de impedancia se define como:

$$Y = \frac{1}{Z} = G + jB = \frac{1}{\kappa} \cdot G + \frac{1}{\kappa} \cdot j \cdot \omega\epsilon_r \epsilon_0 \quad (6)$$

donde G ($S^{-1}m$) es la conductancia y B ($S^{-1}m$) la susceptancia de la muestra. La permitividad y la conductividad de una muestra biológica (como el suero fisiológico) no son directamente accesibles; sin embargo, es posible medir la magnitud de la impedancia $|Z|$ y fase θ ; estas mediciones nos permiten determinar la permitividad relativa y la conductividad como una función de la impedancia compleja $|Z| \angle \theta$, utilizando las ecuaciones (7) y (8).

$$\epsilon_r = -\frac{\kappa}{|Z|\omega\epsilon_0} \cdot \sin(\theta) \quad (7)$$

$$\sigma = \frac{\kappa}{|Z|} \cdot \cos(\theta) \quad (8)$$

MATERIALES Y MÉTODOS

La estructura del microsensor tiene como geometría una matriz de microelectrodos y puede ser utilizado en investigaciones de EIS. El microsensor fabricado tiene como objetivo la caracterización eléctrica de diversos tejidos humanos aplicando EIS con lo que se genera una base de datos de las propiedades eléctricas para cada clase de tejido humano.

Simulación del microsensor

El microsensor utilizado en esta aproximación experimental está basado en una matriz de 18 microelectrodos con los que se realizaron las mediciones multiplexadas para seleccionar sólo un par de microelectrodos a la vez. En la Figura 2 se muestran las dimensiones físicas del microsensor utilizado.

La matriz de microelectrodos está dividida en dos grupos, el primer grupo está compuesto de ocho microelectrodos de inyección (E1 a E8) y un microelectrodo de referencia o tierra (M1). El segundo grupo incluye los microelectrodos de inyección (E9 a E16) y M2, estos dos grupos son completamente simétricos. Para fines de nuestro trabajo los microelectrodos de inyección E1, E2...E16 se utilizan para realizar la simulación y la experimentación. El microelectrodo M1 para el grupo 1 (M2 para el grupo 2)

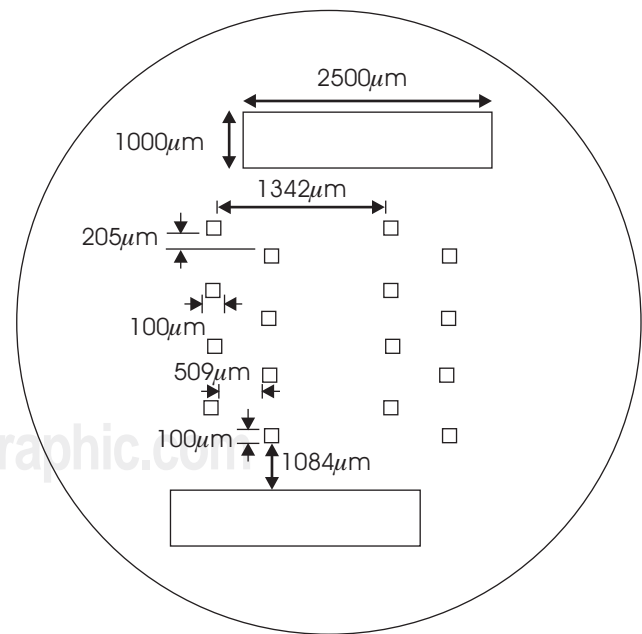


Figura 2. Geometría del microsensor.

es conectado a tierra y los otros microelectrodos del E1 a E8 para el primer grupo (E9 a E16 para el grupo 2) son multiplexados para realizar las mediciones de impedancia compleja. La Figura 3 muestra la ubicación de cada microelectrodo dentro de la célula de medición.

La primera meta del modelo de la célula de medición es generar un campo eléctrico entre un par de microelectrodos con el software Femlab con el objetivo de calcular la densidad de corriente. La cual es directamente proporcional a la corriente eléctrica que pasa a través de los microelectrodos, $I \cdot \varphi$, ver ecuaciones 1 y 2. Este procedimiento se repite para cada par de microelectrodos.

