



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO CAMPUS HERMOSILLO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN PROGRAMA DE MAESTRÍA EN INGENIERÍA ELECTRÓNICA

Diseño y desarrollo de sistema de biosensor para la industria
médica mediante litografía de haz de electrones

TESIS

Presentada por:

Ing. David Alejandro Duarte Moroyoqui

Como requisito parcial
para obtener el grado de:

Maestría en Ingeniería Electrónica

Director de tesis:

Dr. Carlos Alberto Pereyda Pierre

Asesores de tesis:

Dr. José Antonio Hoyo Montaña

Dra. Rosalía del Carmen Gutiérrez Urquídez

Hermosillo, Sonora

17 de enero de 2022





Instituto Tecnológico de Hermosillo
División de Estudios de Posgrado e Investigación

SECCIÓN: DIV. EST. POS. E INV.
No. OFICIO: DEPI/018/22
ASUNTO: AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN
DE TESIS.

24 de enero de 2022

**DAVID ALEJANDRO DUARTE MOROYOQUI,
P R E S E N T E**

Por este conducto, y en virtud de haber concluido la revisión del trabajo de tesis que lleva por nombre "DISEÑO Y DESARROLLO DE SISTEMA DE BIOSENSOR PARA LA INDUSTRIA MÉDICA MEDIANTE LITOGRAFÍA DE HAZ DE ELECTRONES"; que presenta para el examen de grado de la MAESTRÍA EN INGENIERÍA ELECTRÓNICA, y habiéndola encontrado satisfactoria, nos permitimos comunicarle que se autoriza la impresión del mismo a efecto de que proceda el trámite de obtención de grado.

Deseándole éxito en su vida profesional, quedo de usted.

ATENTAMENTE

DR. CARLOS ALBERTO PEREYDA PIERRE
DIRECTOR

DR. JOSÉ ANTONIO HOYO MONTAÑO
SECRETARIO

DRA. ROSALÍA DEL CARMEN GUTIERREZ URQUIDEZ
VOCAL

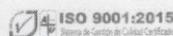
M.C. O. ROSA IRENE SÁNCHEZ FERMÍN
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN



S.E.P.

RISF/famv*

INSTITUTO TECNOLÓGICO
DE HERMOSILLO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS
DE POSGRADO





CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la ciudad de Hermosillo Sonora a el día 17 de enero del año 2022 el que suscribe C. David Alejandro Duarte Moroyoqui , alumno de la Maestría en Ingeniería Electrónica adscrito a la División de Estudios de Posgrado e Investigación, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis titulado Diseño y desarrollo de sistema de biosensor para la industria médica mediante litografía de haz de electrones bajo la dirección del Dr. Carlos Alberto Pereyda Pierre y ceden los derechos del mismo al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Hermosillo, para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben de reproducir el contenido textual, graficas, tablas o datos contenidos sin el permiso expreso del autor y del director del trabajo. Este puede ser obtenido a la dirección de correo electrónico siguiente: david_duarte5@hotmail.com . Una vez otorgado el permiso se deberá expresar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

ATENTAMENTE

David Duarte

David Alejandro Duarte Moroyoqui



Av. Tecnológico S/N Col. El Sahuaro C.P. 83170 Hermosillo, Sonora
Tel. 01 (662) 260 65 00, ext. 136, e-mail: depi_hermosillo@tecnm.mx
tecnm.mx | ith.mx



ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	4
ÍNDICE DE FIGURAS	7
CAPÍTULO 1	9
INTRODUCCIÓN	9
1.1 Antecedentes	11
1.2 Planteamiento del problema	12
1.3 Justificación del tema de tesis	12
1.4 Hipótesis	13
1.5 Propuesta de solución	13
1.6 Objetivo general	14
1.6.1 Objetivos particulares	14
1.7 Metas y alcances	15
CAPÍTULO 2	16
MARCO TEÓRICO	16
2.1 Biosensores	16
2.1.1 Biosensores electroquímicos	16
2.1.2 Biosensores ópticos	17
2.1.3 Biosensores piezoeléctricos	17
2.1.4 Biosensores calorimétricos	17
2.2 Componentes básicos de un sistema de biosensor	17
2.3 Técnicas de detección electroquímica	18
2.2.1 Amperometría	19
2.2.2 Potenciometría	19
2.2.3 Voltametría cíclica	19
2.2.4 Electrodo utilizados en electroquímica	19
2.3 Celda electroquímica	20
2.5 Celda Simplificada de Randles	20
2.6 Potenciostato	21
2.7 Principio de funcionamiento de los biosensores	22
2.8 Corriente de respuesta del biosensor	23
2.9 Amplificador de transimpedancia	23

CAPÍTULO 3	24
ASPECTOS COMPUTACIONALES	24
3.1 Software	24
3.1.1 Proteus Design Suite	24
3.1.1.1 Norma de diseño IPC-2221B para circuitos impresos	25
3.1.2 MATLAB	26
3.1.2 EasyEDA	26
3.2 Entornos de desarrollo	27
3.2.3 Arduino IDE	27
3.3 Métodos de Monte Carlo	27
CAPÍTULO 4	29
METODOLOGÍA	29
4.1 Proceso de diseño en ingeniería basado en ABET 2020-2021	29
CAPÍTULO 5	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
5.1 Modelado de la reacción química del biosensor	31
5.1.1 Consideraciones y cálculos	31
5.1.2 Obtención de coeficientes mediante el método de Monte Carlo	33
5.2 Simulación en MATLAB	34
5.2.1 Concentración de cetonas	34
5.2.2 Concentración del producto	35
5.2.3 Concentraciones del analito, mediador y producto	35
5.2.3.1 Derivada parcial del producto respecto a la distancia	35
5.2.3.2 Gráfica de Corriente vs Concentración de analito	36
5.2.3.3 Gráfica de Corriente vs Concentración de analito	37
5.3 Diseño y simulación de circuitos	37
5.3.1 Simulación de biosensor	38
5.3.2 Diseño del amplificador de transimpedancia	40
5.4.2.1 Fenómeno de pico de ganancia	41
5.3.3 Amplificador inversor	42
5.3.4 Convertidor Analógico-Digital (ADC)	43
5.3.5 Procesamiento de datos	43
5.3.6 Integración de componentes	44

5.3.7 Comparativa de respuestas	45
5.4 Desarrollo de circuito mediante Litografía de Haz de Electrones (EBL)	46
5.4.1 Limpieza previa	46
5.4.2 Deposición de resina	47
5.4.3 Soft Bake	49
5.4.4 Alineación de máscara	50
5.4.5 Exposición a la luz Ultravioleta (UV)	51
5.4.6 Revelado de patrón	52
5.4.7 Metalización	52
5.4.8 Lift off y limpieza	54
5.5 Consideraciones para el diseño del circuito impreso	54
5.5.1 Diseño de circuito en EasyEDA	55
5.5.2 Etapa del Amplificador de transimpedancia	57
5.5.3 Conexiones para suministro eléctrico de los amplificadores	58
5.5.4 Conexiones de entrada y salida	58
5.5.3 Placa de circuito impreso (PCB)	58
5.6 Simulación física del biosensor y pruebas físicas del sistema electrónico para biosensor	59
5.7 Discusión general	67
CAPÍTULO 6	69
CONCLUSIONES	69
REFERENCIAS	71
ANEXOS	75
A. Script de MATLAB	75
B. Script de Arduino IDE	80

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general del modelo integral del biosensor.	14
Figura 2. Estructura de un biosensor.	16
Figura 3. Diagrama esquemático del biosensor que consta de tres componentes: detector, transductor y sistema de salida.	18
Figura 4. Celda electroquímica de 3 electrodos.	20
Figura 5. Celda Simplificada de Randles.	20
Figura 6. Celda electroquímica simple.	21
Figura 7. Celda electroquímica controlable.	22
Figura 8. Esquema general del amplificador de transimpedancia.	23
Figura 9. Software para diseño y simulación de circuitos ISIS.	24
Figura 10. Programa para cómputo numérico MATLAB.	26
Figura 11. Programa para diseño de circuitos EasyEDA.	27
Figura 12. Entorno de desarrollo para Arduino.	27
Figura 13. Diagrama de flujo para solución de sistema de ecuaciones mediante métodos de Monte Carlo.	28
Figura 14. Diagrama de flujo del proceso de diseño basado en ABET 2020-2021.	30
Figura 15. Concentración de cetonas en función de la distancia y tiempo.	34
Figura 16. Perfil de concentración de cetonas en función de la distancia.	34
Figura 17. Concentración del producto en función de la distancia y tiempo.	35
Figura 18. Perfil de Concentración de cetonas y oxígeno.	35
Figura 19. Derivada parcial del producto respecto a la distancia.	36
Figura 20. Gráfica de Corriente vs Concentración de cetonas.	37
Figura 21. Gráfica comparativa de la simulación vs el experimento de Diaz-Diaz et al. (2009).	37
Figura 22. Celda de Randles (con indicación de electrodos).	38
Figura 23. Fuente de corriente en Proteus.	38
Figura 24. Gráfica de corriente de operación de un biosensor basado en In_2O_3 .	39
Figura 25. a) Gráfica cronamperométrica de la respuesta de un biosensor, b) gráfica cronoamperométrica simulada en Proteus de la respuesta de un biosensor.	39
Figura 26. Simulación de corriente de entrada en Proteus.	40
Figura 27. Etapa de amplificador de transimpedancia.	41
Figura 28. Amplificador de transimpedancia con capacitor en paralelo con R_f .	42
Figura 29. Etapa de OPAMP inversor (señalado por el recuadro punteado rojo).	43
Figura 30. Procesamiento de señal con ADC + Arduino.	43
Figura 31. Esquema completo del sistema electrónico para biosensor.	44
Figura 32. Señales de corriente de salida amplificadas del biosensor(amarillo).	45
Figura 33. Comparativa de respuesta esperada vs. respuesta obtenida.	45
Figura 34. Estación de baño ultrasónico.	47
Figura 35. Spin Coater. 53	
Figura 36. Colocación de recubrimiento de resina en la oblea.	48

Figura 37. Selección de parámetros.	49
Figura 38. Horno para Soft Bake.	49
Figura 39. Ajuste de tiempo y temperatura.	50
Figura 40. Equipo de alineación.	50
Figura 41. Colocación del sustrato (izquierda) y máscara (derecha).	51
Figura 42. Exposición a la luz UV.	51
Figura 43. Colocación de oblea en líquido revelador.	52
Figura 44. Equipo para evaporación por haz de electrones.	52
Figura 45. Porta sustrato. Vista lateral (derecha) y vista superior (izquierda)	53
Figura 46. Colocación de oblea en líquido revelador.	53
Figura 47. Selección de parámetros.	54
Figura 48. Limpieza y resultado final.	54
Figura 49. Esquemático del circuito en EasyEDA.	56
Figura 50. Esquemático del circuito en EasyEDA en formato para PCB.	56
Figura 51. Ejemplo de esquemático mostrando pista de protección trazada.	57
Figura 52. Esquemático del circuito en EasyEDA en formato para PCB con pistas de protección trazadas.	57
Figura 53. Esquema de conexiones para el circuito impreso en EasyEDA.	58
Figura 54. Placa de circuito impreso para el biosensor.	58
Figura 55. Encapsulado del circuito integrado LM334 y esquema de terminales.	59
Figura 56. Fuente de corriente con circuito LM334.	59
Figura 57. Medición de corriente proporcionada por el circuito LM334.	60
Figura 58. Diagrama de bloques para la conexión de medidores de corriente y voltaje.	60
Figura 59. Conexiones en físico de los medidores de corriente y voltaje.	61
Figura 60. Gráfica de la simulación del nivel de concentración de cetonas en el aliento de una persona.	62
Figura 61. Diagrama de bloques con la integración completa del sistema de transducción para biosensor.	62
Figura 62. Integración completa de los módulos del sistema de transducción para biosensor de cetonas.	63
Figura 63. Curva de corriente-voltaje del circuito emulador de biosensor LM334.	64
Figura 64. Curva de corriente (μA) contra concentración de cetonas (ppm) para sensores de nitruro de indio (InN).	64
Figura 65. Curva de corriente (μA) contra concentración de cetonas (ppm) obtenida mediante detección GC-MS.	65
Figura 66. Mediciones de corriente vs. concentración de cetonas a) sensor enzimático [54] y b) simulación física.	66
Figura 67. Comparativa de curva de comportamiento corriente-concentración de sensor enzimático (azul) y simulación física (rojo).	66
Tabla 1. Comparativa de ventajas y desventajas de Proteus.	25
Tabla 2. Muestras de corriente vs. voltaje.	63
Tabla 3. Lista de sensores de gas para detección de cetonas.	68

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con el Informe Mundial Sobre la Diabetes (Global Report on Diabetes) publicado en 2016 por la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estimó que alrededor de 422 millones de adultos padecían algún tipo de diabetes en 2014, comparado con 108 millones en 1980. Desde 1980 la prevalencia global (normalizada por edades) se incrementó de 4.7% a 8.7% lo que representa un aumento de casi el doble en un periodo de 34 años. Esto a su vez, supone un aumento en factores de riesgo asociados a la diabetes, tales como el sobrepeso y la obesidad. Durante la última década, la prevalencia se ha incrementado a una tasa mayor en países menos desarrollados de bajos y medianos ingresos que en los países de altos ingresos [1]. En países desarrollados, la prevalencia es mayor. Sin embargo, los países en vías de desarrollo también han presentado un aumento, afectando mayormente mujeres que hombres [2].

En las últimas décadas ha surgido un interés considerable por estudiar los Compuestos Orgánicos Volátiles (VOC por sus siglas en inglés) emitidos por el cuerpo humano, debido a que contienen abundante información biológica que puede ser útil para determinar las condiciones de salud de una persona [3].

Una muestra del aliento de una persona saludable contiene aproximadamente 200 VOCs. Sin embargo, los niveles de concentración y los tipos de VOCs pueden variar en cada persona. Se han encontrado hasta 3500 VOCs distintos y aún se siguen identificando nuevos compuestos. Los niveles de concentración de algunos de estos compuestos pueden variar desde partes por trillón (ppt) a partes por millón (ppm) [4].

Todavía no se ha determinado el origen celular y bioquímico de muchos de estos compuestos orgánicos, además de que algunos pueden manifestarse debido a causas o fuentes externas. Hasta el momento no se puede dar un diagnóstico preciso sobre el estado de salud de una persona analizando las muestras de VOCs. Sin embargo, una de las ventajas es que algunos compuestos, tales como el isopreno y las cetonas, se manifiestan en cantidades relativamente altas en pacientes que padecen Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) [5].

Las cetonas son compuestos químicos que se producen cuando se presentan bajos niveles de insulina en la sangre y el cuerpo utiliza la grasa en lugar de la glucosa para generar energía [6].

Esto supone un gran reto en la actualidad, investigar sobre nuevos métodos para detectar a tiempo enfermedades como la diabetes o el cáncer. Detectar síntomas en una etapa temprana reduciría la tasa de mortalidad de las personas con estos padecimientos. Aún existe mucha falta de información en este campo, sin embargo, en los últimos años se ha encontrado una correlación de la cantidad de VOCs presentes en una persona con diferentes enfermedades, ya que estos compuestos funcionan como marcadores biológicos para detectar anomalías en el organismo. [4]

Con los avances y el desarrollo tecnológico se han creado distintos tipos de biosensores, que, a diferencia de los sensores, estos cuentan con un componente biológico que al interactuar con un analito se produce una reacción catalítica o vinculante, generando una señal eléctrica cuantificable, proporcional al analito de interés [7].

En este trabajo se abordan los distintos tipos de biosensores y técnicas de medición, tales como la amperometría, potenciometría y voltametría, que permiten traducir esta señal eléctrica cuantificada, de tal manera que una persona especialista en el área de la salud pueda realizar un diagnóstico o determinar un tratamiento adecuado para la enfermedad analizada.

Se optó por trabajar con biosensores de tipo electroquímicos amperométricos, ya que resultan ser sensores de bajo costo, además de presentar características como bajo consumo de energía, alta sensibilidad y selectividad. Además, la respuesta del biosensor se puede describir mediante las leyes de Faraday y las Leyes de Fick [8].

Se utilizaron herramientas de cómputo numérico como MATLAB para realizar una simulación de la curva característica de respuesta de un biosensor típico a fin de compararla con un experimento realizado por en 2009 por Díaz-Díaz et al. [9]. También se utilizó el software Proteus (v8.9) de Labcenter Electronics para simular el comportamiento de un biosensor ante una concentración de analito. Se simuló la respuesta en corriente y se comparó con los resultados obtenidos de nuestra simulación en MATLAB.

La simulación para la etapa de procesamiento de la señal se realizó con ayuda del entorno de desarrollo Arduino IDE, debido a su compatibilidad con el software de Proteus y la fácil instalación de módulos virtuales e interfaces de despliegue de datos.

Este proyecto fue llevado a cabo en conjunto con El Núcleo de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico (NICDET), una institución privada dedicada a la investigación científica y tecnológica. La propuesta de NICDET fue desarrollar el biosensor con nanotubos de óxido de indio (In_2O_3) para la adsorción de cetonas, y

fabricar un sistema de electrodos mediante la técnica de litografía de haz de electrones ya que en sus instalaciones cuentan con el equipo necesario para trabajar con litografía.

Se contempla el uso de la técnica de Litografía por haz de electrones para fabricar sensores con arreglos de nanoelectrodos (Nano Electrode Arrays ó NEAs). La litografía por haz de electrones consiste en trazar patrones en escalas muy pequeñas en el orden de los nanómetros al remover o agregar material en un sustrato. Por ejemplo, en la industria de los semiconductores, se utiliza frecuentemente esta técnica y con ayuda del diseño asistido por computadora (CAD por sus siglas en inglés) se generan máscaras utilizadas para replicar patrones en obleas de silicio [10]. Se realizaron algunas pruebas de impresión de patrones en obleas de silicio en las instalaciones de NICDET con la intención de usarse como base para el posterior diseño y desarrollo de los sensores electroquímicos para la detección de cetonas en el aliento de personas.

1.1 Antecedentes

Desde que Leland C. Clark y Champ Lyons propusieron en 1962 el concepto inicial para biosensor tipo electroquímico basado en electrodos de enzimas de glucosa para monitorear la glucosa en la sangre se ha observado un gran desarrollo en los últimos años en el desarrollo de dispositivos para el control de la diabetes. Las enzimas son catalizadores que presentan una característica importante de alta selectividad y se espera un aumento en el uso de aplicaciones con procesos biocatalíticos. Debido a estos avances y al desarrollo de dispositivos para detección, las industrias alimenticias, ambientales y médicas se han visto beneficiada [11].

Se han realizado experimentos con trióxido de tungsteno (WO_3) para sensores de gas ya que permite crear dispositivos pequeños, robustos y con bajos costos de fabricación, lo que resulta altamente atractivo para dispositivos médicos portátiles de detección de enfermedades. En estos experimentos se comprobó que el WO_3 responde a distintos marcadores biológicos presentes en el aliento como lo son, las cetonas, amoníaco, monóxido de carbono, sulfuro de hidrógeno, tolueno y óxido nítrico. [12]. También se realizaron otras pruebas con nanopartículas de WO_3 dopadas con cromo y silicio, las cuales presentaron alta selectividad y sensibilidad ante las cetonas, lo cual permitió su detección en niveles relativamente bajos de hasta 20 ppb. La desventaja de este método es que para poder utilizar las nanopartículas como detectores de cetonas es necesario trabajar con temperaturas de 300-450°C, lo que resulta impráctico al momento de crear un dispositivo portátil ya que sería necesario alcanzar estas temperaturas y a su vez mantener un nivel de consumo de energía eléctrica razonable [5].

1.2 Planteamiento del problema

En 2008 se estimó que los biosensores de glucosa abarcaban un 85% del mercado de biosensores y representaba un valor de 5 mil millones de dólares [13]. Un mercado tan grande da lugar a realizar cada vez más investigaciones sobre enfermedades como la diabetes para poder desarrollar nuevas tecnologías que faciliten su detección temprana. Anteriormente se han desarrollado electrodos de enzimas amperométricos basados en oxidasa de glucosa (GOx) y han jugado un papel importante en el tema de la realización de pruebas de sangre sencillas para monitorear la glucosa en la sangre [14].

El monitoreo de glucosa en la sangre es indispensable para saber si los niveles de glucosa del paciente están dentro de los niveles de glucosa recomendados, para evitar los riesgos que conllevan especialmente niveles altos en la salud de las personas. Dicho monitoreo lo realizan glucómetros comerciales cuyo funcionamiento requiere una punción cutánea para la obtención de la muestra de sangre a utilizarse para la medición. Sin embargo, hasta el momento de la elaboración de esta tesis, no existe en el mercado un biosensor diseñado, para realizar de manera no invasiva, el diagnóstico y detección de manera efectiva la Diabetes tipo 2.

1.3 Justificación del tema de tesis

Cuando el cuerpo humano, a nivel celular, genera energía mediante el propio consumo de las grasas acumuladas y no mediante los azúcares produce cetonas, las cuales pueden ser detectadas a través del aliento de la persona. En 2017, Chien, PJ *et al.* tomaron muestras del aliento de 55 personas saludables y 25 personas con algún tipo de diabetes (4 con diabetes tipo 1 y 21 con diabetes tipo 2). En pacientes saludables la media del nivel de concentración de cetonas fue de 750 ppb y 15.4 ppb para isopropanol, mientras que en pacientes diabéticos la media fue de 1207.7 ppb en el nivel de concentración de cetonas y 23.1 ppb en el nivel de concentración de isopropanol [15]. Asimismo, las cetonas pueden ser detectadas con ayuda de diversos materiales tales como los nanotubos de óxido de indio (In_2O_3) [16]. Gracias a estudios como éstos se considera la posibilidad de correlacionar el nivel de concentración de cetonas en el aliento con un posible riesgo de padecer algún tipo de diabetes; para tal propósito resulta necesario diseñar un sistema electrónico de transducción para biosensor capaz de detectar altos niveles de concentración de cetonas y con ello apoyar o facilitar el diagnóstico para la detección temprana de la Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2).

De acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), las tres principales causas de muerte en México en 2017, por enfermedades y problemas relacionados a la salud fueron: enfermedades del corazón, diabetes mellitus y tumores malignos. De las 703047 defunciones registradas, un 15.2% murió debido a problemas de diabetes, representando 106,525 defunciones sobre el total [17].

El desarrollo de un dispositivo electrónico para la detección de VOCs mediante aliento presenta dos ventajas principales: la primera es facilitar un sistema auxiliar para diagnosticar la diabetes mellitus tipo 2 de manera efectiva y a tiempo, y la segunda es reducir considerablemente las molestias en pacientes al realizarse las pruebas de sangre para diabetes eliminando el aspecto invasivo de los glucómetros comerciales, lo cual supondría un impacto positivo en la sociedad, ya que se espera que el proyecto pueda beneficiar a este sector de la población con problemas derivados de la diabetes.

