

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE INGENIERÍA

DESARROLLO DE UN SISTEMA MODULAR PARA LA DETECCIÓN DE SARCOSINA A BASE DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA

TESIS

Que para obtener el grado de:

Ingeniero Biomédico

PRESENTA:

ALEJANDRA PEREZ NAVA

Dirigida por:

Dra. Vanessa Vallejo Becerra

Co-dirigida por:

Dr. José Luis Herrera Celis

Dra. Soane Fernández Puig

Querétaro, QRO, México

Julio de 2022



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales
de Información



Desarrollo de un sistema modular para la detección
de sarcosina a base de impedancia eléctrica

por

Alejandra Pérez Nava

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0
Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Clave RI: IGLIC-234865*



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería
Ingeniería Biomédica

**DESARROLLO DE UN SISTEMA MODULAR PARA LA DETECCIÓN DE
SARCOSINA A BASE DE IMPEDANCIA ELÉCTRICA
TESIS**

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
INGENIERO BIOMÉDICO

Presenta:

ALEJANDRA PEREZ NAVA

Dirigida por:

Dra. Vanessa Vallejo Becerra

Co-dirigida por:

Dr. José Luis Herrera Celis

Dra. Soane Fernández Puig

SINODALES

Dra. Vanessa Vallejo Becerra

Presidente



Firma

Dr. José Luis Herrera Celis

Secretario



Firma

Dra. Soane Fernández Puig

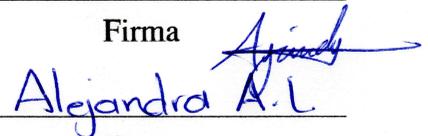
Vocal



Firma

Dra. Alejandra Álvarez López

Suplente



Firma

Centro Universitario
Querétaro, QRO, México
Noviembre de 2022

©2022, Universidad Autónoma de Querétaro.

El autor otorga a la UAQ el permiso de reproducir copias en su totalidad o en parte de esta tesis con fines académicos.

A mis padres,
con mucho amor y cariño,
por ellos y para ellos mi entrega y dedicación
en reconocimiento a todos sus esfuerzos realizados
a lo largo de mis años de estudio

Agradecimientos

A **Dios** por permitirme esta vida con sus circunstancias, dificultades y alegrías.

A mis padres, **Leticia** y **José**, por su amor y apoyo incondicional. Por enseñarme el valor del trabajo y del esfuerzo para hacer de este mundo un lugar mejor. Por todos sus consejos y enseñanzas y por inculcarme la valentía de luchar por mis sueños.

A mis hermanas, **Liliana** y **Alexa**, por ser alegría en mi vida, por creer siempre en mí, por inspirarme e impulsarme en todo momento.

A **Boby**, por ser no sólo una mascota sino un amigo, por todo su amor brindado durante sus años de vida. A perrito **Peluche**, por adoptarme un día y mostrarme la belleza de la vida a través de un compañero perruno, por brindarme tanto amor y ternura, y por recordarme la capacidad de asombro a través de las sutiles cosas.

A mis abuelos, **Rogelia** y **Pedro**, por sus oraciones y bendiciones siempre.

A mis abuelos en el cielo. A mi abuelita **María**, por su amor y por enseñarme desde pequeña a ser una mujer con fortaleza. A mi abue **Nacho**, por siempre ser esa estrella brillante que me guía y me cuida. A mi abue **Felipe** por su protección y su infinito amor incondicional.

Al **Conacyt** y a todas las personas que aportan para que en México sea posible la ciencia.

Al **CIDETEQ** por permitirme ser parte de la institución y explorar así nuevos horizontes.

A mis asesores de tesis por brindarme una puerta abierta hacia su conocimiento. De forma especial, al **Dr. José Luis Herrera Celis** por permitirme ser parte de sus proyectos y de su equipo de trabajo, por su paciencia y su apoyo.

A la **Dra. Emilia Margarita Méndez Aguilar** por su apoyo, por abrirme las puertas de su casa y por su gran calidad humana.

A **Jesús Alberto** por su cariño y apoyo en este tiempo; por la reciprocidad.

A todos y cada uno de los que me han brindado una mano amistosa en la realización de este trabajo y a lo largo de mi vida.

Índice general

Dedicatoria	IV
Agradecimientos	V
Índice de figuras	XI
Índice de tablas	XVII
Resumen	XVIII
Abstract	XX
1. Introducción	1
Justificación	2
Descripción del problema	3
Hipótesis	3
Objetivo	4
Objetivos específicos	4
2. Marco Teórico	5
2.1. Amplificador operacional	5
2.1.1. Amplificador operacional ideal	7

2.1.2.	Amplificador operacional práctico	7
2.1.3.	Parámetros de los amplificadores operacionales	8
2.1.4.	Configuraciones en lazo abierto y lazo cerrado	10
2.1.5.	Configuraciones principales	12
2.1.6.	Reguladores de voltaje	15
2.2.	Dispositivos digitales	16
2.2.1.	Álgebra de Boole	17
2.2.2.	Compuertas lógicas	17
2.3.	Circuitos mixtos	18
2.3.1.	Convertidores analógicos a digitales	18
2.3.2.	Microcontroladores	19
2.3.3.	Protocolos de comunicación	19
2.4.	Espectroscopia de impedancia eléctrica	21
2.4.1.	Impedancia eléctrica	22
2.4.2.	Circuitos equivalentes	23
2.5.	Biosensores impedimétricos	25
2.5.1.	Microelectrodos interdigitados	25
2.6.	Técnicas de microfabricación	26
2.6.1.	Fotolitografía	27
2.6.2.	Proceso de <i>Lift-off</i>	27
2.6.3.	Evaporación de metales por haz de electrones	29
2.7.	Polímeros de impresión molecular	30
2.7.1.	Síntesis	31
2.8.	Sarcosina	33
3.	Diseño y construcción del sistema de medición	35
3.1.	Estructura del sistema	36

3.1.1.	Etapa de alimentación	36
3.1.2.	Etapa de generación de señales	37
3.1.3.	Etapas de configuración y medición de las señales	38
3.1.4.	Etapa de acondicionamiento de las señales	45
3.1.5.	Procesamiento de las señales	47
3.1.6.	Control de dispositivos	50
3.2.	Diseño de las tarjetas de circuito impreso PCB	51
3.2.1.	Diseño de diagramas esquemáticos	52
3.2.2.	Diseño de <i>layouts</i>	55
3.3.	Código	57
4.	Construcción del biosensor	59
4.1.	Fabricación de microelectrodos interdigitados	60
4.1.1.	Materiales y reactivos	61
4.1.2.	Instrumentación	61
4.1.3.	Limpieza de sustratos	62
4.1.4.	Deposición de fotoresina	62
4.1.5.	Fotolitografía	64
4.1.6.	Revelado	65
4.1.7.	Deposición de metales por evaporación	66
4.1.8.	Eliminación de la capa de sacrificio	69
4.2.	Síntesis del polímero de impresión molecular (<i>MIP</i>)	71
4.2.1.	Materiales y reactivos	71
4.2.2.	Instrumentación	71
4.2.3.	Síntesis	72
4.3.	Deposición del MIP sobre los microelectrodos interdigitados	75
4.3.1.	Materiales y reactivos	76

4.3.2. Instrumentación	76
4.3.3. Deposición por emulsión	76
4.3.4. Deposición en dos pasos	78
4.4. Preparación de las muestras de sarcosina	80
5. Ensayos y mediciones	82
5.1. Pruebas de configuración inicial de las tarjetas	82
5.1.1. Etapa de alimentación	83
5.1.2. Etapa de generación de señales y atenuación	84
5.1.3. Etapas de configuración y medición de las señales	86
5.1.4. Etapa de acondicionamiento de señales	89
5.2. Inspección de microelectrodos interdigitados con MIP acoplado	91
5.3. Caracterización del funcionamiento del biosensor con un potencióstato comercial	92
6. Resultados y discusión	95
6.1. Características del sistema de medición	95
6.2. Acople MIP-electrodos interdigitados	97
6.3. Pruebas con potencióstato comercial	101
6.4. Circuito equivalente	107
Conclusiones	109

Índice de figuras

2.1. Amplificador operacional general.	5
2.2. Amplificador operacional diferencial.	6
2.3. Esquema del amplificador operacional.	7
2.4. Ganancia en modo común	9
2.5. Representación del ancho de banda de una señal.	10
2.6. Configuración en lazo abierto del amplificador operacional.	11
2.7. Configuración en lazo cerrado del amplificador operacional.	11
2.8. Configuración del amplificador operacional en modo seguidor de voltaje.	12
2.9. Configuración del amplificador operacional como inversor/escalador.	13
2.10. Configuración del amplificador operacional en modo convertidor de corriente a voltaje.	14
2.11. Amplificador operacional en configuración sumador.	15
2.12. Representación de una señal analógica y una digital en el tiempo.	16
2.13. Esquema general de un convertidor A/D.	18
2.14. Arquitectura interna de un microcontrolador.	19
2.15. Esquema de comunicación en modo paralelo.	20
2.16. Conexión dúplex <i>SPI</i> básica que utiliza dos líneas de datos (<i>MOSI</i> , <i>MISO</i>), una línea de reloj (<i>SCK</i>) y una línea de selección de chip (<i>CS</i>). (Fuente de la imagen: Digi-Key Electronics).	21

2.17. Diagrama de Nyquist.	23
2.18. Diagrama de Bode.	24
2.19. Circuito equivalente de Randles.	24
2.20. (A) Arreglo de electrodos interdigitados planos (<i>IDE</i>). (B) Sección transversal con las líneas del campo eléctrico.	26
2.21. Proceso de fabricación de electrodos interdigitados a través de la técnica lift-off. (A) Modelado del patrón con fotoresina en vidrio para formar los electrodos interdigitados. (B) Evaporación del oro en la fotoresina y el vidrio. (C) Eliminación de la fotoresina para obtener el sustrato de electrodos interdigitados.	28
2.22. Esquema del equipo de deposición mediante calentamiento por haz de electrones.	30
2.23. Proceso general de impresión molecular. Copyright 2017, American Chemical Society.	31
3.1. Enfoque metodológico en cascada propuesto por Winston W. Royce.	36
3.2. Bloques principales del sistema de medición.	36
3.3. Arreglos que modelan una celda electroquímica a 3 electrodos.	39
3.4. Diseño del sistema de medición utilizando un amplificador operacional.	40
3.5. Fases que conforman la etapa de configuración de la señal y la etapa de medición.	41
3.6. Propiedades asociadas a cada fase de las etapas de configuración de la señal y de medición.	43
3.7. Diagrama funcional de bloques del convertor analógico-digital AD9248. Recuperado https://www.analog.com/media/en/technical-documentation/data-sheets/AD9248.pdf	47
3.8. Circuito general de los módulos electrónicos como base para el diseño de la tarjeta.	52

3.9. Configuración en modo seguidor de voltaje (<i>buffer</i>).	53
3.10. Diagrama esquemático que muestra el uso de un <i>jumper</i> (O_GEN1) a la entrada del amplificador operacional que habilita o deshabilita el paso de la señal hacia el amplificador. Un segundo <i>jumper</i> (O_GEN2) se encuentra a la salida para habilitar o interrumpir la señal obtenida del amplificador. . .	54
3.11. Capacitores de desacople implementados en los terminales de alimentación de los amplificadores operacionales.	54
3.12. <i>Layouts</i> de la capa superior de la tarjeta del controlador.	56
3.13. <i>Layouts</i> de la capa inferior de la tarjeta del controlador.	56
3.14. <i>Layouts</i> de la tarjeta de medición.	57
4.1. Partes que conforman el biosensor para sarcosina.	59
4.2. Diseño del prototipo experimental en microelectrodos interdigitados.	60
4.3. Limpieza de sustratos con solución piraña.	62
4.4. Fotografías de la deposición de la fotoresina AZ [®] nLOF 2020 sobre el sustrato.	63
4.5. Tratamiento térmico de la fotoresina llevada a cabo en una parrilla de calentamiento de precisión de la marca Electronic Micro Systems Ltd Modelo 1000-1.	64
4.6. Fotografía del sustrato de vidrio recubierto con fotoresina y colocado sobre la base del fotolitógrafo Heidelberg μ PG 101.	65
4.7. Fotografías ilustrativas del procedimiento de revelado.	65
4.8. Fotografía de los sustratos de vidrio después del proceso de fotolitografía. .	66
4.9. Comandos y botones del <i>sputtering</i> modelo D18, marca Intercovamex [®] . . .	67
4.10. Acomodo y sujeción de los sustratos en el plato de deposición antes de instalarse en la cámara de vacío de la evaporadora.	67

4.11. Fotografía de la cámara de deposición de la evaporadora Intercovamex D18. En la parte superior se encuentra el plato del que se sujetan los sustratos y en la parte inferior están los espacios donde se colocan los crisoles.	68
4.12. Fotografía del plato con los sustratos de vidrio después de la deposición de los metales.	69
4.13. Fotografía de los prototipos de $\mu IDEs$ sobre vidrio durante el proceso de eliminación de la capa de sacrificio usando acetona y baño ultrasónico. . . .	70
4.14. Microelectrodos interdigitados de oro fabricados sobre sustratos de vidrio mediante <i>lift-off</i>	70
4.15. Incubación de la mezcla de polimerización a una temperatura controlada de 70°C dentro de un baño de agua marca Labnet®.	73
4.16. Fotografía del polímero impreso molecularmente (<i>MIP</i>) y polímero no impreso molecularmente (<i>NIP</i>) obtenidos en bloque sólido mediante síntesis acrílica no covalente.	73
4.17. Fotografía de la apariencia física del polímero impreso molecularmente. . .	74
4.18. Pulverización del MIP usando mortero de ágata.	74
4.19. Fotografía de la implementación del sistema Soxhlet como método para la eliminación de la molécula plantilla.	75
4.20. Fotografía durante la agitación de la mezcla como parte de la deposición por emulsión del MIP.	77
4.21. Fotografía de emulsión obtenida tras agitación y desgasificación.	77
4.22. Imágenes que muestran el grado de recubrimiento de los $\mu IDEs$ usando volúmenes de a) 1 μL y b) 5 μL	78
4.23. Fotografía de prototipo de $\mu IDEs$ sobre vidrio al cual le fue depositado <i>MIP</i> en el área de los microelectrodos.	79

4.24. Imágenes que muestran la apariencia de los microelectrodos interdigitados tras la deposición del <i>MIP</i> y el plastificante a diferentes volúmenes a) 5 μL y b) 12 μL por el método de dos pasos.	79
5.1. Esquema de la distribución de los reguladores de voltaje en la tarjeta de módulos electrónicos.	83
5.2. Voltajes entregados por los reguladores de la tarjeta de módulos electrónicos.	84
5.3. Señales medidas a la salida de cada componente de la etapa de generación de señales y atenuación.	85
5.4. Señales de entrada y de salida del amplificador operacional principal. . . .	87
5.5. Señales medidas de corriente y voltaje en la etapa de medición de señales. .	88
5.6. Resta de señales medidas. Señal en el contraelectrodo (amarilla) menos señal del electrodo de referencia (azul). Señal resultante (roja), asociada con la señal medida en el electrodo de trabajo.	89
5.7. Amplificación de las señales de corriente y voltaje.	90
5.8. Señales finales amplificadas de corriente (amarilla) y voltaje (azul).	90
5.9. Señal de entrada y señal de salida obtenidas de un arreglo en modo <i>buffer</i> al final de la etapa de generación de señales.	91
5.10. Conexiones entre los cables del potencióstato y los <i>pads</i> de los μIDEs	93
5.11. Esquema del proceso realizado para caracterizar el funcionamiento de los μIDEs con <i>MIP</i> acoplado.	94
6.1. Tarjetas PCB diseñadas.	96
6.2. Sistema de módulos electrónicos para la medición de impedancia eléctrica.	97
6.3. Deposición por emulsión del polímero sobre los electrodos interdigitados. .	98
6.4. Deposición del polímero sobre electrodos interdigitados por el método de dos pasos con un volumen de plastificante de 12 μL	99

6.5. Deposición del polímero sobre electrodos interdigitados por el método de dos pasos con un volumen de plastificante de (a) 18 μL y (b) 25 μL	100
6.6. Gráficas de perfilometría de los diferentes métodos de deposición de polímero empleados.	101
6.7. Respuesta en frecuencia del biosensor, mediciones en aire.	102
6.8. Respuesta en frecuencia del biosensor, mediciones antes de incubar (con PBS).	103
6.9. Diagramas de Bode de las mediciones con PBS (negro) y con sarcosina (azul) a diferentes concentraciones.	104
6.10. Cambio porcentual dadas las concentraciones de sarcosina.	105
6.11. Diagramas de Bode de interdigitados con capa de MIP de diferente espesor.	107
6.12. Circuito equivalente del biosensor selectivo a sarcosina. a) Circuito general. b) Circuito simplificado.	108

Índice de tablas

3.1. Parámetros más importantes con sus respectivos rangos y valores numéricos asociados a cada fase de las etapas de configuración y medición de las señales.	44
3.2. Componentes propuestos y componente seleccionado para cada una de las cinco fases de las etapas de configuración de señales y de medición.	45
3.3. Componentes asignados a cada interfaz SPI del controlador MC56F8367. . .	51
4.1. Configuración del equipo para realizar deposición de resina AZ [®] nLOF2020 con espesor de 2 μ m	63
4.2. Especificaciones de los reactivos utilizados en la síntesis del <i>MIP</i> para sarcosina.	72
6.1. Comparación del límite de detección para sarcosina por diferentes métodos.	106

Resumen

La detección en estadios tempranos de enfermedades potencialmente peligrosas para el ser humano, como lo es el cáncer de próstata (CaP), generalmente requiere instrumentación especializada, costosa y altamente invasiva. Por lo cual, la necesidad del desarrollo de biosensores rápidos, simples y sensibles que estén constituidos con módulos optoelectrónicos capaces de implementar técnicas de detección específicas mientras interactúan con el paciente de forma mínimamente invasiva es evidente.

En este trabajo se propone un sistema de medición que implementa módulos electrónicos en conjunto con transductores impedimétricos interdigitados de escala micrométrica en los que ha sido depositado un polímero de impresión molecular (*MIP*) selectivo para la detección del aminoácido sarcosina; un biomarcador asociado con el CaP. Se contrasta el desempeño de dos métodos para depositar el *MIP* sobre los microelectrodos interdigitados, obteniendo una inmovilización más homogénea de este a través de la deposición en dos pasos, con un volumen de plastificante de $12 \mu\text{L}$ y un espesor resultante de la capa de *MIP* entre 400 y 700 \AA . Asimismo, se utilizaron circuitos simulados acoplados con transductores impedimétricos para realizar mediciones de impedancia eléctrica aplicando una señal sinusoidal de 300 mV en el rango de 100 kHz a 100 Hz . Los resultados obtenidos evidencian una disminución en la impedancia eléctrica a medida que aumenta la concentración de sarcosina, presentando un mayor cambio porcentual a los 100 kHz de frecuencia. De manera conjunta, los resultados demuestran el potencial del sistema para la aplicación y, además, el trabajo desarrollado ofrece una alternativa para la detección de otras enfermedades que

puedan ser diagnosticadas a través de biomarcadores.

Abstract

The early detection of potentially life-threatening diseases, such as prostate cancer (PCa), generally requires specialized, expensive and highly invasive instrumentation. Therefore, the need for the development of fast, simple and sensitive biosensors consisting of optoelectronic modules capable of implementing specific detection techniques while interacting with the patient in a minimally invasive manner is evident.

In this work, a measurement system is proposed through electronic modules in conjunction with micrometer-scale interdigitated impedimetric transducers and a selective molecular imprinted polymer (*MIP*) that has been synthesized for the detection of the amino acid sarcosine; a biomarker associated with CaP. We contrast the performance of two methods for depositing *MIP* on interdigitated microelectrodes obtaining a more homogeneous immobilization of this through two-step deposition, with a plasticizer volume of 12 μL and a resulting *MIP* layer thickness between 400 and 700 \AA . Also, simulated circuits coupled with impedimetric transducers were used to perform electrical impedance measurements by applying a 300 mV sinusoidal signal in the range of 100 kHz to 100 Hz. The results obtained show a decrease in electrical impedance as the sarcosine concentration increases, presenting a greater percentage change at 100 kHz frequency. Together, the results demonstrate the potential of the system for application and, in addition, the work developed offers an alternative for the detection of other diseases that can be diagnosed through biomarkers.

Introducción

El cáncer de próstata (CaP) es el segundo más común en hombres [?]. Este se origina cuando células malignas de la próstata comienzan a crecer fuera de control [?]. Las técnicas para su diagnóstico han evolucionado con el tiempo, desde la implementación del examen rectal digital (DRE, por sus siglas en inglés) a principios del siglo XX, basándose en la firmeza, la irregularidad y la nodularidad como signos de la enfermedad, seguido por las biopsias, tanto rectales como transperineales, en las cuales la invasividad y los efectos secundarios asociados como infecciones, altas tasas de incontinencia urinaria y disfunción eréctil eran evidentes; provocando que estas técnicas desaparecieran casi por completo de la práctica clínica. Posteriormente, se implementó la biopsia por punción, hasta la llegada de lo que hoy se conoce como la era del Antígeno Específico Prostático (PSA, por sus siglas en inglés), así, la biopsia de próstata se trasladó del muestreo de nódulos prostáticos a relacionar el cáncer en con cifras elevadas de PSA [?]. Sin embargo, este método podría no ser exacto debido a que la concentración de PSA no sólo puede verse alterada por el CaP sino también por otras afecciones como la hipertrofia prostática benigna y la prostatitis [?]. En ese sentido, en los últimos años se han realizado numerosos estudios sobre biomarcadores más específicos del CaP. Estos estudios han manifestado una concentración significativa, específicamente aumentada, de sarcosina, un derivado metilado del aminoácido glicina, en sedimentos urinarios obtenidos de pacientes que padecían CaP metastásico, correlacionando así el incremento de sarcosina con la invasividad del cáncer [?][?][?]. Investigaciones

posteriores han demostrado que la sarcosina podría ser un biomarcador interesante para el CaP en muestras de suero y orina [?][?].

Aunque la cuantificación precisa de una molécula pequeña como la sarcosina en una matriz compleja se puede lograr mediante cromatografía líquida de alta resolución-espectrometría de masas (*HPLC*, por sus siglas en inglés) o cromatografía de gases-espectrometría de masas (*GC-MS*, por sus siglas en inglés) lo cierto es que estos métodos son costosos y requieren instalaciones de laboratorio médico especializado, lo que los hace inapropiado para las pruebas de rutina en una población más amplia [?]. Además, la preparación de la muestra es engorrosa y se requieren muestras estándar calibradas [?]. Por lo tanto, una plataforma de sensores de bajo costo y fácil de usar que pudiera detectar los niveles de sarcosina, podría constituir una herramienta muy útil en futuras investigaciones de biomarcadores y, potencialmente, en la monitorización del CaP.

Justificación

En la actualidad, los métodos convencionales para la detección del cáncer de próstata sugeridos por la Sociedad Estadounidense del Cáncer son el DRE y el PSA en suero [?]. Sin embargo, a pesar de ser este último ampliamente utilizado debido a un menor grado de invasividad, son su poca sensibilidad, especificidad y precisión, lo que hacen que esta molécula no se considere un biomarcador totalmente confiable para el CaP, por lo que, para tener un diagnóstico fiable, se debe recurrir a pruebas específicas, pero al mismo tiempo más invasivas que lo corroboren. Aunado a este panorama, el CaP es un cáncer común en los hombres cuya incidencia aumenta con la edad. Actualmente representa la segunda causa más frecuente de muerte por cáncer entre los hombres, con una mayor incidencia en áreas geográficas desarrolladas como América del Norte, Europa y Australia [?]. En México, a pesar de que la cantidad de casos de CaP es tres veces menor que lo observado en Estados Unidos de América, de acuerdo con el Instituto Nacional de Salud Pública

(INSP), este corresponde al tipo de cáncer más mortífero entre los hombres mexicanos, teniendo una tasa de 9.8 muertes por cada 100 mil hombres [?]. Ante las consideraciones planteadas anteriormente, el contexto mundial, pero particularmente del país, indica una necesidad enorme de detección eficaz y oportuna del cáncer de próstata. De tal manera que, un diagnóstico de CaP en estadio temprano, utilizando además métodos poco intrusivos beneficiaría el pronóstico del paciente, pues permitiría a los médicos tratar la enfermedad de manera más eficiente [?].

Descripción del problema

Si bien es cierto que existen diversas técnicas para la detección del CaP, este aún no ha sido perfectamente representado a través de diagnósticos in vitro, por tal motivo, la necesidad de una detección temprana y mínimamente invasiva es incuestionable. Lo anterior se refuerza considerando que el 70 % de los casos son detectados en etapas avanzadas [?], constituyendo un claro problema de déficit de pruebas de diagnóstico, asociado a la poca disposición de los pacientes a someterse a los métodos convencionales. Por consiguiente, la prevención y la detección a tiempo pueden ser las pautas que hagan la diferencia, lo cual sólo puede lograrse implementando técnicas que resulten poco invasivas para los pacientes, pero que a la vez posean la sensibilidad, la especificidad y la estabilidad adecuadas para arrojar resultados certeros.

Hipótesis

Un sistema de módulos electrónicos en conjunto con un transductor basado en microelectrodos interdigitados acoplado con un polímero de impresión molecular selectivo serán capaces de contribuir en la detección del aminoácido sarcosina a través de impedancia eléctrica brindando sensibilidad, especificidad y una opción poco invasiva.

Objetivo

Diseñar y evaluar un sistema de módulos electrónicos en conjunto con un transductor basado en microelectrodos interdigitados acoplado con un polímero de impresión molecular selectivo, para la detección del biomarcador sarcosina a través de impedancia eléctrica.

Objetivos específicos

- Diseñar los módulos electrónicos que comprenden el sistema de medición
- Diseñar los esquemáticos y *layouts* del sistema de módulos electrónicos por medio de software especializado
- Realizar pruebas de funcionamiento a los módulos electrónicos en conjunto con los microelectrodos interdigitados
- Sintetizar los polímeros de impresión molecular específicos para sarcosina
- Depositar el polímero de impresión molecular sobre los microelectrodos interdigitados
- Evaluar el acople de los microelectrodos interdigitados con el polímero de impresión molecular
- Evaluar el desempeño del sistema en conjunto para la detección de sarcosina mediante mediciones de impedancia eléctrica empleando un potencióstato comercial

2.1. Amplificador operacional

Un amplificador operacional es un circuito electrónico de muy alta ganancia con alta impedancia de entrada y baja impedancia de salida. El circuito básico se construye utilizando un amplificador diferencial de dos entradas denominadas inversora y no inversora y por lo menos una salida como se muestra en la Figura 2.1. La señal de salida puede tener la misma polaridad (o fase) si la señal se aplica a la entrada no inversora (+) o ser opuesta si se aplica a la entrada inversora (-). Estos dispositivos requieren además de dos fuentes de polaridad opuesta pero que son relativas a un punto común, definido en las fuentes de alimentación como tierra. Cabe señalar que a menudo, las mediciones están hechas respecto a este punto, que puede o no estar relacionado con la tierra física.

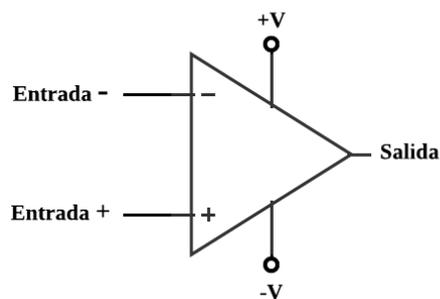


Figura 2.1: Amplificador operacional general.

Una propiedad importante del amplificador operacional es que la salida e_o corresponde al voltaje diferencial e_s amplificado, es decir, e_s está determinado por la diferencia de potencial entre el potencial de la entrada inversora y el de la entrada no inversora (véase Figura 2.2). Esto es:

$$e_s = e_- - e_+ \quad (2.1.1)$$

Considerando una señal conducida por la entrada inversora e_- y tomando en cuenta la amplificación, la salida e_o se puede expresar como:

$$e_o = -Ae_s \quad (2.1.2)$$

donde A es la ganancia de lazo abierto.

De manera particular y reformulando la ecuación 2.1.2, se obtiene que:

$$e_o = -A(e_- - e_+) \quad (2.1.3)$$

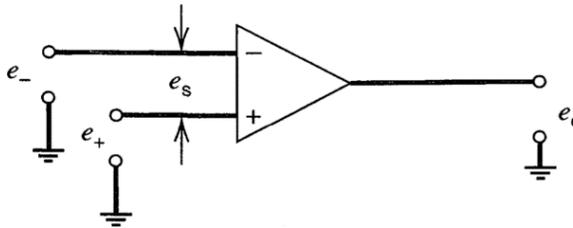


Figura 2.2: Amplificador operacional diferencial.

La importancia del amplificador operacional en la electrónica actual es significativa ya que este permite diseñar bloques funcionales con un comportamiento que es independiente de las características del elemento amplificador [?]. Las aplicaciones son diversas, entre las que destacan su uso en osciladores, convertidores, circuitos de filtrado y en muchos tipos de circuitos de instrumentación.