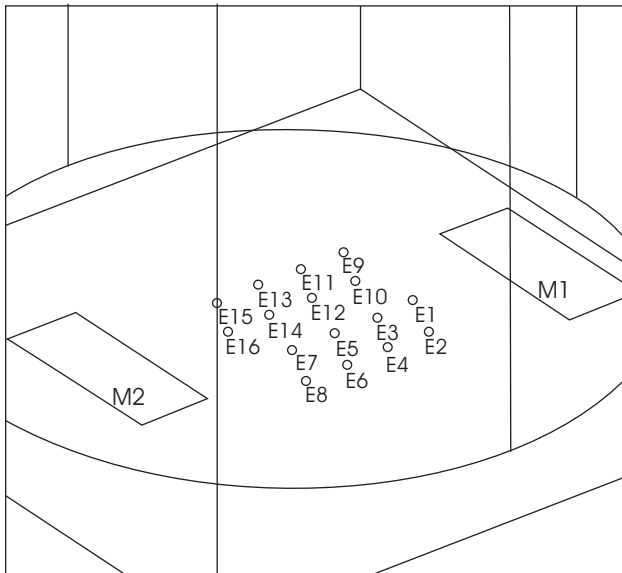


Figura 3. Distribución de los microelectrodos.

Condiciones de simulación

Para la simulación numérica de la estructura creada se consideraron las siguientes condiciones iniciales. A cada par de microelectrodos se le aplicó una señal sinusoidal en el rango de frecuencias entre 100 Hz a 1 MHz y con una amplitud fija de 25 mV la cual fue seleccionada por las propiedades físicas y las características de fabricación de los microelectrodos, esto es porque la máxima corriente que puede soportar el microelectrodo es de $10 \mu\text{A}$. El comportamiento de la célula de medición con una muestra se simuló y la impedancia se calculó para una frecuencia dada como lo muestra la Figura 4. Los parámetros eléctricos de la permitividad y conductividad del recipiente de la disolución (en la práctica, plexiglas) se configuraron con el software Femlab.

La simulación numérica se realizó para 1 kHz una disolución de KCl como muestra, con una permitividad relativa de 75 y una conductividad de $1,65\text{S/m}$. La Figura 4 muestra el resultado de la simulación del campo eléctrico para el par de microelectrodos M1 y E1. Los otros microelectrodos no utilizados en la medición no son mostrados porque dentro de la simulación fueron configurados para que no presenten ningún tipo de interferencia en la estructura simulada. Después de simular el campo eléctrico, se calculó la densidad de corriente J , sobre uno de los electrodos y la corriente que fluye a través de éste. Como resultado de la simulación y la aplicación de la ecuación la magnitud de la impedancia $|Z|$ fue calculada, obteniéndose un valor de ángulo de fase θ , insignificante (0.0003 grados). La frecuencia fue incrementada hasta 1 MHz, y la com-

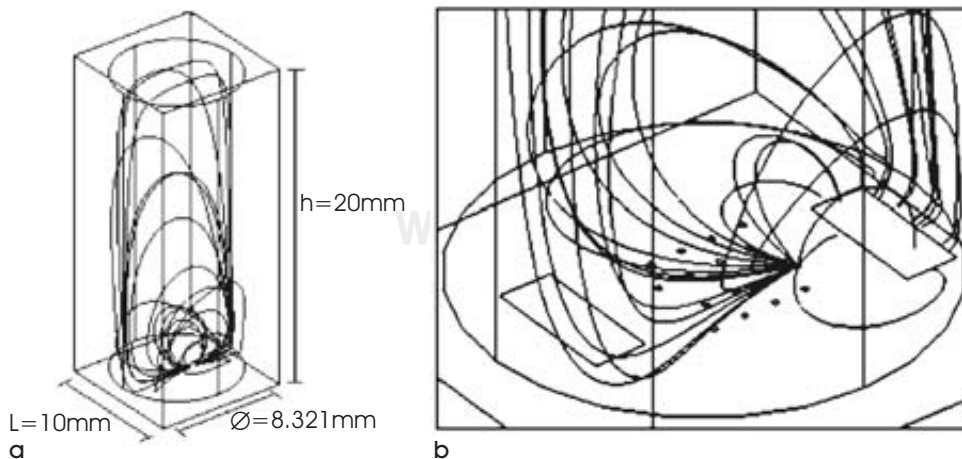


Figura 4. a) Líneas de distribución del campo eléctrico, b) Ampliación de las líneas de campo.

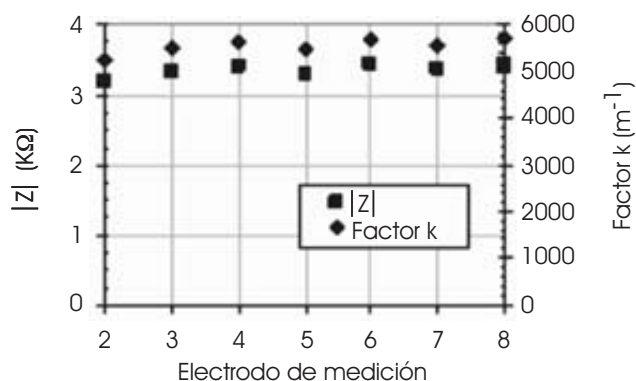


Figura 5. Magnitud de $|Z|$ y κ para el grupo 1.