1.4 Hipótesis

La Diabetes Mellitus tipo 2 es detectable al correlacionar el nivel de concentración de cetonas en el aliento con la cantidad de glucosa en la sangre; de tal forma que un sistema electrónico de biosensor mediante litografía por haz de electrones (EBL por sus siglas en inglés) resulta beneficioso como apoyo para la detección temprana de DMT2.

1.5 Propuesta de solución

El proyecto propuesto para la tesis se inicia en conjunto con El Núcleo de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico (NICDET), una institución privada dedicada a la investigación científica y tecnológica.

La propuesta de NICDET fue trabajar con nanotubos de óxido de Indio (In_2O_3). [43]. Este material reacciona ante el analito objetivo (cetona) proporcionando una corriente de salida muy pequeña del orden de los microamperios, la cual se puede procesar para desplegar un dato cuantitativo en pantalla, que puede ser interpretado por un profesional de la salud, quien tomará las medidas necesarias para cuidar de la salud del paciente.

Se propone diseñar y simular un circuito de biosensor para detección de cetonas, que genere una pequeña señal de corriente en la escala de los microamperios (μA). La señal de corriente requiere ser procesada previamente para poder manipularla con ayuda de un microcontrolador. Debido a que la señal de salida del biosensor es analógica, es necesario transformarla a una señal digital con ayuda de un Convertidor Analógico-Digital

(ADC por sus siglas en inglés) para poder ser procesada con un microcontrolador. La señal de salida digitalizada por el ADC posteriormente pasa a través de un microcontrolador como Arduino o un módulo WiFi ESP8666 y se programa en el entorno de programación Arduino IDE para poder despegar los datos en una pantalla. La señal de corriente del biosensor es proporcional al nivel de concentración de cetonas detectado. En la figura 1 se presenta un bosquejo general del sistema completo.

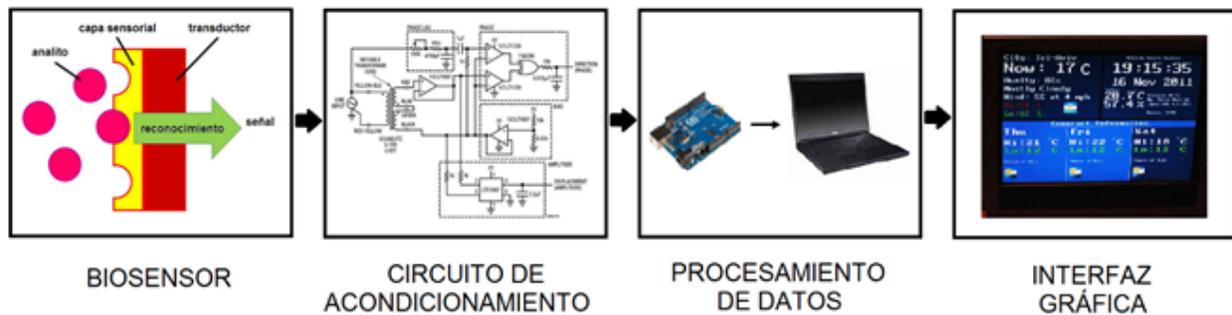


Figura 1. Esquema general del modelo integral del biosensor.

1.6 Objetivo general

Diseñar un sistema electrónico de transducción, amplificación y visualización de una señal eléctrica de un biosensor de Diabetes Tipo 2 para la industria médica, basado en litografía de haz de electrones.

1.6.1 Objetivos particulares

1. Especificar el modelo de la dinámica del biosensor EBL.
2. Examinar la respuesta en corriente del biosensor ante concentración del analito (cetonas).
3. Caracterizar el tiempo de respuesta del biosensor.
4. Fabricar un circuito impreso para sensado mediante técnica de EBL.
5. Definir el tipo de transductor electroquímico para el biosensor EBL.
6. Determinar un amplificador adecuado para la señal eléctrica emitida por el biosensor EBL.
7. Analizar la señal amplificada del biosensor EBL.
8. Establecer los módulos que componen nuestro sistema de biosensor EBL.

1.7 Metas y alcances

De acuerdo con un reporte presentado por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en México, las tres principales causas de mortalidad por enfermedades y problemas relacionados con la salud en 2017 fueron las enfermedades del corazón, la diabetes mellitus y los tumores malignos. Se registró un total de 703,047 defunciones ese año, de las cuales 106,525 murieron por problemas relacionados a la diabetes, lo que representa un 15.2% del total. Se espera que el proyecto pueda alcanzar a beneficiar a este sector de la población que padece diabetes al mejorar la posibilidad de detectar síntomas tempranos de diabetes mediante el monitoreo de cetonas en el aliento.

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1 Biosensores

De acuerdo con la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC) un biosensor se define como "un dispositivo que transforma información química, que abarca desde la concentración de un componente de muestra específico hasta el análisis de composición total en una señal analíticamente útil." [18].

El biosensor puede detectar diversos elementos biológicos como células, microorganismos, tejidos, organelos, enzimas, anticuerpos, ácidos nucleicos, entre otros. La respuesta del biosensor ante estos elementos puede producir una señal cuantificable que se puede procesar [19]. Los componentes principales de un biosensor típico son el biorreceptor, que interactúa con el analito y el transductor y convierte esta interacción en una señal eléctrica, como lo muestra la figura 2. La respuesta del transductor puede ser amplificada por un circuito detector para procesarla y desplegarla en una pantalla [20].

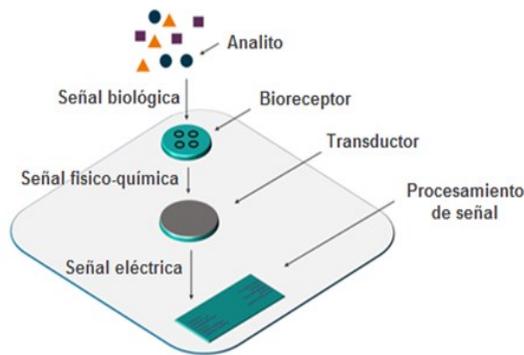


Figura 2. Estructura de un biosensor. [21]

Los biosensores pueden ser clasificados de acuerdo al tipo de transductor que utilizan. Pueden ser del tipo electroquímico, óptico, piezoeléctrico o calorimétrico.

2.1.1 Biosensores electroquímicos

Los biosensores electroquímicos son dispositivos que convierten información química en una señal eléctrica medible, que puede ser de corriente, voltaje, carga e impedancia. Los transductores electroquímicos se utilizan para fabricar sensores en los cuales la concentración de analito es proporcional a la señal eléctrica registrada [18].

2.1.2 Biosensores ópticos

Los biosensores ópticos son dispositivos que transforman una señal no óptica en una señal óptica. Se utilizan ampliamente para desarrollar sensores químicos ópticos que transforman la información química en señales ópticas [18].

2.1.3 Biosensores piezoeléctricos

Este tipo de biosensores están basados en el acoplamiento del elemento biológico con un material piezoeléctrico. El material piezoeléctrico vibra en respuesta al campo magnético y se une a un elemento de reconocimiento [22].

2.1.4 Biosensores calorimétricos

El funcionamiento de este tipo de sensores está basado en el principio calorimétrico que involucra la medición del cambio de temperatura en la reacción entre el elemento biológico de reconocimiento y el analito de interés. Este cambio de temperatura se puede correlacionar a la cantidad de reactantes consumidos o los productos formados [23].

2.2 Componentes básicos de un sistema de biosensor

Un sistema de biosensor consta de tres componentes esenciales:

- i) Detector:** reconoce el elemento biológico de interés.
 - ii) Transductor:** convierte una forma de energía en otra. En un biosensor, un transductor convierte el reconocimiento del elemento biológico en una señal.
 - iii) Sistema de salida:** implica la amplificación y visualización de la señal.
- Dependiendo del elemento de biorreconocimiento, el detector de biosensor se puede clasificar en varias categorías, a saber, catalítico (enzimas, orgánulos, tejidos), afinidad (anticuerpo-antígeno) y receptores híbridos (ADN). [24]

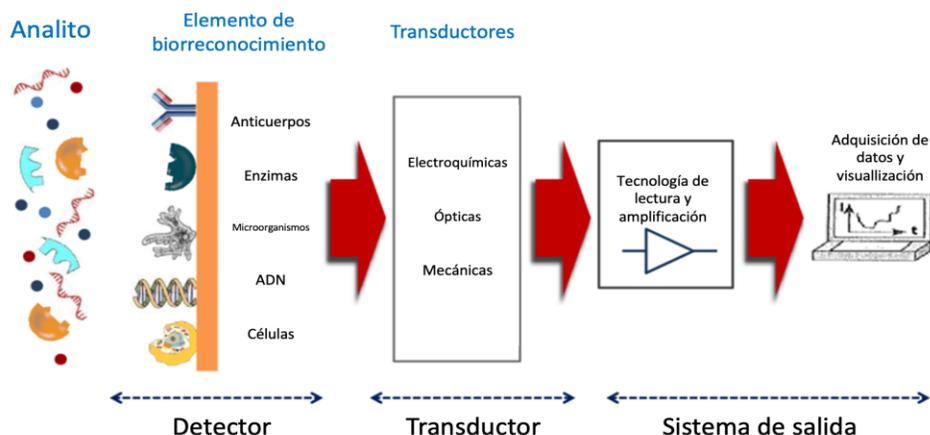


Figura 3. Diagrama esquemático del biosensor que consta de tres componentes: detector, transductor y sistema de salida.

Una variedad de transductores físicos y químicos suelen ser utilizados para monitorear los eventos de reconocimiento biológico. Se puede clasificar en general en dispositivos electroquímicos, ópticos y mecánicos, como se muestra en la Figura 3. El principio de funcionamiento de los transductores mecánicos (por ejemplo, piezoeléctricos y MEMS) en biosensores se basa en el cambio de propiedad mecánica de la capa delgada que se adhiere a la superficie del transductor debido a la reacción de biorreconocimiento. El transductor piezoeléctrico más popular es la microbalanza de cristal de cuarzo (QCM) donde la frecuencia de oscilación de QCM varía debido a cambios en el grosor de las capas delgadas que se adhieren a la superficie del cristal como resultado de una reacción de biorreconocimiento. Con respecto al transductor óptico, los métodos de resonancia de plasmón de superficie (SPR), espectroscopia de reflexión interna que incluye fluorescencia de reflexión interna total (TIRF) y métodos de elipsometría (TIRE) se encuentran entre las técnicas más ampliamente divulgadas [25].

2.3 Técnicas de detección electroquímica

Los biosensores electroquímicos funcionan mediante la transducción al transformar la detección de elementos biológicos en señales electroquímicas detectables. En el campo de los biosensores existen varios tipos de elementos de detección, tales como, células, ácidos nucleicos, anticuerpos y microorganismos. Sin embargo, las enzimas presentan propiedades especiales de unión y actividades biocatalíticas, lo cual les ha permitido ocupar un lugar especial en este campo. En la bioelectroquímica, existen diferentes técnicas utilizadas para monitorear las reacciones electroquímicas [26].

2.2.1 Amperometría

Los sistemas amperométricos miden la corriente resultante de la oxidación o reducción de un elemento electroactivo en la superficie de los electrodos en una reacción bioquímica. La amperometría hace referencia al proceso de medir las variaciones de la corriente en el tiempo mientras se mantiene un potencial constante entre los electrodos de trabajo (WE) y referencia (RE). La corriente está relacionada a la concentración del analito presente en la solución [26].

2.2.2 Potenciometría

En la potenciometría se mide el potencial de una solución entre dos electrodos, un electrodo indicador y un electrodo de referencia. El potencial se relaciona con la concentración del analito presente [26].

2.2.3 Voltametría cíclica

El método voltamétrico consiste en aplicar un potencial entre el electrodo de referencia y el electrodo de trabajo para obtener evidencia analítica al determinar la corriente resultante. La voltametría cíclica es uno de los métodos más utilizados para obtener información en el potencial de reducción y oxidación e investigar los mecanismos y parámetros cinéticos, como constante de la razón de cambio electroquímico, involucrados en las reacciones de soluciones electroactivas de analitos [26].

2.2.4 Electrodo utilizados en electroquímica

El contra electrodo, también conocido como electrodo auxiliar, es un electrodo que se utiliza para cerrar el circuito de corriente en la celda electroquímica, y por lo general, se fabrica de materiales inertes (Platino, Oro, grafito, etc.) y tiene poca influencia en la reacción electroquímica. Otro factor a considerar es que la corriente fluye entre WE y CE, por lo tanto, el área superficial total de CE debe ser mayor al área de WE para evitar limitaciones en la cinética del proceso electroquímico [27]. El electrodo de referencia es un electrodo que tiene un potencial estable conocido y se utiliza como punto de referencia en la celda electroquímica para controlar y medir potencial. La alta estabilidad del electrodo de referencia se obtiene por medio de un sistema redox con concentraciones constantes de cada uno de los componentes de la reacción redox. Además, el flujo de corriente a través del electrodo de referencia se mantiene cercano a cero utilizando el CE para cerrar el circuito de corriente en la celda junto con una muy alta impedancia de entrada en el electrómetro (mayor a 100 Gohm) [27]. El electrodo de trabajo es donde ocurre la reacción de interés. Generalmente los electrodos de trabajo se fabrican con

materiales inertes al igual que el contraelectrodo. El tamaño y la forma del electrodo varían dependiendo de la aplicación [27].

2.3 Celda electroquímica

Un biosensor electroquímico generalmente se compone de una celda con tres electrodos: un electrodo de trabajo, un contraelectrodo (también llamado auxiliar) y un electrodo de referencia, como podemos ver en la figura 4 [28]. En toda celda electroquímica siempre hay al menos dos electrodos presentes, el electrodo de trabajo (WE) o indicador, y el electrodo de referencia (RE). Por lo general, es de interés la reacción que ocurre en el electrodo de trabajo. Las condiciones en este electrodo se controlan de tal manera que se facilite la detección de un solo analito [29].

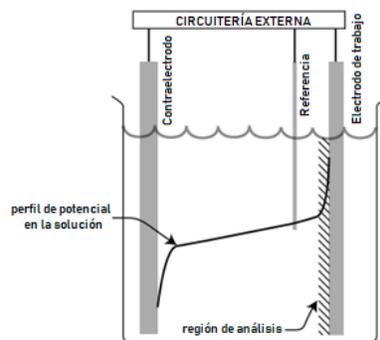


Figura 4. Celda electroquímica de 3 electrodos. [29]

2.5 Celda Simplificada de Randles

Para simular un sistema de biosensor se puede utilizar un modelo denominado Celda Simplificada de Randles, que se aprecia en la figura 5. La celda de Randles es uno de los modelos más simples para representar una celda electroquímica. Contiene una Resistencia de Solución (R_s), un capacitor de doble capa (C_{dl}) y una resistencia de transferencia de carga (R_{ct}), también llamada resistencia de polarización. Además de ser un modelo práctico, el circuito de Randles sirve como punto de partida para modelos más complejos [30].

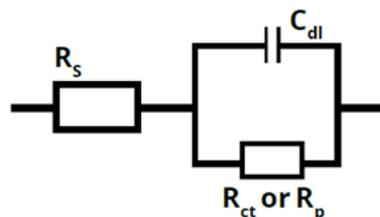


Figura 5. Celda Simplificada de Randles. [30]

La resistencia de solución es un factor significativo en la impedancia de una celda electroquímica. Los potenciostatos modernos de tres electrodos compensan la resistencia de solución R_s entre el electrodo de referencia (RE) y el contraelectrodo (CE). Sin embargo, se debe tomar en cuenta cualquier resistencia de solución entre RE y CE. Existe una doble capa eléctrica en la interfaz entre un electrodo y el electrolito que lo rodea. Esta doble capa se forma mientras los iones de la solución se adsorben en la superficie del electrodo. Un espacio aislante separa el electrodo cargado de los iones cargados. Las cargas separadas por el aislante forman un capacitor. El metal sumergido en el electrolito se comporta como un capacitor. El valor de C_{dl} depende de muchas variables, tales como el potencial del electrodo, temperatura, concentración iónica, tipos de iones, capas de óxido, impurezas, etc. [31].

Se le llama "polarizar" al electrodo cuando el potencial del electrodo se aleja de su valor en circuito abierto. Cuando se polariza un electrodo, puede provocar un flujo de corriente a través de las reacciones electroquímicas que ocurren en la superficie del electrodo. La cantidad de corriente es controlada por la cinética de las reacciones y la difusión de los reactivos ya sea que se acerquen o se alejen del electrodo [31].

2.6 Potenciostato

El potenciostato es un instrumento utilizado frecuentemente para experimentos electroquímicos. Su función es controlar el voltaje a un valor constante entre el electrodo de trabajo (WE) y el electrodo de referencia (RE). En la figura 6 se puede observar el esquema de una celda electroquímica simple [31], [32].

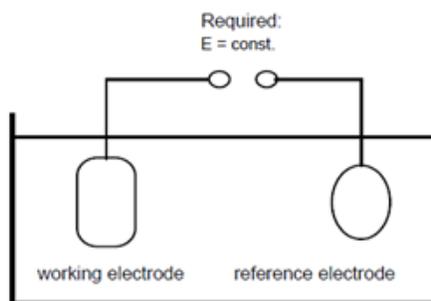


Figura 6. Celda electroquímica simple.

Para controlar este voltaje es necesario cumplir con ciertas condiciones. El electrodo de referencia mantiene un voltaje constante referido al potencial del electrodo de hidrógeno (establecido por convención como punto de referencia). Un cable de plata cubierto por una capa de cloruro de plata sumergido en una solución de cloruro es un electrodo de referencia simple. Sin embargo, cuando la corriente pasa a través de este electrodo, se polariza, haciendo que su potencial cambie con la corriente. Por lo tanto, se debe impedir que fluya corriente a través del electrodo de referencia. De esta manera

se mantiene un potencial constante. Para lograr este objetivo se requiere un tercer electrodo denominado contraelectrodo, tal como podemos ver en la figura 7. Se fuerza el flujo de corriente entre el electrodo de trabajo y el contraelectrodo, la corriente debe ser suficiente para mantener el potencial constante en el electrodo de trabajo con respecto al electrodo de referencia [32].

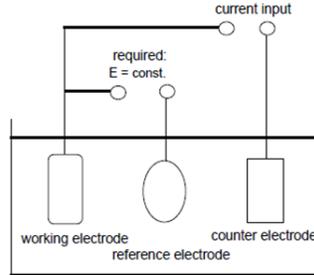


Figura 7. Celda electroquímica controlable.

2.7 Principio de funcionamiento de los biosensores

El funcionamiento de los biosensores amperométricos está basado en el principio de la difusión ya que el analito atraviesa un medio poroso que se opone. Asimismo, ocurre una reacción química en la cual se consume una sustancia y se genera otra. Es similar a la difusión de calor, donde se transfiere energía de un sistema de mayor temperatura a uno de menor temperatura mientras el material se opone a la transferencia [33].

El modelo matemático para un sensor de tipo amperométrico involucra la interacción de un mediador, la concentración del analito o sustrato y las constantes de cinética química de la reacción involucrada en el proceso de biorreconocimiento. En las ecuaciones 1, 2, 3 y 4 podemos observar la dinámica de interacción entre mediador sustrato y productos.

$$\frac{\partial S_e}{\partial t} = D_{Se} \frac{\partial^2 S_e}{\partial x^2} - V(M_e, S_e), \quad (1)$$

$$\frac{\partial M_e}{\partial t} = D_{Me} \frac{\partial^2 M_e}{\partial x^2} - V(M_e, S_e), \quad (2)$$

$$\frac{\partial P_e}{\partial t} = D_{Pe} \frac{\partial^2 M_e}{\partial x^2} + V(M_e, S_e), \quad (3)$$

$$\frac{E_t}{V} = \frac{1}{k_{cat}} + \frac{1}{k_{red} S_e} + \frac{1}{k_{ox} M_e}, \quad (4)$$

Donde:

S_e = sustrato o analito

M_e = mediador

P_e = producto

Además, el producto del coeficiente de difusión y el laplaciano de la concentración de una sustancia y un tercer término que representa la razón de generación o consumo de alguna de las sustancias. El último término involucra las constantes de cinética química, quienes dictan la velocidad a la que ocurre la reacción.

2.8 Corriente de respuesta del biosensor

La corriente del biosensor se relaciona al proceso de difusión; es decir que se describe mediante las leyes de Faraday y Gauss que establecen que el gradiente de concentración del producto es proporcional a la corriente de respuesta. [34] La ecuación que describe la corriente de respuesta es:

$$i(t) = n_e F A D_p \left. \frac{\partial p}{\partial x} \right|_{x=0} \quad (5)$$

Donde:

i = corriente eléctrica

n_e = Intercambio de electrones

F = Constante de Faraday

A = Área de trabajo del electrodo

D_p = Coeficiente de difusión del producto

$\frac{\partial p}{\partial x}$ = Gradiente de concentración del producto (respecto a distancia)

2.9 Amplificador de transimpedancia

Muchos de los dispositivos electrónicos, entre ellos los biosensores, generan en la salida una señal de corriente proporcional al analito de interés. A veces es necesario utilizar un dispositivo denominado amplificador de transimpedancia (TIA por sus siglas en inglés) o convertidor de corriente-voltaje (convertidor I-V), como el de la figura 8 para generar en la salida una señal de voltaje en relación a la corriente de entrada [35].

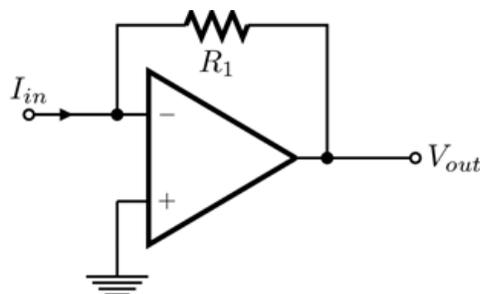


Figura 8. Esquema general del amplificador de transimpedancia.

CAPÍTULO 3

ASPECTOS COMPUTACIONALES

3.1 Software

En este apartado se describe el software utilizado para realizar las simulaciones del biosensor y el sistema electrónico.