2.1.1. Amplificador operacional ideal

Los amplificadores operacionales en circuito integrado (CI) pueden ser tratados como ideales pues resulta más sencillo analizar el dispositivo desde este punto de vista. Así, las características de un amplificador operacional ideal, como lo ilustra la Figura 2.3aa) son:

- Impedancia de entrada (Z_i) infinita: físicamente, esto podría representarse como un circuito abierto de modo que pueden aceptarse voltajes de entrada sin consumir corriente de las fuentes de voltaje. Es decir, de manera ideal, no se dirigirá ninguna corriente hacia la entrada del amplificador operacional.
- Impedancia de salida (Z_o) cero: lo que significa que es posible suministrar cualquier corriente deseada a su carga. Pues la corriente a la salida no depende del voltaje de salida.
- Ganancia de voltaje (A) infinita: que se traduce en un ancho de banda infinito, capaz de responder fielmente a una señal de cualquier frecuencia.

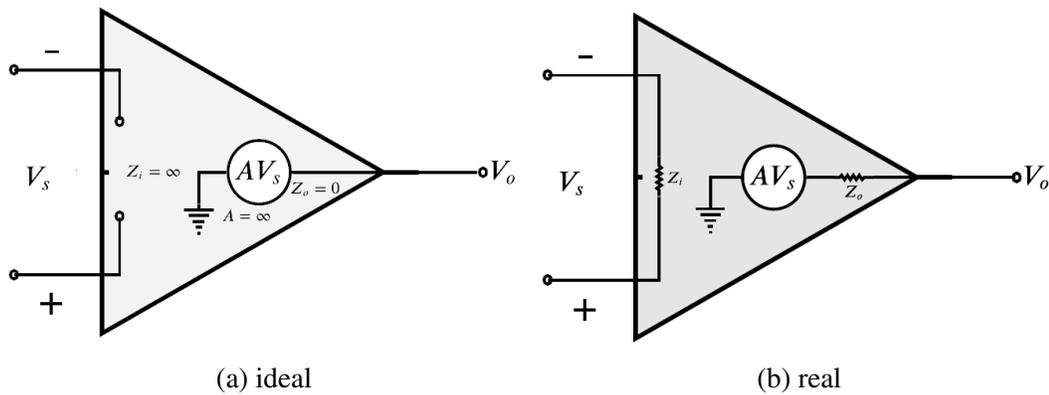


Figura 2.3: Esquema del amplificador operacional.

2.1.2. Amplificador operacional práctico

Los amplificadores operacionales reales tienen ciertas limitaciones como cualquier dispositivo, lo que hace que sus características y desempeño en la práctica difieran de las de

un amplificador operacional ideal. Así, las características de un amplificador operacional práctico corresponden a una muy alta ganancia de voltaje, una impedancia de entrada muy alta (por lo general de algunos Megaohms) y una impedancia de salida muy baja (de menos de 100Ω) [?] y cuyo circuito interno se representa en la Figura 2.3b. De igual forma, el voltaje de salida pico a pico (*rail-to rail*) normalmente se limita a un valor menor a los dos voltajes de alimentación. Además, la corriente de salida también se ve limitada por restricciones externas tales como la disipación de potencia y los valores nominales de los componentes.

2.1.3. Parámetros de los amplificadores operacionales

Los amplificadores operacionales poseen ciertos parámetros clave que ayudan a determinar su idoneidad frente a determinadas tareas. Los parámetros más importantes se pueden encontrar en las hojas de especificaciones de los amplificadores operacionales y algunos de estos se presentan a continuación.

- **Razón de rechazo de modo común (CMRR)**

Aunque el amplificador operacional ideal amplifica sólo la diferencia de señales de entrada, en la práctica se amplifican también las tensiones comunes a ambos terminales, como se ilustra en la Figura 2.4, pudiéndose definir una ganancia de modo común de la siguiente manera:

$$A_{CM} = \frac{V_O}{V_{CM}} \quad (2.1.4)$$

A través de este planteamiento es posible definir la razón de rechazo del modo común (CMRR) como el cociente de las ganancias de los modos diferencial y común [?], como se indica en la ecuación (2.1.5):

$$CMRR = \frac{A_O}{A_{CM}} \quad (2.1.5)$$

donde A_O es la ganancia diferencial y A_{CM} es la ganancia en modo común. El valor de la ganancia debe ser lo más elevado posible, pues a medida que este aumenta, el amplificador operacional es menos sensible a la señal común aplicada a la entrada. Otro condicionante asociado al CMRR es la frecuencia, pues un aumento en esta influye negativamente en el CMRR. En los amplificadores operacionales integrados de tipo comercial el valor de CMRR oscila entre 70 y 90 dB [?].

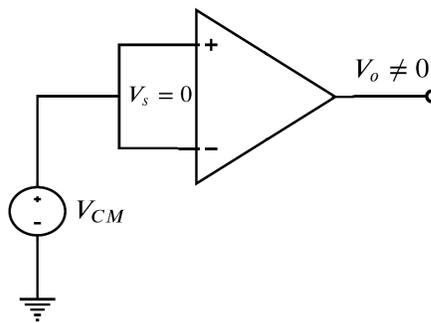


Figura 2.4: Ganancia en modo común

■ Tensión de *offset*

Se denomina *offset* a cualquier desequilibrio o asimetría en la distribución interna de tensiones en el amplificador operacional y esta tensión se define tanto a la entrada como a la salida. Idealmente, la tensión de salida en los amplificadores operacionales es nula si no se aplica señal. En la práctica, las imperfecciones de los elementos y las disimetrías de los circuitos hacen que la tensión de salida sí tenga algún valor aun cuando se aplique una tensión nula a las entradas. A fin de corregir este desequilibrio se emplea la tensión de offset de entrada V_{OS} , que se refiere a la tensión que hay que aplicar entre los terminales de entrada del amplificador operacional para obtener una tensión nula a la salida.

■ Ancho de banda

Se define como la gama de frecuencias de funcionamiento comprendida entre la fre-

cuencia de corte inferior y la superior (véase Figura 2.5). De manera particular, el ancho de banda en un amplificador operacional se refiere al rango de frecuencias que el dispositivo es capaz de amplificar.

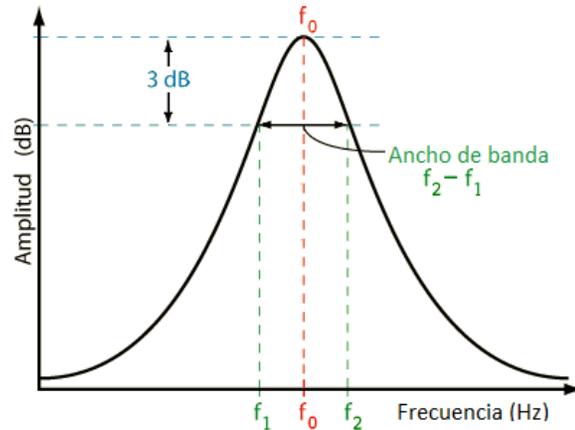


Figura 2.5: Representación del ancho de banda de una señal.

2.1.4. Configuraciones en lazo abierto y lazo cerrado

Los amplificadores operacionales pueden tener una operación de lazo cerrado o de lazo abierto dependiendo si se aplica o no retroalimentación. Ambas configuraciones se explican a continuación.

- **Lazo abierto**

En este tipo de configuración, como se muestra en la Figura 2.6, no hay lazo de realimentación entre la salida y alguna de las dos entradas, por lo que la ganancia A es obtenida directamente con el cociente entre la tensión de salida V_o y la de entrada V_i para un amplificador operacional (ecuación 2.1.6).

$$A = \frac{V_o}{V_i} \quad (2.1.6)$$

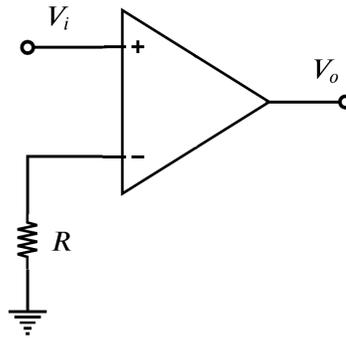


Figura 2.6: Configuración en lazo abierto del amplificador operacional.

■ Lazo cerrado

Como se sabe, los amplificadores operacionales prácticos tienen ganancia de tensión muy alta, sin embargo, esta ganancia varía con la frecuencia. La forma de compensar esto es controlando la ganancia de tensión que tiene el amplificador operacional, esto se logra utilizando elementos externos como resistencias para realimentar la señal de la salida a la entrada (véase Figura 2.7), lo que genera un circuito más estable. Así, la ganancia de lazo cerrado depende de los elementos empleados en la realimentación y no de la ganancia básica de tensión del amplificador operacional, por lo tanto, para modificarla sólo es necesario cambiar los valores de estos elementos.

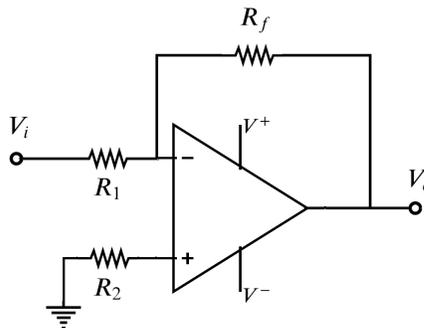


Figura 2.7: Configuración en lazo cerrado del amplificador operacional.

2.1.5. Configuraciones principales

Con la interconexión de amplificadores operacionales, resistencias, inductores y condensadores es posible generar configuraciones de circuitos que implementan funciones analógicas como: sumar, restar, comparar, integrar, filtrar y amplificar.

Seguidor de voltaje

También llamado amplificador *buffer* o amplificador de ganancia unitaria debido a que no proporciona amplificación o atenuación alguna a la señal. Es decir, en este tipo de arreglo de circuito, el voltaje de salida es retornado a la entrada [?], como se muestra en el diagrama de la Figura 2.8. Así, la salida es, idealmente, la misma que la entrada. Lo anterior, también se corrobora reformulando la ecuación 2.1.2 teniendo en cuenta que $e_s = e_o - e_i$ de esta forma,

$$e_o = -A(e_o - e_i) \quad (2.1.7)$$

o

$$e_o = \frac{e_i}{1 + 1/A} \quad (2.1.8)$$

y debido a que A es muy grande, entonces:

$$e_o \approx e_i \quad (2.1.9)$$

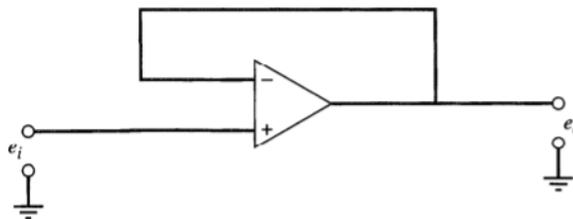


Figura 2.8: Configuración del amplificador operacional en modo seguidor de voltaje.

Amplificador inversor

Esta configuración tiene como característica que la señal de salida está desfasada 180° con relación a la de la entrada. Difiere del seguidor de corriente solo en que la corriente de entrada es conducida a través de una resistencia de entrada con un voltaje e_i , como se esquematiza en la Figura 2.9. Este circuito es entonces un escalador, en el que la salida es inversa a la entrada en polaridad, multiplicada por el factor R_f/R_i correspondiente a la ganancia en lazo cerrado, como se muestra en la ecuación 2.1.10, donde el signo negativo de la expresión indica la inversión de fase entre la entrada y la salida.

$$e_o = -e_i \left(\frac{R_f}{R_i} \right) \quad (2.1.10)$$

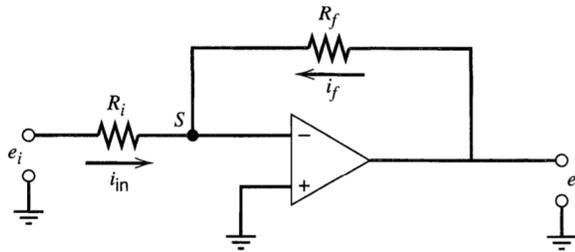


Figura 2.9: Configuración del amplificador operacional como inversor/escalador.

Conversor de corriente a voltaje

Esta configuración permite convertir señales de corriente muy pequeña a un voltaje de salida proporcional a la corriente de entrada, multiplicada por un factor determinado por la resistencia de realimentación, lo que permite realizar la medición de la corriente con mayor facilidad. Este circuito también es denominado amplificador de transresistencia debido al modo de operación. En la Figura 2.10 se muestra un diagrama de esta configuración. De acuerdo a la ley de voltajes de Kirchhoff, la suma de todas las corrientes en el punto S debe

ser cero. En realidad, el voltaje en el nodo de suma S para un dispositivo común ronda entre los $\pm 150 \mu\text{V}$, es decir, S no es una tierra real sino virtual [?], ya que no existe una conexión directa a esta, sin embargo, virtualmente se tiene el mismo potencial que la tierra. Esta característica es importante ya que permite convertir señales de corriente en voltaje equivalente, mientras la fuente de corriente es mantenida a un potencial de tierra, principio que sirve para construir dispositivos como un potencióstato [?]. En relación con la Figura 2.10, al sumar las corrientes en el nodo de tierra virtual se obtiene:

$$i_{in} + \frac{v_o - 0}{R_f} = 0 \quad (2.1.11)$$

o bien:

$$v_o = -R_f i_{in} \quad (2.1.12)$$

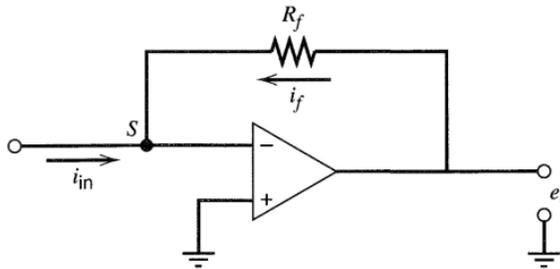


Figura 2.10: Configuración del amplificador operacional en modo convertidor de corriente a voltaje.

Sumador

Este arreglo está diseñado por la combinación de varias entradas aplicadas a la entrada inversora del amplificador y es capaz de entregar a su salida un voltaje correspondiente a la suma de sus voltajes de entrada, amplificados e invertidos en fase. Además, este tipo de configuración tiene una realimentación hacia la entrada inversora a través de la resistencia R_f mientras que la entrada no inversora es conectada a tierra. Entonces, si se considera

un circuito con tres fuentes de voltaje diferentes e_1 , e_2 y e_3 , y sus respectivas resistencias de entrada R_1 , R_2 y R_3 , se establece la existencia de las corrientes de entrada i_1 , i_2 , i_3 . El diagrama general de este amplificador se muestra en la Figura 2.11, mientras que la ecuación que describe el comportamiento de este circuito se muestra en la ecuación 2.1.13.

$$e_o = - \left[e_1 \left(\frac{R_f}{R_1} \right) + e_2 \left(\frac{R_f}{R_2} \right) + e_3 \left(\frac{R_f}{R_3} \right) \right] \quad (2.1.13)$$

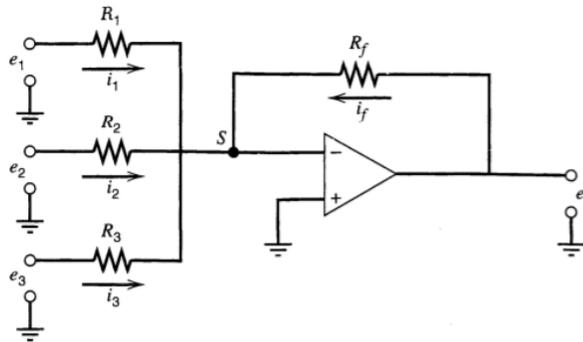


Figura 2.11: Amplificador operacional en configuración sumador.

2.1.6. Reguladores de voltaje

Los reguladores son dispositivos eléctricos diseñados para mantener un voltaje de salida fijo independiente de las variaciones de ondulación de la entrada, de la corriente de carga y de la temperatura [?], para así proteger a los equipos eléctricos y electrónicos conectados a una línea de tensión contra fenómenos como sobrevoltaje, caída de tensión y variaciones de voltaje [?].

El regulador de voltaje forma parte de las fuentes de alimentación, su voltaje de entrada es el resultado de la rectificación y filtrado de una fuente de voltaje alterna o simplemente de una batería, como en el caso de sistemas portátiles. La mayoría de los reguladores de voltaje se dividen en dos categorías: reguladores lineales y regulares de conmutación. A su vez, dentro de los reguladores lineales se encuentran el regulador en serie y el regulador en

paralelo, que pueden o no tener realimentación [?].

2.2. Dispositivos digitales

El gran desarrollo de la electrónica en los últimos años ha propiciado que la mayoría de los equipos actuales funcionen con sistemas digitales [?]. Estos sistemas se caracterizan por utilizar señales discretas, es decir, señales que toman un número finito de valores en cierto intervalo de tiempo, contrario a lo que sucede con un sistema analógico, el cual, proporciona una salida continua en el tiempo. Dicha comparación se muestra en la Figura 2.12. Sin embargo, el mundo real es analógico y la mayoría de las magnitudes físicas (posición, velocidad, aceleración, fuerza, presión, temperatura y caudal, por mencionar algunas) son de naturaleza analógica. Es por eso que las variables analógicas que estas representan deben digitalizarse o discretizarse.

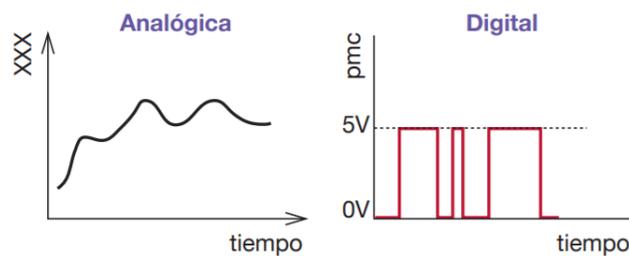


Figura 2.12: Representación de una señal analógica y una digital en el tiempo.

Dentro de las ventajas que poseen las técnicas y sistemas digitales se encuentran: una mayor precisión, capacidad de programación e inmunidad al ruido, así como un almacenamiento de datos más sencillo y la facilidad de fabricación en forma de circuito integrado, lo que lleva a la disponibilidad de funciones más complejas en un tamaño más pequeño [?]. Dicho de otro modo, el hecho de que en un circuito digital se transmita información binaria (ceros y unos) permite la construcción de circuitos complejos con la combinación de bloques de

circuitos simples.

2.2.1. Álgebra de Boole

La lógica digital se sustenta en el álgebra de Boole, la cual es una entidad matemática formada por: dos elementos, operaciones básicas sobre estos elementos y una lista de axiomas que definen las propiedades que cumplen las operaciones. Los dos elementos del álgebra de Boole se pueden denominar falso y cierto o, más usualmente, 0 y 1, respectivamente. Así, una variable booleana o variable lógica puede tomar los valores 0 o 1.

El álgebra booleana permite diseñar funciones lógicas que a su vez, se pueden implementar en circuitos electrónicos digitales. Estos circuitos se denominan compuertas lógicas y permiten generar tensiones según los valores (tomados como variables booleanas) de tensión aplicados al circuito. De esta manera, la relación entre las tensiones aplicadas y las tensiones que generan las compuertas lógicas obedece la relación que existe entre los operandos y los resultados de las operaciones del álgebra de Boole [?].

2.2.2. Compuertas lógicas

Las compuertas lógicas son la base constructiva de la electrónica digital. Estas corresponden a pequeños circuitos digitales integrados cuyo funcionamiento se adapta a las operaciones y postulados del álgebra de Boole. Las compuertas se implementan generalmente usando diodos, transistores y relés generando diferentes tipos de compuertas lógicas, dentro de las que se encuentran las de tipo AND, OR, NOT, NAND, NOR y XOR. Las AND, OR y NOT son compuertas básicas mientras que NAND y NOR corresponden a compuertas universales.

2.3. Circuitos mixtos

Se entiende por circuitos mixtos a aquellos que se basan tanto en técnicas analógicas como digitales para su operación. A continuación, se explican los más comunes y de mayor relevancia en la actualidad.

2.3.1. Convertidores analógicos a digitales

Los convertidores de señal analógica a digital (A/D) constituyen un enlace esencial cuando los dispositivos analógicos se interconectan con dispositivos digitales. Como se observa en la Figura 2.13, un convertidor A/D toma en su entrada un voltaje analógico y después de cierto tiempo produce un código de salida digital que representa la entrada analógica [?]. Este tipo de dispositivos se utiliza invariablemente en todos los equipos de medición y prueba de lectura digital, ya sea un multímetro digital, un osciloscopio de almacenamiento digital o incluso un medidor de pH, por mencionar algunos ejemplos.

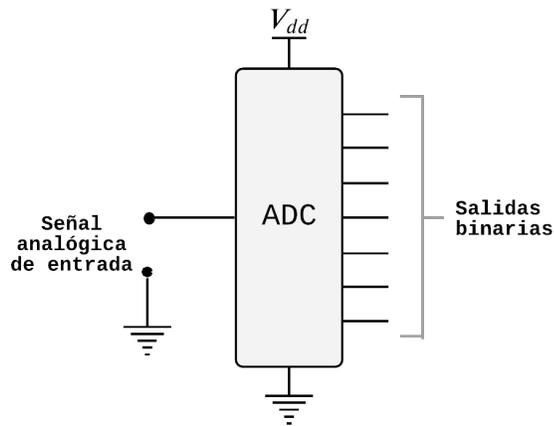


Figura 2.13: Esquema general de un conversor A/D.

2.3.2. Microcontroladores

Un microcontrolador es un dispositivo electrónico capaz de llevar a cabo procesos lógicos para desempeñar una tarea específica. Dicha tarea debe ser programada por el usuario a través de un lenguaje de programación y cuyo conjunto de instrucciones es grabado en la memoria de programa del microcontrolador. Este carácter programable de los microcontroladores simplifica el diseño de circuitos electrónicos ya que proporciona modularidad y flexibilidad. De esta forma, un mismo circuito se puede utilizar para realizar diferentes funciones con sólo cambiar el programa del microcontrolador. La arquitectura de un microcontrolador, como se observa en la Figura 2.14, es básicamente la de un computador debido a que está constituido por una CPU, memorias RAM, ROM y EEPROM, puertos periféricos y circuitos de entrada y salida, por mencionar los elementos más comunes.

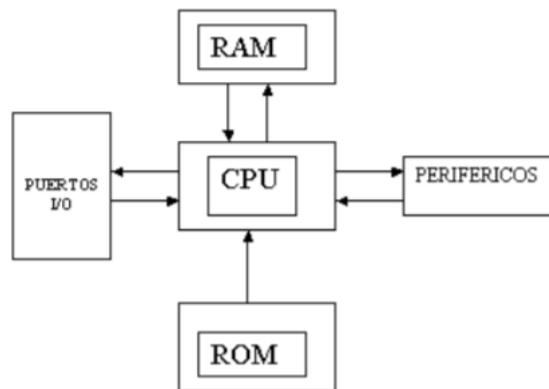


Figura 2.14: Arquitectura interna de un microcontrolador.

2.3.3. Protocolos de comunicación

Un componente importante en el sistema de comunicación es el protocolo de comunicación. Este se refiere al conjunto de reglas que gobierna el intercambio ordenado de datos dentro de la red. Los protocolos de comunicación son diversos y varían según el propósito o el grado de sofisticación, sin embargo, algunos de los más utilizados en los microcontroladores

dores para el intercambio de información son la comunicación en paralelo y el protocolo SPI.

Comunicación en modo paralelo

La comunicación paralela transmite todos los bits de un dato de manera simultánea (ver Figura 2.15), por lo que la velocidad de transferencia es rápida, sin embargo, tiene la desventaja de utilizar una gran cantidad de líneas, que lo hace más costoso y receptivo al ruido eléctrico. Estas desventajas son las que abrieron lugar a la adopción de los protocolos seriales [?].

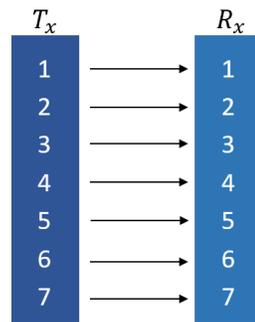


Figura 2.15: Esquema de comunicación en modo paralelo.

Interfaz Periférica Serial

La Interfaz Periférica Serial (SPI) fue desarrollada por Motorola (ahora parte de NXP Semiconductors) en 1985 [?]. Este protocolo nació como alternativa a los problemas de sincronización y cableado que ofrecía la comunicación en paralelo, modificando la anterior transferencia simultánea de datos por diferentes líneas al envío de datos bit a bit por una sola línea [?]. Se trata de una interfaz serial síncrona desarrollada para la comunicación entre dispositivos a corta distancia. Desde entonces, se ha convertido en un protocolo empleado por muchos fabricantes de microprocesadores y microcontroladores.

La comunicación por SPI usa un máximo de cuatro líneas de señal (Figura 2.16) dispuestas

en dos líneas de datos (*MOSI* y *MISO*), una línea de reloj (*SCK*) y una línea de selección de chip o esclavo (*CS*). En este protocolo toda la comunicación es manejada por el dispositivo maestro, lo que significa que ningún esclavo puede enviar datos por voluntad propia. El maestro envía datos a través del canal *MOSI* (*Master Out Slave In*, por su nombre en inglés), mientras que los dispositivos esclavos responden a través de la línea *MISO* (*Master In Slave Out*, por su nombre en inglés). La línea *SCK* corresponde a la señal de reloj, la cual sincroniza la recepción de los datos. Por cada pulso de reloj, un bit de información ingresa al dispositivo maestro o al esclavo. De tal manera que se requieren 8 pulsos para transferir 1 byte. Por su parte, la línea *CS* es encargada de seleccionar y a su vez, habilitar un esclavo.

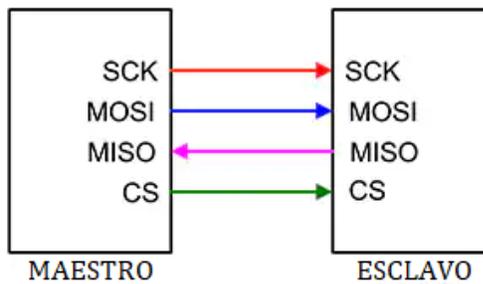


Figura 2.16: Conexión dúplex *SPI* básica que utiliza dos líneas de datos (*MOSI*, *MISO*), una línea de reloj (*SCK*) y una línea de selección de chip (*CS*). (Fuente de la imagen: Digi-Key Electronics).

2.4. Espectroscopia de impedancia eléctrica

La espectroscopia de impedancia eléctrica es una técnica que permite analizar las propiedades eléctricas de los materiales, incluso biológicos, y sus interfaces con electrodos conductores. En la actualidad, la técnica es cada vez más utilizada en el área de los biosensores [?][?]. Este método se basa en la aplicación de una señal de potencial (*E*) de baja amplitud sobre un electrodo dentro de una celda electroquímica y posteriormente se mide la respuesta en corriente del sistema a diferentes frecuencias, dando como resultado una

serie de valores de impedancia (Z). Esta relación de valores de impedancia y frecuencia se denomina “espectro de impedancias”. Una ventaja del uso de la espectroscopia de impedancia eléctrica como técnica analítica es que permite identificar, de manera muy sensible, los cambios que ocurren en la superficie de un electrodo [?]. Otro aspecto relevante es la conexión directa que a menudo existe entre el comportamiento de un sistema real y el de un circuito ideal que consiste en componentes electrónicos discreto, pues con ello, el investigador puede comparar o ajustar los datos de impedancia a un circuito equivalente, que es representativo de los procesos físicos que tienen lugar en el sistema bajo investigación [?].

2.4.1. Impedancia eléctrica

Se denomina impedancia (Z) a la oposición que presenta un material al paso de una corriente alterna y en términos generales, se expresa como la relación de la diferencia de potencial (E) respecto a la corriente (I):

$$Z = \frac{E}{I} \quad (2.4.1)$$

La unidad de la impedancia es el ohm (Ω) pero a diferencia de una resistencia óhmica (R), la impedancia de un sistema depende de la frecuencia (f) de la señal aplicada, la cual tiene un comportamiento sinusoidal:

$$E(t) = E_o \text{sen}(\omega t) \quad (2.4.2)$$

donde t es el tiempo, E_o es la amplitud del voltaje y ω es la frecuencia angular ($\omega = 2\pi f$).

Al manejar señales alternas, también es posible representar la impedancia mediante un número complejo (ecuación 2.4.3). La parte real está dada por la resistencia eléctrica (R) y la parte imaginaria está formada por la reactancia total (X), que corresponde a su vez a

la diferencia entre las reactancias de los elementos inductivos (X_L) y los capacitivos (X_C) (ecuación 2.4.4).

$$Z = R + jX \quad (2.4.3)$$

$$X = X_L - X_C \quad (2.4.4)$$

La impedancia de un sistema puede ser representada gráficamente a través de dos diagramas principales, el de Nyquist y el de Bode. El diagrama de Nyquist es una construcción de los datos de cada punto de frecuencia, que se trazan mediante la parte imaginaria de la impedancia en la ordenada y la parte real en la abscisa, como se muestra en la Figura 2.17. Por su parte, el diagrama de Bode (Figura 2.18) está constituido por el módulo de la impedancia ($|Z|$) y el ángulo de fase (ϕ) frente a la frecuencia (f). A diferencia del gráfico de Nyquist, el gráfico de Bode muestra información de frecuencia lo que lo hace muy útil en el análisis de los resultados.