Cuadro 1. Comportamiento eléctrico simulado del grupo 1 del microsensor.

No. μ Elec.	V(V)	I (μ A)	$ Z $ (kΩ)	κ (m ⁻¹)
2	0.025	7.75	3.18	5256.02
3	0.025	7.54	3.31	5470.07
4	0.025	7.40	3.37	5573.93
5	0.025	7.56	3.31	5452.81
6	0.025	7.33	3.41	5627.89
7	0.025	7.46	3.34	5526.39
8	0.025	7.26	3.43	5678.22

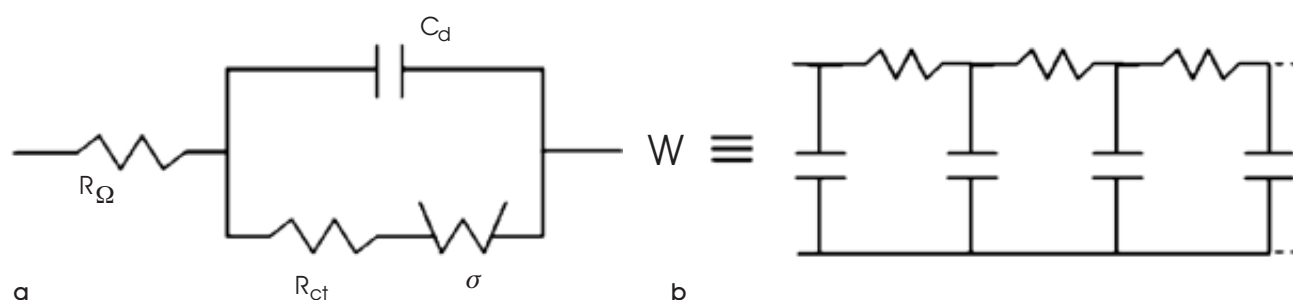


Figura 6. Circuito equivalente de una célula de medición con electrodos en disolución (Sluyters-Rehbach, 1994).

ponente de la parte imaginaria de la impedancia compleja permaneció sin cambios significativos.

Los resultados de la simulación son presentados solamente para el primer grupo de microelectrodos debido a que la amplitud de impedancia para el grupo 2 fue similar. Aplicando la ecuación, el factor de célula κ , se obtuvo de acuerdo a los valores mostrados en la Figura 5, estos valores son considerados puramente resistivos ya que sus fases son prácticamente nulas. El microelectrodo M1 está fijo en la simulación y es la conexión a tierra, los microelectrodos E1 hasta E8 son seleccionados uno a la vez para determinar la impedancia entre éste y la tierra.

Los microelectrodos no utilizados en la medición no afectan la medición, ya que son conectados a un bloque eléctrico de supresión de interferencia compuesto por resistencias de 1 MΩ. El factor κ es importante para determinar las propiedades dieléctricas (σ y ϵ_f) de la etapa experimental.

El Cuadro 1 muestra las mediciones $|Z|$ y κ obtenidas de la simulación con el software femlab para cada microelectrodo. Estos resultados muestran que los valores de la impedancia obtenidos aplicando la ley de Ohm ($Z = V/I$), son aproximadamente simi-

lares para todos los microelectrodos del grupo con una media de 3.33 kΩ. Este es también el caso para el factor de célula, la máxima diferencia para $|Z|$ y κ entre un grupo de microelectrodos es 3.93%.

Impedancia de polarización

La inmersión de un metal dentro de un medio conductor crea un equilibrio electroquímico. Este sistema complejo puede ser simulado utilizando un circuito con elementos pasivos. Muchos modelos han sido propuestos¹¹⁻¹³. La Figura 6a muestra el circuito equivalente más referido para una célula de medición con electrodos en una disolución donde puede ocurrir una reacción electroquímica, el cual tiene un comportamiento perfectamente descrito como un circuito equivalente de Randles-Ershler (comúnmente circuito de Randles). Este circuito presenta las mejores características para estudios de impedancia en AC realizados en los últimos 50 años. En algunos casos la impedancia correspondiente para ciertos procesos electroquímicos tiene un comportamiento característico de la misma forma de los elementos pasivos electrónicos como los capacitores y resistencias.

La impedancia Warburg (Z_w) es equivalente a una red infinitamente larga como lo muestra la Figura 6b, y es un elemento básico en el circuito equivalente. R_Ω es la que ofrece la disolución, R_{ct} es la resistencia de transferencia de carga farádica, C_d es la capacitancia por la doble capa electrodo-disolución (interfase). R_Ω , R_{ct} y C_d son valores teóricos calculados a partir de las ecuaciones dadas por diversos autores¹⁴⁻¹⁷, éstos son: $R_\Omega = 31.9 \Omega$, $R_{ct} = 330 \text{ k}\Omega$, $C_d = 6.7 \text{ nF}$. Finalmente los términos de la impedancia Warburg para dos elementos de la red, $Z_w = (R_w^{-1} + j2\pi C_w)^{-1}$ donde $R_w = 490 \Omega$ y $C_w = 163 \text{ nF}$.