3.1.1 Proteus Design Suite

Proteus Design Suite es un software para diseño electrónico y simulación de circuitos, desarrollado por Labcenter Electronics Ltd. Proteus cuenta con dos programas principales: ISIS (Intelligent Schematic Input System), el cual permite diseñar planos del circuito eléctrico y ARES (Advanced Routing and Editing Software), que es una herramienta utilizada para fabricar placas de circuito impreso (PCB, Printed Circuit Board). Proteus cuenta con una interfaz amigable con el usuario, ya que permite manipular componentes electrónicos de una forma sencilla. Al crear un documento nuevo se muestra en pantalla el área de trabajo (figura 9) y para crear un circuito electrónico solamente es necesario elegir un componente de la librería de componentes, seleccionarlo y arrastrarlo hacia el área de trabajo. El prototipado de circuitos se puede hacer de manera rápida, comparado con otros paquetes de software. Si se requiere hacer una modificación en los valores de los componentes simplemente es necesario acceder a las propiedades del elemento y realizar las modificaciones sin necesidad de borrar y colocar el componente nuevamente. [36]

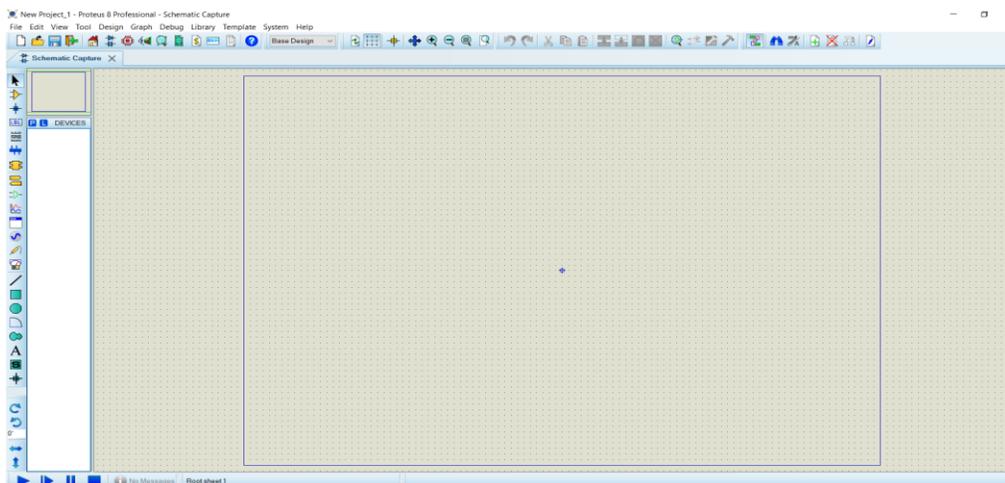


Figura 9. Software para diseño y simulación de circuitos ISIS.

A continuación, se presenta una tabla para analizar las ventajas y desventajas del software a considerar para la simulación del circuito.

Ventajas	Desventajas
Funcionamiento Sencillo	Es una plataforma de pago
Simulaciones rápidas	Solo disponible para Sistema Operativo de Windows
Amplia librería de componentes	Menos componentes comparado con otros software
Captura de esquemáticos	Existen mejores opciones para simulación
Fácil fabricación y diseño de PCBs	Licencia costosa

Tabla 1. Comparativa de ventajas y desventajas de Proteus.

3.1.1.1 Norma de diseño IPC-2221B para circuitos impresos

Existen estándares en la industria para la mayoría de los aspectos del diseño de PCBs. La norma IPC-2221B cubre los requisitos básicos para diseño de circuitos impresos y se abordan temas referentes al montaje y conexiones entre elementos mecánicos, eléctricos y electromecánicos. Una de las recomendaciones de esta norma es que se definan los requisitos de desempeño del producto final antes de comenzar con el diseño de la placa [37].

Para el diseño se toman en cuenta varios aspectos que pueden afectar o alterar el funcionamiento deseado del circuito. Por ejemplo, es necesario definir si el circuito se someterá a condiciones ambientales como altas temperaturas, calor generado por los componentes, vibraciones y golpes que pueda sufrir la placa. También se toma en cuenta los aspectos de la reparación del circuito, si es necesario hacer reparaciones o reemplazar algún componente de manera periódica [37].

Otros factores importantes a tomar en cuenta son la selección de componentes para la placa, ya que existen muchos fabricantes y los circuitos encapsulados u otros elementos tales como resistencias, capacitores, conectores, etc., se presentan en varios tamaños o cuentan con distinto porcentaje de tolerancia, dependiendo de las necesidades del usuario [37].

3.1.2 MATLAB

MATLAB es un software de cómputo numérico que combina un entorno de escritorio con un lenguaje de programación que facilita el manejo de operaciones con arreglos y matrices, tal como se muestra en la figura 10. MATLAB ofrece la posibilidad de convertir algoritmos en códigos de C/C++ Y HDL para ejecutarse en sistemas embebidos. Además cuenta con el software Simulink que permite diseñar una amplia gama de modelos de los sistemas ingenieriles. [38]

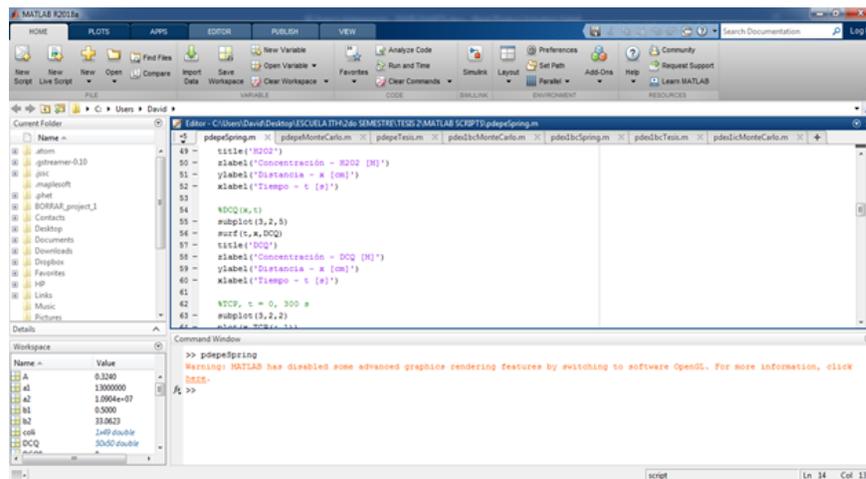


Figura 10. Programa para cómputo numérico MATLAB.

3.1.2 EasyEDA

Las herramientas EDA (Electronic Design Automation) son herramientas utilizadas para diseñar y producir sistemas electrónicos. El software de EasyEDA se utiliza para diseñar el esquema del circuito para fabricar la placa impresa. En la figura 11 se puede apreciar el área de trabajo principal dentro del software de EasyEDA. La ventaja de este software es que el circuito se puede diseñar de manera online sin la necesidad de instalar programas adicionales. Otra de las ventajas que presenta el software es que al terminar de diseñar el circuito se pueden descargar los archivos para realizar el pedido de la placa. Además, incluye un catálogo extenso de modelos de componentes que se pueden solicitar al fabricante [39].

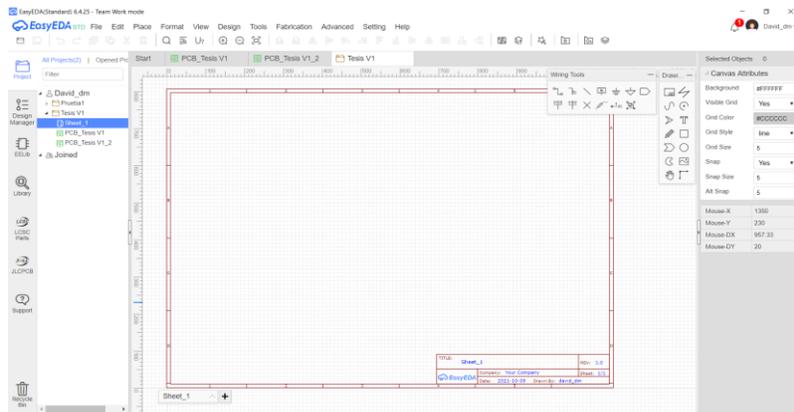


Figura 11. Programa para diseño de circuitos EasyEDA.

3.2 Entornos de desarrollo

3.2.3 Arduino IDE

El Arduino IDE (Integrated Development Environment), mostrado en la figura 12 es un entorno de programación que nos permite escribir nuestros programas y transferirlos a la placa de desarrollo Arduino o a un Módulo WiFi como el ESP8266 [40].

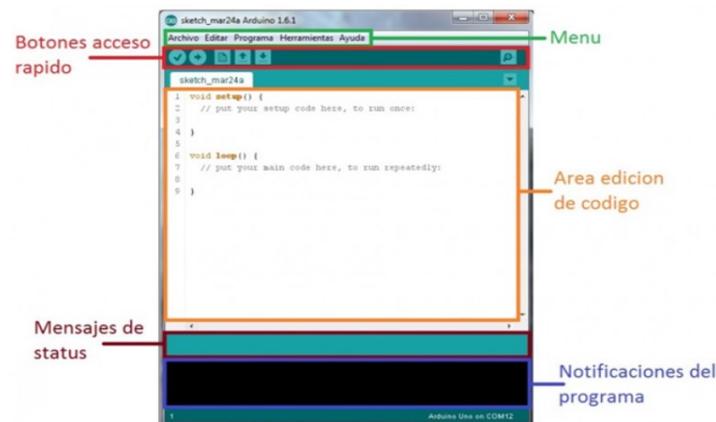


Figura 12. Entorno de desarrollo para Arduino.

3.3 Métodos de Monte Carlo

Los métodos de Monte Carlo son técnicas empleadas para calcular probabilidades y otras cantidades por medio de secuencias de números aleatorios. Se puede plantear un modelo matemático para el sistema del biosensor. Cuando se trabaja con sistemas de múltiples ecuaciones existe la posibilidad de que no se encuentren todos los datos para resolver el sistema. Cuando no se pueden determinar ciertos parámetros mediante

métodos tradicionales se recurre al uso de métodos no deterministas o estadísticos como el método de Monte Carlo. El método consiste en proponer valores aleatorios para las incógnitas en un sistema de ecuaciones, resolver las ecuaciones y medir el error respecto a un sistema de referencia hasta que el error sea cercano o igual a cero [41]. En la figura 13 se presenta el diagrama de flujo con los pasos empleados para resolver el sistema el sistema de ecuaciones que modelan el comportamiento de la respuesta en corriente del biosensor.

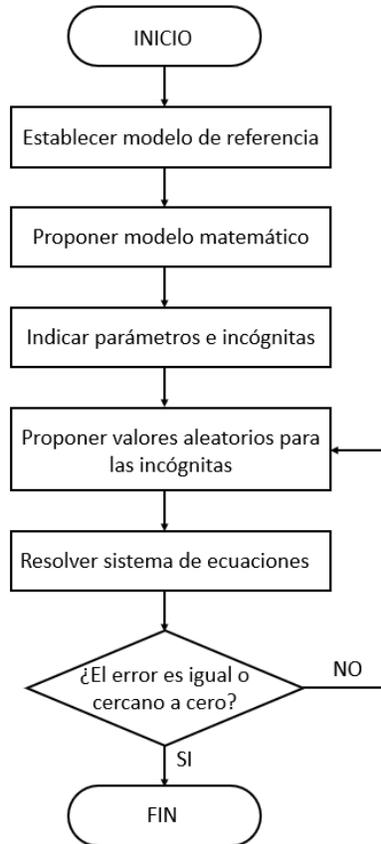


Figura 13. Diagrama de flujo para solución de sistema de ecuaciones mediante métodos de Monte Carlo.

Mediante el software de MATLAB se pretende simular la respuesta en corriente del biosensor ante la concentración de cetonas. El objetivo de obtener la curva de respuesta es para establecer el rango de corrientes que genera el biosensor para poder diseñar un circuito de transducción y amplificación. Se espera que el rango de corrientes se encuentre en el orden de los microamperios. Proteus cuenta con una amplia librería de componentes para simular cada uno de los módulos que componen el sistema de biosensor. Se eligió trabajar con Arduino debido a la compatibilidad de librerías entre Arduino y Proteus, facilitando la simulación de un sistema integral dentro de un mismo programa. Finalmente, al verificar el correcto funcionamiento en simulación con el software de Proteus se pretende utilizar EasyEDA para generar el diseño de la placa impresa del circuito (PCB).

CAPÍTULO 4

METODOLOGÍA

Como marco procedimental y para el desarrollo del presente proyecto se utilizó la metodología de diseño en ingeniería según la ABET (Accreditation Board for Engineering and Technology 2020-2021) para la búsqueda de un producto funcional a través del logro de los objetivos planteados en el capítulo 1, buscando la sinergia e integración de las áreas pertinentes de la electrónica industrial.

4.1 Proceso de diseño en ingeniería basado en ABET 2020-2021

El desarrollo del presente proyecto se basa fundamentalmente en los procesos de diseño en ingeniería, tratado como un proceso que representa la secuencia de pasos en el curso de los intentos para el logro de los objetivos propuestos. En general se toma en consideración que el diseño en la ingeniería corresponde a un proceso de diseño de un sistema, componente o proceso para satisfacer las necesidades y especificaciones deseadas dentro de las limitaciones. Es un proceso de toma de decisiones iterativo y creativo en el que se aplican las ciencias básicas, las matemáticas y las ciencias de la ingeniería para convertir recursos en soluciones. [42]

En la sistematización básica de los pasos se propone trabajar mediante:

- 1) Definición de las especificaciones de diseño:** se delimitan los parámetros físicos tanto de entrada como de salida del sistema de adquisición y procesamiento de datos. Los requerimientos técnicos de transducción, amplificación y visualización de energía e información. Asimismo, si las hubiese, posibles restricciones incluyen accesibilidad, estética, códigos, constructibilidad, costo, ergonomía, extensibilidad, funcionalidad, interoperabilidad, consideraciones legales, mantenibilidad, fabricabilidad, comerciabilidad, regulaciones de políticas, cronograma, estándares, sustentabilidad o usabilidad.
- 2) Simulación de los módulos o elementos del sistema:** se hace uso del modelado matemático, creación de esquemáticos y/o diagramas (especialmente electrónicos) y la consecución de uso de software respectivamente de naturaleza numérica-matemática o electrónica para realizar las iteraciones de búsqueda de desempeño o respuesta definida del sistema según las especificaciones de diseño.
- 3) Montaje y fabricación física de módulos:** una vez que se obtiene la certeza en el desempeño deseado de los módulos o etapas del sistema electrónico de transducción, amplificación y visualización se procederá a la construcción física

de los circuitos impresos o PCB (Printed Circuit Boards); así como de la fabricación del circuito impreso para sensado mediante técnica de litografía por haz de electrones.

- 4) Pruebas de funcionamiento de módulos e integración:** teniendo los diseños modulares de los componentes del sistema electrónico, así como sus respectivas simulaciones y disposición física de los elementos, habrá de realizarse una verificación práctica del funcionamiento de cada parte del sistema antes de llevar a cabo la integración.

En la figura 14 se puede apreciar mediante un diagrama de flujo la serie de pasos que se describe como la metodología a seguir para la consecución del logro de los objetivos.

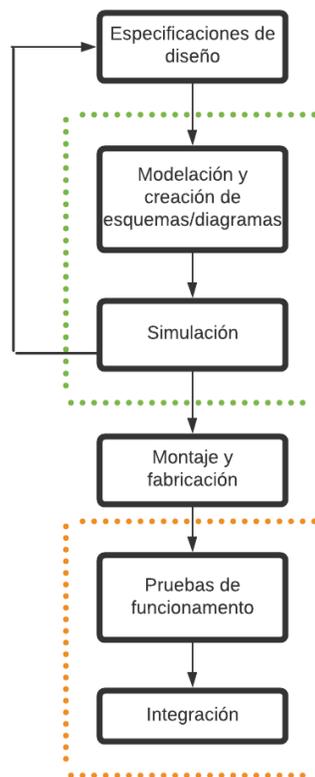


Figura 14. Diagrama de flujo del proceso de diseño basado en ABET 2020-2021.

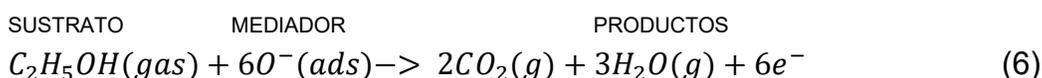
CAPÍTULO 5

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con la metodología de diseño en ingeniería definida en el capítulo 4, el primer paso es definir las especificaciones de diseño para el biosensor. Previo al diseño del circuito transductor amplificador para el biosensor, es necesario delimitar el rango de niveles de corriente de entrada del circuito transductor con el que opera. Con base en la ley de Faraday para la difusión, así como de la ley de Fick para difusión se llevó a cabo un modelo matemático para calcular la respuesta en corriente del biosensor contemplado en el presente trabajo y se realizó una simulación del comportamiento de la respuesta de un biosensor con una reacción específica y se graficó en MATLAB. Después de observar el rango de corrientes obtenidas de la simulación investigó en la literatura el comportamiento de otras curvas de corriente de otros biosensores [33].

5.1 Modelado de la reacción química del biosensor

El modelo matemático y la curva de respuesta en corriente de un biosensor se pueden simular si se conoce el proceso químico de la operación del sensor. Para validar los datos primero se realizó una prueba de simulación de curva de respuesta de un biosensor con La propuesta de NICDET fue trabajar con un biosensor para detección de partículas específicas (VOC) utilizando nanotubos de óxido de indio funcionalizados con partículas de TiO₂. En la ecuación (6) se muestra la reacción química del proceso del biosensor [43].



5.1.1 Consideraciones y cálculos

Partimos del hecho que toda la dinámica de detección del biosensor se desarrolla a partir de las ecuaciones acopladas (1), (2), (3), (4) y (5). En donde vale la pena empezar por distinguir que S, M y P representan las funciones concentraciones del sustrato (cetonas), mediador (oxígeno) y productos (de los cuales nuestro interés se centra en los moles de electrones que entendemos como corriente eléctrica), respectivamente; dichas funciones son espacio temporales. V se entiende como un potencial de interacción entre S y M. Por otra parte, D_S, D_M y D_P son los coeficientes de difusión para sustrato, mediador y productos, respectivamente. Y finalmente n, F y A son constantes. La meta es encontrar el comportamiento de la corriente i. Para ello analizamos la estructura de su expresión

matemática: consideremos un mol de electrones transferidos, o bien, $n = 6$, la constante de Faraday es $F = 96,485.332$ y que el área de trabajo del electrodo sea alrededor de $A = 0.005 \text{ cm}^2$. Al sustituir se obtiene que:

$$i(t) = 4,824.26 D_p \frac{\partial p}{\partial x} \quad (7)$$

Para conocer la corriente se requiere conocer tanto el coeficiente de difusión de los productos, como el gradiente concentración de los productos en el sensor. Ésto tiene absolutamente todo el sentido porque dicta prácticamente la forma en que se genera la corriente en la reacción química (6). Luego entonces, la tarea consiste esencialmente en hallar $P(x,t)$ y el coeficiente de difusión del producto D_P . Para lo cual se trabaja con el sistema de ecuaciones diferenciales parciales (1), (2) y (3) en conjunto con la cinética química (4).

Se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones: generalmente en una persona saludable la concentración de cetonas en el aliento es de 0.8 ppm, mientras que las personas diabéticas presentan concentraciones de 1.7 a 3.7 ppm [44]. El peso molecular de las cetonas es de 58.08 g/mol.

Por lo tanto, se consideraron estos valores para indicar la cantidad de concentración de cetonas en el aliento de una persona diabética expresado en unidades de concentración molar (M), que se refiere al número de moles de soluto disueltos en un determinado volumen.

$$\text{Concentración de la cetonas} = \left(1.7 \frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) \left(\frac{1\text{g}}{1000\text{mg}}\right) \left(1.7 \frac{\text{mol}}{58.08\text{g}}\right) = 2.9269 \times 10^{-5} \text{M} \quad (8)$$

Después se estima que una persona ingiere en promedio una cantidad de 0.5 litros de aire por inhalación [45], del cual aproximadamente 21% es oxígeno. Al exhalar se reduce la cantidad de oxígeno a un 16% aproximadamente [46]. Se toma como base el volumen molar de un gas ideal, que es de 22.4 L/mol (0.0446 moles/L) y con ello podemos calcular la concentración de oxígeno ingerido por una persona.

$$\text{Concentración del oxígeno} = (0.5\text{L})(0.16) \left(0.0446 \frac{\text{mol}}{\text{L}}\right) = 3.568 \times 10^{-3} \text{M} \quad (9)$$

En el experimento de [43] el TiO_2 se prepara con una mezcla y se agrega 1 ml de solución en la plantilla del biosensor. El TiO_2 se utiliza para mejorar el mecanismo de sensado de los tubos de In_2O_3 . La masa molar del TiO_2 es de 79.866 g/mol y su densidad es de 4.23 g/cm³ [43]. Podemos calcular el nivel de concentración del TiO_2 que se coloca en la plantilla del biosensor.

$$\text{Concentración del TiO}_2 = \left(\frac{1 \text{ mol}}{79.866 \text{ g}}\right) \left(\frac{4.23 \text{ g}}{1 \text{ cm}^3}\right) \left(\frac{1 \text{ cm}^3}{0.001 \text{ L}}\right) \left(\frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ ml}}\right) = 5.2963 \times 10^{-2} \text{ M} \quad (10)$$

En resumen, las concentraciones estimadas para el proceso de detección de cetonas de nuestra investigación:

$$\begin{aligned} \text{Concentración de la cetonas} &= 2.9269 \times 10^{-5} \text{ M} \\ \text{Concentración del TiO}_2 &= 5.2963 \times 10^{-2} \text{ M} \\ \text{Concentración del oxígeno} &= 3.568 \times 10^{-3} \text{ M} \end{aligned}$$

Por otra parte, de la literatura se obtuvieron los siguientes coeficientes para difusión de cetonas en el aire. [47]

$$\begin{aligned} \text{Coeficiente de difusión del analito: } DS &= 1.24 \times 10^{-1} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}} \\ \text{Coeficiente de difusión del mediador: } DM &= 1.1 \times 10^{-6} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}} \end{aligned}$$

Los datos restantes, que son el coeficiente de difusión del producto (D_p) y los coeficientes de cinética química (k_{cat} , k_{red} , k_{ox}), se desconocen y para ello fue necesario determinarlos mediante cálculo numérico a partir de las ecuaciones de la dinámica del biosensor.

5.1.2 Obtención de coeficientes mediante el método de Monte Carlo

En el script de MATLAB (ver anexo 1) se utiliza el método de Monte Carlo para obtener los datos faltantes. El método consiste en realizar pruebas aleatorias repetidas para obtener soluciones a problemas matemáticos. Se obtuvieron los siguientes parámetros para el conjunto de ecuaciones basadas en el principio de la difusión:

$$\begin{aligned} k_{cat} &= 1 \text{ s}^{-1} \\ k_{red} &= 1 \text{ s}^{-1} \\ k_{ox} &= 1 \text{ s}^{-1} \\ D_p &= 1 \times 10^{-5} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}} \end{aligned}$$

Donde k_{cat} , k_{red} y k_{ox} representa los coeficientes de cinética química y D_p el coeficiente de difusión del producto.