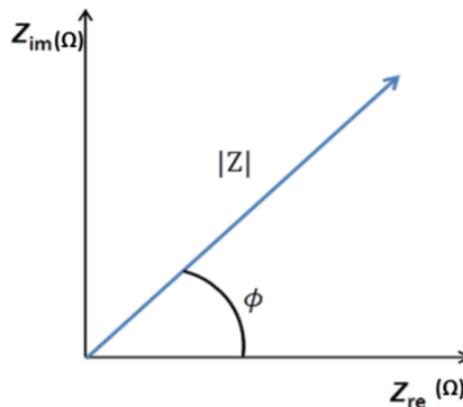


Figura 2.17: Diagrama de Nyquist.

2.4.2. Circuitos equivalentes

Una de las partes más complicadas de la espectroscopia de impedancia eléctrica es la correcta interpretación de la respuesta expresada en los espectros. Para un análisis eficaz,

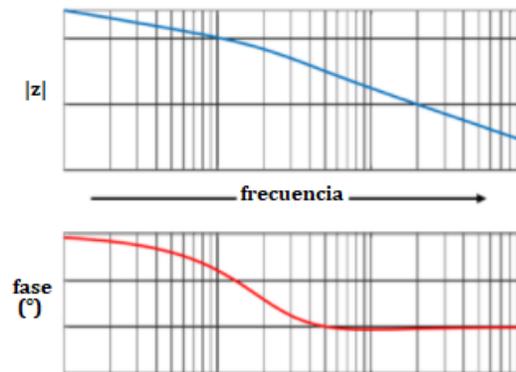


Figura 2.18: Diagrama de Bode.

los fenómenos físicos o químicos del sistema se representan mediante elementos eléctricos, por medio de un circuito equivalente (*Equivalent Circuit, EC*) [?]. De manera general, el EC está formado por capacitores (C) y resistencias (R) combinados en serie y/o en paralelo en función de los fenómenos que ocurren en el sistema de estudio, siendo estos componentes el reflejo de las características fisicoquímicas del sistema planteado. Según el modelo que se proponga y la forma de proponerlo, se puede obtener información de los parámetros característicos del mismo. Uno de los EC más utilizados es el circuito equivalente de Randles, cuyo esquemático se muestra en la Figura 2.19 [?]. Este circuito describe la resistencia de solución (R_S), la resistencia de transferencia de carga (R_{CT}) y la capacitancia de doble capa (C_{DL}).

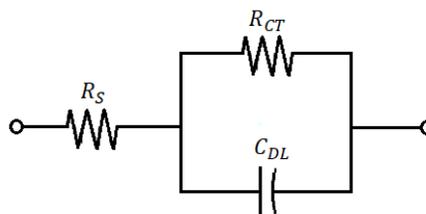


Figura 2.19: Circuito equivalente de Randles.

2.5. Biosensores impedimétricos

Los biosensores de impedancia o impedimétricos, son sensores capaces de registrar cambios en las propiedades eléctricas de su superficie (ya sea de capacitancia o de resistencia). Estos cambios son debidos a las interacciones que se producen entre el elemento de biorreconocimiento adherido a la superficie del sensor y el analito presente en la solución de muestra. Generalmente, se utilizan electrodos metálicos planos como transductores, sin embargo, para mejorar la sensibilidad de las mediciones y miniaturizar el elemento sensor final, es conveniente el uso de un transductor impedimétrico con dos electrodos planos interdigitados llamado matriz de electrodos interdigitados [?].

2.5.1. Microelectrodos interdigitados

Tradicionalmente, se han utilizado sistemas de electrodos metálicos de tamaño macro para medir la impedancia, pero la aplicación de tecnología moderna y el desarrollo de técnicas de microfabricación han permitido reducir significativamente las dimensiones de los sensores [?]. De esta manera, hoy en día los electrodos interdigitados (*IDE*, por sus siglas en inglés) representan una herramienta especialmente útil para mediciones de impedancia, capacitancia y conductividad. Entre las ventajas de los electrodos interdigitados se encuentran la fácil miniaturización, la ausencia de un electrodo de referencia adicional, y el establecimiento rápido del estado estacionario en comparación con otros sistemas y mayor relación señal-ruido [?]. Es importante destacar además que, estos brindan un área sensible significativa y se pueden combinar fácilmente con diferentes técnicas de inmovilización o bioreconocimiento.

El diseño común de un sensor *IDE* se muestra en la Figura 2.20. El dispositivo está compuesto por un par de electrodos metálicos en forma de peine formados sobre un sustrato aislante con sus barras colectoras conectadas a los pads de contacto empleadas para el cableado. La geometría del sensor depende del número (n) y la longitud (l) de los dígitos, así

como de su ancho (w) y espaciado (s) entre los mismos. Además, la penetración del campo eléctrico en la solución bajo un potencial aplicado es casi igual a la distancia entre los centros de los dígitos de los electrodos ($w + s$). Un estudio realizado por Van Gerwen et al. (1998) muestra que el 80 % de la corriente se distribuye cerca de la superficie del electrodo. Por tanto, la miniaturización del ancho del electrodo y la separación entre los electrodos permite el aumento de la sensibilidad, relacionada con las reacciones que ocurren en la superficie del sensor [?].

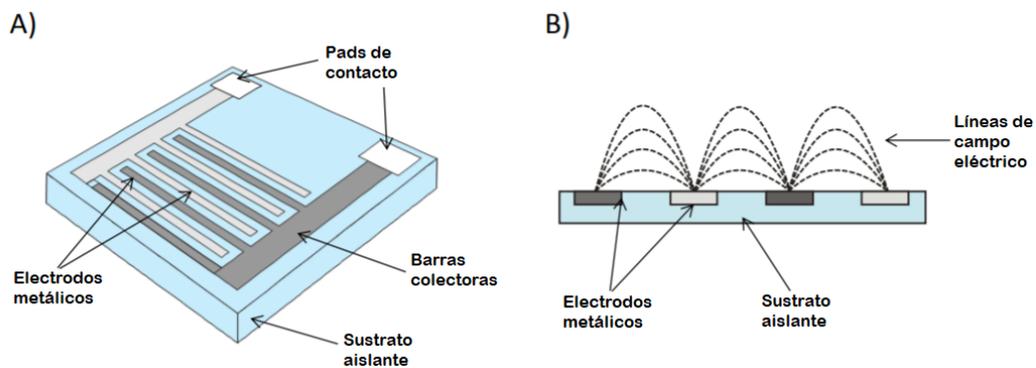


Figura 2.20: (A) Arreglo de electrodos interdigitados planos (*IDE*). (B) Sección transversal con las líneas del campo eléctrico.

2.6. Técnicas de microfabricación

Las técnicas de microfabricación son una serie de pasos para generar estructuras en escala micrométrica. Estas estructuras se pueden construir mediante procesos sustractivos en los que a través de la remoción de porciones del sustrato se obtiene la estructura tridimensional deseada, lo que se conoce como microfabricación del sustrato. O bien, las estructuras se pueden obtener a través de procesos aditivos que con la deposición de sucesivos materiales se definan las geometrías deseadas sin modificar el sustrato, lo que se denomina como microfabricación de superficie. Las técnicas de microfabricación más ampliamente utilizadas son la fotolitografía, la litografía blanda, la deposición de películas y el grabado [?]. En

las siguientes subsecciones se profundiza en las técnicas utilizadas en el presente trabajo.

2.6.1. Fotolitografía

La fotolitografía, también llamada litografía óptica o litografía UV, es un proceso por el cual se definen patrones de película delgada sobre un sustrato [?]. De manera particular, se utiliza luz para transferir un patrón geométrico de una fotomáscara a una "fotoresina" química sensible a la luz. Este proceso es ampliamente utilizado en la microfabricación de circuitos integrados o en sistemas microelectromecánicos (denominados *MEMS*) así como en el desarrollo de transductores para sensores [?]. Su amplio uso se debe a que se pueden crear patrones micrométricos, además de que la técnica permite un control exacto sobre la forma y el tamaño de los objetos que crea. Los pasos que comprenden el proceso fotolitográfico son:

- Limpieza de la superficie del sustrato de la muestra
- Tratamiento térmico de deshidratación, para expulsar el agua adsorbida en la superficie de la muestra
- Aplicación de la fotoresina
- Tratamiento térmico suave, para establecer las propiedades de la fotoresina
- Alineación de la fotomáscara en la muestra
- Exposición de la fotoresina
- Revelado y limpieza de la muestra para los pasos posteriores

2.6.2. Proceso de *Lift-off*

El proceso de *lift-off* en la tecnología de microfabricación es una técnica común para definir patrones de películas metálicas o dieléctricas en el rango de micrómetros o submicrómetros [?]. En este proceso se hace uso de una capa de sacrificio (usualmente fotorresistente) para definir el patrón del material objetivo (generalmente un metal). En

primera instancia, como se observa en la Figura 2.21a, la capa de sacrificio se aplica sobre el sustrato y se plasma el patrón deseado; luego, el material objetivo se deposita encima de la capa de sacrificio (Figura 2.21b). El paso final consiste en la eliminación del material de sacrificio (Figura 2.21c) para dejar plasmada la película solo en el área deseada [?].

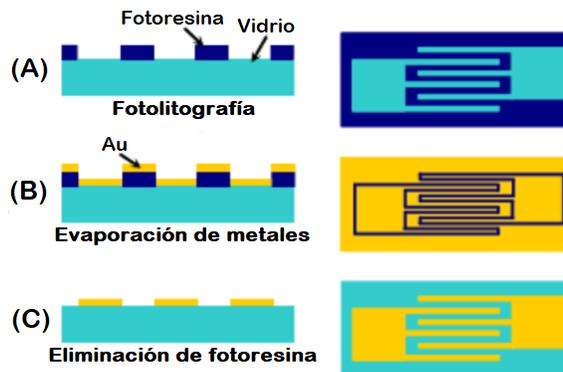


Figura 2.21: Proceso de fabricación de electrodos interdigitados a través de la técnica lift-off. (A) Modelado del patrón con fotoresina en vidrio para formar los electrodos interdigitados. (B) Evaporación del oro en la fotoresina y el vidrio. (C) Eliminación de la fotoresina para obtener el sustrato de electrodos interdigitados.

El principal beneficio de esta técnica radica en la capacidad para modelar una amplia variedad de materiales, especialmente metales inertes y difíciles de grabar. También evita daños y problemas de compatibilidad que pueden surgir con el grabado. No obstante, existen limitaciones que incluyen dificultad para remover material entre líneas, así como efectos de borde. Estos inconvenientes pueden mitigarse con una preparación y un procesamiento adecuados. Asociado con esto, es importante mencionar que el perfil de la fotoresina (*PR*) tiene un gran impacto en la calidad de su despegue. De modo que, para obtener espacios más pequeños entre líneas y conseguir bordes más limpios, se debe tener un patrón de *PR* tal que al depositar el metal se cree una película metálica discontinua para que el solvente que disuelve la *PR* pueda eliminar de forma efectiva el metal no deseado. Además, existen diversos tipos de fotoresinas para llevar a cabo la técnica, de las cuales destacan dos; el

perfil positivo y el perfil negativo.

Perfil positivo

Las *PR* de perfil positivo son adecuadas para los procesos de *lift-off* sólo en un grado limitado ya que estas no se entrecruzan, manteniendo el punto de ablandamiento en valores entre 110-130 °C [?]. Dado que estas temperaturas a menudo ocurren durante los procesos de recubrimiento típicos, la capa de *PR* se redondeará, promoviendo la cobertura de las paredes laterales durante el recubrimiento, lo que hará que su remoción sea difícil o incluso imposible.

Perfil negativo

La exposición a foto resistencias negativas provoca un cambio químico que hace que la resistencia sea insoluble en la solución reveladora, por lo que cuando la luz pasa a través de las aberturas de la foto máscara, conduce a áreas opacas en la resistencia desarrollada. Esto crea un patrón en la muestra que es el opuesto al de la máscara, es decir, una imagen negativa.

Las fotorresistencias negativas son generalmente la mejor opción para los procesos de *lift-off* ya que logran un socavado reproducible pues evitan que se recubran las paredes laterales de la capa protectora, lo que facilita el despegue posterior. Por otro lado, la reticulación de la resina de las fotorresistencias negativas comunes mantiene el socavado incluso a temperaturas de recubrimiento muy altas, lo que ayuda a mantener las cavidades durante la deposición.

2.6.3. Evaporación de metales por haz de electrones

En la técnica de deposición mediante evaporación por haz de electrones, se lleva a cabo el calentamiento del material hasta la fusión por medio del bombardeo del material

con electrones extraídos de un filamento por el que pasa una corriente eléctrica, lo que se conoce como efecto Joule. El montaje de la técnica es simple, y resulta muy apropiada para depositar metales y algunos compuestos de bajo punto de fusión (Al, Ag, Au, SiO₂, etc.). Los metales típicos usados como filamento son el tantalio (Ta), el molibdeno (Mo) y el wolframio o tungsteno (W) debido a que presentan una presión de vapor prácticamente nula a la temperatura de evaporación ($T_{vap} = 1000-2000$ °C). En la Figura 2.22 se ilustra el sistema de evaporación por haz de electrones.

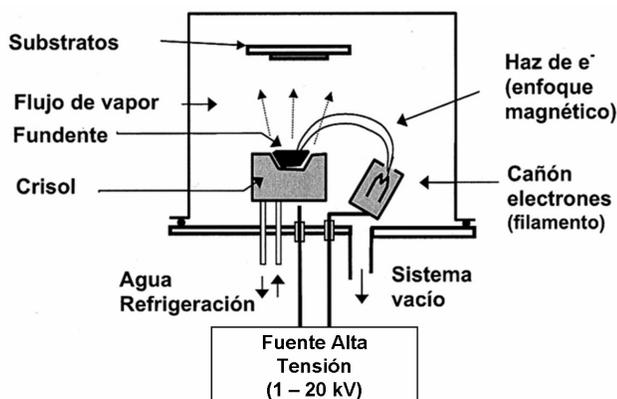


Figura 2.22: Esquema del equipo de deposición mediante calentamiento por haz de electrones.

2.7. Polímeros de impresión molecular

La impresión molecular es un método para producir sitios de reconocimiento específicos para una molécula diana en una matriz de polímero sintético. La técnica de impresión molecular se puede aplicar a una amplia gama de moléculas [?] [?]. En particular, los polímeros de impresión molecular (*MIP*, por sus siglas en inglés) son muy prometedores como sustitutos de los receptores naturales en los sensores de afinidad [?]. Los principales beneficios surgen de la fácil adaptación del receptor para una amplia gama de especies objetivo, desde iones y moléculas pequeñas, hasta compuestos macromoleculares. Asimismo, la buena estabilidad y la posibilidad de obtener *MIPs* en diversas formas físicas, como

membranas o nanopartículas, hacen que estos materiales sean muy atractivos en diversas aplicaciones [?] [?]. Los *MIPs* ofrecen potencialmente la especificidad y selectividad de los receptores biológicos con las ventajas explícitas de durabilidad, con respecto a las condiciones ambientales, y de bajo costo.

2.7.1. Síntesis

La técnica de impresión molecular se basa en la preparación de un polímero altamente entrecruzado alrededor de un analito utilizado como molécula molde. Este proceso se muestra en la figura 2.23. Inicialmente, el analito se pone en contacto con un monómero adecuado para formar un complejo de prepolimerización y posteriormente se le añade el entrecruzador, el iniciador y el disolvente en el que se llevará a cabo la polimerización. Una vez obtenido el polímero, se extrae la molécula molde, liberando los sitios de reconocimiento específico. Dicho reconocimiento se basa en la generación durante la polimerización de ‘cavidades que son complementarias en tamaño, forma y funcionalidad química al analito’ (Haupt, 2001), alcanzando constantes de afinidad y selectividad comparables a las del reconocimiento de los pares antígeno-anticuerpo.

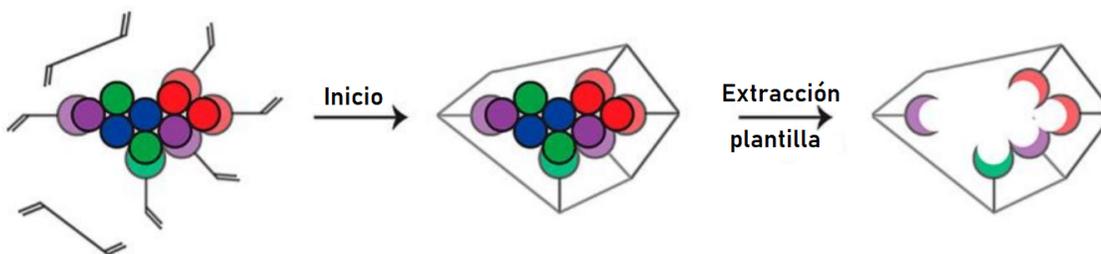


Figura 2.23: Proceso general de impresión molecular. Copyright 2017, American Chemical Society.

El complejo entre molécula plantilla y monómero funcional puede formarse a través de enlaces covalentes reversibles, interacciones no covalentes o por una combinación de ambos tipos de interacciones. Existen tres estrategias para llevar a cabo la polimerización en

función del tipo de interacción involucrada en el proceso de impresión o reconocimiento molecular: covalente, semicovalente y no covalente.

Síntesis covalente

En la impresión molecular covalente las interacciones entre los grupos funcionales de la molécula plantilla y el monómero funcional son mediante uniones covalentes que dan lugar a sitios de unión homogéneos y definidos. Además, debido a la adición estequiométrica de los monómeros funcionales, el porcentaje de unión no específica derivado es muy pequeño. Las interacciones responsables del enlace selectivo posterior del analito son también covalentes, lo que implica alta afinidad y selectividad hacia el analito, pero bajas cinéticas de enlace, siendo esta una de las mayores limitaciones, junto con la eliminación final de la molécula plantilla (normalmente hidrólisis catalizada). Dichos factores limitan el campo de aplicación de estos *MIPs*.

Síntesis semicovalente

En la polimerización semicovalente, aunque la interacción entre la molécula plantilla y el monómero funcional es covalente, la interacción implicada en el reconocimiento posterior de los analitos es de naturaleza no covalente. Esta es una técnica más versátil que la anterior que puede adaptarse a diferentes condiciones de polimerización, aunque de nuevo, la complejidad de la ruta de síntesis y de la química implicada en la eliminación de la molécula plantilla, la convierten en una opción poco utilizada [?] [?] [?].

Síntesis no covalente

En la impresión no covalente, los monómeros funcionales interactúan con la molécula plantilla en la mezcla de prepolimerización, originándose un reordenamiento molecular en el que se maximiza la interacción, que puede ocurrir en uno o más puntos de las moléculas y suelen involucrar enlaces de hidrógeno, interacciones π - π , dipolo-dipolo, iónicas

y/o hidrofóbicas. Esta es una técnica simple y versátil, con la generación durante la síntesis de una amplia variedad de uniones que, aunque son de carácter débil y no específico, el conjunto de los múltiples puntos de unión posibilita conseguir uniones suficientemente fuertes.

2.8. Sarcosina

La sarcosina es un aminoácido no proteínogénico que se puede encontrar en los músculos y la próstata. Se expresa en niveles bajos en individuos sanos o en pacientes con hiperplasia prostática benigna (HPB), mientras que se expresan niveles altos de sarcosina urinaria en hombres con cáncer de próstata localizado (CaP) o metastásico [?]. En consecuencia, el papel de la sarcosina como biomarcador del CaP en estadio temprano se ha estudiado intensamente. Los datos obtenidos sugieren que la sarcosina exhibe efectos estimulantes significativos sobre el crecimiento de las células prostáticas malignas/metastásicas, probablemente debido a la acumulación en el tumor de metabolitos de la sarcosina como la serina y la glicina, lo que proporciona promotores del crecimiento tumoral [?]. Considerando estos resultados, se han realizado múltiples estudios de validación interinstitucional para evaluar el poder discriminatorio de la sarcosina urinaria. Se ha comprobado que la sarcosina en sangre no solo aumenta excesivamente en pacientes con cáncer de próstata maligno, sino que también puede excretarse en la orina [?]. La concentración de sarcosina en sangre es de $1,4 \pm 0,6 \mu\text{mol/L}$ en condiciones normales [?] y 20 nmol/L en orina. Sin embargo, para los pacientes con CaP, los valores urinarios pueden alcanzar niveles micromolares [?][?]. En otro estudio se obtuvo que los niveles medios de sarcosina en suero y orina en los controles sanos fueron de $3,0 \pm 2,0$ y $6,0 \pm 2,0 \text{ ng / ml}$, respectivamente, mientras que fueron de $9,0 \pm 1,0$ y $8,0 \pm 1,0 \text{ ng / ml}$ en los pacientes con HPB, respectivamente. Los niveles de sarcosina en suero y orina en los pacientes con CaP recién diagnosticado (NDPCa) fueron 21.02 ± 2.0 y $15.0 \pm 2.0 \text{ ng/mL}$, respectivamente [?].

Los estudios convergen en el potencial uso de la sarcosina como biomarcador del CaP y su uso en biosensores puede ser una alternativa menos invasiva, más sencilla y más accesible a la población, que sustituya los procedimientos rigurosos actuales para la detección oportuna del CaP.

Diseño y construcción del sistema de medición

El presente trabajo consta de tres bloques de desarrollo principales: la síntesis del *MIP* que brinda especificidad al biosensor, la fabricación de los *IDEs* como transductor de señal y la electrónica encargada de medir y amplificar la señal producida por el transductor. Este capítulo aborda los tópicos relacionados con el diseño e implementación de la electrónica, la cual consiste de un sistema de medición de impedancia eléctrica. El diseño de este sistema se basó en la configuración típica que emplean los potenciómetros para aplicar y medir corrientes y/o potenciales eléctricos en una celda electroquímica. En este sentido, el sistema utiliza un arreglo de 3 electrodos para aplicar y controlar la diferencia de potencial aplicada a los *IDEs*, considerados como dispositivos bajo prueba (*DUT* por sus siglas en inglés). Esta parte de diseño y construcción del sistema de medición fue desarrollada apoyándose de un enfoque sistemático y secuencial conocido como modelo en cascada (ver Figura 3.1), propuesto por Winston W. Royce. Donde en primera instancia, se establecieron los requerimientos del sistema y una vez definidos, se procedió al diseño de los esquemáticos y *layouts* para después generar las placas de circuito impreso (*PCB* por sus siglas en inglés). Posteriormente, se desarrolló el código del sistema y se llevó a cabo su implementación. Finalmente, se realizaron pruebas de funcionamiento del sistema de medición.

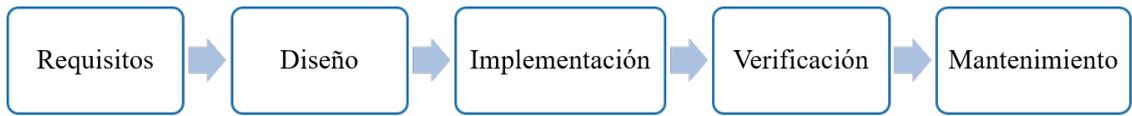


Figura 3.1: Enfoque metodológico en cascada propuesto por Winston W. Royce.

3.1. Estructura del sistema

La Figura 3.2 muestra una visión global del sistema de medición de impedancia propuesto. Este está basado en 6 bloques fundamentales: alimentación, generación de señales, configuración de la señal de excitación, medición de la corriente y del voltaje, tratamiento de las señales y procesamiento de la información.

El sistema completo se desarrolló en dos *PCBs*. La primera contiene los módulos encargados de la alimentación de ambas tarjetas y las fases encargadas de llevar a cabo la generación de la señal de excitación y las mediciones correspondientes. Por su parte, la segunda tarjeta incluye al microcontrolador, así como los *headers* asociados con la interconexión entre ambas tarjetas.

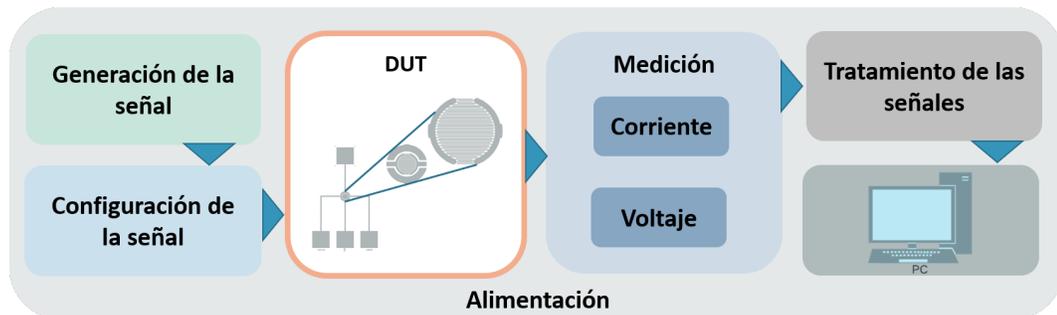


Figura 3.2: Bloques principales del sistema de medición.

3.1.1. Etapa de alimentación

La etapa de alimentación es la encargada de suministrar la energía necesaria para hacer funcionar las posteriores etapas que conforman el sistema, por lo que uno de los aspectos

primordiales fue la determinación de los rangos de alimentación. De esta forma y a manera de estandarizar, se tomó como consigna que los amplificadores operacionales y circuitos integrados a seleccionar tuvieran como característica una alimentación entre los ± 2.5 V, es decir, en un rango total de 5 V o bien, de 3.3 V para la parte analógica. Por otro lado, se definió un voltaje de alimentación de 3.3 V para la parte digital, de aquellos dispositivos que así lo requirieran.

Esta etapa se constituyó por un regulador de voltaje principal con un voltaje a la entrada de 7.4 V y a la salida de 5 V. Se emplearon reguladores de voltaje adicionales con la finalidad de obtener ± 2.5 V y 3.3 V, para alimentar la parte analógica, además de otro regulador encargado de suministrar 3.3 V a la parte digital. Aunado a estos, se agregó un regulador exclusivo para suministrar energía al conversor de datos a fin de evitar interferencias que pudieran generarse con otros dispositivos. Otra característica implementada en esta etapa es la posibilidad del sistema para ser alimentado con baterías, es decir, que el sistema de medición sea capaz de trabajar sin necesidad de ser conectado a la energía eléctrica. Esto se llevó a cabo a través del uso de una batería externa con voltaje nominal de 7.4 V, 10400 mAh de capacidad y una corriente máxima de descarga continua de 5.0A que es conectada directamente a la entrada del regulador de 7.4V.

3.1.2. Etapa de generación de señales

La técnica de impedancia eléctrica requiere la aplicación de una señal senoidal a los electrodos como forma de excitación por lo que se añadió en el diseño un generador de señales. Para tal efecto, se eligió al circuito integrado AD9833 de Analog Devices.

Dentro de las características de este sintetizador de forma de onda se encuentran:

- Salidas de onda sinusoidal, triangular y cuadrada
- Frecuencia y fase programables digitalmente
- Rango de frecuencia de salida de 0 MHz a 12.5 MHz
- Resolución de 28 bits: 0.1 Hz con reloj de referencia de 25 MHz

- Fuente de alimentación de 2,3 V a 5,5 V
- Interfaz SPI de 3 hilos
- Rango de temperatura extendido: -40 °C a +105 °C
- Opción de *power-down*
- Empaquetado MSOP de 10 derivaciones
- No requiere componentes externos para su funcionamiento

A la salida del generador de señales se incorporó un atenuador de señal con referencia LMP7312 de la compañía Texas Instruments. La función de este dispositivo es la de disminuir la amplitud de la señal generada si así se requiere, además de otorgar un rango más amplio de amplitudes de trabajo, según los requerimientos de las mediciones a realizar. En la entrada no inversora se colocó un *jumper* para elegir entre colocar dicha entrada a GND o incorporar una señal de referencia de 1.0 V, según el modo de configuración bipolar o unipolar de la señal de la entrada inversora.

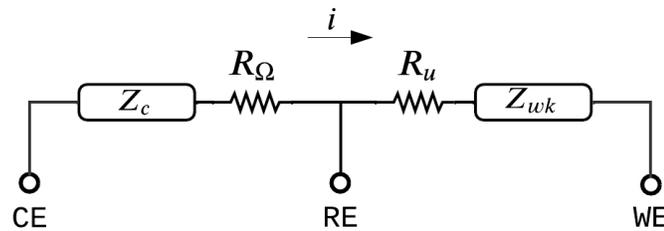
3.1.3. Etapas de configuración y medición de las señales

La etapa de configuración de las señales, así como la de mediciones están muy relacionadas entre sí en el diseño y el modo de trabajo, por lo que se presentan de manera conjunta.

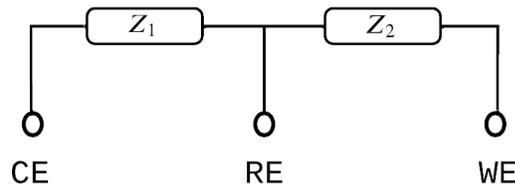
Se ha llamado etapa de configuración de las señales a la porción del proceso en el que la señal producida por el generador de señales es ajustada y encaminada hacia el electrodo correspondiente. Por su parte, la etapa de mediciones se refiere a la serie de pasos y dispositivos encargados de sensar tanto la corriente como el voltaje de los *IDEs*.