El circuito equivalente de Randles fue simulado con el software PSPICE para esquematizar el comportamiento de la célula de medición con electrodos en una disolución sin el negro de platino sobre el electrodo, el resultado de esta simulación se muestra en la Figura 7.

Depósito de negro de platino

La interfase electrodo-electrolito presenta numerosos fenómenos electroquímicos que generan la aparición de impedancias adicionales parásitas que afectan considerablemente las mediciones, sobre todo a bajas frecuencias. Un aspecto a considerar consiste en disminuir la impedancia del microelectrodo. Lo cual se puede obtener por dos formas: aumentando la superficie del electrodo, o recubriendo con un material adecuado la superficie del electrodo que está en contacto con la muestra. Un incremento de la superficie del electrodo no es posible debido a que nuestro sensor tiene como objetivo final la aplicación de la micro y nano tecnología para generar sistemas en miniatura.

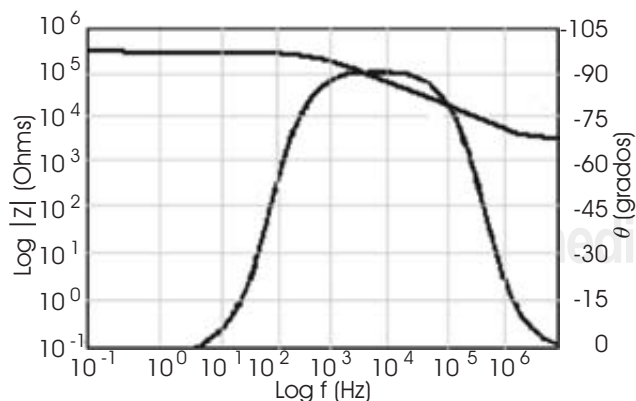


Figura 7. Simulación PSPICE del circuito equivalente de la interfase electrodo-electrolito.

Entonces, se decidió efectuar un depósito de negro de platino sobre la superficie del metal de la base del microelectrodo. Muchas soluciones han sido propuestas en el área de biomedicina. Los depósitos de negro de platino por ejemplo pueden reducir la impedancia de polarización en un factor de dos^{18,19}. Se realizó el depósito de negro de platino sobre los microelectrodos aplicando un procedimiento propuesto por Ivorra, Gómez y Noguera²⁰.

Sistema de adquisición de datos

Las señales de corriente de entrada I_p y potencial φ se generaron con el medidor de impedancia para una frecuencia determinada. La amplitud del potencial entre el electrodo de medición y el de referencia (tierra) se fijó en 25 mV. El rango de la corriente I_p fue de 0 a 10 μA de acuerdo a la frecuencia de operación (100 a 1 MHz). Las señales analógicas y digitales se aislaron utilizando relevadores estándar (DIP tipo: HE7/HE422) con una baja resistencia (0.2Ω) conectados a un microelectrodo de tierra (M1 o M2).

Otro relevador estándar (SIL tipo: HE3621A, con contactos secos) se conectó a cada uno de los electrodos de inyección de corriente o medición (grupo 1 E1..E8 o grupo 2 E9..E16). La Figura 8 mues-

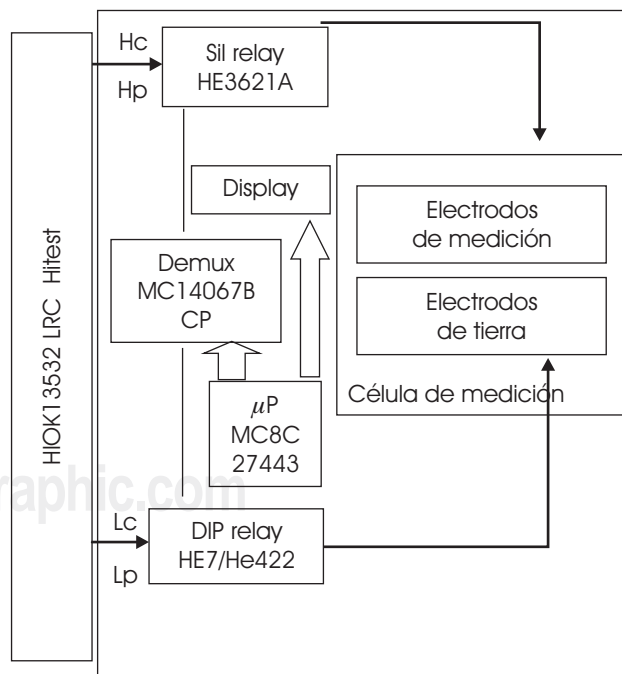


Figura 8. Sistema de adquisición de datos.