5.2 Simulación en MATLAB

Después de obtener todos los parámetros restantes se graficaron las curvas de comportamiento de la dinámica del biosensor.

5.2.1 Concentración de cetonas

De la simulación en MATLAB se obtuvo una gráfica de la concentración de cetonas en función de la distancia y tiempo, que podemos ver en la figura 15.

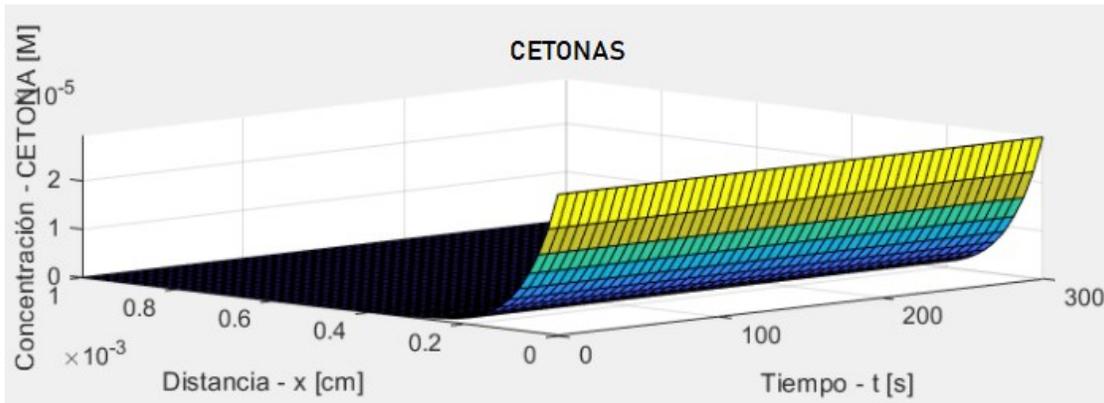


Figura 15. Concentración de cetonas en función de la distancia y tiempo.

Se pudo observar que la concentración respecto a la distancia permanece constante en el tiempo. El tiempo de respuesta exhibido por el biosensor en el experimento de [9] fue de 4 minutos. Se tomó una muestra de perfil de concentración vs Distancia después de 300 segundos (5 minutos), tal como se aprecia en la figura 16.

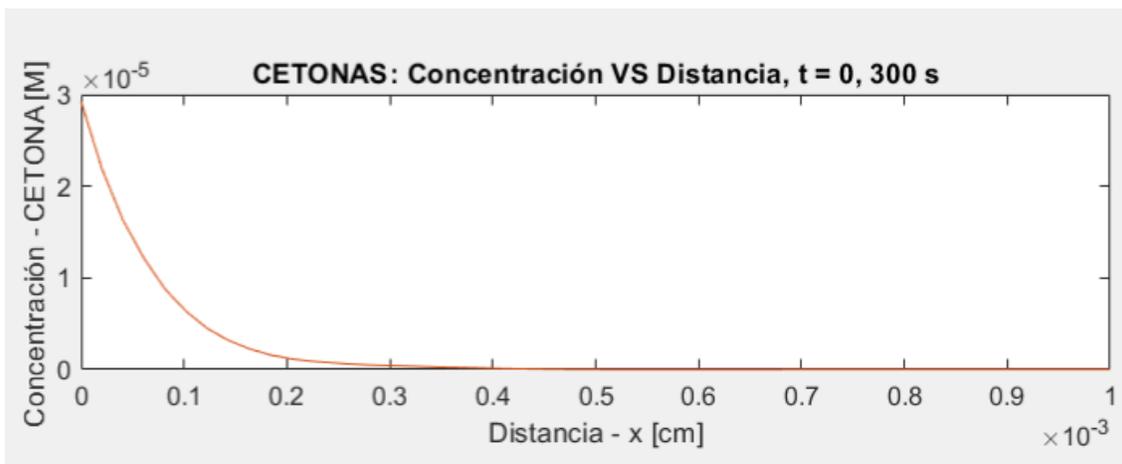


Figura 16. Perfil de concentración de cetonas en función de la distancia.

5.2.2 Concentración del producto

En la figura 17 se muestra la concentración del producto resultante respecto a la distancia y el tiempo.

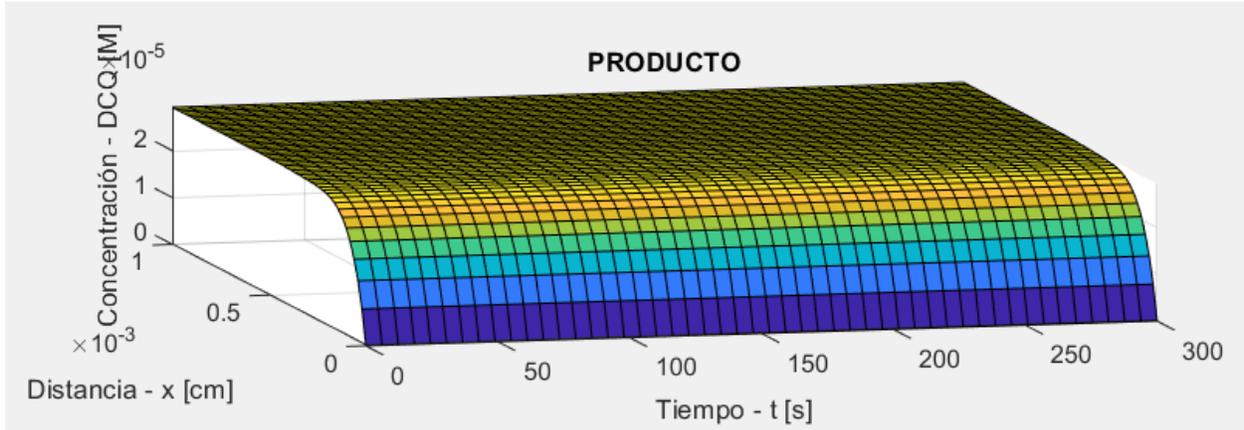


Figura 17. Concentración del producto en función de la distancia y tiempo.

5.2.3 Concentraciones del analito, mediador y producto

A partir de las figuras 15 y 17 se pueden obtener los perfiles de concentración normalizados, en la figura 18 se puede observar cada una de las sustancias empleadas en la reacción.

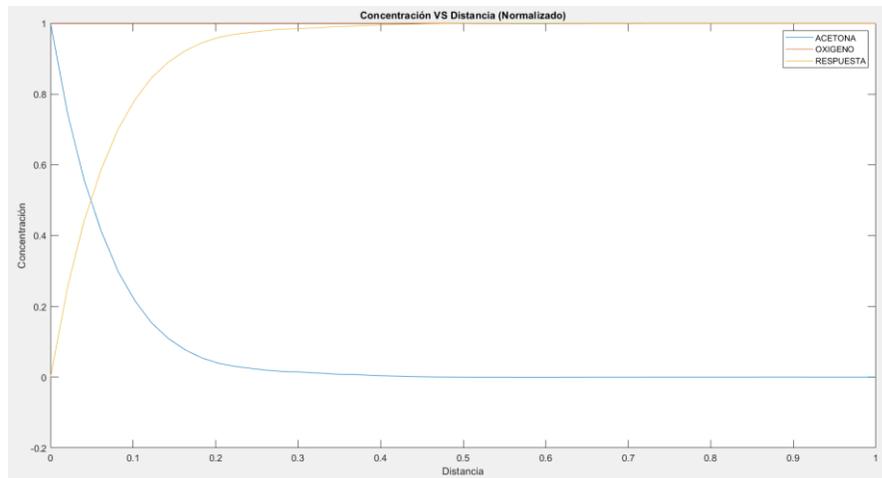


Figura 18. Perfil de Concentración de cetonas y oxígeno.

5.2.3.1 Derivada parcial del producto respecto a la distancia

Si se deriva parcialmente la figura 17 respecto a la distancia se obtiene la gráfica de la figura 19.

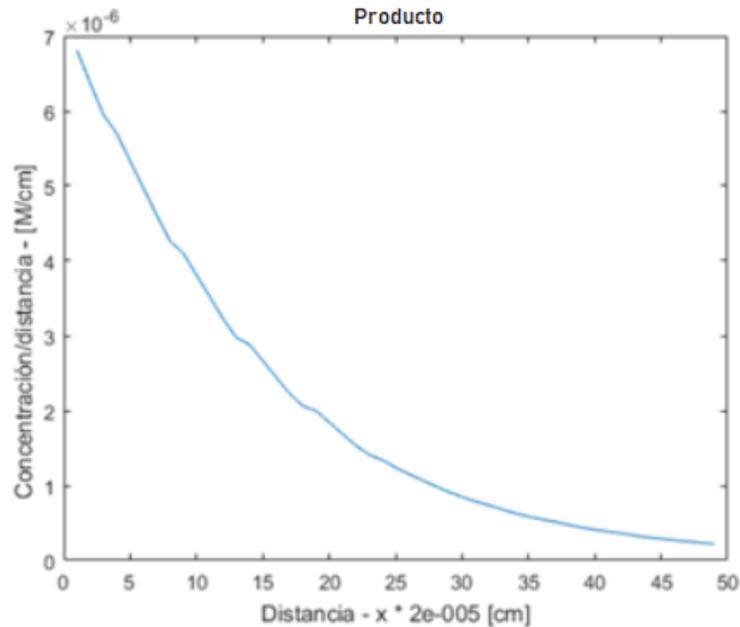


Figura 19. Derivada parcial del producto respecto a la distancia.

Al analizar el modelo matemático, se observa que la corriente es proporcional a la curva mostrada en la figura 17.

La curva de la figura 19 presentó un comportamiento inversamente proporcional a la distancia. En la figura 16 se muestra la concentración del analito respecto a la distancia. Se puede observar que disminuye de manera exponencial.

5.2.3.2 Gráfica de Corriente vs Concentración de analito

Con ayuda de MATLAB se dividió el vector de la figura 19 con el vector de la figura 16 y se obtuvo una gráfica de comportamiento lineal que muestra la corriente respecto a la concentración del analito (cetonas), tal como se observa en la figura 20.

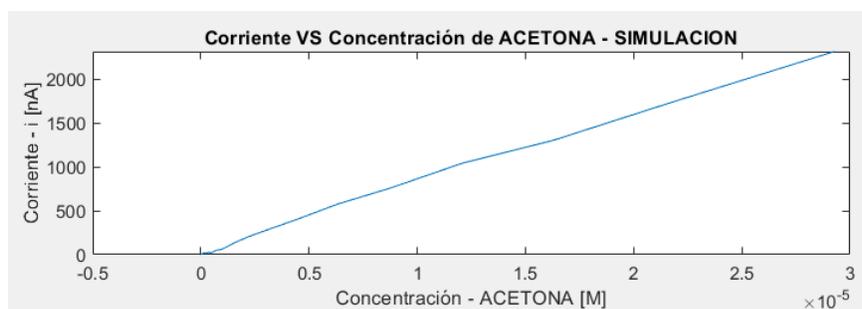


Figura 20. Gráfica de Corriente vs Concentración de cetonas.

5.2.3.3 Gráfica de Corriente vs Concentración de analito

Si se compara la simulación contra el experimento realizado por [9], en la figura 21, se observa que la diferencia es mínima.

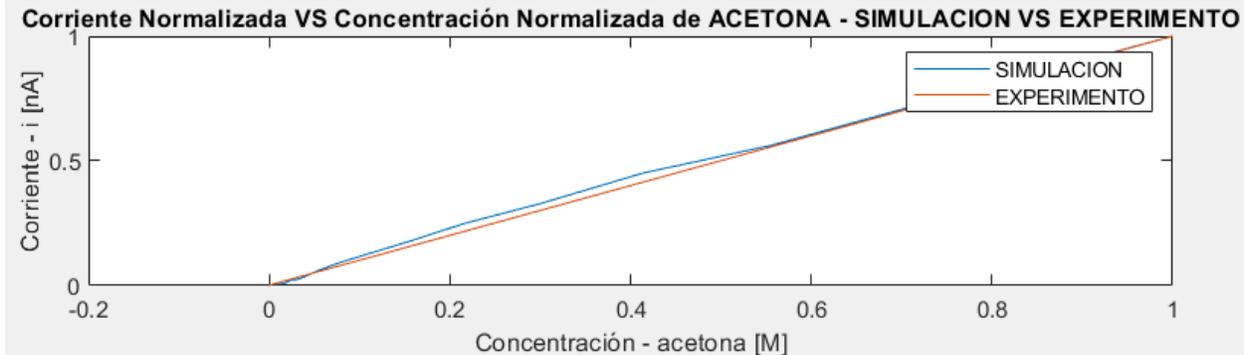


Figura 21. Gráfica comparativa de la simulación vs el experimento de Diaz-Diaz et al. (2009).

A pesar de que no se contaba con varios de los parámetros, se realizaron cálculos mediante las técnicas de Monte Carlo y se ajustaron para llegar a los resultados obtenidos. Sin embargo, fueron obtenidos a partir de operaciones que minimizan el error entre la respuesta del biosensor y los resultados que se obtuvieron en la fase experimental. Entre más pequeño el error, mayor sería la exactitud de la función que representa el experimento.

5.3 Diseño y simulación de circuitos

Para realizar las simulaciones del circuito para el biosensor se utilizó el software Proteus (v8.9) de Labcenter Electronics. La simulación para cada etapa se realizó primero de manera individual para verificar la funcionalidad de cada una. Se simuló primero la etapa del circuito de biosensor y posteriormente la salida se conectó a un circuito de acondicionamiento. En las curvas de comportamiento de corriente del biosensor obtenidas en MATLAB (sección 5.2.3.2) se observó que el rango de corriente de operación es de 0 hasta 2000 nA (o 2 μ A). Al comparar la curva de respuesta obtenida en simulación con las curvas obtenidas de otros experimentos se observó que el rango de corriente en algunos casos es mayor, llegando incluso hasta los 150 μ A. También se observó un comportamiento cuasilineal en estas curvas de respuesta de corriente por lo que se decidió trabajar con una muestra de la señal tomando en cuenta un rango de 0 a 50 μ A [48], [44].

5.3.1 Simulación de biosensor

De acuerdo con la sección 2.5, cuando no se cuenta con el biosensor real, se puede realizar un esquema básico de la celda electroquímica del biosensor a partir del modelo de la Celda de Randles (figura 22).

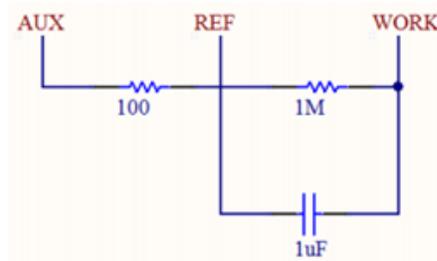


Figura 22. Celda de Randles (con indicación de electrodos).

Sin embargo, como no se logró llevar a cabo el experimento con un biosensor real, se optó por realizar una simulación en Proteus, debido a que contaba con la capacidad para generar una señal de corriente con los parámetros deseados, de 0 a 50 μA , tal como se observa en la figura 23.

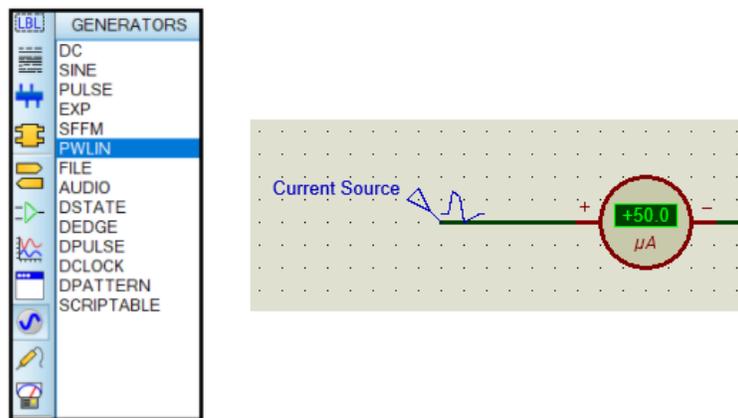


Figura 23. Fuente de corriente en Proteus.

En la literatura se encontraron ejemplos de otros biosensores de distintos gases y VOCs, basados en In_2O_3 y se observó que la corriente de operación de estos biosensores se encuentra en el rango de los microamperes [48], [44]. Se tomó como base un ejemplo de un biosensor de gas basado en In_2O_3 que se encontró en la literatura (Figura 24) en el que el rango de corriente de operación del biosensor alcanza un máximo aproximado de 150 μA . [48]

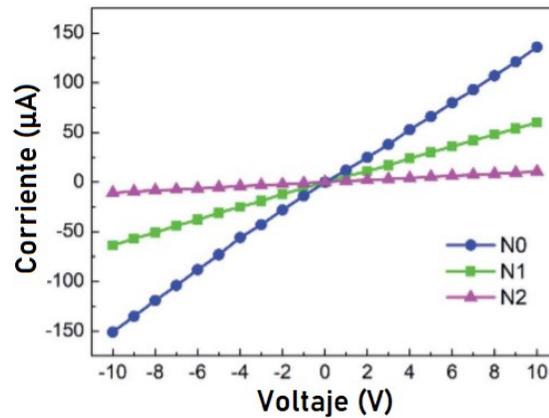


Figura 24. Gráfica de corriente de operación de un biosensor basado en In_2O_3 . [48]

Debido al comportamiento lineal se decidió trabajar con una señal de 0 a 50 μA . Se simuló en Proteus una señal de corriente que comienza en 0 y se incrementa de manera gradual hasta 50 μA . En la investigación se encontraron gráficas de comportamiento de corriente de biosensores y estas presentan un comportamiento lineal o “escalonado” con crecimiento cuasilineal, proporcional al nivel de concentración del analito, por este motivo en Proteus se simuló una señal que incrementa la corriente de manera gradual para simular el aumento de concentración de las cetonas, tal como se aprecia en la figura 25.

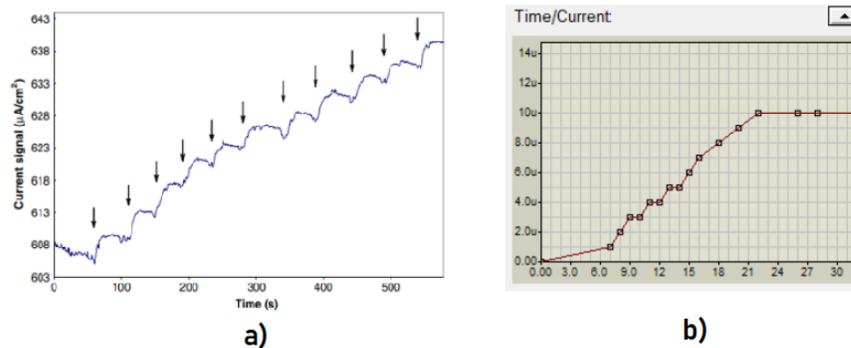


Figura 25. a) Gráfica cronamperométrica de la respuesta de un biosensor, b) gráfica cronoamperométrica simulada en Proteus de la respuesta de un biosensor.

Cabe destacar que en la simulación de MATLAB (sección 5.3) se obtuvo un tiempo de respuesta de aproximadamente 300 s (5 minutos). Sin embargo, debido a la baja velocidad de simulación de Proteus y para efectos prácticos se simuló una señal con una duración diez veces menor de 30 segundos, tal como se puede ver en la figura 26.

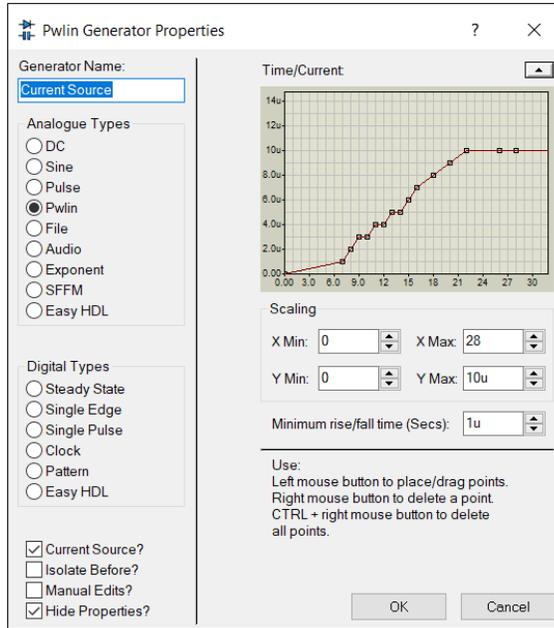


Figura 26. Simulación de corriente de entrada en Proteus.

La señal de salida del biosensor pasa por un amplificador de transimpedancia para poder transformar la señal de corriente del circuito a una señal de voltaje. Esto es para poder procesar la señal con un microcontrolador. Se consideraron algunos amplificadores operacionales como el LM741 y el LM324 ya que son económicos y de fácil adquisición. Sin embargo, se encontró un circuito integrado más adecuado, el LMP7721 y se seleccionó debido a que está catalogado como el amplificador que requiere menos corriente de polarización en el mercado (3 fA), mucho más baja que la del LM741 con 1.5 μ A. Además cuenta con un bajo valor de densidad ruido (6.5 nV/ $\sqrt{\text{Hz}}$) y al igual que el LM741 y el LM324 es un componente fácil de encontrar y a bajo costo [49].

5.3.2 Diseño del amplificador de transimpedancia

La primera etapa consiste en transformar la señal de corriente emitida por el biosensor en una señal de salida de voltaje, para poder procesarla y que pueda ser interpretada posteriormente por un microcontrolador.

Se conoce que el biosensor genera una corriente de respuesta en la escala de los microamperes. Se simuló una señal de corriente que va de 0 a 50 μ A en un intervalo de 30 segundos para la entrada del circuito amplificador de transimpedancia. El voltaje de salida del amplificador de transimpedancia está dado por:

$$V_{out} = -i_{in}R_f \quad (11)$$

Para obtener el valor de la resistencia R_f se consideró un voltaje máximo de salida V_{out} de 5 V y la corriente máxima del biosensor de 50 μA .

$$5 V = (50 \mu A)R_f \quad (12)$$

Despejando R_f se obtiene el valor de la Resistencia

$$V_{out} = \frac{5 V}{50 \mu A} = 100k\Omega \quad (13)$$

En la simulación se logró verificar la transformación del nivel de la señal de corriente en un nivel de voltaje, tal como se observa en la figura 27.