Ambas etapas se diseñaron tomando como base el funcionamiento de un potencióstato conectado a una configuración típica de 3 electrodos que consiste en un electrodo de trabajo (WE), uno de referencia (RE) y un contraelectrodo (CE). Dicho sistema se ha modelado como un arreglo de impedancias y resistencias (Figura 3.3a), donde Z_c y Z_{wk} representan la impedancia interfacial del contraelectrodo y del electrodo de trabajo, respectivamente.

Por su parte, R_{Ω} junto con R_u simbolizan la resistencia de la solución. Para fines prácticos, se ha despreciado la resistencia de la solución y se ha tomado el esquema de la Figura 3.3b como base para el diseño del sistema.



(a) Arreglo de resistencias e impedancias.



b)

(b) Arreglo de impedancias.

Figura 3.3: Arreglos que modelan una celda electroquímica a 3 electrodos.

En este sistema, la medición de la corriente del WE se realiza incorporando un amplificador de transimpedancia, mientras que la medición de su voltaje se lleva a cabo por un amplificador de ganancia programable (*PGA* por sus siglas en inglés) conectado al RE. Para garantizar el potencial entre WE y RE, se requiere de un amplificador operacional que, unido al contraelectrodo, cierre el circuito y que además, suministre la corriente necesaria para equilibrar la corriente observada en el electrodo de trabajo y así mantener constante el potencial del electrodo de referencia a fin de llevar a cabo de manera correcta las mediciones. Además, se incluyó un lazo de realimentación que va desde el electrodo de referencia hasta el punto de suma S, el cual también interviene en el control del potencial del electrodo de referencia. El diseño del circuito planteado se muestra en la Figura 3.4.

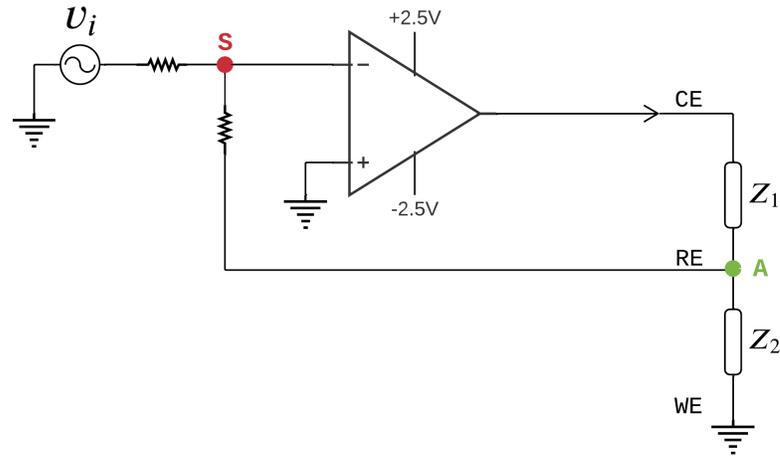


Figura 3.4: Diseño del sistema de medición utilizando un amplificador operacional.

Una vez planteada la primera aproximación del sistema de medición, se procedieron a diseñar, de manera detallada, las fases involucradas tanto en la etapa de configuración de señales como de las mediciones. Se planteó un diseño apoyado en el potencióstato sumador [?]. En conjunto, ambas etapas fueron conformadas por 5 fases bien diferenciadas por las características particulares de cada una y cuyo diseño se muestra en la Figura 3.5. La fase 1 corresponde a un amplificador inversor del cual se sustentan todas las otras fases y que se presentó anteriormente (ver Figura 3.4), enseguida se añadió un amplificador tipo *booster* con la finalidad de entregar una mayor potencia hacia el contraelectrodo. Por otro lado, se utilizó un seguidor de voltaje en el circuito de retroalimentación (fase 3). En la fase 4 se utilizó un amplificador de transconductancia para obtener las mediciones asociadas con la corriente. Y finalmente, para la fase 5 asociada con las mediciones de potencial, se incluyó un *PGA*.

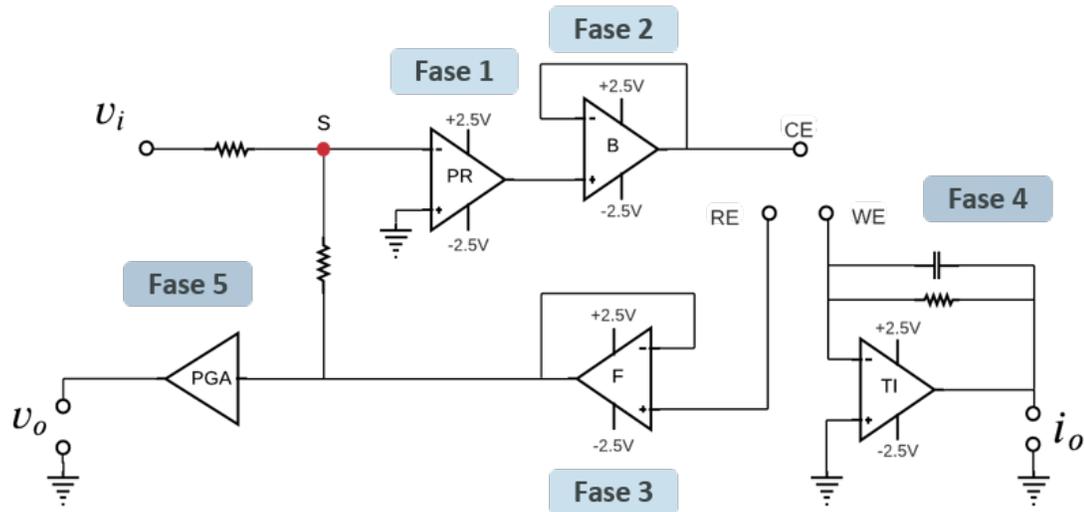


Figura 3.5: Fases que conforman la etapa de configuración de la señal y la etapa de medición.

A continuación, se explican con mayor profundidad las propiedades a considerar para cada fase según las tareas a desempeñar.

Fase 1

Esta fase corresponde al amplificador principal del potencióstato y es en el cual se sustenta el inicio del funcionamiento del sistema de medición. El amplificador se configuró en modo inversor, donde la terminal de entrada negativa recibe la onda generada de la etapa anterior así como la realimentación el circuito proveniente del *RE*. Al ser este el dispositivo principal en la etapa de configuración, además de ser el primero en lazo directo, se seleccionó con un nivel de *offset* bajo para reducir el error en el potencial aplicado. De igual manera, se tuvo en cuenta que las corrientes en las entradas (*bias*) fuera baja. Asimismo, se requirió de un amplificador capaz de alcanzar voltajes muy cercanos a los de las fuentes de alimentación, por lo que fue necesario que el amplificador tuviera la característica *rail-to-rail*. Por lo anterior, la opción más conveniente para esta fase fue un amplificador operacional de precisión (PR).

Fase 2

Esta fase está asociada directamente con el contraelectrodo por lo que el dispositivo seleccionado se encarga de suministrar la corriente suficiente para mantener el potencial en el *RE*. En este caso, se requiere una corriente significativa igual o mayor a 1 amperio. Debido a que los amplificadores que se utilizan para procesar señales generalmente son de baja potencia y solo tienen capacidad de generar en sus salidas tensiones en el rango de voltios y proporcionar intensidades en el rango de los miliamperes, se seleccionó un amplificador operacional de potencia.

Fase 3

Esta fase está en relación con el electrodo de referencia cuyo voltaje debe permanecer constante y conocido durante todo el tiempo de duración de las mediciones, por lo tanto, se debía garantizar que la corriente no circulara a través del mismo, de lo contrario, su potencial se afectaría y con ello las mediciones. Por tal motivo, se propuso un dispositivo con rechazo a interferencias electromagnéticas y de baja corriente entre las terminales de entrada (*bias*), en conjunto con una alta impedancia de entrada. Respecto a la configuración del amplificador, se planteó una configuración tipo *buffer*.

Fase 4

Esta fase está asociada con el electrodo de trabajo, lo que significa que a través de este amplificador de instrumentación se realizan las mediciones de la corriente. Sin embargo, medir corriente a menudo resulta difícil por lo que se implementó un amplificador operacional de transimpedancia, el cual recibe la corriente proveniente del electrodo de trabajo y otorga a la salida un voltaje proporcional a dicha corriente. Dentro de las características consideradas en la selección del dispositivo se tuvieron: bajo ruido, ajuste digital de la ganancia y ganancia constante hasta 1 MHz. En cuanto a su configuración, la etapa se

implementó con retroalimentación negativa en el que la entrada no inversora se encuentra conectada a tierra. Lo anterior asegura que la diferencia de potencial entre las entradas (inversora y no inversora) sea muy pequeña, incluso casi despreciable, llevando a considerar que ambos terminales se encuentran al mismo potencial, es decir, en tierra virtual. Así, este diseño sustenta el funcionamiento adecuado para llevar a cabo las mediciones correspondientes.

Fase 5

Esta fase fue implementada para medir el potencial del sistema, sin embargo, dado que se trabaja con señales de excitación muy pequeñas, los potenciales obtenidos también resultan en pequeñas magnitudes, por lo que fue necesario que este amplificador tuviese ganancia programable además de poder operar a valores tan cercanos como los de las fuentes de alimentación, es decir, poseer la característica *rail-to-rail*.

A manera de resumen, los parámetros principales de selección de dispositivos para cada fase se presentan en la Figura 3.6.

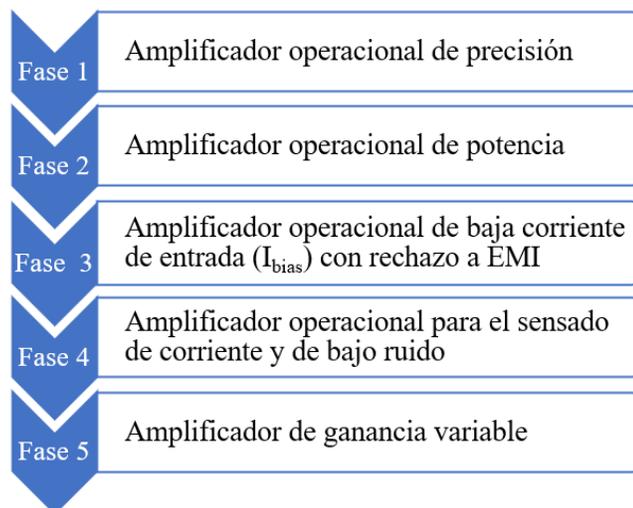


Figura 3.6: Propiedades asociadas a cada fase de las etapas de configuración de la señal y de medición.

Por su parte, la tabla 3.1 es una síntesis del análisis realizado anteriormente y contiene los rangos y valores numéricos asociados con las características más importantes de cada fase.

Tabla 3.1: Parámetros más importantes con sus respectivos rangos y valores numéricos asociados a cada fase de las etapas de configuración y medición de las señales.

Características	Fase 1	Fase 2	Fase 3	Fase 4	Fase 5
Voltaje de alimentación	$\pm 2.5V$	$\pm 2.5V$	$\pm 2.5V$	$\pm 2.5V$	$\pm 2.5V$
Nivel de <i>offset</i> a la entrada (V_{OS})	$\leq 100 \mu V$	$\leq 1 mV$	$\leq 1 mV$		$\leq 2 mV$
Corriente de entrada (I_{bias})	$\leq 10 pA$		$\leq 1 pA$	$\leq 1 pA$	
Corriente de salida (I_{out})		$\geq 1 A$			
<i>Rail-to-Rail</i>	Sí				Sí
Ganancia	Analógica	Analógica	Analógica	Digital	Digital

¹ Los espacios indican valores no significativos para el presente trabajo.

Posteriormente, se realizó un análisis detallado de amplificadores presentes en el mercado que cumplieran con las especificaciones propuestas para cada fase. En primera instancia, fueron seleccionadas varias opciones para una misma fase, como se muestra en la tabla 3.2. Finalmente, se eligió aquel componente que, en términos generales, aportara un mejor desempeño, a la vez que se consideró el tipo de empaquetado, siendo predilecto el tipo de montaje superficial. La información de los componentes propuestos y de los seleccionados se presenta en la tabla 3.2.

Tabla 3.2: Componentes propuestos y componente seleccionado para cada una de las cinco fases de las etapas de configuración de señales y de medición.

Fases	Componentes propuestos	Componente seleccionado
Fase 1	<ul style="list-style-type: none"> ■ LMP201MF/NOPB ■ LTC2066IS5#TRPBF ■ OPA2156IDR 	LMP201MF/NOPB
Fase 2	<ul style="list-style-type: none"> ■ OPA56AIRHGR ■ OPA569AIDWPR 	OPA569AIDWPR
Fase 3	<ul style="list-style-type: none"> ■ TLV90601S ■ LMV861 ■ MCP6421/2/4 	TLV90601S
Fase 4	<ul style="list-style-type: none"> ■ ADA4350ARUZ ■ MCP6C02T-100E/CHY 	ADA4350ARUZ
Fase 5	<ul style="list-style-type: none"> ■ PGA113 ■ LTC6910-1CTS8#TRPBF ■ LTC6912CGN-1#PBF 	LTC6912CGN-1#PBF

3.1.4. Etapa de acondicionamiento de las señales

En ocasiones es necesario realizar un tratamiento de la señal de respuesta obtenida para eliminar el ruido que la acompaña o adecuar las señales para el posterior procesamiento de la información. En este sentido, en el presente trabajo se propuso un tratamiento de las señales previo a la digitalización de las mismas. Esta etapa comprende el filtrado y la amplificación de las señales de corriente y de voltaje obtenidas en la etapa anterior.

Filtrado y amplificación

En primera instancia, se realizó una reducción de ruido a altas frecuencias en la medición de la corriente a través del uso del propio amplificador empleado para el sensado (ADA4350ARUZ). Esto debido a que el dispositivo posee una buena respuesta en frecuencia entre los 0 Hz y 10 MHz [?], después de tal frecuencia las señales comienzan a verse suprimidas. Cabe mencionar que en las pruebas se evaluó esta condición para considerar si era necesario la implementación de filtros adicionales. También, se agregaron amplificadores operacionales duales con la finalidad de colocar ganancia a ambas señales y aumentar así su amplitud. Además, dicha amplificación también contribuyó al aprovechamiento de la precisión del conversor de datos al ocupar todo su rango de voltaje de entrada.

Conversor analógico-digital

Dado que las señales obtenidas tanto de la corriente (i_O) como del voltaje (v_O) son analógicas, estas deben ser digitalizadas para ser procesadas y/o almacenadas como información. Por tal motivo, se implementó el conversor de datos AD9248 de Analog Devices. Dentro de sus características más importantes se encuentran que este conversor A/D es dual, lo que permite hacer la conversión digital de ambas señales con el mismo dispositivo, además, cuenta con 14 bits de precisión y es capaz de realizar 40 MSPS (megamuestras por segundo, por sus siglas en inglés). Adicionalmente, este conversor tiene un bajo consumo de energía de 330 mW [?]. El diagrama funcional del conversor A/D se muestra en la Figura 3.7.

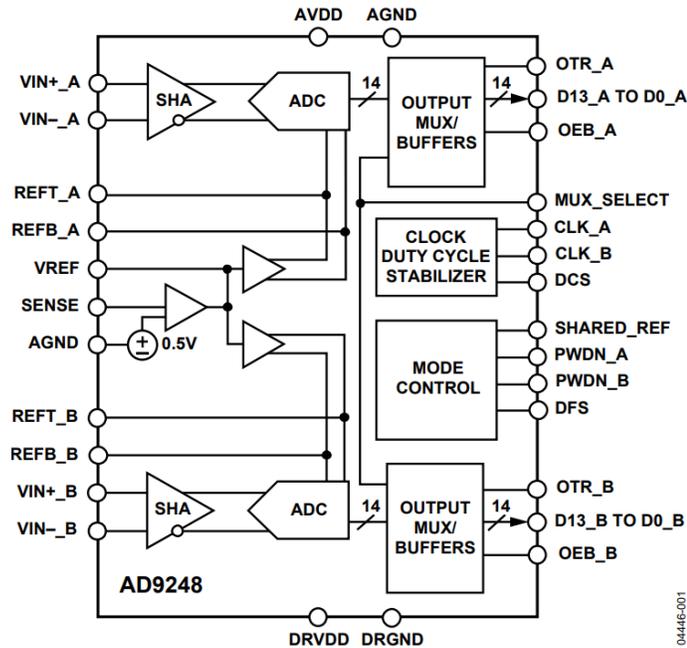


Figura 3.7: Diagrama funcional de bloques del convertor analógico-digital AD9248. Recuperado <https://www.analog.com/media/en/technical-documentation/data-sheets/AD9248.pdf>

3.1.5. Procesamiento de las señales

Las señales digitalizadas fueron procesadas con el propósito de reconstruir las señales senoidales de corriente y de voltaje y así calcular la impedancia. Esto se realizó a través de la regresión senoidal y la regresión circular.

Regresión senoidal

Esta técnica se empleó como un medio para calcular la impedancia eléctrica del sistema. Se basa en pares de conjuntos de datos X e Y pertenecientes a una señal que se parece a una forma senoidal, por lo que es posible describir dicha señal a través de la siguiente expresión:

$$\bar{Y} = A_1 \cos(\omega t) + A_2 \sin(\omega t) \quad (3.1.1)$$

donde \bar{Y} es el conjunto de valores generados a partir del conjunto de datos X que describen la señal sinusoidal que más se aproxima a la señal real. Los valores de A_1 y A_2 vienen dados por [?]:

$$A_1 = \frac{B - C}{F - G} \quad (3.1.2)$$

$$A_2 = \frac{D - E}{F - G} \quad (3.1.3)$$

donde

$$B = \left(\sum_{i=1}^n Y_i \cos(\omega X_i) \right) \left(\sum_{i=1}^n \sin^2(\omega X_i) \right) \quad (3.1.4)$$

$$C = \left(\sum_{i=1}^n Y_i \sin(\omega X_i) \right) \left(\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \sin(2\omega X_i) \right) \quad (3.1.5)$$

$$D = \left(\sum_{i=1}^n Y_i \sin(\omega X_i) \right) \left(\sum_{i=1}^n \cos^2(\omega X_i) \right) \quad (3.1.6)$$

$$E = \left(\sum_{i=1}^n Y_i \cos(\omega X_i) \right) \left(\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \sin(2\omega X_i) \right) \quad (3.1.7)$$

$$F = \left(\sum_{i=1}^n Y_i \cos^2(\omega X_i) \right) \left(\sum_{i=1}^n \sin^2(\omega X_i) \right) \quad (3.1.8)$$

$$G = \frac{1}{4} \left(\sum_{i=1}^n \sin(2\omega X_i) \right)^2 \quad (3.1.9)$$

Para obtener una expresión de la forma

$$\bar{Y} = A \cos(\omega X + \varphi) \quad (3.1.10)$$

se pueden aplicar las siguientes ecuaciones

$$A = \sqrt{A_1^2 + A_2^2} \quad (3.1.11)$$

$$\varphi = \tan^{-1} \left(\frac{A_2}{A_1} \right) \quad (3.1.12)$$

Finalmente, el error de esta aproximación está dado por

$$e = \sum_{i=1}^n (Y_i - A \cos(\omega X + \varphi))^2 \quad (3.1.13)$$

Regresión circular

Una vez obtenidos los valores de impedancia, esta técnica fue utilizada para generar los diagramas tanto de Bode como de Nyquist asumiendo una celda de Randles como modelo. Es posible aplicar dicho procedimiento a partir de un par de conjuntos de datos X e Y pertenecientes a una curva que se asemeja a un círculo con centro en $C(h, 0)$. Asociado a esto, se puede obtener una expresión que describa la circunferencia de la siguiente forma

$$\bar{Y}^2 = R^2 - (X_i - h)^2 \quad (3.1.14)$$

donde \bar{Y} es el conjunto de valores generados a partir del conjunto de datos X que describen la circunferencia que mejor se ajusta a los datos X e Y . Los valores h y R están dados por [?]

$$h = \frac{\sum_{i=1}^n X_i^2 + \sum_{i=1}^n X_i Y_i^2 - \left[\left(\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i \right) \left(\sum_{i=1}^n X_i^2 + \sum_{i=1}^n Y_i^2 \right) \right]}{2 \left(\sum_{i=1}^n X_i^2 \right) - \frac{2}{n} \left(\sum_{i=1}^n X_i \right)^2} \quad (3.1.15)$$

$$R = \left[h^2 - \left(\frac{2}{n} \sum_{i=1}^n X_i \right) + \frac{1}{n} \left(\sum_{i=1}^n X_i + \sum_{i=1}^n Y_i^2 \right) \right]^{\frac{1}{2}} \quad (3.1.16)$$

El error de la aproximación está dado por

$$e = \sum_{i=1}^n (\bar{Y}^2 - Y_i^2)^2 \quad (3.1.17)$$

3.1.6. Control de dispositivos

Se implementó un microcontrolador encargado de dirigir todas las acciones de operación de los dispositivos involucrados, así como de procesar la información de todo el sistema. El dispositivo seleccionado fue el MC56F8367 de la compañía NXP® Semiconductors. Este es un controlador de señal digital (*DSC*, por sus siglas en inglés) de 16 bits que opera a 60 MHz y 60 MIPS (megainstrucciones por segundo). Está dotado con 512 KB de memoria flash de programa, 4 KB de *RAM* de programa, 32 KB de *RAM* de datos, 32 KB de flash de datos y 32 KB de memoria flash de arranque, así como como un conjunto flexible de periféricos [?]. Otras de sus características son:

- Funcionalidad *DSP* y *MCU* unificadas
- *Chip Select* lógico
- Hasta dos módulos *PWM* de 6 canales
- Cuatro ADC de 4 canales de 12 bits cada uno
- Hasta dos interfaces periféricas en serie (*SPI*)
- Hasta cuatro temporizadores cuádruples de uso general
- Hasta 76 líneas de propósito general (*GPIO*)
- Empaquetado LQFP de 160 pines

Este dispositivo está encargado de realizar dos tipos de funciones: control de otros dispositivos por medio de sus módulos periféricos, y procesamiento de señales y cálculo de la impedancia. Los periféricos que fueron configurados corresponden a las interfaces periféricas en serie (*SPI*), los moduladores de ancho de pulso (*PWM*), los módulos de temporizador y los módulos de entrada/salida de uso general (*GPIO*), entre otros. Este *DSC* fue programado a través del software Codewarrior® 11.1. El código cargado al *DSC*

incluye la inicialización de los dispositivos y periféricos utilizados, las tareas de control, la ejecución del teorema de muestreo por desfase y la implementación matemática de la regresión sinusoidal y circular necesarias para el cálculo de la impedancia.

Respecto a la comunicación entre dispositivos, se empleó el protocolo serial *SPI*, donde el microcontrolador estuvo configurado en todo momento como maestro. Este *DSC* cuenta con dos interfaces *SPI* denominadas *SPI0* y *SPI1*. Los dispositivos de las diferentes etapas fueron asignados a cada interfaz *SPI* como se muestra en la siguiente tabla.

Datos de referencia		SPI		
Componente	Características	Módulo	Modo	Paquete de datos
AD9833	Generador programable de onda	SPI0	Esclavo	16 bits
ADA4350ARUZ	Amplificador de entrada FET con una red de conmutación	SPI0	Esclavo	24 bits
MAX5481EUD+	Potenciómetro digital	SPI0	Esclavo	10 bits
LMP7312	Atenuador de ganancia variable programable digitalmente	SPI0	Esclavo	5 bits
LTC6912C-1	Amplificador de ganancia programable digitalmente (PGA) y de bajo ruido	SPI1	Esclavo	3 bits
MCP42010-I/ST	Potenciómetro digital dual	SPI1	Esclavo	8 bits

Tabla 3.3: Componentes asignados a cada interfaz SPI del controlador MC56F8367.

3.2. Diseño de las tarjetas de circuito impreso PCB

Se diseñaron dos tarjetas de circuito impreso (PCB, por sus siglas en inglés) que conforman el sistema de medición. La primera tarjeta está constituida por los módulos elec-

trónicos, es decir, por las etapas y fases planteadas en las secciones anteriores del presente capítulo. El diseño de este circuito general que se ha tomado como base para el diseño de su placa de circuito impreso se muestra en la Figura 3.8. La segunda tarjeta incluye al microcontrolador, así como los *headers* asociados con la interconexión entre ambas tarjetas. El diseño incluye la realización de los diagramas esquemáticos y los *layouts* de cada una.

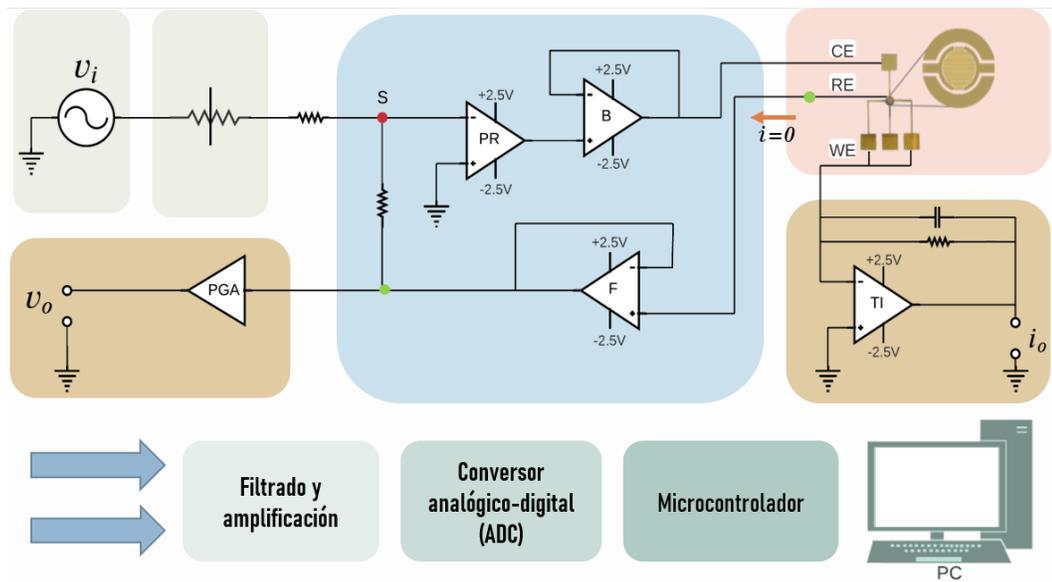


Figura 3.8: Circuito general de los módulos electrónicos como base para el diseño de la tarjeta.

3.2.1. Diseño de diagramas esquemáticos

Los diseños esquemáticos de los componentes fueron realizados utilizando el software especializado en diseño electrónico, PROTEUS[®] versión 8.10. El diseño esquemático es de utilidad para identificar los pines de los componentes electrónicos empleados, así como para definir las conexiones entre componentes. Los diagramas se realizaron poniendo especial énfasis en el tipo de empaquetado y el número de terminales de acuerdo con la información presentada en sus respectivas hojas de datos.

A través de las etapas se agregaron amplificadores en modo *buffer* para acoplar impedan-

cias. Esta configuración tipo seguidor de voltaje, como se ilustra en la Figura 3.9, proporciona un efecto de aislamiento de la salida respecto a la señal de entrada, anulando los efectos de carga y asegurando que la tensión no disminuya a través de las etapas del circuito.

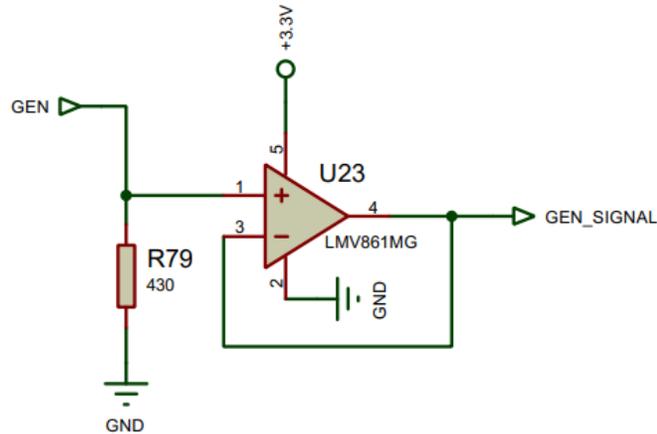


Figura 3.9: Configuración en modo seguidor de voltaje (*buffer*).

Cabe mencionar que también se agregaron *jumpers* tanto a la entrada como a la salida de las fases de cada etapa (véase la Figura 3.10). Lo que garantiza, por un lado, habilitar y deshabilitar componentes de forma rápida y oportuna, y por otra parte, facilita la posibilidad de realizar futuras pruebas de funcionamiento por etapas. Además, su implementación también es una medida de protección para evitar daños a fases siguientes en el proceso de pruebas.

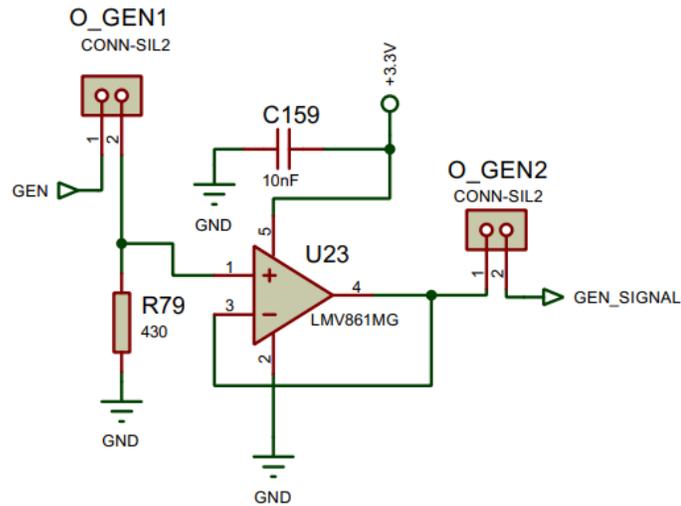


Figura 3.10: Diagrama esquemático que muestra el uso de un *jumper* (O_GEN1) a la entrada del amplificador operacional que habilita o deshabilita el paso de la señal hacia el amplificador. Un segundo *jumper* (O_GEN2) se encuentra a la salida para habilitar o interrumpir la señal obtenida del amplificador.