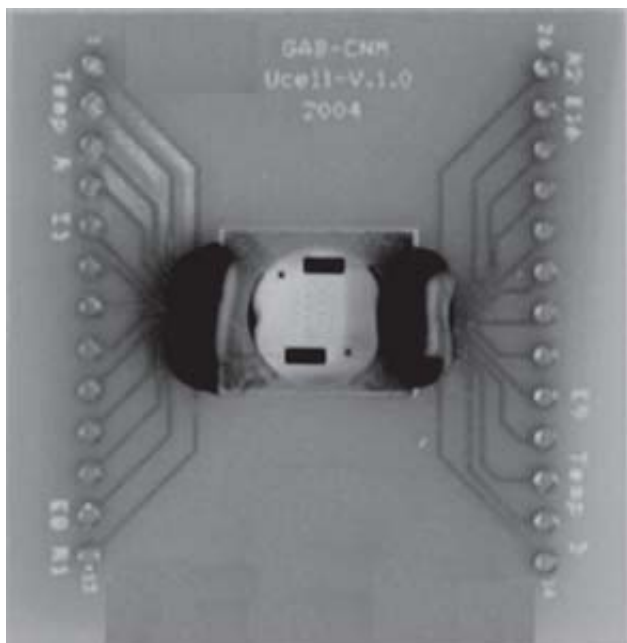


Figura 9. Microsensor y sus conexiones.

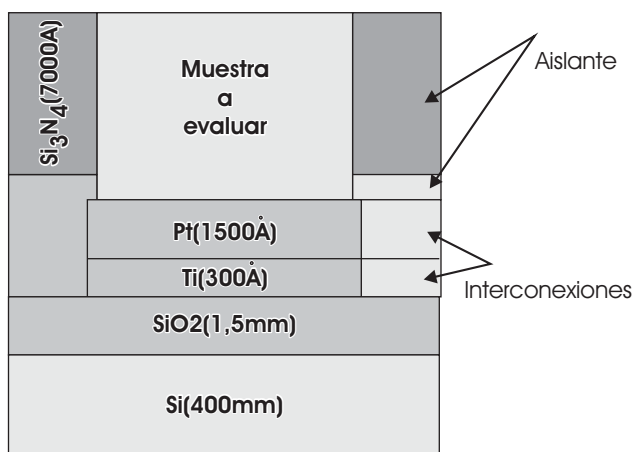


Figura 10. Capas de fabricación de los microelectrodos.

tra un diagrama a bloques del sistema de adquisición utilizado, en donde: Hc y Hp significan alta corriente y alto potencial; Lc y Lp significan baja corriente y bajo potencial.

Un demultiplexor estándar MC14067BCP controlado por un microprocesador (CY8C27443) permite seleccionar el electrodo de medición y con ello su correspondiente impedancia. El μ P es de la familia PSoC y consiste en un arreglo de señales mixtas. Estos dispositivos son diseñados para reemplazar los tradicionales MCU.



Figura 11. Posición del recipiente.

Cuadro 2. Propiedades eléctricas de una disolución de KCl a diferentes temperaturas.

T(°C)	σ (S/m)	ϵ_r	T(°C)	σ (S/m)	ϵ_r
25	1.28	78.0	33	1.52	75.6
26	1.31	77.8	34	1.55	75.6
27	1.34	77.5	35	1.58	75.5
28	1.37	77.2	36	1.61	75.3
29	1.39	77.0	37	1.65	75.0
30	1.42	76.8	38	1.68	74.5
31	1.45	76.5	39	1.72	74.0
32	1.48	76.0	40	1.75	73.0

El display LCD HD44780 indica el progreso de la medición, es controlado por el μ P y el medidor de impedancia. El medidor LRC HIOKI 3532-50 permite la medición de la impedancia eléctrica en la gama de frecuencia de 100 Hz a 1 MHz. El muestreo es controlado por el medidor LRC 3532-50 y la PC vía una interfase IEEE448. La PC recibe y almacena los datos de la impedancia compleja para llevar a cabo el cálculo de las propiedades eléctricas de la muestra, σ y ϵ_r .