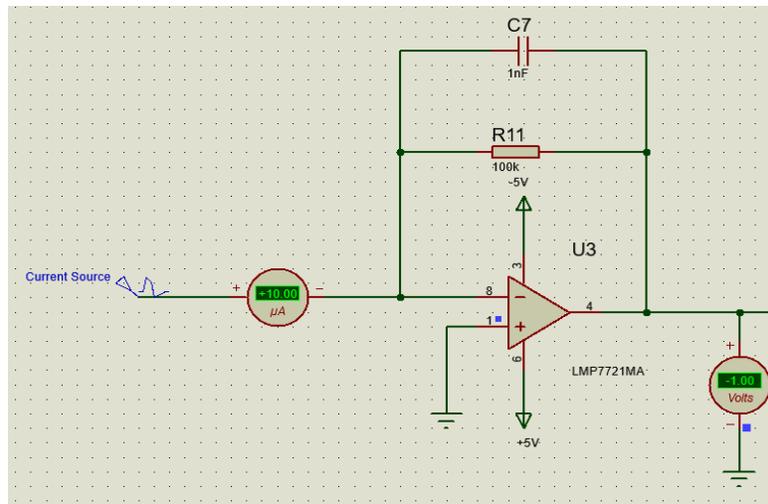


Figura 27. Etapa de amplificador de transimpedancia.

5.4.2.1 Fenómeno de pico de ganancia

Existe un fenómeno a considerar, conocido como pico de ganancia, que puede presentarse en la región de altas frecuencias. Para estabilizar el sistema, es necesario agregar un capacitor en paralelo con la resistencia de realimentación R_f , en este caso R_{11} de la figura 28, tal como se muestra en la figura 28 [50]. Al hacer esto, la pendiente de la ganancia de ruido (o Noise Gain) del amplificador de transimpedancia y la curva de ganancia de lazo abierto del OPAMP se interceptan con una pendiente menor a 20 db/década, logrando evitar el pico de ganancia [51].

Sin embargo, no existe mucha preocupación en este aspecto ya que la respuesta en simulación del biosensor fue de aproximadamente 300 s (5 minutos) se maneja una frecuencia relativamente lenta y este fenómeno de pico de ganancia se presenta al manejar altas frecuencias.

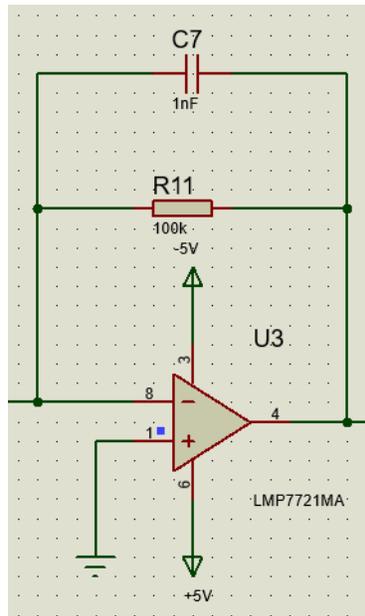


Figura 28. Amplificador de transimpedancia con capacitor en paralelo con Rf.

5.3.3 Amplificador inversor

Debido a la configuración del amplificador de transimpedancia, el voltaje de salida es negativo. Para que el voltaje sea positivo, la señal de salida del convertidor de transimpedancia pasa a través de un circuito de OPAMP en configuración inversor, tal como podemos apreciar en la figura 29 del lado derecho.

El voltaje de salida del OPAMP en configuración de Inversor se calcula mediante:

$$V_{out} = -\frac{R_f}{R_{in}} V_{in} \quad (14)$$

Por lo tanto, para obtener una ganancia unitaria, se eligieron valores iguales para Rf y Ri. En este caso elegimos valores de resistencias de 1 kΩ para que el voltaje de entrada fuera exactamente igual al voltaje de salida, solo que con signo contrario.

$$V_{out} = -V_{in} \quad (15)$$

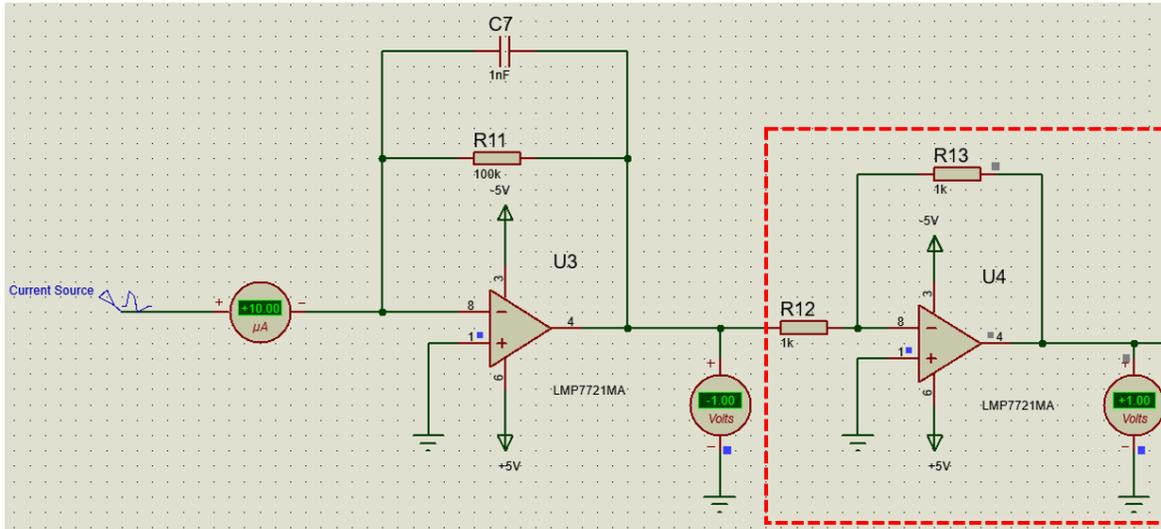


Figura 29. Etapa de OPAMP inversor (señalado por el recuadro punteado rojo).

5.3.4 Convertidor Analógico-Digital (ADC)

En la siguiente etapa, la señal analógica de voltaje de salida del OPAMP inversor se convierte a una señal digital para procesarla posteriormente con un microcontrolador. Esto se hizo en la interfaz de Arduino IDE, tal como se puede ver en la figura 30.

5.3.5 Procesamiento de datos

Para las últimas dos etapas (Procesamiento de datos e interfaz gráfica), procesamiento de datos e interfaz gráfica, se utilizó el módulo de Arduino y con ayuda del entorno de desarrollo Arduino IDE se generó un código para desplegar los datos en el módulo de la pantalla LCD, como se aprecia en la figura 30.

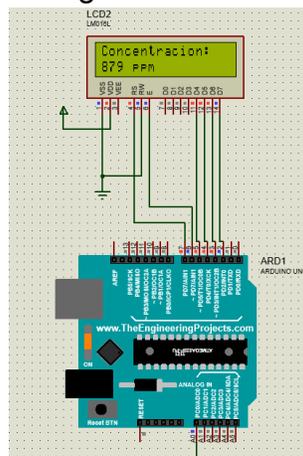


Figura 30. Procesamiento de señal con ADC + Arduino.

5.3.6 Integración de componentes

Después de verificar el funcionamiento adecuado de cada módulo de amplificación de señal de manera individual, se enlazaron todos los módulos para generar un circuito que incluyese las últimas tres etapas del sistema completo tal como se puede apreciar en la figura 31.

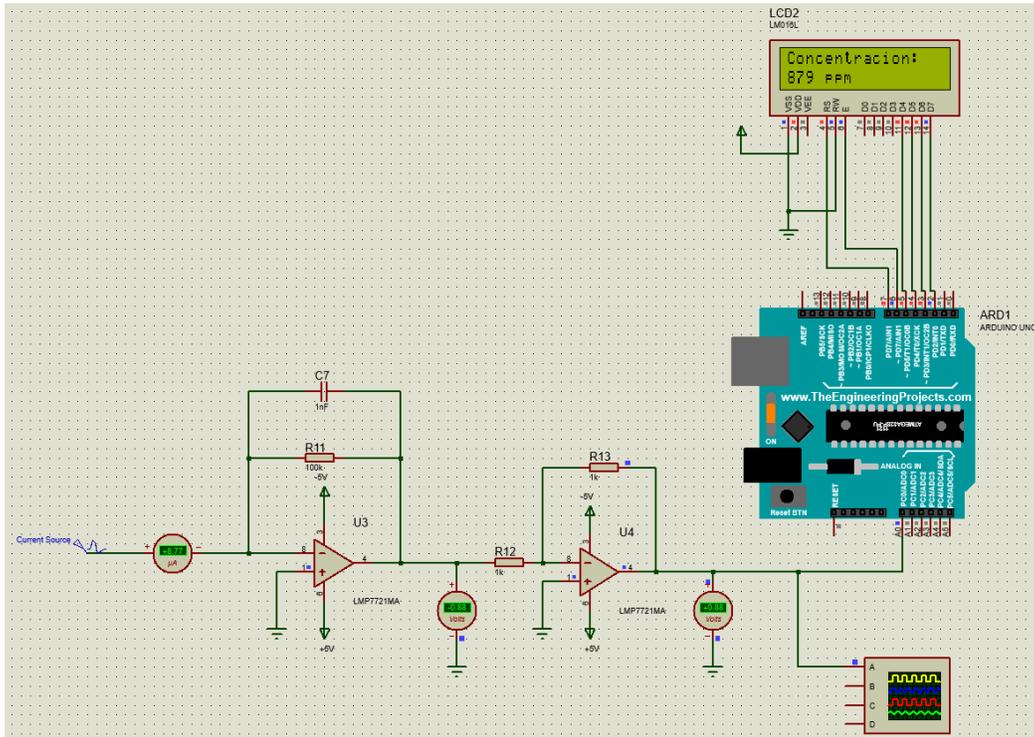


Figura 31. Esquema completo del sistema electrónico para biosensor.

Al ajustar el valor de la señal de corriente de entrada (que representa el nivel de concentración de cetonas) en el amplificador de transimpedancia, se ajusta de manera proporcional el valor de salida del OPAMP inversor.

Para probar el comportamiento de respuesta, se realizaron pruebas con diferentes señales de entradas para observar la respuesta del sistema electrónico para biosensor. Se puede observar en el osciloscopio virtual, tal como se muestra en la figura 32, que, entre mayor es la concentración de analito, mayor es la corriente generada por el biosensor, por lo tanto, la señal de voltaje de salida del sistema se incrementa.

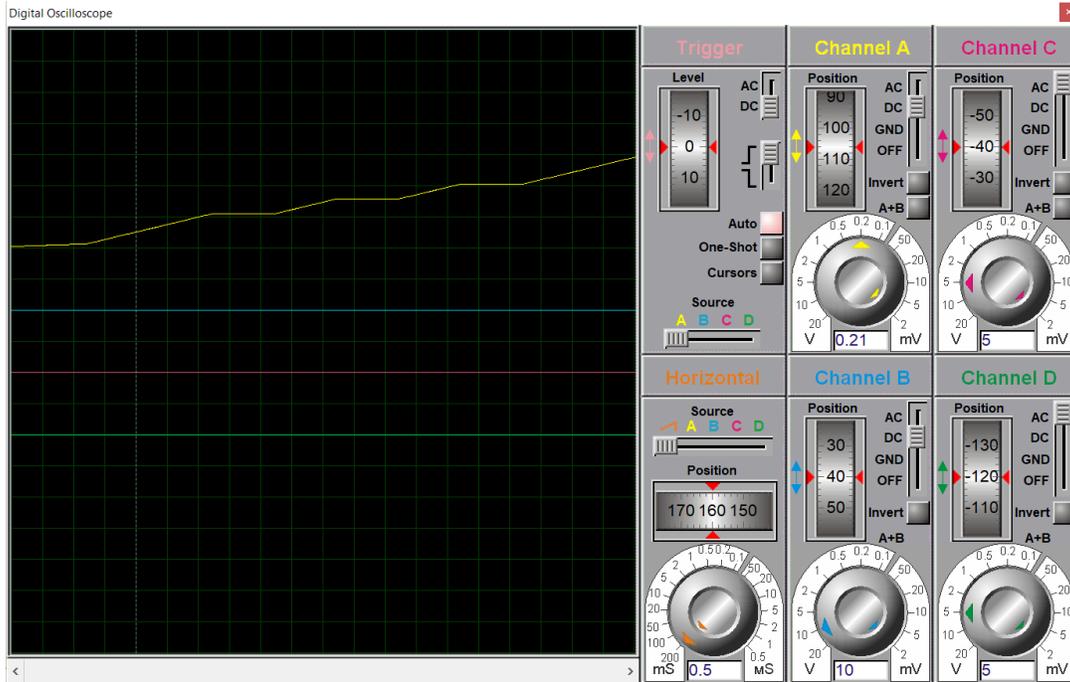


Figura 32. Señales de corriente de salida amplificadas del biosensor(amarillo).

5.3.7 Comparativa de respuestas

Con esto se obtuvo la respuesta esperada del objetivo propuesto, ya que en la simulación se logró observar una respuesta del nivel de concentración de cetonas proporcional al nivel de la señal de corriente de salida del biosensor. Realizamos una comparación entre la respuesta esperada contra la respuesta obtenida en nuestra simulación para verificar la funcionalidad de nuestro sistema electrónico, tal como se observa en la figura 33.

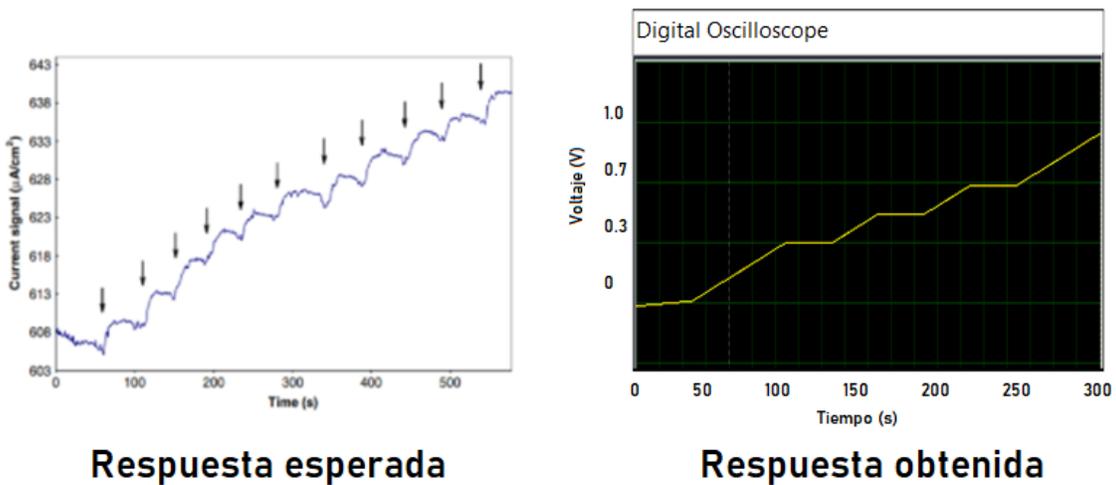


Figura 33. Comparativa de respuesta esperada vs. respuesta obtenida.

5.4 Desarrollo de circuito mediante Litografía de Haz de Electrones (EBL)

La parte propuesta para la tesis sobre el trabajo con litografía mediante haz de electrones se realizó en conjunto con El Núcleo de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico (NICDET), una institución privada dedicada a la investigación científica y tecnológica. La propuesta de NICDET fue trabajar con nanotubos de óxido de Indio (In_2O_3). Este material reacciona ante el analito objetivo (cetona) generando una corriente muy pequeña del orden de los microamperios, la cual se puede procesar para desplegar un dato cuantitativo en pantalla, que puede ser interpretado por un profesional de la salud, quien tomará las medidas necesarias para cuidar de la salud paciente.

Se propuso trabajar con Litografía por haz de electrones (EBL por sus siglas en inglés). Esta técnica consiste en trazar patrones en una diversidad de materiales en escalas de micrómetros o nanómetros. La maquinaria moderna de EBL permite trazar estructuras nanométricas en superficies de algunos milímetros cuadrados [34].

Se realizaron algunas pruebas con obleas de silicio en las instalaciones de NICDET para fabricar un circuito impreso mediante litografía. Sin embargo, debido a cuestiones de confidencialidad por parte de los laboratorios en NICDET se omitieron algunas imágenes o información muy específica sobre el procedimiento.

5.4.1 Limpieza previa

En la primera etapa de limpieza se utilizó un baño ultrasónico, como se puede ver en la figura 34 y tres agentes de limpieza para eliminar cualquier tipo de contaminante sobre la superficie de la oblea de silicio donde se imprimió el patrón del circuito: acetona, isopropanol y agua desionizada.

El baño ultrasónico consiste en realizar una limpieza profunda mediante la introducción de ondas de ultrasonido en el agua. Estas ondas producen un fenómeno conocido como cavitación, el cual es una serie de implosiones dentro del agua que permiten el rompimiento de la estructura molecular en las partículas para conseguir una limpieza uniforme en las piezas, que sería difícil lograr por medio de los métodos tradicionales.

El primer paso consistió en limpiar la oblea con acetona y colocarla en el baño ultrasónico durante 5 minutos, se retiró la oblea con ayuda de unas pinzas y se secó con nitrógeno debido a sus propiedades de pureza.

En el segundo se limpió la oblea con isopropanol y nuevamente se colocó en el baño ultrasónico por 5 minutos para limpiarlo nuevamente con nitrógeno. En el tercer paso la limpieza fue con agua desionizada y se repitió el mismo procedimiento.



Figura 34. Estación de baño ultrasónico.

5.4.2 Deposición de resina

Se utilizó un equipo conocido como Spin Coater, que se puede ver en la figura 35, con el cual se distribuyó un recubrimiento de resina de manera uniforme encima de la oblea de silicio. Después de colocar la resina encima de la oblea con ayuda de una pipeta, tal como se aprecia en la figura 36, la máquina realizó una rotación a alta velocidad para esparcir la resina de manera uniforme con ayuda de la fuerza centrífuga.

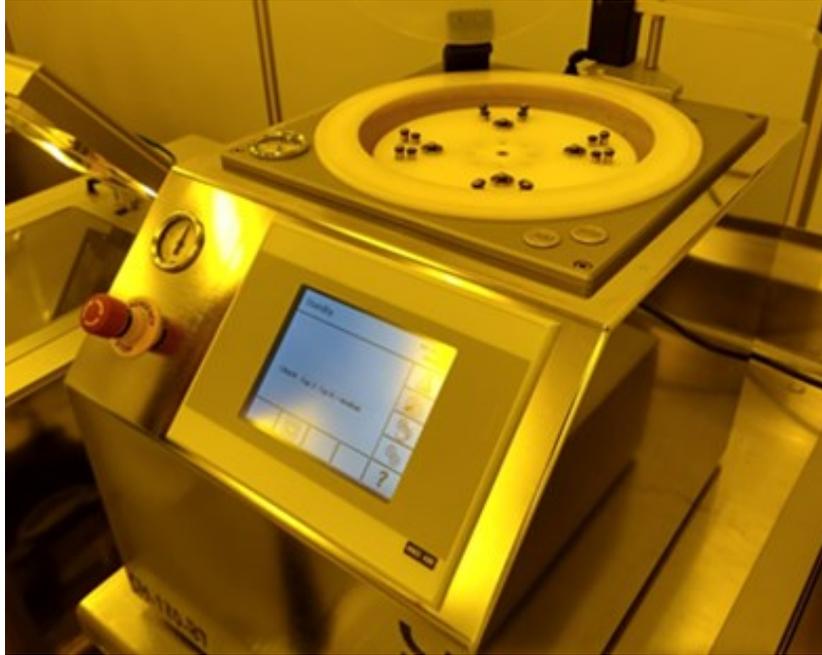


Figura 35. Spin Coater.

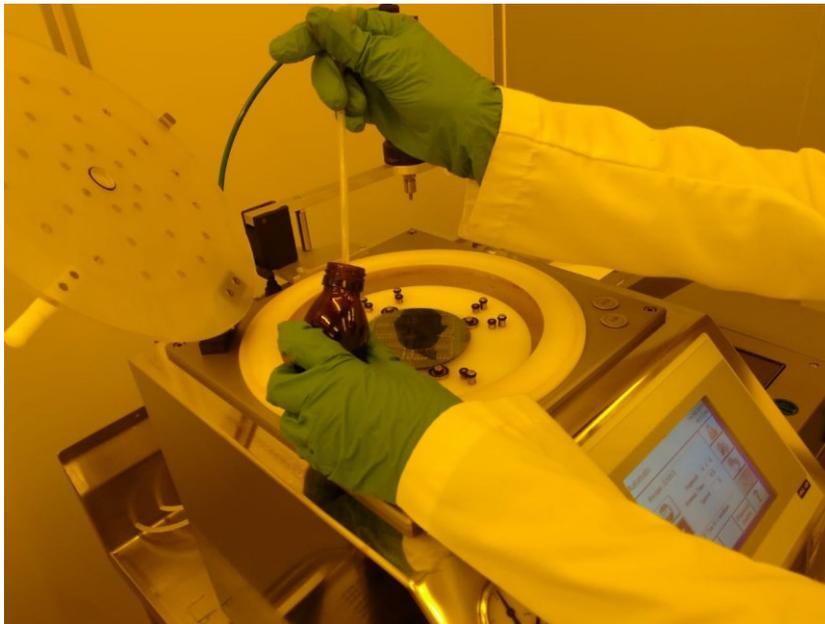


Figura 36. Colocación de recubrimiento de resina en la oblea.

Se seleccionó una velocidad de rotación de 2000 rpm y un tiempo de 1 minuto, tal como se muestra en la figura 37.



Figura 37. Selección de parámetros.

5.4.3 Soft Bake

En la siguiente etapa se colocó la oblea recubierta de resina en un horno, como se observa en la figura 38, lo cual sirvió para ayudar a evaporar los solventes de la película y densificar la resina. Este proceso es conocido como Soft Bake.



Figura 38. Horno para Soft Bake.

La oblea se horneó a una temperatura de 15 °C durante un minuto, tal como se muestra en la figura 39.



Figura 39. Ajuste de tiempo y temperatura.

5.4.4 Alineación de máscara

El equipo de alineación de la figura 40 contaba con dos compartimientos, uno para colocar el sustrato y el otro para colocar la máscara. Se introdujo la oblea de silicio en la parte izquierda, y en la parte derecha se colocó la máscara con el patrón deseado, tal como se aprecia en la figura 41. El equipo de alineación contaba con unas guías internas de referencia, cuya finalidad era ayudar a determinar si el sustrato y la máscara estaban perfectamente alineados.