Adicionalmente, se agregaron capacitores cerámicos de $0.1 \mu\text{F}$ en las entradas de alimentación de los dispositivos, los cuales actúan como capacitores de desacople (Figura 3.11) al remover el ruido de CA proveniente de las fuentes de alimentación, en este caso particular, de los reguladores de voltaje.

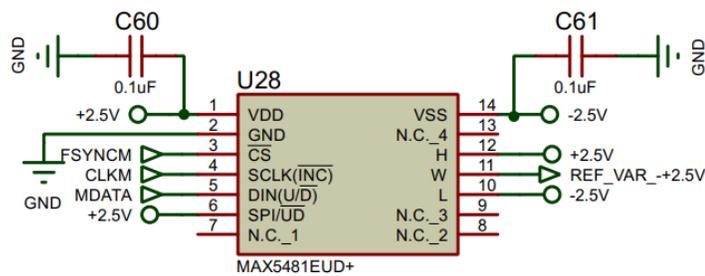


Figura 3.11: Capacitores de desacople implementados en los terminales de alimentación de los amplificadores operacionales.

3.2.2. Diseño de *layouts*

El diseño de los *layouts* está relacionado con el aspecto físico de la tarjeta, tanto en la disposición de los componentes como del enrutado.

Los componentes fueron estratégicamente agrupados por etapas en la tarjeta y los *headers* fueron posicionados en los bordes para facilitar las conexiones, a la par que se consideró que la disposición fuera lo más compacta posible.

Por su parte, las pistas se realizaron tomando en consideración las siguientes reglas de diseño:

- Número de capas de cobre
- Tolerancia pad-pad
- Tolerancia pad-pista
- Tolerancia pista-pista

Las Figuras 3.12 y 3.13 muestran las vistas superior e inferior, respectivamente, de las pistas de interconexión realizadas en la tarjeta del controlador.

Por otro lado, debido al número de componentes y al tamaño de la tarjeta de medición, se optó por emplear una PCB a 4 capas para, de este modo, tener dos vías de enrutamiento adicionales y aprovechar al máximo ambos lados de la tarjeta. En la Figura 3.14 se muestra el enrutado realizado en las capas internas, así como una vista superior del acomodo espacial de los componentes de la tarjeta de medición. Finalmente, dada la complejidad en términos de empaquetado, tamaño y número de componentes empleados, las placas fueron fabricadas por Sheltec, una compañía con sede en El Marqués, Qro., México.

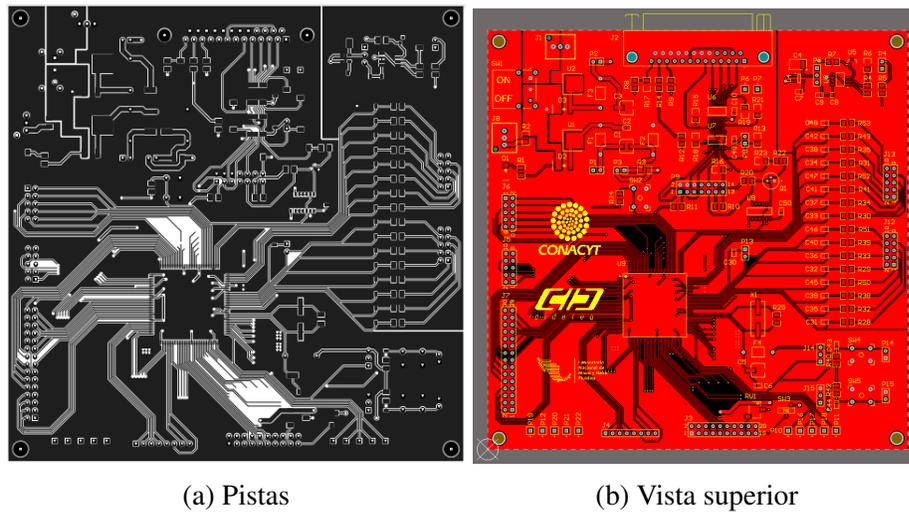


Figura 3.12: *Layouts* de la capa superior de la tarjeta del controlador.

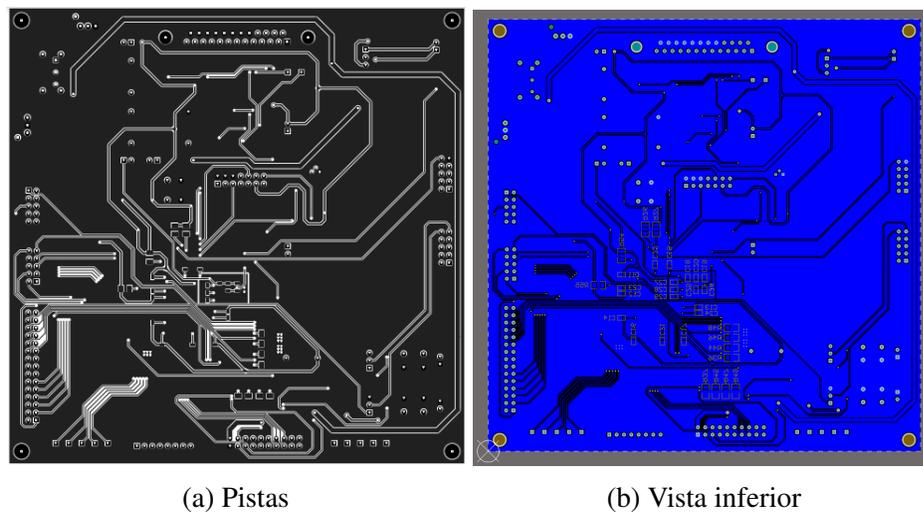
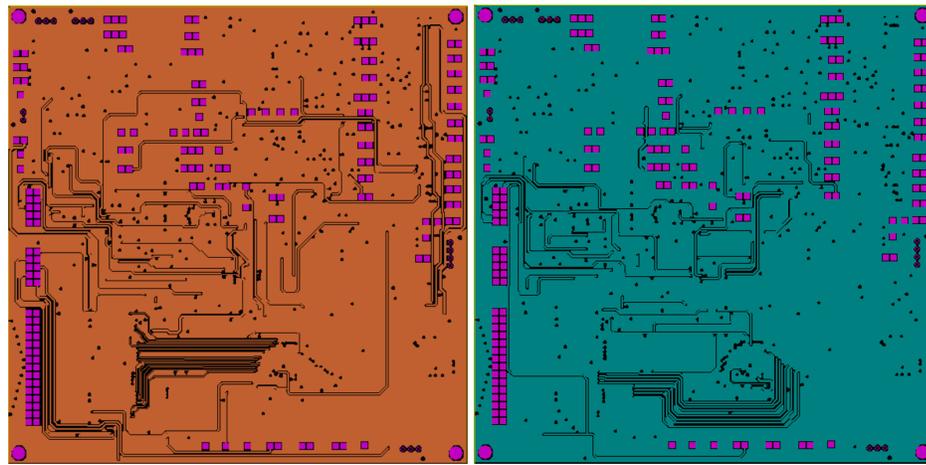
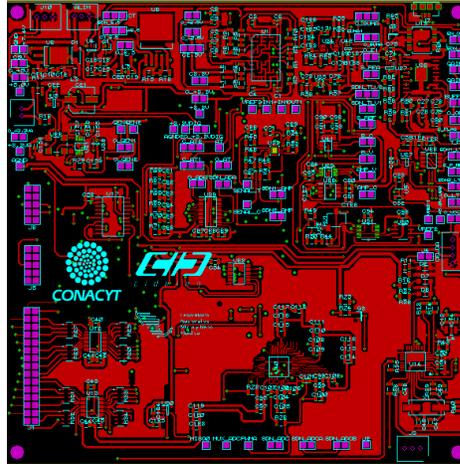


Figura 3.13: *Layouts* de la capa inferior de la tarjeta del controlador.



(a) Primera capa interna

(b) Segunda capa interna



(c) Vista superior

Figura 3.14: *Layouts* de la tarjeta de medición.

3.3. Código

Se utilizó el entorno de desarrollo integrado (*IDE*, por sus siglas en inglés) CodeWarrior[®] para programar el controlador MC56F8367. El primer paso consistió en una revisión sistemática para familiarizarse con los diversos puertos y sus respectivas ubicaciones en memoria. Posteriormente, se comenzó con el desarrollo del código. Cabe mencionar que se utiliza un lenguaje de programación tipo C para las instrucciones y comandos ade-

más del sistema hexadecimal para representar los bits de los paquetes de datos.

El código inicia con la declaración de las librerías y continúa con las variables globales. En seguida, se configuran y habilitan los puertos a utilizar. En este punto, se definió también la forma de trabajo de sus respectivos pines, ya sea como periféricos o de propósito general (*GPIO*) y de ser este último fue necesario indicar si correspondían a entradas o salidas.

A continuación, se configuraron ambas interfaces de comunicación serial SPI y posteriormente, se generaron bloques de código para la configuración de los dispositivos. Se programó el generador de onda para que entregara una señal senoidal con amplitud de 500 mV y en algunos otros casos se programaron determinados valores de ganancia para los dispositivos. Asimismo, se configuró el *shutdown* de estos, dando la posibilidad de desactivarlos cuando no se utilizarán y disminuir así el gasto de energía. También se configuró y habilitó el conversor de datos A/D.

Al código se agregaron las fórmulas matemáticas asociadas con las técnicas descritas en la sección 3.1.5 para el procesamiento de los datos. Debido a la diversidad de tareas con que cuenta el programa, se implementaron interrupciones de diversos niveles de prioridad dependiendo del tipo de tarea.

Construcción del biosensor

El biosensor propuesto para sarcosina está constituido por tres partes fundamentales:

- Un sustrato aislante, en este caso, vidrio amorfo
- Un par de microelectrodos interdigitados de oro químicamente inertes dispuestos sobre el sustrato
- Un polímero de impresión molecular (*MIP*) inmovilizado sobre la superficie de los electrodos que forma parte del elemento de reconocimiento biológico.

En la Figura 4.1 se muestra, a manera de ilustración, un esquema general de las partes.

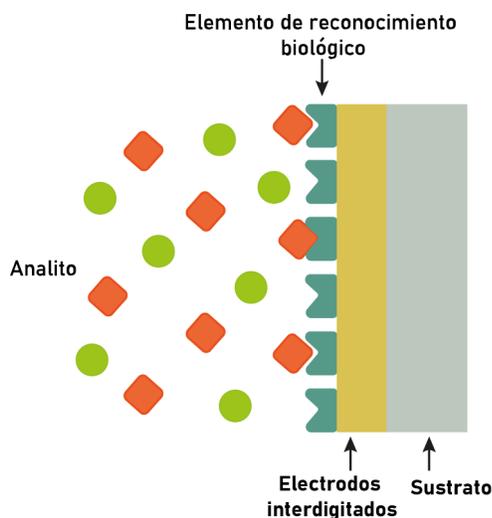


Figura 4.1: Partes que conforman el biosensor para sarcosina.

A continuación, se detallan tanto los materiales como los procedimientos llevados a cabo para fabricar los *IDEs* que conforman el transductor del biosensor y para la síntesis del polímero de impresión molecular (*MIP*) selectivo a sarcosina.

4.1. Fabricación de microelectrodos interdigitados

Los transductores han sido diseñados y fabricados mediante tecnologías de micromaquinado sobre portaobjetos de vidrio de 75mm x 25mm. El diseño implementado fue planteado por Jiménez (2022) y corresponde a un arreglo de microelectrodos interdigitados ($\mu IDEs$, *por sus siglas en inglés*) con un total de 25 pares de microdígitos con un ancho de 10 μm cada uno y una separación de 10 μm entre ellos. Los pares interdigitados fueron dispuestos en un área circular de 1 mm de diámetro. La Figura 4.2 es una representación del prototipo. El conjunto de interdigitados corresponde al electrodo de trabajo. Por su parte, el área semicircular que los rodea corresponde al contraelectrodo. El diseño también incluye rutas de enlace hacia sus respectivos pads para permitir la conexión eléctrica con el equipo.

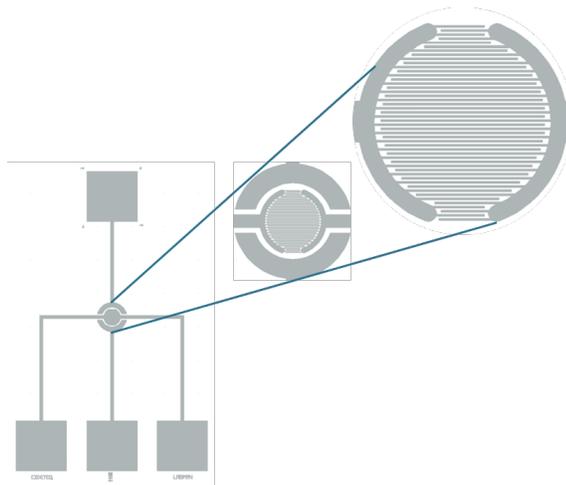


Figura 4.2: Diseño del prototipo experimental en microelectrodos interdigitados.

La fabricación se llevó a cabo a través de la técnica de *lift-off*. Dicho proceso se dividió en

5 etapas principales: limpieza de sustratos, deposición de resina, revelado, evaporación de metales y eliminación de la capa de sacrificio. Dichos pasos se detallan a continuación.

4.1.1. Materiales y reactivos

El peróxido de hidrogeno se adquirió con Sigma-Aldrich (USA). Por su parte, el ácido sulfúrico 95-97 % y la acetona fueron comprados con Merck KgaA (Alemania). La fotore-sina AZ[®]nLOF 2020 y el revelador AZ[®]300 MIF fueron adquiridos con EMD Performan-ce Materials Corp (USA). Todas las soluciones se prepararon empleando agua ultrapura y purificada con 18 M Ω •cm de resistividad, la cual fue proveída por un sistema de purifi-cación Milli-Q[®]. Además, todos los reactivos y los productos químicos utilizados en los experimentos fueron de grado analítico.

4.1.2. Instrumentación

Se utilizó un equipo de limpieza por ultrasonidos marca Branson, modelo 3800-CPXH 5,7L y una parrilla de calentamiento IKA C-MAG HS4. La deposición de resina se llevó a cabo con un sistema de recubrimiento por centrifugación marca Specialty Coating Sys-tems, serie SCS 6800, mientras que para la litografía se utilizó un fotolitógrafo de la marca Heidelberg Instruments modelo μ PG 101. Asimismo, para llevar a cabo la evaporación de metales se empleó un sistema de *sputtering*, modelo D18, marca Intercovamex. Cabe men-cionar que todo el proceso de *lift-off* se llevó a cabo bajo condiciones controladas; a una temperatura de 25°C y una humedad relativa (*RH*) del 38 %. Además, tanto la deposición de resina, como la fotolitografía y el revelado se realizaron en un cuarto amarillo para evitar interferencias de la luz blanca y la luz natural. Los resultados se analizaron visual-mente a través de un microscopio metalúrgico ME320TA-pz-3M-50X-800X y a su vez, las imágenes obtenidas por este fueron visualizadas en el software AMScope.

4.1.3. Limpieza de sustratos

Dentro de una campana de extracción, se preparó una solución piraña de peróxido de hidrógeno (marca Sigma-Aldrich®) y ácido sulfúrico (marca EMSURE®) con una relación 3:1 respectivamente, en un volumen total de 80 mL. Después, la solución se colocó en un cristizador sobre una parrilla IKA C-MAG HS4 a una temperatura de entre 100 y 140°C. Es importante mencionar que la reacción generada entre los compuestos es de tipo exotérmico por lo que se tuvo especial cuidado al momento de manipular la solución. Posteriormente, se colocaron cuidadosamente los sustratos dentro del cristizador (Figura 4.3) con la solución por un lapso de 30 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se retiraron los sustratos y se procedieron a lavar con agua ultrapura para después secarlos con nitrógeno.

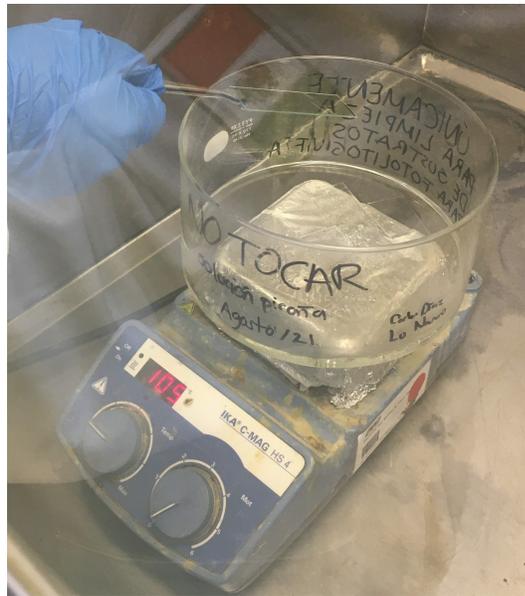


Figura 4.3: Limpieza de sustratos con solución piraña.

4.1.4. Deposición de fotoresina

Este proceso se llevó a cabo a través de la técnica *spin coating*. La fotoresina negativa empleada fue la denominada AZ®nLOF 2020. Se configuró el equipo *spin coater* a una

velocidad de 2500 rpm con el objetivo de obtener un espesor de $2\ \mu\text{m}$. La totalidad de la configuración de equipo se detalla en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1: Configuración del equipo para realizar deposición de resina AZ[®]nLOF2020 con espesor de $2\ \mu\text{m}$

Atributo	Pasos					
	0	1	2	3	4	5
Rampa	0	10	0	5	5	0
Dwels	0	0	30	0	0	0
RPM	0	2500	2500	500	0	0

A continuación, el sustrato fue situado en el centro del *chuck* del *spin coater* y se colocó cuidadosamente un recubrimiento de fotoresina con ayuda de una pipeta Pasteur tomando aproximadamente 1.5 mL, como se muestra en la Figuras 4.4a y 4.4b. Posteriormente, se ejecutó la secuencia presentada en la Tabla 4.1.



(a) panorámica del equipo

(b) plataforma de deposición

Figura 4.4: Fotografías de la deposición de la fotoresina AZ[®]nLOF 2020 sobre el sustrato.

El paso siguiente fue someter el sustrato a un tratamiento térmico en una parrilla de calentamiento (ver Figura 4.5), a una temperatura de 110°C durante 1.5 min, como lo sugiere el proveedor [?]. Con esto se promueve la adherencia de la fotoresina al sustrato.

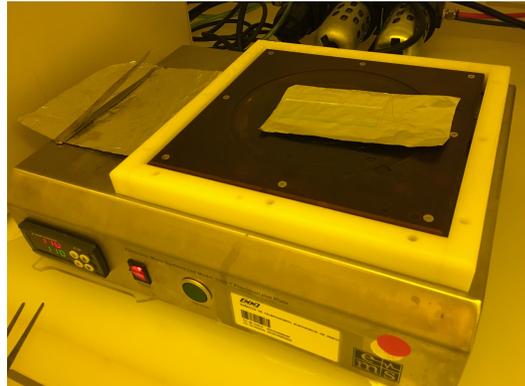


Figura 4.5: Tratamiento térmico de la fotoresina llevada a cabo en una parrilla de calentamiento de precisión de la marca Electronic Micro Systems Ltd Modelo 1000-1.

4.1.5. Fotolitografía

Este proceso se realizó con el fotolitógrafo μ PG de la marca Heidelberg Instruments. Para efectos del procedimiento, el sustrato se colocó sobre la base del fotolitógrafo, como se muestra en la Figura 4.6 y se verificó que el vacío generado fuera el adecuado. Posteriormente, el diseño de los microelectrodos se cargó en el software μ PG101 Exposure Wizard. En este mismo, se realizó la configuración de los parámetros de trabajo. Se configuró una rotación nula (0°) del patrón, además, se definió el offset del sustrato para ambos ejes de coordenadas. Finalmente, el modo de energía del láser de luz ultravioleta se configuró en 9 mW de potencia al 70 % de emisión. Terminada la configuración se inició la exposición. En este paso, la luz ultravioleta emitida por el equipo modificó, según el patrón a transferir, la fotoresina depositada, cambiando así sus propiedades físico-químicas y volviéndola sensitiva al revelador.

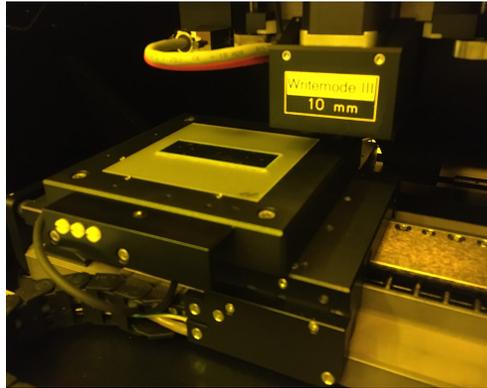
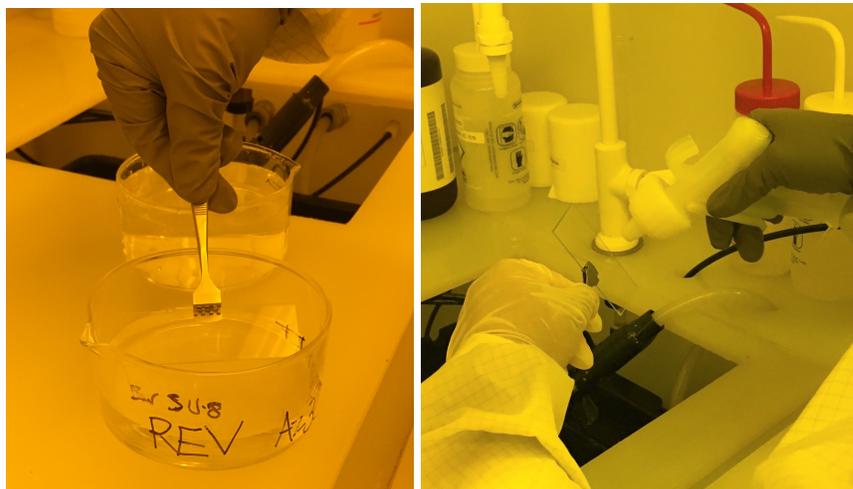


Figura 4.6: Fotografía del sustrato de vidrio recubierto con fotoresina y colocado sobre la base del fotolitógrafo Heidelberg µPG 101.

4.1.6. Revelado

El revelado es el procedimiento mediante el cual se remueve la fotoresina de las áreas no expuestas a la radiación del láser durante la exposición. Para este procedimiento se utilizó el revelador AZ[®] 300 MIF. Se sumergió el sustrato durante 17 segundos en el revelador como se muestra en la Figura 4.7a. Inmediatamente después se enjuagó con agua desionizada y posteriormente, como se observa en la Figura 4.7b, se secó con nitrógeno.



(a) Inmersión en el revelador

(b) Enjuague y secado

Figura 4.7: Fotografías ilustrativas del procedimiento de revelado.

La exposición a esta solución eliminó las partes no expuestas de la resina creando un patrón inverso, como se observa en la Figura 4.8 donde se ubicará el material de destino.

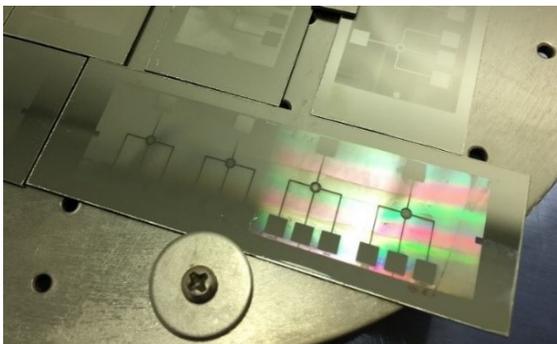


Figura 4.8: Fotografía de los sustratos de vidrio después del proceso de fotolitografía.

4.1.7. Deposición de metales por evaporación

La deposición de metales se realizó a través de la técnica de evaporación por haz de electrones, donde la evaporación se logra mediante el bombardeo del metal por iones energéticos dentro de una cámara de vacío. Para generar el patrón de $\mu IDEs$ metálicos sobre el sustrato, se depositó una película de titanio de 20 nm de espesor con la finalidad de promover la adherencia al sustrato y posteriormente, se añadió una película de oro de 200 nm de espesor.

Debido al grado de especialidad del sistema de depósito de alto vacío empleado (D18, marca Intercovamex[®]), fue necesario realizar una inspección previa como se describe en los siguientes pasos:

1. Se verificó que tanto las válvulas de presión como el enfriador estuvieran encendidos, a la vez que se inspeccionó que los múltiples comandos y botones se encontraran en su configuración de arranque (véase Figura 4.9).
2. Se encendió el equipo.
3. Se abrió la válvula de venteo hasta igualar la presión de la cámara a la presión atmosférica, con la finalidad de poder abrir la cámara.

- Una vez abierta la cámara, se aseguró que nada en el interior estuviese energizado y se limpió con isopropanol para retirar cualquier residuo presente.



Figura 4.9: Comandos y botones del *sputtering* modelo D18, marca Intercovamex®.

Para la deposición, se colocaron y sujetaron los sustratos en el plato como se muestra en la Figura 4.10.

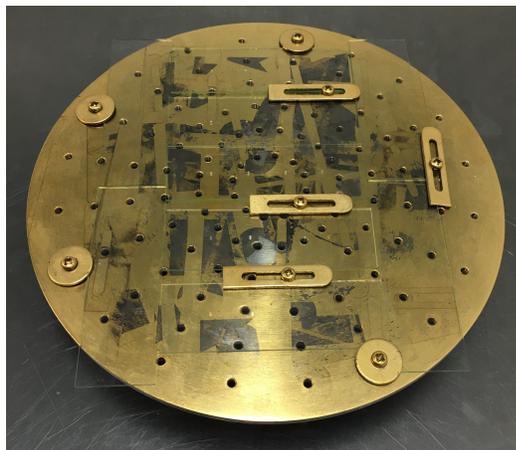


Figura 4.10: Acomodo y sujeción de los sustratos en el plato de deposición antes de instalarse en la cámara de vacío de la evaporadora.

Posteriormente, los crisoles con los metales a evaporar (titanio y oro) se situaron en la base de la cámara (Figura 4.11). Haciendo las configuraciones de temperatura pertinentes y seleccionando un patrón de haz de electrones en espiral se comenzó a evaporar titanio para obtener una capa de 20 nm. Esta capa fungió como promotor de adherencia entre el sustrato y la siguiente película de oro. Una vez finalizada esta evaporación, se seleccionó el crisol con oro y se evaporó a una razón de depósito de 1 Å/s hasta obtener una película de 198 nm de espesor.

Finalizado el proceso, los sustratos quedaron recubiertos por oro en su totalidad como se muestra en la fotografía de la Figura 4.12.



Figura 4.11: Fotografía de la cámara de deposición de la evaporadora Intercovamex D18. En la parte superior se encuentra el plato del que se sujetan los sustratos y en la parte inferior están los espacios donde se colocan los crisoles.

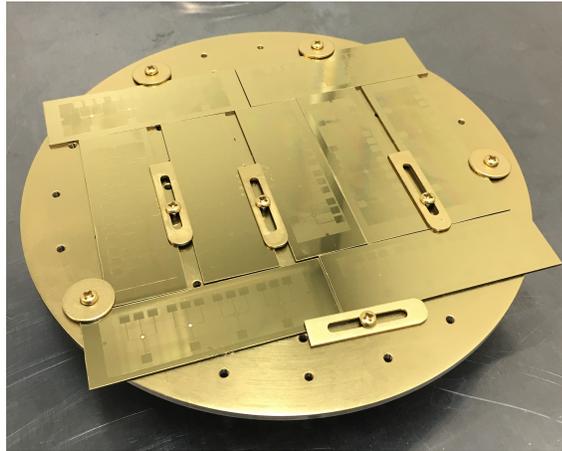


Figura 4.12: Fotografía del plato con los sustratos de vidrio después de la deposición de los metales.

4.1.8. Eliminación de la capa de sacrificio

Como paso final hacia la obtención de los microelectrodos de oro sobre sustratos de vidrio, se llevó a cabo la remoción de los metales del área no deseada, es decir, en la superficie donde no se unió el metal al sustrato, definida como la capa de sacrificio. Esta capa se eliminó utilizando acetona y sometiendo los sustratos a baño ultrasónico por un tiempo de 90 minutos. El resultado de este proceso se muestra en la Figura 4.13.

Para retirar los pequeños residuos restantes los microelectrodos se aclararon con agua desionizada y seguidamente se secaron con nitrógeno. En la Figura 4.14 se muestran los $\mu IDEs$ obtenidos.