Matriz de microelectrodos

La matriz de microelectrodos consiste en 18 microelectrodos (2 de tierra y 16 de medición) coloca-

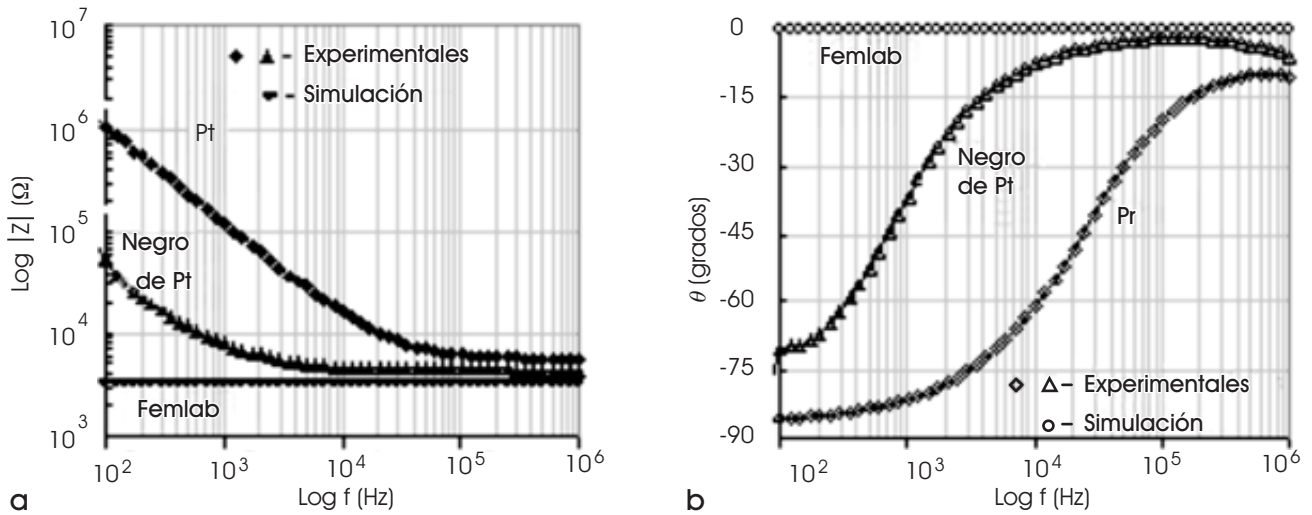


Figura 12. Comparación entre los resultados experimentales y los simulados: **a)** $|Z|$ y **b)** Fase θ .

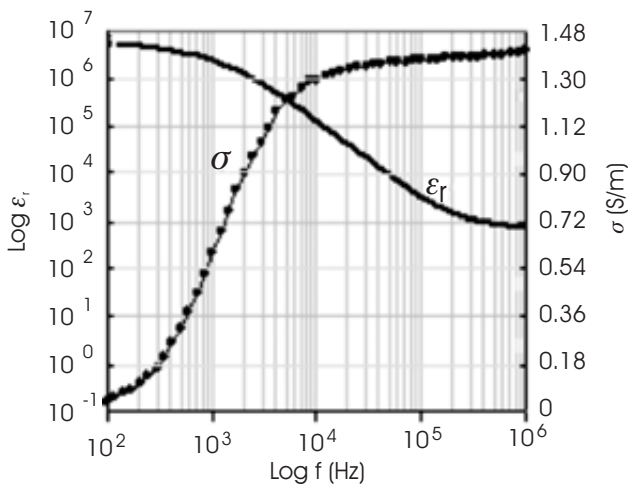


Figura 13. Magnitud de σ y ϵ_r para microelectrodos con negro de platino.

dos sobre un sustrato de vidrio (1 x 1.2 cm). Los microelectrodos de inyección son cuadrados (16 piezas) con dimensiones de $100 \times 100 \mu\text{m}$ y 180 nm de espesor. Los microelectrodos de tierra son dos piezas con 1×2.5 mm de superficie y 180 nm de espesor, la Figura 9 muestra el microsensor.

Este microsensor fue fabricado en el Centro Nacional de Microelectrónica (CNM) Campus Barcelona²¹. La tecnología de proceso consiste en dos pasos de fotolitografía, iniciando por una oxidación térmica que hace crecer una capa gruesa (800 nm) en una oblea circular de Si con 4 pulgadas de diámetro (~ 10 cm), con una inclinación

tipo P <100> y con un espesor de la oblea de $525 \mu\text{m}$. La Figura 10 muestra las diferentes capas del microelectrodo.

Un recipiente cilíndrico de plexiglas de 8.32 mm de diámetro interior y con una altura de 20 mm se utilizó para colocar la muestra. Éste fue adherido sobre el sustrato de vidrio de la matriz de microelectrodos permitiendo que éstos se localicen dentro del recipiente. El pegamento utilizado es no conductor del tipo MED-1511 el cual es transparente y tiene alta resistencia a los ataques químicos. La Figura 11 muestra el recipiente con la matriz de microelectrodos y la tarjeta del circuito impreso donde se instaló el microsensor.

RESULTADOS EXPERIMENTALES

Con el objetivo de calcular el funcionamiento del microsensor el recipiente fue llenado con una muestra de una disolución de KCl (HI 70301) de propiedades dieléctricas conocidas. El Cuadro 2 muestra la permitividad relativa y conductividad del suero fisiológico en un rango de temperaturas de 25 a 40°C .