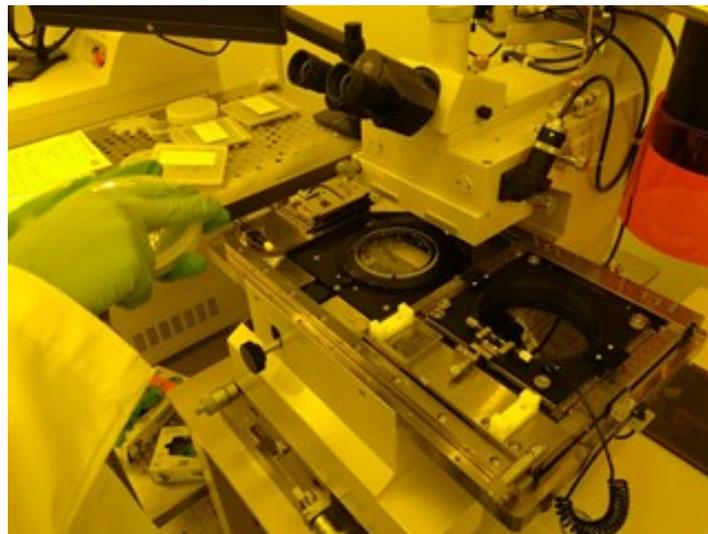


Figura 40. Equipo de alineación.

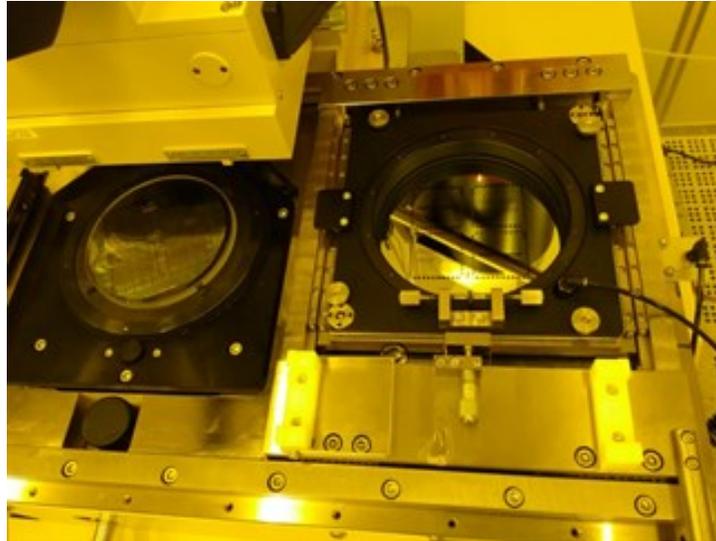


Figura 41. Colocación del sustrato (izquierda) y máscara (derecha).

5.4.5 Exposición a la luz Ultravioleta (UV)

En el equipo de exposición UV de la figura 42, la resina es expuesta a la luz UV para disolver o curar la fotoresina. La máscara se expuso a un haz de luz UV de alta intensidad durante 50 segundos para evaporar las partes fotosensibles del patrón impreso en la capa del sustrato.

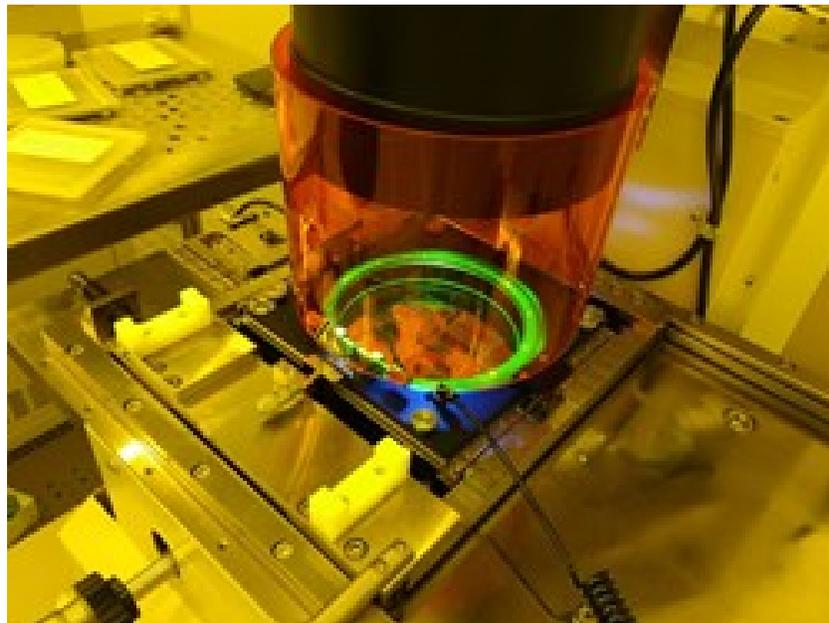


Figura 42. Exposición a la luz UV.

5.4.6 Revelado de patrón

La etapa del revelado consistió en disolver la resina no deseada para revelar el patrón del circuito. Se colocó un líquido revelador (Microposit MF-319 Developer) durante 1 minuto, tal como se puede apreciar en la figura 43. Posteriormente se sumergió la oblea en agua desionizada para detener la reacción química del revelador ya que si se dejaba más tiempo existía el riesgo de perder algunas partes del patrón.

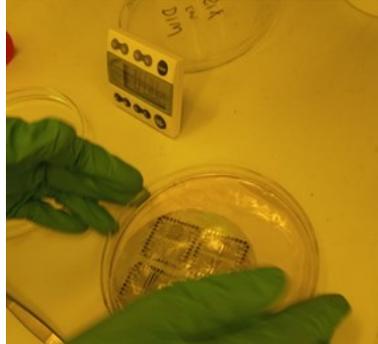


Figura 43. Colocación de oblea en líquido revelador.

5.4.7 Metalización

Aquí es donde se utiliza el equipo de la figura 44 y la técnica de evaporación mediante haz de electrones para metalizar las partes del patrón deseado. En este caso utilizamos cromo para metalizar el patrón.



Figura 44. Equipo para evaporación por haz de electrones.

Se colocó la oblea en un porta sustrato, como se muestra en la figura 45 y se fijó con ayuda de una cinta especial.



Figura 45. Porta sustrato. Vista lateral (derecha) y vista superior (izquierda)

El porta sustrato se colocó en la parte de superior. En la parte inferior se encontraba el crucible, que es un contenedor donde se colocó el material a evaporar, que en caso fue cromo. Se cerró el shutter de tal manera que quedó colocado debajo del porta sustrato, mostrado en la figura 46.

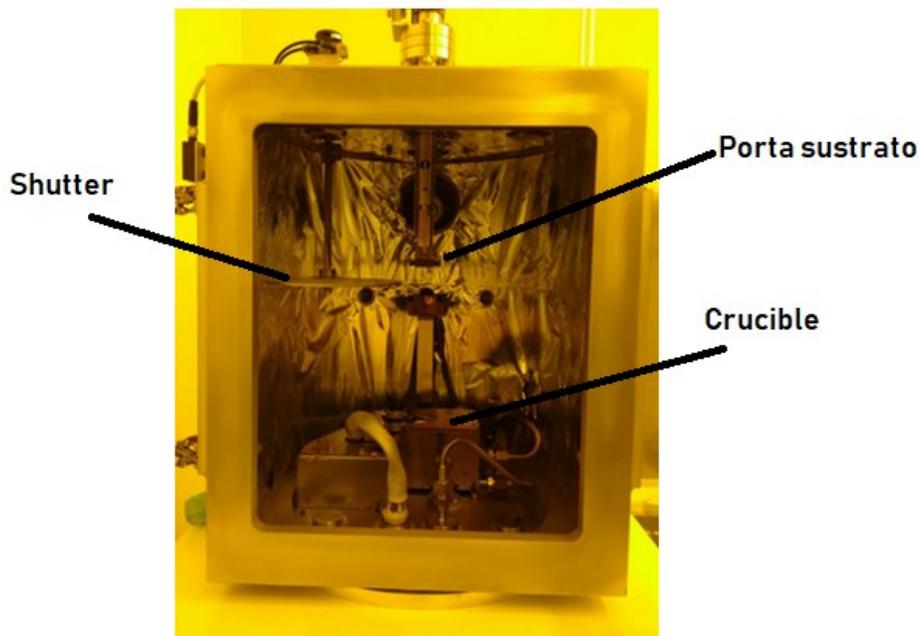


Figura 46. Colocación de oblea en líquido revelador.

Ya que se colocaron todos los elementos en su posición correcta se cerró la puerta del equipo y se seleccionaron los parámetros proporcionados en NICDET para iniciar el proceso de evaporación por haz de electrones, tal como se observa en la figura 47.



Figura 47. Selección de parámetros.

5.4.8 Lift off y limpieza

En la última etapa se lleva a cabo una limpieza con acetona y baño ultrasónico para eliminar residuos y partes no deseadas del depósito, a esto se le conoce como lift off.

Por último se realizó nuevamente una limpieza utilizando el mismo procedimiento del primer paso. Se limpió la oblea en 3 pasos con acetona, isopropanol y agua desionizada, y se sumergió en baños ultrasónicos de 5 minutos, tal como se muestra en la figura 48.



Figura 48. Limpieza y resultado final.

5.5 Consideraciones para el diseño del circuito impreso

Después de verificar el funcionamiento de la simulación del sistema en Proteus se optó por utilizar el software de EasyEDA para transferir el circuito y diseñar la placa impresa del circuito (PCB por sus siglas en inglés). Y de acuerdo con la sección 3.1.1.1, una de las normas que existen para el diseño de circuitos impresos es la IPC-2221B [37]. Se eligió esta norma porque es una de las más utilizadas en la industria para fabricación de PCBs.

Se planteó diseñar y fabricar un circuito económico, portátil y práctico para facilitar la detección de cetonas en el aliento para brindar un apoyo en el diagnóstico temprano de Diabetes Mellitus Tipo 2. De la misma manera, como se definió en la metodología (sección 4.1) El primer paso fue definir los requisitos de funcionamiento del producto final antes de iniciar con el diseño de la placa.

Las primeras consideraciones de acuerdo a la norma IPC-2221B son la temperatura ambiente, el calor generado por los componentes de la placa, golpes y vibración. Se consideró que el circuito sería utilizado en alguna institución médica donde se mantiene una temperatura ambiente de alrededor de 25°C.

En cuanto al tamaño se propuso crear un circuito con unas dimensiones máximas de 3.5 cm de largo por 2.5 cm de ancho. Esto a fin de reducir el espacio en la mayor medida posible para que el circuito pueda ser colocado dentro de un dispositivo fabricado con una carcasa de plástico.

El circuito sería utilizado de manera manual por personal médico, sosteniéndolo en la mano y colocando el dispositivo cerca de la boca del paciente para tomar una muestra de aliento, por lo que se considera que no estaría sujeto a vibraciones. Si el circuito cae al suelo, el impacto sería absorbido por la carcasa de plástico del dispositivo.

5.5.1 Diseño de circuito en EasyEDA

Proteus cuenta con un software para convertir el esquemático del circuito simulado en un esquemático para circuito impreso. Sin embargo, el software de EasyEDA también cuenta con una opción para dibujar el esquemático del circuito y generar un archivo para circuito impreso y además cuenta con un servicio para realizar la orden de fabricación del circuito impreso con la opción de seleccionar los componentes con las características deseadas ya soldados a la placa. Por lo tanto, se tomó el circuito realizado en Proteus (sección 5.4.6) y después de haber verificado el funcionamiento se dibujó el esquemático en la plataforma de EasyEDA, tal como se observa en la figura 49.

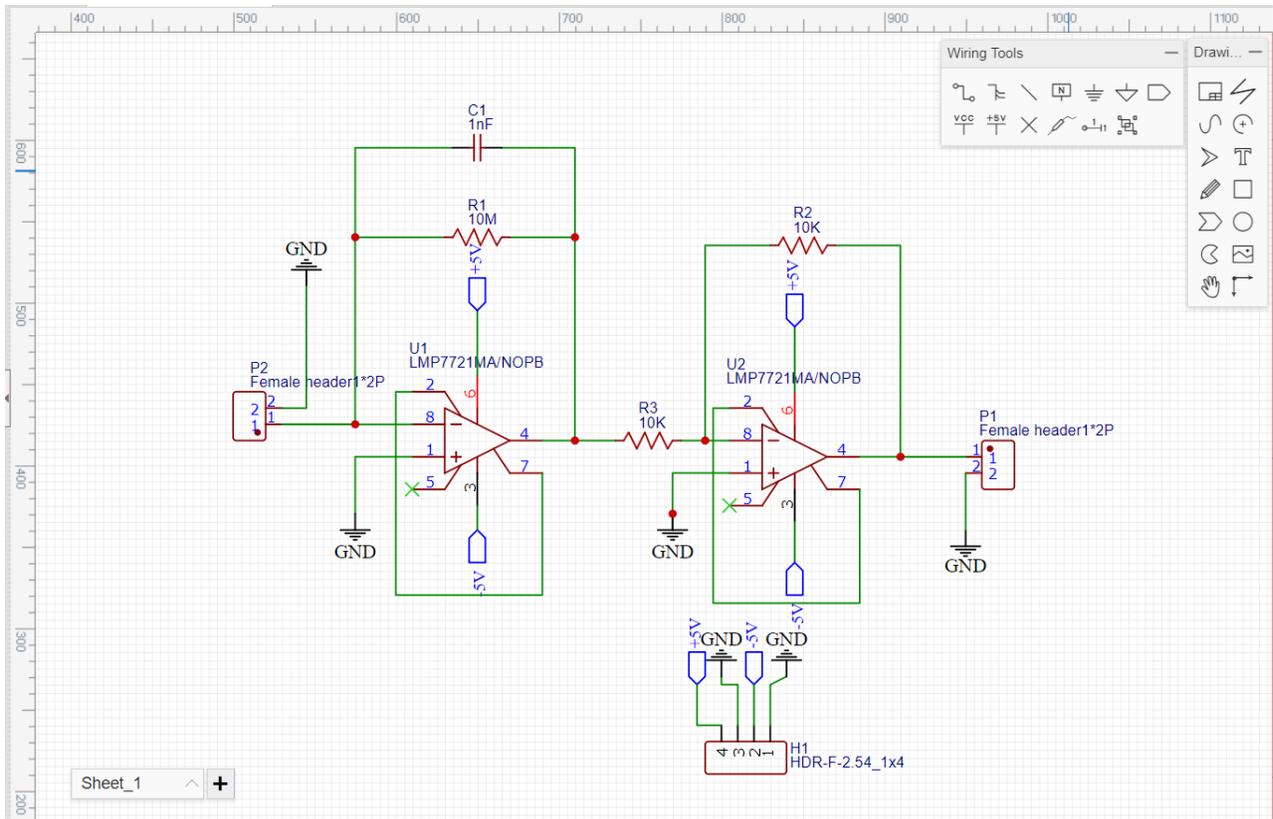


Figura 49. Esquemático del circuito en EasyEDA.

Posteriormente con el mismo software se procedió a realizar la conversión al formato correspondiente para circuitos impresos, como se puede ver en la figura 50.

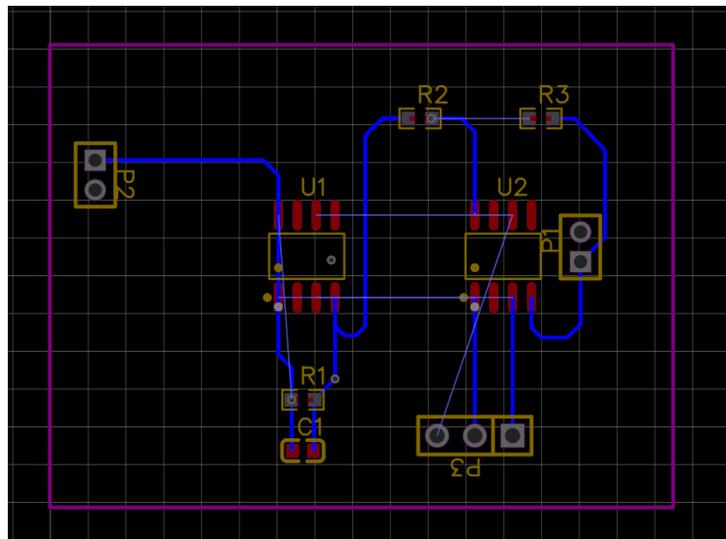


Figura 50. Esquemático del circuito en EasyEDA en formato para PCB.

5.5.2 Etapa del Amplificador de transimpedancia

La salida biosensor emite una señal de corriente en la salida que fluye por una etapa de amplificador de transimpedancia para transformar la señal de corriente en una señal de voltaje. Se seleccionó el amplificador LMP7721 debido a su bajo nivel de densidad de ruido ($6.5 \text{ nV}/\sqrt{\text{Hz}}$), además de su costo y facilidad de adquisición [49].

De acuerdo a la hoja de datos del fabricante, una de las consideraciones a tener en cuenta es que se debe utilizar una técnica de protección para evitar fugas de corriente. Para esto se aíslan los las terminales de entrada trazando una pista alrededor del circuito integrado, tal como se muestra en la figura 51, de esta manera el circuito integrado queda protegido de las fugas de corriente [49].

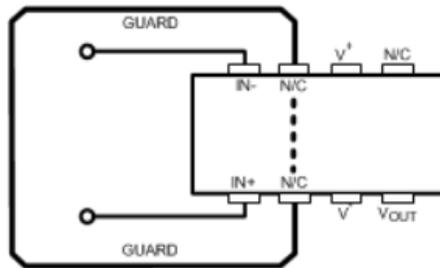


Figura 51. Ejemplo de esquemático mostrando pista de protección trazada. Por lo tanto se trazaron las pistas de protección correspondientes en el software de EasyEDA resultando en el esquemático que se muestra en la figura 52.

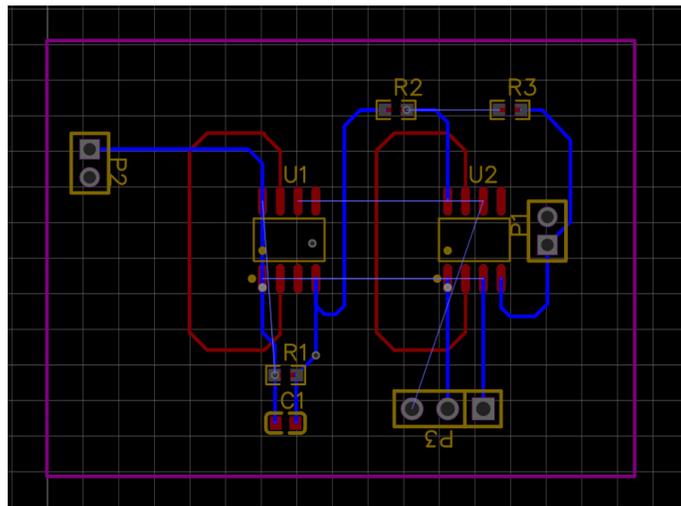


Figura 52. Esquemático del circuito en EasyEDA en formato para PCB con pistas de protección trazadas.

5.5.3 Conexiones para suministro eléctrico de los amplificadores

Los amplificadores operacionales trabajan con voltajes positivos y negativos en saturación, por lo que se incluyó una terminal en la parte inferior de la placa impresa del circuito con sus respectivas conexiones a tierra, +5V y a -5V. Como ambos amplificadores funcionan con el mismo nivel de voltaje se realizó una conexión común para compartir el suministro, tal como se muestra en la figura 53.

5.5.4 Conexiones de entrada y salida

Del lado izquierdo de la placa se incluyó un conector para conectar la terminal de la señal de salida del biosensor a la entrada del circuito Amplificador de transimpedancia (etiquetado como IN). Del lado derecho se colocó el conector (etiquetado como OUT) con la señal de salida de voltaje ya amplificada para conectarla a un microcontrolador y que este pueda procesar la señal. Las conexiones se pueden observar en la figura 53.

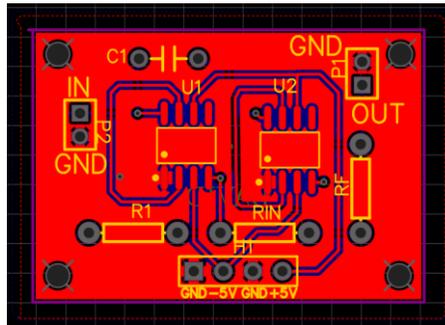


Figura 53. Esquema de conexiones para el circuito impreso en EasyEDA.

5.5.3 Placa de circuito impreso (PCB)

Finalmente, después de completar el diseño del circuito con todas las consideraciones pertinentes se realizó la orden de compra y fabricación de la placa impresa. Al recibir la placa impresa se procedió a soldar los componentes electrónicos restantes y el resultado final se muestra en la figura 54.

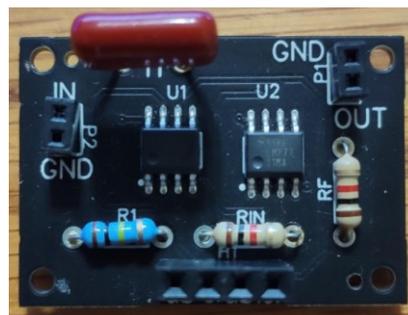


Figura 54. Placa de circuito impreso para el biosensor.

5.6 Simulación física del biosensor y pruebas físicas del sistema electrónico para biosensor

El biosensor propuesto para esta investigación suministra una corriente de salida proporcional al nivel de concentración de cetonas en el aliento. De la literatura se obtuvieron gráficas con corrientes de operación en el rango de los microamperes [48], [44].

Desafortunadamente no se logró obtener el sensor para realizar pruebas físicas y para poder probar el sistema de amplificación del circuito propuesto para el presente trabajo se buscaron alternativas para generar un suministro de corriente en el orden de los microamperes. Como se mencionó en la sección 2.5 una de las opciones era utilizar un modelo llamado Celda Simplificada de Randles. Sin embargo, se propuso una opción alternativa al biosensor modelado por la Celda de Randles, basado en el Circuito Integrado LM334 (figura 55).

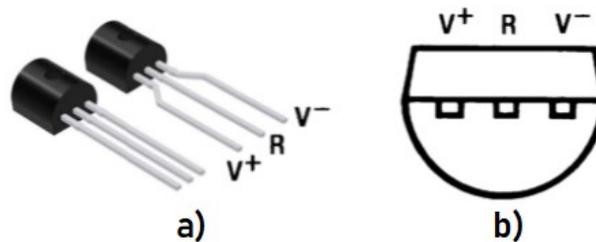


Figura 55. (a) Encapsulado del circuito integrado LM334 y (b) esquema de terminales.

Se eligió este circuito integrado debido a que operaba en un rango de $1 \mu\text{A}$ hasta 10 mA , lo cual proporcionaba bastantes opciones a la hora de hacer experimentos ya que se pueden probar la operación del circuito con múltiples rangos de corrientes. De la hoja de datos proporcionada por el fabricante se obtuvo un esquemático para diseñar una fuente de corriente sencilla, tal como se observa en la figura 56. [52]

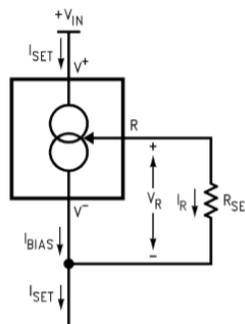


Figura 56. Fuente de corriente con circuito LM334.