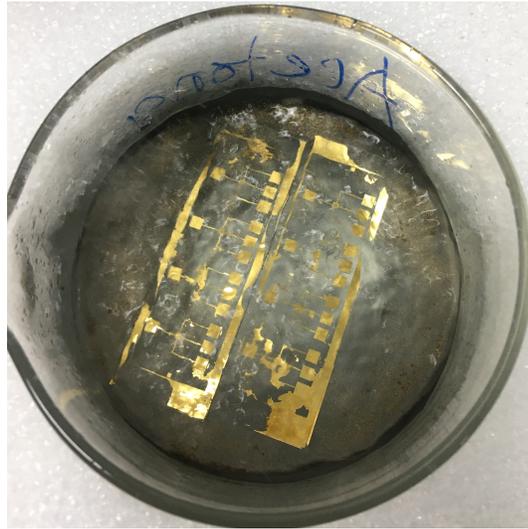


Figura 4.13: Fotografía de los prototipos de $\mu IDEs$ sobre vidrio durante el proceso de eliminación de la capa de sacrificio usando acetona y baño ultrasónico.



Figura 4.14: Microelectrodos interdigitados de oro fabricados sobre sustratos de vidrio mediante *lift-off*.

4.2. Síntesis del polímero de impresión molecular (MIP)

Los MIPs y los polímeros no impresos (NIP, por sus siglas en inglés) se prepararon mediante el método de síntesis acrílica no covalente [?], empleando a la sarcosina como molécula molde. La técnica se basa en la preparación de un polímero entrecruzado en presencia del analito, en este caso el aminoácido sarcosina, para el cual se busca el reconocimiento selectivo. A continuación, se profundiza en los materiales y métodos empleados en la síntesis.

4.2.1. Materiales y reactivos

La sarcosina fue suministrada por Merck KGaA (China). El ácido metacrílico (MAA), el metacrilato de etilenglicol (EDGMA) y el Azobisisobutyronitrilo (AIBN) fueron adquiridos de Aldrich Chemistry (Milwaukee, USA). Por su parte, el etilenglicol, el metanol y el ácido acético glacial fueron obtenidos de J.T. Baker (México). El acetonitrilo (ACN) fue comprado a Fermont (Monterrey, México). Todas las soluciones se prepararon empleando agua ultrapura y purificada con $18 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ de resistividad, la cual fue proveída por un sistema de purificación Milli-Q[®]. Además, todos los reactivos y los productos químicos utilizados en los experimentos fueron de grado analítico.

4.2.2. Instrumentación

En el proceso de polimerización se utilizó un equipo de agitación magnética CIVEQ modelo 79-Master y un baño de agua Labnet con capacidad de 6 litros. El proceso se llevó a cabo en una campana de extracción y se montó un sistema extractor Soxhlet para el lavado del polímero.

4.2.3. Síntesis

Para la síntesis del *MIP* selectivo a sarcosina se utilizó el MAA como monómero funcional. Por su parte, el EGDMA fue utilizado como entrecruzador, el ACN fue seleccionado como porógeno y el AIBN se utilizó como iniciador de la polimerización. En la tabla 4.2 se muestran las características más importantes de cada reactivo.

Tabla 4.2: Especificaciones de los reactivos utilizados en la síntesis del *MIP* para sarcosina.

Compuesto	Componente en la síntesis del MIP	Cantidad a emplear	Estado de agregación
Sarcosina	molécula molde	0.5 mmol	sólido
Ácido metacrílico	monómero funcional	1.5 mmol	líquido
Dimetacrilato de etilenglicol	entrecruzador	10 mmol	líquido
Porógeno	porógeno	10 mL*	líquido
2,2'-azo-bis-isobutironitrilo	iniciador	0.109* mL	líquido

*Volumen propuesto

Se comenzó formando el complejo de prepolimerización, para lo cual, en un vaso de precipitado se agregó la molécula molde (sarcosina) y el porógeno (ACN), este último otorga morfología a la cavidad selectiva del polímero, a la vez que se añadió el MMA que interacciona con los grupos funcionales de la molécula molde para formar el polímero selectivo. A continuación, el complejo se sometió a agitación magnética durante 1 hora. Siguiendo con el proceso, el complejo se desgasificó con nitrógeno a fin de eliminar los gases residuales presentes en la mezcla. Se agregó el EGDMA que actúa como entrecruzador garantizando la estabilidad del complejo durante de la polimerización y es el que permitirá generar la estructura tridimensional del polímero proporcionando estabilidad mecánica y rigidez. Esta mezcla se expuso tanto a desgasificación como a un baño ultrasónico durante

10 minutos. Transcurrido ese tiempo, se agregó el AIBN para iniciar el proceso de polimerización. Para acelerar la síntesis, la mezcla se incubó durante 3 horas a una temperatura de 70°C en un baño de agua marca Labnet[®], como lo muestra la fotografía de la Figura 4.15.

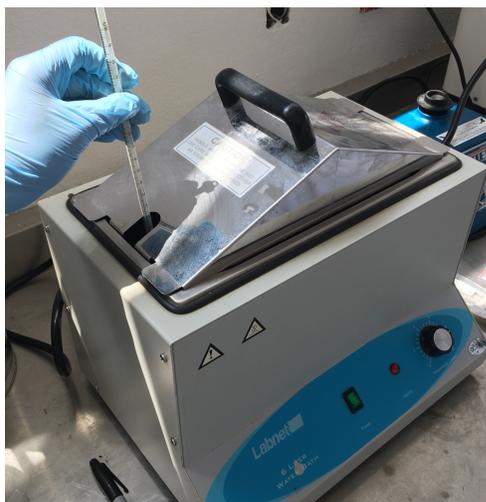


Figura 4.15: Incubación de la mezcla de polimerización a una temperatura controlada de 70°C dentro de un baño de agua marca Labnet[®].

Una vez transcurrido el tiempo se obtuvo el polímero de impresión molecular en forma de bloque sólido como se observa en las Figuras 4.16 y 4.17.

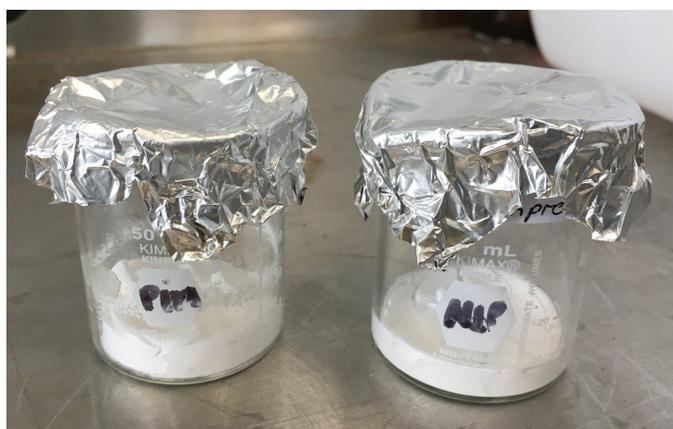


Figura 4.16: Fotografía del polímero impreso molecularmente (MIP) y polímero no impreso molecularmente (NIP) obtenidos en bloque sólido mediante síntesis acrílica no covalente.



Figura 4.17: Fotografía de la apariencia física del polímero impreso molecularmente.

Posteriormente, los polímeros resultantes fueron pulverizados con un mortero de ágata hasta obtener pequeñas partículas como lo muestra la Figura 4.18.



Figura 4.18: Pulverización del MIP usando mortero de ágata.

Para retirar la molécula plantilla se lavaron los polímeros pulverizados en dos pasos. Primeramente, se llevó a cabo el lavado por medio de agitación en una solución 9:1 de metanol y ácido acético, respectivamente. Posteriormente, para completar el lavado, se montó un

sistema Soxhlet (Figura 4.19) con una solución 9:1 de metanol y ácido acético, a una temperatura de 300°C. Al finalizar el lavado, el polímero fue secado en un horno durante 1 hora a una temperatura de 65°C y como último paso se tamizó. De forma paralela, pero excluyendo el uso de la molécula molde, se preparó el *NIP* con el propósito de evaluar el proceso de lavado.



Figura 4.19: Fotografía de la implementación del sistema Soxhlet como método para la eliminación de la molécula plantilla.

4.3. Deposición del MIP sobre los microelectrodos interdigitados

Los microelectrodos interdigitados de oro poseen buena sensibilidad debido a su carácter conductor, por lo que funcionan como transductores que modifican su impedancia eléctrica ante cambios en el material sobre su superficie, sin embargo, carecen de selectividad. En ese sentido, este trabajo busca que el *MIP*, cuyo proceso de síntesis se explicó en la sección 4.2, le confiera a los $\mu IDEs$ la selectividad, al tiempo que mantiene su grado de

sensibilidad. El polímero obtenido corresponde a un polímero en bulto y de poca solubilidad; por estas razones y a fin de mantenerlo unido a los electrodos durante todo el tiempo de uso, este debe inmovilizarse por un método que agregue un material plastificante. Dicho procedimiento se realizó usando un mediador, una matriz plastificante y un solvente. En las siguientes subsecciones se profundiza en los métodos empleados para la deposición del *MIP* sobre los microelectrodos interdigitados.

4.3.1. Materiales y reactivos

El o-nitrofeniloctil eter (o-NPOE), el cloruro de polivinilo (PVC) en estado inicialmente sólido y el tetrahidrofurano (THF) fueron de la marca Aldrich Chemistry.

4.3.2. Instrumentación

Se utilizó un equipo de limpieza por ultrasonidos marca Branson, modelo 3800-CPXH 5,7L y una parrilla de calentamiento y agitación marca CIVEQ, modelo 85-2.

Debido a la naturaleza del tetrahidrofurano [?], la mezcla se preparó dentro una campana de extracción.

Los resultados se analizaron visualmente a través de un microscopio metalúrgico ME320TA-pz-3M-50X-800X y a su vez, las imágenes obtenidas por este fueron visualizadas en el software AMScope.

4.3.3. Deposición por emulsión

El mediador utilizado fue el o-NPOE, la matriz plastificante estuvo a cargo del PVC, en estado inicialmente sólido. Por su parte, el disolvente utilizado fue el THF. Para comenzar con la deposición, se colocó el PVC en un vaso de precipitado, posteriormente, se agregaron el o-NPOE y el THF. Finalmente, fue añadido el polímero en polvo a la mezcla. Añadidos los reactivos, la mezcla se sometió a agitación durante 25 minutos (ver Figura

4.20). Siguiendo con el procedimiento, la mezcla fue sometida a un baño ultrasónico durante 15 minutos para desgasificar, así como para contribuir a la dispersión del polímero, generando una emulsión como la que se muestra en la Figura 4.21.



Figura 4.20: Fotografía durante la agitación de la mezcla como parte de la deposición por emulsión del MIP.

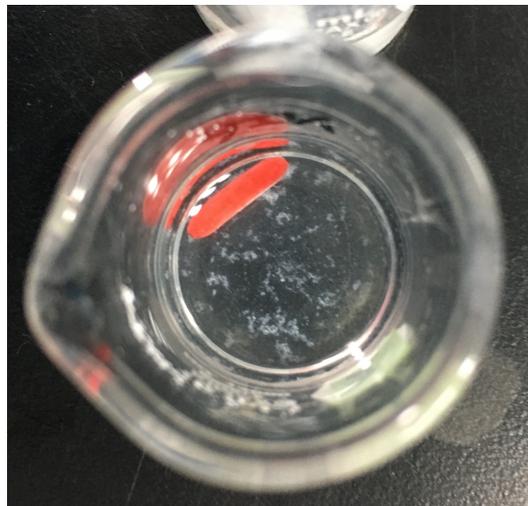


Figura 4.21: Fotografía de emulsión obtenida tras agitación y desgasificación.

A fin de obtener el volumen adecuado de muestra, se colocó en el centro de los $\mu IDEs$ una gota de emulsión y se fueron modificando los volúmenes de $1 \mu L$ a $5 \mu L$, variando cada $1 \mu L$. A continuación, se dejó secar la gota por 60 minutos y se lavó con agua desionizada para eliminar los residuos. La Figura 4.22 muestra el aspecto de las superficies con *MIP* depositado a diferentes volúmenes.

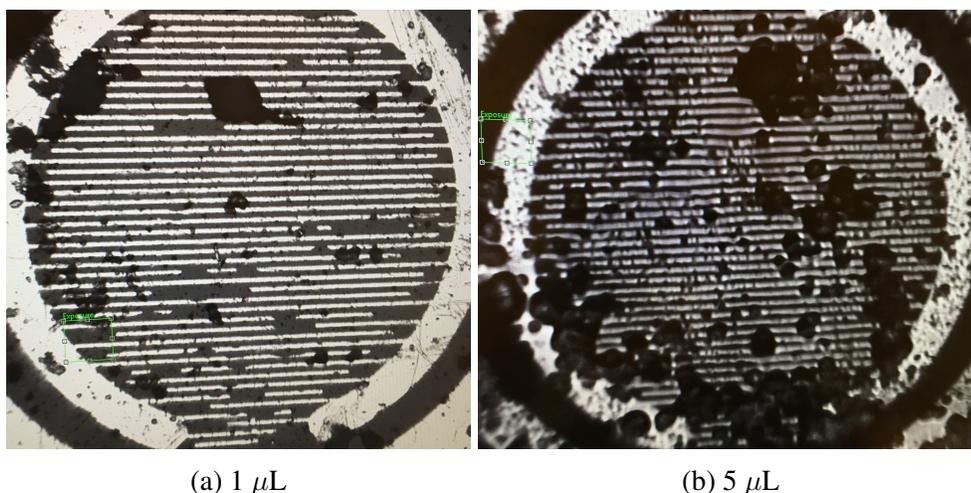


Figura 4.22: Imágenes que muestran el grado de recubrimiento de los $\mu IDEs$ usando volúmenes de a) $1 \mu L$ y b) $5 \mu L$.

4.3.4. Deposición en dos pasos

El método consiste en depositar las partículas del *MIP* directamente sobre los $\mu IDEs$ y posteriormente, agregar por separado el plastificante. Con el propósito de evaluar este método de inmovilización se preparó una mezcla de PVC, o-NPOE y THF con proporciones iguales a las utilizadas en la deposición por emulsión, con la única diferencia de que no fue agregado el polímero directamente a la mezcla. El conjunto se desgasificó en un baño ultrasónico durante 15 minutos. Por separado, se colocó una capa uniforme de partículas del *MIP* en el centro de los microelectrodos interdigitados, obteniéndose una capa como se muestra en la Figura 4.23.

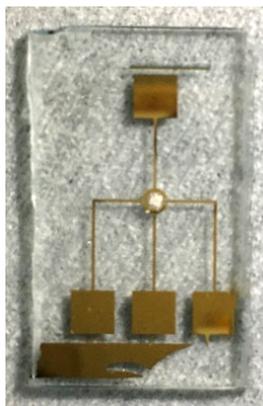


Figura 4.23: Fotografía de prototipo de $\mu IDEs$ sobre vidrio al cual le fue depositado *MIP* en el área de los microelectrodos.

Posteriormente se agregó el plastificante utilizando una micropipeta $0.5-10 \mu L$. Los volúmenes de prueba variaron entre los $2 \mu L$ a los $25 \mu L$, con una variación de $1 \mu L$ entre microelectrodos de prueba. Después de colocar el volumen establecido, el plastificante se dejó secar durante 60 minutos y transcurrido este tiempo se lavó con agua desionizada para eliminar residuos de polímero no adheridos. Los resultados de los diferentes volúmenes se analizaron a través de un microscopio metalúrgico en conjunto con su software AMScope. Algunos resultados relevantes se muestran en la Figura 4.24.

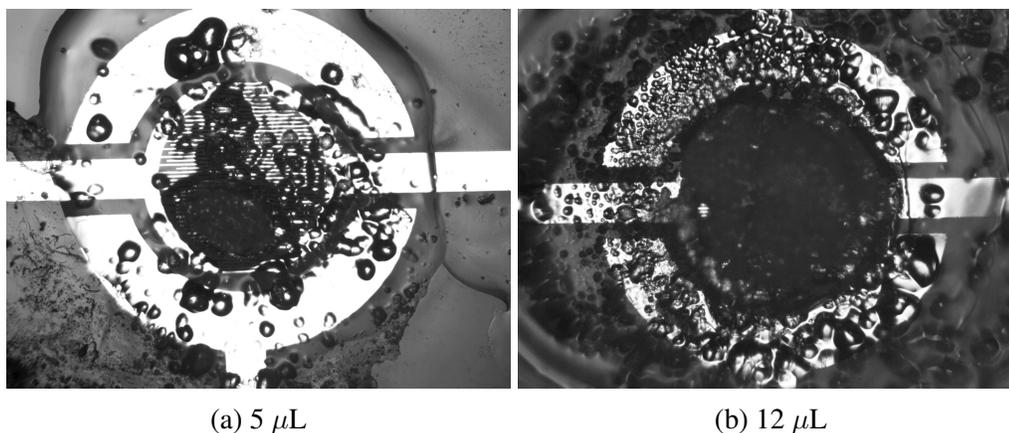


Figura 4.24: Imágenes que muestran la apariencia de los microelectrodos interdigitados tras la deposición del *MIP* y el plastificante a diferentes volúmenes a) $5 \mu L$ y b) $12 \mu L$ por el método de dos pasos.

4.4. Preparación de las muestras de sarcosina

Se utilizó sarcosina y una solución salina tamponada con fosfato (PBS) que fue utilizado como disolvente por emular el pH de la sangre humana. Se preparó una solución madre de sarcosina en PBS a una concentración de $50 \mu\text{g/mL}$ en un matraz aforado de 100 mL. A partir de esta solución se hicieron diluciones para alcanzar concentraciones de 1 ng/mL, 5 ng/mL y 10 ng/mL que corresponden a concentraciones de interés para esta investigación. Todos fueron preparados en matraces aforados de 10 mL.

Debido a que las concentraciones son de sólo algunos nanogramos por mililitro y el volumen de los matraces donde se prepararán las concentraciones es de unos cuantos mililitros se empleó la ecuación 4.4.1 a fin de reducir el consumo innecesario de reactivos.

$$C_1V_1 = C_2V_2 \quad (4.4.1)$$

donde, C_1 y V_1 representan la concentración y el volumen, respectivamente, de la solución madre y C_2 y V_2 representan la concentración y el volumen, respectivamente, de la solución que se desea conseguir.

Despejando,

$$V_1 = \frac{C_2V_2}{C_1} \quad (4.4.2)$$

En la ecuación 4.4.2 se muestra que el volumen a tomar es dependiente de la concentración de la solución madre y a su vez de la concentración que se busca junto con su respectivo volumen. Sustituyendo el volumen conocido de los matraces aforados (10 mL) se tiene que:

$$V_1 = 10\text{mL} \left(\frac{C_2}{C_1} \right) \quad (4.4.3)$$

Utilizando la ecuación 4.4.3 se determinó el volumen a ser añadido para la preparación de las concentraciones. Una vez realizados los cálculos, se agregó el respectivo volumen de

solución madre con una micropipeta a cada matraz y posteriormente se aforaron con PBS.

Ensayos y mediciones

En este capítulo se describen las pruebas de funcionamiento que se realizaron a la tarjeta del microcontrolador y a la tarjeta de los módulos electrónicos. Asimismo, se presenta la metodología llevada a cabo en la evaluación de los μ IDEs tras su fabricación y en la posterior deposición del polímero sobre estos. Aunado a lo anterior, se profundiza en el proceso de caracterización del funcionamiento de los chips acoplados con MIP a través del uso de un potencióstato comercial para medir la impedancia eléctrica del sistema.

5.1. Pruebas de configuración inicial de las tarjetas

Antes de llevar a cabo las pruebas de funcionamiento de la tarjeta del microcontrolador y de la tarjeta de módulos electrónicos se verificó la soldadura de los componentes en las tarjetas, así como la continuidad de las pistas y de las interconexiones entre las caras de las tarjetas. Además, se examinó la adecuada disposición de los capacitores electrolíticos de acuerdo con su polaridad.

Finalizada la verificación, se evaluó el desempeño de ambas tarjetas por separado. Primeramente, se analizó la tarjeta del microcontrolador energizándola con 5.0 V, en ella, se comprobó que la PC detecta al microcontrolador mediante la conexión de una sonda multitenlace Multilink[®] entre ambos dispositivos. También, colocando un *jumper* en el *header* correspondiente y utilizando el botón *reset* se verificó que el microcontrolador se puede

programar. Simultáneamente, se creó un programa de prueba en el entorno de desarrollo Codewarrior[®], el cual fue compilado y cargado a la tarjeta de forma satisfactoria.

La tarjeta del sistema de medición fue sometida a pruebas de código por etapas para comprobar que la programación estuviera correcta de acuerdo con la configuración específica de cada componente. En las siguientes subsecciones se profundiza en las pruebas realizadas a cada etapa de la tarjeta de módulos electrónicos.

5.1.1. Etapa de alimentación

La tarjeta que contiene al sistema de medición se alimentó mediante una fuente de voltaje configurada a 7.4 V y con ayuda de un osciloscopio se verificó que cada regulador de voltaje entregara a la salida las respectivas tensiones de acuerdo con el esquema de la Figura 5.1. Algunas de las mediciones obtenidas con el osciloscopio se muestran en la Figura 5.2.

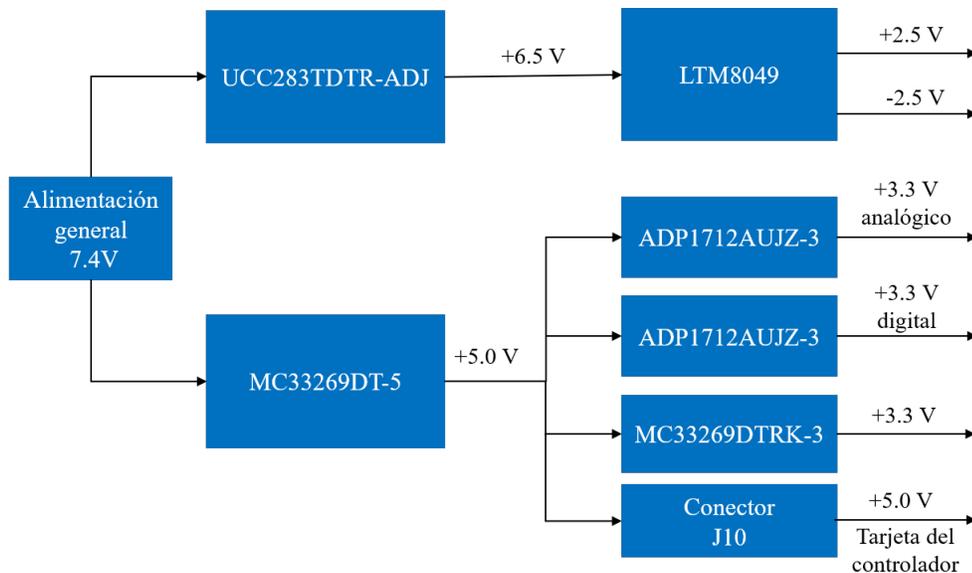
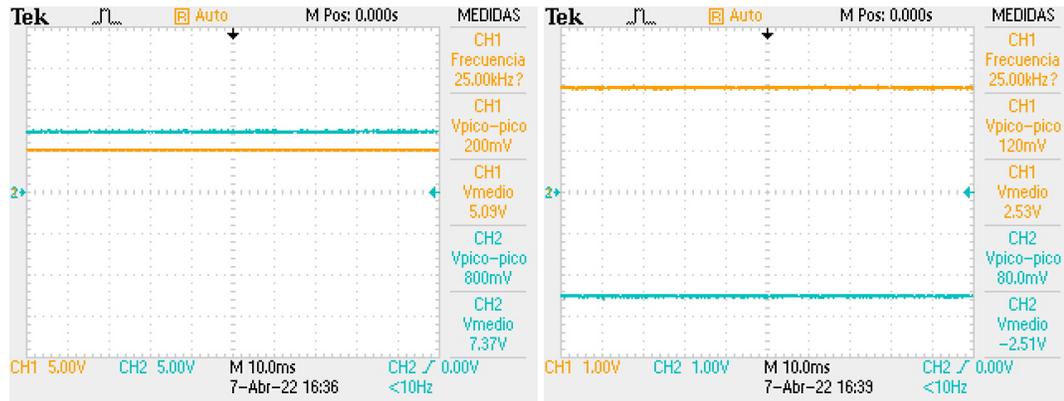


Figura 5.1: Esquema de la distribución de los reguladores de voltaje en la tarjeta de módulos electrónicos.



(a) Voltaje entregado de 7.4V y 5.0 V (b) Voltaje a la salida del regulador de ± 2.5 V

Figura 5.2: Voltajes entregados por los reguladores de la tarjeta de módulos electrónicos.

5.1.2. Etapa de generación de señales y atenuación

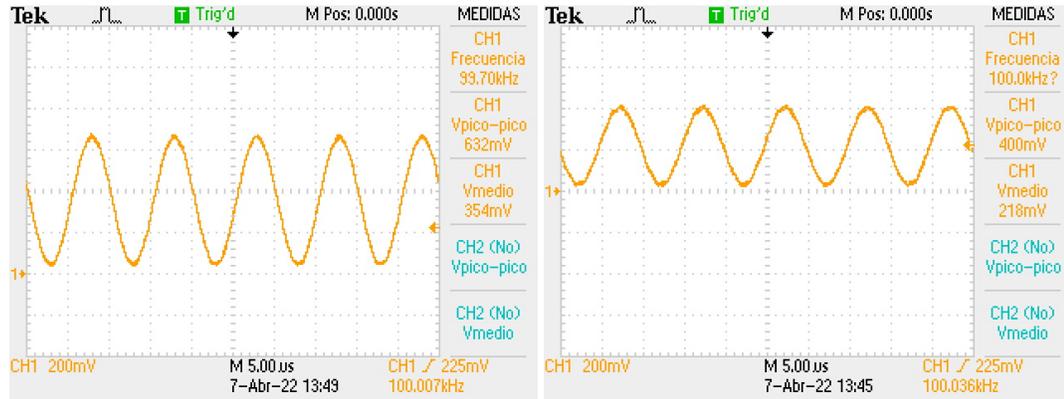
Como se verá más adelante, el mayor cambio porcentual en impedancia eléctrica del biosensor se presenta a 100 kHz, por ende, la etapa de generación se programó a esta frecuencia con una amplitud de 600 mV a la salida del generador. El ajuste de la frecuencia se hizo con base en la ecuación 5.1.1 propuesta en la hoja de datos del componente [?].

$$\left(\frac{f_{MCLK}}{2^{28}} \right) (FREQREG) \quad (5.1.1)$$

Donde f_{MCLK} es la frecuencia del reloj externo y $FREQREG$ corresponde al valor cargado en el registro de frecuencia seleccionado.

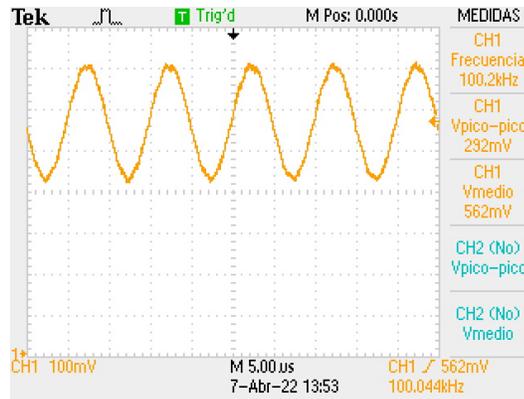
En cuanto al atenuador, este fue configurado en modo de operación *Single-Ended Output*. En esta modalidad, el dispositivo se comporta como un amplificador diferencial, donde el pin $+VOUT$ es la salida de un solo extremo mientras que $-\frac{VOUT}{VR}$ es el voltaje de referencia de 1.0 V. Dicha referencia de voltaje tiene como propósito establecer todos los valores de la senoidal como positivos por lo que se verificó que contribuyera adecuadamente con el *offset* del sistema. Este dispositivo se programó con una atenuación de 0.768 V/V de la señal proveniente del divisor de voltaje ubicado entre el generador y dicho atenuador.

Al término de la etapa de generación y atenuación se obtuvo una señal con amplitud de aproximadamente 290 mV_{pp} . Las señales obtenidas a la salida de cada componente se muestran en las gráficas de la Figura 5.3.



(a) Generador de señales

(b) Divisor de voltaje



(c) Atenuador

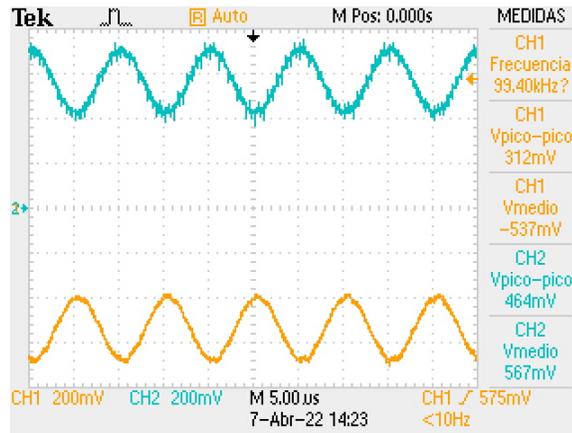
Figura 5.3: Señales medidas a la salida de cada componente de la etapa de generación de señales y atenuación.

Adicionalmente, se corroboró el desempeño del generador de señales, del atenuador y del código con diferentes configuraciones. En este sentido, se reprogramó el generador con otra frecuencia y fase, y el atenuador a las dos opciones de atenuación restantes de 0.192 V/V y 0.384 V/V.