Considerando a la temperatura del cuerpo humano, el análisis experimental fue realizado para una temperatura controlada de $37 \pm 0.5^\circ\text{C}$. Los efectos de la impedancia de polarización son dominantes para rangos de bajas frecuencias²² (menores a 3 kHz). Las propiedades eléctricas de la disolución son: conductividad 1.65 S/m y permitividad relativa de 75, ambos parámetros para 37°C . Di-

cha solución fue utilizada para caracterizar la impedancia compleja debido a la impedancia de polarización. El material utilizado para el microelectrodo en contacto con la muestra bajo prueba (KCl) fue tanto platino como negro de platino.

La magnitud y el ángulo de fase de la impedancia compleja como una función de la frecuencia se registró para valores de 25 mV de corriente alterna pico a pico. El espectro de frecuencia de 100 Hz a 1 MHz fue automáticamente analizado para 58 puntos bajo un barrido logarítmico. Para reducir la impedancia de polarización a niveles bajos se utilizaron depósitos electroquímicos de platino (negro de platino) sobre la superficie del microelectrodo. Para las pruebas de validación en estas aproximaciones, se realizaron las mediciones para cada microelectrodo en series de diez y se evaluó la media de las mediciones de cada grupo de microelectrodos, la Figura 12 presenta el resultado obtenido.

En el caso del par de microelectrodos M1 a E3 ($|Z| = 3310\Omega$), se puede observar (como lo muestra la Figura 12a y 12b) una buena correlación entre la simulación y la experimentación para altas frecuencias, mayores a 10 kHz ($|Z|$, negro de platino) y 70 kHz ($|Z|$, platino). La curva etiquetada como femlab es el resultado de la simulación.

Similares resultados fueron obtenidos para los pares de microelectrodos restantes. Se realizaron 10 series de mediciones para cada microelectrodo y se calculó la media de cada serie y los resultados son presentados en las curvas de la Figura 12. La diferencia para cada microelectrodo es de 3% como máximo del valor representado en la curva.

Nuestro objetivo fue caracterizar las propiedades eléctricas de una disolución de KCl para posteriores trabajos en el cálculo de estas propiedades utilizando tejidos biológicos.

Los valores de σ y ϵ_r se calcularon para una disolución (KCl para 37°C) por el método de espectroscopia electroquímica de impedancia. Los resultados son mostrados en la Figura 13.

DISCUSIÓN

Para frecuencias superiores a 10 kHz, la impedancia compleja de los microelectrodos cubiertos con una capa de negro de platino elimina aproximadamente el 50% los efectos de la impedancia de polarización. Para frecuencias inferiores a 10 kHz la interfase electrodo – electrólito tiene una clara influencia sobre la medición de la impedancia compleja. La conductividad tiene un error aproximado al 20% del

valor esperado (1.65 S/m), esto debido a los factores de influencia tales como temperatura, la interfase electrodo–electrólito, las dimensiones de los electrodos y la geometría del microsensor. La influencia principal se debe a que la capacitancia formada por el contacto electrodo–electrólito. La permitividad relativa representa la parte imaginaria de la impedancia compleja y sus efectos son mostrados claramente en la Figura 13. Los valores obtenidos de las propiedades eléctricas de nuestra muestra son presentados directamente en las curvas de las Figuras 12 y 13 sin algoritmos de corrección, esto es para una caracterización real del microsensor. La permitividad relativa para microelectrodos planos tiene una tendencia al valor esperado para frecuencias superiores a 100 kHz.

CONCLUSIÓN

Una metodología para determinar de forma analítica la impedancia compleja de microelectrodos planos por espectroscopia electroquímica de impedancia (EIS) fue descrito. Este método provee una simple vía para determinar la impedancia compleja y el factor de célula κ . Estos parámetros se calcularon utilizando la simulación numéricamente basada en el método de los elementos finitos (FEM). Esta aproximación permite evaluar las propiedades dieléctricas de una disolución de KCl para un sistema bipolar. Existe bastante bibliografía sobre la espectroscopia electroquímica de impedancia (EIS) para escalas macrométricas, el uso de microelectrodos planos abre una nueva área de investigación en aplicaciones biomédicas. Utilizando una matriz de microelectrodos es posible monitorear el movimiento de células o caracterizar las propiedades dieléctricas de células biológicas. El fenómeno no lineal o el análisis electromagnético de una célula aislada en comparación de un agregado de células son ejemplos de los beneficios que la aplicación de la espectroscopia de impedancia puede ofrecer en sistemas multi-electrodo miniaturizado dentro de las investigaciones actuales. El material utilizado para la fabricación de la matriz de microelectrodos se seleccionó por su biocompatibilidad con los tejidos. Los resultados obtenidos de este trabajo mostraron que un arreglo de microelectrodos (microsensor) puede ser utilizado para caracterizar las propiedades dieléctricas de una muestra, en este caso una disolución de KCl, siendo la conductividad el valor más aceptable para frecuencias superiores a 10 kHz, con un error aproximado del 20%. Este microsensor mostró la tenden-