Para el voltaje de entrada V_{in} se eligió trabajar con una fuente de 5 V y para la resistencia de ajuste R_{set} se eligió un potenciómetro de 100 k Ω ya que con estos valores se logró generar el rango de corriente más cercano al rango deseado de 0 a 50 μ A. El valor más bajo para corriente que se logró obtener fue de 0.7 μ A. Sin embargo, tomando en cuenta el comportamiento de tipo lineal de otros biosensores encontrados en la literatura se propuso trabajar con un rango de 1 a 50 μ A. Los valores elegidos para V_{in} y R_{set} nos permiten incluso generar una corriente máxima de aproximadamente 550 μ A en caso de requerir hacer pruebas con rangos de corriente mayores. Se realizaron las conexiones de acuerdo al esquemático y se realizó una medición de la corriente generada por el circuito LM334 para simular el comportamiento del biosensor, tal como se muestra en la figura 57.

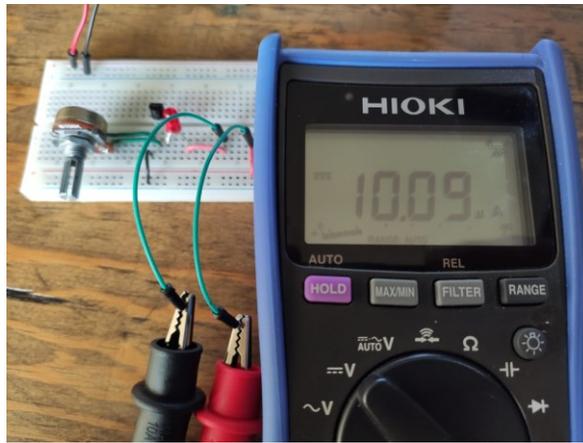


Figura 57. Medición de corriente proporcionada por el circuito LM334.

Posteriormente se conectó la salida de corriente del circuito LM334 a la entrada del circuito de transducción de la figura 54. Al circuito LM334 se le conectó un amperímetro para medir la señal de corriente de salida y a la salida del circuito de transducción para el biosensor se conectó un medidor de voltaje para verificar que el valor de la señal de voltaje fuera proporcional al valor de la señal de corriente emitida por el biosensor de acuerdo con la ecuación (11). Las conexiones para los medidores se realizaron de acuerdo al diagrama de bloques que se muestra en la figura 58.

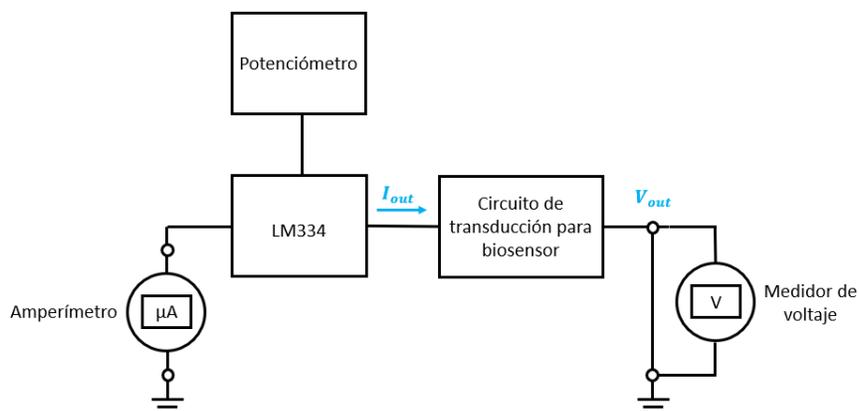


Figura 58. Diagrama de bloques para la conexión de medidores de corriente y voltaje.

En la figura 59 se observan las conexiones en físico de los medidores de corriente y voltaje y se comprobó que el voltaje de salida del circuito de transducción es proporcional a la corriente emitida por el circuito LM334 que funciona como modelo para el biosensor.

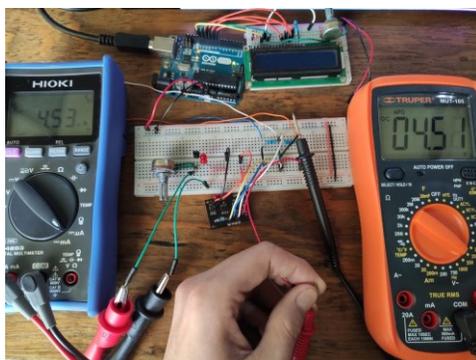


Figura 59. Conexiones en físico de los medidores de corriente y voltaje.

Después de realizar la medición de voltaje de salida y comprobar que el nivel de voltaje fuera proporcional al nivel de la corriente de salida del circuito LM334 acorde a la ecuación (11) para la cual se propuso un valor en la resistencia de retroalimentación $R_f = 100 \text{ k}\Omega$ del amplificador de transimpedancia, se procedió a conectar la señal de salida del circuito transductor a un microcontrolador ya que uno de los objetivos es procesar la señal y desplegar los datos en un elemento visualizador o pantalla. Utilizando el potenciómetro de la figura 59 se ajustó el nivel de corriente de salida del circuito LM334 para simular un incremento en la concentración de cetonas en el aliento de una persona. De acuerdo a la literatura el rango de nivel de concentración de cetonas en el aliento de personas diabéticas oscila entre 1.7 y 3.7 ppm [44]. Se configuró la herramienta Serial Plotter para mostrar en pantalla la simulación del nivel de cetonas en el aliento de una persona en partes por millón, proporcional al nivel de corriente de salida emitida por el biosensor, tal como se aprecia en la figura 60 [48].

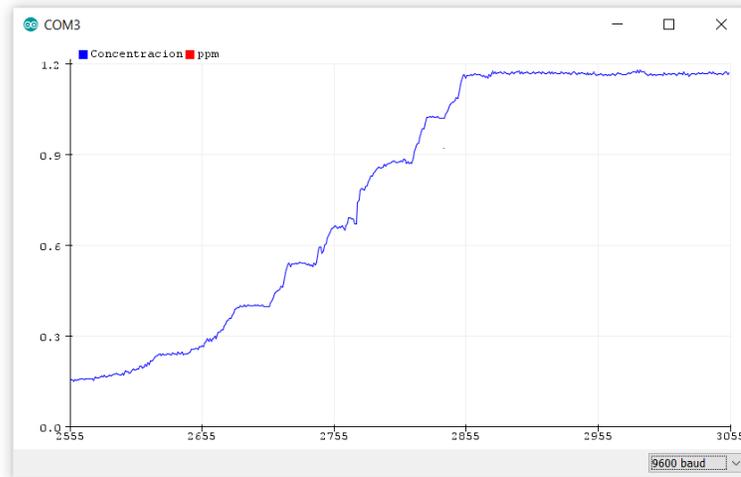


Figura 60. Gráfica de la simulación del nivel de concentración de cetonas en el aliento de una persona.

De acuerdo a la metodología propuesta para el presente trabajo (sección 4.1) el último paso es realizar las pruebas de funcionamiento de los módulos y su integración. Por lo tanto, una vez comprobado el funcionamiento de cada uno de los módulos se añadió un componente visualizador, ya que el proyecto fue diseñado con el propósito de que un elemento del personal médico pudiera observar en pantalla el nivel de concentración de cetonas en el aliento de una persona para poder realizar un seguimiento adecuado y proporcionar un diagnóstico para la detección temprana de la DMT2. En la figura 61 se presenta un diagrama de bloques con la integración de cada uno de los módulos que conforman nuestro sistema de transducción para el biosensor.

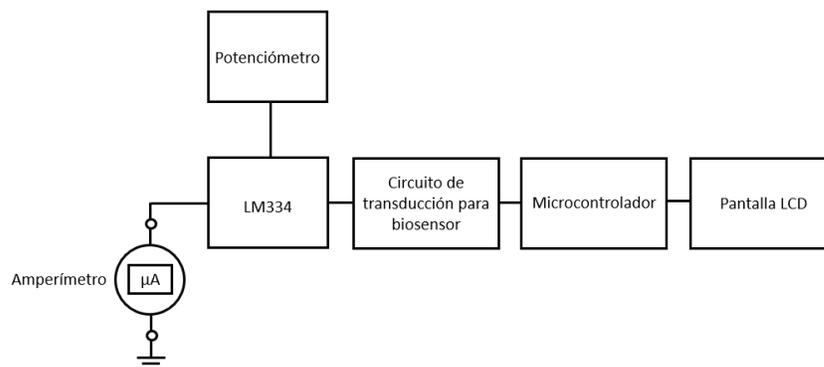


Figura 61. Diagrama de bloques con la integración completa del sistema de transducción para biosensor.

En la figura 62 se muestra la simulación física del sistema completo del biosensor integrando cada uno de los módulos presentados en el bosquejo general inicial propuesto

en la figura 1. En la pantalla se puede observar el nivel simulado de concentración de cetonas presente en el aliento de una persona, correspondiente al nivel de corriente emitido por el biosensor.

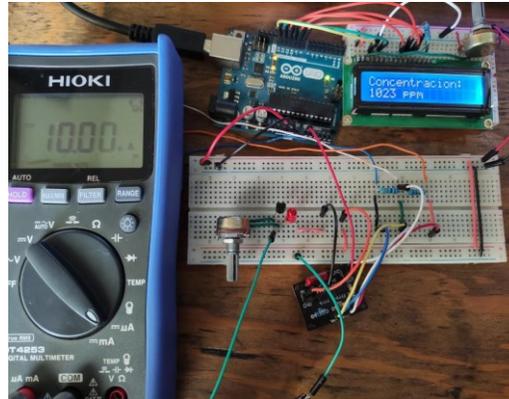


Figura 62. Integración completa de los módulos del sistema de transducción para biosensor de cetonas.

Tomando como base la gráfica de corriente de operación de un biosensor de $\text{In}_2\text{O}_3\text{-NiO}$ encontrado en la literatura en la cual se muestra la curva de corriente contra voltaje, se tomaron muestras midiendo la corriente generada por el circuito LM334 en intervalos aproximados de $5 \mu\text{A}$. En la curva obtenida de la literatura se muestra una relación lineal de corriente respecto al voltaje [48]. Se tomaron las muestras con el objetivo de verificar que el comportamiento de la emulación presentara una relación lineal. Los resultados de las mediciones se presentan en la tabla 2

Voltaje (V)	Corriente (μA)
0.07	0.7
0.53	5
1.01	10
1.56	15.3
2.01	19.8
2.53	25.0
3.16	31.2
3.54	35.1
4.02	40.1
4.27	45.4
4.8	50.4

Tabla 2. Muestras de voltaje y corriente del circuito emulador de biosensor

Al graficar los puntos de la tabla 2 mediante MATLAB se obtiene la siguiente curva de corriente contra voltaje (figura 63) en donde se puede observar que existe una relación de tipo cuasilineal entre la corriente emitida por el circuito emulador de biosensor LM334 y el voltaje medido a la salida del circuito transductor amplificador.

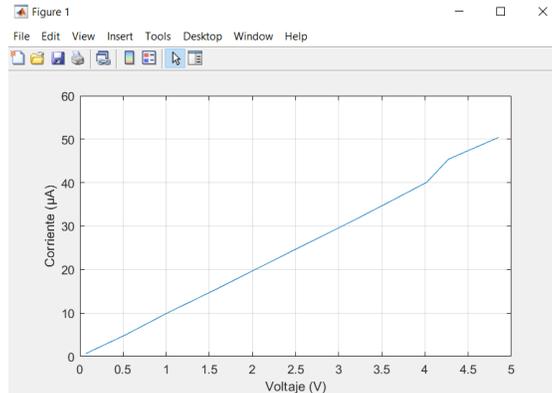


Figura 63. Curva de corriente-voltaje del circuito emulador de biosensor LM334.

En el material de investigación proporcionado por NICDET no se encontró una curva de respuesta de corriente para el modelo específico propuesto de un biosensor de In_2O_3 con TiO_2 que relacionara la cantidad de corriente medida en el biosensor contra el nivel de concentración de cetonas en el aliento del paciente [43]. Sin embargo, en la literatura sí se encontraron curvas que relacionan la el nivel de corriente medido en el biosensor y el nivel de concentración de cetonas. En la figura 64 se muestran las curvas para un sensor de nitruro de indio (InN) y un sensor de nitruro de indio con platino como catalizador (InN-Pt). En el trabajo de investigación se menciona que para ambos sensores existen relaciones lineales con coeficientes de determinación $R^2 = 0.978$ para el sensor de InN y $R^2 = 0.981$ para el sensor de InN-Pt con pendientes $m = 24.1$ y $m = 11.5$ respectivamente. Para un valor de 10 ppm se generó una corriente de $37.5 \mu\text{A}$ [44]. [44], [53].

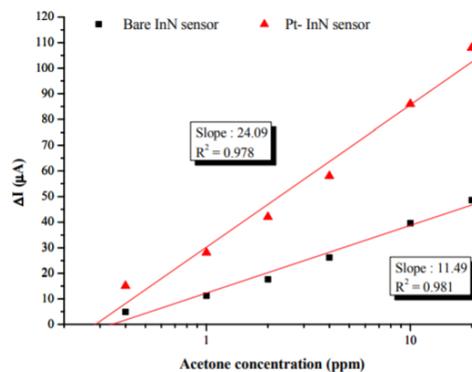


Figura 64. Curva de corriente (μA) contra concentración de cetonas (ppm) para sensores de nitruro de indio (InN).

También se encontró otro trabajo de investigación en el que se menciona un sensor enzimático que se basa en el acoplamiento de cetonas con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) formado mediante alcohol dehidrogenasa secundario (s-ADH) y utiliza un cofactor NADH para la medición de las cetonas. Las mediciones de concentración se hicieron mediante una técnica de cromatografía de gas con espectrometría de masas (GC-MS). El sensor presentó un comportamiento lineal ya que la corriente medida se incrementó de manera proporcional conforme aumentaba el nivel de concentración de cetonas, tal como se observa en la figura 65. Se menciona que se obtuvieron mediciones de corrientes aproximadas de 570 nA para una concentración de 1.1 ppm y una corriente de 2900 nA para 23.3 ppm de cetonas y para el modelo de regresión lineal se obtuvo un coeficiente de determinación $R^2 = 0.994$ lo que indica la linealidad de la respuesta del sensor enzimático [54].

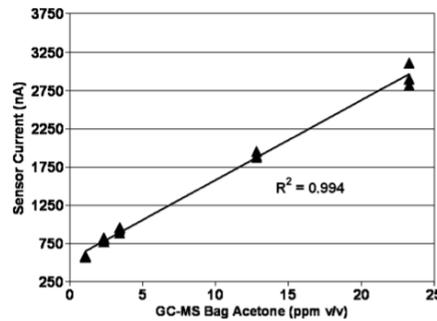


Figura 65. Curva de corriente (μ A) contra concentración de cetonas (ppm) obtenida mediante detección GC-MS.

Tomando como base los valores mencionados en el trabajo de investigación se puede generar un modelo matemático. Se utilizó la fórmula (16) para encontrar la pendiente y sustituyendo los valores encontrados (17) se obtuvo el valor $m = 104.95$. Después se utilizó la ecuación (18) de la línea recta y al sustituir los valores en (19) se obtiene el valor de b (20). Finalmente obtenemos un modelo para calcular la corriente generada por el biosensor de acuerdo con el nivel de concentración de cetonas detectado (21).

$$m = \frac{y_2 - y_1}{x_2 - x_1} \quad (16)$$

$$m = \frac{2900 - 570}{23.3 - 1.1} = 104.95 \quad (17)$$

$$y = mx + b \quad (18)$$

$$570 = 104.95(1.1) + b \quad (19)$$

$$b = 454.55 \quad (20)$$

$$corriente = 104.95 * concentración + 454.55 \quad (21)$$

Después de obtener la ecuación que relaciona el nivel de corriente con el nivel de concentración de cetonas en partes por millón en el aliento de una persona se hizo un ajuste en el código del microcontrolador para poder observar en pantalla el nivel de concentración de cetonas proporcional al nivel de corriente medido a la salida del circuito emulador de biosensor LM334., tal como se puede observar en la figura 66.

Sensor enzimático		Simulación física	
Corriente (μA)	Concentración (ppm)	Corriente (μA)	Concentración (ppm)
0.57	1.10	-	-
0.70	2.34	0.70	1.72
1.00	5.20	1.00	6.38
1.30	8.06	1.30	8.71
1.60	10.91	1.60	10.57
1.90	13.77	1.90	15.69
2.20	16.63	2.20	17.56
2.50	19.49	2.50	18.95
2.80	22.35	2.80	22.21
2.90	23.30	2.90	23.61

Figura 66. Mediciones de corriente vs. concentración de cetonas a) sensor enzimático [54] y b) simulación física.

Mediante MATLAB se graficó la curva de comportamiento de corriente-concentración de cetonas del sensor enzimático encontrado en la literatura [54] contra la curva de comportamiento de la simulación física (ver figura 67).

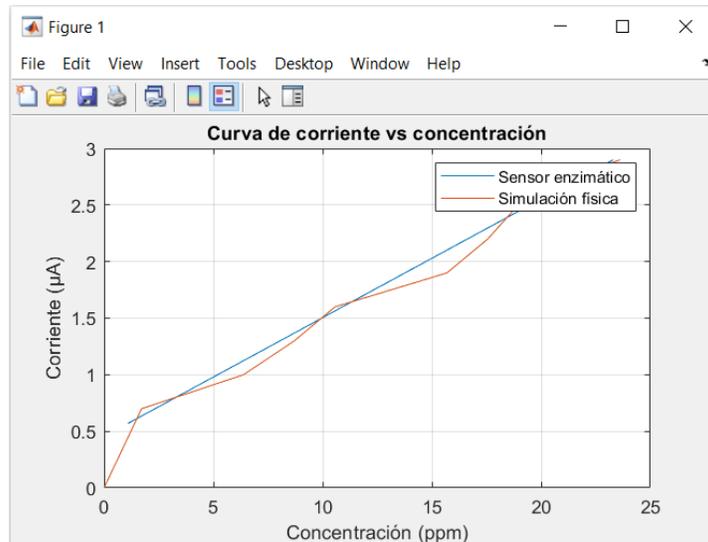


Figura 67. Comparativa de curva de comportamiento corriente-concentración de sensor enzimático (azul) y simulación física (rojo).

De la información obtenida en MATLAB se obtuvo un valor de Suma de cuadrados debidos al error (SSE) de 0.182 lo cual nos indica se puede estimar con poca incertidumbre la concentración de cetonas (ppm) dependiendo de la cantidad de corriente medida a la salida del circuito emulador de biosensor. Se obtuvo un valor de error cuadrático medio (RMSE) de 0.1508 y el valor de la R^2 fue de 0.9976 lo cual los confirma el comportamiento de tipo lineal en el sistema y los valores son muy similares a los valores obtenidos en el experimento del sensor enzimático [54].

5.7 Discusión general

El área de estudio del análisis del aliento de las personas para detectar compuestos volátiles orgánicos que sirvan como indicadores potenciales para enfermedades es un campo relativamente nuevo con bastante terreno por explorar. Actualmente no existe un estándar para definir cuál es el rango exacto de concentración de cetonas en el aliento que indique que una persona padece o es propensa a padecer DMT2 ya que se han identificado miles de compuestos que pueden alterar el organismo, por lo que resulta complicado dar un diagnóstico exacto sobre el estado de salud de una persona. Sin embargo, se ha descubierto que ciertos compuestos como las cetonas presentan una concentración significativamente mayor en personas con DMT2 respecto a personas saludables por lo que es posible tomar precauciones y recomendar tratamientos preventivos a estas personas. Con los avances actuales de la tecnología se han desarrollado biosensores basados en materiales altamente sensibles a estos compuestos con lo que se pueden fabricar dispositivos para ayudar en la detección de enfermedades. Los biosensores se pueden clasificar de acuerdo al tipo de transductor utilizado, pueden ser de tipo electroquímico, óptico, piezoeléctrico o calorimétrico. Para la presente investigación se optó por trabajar un biosensor basado en transductor electroquímico ya la concentración del analito es proporcional a la señal eléctrica que registran y resulta mucho más sencillo trabajar con biosensores cuyas curvas de respuesta en corriente presentan comportamientos lineales o cuasilineales [18]. Mediante una simulación con ayuda de MATLAB se simuló la respuesta en corriente del biosensor ante una concentración de cetonas. Por cuestiones de tiempo la investigación se hizo considerando el modelo específico de un biosensor basado en Óxido de Índio decorado con Platino por su alta sensibilidad ante cetonas [16]. Se encontraron otros trabajos sobre biosensores basados en In_2O_3 combinados con otros compuestos como Platino con Óxido de Zinc [53]. También se encontró una investigación sobre nanofibras sintetizadas de In_2O_3 para la detección de cetonas. [53], [54]. Sin embargo, estas investigaciones se realizaron bajo condiciones controladas dentro de laboratorios altamente equipados.

Se investigaron varios tipos de biosensores para la medición del nivel de concentración de cetonas en el aliento, existieron discrepancias en los datos en cuanto a la simulación realizada con MATLAB, a la información obtenida de la literatura y a las mediciones realizadas de manera física, esto es debido a que existen muchos factores que pueden influir en el comportamiento del biosensor. Los materiales son probados en ambientes controlados y con equipo de alta tecnología. Una de las limitantes en este trabajo de investigación fue que no se contaba con equipo especializado para llevar a cabo mediciones más precisas. Otros factores que influyen en el comportamiento del biosensor son el tiempo de respuesta, la cantidad de concentración mínima y la temperatura de operación, que en muchos casos alcanzan hasta 400 °C. En la tabla 3 se muestra una lista de otros sensores de gas para detección de cetonas analizados en la literatura en la cual se observa bastante diferencia entre cada uno de los factores previamente mencionados [54].

Material	Mínima concentración detectada (ppm)	Tiempo de respuesta (s)	Temperatura de operación (°C)
In ₂ O ₃	25	10	400
WO ₃	0.2	3.5	400
ZnO	100	30	200
ZnO+Ni+ luz UV	100	300	25
LaFeO ₃	500	33	275
TiO ₂	1	10	500
GaN	500	10	350
InN	0.4	150	200

Tabla 3. Lista de sensores de gas para detección de cetonas.