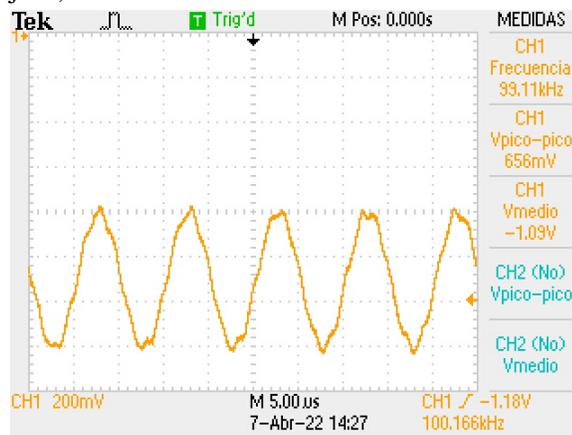
5.1.3. Etapas de configuración y medición de las señales

Las pruebas de configuración y funcionamiento de estas etapas se realizaron empleando la señal senoidal proveniente de la etapa de generación de señales y atenuación. Dicha señal tiene una amplitud de 300 mV_{pp} y frecuencia de 100 kHz. A fin de realizar una evaluación estructurada de las fases que conforman estas etapas se utilizó como apoyo el esquema de la Figura 3.5 que se encuentra en el capítulo 3. En primera instancia, se realizó la medición del voltaje proveniente del electrodo de referencia a través del amplificador operacional en modo *buffer* encargado de la medición del potencial de dicho electrodo. Las mediciones se realizaron tanto a la entrada como a la salida del dispositivo. El voltaje pico a pico en ambas señales fue semejante, lo que indica que debido al tipo de configuración el amplificador no está tomando corriente. El hecho de que no esté circulando corriente entre las terminales de entrada ni de salida comprueba el principio de funcionamiento adecuado de un potencióstato.

Posteriormente, se verificó el comportamiento del amplificador principal del sistema el cual está configurado en modo sumador. Las entradas de este corresponden a la señal senoidal de excitación y al voltaje de realimentación proveniente del circuito en modo *buffer* del electrodo de referencia (véase Figura 5.4a). A su vez, el voltaje medido a la salida efectivamente correspondió a la suma de ambas señales como lo demuestra la Figura 5.4b.



(a) Señales de entrada del amplificador principal. Señal proveniente de electrodo de referencia (azul) y señal de la onda senoidal aplicada (anaranjada)



(b) Señal obtenida a la salida del amplificador principal configurado en modo sumador

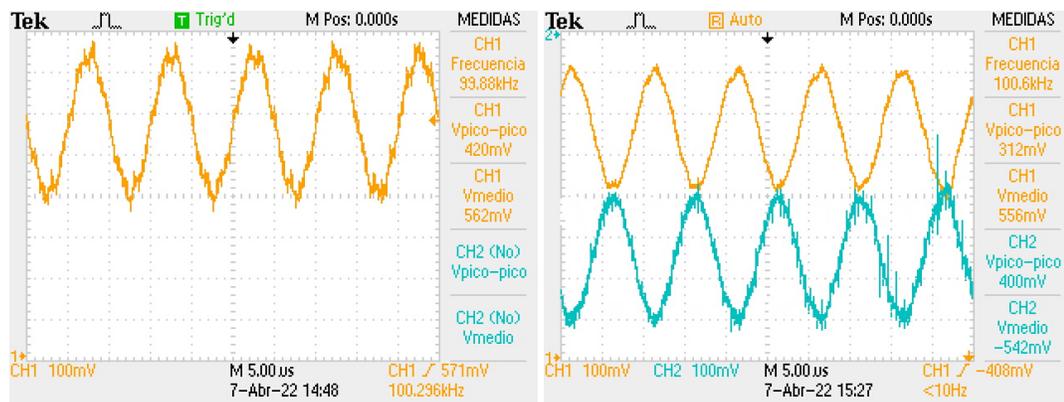
Figura 5.4: Señales de entrada y de salida del amplificador operacional principal.

En el dispositivo que comprende la fase 2 se comprobó el funcionamiento correcto del *shutdown*. Esto se realizó colocando en alto el bit correspondiente para deshabilitar la opción en el código. Después, se midieron las señales de entrada y salida de esta fase. La señal de entrada corresponde a la salida del amplificador principal, es decir, la suma mencionada con anterioridad (véase Figura 5.4b). Debido a que el amplificador de esta fase está configurado en modo *buffer*, esto es, con ganancia unitaria, a la salida se obtuvo la misma señal

de suma. A su vez, esta es la señal que se encuentra en el contraelectrodo.

Siguiendo con el proceso, se verificó el desempeño del amplificador de la fase 4, el cual es un amplificador de transimpedancia (TI) que se encarga de sensar la corriente en la celda. La verificación se basó en la comprobación de que su ganancia correspondiera a la esperada según el código enviado por medio de la interfaz SPI. Con esto, se comprobó que los códigos para las diferentes ganancias realizaban correctamente la selección de la resistencia mediante la técnica de conmutación de Kelvin. La Figura 5.5a muestra el voltaje a la salida de este amplificador.

Por su parte, el voltaje de interés del sistema se midió en la fase 5 correspondiente al amplificador de ganancia programable (PGA). La señal de salida obtenida tiene una amplitud de 312 mV_{pp} , 20 mV_{pp} mayor que la señal de onda aplicada al sistema (véase la Figura 5.3c). Sin embargo, esto no representa inconveniente ya que para efectos del cálculo de la impedancia se tomaron los valores reales de la señal. Tanto la señal de entrada como de salida del PGA se observan en la Figura 5.5.



(a) Señal de voltaje obtenido a la salida del amplificador de transimpedancia

(b) Voltajes medidos en el PGA. Señal de entrada (azul) y señal de salida (amarilla)

Figura 5.5: Señales medidas de corriente y voltaje en la etapa de medición de señales.

A través de una resta entre señales se respaldó el funcionamiento en conjunto de los módulos electrónicos de esta etapa de configuración, dicha operación se presenta en la Figura

5.6. La señal amarilla y de mayor amplitud corresponde a la señal presente en el contraelectrodo. La señal azul pertenece a la señal proveniente del electrodo de referencia, así, la resta entre ambas señales generó una señal de 424 mV_{pp} que corresponde en amplitud, pero con un desfase de 180° , respecto a la señal que se obtuvo a la salida del medidor de corriente mostrada en la Figura 5.5a. Lo anterior, asegura el funcionamiento adecuado de los módulos electrónicos diseñados.

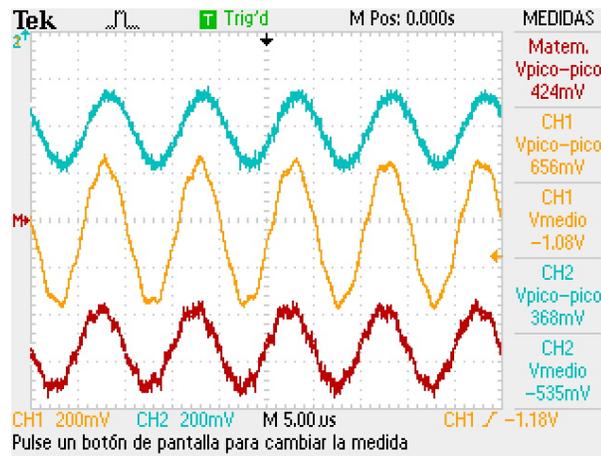
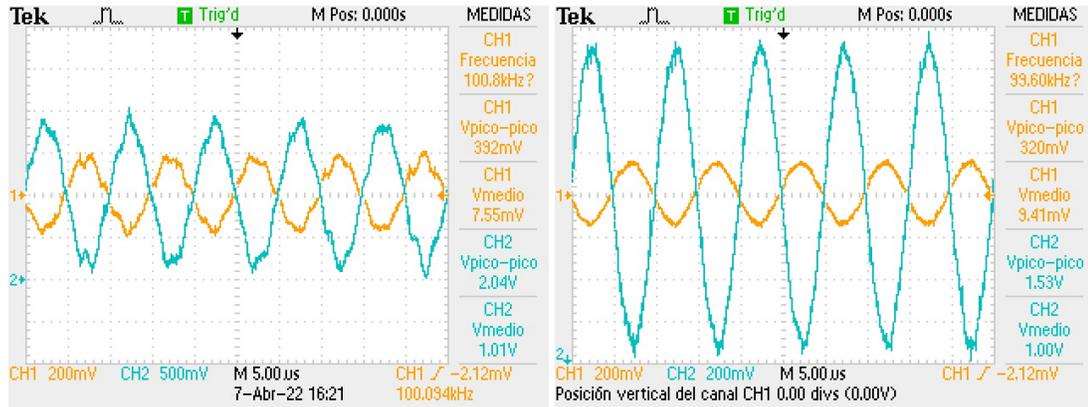


Figura 5.6: Resta de señales medidas. Señal en el contraelectrodo (amarilla) menos señal del electrodo de referencia (azul). Señal resultante (roja), asociada con la señal medida en el electrodo de trabajo.

5.1.4. Etapa de acondicionamiento de señales

Las señales de interés de voltaje y corriente obtenidas deben ajustarse al rango de $2 V_{pp}$ establecido a la entrada del convertor ADC. Dado que las amplitudes de ambas señales son de cientos de milivoltios fue necesario amplificarlas. La señal asociada con la corriente fue amplificada alrededor de 5 veces como se muestra en la Figura 5.7a, donde la gráfica amarilla corresponde a la señal a la salida del amplificador de transimpedancia con amplitud de 392 mV_{pp} , mientras que la gráfica azul es la señal amplificada obtenida con un valor de amplitud de $2.04 V_{pp}$. Por su parte, la señal de voltaje original de 320 mV_{pp} se amplificó 4.8 veces y se obtuvo una señal senoidal con amplitud pico a pico de 1.53 V que se muestra en

color azul dentro de la Figura 5.7b. En ambos casos, se obtuvieron señales que se ajustan adecuadamente al rango dinámico máximo del ADC.



(a) Señal de corriente original (amarilla) y señal amplificada de corriente (azul) (b) Señal de voltaje original (amarilla) y señal de voltaje amplificada (azul)

Figura 5.7: Amplificación de las señales de corriente y voltaje.

Cabe mencionar también que pese a que se obtuvieron señales amplificadas con ruido (*glitch*) apreciable, principalmente en la señal de corriente, como se observa en la Figura 5.8, es importante destacar que este no afecta a la posterior digitalización de las señales, debido a que se conserva en gran medida la forma de onda.

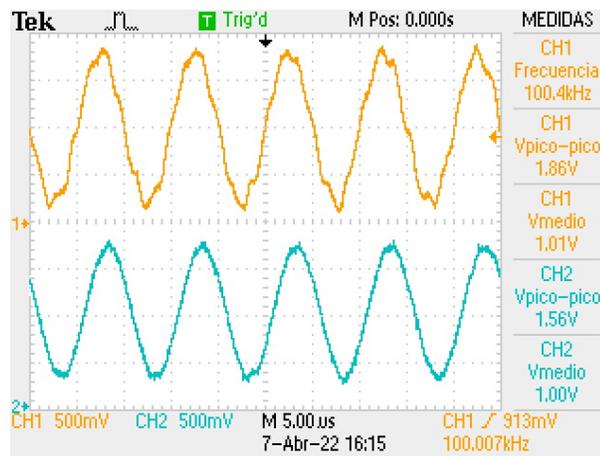
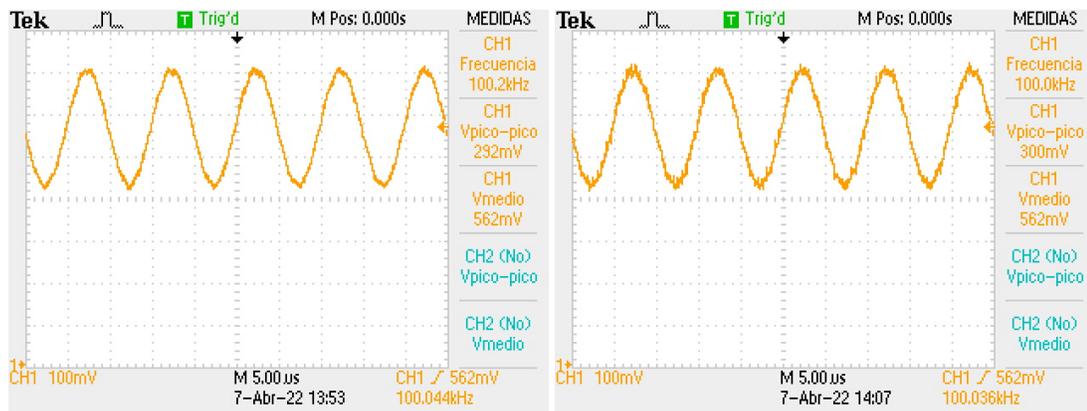


Figura 5.8: Señales finales amplificadas de corriente (amarilla) y voltaje (azul).

En lo que a los diversos amplificadores implementados en modo *buffer* a lo largo de las etapas del sistema se refiere, estos sirvieron para acoplar impedancias y se demostró su correcto funcionamiento ya que en cada inspección la señal de salida fue muy semejante en amplitud y en fase a la de entrada, como lo demuestran las señales medidas en la Figura 5.9.



(a) Señal de entrada

(b) Señal de salida

Figura 5.9: Señal de entrada y señal de salida obtenidas de un arreglo en modo *buffer* al final de la etapa de generación de señales.

5.2. Inspección de microelectrodos interdigitados con MIP acoplado

Haciendo uso de los chips previamente fabricados (ver Capítulo 4, Sección 4.1), se llevó a cabo una inspección del acople entre el polímero de impresión molecular con los μ IDEs. Previo a esta inspección, se realizó una revisión visual por medio de un microscopio metalográfico y una verificación de continuidad entre las estructuras interdigitadas de los chips utilizando un multímetro. Así, de un total de 16 μ IDEs fabricados, se obtuvieron 12 aptos para acoplarse con el MIP.

En la inspección de acople, ambos métodos de deposición fueron evaluados. Dicha evalua-

ción consistió, a su vez, en dos partes. En primera instancia, se realizó un análisis visual a través de microscopio para verificar la distribución del polímero y del plastificante tras su deposición. En la segunda parte de ensayos, los chips con MIP acoplado fueron sometidos a pruebas de perfilometría a fin de obtener el espesor de la capa de polímero para las diferentes muestras. Los resultados obtenidos en estas pruebas se presentan en el Capítulo 6, Sección 6.2.

5.3. Caracterización del funcionamiento del biosensor con un potenciostato comercial

Se realizó una caracterización del funcionamiento de los chips que fueron acoplados con MIP en mediciones de impedancia eléctrica para diferentes concentraciones de sarcosina. Para llevar a cabo estas pruebas se eligieron los chips acoplados con MIP mediante el método separado ya que se demostró, con las pruebas anteriores, que por medio de este se obtenía una capa de polímero con mejores propiedades. Para realizar las mediciones de impedancia se utilizó un potenciostato comercial de la marca Bio-Logic® en conjunto con el programa para computadora EC-Lab Software versión 10.19. Los barridos en frecuencia se efectuaron de 1 MHz a 100 Hz, aplicando una señal sinusoidal con amplitud de 500 mV_{pp}.

Las conexiones efectuadas entre el potenciostato y los puntos de soldadura de los μ IDEss se muestran en la Figura 5.10.

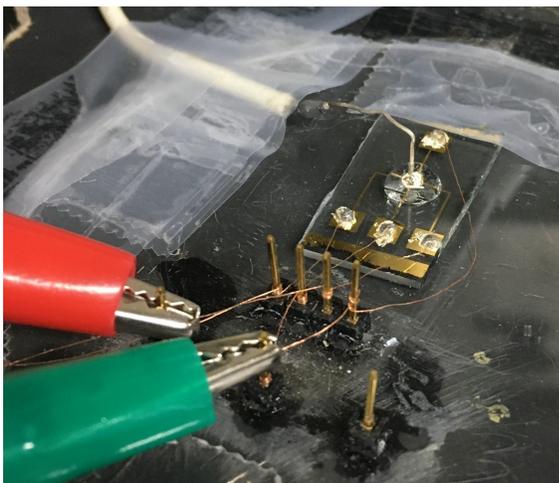


Figura 5.10: Conexiones entre los cables del potenciostato y los *pads* de los μ IDEs.

El procedimiento que se llevó a cabo para caracterizar el MIP acoplado a μ IDEs se muestra en el esquema de la Figura 5.11. La técnica consistió en realizar mediciones en cuatro momentos de interés durante el proceso. La primera medición de impedancia se realizó únicamente de los chips acoplados con MIP, este resultado se tomó como referencia para las mediciones posteriores. La segunda medición se hizo dejando incubar una gota de $5\mu\text{L}$ de PBS sobre el polímero para determinar si este agregaba alguna alteración a la medición. Una tercera medición se realizó después de incubar una gota de $5\mu\text{L}$ de solución de sarcosina en PBS sobre el polímero de los μ IDEs. Cabe mencionar que las concentraciones de sarcosina de interés fueron 1, 5 y $10\mu\text{L}$, por lo que el proceso anterior se llevó a cabo en diferentes chips acoplados con MIP para estas tres concentraciones. Finalmente, se realizó un ciclo de 5 lavados con PBS y se midió nuevamente la impedancia con el fin de determinar si después de incubar la solución con el analito este último se desprendía o no con los lavados, es decir, si el biosensor se regeneraba.

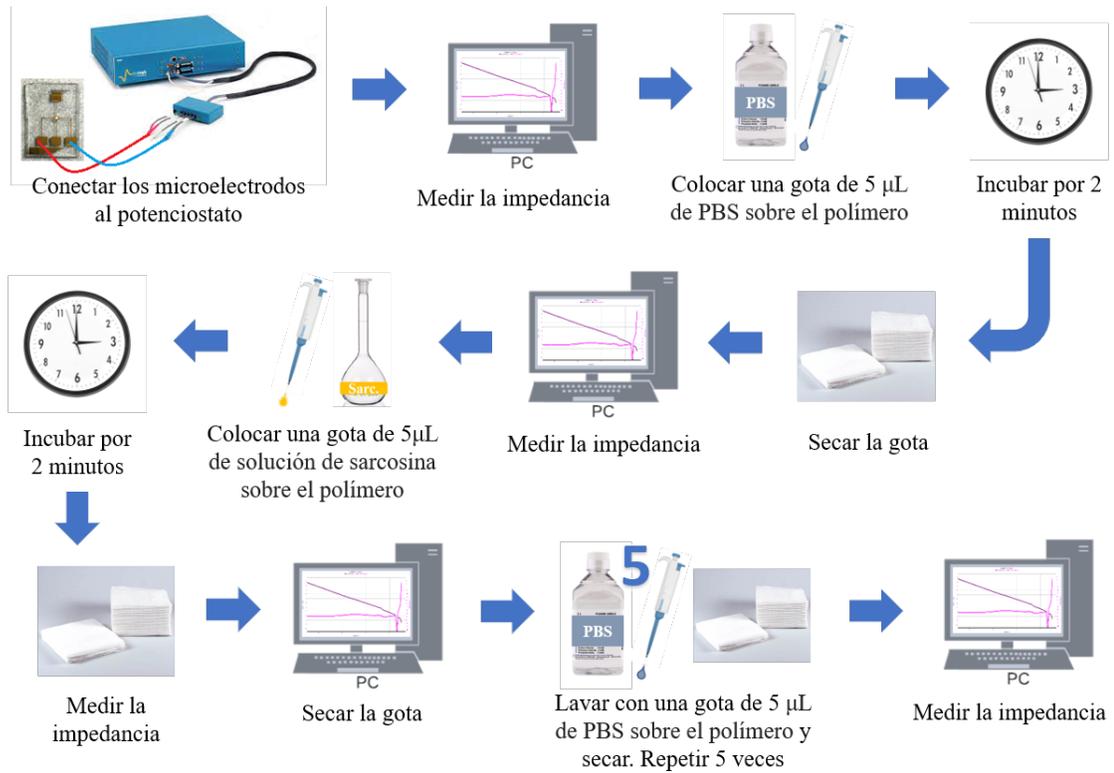


Figura 5.11: Esquema del proceso realizado para caracterizar el funcionamiento de los μ IDEs con MIP acoplado.

Resultados y discusión

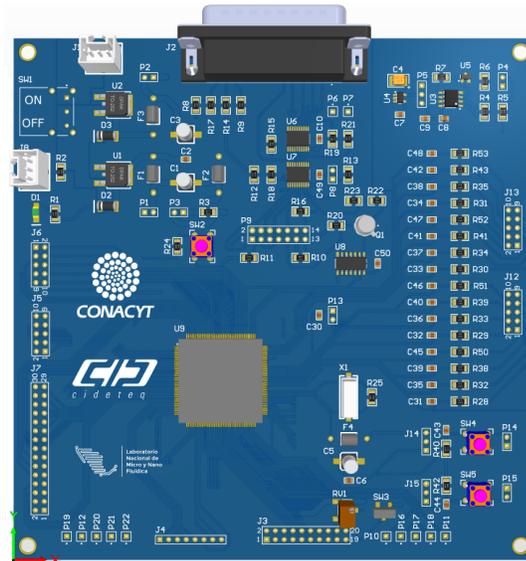
En este capítulo se abordan los resultados obtenidos del diseño y construcción del sistema de medición con módulos electrónicos, así como los resultados enfocados a la deposición y las pruebas perfilométricas de los chips con MIP acoplado. También, se analizan las gráficas de impedancia resultantes del proceso de caracterización del funcionamiento del biosensor y se presenta el circuito equivalente que lo describe.

6.1. Características del sistema de medición

Se obtuvo un sistema de módulos electrónicos (Figura 6.2) para llevar a cabo mediciones de impedancia eléctrica. El sistema está constituido por dos tarjetas PCB (Figuras 6.1a y 6.1b) de 15x15 cm cada una. Las características principales del sistema desarrollado son las siguientes:

- Generador de onda senoidal con rango de frecuencia de trabajo entre 100 Hz y 1 MHz
- Amplitud del voltaje de excitación ajustable
- Digitalización de señales con una resolución de 14 bits y entrada analógica de $2V_{pp}$
- Control digital de dispositivos para configuración y activación/desactivación
- Interfaz SPI
- Acople de impedancias integrado

- Función *power-down* y bajo consumo de energía
- Opción de alimentación con baterías



(a) Tarjeta del controlador



(b) Tarjeta de módulos electrónicos

Figura 6.1: Tarjetas PCB diseñadas.

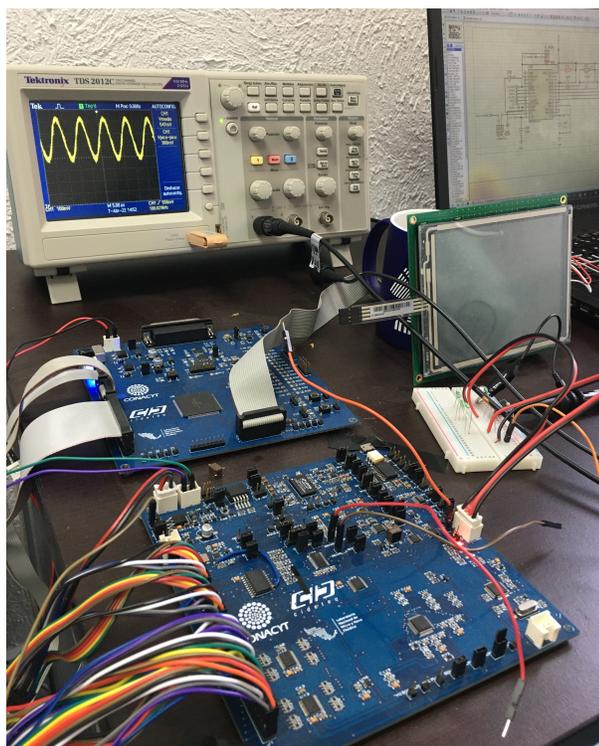
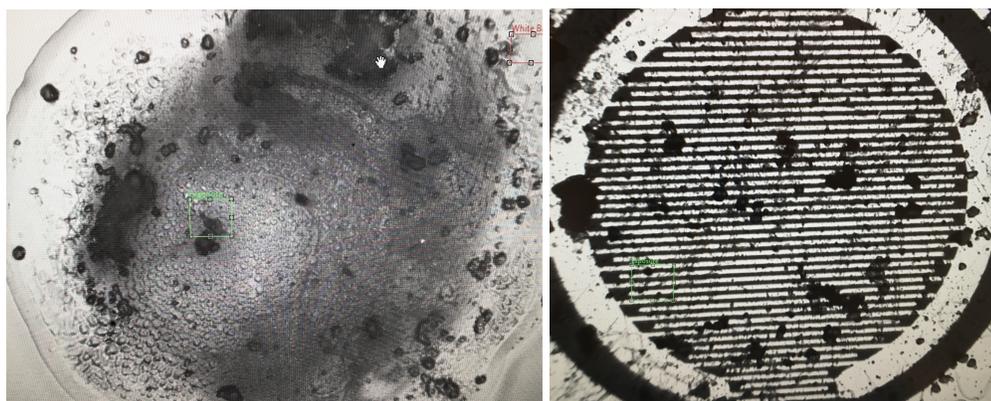


Figura 6.2: Sistema de módulos electrónicos para la medición de impedancia eléctrica.

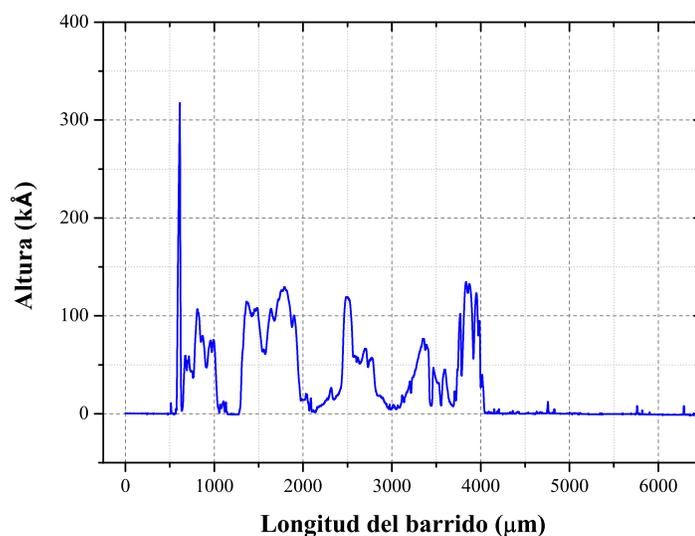
6.2. Acople MIP-electrodos interdigitados

A través de la deposición por emulsión del polímero sobre portaobjetos se obtuvo una película con poca cantidad de polímero y con una distribución notablemente heterogénea, como se observa en la Figura 6.3a. Asimismo, al depositarse sobre los microelectrodos interdigitados, se obtuvo un depósito de polímero no uniforme, por lo cual algunas zonas de los interdigitados quedaban descubiertas como lo muestra la Figura 6.3b. La prueba de perfilometría también arrojó una distribución marcadamente heterogénea de la capa de polímero, con picos variables y en su mayoría menores a $150 \text{ k}\text{\AA}$, como lo evidencia la Figura 6.3c.



(a) Emulsión polímero-plastificante

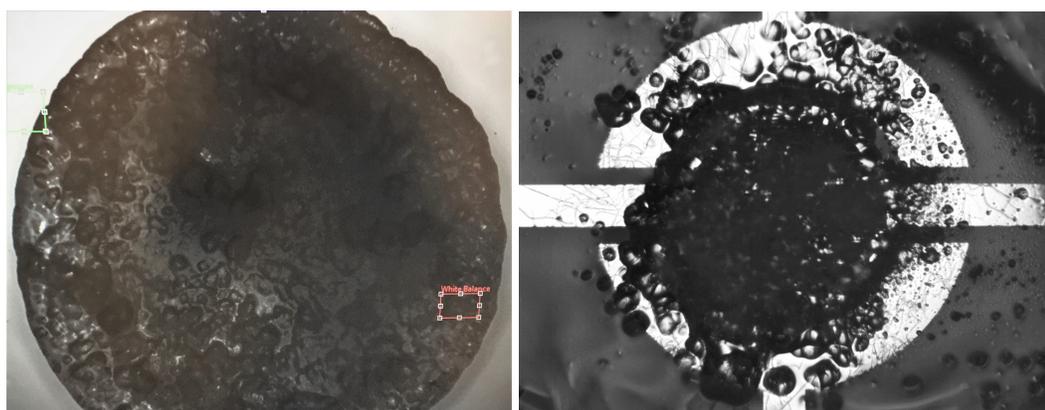
(b) Deposición por emulsión



(c) Prueba de perfilometría

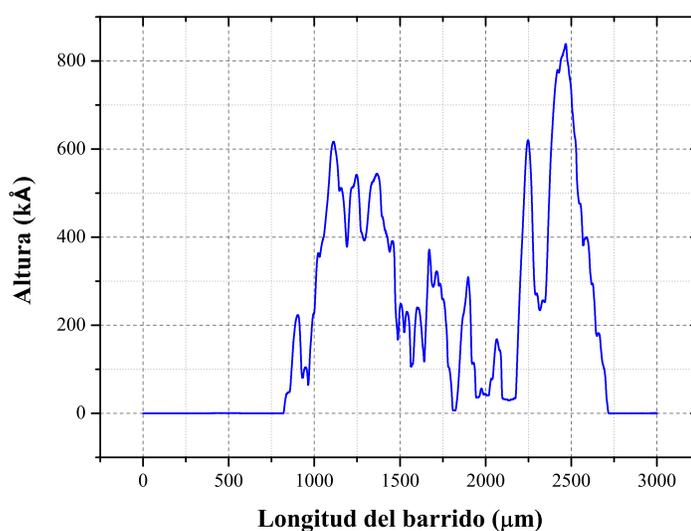
Figura 6.3: Deposición por emulsión del polímero sobre los electrodos interdigitados.