cia de la permitividad relativa al valor esperado para frecuencias superiores a 100 kHz. La EIS con una configuración de multi-electrodos es posible, debido a que no existe una interacción entre los microelectrodos, ya que éstos son conectados a un supresor de impedancias cuando no son utilizados en la medición.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos al Centro Nacional de Microelectrónica (CNM) por la fabricación del microsensado, al Dr. Antoni Ivorra y al M.C. Rodrigo Gómez de la Universidad de Barcelona por su ayuda y sus opiniones. Así también al CONACYT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) por el financiamiento en parte de este proyecto.

BIBLIOGRAFÍA

- Macdonald JR, Kenan WR. Impedance Spectroscopy: Emphasizing Solid Materials and Systems. Wiley 1987.
- Sluyters-Rehbach. Impedances of electrochemical systems: Terminology nomenclature, and representation, Part I: cells with metal electrodes and liquid solutions. (IUPAC Recommendations 1994) M., Pure Appl Chem 1994; 66: 1831-1891.
- Zhai NS, Li MW, Wang WL, Zhang DL, Xu DG. The application of the EIS in Li-ion batteries measurement. J Physics conference series. 2006; 48: 1157-1161.
- Prado J. Conception et réalisation d'un microsysteme par spectroscopie de bioimpedance. Tesis Doctoral, Nancy Francia, 2006.
- Wise KD. Integrated sensors, microactuators, and microsystems (MEMS). Proc IEEE 1998; 86: 1531-1746.
- Manz A, Becker H. Microsystem Technology in Chemistry and Life. Sciences Springer (New York) 1999.
- Whitesides GM, Ostuni E, Takayam S, Jiang X, Ingber DE. Soft lithography in biology and biochemistry. Annu Rev Biomed Eng 2001; 3: 335-373.
- Thielecke H, Mack A, Robitzki A. Living Chips: Cell Sensors for Toxicity and Therapeutical Biomonitoring. Germany Proc of micro tec. 2000.
- Ziaie B, Baldi B, Lei M, Gu Y, Siegel RA. Hard and soft micromachining for BioMEMS: review of techniques and examples of applications in microfluidics and drug delivery. Advance Drug Delivery 2004; 56: 145-172.
- Prado J, Margo C, Kouider M, Nadi M. Auto balancing bridge method for bioimpedance measurement at low frequency. 1st international conference on sensing technology November 21-23, Palmerston North New Zealand, 2005: 23-27.
- Thielecke H, Mack A, Robitzki A. A Multicellular Spheroid-Based Sensor for Anti-Cancer Therapeutics. Biosens Bioelectron 2001; 16: 261-269.
- Martinoia S, Massobrio P, Bove M, Massobrio G. Cultured Neurons Coupled to Microelectrode Arrays: Circuit Models, Simulations and Experimental Data. IEEE Trans on Biomed 2004; 51(5): 859-863.
- Rahmana ARA, Lob CM, Bhansali S. A micro-electrode array biosensor for impedance spectroscopy of human umbilical vein endothelial cells. Sensors and Actuators B 2006; 118: 115-120.
- Kovacs GTA. Microelectrode models for neural interfaces. In: Stenger DA, McKenna TM, Eds. Enabling technologies for cultured neural networks. Chapter in, Enabling Technologies for Cultured Neural Networks. Academic Press, New York, 1994; 121-166. ISBN: 0126659702
- Helmholtz HL. Studien ber electrische grenzschichte. Ann Phys Chem 1879; 7: 377-382.
- Gouy M. Sur la constitution de la charge électrique a la surface d'un electrolyte. J Phys 1910; 9: 457-468.
- Chapman DL. A contribution to the theory of electro capillarity. Phil Mag 1913; 25(6): 475-481.
- Schwan HP. Electrode polarization impedance and measurements in biological materials. Annals of the New York Academy of Science 1968; 148(1): 191-209.
- Robinson DA. The electrical properties of metal microelectrodes. Proceeding of the IEEE, 1996; 56(6): 1065-1071.
- Ivorra A, Gomez R, Noguera N, Villa R, Sola A, Palacios et al. Minimally invasive silicon probe for electrical impedance measurements in small animals. Biosensors Bioelectron 2003; 19: 391-399.
- Schwan HP. Determination of biological impedances Physical techniques in biological research. Academic press, 1963.