Por su parte, con la deposición en dos pasos se generó una capa más homogénea del polímero, así como mayor cantidad de este y una mejor distribución espacial sobre los microelectrodos interdigitados. Dichos resultados, empleando $12 \mu\text{L}$ de plastificante, se muestran en las Figuras 6.4a y 6.4b. En las pruebas de perfilometría (véase Figura 6.3c) se obtuvieron espesores de película entre los $200 \text{ k}\text{\AA}$ y los $800 \text{ k}\text{\AA}$, además, la gráfica muestra un diámetro menor de la capa que el obtenido con la deposición por emulsión, lo cual indica también una mejor focalización del material en la zona.



(a) Polímero bajo plastificante

(b) Deposición en dos pasos.

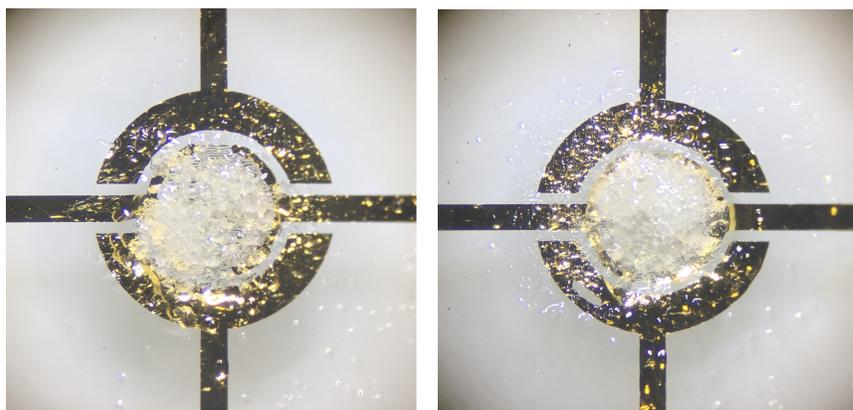


(c) Prueba de perfilometría

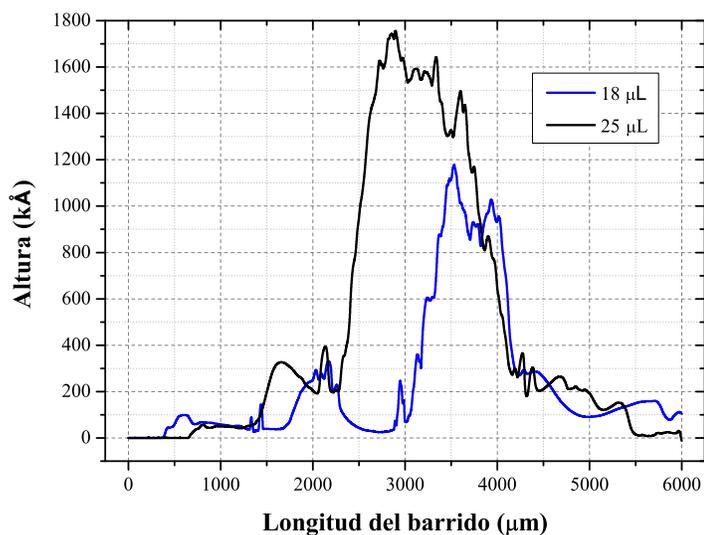
Figura 6.4: Deposición del polímero sobre electrodos interdigitados por el método de dos pasos con un volumen de plastificante de $12 \mu\text{L}$.

En pruebas sucesivas utilizando el mismo método, se agregó mayor cantidad de polímero y el volumen de plastificante se incrementó a $18 \mu\text{L}$ y $25 \mu\text{L}$. Para ambos casos, en la Figuras 6.5a y 6.5b respectivamente, es notable la cantidad de polímero confinado prácticamente en el área de los electrodos y sus resultados de perfilometría en la Figura 6.5c lo constatan. Dichas pruebas arrojaron picos más estandarizado en cada chip, en comparación con los obtenidos anteriormente, así como un aumento significativo en el espesor de la pelí-

cula, no obstante, según lo arrojado en las pruebas sucesivas (véase Sección 6.3, Figura 6.11a), estas características no permitieron el funcionamiento adecuado de los chips para la determinación de presencia de sarcosina en las muestras.



(a) MIP depositado usando 18 μL de (b) MIP depositado usando 25 μL de
plastificante visto al microscopio plastificante visto al microscopio



(c) Prueba de perfilometría para diferentes volúmenes de plastificante

Figura 6.5: Deposición del polímero sobre electrodos interdigitados por el método de dos pasos con un volumen de plastificante de (a) 18 μL y (b) 25 μL .

Como forma de contraste, en la Figura 6.6 se colocaron las pruebas de perfilometría juntas para dimensionar las diferencias de espesor entre las capas de funcionalización. Como se

observa, el método de deposición por emulsión generó una capa muy delgada y dispersa mientras la deposición en dos pasos condujo a capas con mayor espesor al tener más cantidad de polímero confinado y según el volumen de plastificante empleado. Más adelante se muestran los resultados de impedancia asociados a cada prueba de perfilometría.

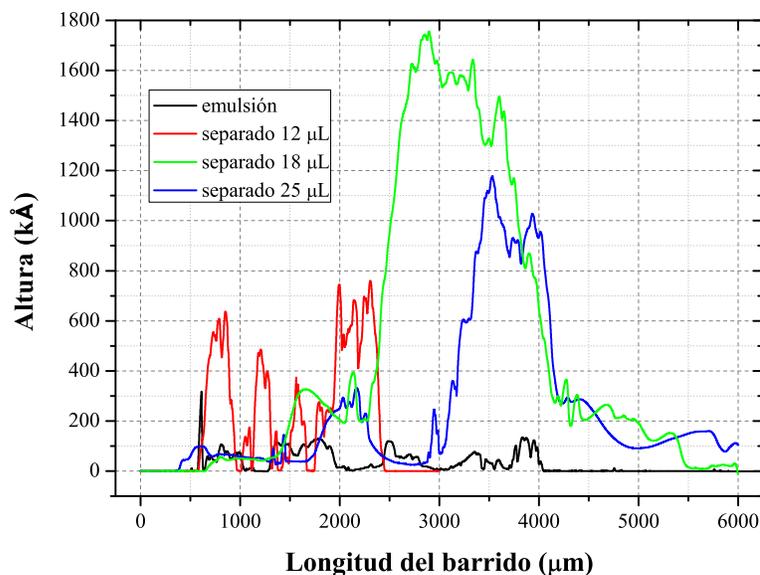


Figura 6.6: Gráficas de perfilometría de los diferentes métodos de deposición de polímero empleados.

6.3. Pruebas con potenciostato comercial

En esta sección se presentan los resultados de las pruebas del funcionamiento del biosensor expuestas en el Capítulo 5, Sección 5.3 de este trabajo. Se muestran los resultados de las mediciones realizadas en aire, es decir, sin agregar ningún tipo de muestra al biosensor, así como los resultados generados antes de incubar (al haber agregado PBS) y después de incubar la muestra con el analito. Como parte del análisis se presenta el cambio porcentual de impedancia obtenido en relación con la concentración de sarcosina presente en la muestra y se relaciona el espesor de la capa de polímero depositado con la respuesta del biosensor.

En las pruebas de impedancia eléctrica realizadas en aire se obtuvieron valores de impedancia muy semejantes entre los diversos microelectrodos de prueba fabricados como lo muestra la Figura 6.7, esto pone de manifiesto que la fabricación de los chips no agrega incertidumbre en las mediciones. Además, en todo el rango de frecuencia, el valor del ángulo está muy cercano a -90° lo que indica que el comportamiento de los chips acoplados con MIP es puramente capacitivo. Debido al aparente comportamiento capacitivo del polímero de impresión molecular y, al ser los electrodos interdigitados estructuras que emulan un capacitor de placas planas y paralelas, los resultados obtenidos en esta prueba coinciden con los esperados.

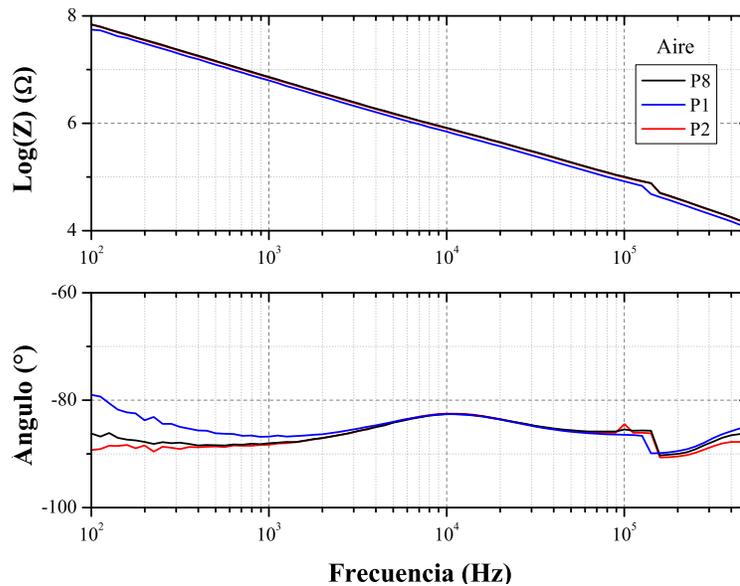


Figura 6.7: Respuesta en frecuencia del biosensor, mediciones en aire.

Los espectros de impedancia de la Figura 6.8 muestran los resultados obtenidos luego de agregar una gota de PBS al biosensor. Como se observa, los valores tanto de impedancia como de ángulo no se vieron modificados de forma significativa con respecto a los valores de referencia con aire anteriormente presentados. Este comportamiento denota, por un lado, que el líquido no se está filtrando hacia el polímero y por otro, que el flujo del campo eléctrico está concentrado en el polímero. Con estas particularidades se deduce que

el PBS no es detectado en las mediciones y los chips en este punto siguen teniendo un comportamiento capacitivo.

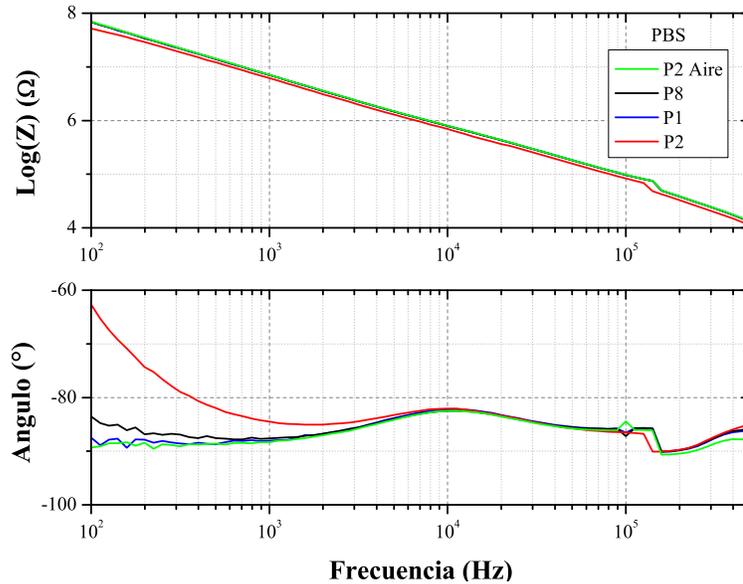


Figura 6.8: Respuesta en frecuencia del biosensor, mediciones antes de incubar (con PBS).

La Figura 6.9 muestra los espectros de impedancia obtenidos después de incubar con sarcosina. Se obtuvieron cambios significativos con relación a los cambios de concentración de sarcosina en PBS. Así, conforme la concentración de esta aumentó, la magnitud de la impedancia eléctrica disminuyó. Y en términos eléctricos, si la impedancia disminuye entonces la capacitancia aumenta, lo que podría estar determinado, en este caso, por un aumento en la permitividad de la capa del polímero a raíz de la incorporación del analito en la estructura, es decir, al filtrarse la sarcosina. Por su parte, los ángulos de fase después de incubar la muestra se mantuvieron muy cercanos a -90° , pero fueron ligeramente menores a los obtenidos antes de incubar por lo que, se infiere que, al incubar la sarcosina se produce un comportamiento resistivo pero no lo suficientemente significativo para que este tenga mayor influencia que el comportamiento capacitivo de los chips acoplados con MIP, de tal forma que el modelo eléctrico del comportamiento al incubar sarcosina sigue siendo el de un capacitor como se ilustra en la Figura 6.12a. Cabe mencionar que entre las tres

concentraciones bajo prueba, las que registraron cambio fueron las de 5 ng/mL y 10 ng/mL pero no la de 1 ng/mL.

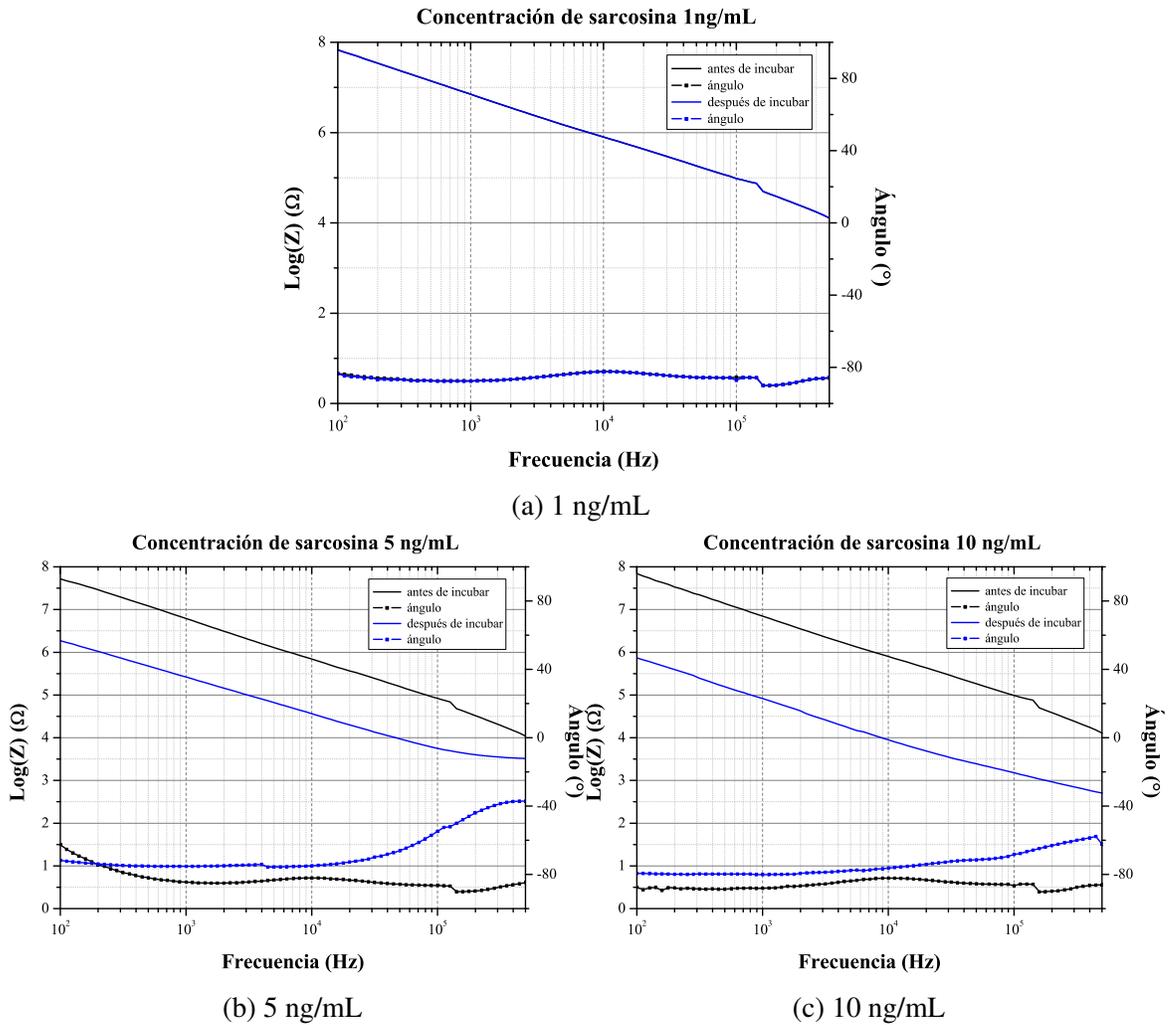


Figura 6.9: Diagramas de Bode de las mediciones con PBS (negro) y con sarcosina (azul) a diferentes concentraciones.

El mayor cambio porcentual de la impedancia se encontró a una frecuencia cercana a los 100 kHz como se observa en la gráfica de la Figura 6.10.

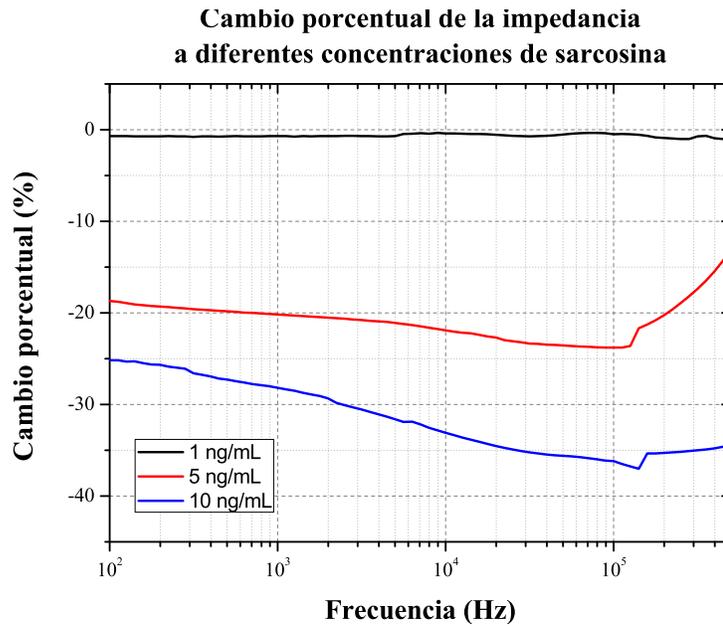


Figura 6.10: Cambio porcentual dadas las concentraciones de sarcosina.

En la tabla 6.1 se ha resumido el rendimiento de plataformas basadas en diferentes técnicas de detección de sarcosina. Se puede observar que con nuestro sensor de diseño interdigitado no sólo es posible detectar sarcosina de forma libre de etiquetas, sino que es capaz de hacerlo de manera sensible detectando concentraciones entre 5 ng/mL (55 nM) y 10 ng/mL (110 nM), un valor que se encuentra dentro del rango lineal del sensor más sensible reportado por Nguy et al. (2017) y que es incluso menor en comparación con técnicas que requieren mayor instrumentación como las reportadas por Cernei et al. (2012). Aún es evidente la necesidad de hacer pruebas para obtener el límite de detección así como el rango lineal de la respuesta del sensor, sin embargo, los resultados en estas primeras pruebas representan un indicativo de su potencial para la aplicación.

Tabla 6.1: Comparación del límite de detección para sarcosina por diferentes métodos.

Método	Límite de detección	Rango lineal	Referencia
Cromatografía líquida de intercambio iónico	70 μM	89-5611 μM	[?]
Espectrómetro UV-vis	1.7 μM	0.56-10 μM	[?]
Electroquímica	110 nM	0.07-561 μM	[?]
Espectroscopia interferométrica reflexométrica	45 nM	0.25-3 mM	[?]
Electroquímica basada en sarcosina oxidasa	16 nM	10-100 nM	[?]
Sensor impedimétrico basado en película de MIP	8.5 nM	0.011-17.9 μM	[?]
Sensor impedimétrico de μ electrodos interdigitados con MIP	55 nM*	no probado	Nuestro trabajo

*el valor corresponde a la menor concentración detectada, pero no a un estudio de límite de detección.

En un posterior ensayo asociado con el espesor de la capa de MIP, se encontró que con capas de plastificante mayores a 1200 $\text{k}\text{\AA}$ (Figura 6.5c) no es posible detectar cambios en la impedancia. Esto se confirma con el diagrama de Bode obtenido que se muestra en la Figura 6.11a. En este, la magnitud de la impedancia al agregar una gota de solución de sarcosina se mantuvo igual que la medición realizada al agregar PBS. En contraste, si las capas eran menores a 150 $\text{k}\text{\AA}$, como el caso de las muestras de perfilometría de la Figura 6.3c, estas eran tan delgadas que no resistían el tiempo de pruebas y terminaban permitiendo filtraciones de líquido hacia los interdigitados, lo cual genera un comportamiento resistivo que se denota con una disminución en la impedancia y un ángulo de fase cercano a cero, como lo demuestra el diagrama de Bode de la Figura 6.11b.

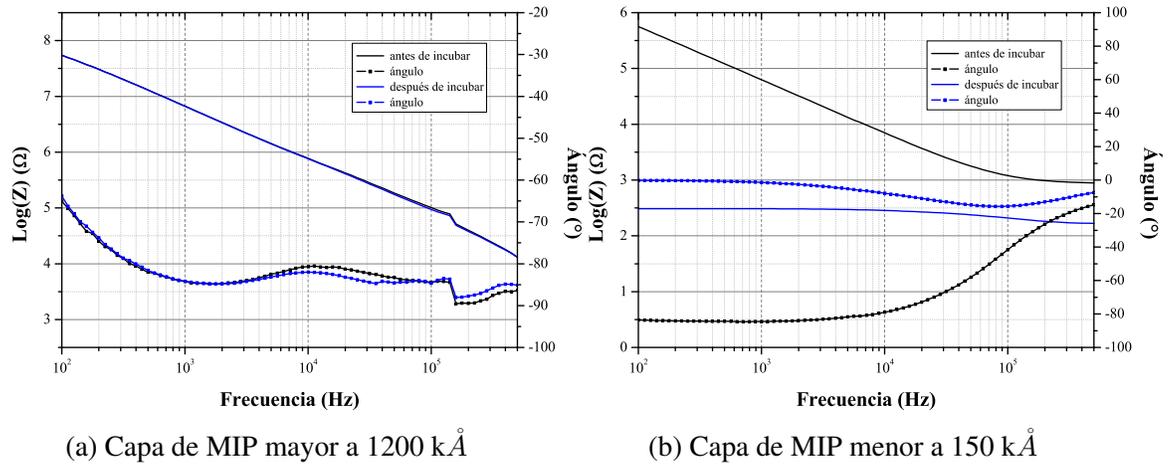


Figura 6.11: Diagramas de Bode de interdigitados con capa de MIP de diferente espesor.

6.4. Circuito equivalente

A partir de los resultados obtenidos en las pruebas de la Sección 6.3 se modeló el circuito del comportamiento del biosensor como se muestra en la Figura 6.12a. Los microelectrodos interdigitados son puramente capacitores de placas planas y paralelas por lo que se han representado como un capacitor C_E . El polímero también actúa como un capacitor C_{MIP} en paralelo con C_E . El modelo no considera la solución de sarcosina en PBS (Sarc) debido a que el espesor de la capa del polímero (entre 400 y 700 kÅ) es lo suficientemente gruesa como para que el campo eléctrico alcance la solución. Sin embargo, después de incubar la sarcosina, su filtración hacia las cavidades selectivas del polímero sí altera la capacitancia de este, aunque no de forma significativa su fase, y se refleja en una disminución de la impedancia como se mostró en los resultados de las pruebas de la Sección 6.3. Entonces, el comportamiento eléctrico del biosensor selectivo a sarcosina puede modelarse como un único capacitor (véase Figura 6.12b) donde su magnitud de impedancia disminuye por la disminución de la reactancia capacitiva al aumentar la permitividad que modifica la capacitancia cuando la sarcosina se filtra hacia las cavidades del *MIP*.

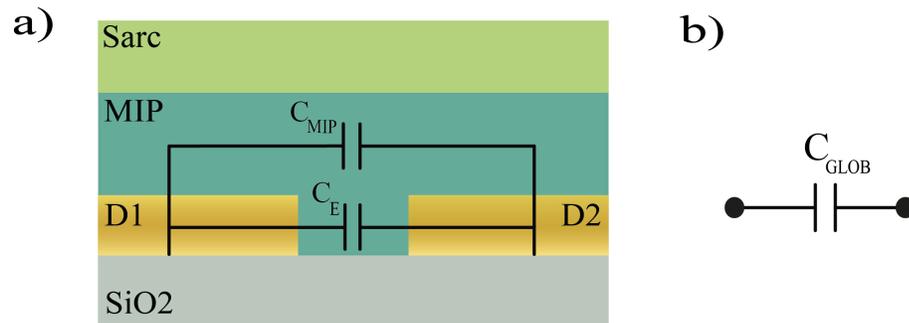


Figura 6.12: Circuito equivalente del biosensor selectivo a sarcosina. a) Circuito general. b) Circuito simplificado.

Conclusiones

Las placas PCB diseñadas cumplen con los parámetros y requerimientos para hacer mediciones de espectroscopia de impedancia eléctrica en un rango entre 100 Hz y 1 MHz. El MIP sintetizado generó selectividad a la sarcosina, sin embargo y debido a las dimensiones de los electrodos, es viable adecuar el método de síntesis para disminuir el tamaño de partícula para mejorar la repetibilidad, reduciendo así los errores asociados con el proceso de deposición sobre los microelectrodos interdigitados. Además, un método de síntesis más controlado disminuiría los posibles impedimentos estéricos que genera una síntesis en bulto, proporcionando mayor sensibilidad al sensor.

De los dos métodos empleados, la deposición a dos pasos mostró mejor desempeño ya que por medio de esta se obtuvo mayor cantidad de MIP depositado sobre el área de sensado, una capa más homogénea, así como una mayor área de cobertura, en contraste con el método de emulsión.

También, se encontró que el espesor de la capa de polímero afecta en el correcto desempeño del biosensor. De esta manera, en capas mayores a 1200 kÅ no se logró filtración de sarcosina hacia los sitios de reconocimiento, por lo que no se obtuvieron variaciones en las mediciones de impedancia eléctrica. En contraparte, una capa menor a 300 kÅ generó mediciones erróneas debido al desprendimiento de esta durante el proceso de medición.

De este modo se concluyó que el procedimiento más efectivo para la deposición del polímero es el método a dos pasos, con capas de funcionalización entre los 400 y 700 kÅ de espesor.

Por otro lado, en la evaluación del conjunto MIP-electrodos interdigitados, mediante el uso de un potencióstato comercial, se observó que el PBS no agrega cambios en los valores de impedancia, por lo que se concluye que este no es capaz de permear la capa plastificante ni generar uniones con el polímero, razón por la cual la impedancia no se ve modificada. Mientras tanto, en las pruebas con las concentraciones de interés se evidenció una relación en la disminución de la impedancia al aumentar la concentración de sarcosina, obteniéndose el mayor cambio porcentual a una frecuencia cercana a los 100 kHz. De las tres concentraciones empleadas para la evaluación del funcionamiento, se obtuvieron cambios en la impedancia con concentraciones de sarcosina de 5 ng/mL y 10 ng/mL pero no con la solución cuya concentración era de 1 ng/mL, por lo que se requiere de trabajo futuro para evaluar mayor número de concentraciones y determinar el límite de detección, así como la respuesta lineal, lo que pondrá a prueba la sensibilidad del biosensor en mayor medida. El sistema electrónico propuesto es compacto, portátil y muestra buena precisión en las mediciones realizadas con la celda simulada. De manera conjunta, los resultados demuestran el potencial del sistema para la aplicación y además, el trabajo desarrollado ofrece una alternativa para la detección de otras enfermedades que puedan ser diagnosticadas a través de biomarcadores.

Trabajos derivados de la tesis

Simposio: 1er Simposio de tecnologías emergentes con aplicación biomédica (2021).

Título: Desarrollo de módulos electrónicos para su integración con transductores impedimétricos aplicados a la detección de sarcosina.

Tipo de presentación: Póster digital.

Congreso: IV Latin American Conference on Bioimpedance (2021).

Título: Development of electronic modules for their integration with impedimetric transducers applied to sarcosine detection.

Tipo de presentación: Oral.

Coloquio: 1er Coloquio mexicano de bioimpedancia (2022).

Título: Principios del desarrollo de módulos electrónicos para su integración con transductores impedimétricos aplicados a la detección de sarcosina.

Tipo de presentación: Oral.

Proceedings

Editor: Journal of Physics (IOPscience)

Título: Development of electronic modules for their integration with impedimetric transducers applied to sarcosine detection.

Autores: A Perez-Nava, V Vallejo-Becerra, S Fernández-Puig, G Oza and J Herrera-Celis.

Conferencia: IV Latin American Conference on Bioimpedance (2021).

Fechas: 10-13 de noviembre de 2021.

Volumen: 2008.

Link: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1742-6596/2008/1/012006>