Dentro de las instalaciones de NICDET se trabajó en la fabricación de un circuito eléctrico impreso en una oblea de silicio mediante la técnica de litografía de haz de electrones propuesta para el presente trabajo de investigación. Desafortunadamente por cuestiones externas no se logró obtener el sensor de In₂O₃ propuesto por NICDET y no se contaba con el equipo adecuado para trabajar con este material, por lo cual solo se trabajó el comportamiento del biosensor en simulación con mediante MATLAB y Proteus. De igual manera por motivos de confidencialidad dentro de la empresa NICDET no se permitió incluir el diseño del biosensor dentro del trabajo de investigación. Una de las limitaciones de Proteus fue la cantidad de componentes que maneja en su librería. Se propuso trabajar con una placa de microcontrolador ESP8266 por su tamaño entre otras ventajas sobre placas como Arduino. Al momento de realizar la investigación solo se podía simular el sistema con un módulo de Arduino. La investigación se limitó a estudiar los componentes eléctricos que estuvieran incluidos dentro de la librería de Proteus para poder simular de manera virtual el sistema completo, observar la respuesta y tener una referencia al momento de comparar los resultados con la simulación física.

CAPÍTULO 6

CONCLUSIONES

Se cumplió el objetivo general del trabajo de diseñar un sistema electrónico de transducción, amplificación y visualización de una señal eléctrica de un biosensor para DMT2. Aunque se trabajó con la técnica de litografía de haz de electrones no se logró trabajar con el biosensor de manera física propuesto por NICDET. Se trabajó en la fabricación de obleas de silicio con un diámetro de 2.5 cm.

Tomando como base las leyes de Fick se especificó el modelo de la dinámica del biosensor EBL. La mayoría de los parámetros se obtuvieron de la literatura y los datos faltantes se obtuvieron mediante métodos de Monte Carlo. Se examinó la respuesta en corriente del biosensor ante concentración de cetonas mediante una simulación virtual y se analizó el sistema en un intervalo de 300 segundos. Se caracterizó el tiempo de respuesta de un biosensor. Se pudo observar el comportamiento de la respuesta en corriente del biosensor al obtener la curva cronoamperométrica mediante una simulación en MATLAB. No se logró realizar la simulación física con el biosensor basado en In_2O_3 . Sin embargo, para el circuito de transducción y amplificación sí se fabricó, mediante una compañía externa, un circuito impreso en placa de cobre recubierta con resina con medidas de 3.5 x 2.5 cm. No se logró fabricar el circuito impreso mediante la técnica de EBL propuesto para esta investigación. Aunque sí se trabajó con la técnica de EBL dentro de las instalaciones de NICDET para fabricar un circuito impreso en una oblea de silicio. La oblea era de diámetro de 2.5 cm y el proceso de fabricación de las obleas era de aproximadamente 3 horas.

Se logró definir el tipo de transductor para el biosensor. Se propuso trabajar con un biosensor de tipo electroquímico debido ya que el la respuesta en corriente presenta un comportamiento cuasilineal. Se sustituyó el sensor basado en In_2O_3 por el circuito LM334 configurado como fuente de corriente y se configuró de manera que el circuito proporcionara una señal de corriente de 1 a 10 μA . De igual manera se podía ajustar para generar un valor máximo de 550 μA en caso de requerir hacer más pruebas.

Se logró fabricar un circuito de transducción y amplificación mediante el circuito LMP7721. Se logró comprobar el funcionamiento adecuado realizando las mediciones de corriente generadas por nuestro modelo de biosensor mediante un amperímetro y las mediciones de voltaje de salida del circuito de transducción con ayuda de un voltímetro y se comprobó que el nivel de voltaje de salida del circuito era proporcional al nivel de corriente de salida emitida por el circuito LM334. Se configuró el circuito de tal manera que a un nivel de corriente de 1 μA le correspondía un nivel de voltaje de 0.1 V. Si se

requiere hacer una correspondencia diferente entre estos dos parámetros se pueden ajustar los valores de la resistencia y el capacitor del circuito amplificador de transimpedancia.

Mediante la herramienta Serial Plotter de Arduino se analizó el comportamiento de la señal amplificada del biosensor que representaba el nivel de concentración de cetonas en el aliento de una persona. Se ajustó la señal de corriente del circuito LM334 y se mostró en pantalla un nivel de concentración de cetonas de aproximadamente 1.2 ppm. Se recomienda comparar los resultados con otras curvas de respuesta para observar la correspondencia que existe entre la corriente emitida por el biosensor y el nivel de concentración de cetonas detectado.

Se establecieron los módulos que componen el sistema de biosensor. Se realizaron pruebas de funcionamiento de cada uno de los módulos por separado y finalmente se integraron todos los componentes en un sistema completo de transducción, amplificación y visualización.

Como recomendaciones para trabajos futuros se sugiere utilizar software más avanzado para simulación de circuitos electrónicos, como PSpice, debido a que las simulaciones virtuales realizadas en este tipo de software son más fieles al comportamiento real de los componentes electrónicos. A pesar de que el comportamiento de las curvas de respuesta en corriente observado en otros trabajos de investigación era relativamente lento, de aproximadamente 300 segundos, para la simulación se redujo el tiempo y se generó una señal de corriente que alcanzaba su valor máximo en 30 segundos debido a limitaciones en velocidad del software de Proteus. También Se recomienda realizar una simulación física con el material para poder analizar si existirá un comportamiento diferente al resultado obtenido mediante la simulación del biosensor utilizando un circuito LM334 configurado como fuente de corriente.

REFERENCIAS

- [1] World Health Organization, Global Report on Diabetes. 2016.
- [2] A. Irigoyen Coria, A. Ayala Cortés, O. Ramírez de la Roche, and E. Calzada Hernández, "La Diabetes Mellitus y sus implicaciones sociales y clínicas en México y Latinoamérica," *Archivos en Medicina Familiar*, vol. 2017, no. 19 (4), pp. 91–94.
- [3] Z. Wang and C. Wang, "Is breath acetone a biomarker of diabetes? A historical review on breath acetone measurements," *J. Breath Res.*, vol. 7, no. 3, p. 037109, Sep. 2013.
- [4] K. Schmidt and I. Podmore, "Current Challenges in Volatile Organic Compounds Analysis as Potential Biomarkers of Cancer," *J Biomark*, vol. 2015, p. 981458, Mar. 2015.
- [5] M. Righettoni, A. Tricoli, S. Gass, A. Schmid, A. Amann, and S. E. Pratsinis, "Breath acetone monitoring by portable Si:WO₃ gas sensors," *Anal. Chim. Acta*, vol. 738, pp. 69–75, Aug. 2012.
- [6] "Ketones :: Diabetes Education Online." [Online]. Available: <https://dtc.ucsf.edu/types-of-diabetes/type1/understanding-type-1-diabetes/how-the-body-processes-sugar/ketones/>. [Accessed: 11-Jun-2020]
- [7] N. J. Ronkainen, H. B. Halsall, and W. R. Heineman, "Electrochemical biosensors," *Chem. Soc. Rev.*, vol. 39, no. 5, pp. 1747–1763, May 2010.
- [8] R. Baronas, "Nonlinear effects of diffusion limitations on the response and sensitivity of amperometric biosensors," *Electrochim. Acta*, vol. 240, pp. 399–407, Jun. 2017.
- [9] G. Díaz-Díaz, M. Carmen Blanco-López, M. Jesús Lobo-Castañón, A. J. Miranda-Ordieres, and P. Tuñón-Blanco, "Chloroperoxidase Modified Electrode for Amperometric Determination of 2,4,6-Trichlorophenol," *Electroanalysis*, vol. 21, no. 12, pp. 1348–1353, 2009 [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1002/elan.200804545>
- [10] A. A. Tseng, Kuan Chen, C. D. Chen, and K. J. Ma, "Electron beam lithography in nanoscale fabrication: recent development," *IEEE Trans. Electron. Packag. Manuf.*, vol. 26, no. 2, pp. 141–149, Apr. 2003.
- [11] Universidad Nacional Autónoma de México, Ed., *BIOSENSORES ENZIMÁTICOS*, vol. 15, no. 12. Universidad Nacional Autónoma de México, 2014.
- [12] A. Staerz, U. Weimar, and N. Barsan, "Understanding the Potential of WO₃ Based Sensors for Breath Analysis," *Sensors*, vol. 16, no. 11, p. 1815, 2016 [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.3390/s16111815>
- [13] E.-H. Yoo and S.-Y. Lee, "Glucose biosensors: an overview of use in clinical practice," *Sensors*, vol. 10, no. 5, pp. 4558–4576, May 2010.
- [14] J. Wang, "Electrochemical glucose biosensors," *Chem. Rev.*, vol. 108, no. 2, pp. 814–825, Feb. 2008.
- [15] P.-J. Chien et al., "Biochemical Gas Sensors (Biosniffers) Using Forward and Reverse Reactions of Secondary Alcohol Dehydrogenase for Breath Isopropanol and Acetone as Potential Volatile Biomarkers of Diabetes Mellitus," *Anal. Chem.*, vol. 89, no. 22, pp. 12261–12268, Nov. 2017.
- [16] M. Karmaoui et al., "Pt-decorated In₂O₃ nanoparticles and their ability as a highly sensitive (<10 ppb) acetone sensor for biomedical applications," *Sensors and*

- Actuators B: Chemical, vol. 230. pp. 697–705, 2016 [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2016.02.100>
- [17] Instituto Nacional de Estadística y Geografía, “CARACTERÍSTICAS DE LAS DEFUNCIONES REGISTRADAS EN MÉXICO DURANTE 2017,” INEGI, 525/18, Oct. 2018 [Online]. Available: <https://www.inegi.org.mx/contenidos/saladeprensa/boletines/2018/EstSociodemo/DEFUNCIONES2017.pdf>
- [18] A. J. Bandodkar and J. Wang, “Non-invasive wearable electrochemical sensors: a review,” *Trends Biotechnol.*, vol. 32, no. 7, pp. 363–371, Jul. 2014.
- [19] M. Alam and A. K. M. Azad, “Development of biomedical data acquisition system in Hard Real-Time Linux environment,” 2012 International Conference on Biomedical Engineering (ICoBE). 2012 [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1109/icobe.2012.6179053>
- [20] M. Di Lorenzo, “Use of microbial fuel cells in sensors,” in *Microbial Electrochemical and Fuel Cells*, Elsevier, 2016, pp. 341–356.
- [21] “MAKING SENSE OF BIOSENSORS,” Surfix. [Online]. Available: <https://www.surfix.nl/applications/biosensors>. [Accessed: 2020]
- [22] A. Salek-Maghsoudi et al., “Recent advances in biosensor technology in assessment of early diabetes biomarkers,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 99, pp. 122–135, Jan. 2018.
- [23] V. Perumal and U. Hashim, “Advances in biosensors: Principle, architecture and applications,” *J. Appl. Biomed.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–15, Jan. 2014.
- [24] N. A. M. Said, V. I. Ogurtsov, and G. Herzog, “Electrochemical biosensor based on microfabricated electrode arrays for life sciences applications.” Unpublished, 2014 [Online]. Available: <http://rgdoi.net/10.13140/RG.2.2.11066.49603>
- [25] A. F. Collings and F. Caruso, “Biosensors: recent advances,” *Rep. Prog. Phys.*, vol. 60, no. 11, pp. 1397–1445, Nov. 1997.
- [26] B. Rezaei and N. Irannejad, “Electrochemical detection techniques in biosensor applications,” in *Electrochemical Biosensors*, Elsevier, 2019, pp. 11–43.
- [27] Metrohm B.V., “Basic overview of the working principle of a potentiostat/galvanostat (PGSTAT) – Electrochemical cell setup,” Metrohm B.V., 2011 [Online]. Available: <https://www.eeweb.com/app-notes/view/basic-overview-of-the-working-principle-of-a-potentiostat-galvanostat-pgstat-electrochemical-cell-setup>
- [28] A. M. Hodges, T. W. Beck, O. Johansenlan, and A. Maxwell, “Electrochemical cell,” 7608175B227-Oct-2009.
- [29] R. K. Franklin, “In vivo Electrochemical Sensors,” Doctor of Philosophy, The University of Michigan, 2010.
- [30] Gamry Instruments, “Common Equivalent Circuit Models,” Gamry Instruments [Online]. Available: <https://www.gamry.com/assets/Uploads/resources/The-Basics-of-EIS-Part-3.pdf>
- [31] Gamry Instruments, “Physical Electrochemistry & Equivalent Circuit Elements: Part 2,” Gamry Instruments [Online]. Available: <https://www.gamry.com/assets/Uploads/resources/The-Basics-of-EIS-Part-2.pdf>
- [32] R. Doelling, “Potentiostats,” {Bank Elektronik}, 2000.
- [33] E. Teshiba and M. Ruiz, “Diseño y Simulación de Biosensor serigrafiado a partir de la Cloroperoxidasa de *Caldariomyces Fumago* para la detección de 2,4,6-

- Triclorofenol en agua,” BSc, Tecnológico Nacional de Mexico, 2017.
- [34] A. Cambiaso et al., “Modelling and simulation of a diffusion limited glucose biosensor,” *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 33, no. 1–3, pp. 203–207, Jul. 1996.
- [35] A. Hernandez, A. Iglesias, A. Rodriguez, and O. Val, “Amplificador de transimpedancia con ganancia programable para un lector de placas multimodal,” *RIELAC - Revista de Ingeniería Electrónica, Automática y Comunicaciones*, vol. XXXVIII, no. 1/2017, pp. 17–32, 2017.
- [36] “PCB Design and Circuit Simulator Software - Proteus.” [Online]. Available: <https://www.labcenter.com/>. [Accessed: 14-Jan-2022]
- [37] IPC (Organisation), *Generic Standard on Printed Board Design (English Language)*, 2221B. 2012.
- [38] “MATLAB.” [Online]. Available: <https://www.mathworks.com/products/matlab.html>. [Accessed: 14-Jan-2022]
- [39] S. De Luz, “Conoce EasyEDA, un completo software de simulación de circuitos y diseño de PCB online,” *RedesZone*, 19-Feb-2016. [Online]. Available: <https://www.redeszone.net/2016/02/19/conoce-easyeda-un-completo-software-de-simulacion-de-circuitos-y-diseno-de-pcb-online/>. [Accessed: 15-Dec-2021]
- [40] “Arduino - Home.” [Online]. Available: <https://www.arduino.cc/>. [Accessed: 14-Jan-2022]
- [41] R. Y. Rubinstein and D. P. Kroese, *Simulation and the Monte Carlo Method*. John Wiley & Sons, 2016.
- [42] Y. Haik, S. Sivaloganathan, and T. M. Shahin, *Engineering Design Process*. Cengage Learning, 2015.
- [43] S. Park, “Acetone gas detection using TiO₂ nanoparticles functionalized In₂O₃ nanowires for diagnosis of diabetes,” *J. Alloys Compd.*, vol. 696, pp. 655–662, Mar. 2017.
- [44] K.-W. Kao, M.-C. Hsu, Y.-H. Chang, S. Gwo, and J. A. Yeh, “A sub-ppm acetone gas sensor for diabetes detection using 10 nm thick ultrathin InN FETs,” *Sensors*, vol. 12, no. 6, pp. 7157–7168, May 2012.
- [45] D. S. Hui et al., “Exhaled air dispersion during oxygen delivery via a simple oxygen mask,” *Chest*, vol. 132, no. 2, pp. 540–546, Aug. 2007.
- [46] J. O. Elam, D. G. Greene, E. S. Brown, and J. A. Clements, “Oxygen and carbon dioxide exchange and energy cost of expired air resuscitation,” *J. Am. Med. Assoc.*, vol. 167, no. 3, pp. 328–334, May 1958.
- [47] M. Yousef Younes, H. Al-aji, A.-B. M. A.-S. Ahmed, and A. Al-Abdulaziz, “Integration a Design of Experiment in the Mass Transfer Laboratory to Investigate the Effect of Temperature Change on Diffusion Coefficient of Acetone in Air,” *International Journal of Engineering and Information Systems (IJEAIS)*, vol. 1, no. 10, pp. 9–12, Dec. 2017.
- [48] X. Fan, Y. Xu, and W. He, “High acetone sensing properties of In₂O₃–NiO one-dimensional heterogeneous nanofibers based on electrospinning,” *RSC Adv.*, vol. 11, no. 19, pp. 11215–11223, 2021.
- [49] Texas Instruments, “LMP7721 3-Femtoampere Input Bias Current Precision Amplifier,” Texas Instruments, 2008. [Online]. Available: <http://www.ti.com/lit/ds/symlink/lmp7721.pdf>
- [50] T. Wang and B. Erhman, “Compensate Transimpedance Amplifiers Intuitively,”

- Texas Instruments, 2005. [Online]. Available:
<http://www.ti.com/lit/an/sboa055a/sboa055a.pdf?ts=1587764498324>
- [51] Hamamatsu, "Si photonics," Hamamatsu [Online]. Available:
https://www.hamamatsu.com/resources/pdf/ssd/e02_handbook_si_photodiode.pdf
- [52] "[No title]." [Online]. Available:
<https://www.ti.com/lit/ds/symlink/lm334.pdf?ts=1641321834489>. [Accessed: 04-Jan-2022]
- [53] "Sci-Hub: removing barriers in the way of science." [Online]. Available: <https://sci-hub.se/10.1109/JSEN.2009.2033305>. [Accessed: 21-Jan-2022]
- [54] B. E. Landini and S. T. Bravard, "Breath acetone concentration measured using a palm-size enzymatic sensor system," *IEEE Sens. J.*, vol. 9, no. 12, pp. 1802–1807, Dec. 2009.
- [55] L. Guo et al., "Ultra-sensitive sensing platform based on Pt-ZnO-In₂O₃ nanofibers for detection of acetone," *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 272, pp. 185–194, 2018 [Online]. Available: <http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2018.05.161>
- [56] "Synthesis of In₂O₃ hollow nanofibers and their application in highly sensitive detection of acetone," *Ceram. Int.*, vol. 41, no. 10, pp. 13780–13787, Dec. 2015.

ANEXOS

A. Script de MATLAB

```
clear; close all;
m = 0;
x0 = 0;
xf = 1.0e-003;
xL = 50;
t0 = 0;
tf = 300;
tL = 50;
x = linspace(x0,xf,xL);
t = linspace(t0,tf,tL);
n = 6;
F = 96485.332;
A = 0.005;
Km = 8.6e-005;
tolerancia = 5;
eMemoria = 100;
eMemoria2 = 100;
nA = 0;
nB = 0;
kcatMemoria = 9908;
kredMemoria = 9908;
koxMemoria = 9908;
operaciones = 0;
global TCP0;
global H2O20;
global DCQ0;
global Dp;
global Et;
global kcat;
global kred;
global kox;
global index1;
global index2;
global index3;
global index4;
global index5;
LogL = 10;
Log0 = 0;
```

```

Logf = 6;
Et = 5.2963e-002;
kcat = logspace(Log0,Logf,LogL);
kred = logspace(Log0,Logf,LogL);
kox = logspace(Log0,Logf,LogL);
Dp = logspace(-7,-5,LogL);
index1 = 1;
index2 = 1;
index3 = 1;
index4 = 1;
index5 = 1;

TCP0 = 2.9269e-005;
H2O20 = 3.568e-003;
DCQ0 = 5.2963e-002;

for index1 = 1:length(Et)
for index2 = 1:length(kcat)
for index3 = 1:length(kred)
for index4 = 1:length(kox)
for index5 = 1:length(Dp)
sol
pdepe(m,@pdex1pdeMonteCarlo,@pdex1icMonteCarlo,@pdex1bcMonteCarlo,x,t);
TCP = sol(:,:,1);
H2O2 = sol(:,:,2);
DCQ = sol(:,:,3);

DCQx = diff(DCQ);
i = n*F*A*Dp(index5)*DCQx*1e009;
subTCP = TCP(:, 1);
subTCP = subTCP.';
subTCP(:,50) = [];
coli = i(:, 1);
coli = coli.';

a1 = 1.3e007;
b1 = 0.5;
iDiaz = a1*subTCP + b1;
[r,a2,b2] = regression(subTCP,coli);
eA = abs((coli-iDiaz)./iDiaz);

```

```

eP = 100*mean(eA);

if eP <= tolerancia
disp('Combinación correcta')
nA = nA + 1;
eMemoria = eP
Et(index1)
kcat(index2)
kred(index3)
kox(index4)
Dp(index5)
index1Memoria = index1;
index2Memoria = index2;
index3Memoria = index3;
index4Memoria = index4;
index5Memoria = index5;
elseif eP < eMemoria2
nB = nB + 1;
eMemoria2 = eP;
EtMemoria = Et(index1);
kcatMemoria = kcat(index2);
kredMemoria = kred(index3);
koxMemoria = kox(index4);
DpMemoria = Dp(index5);
index1Memoria = index1;
index2Memoria = index2;
index3Memoria = index3;
index4Memoria = index4;
index5Memoria = index5;
end
operaciones = operaciones + 1;
index5
end
index4
end
index3
end
index2
end
index1

```

```
end
```

```
eMemoria  
eMemoria2  
nA  
nB  
kcatMemoria  
kredMemoria  
koxMemoria  
DpMemoria
```

```
index1 = index1Memoria;  
index2 = index2Memoria;  
index3 = index3Memoria;  
index4 = index4Memoria;  
index5 = index5Memoria;
```

```
sol  
pdepe(m,@pdex1pdeMonteCarlo,@pdex1icMonteCarlo,@pdex1bcMonteCarlo,x,t);
```

=

```
TCP = sol(:, :, 1);  
H2O2 = sol(:, :, 2);  
DCQ = sol(:, :, 3);
```

```
DCQx = diff(DCQ);  
i = n*F*A*Dp(index5)*DCQx*1e009;  
subTCP = TCP(:, 1);  
subTCP = subTCP.';  
subTCP(:, 50) = [];  
coli = i(:, 1);  
coli = coli.';
```

```
a1 = 1.3e007;  
b1 = 0.5;  
iDiaz = a1*subTCP + b1;  
[r,a2,b2] = regression(subTCP,coli);
```

```
figure('Name','Respuesta en corriente - Simulación');  
subplot(3,1,1)  
plot(subTCP, coli)
```

```

title('Corriente VS Concentración de CETONAS - SIMULACION')
xlabel('Concentración - cetonas [M]')
ylabel('Corriente - i [nA]')
subplot(3,1,2)
plot(subTCP,coli)
hold on
plot(subTCP, iDiaz)
title('Corriente VS Concentración de CETONAS - SIMULACION VS EXPERIMENTO')
xlabel('Concentración - cetonas [M]')
ylabel('Corriente - i [nA]')
legend('SIMULACION','EXPERIMENTO')
nomsubS = subTCP / max(subTCP);
nomiDiaz = iDiaz / max(iDiaz);
nomi = coli / max(col);
subplot(3,1,3)
plot(nomsubS, nomi)
hold on
plot(nomsubS, nomiDiaz)
title('Corriente Normalizada VS Concentración Normalizada de CETONAS -
SIMULACION VS EXPERIMENTO')
xlabel('Concentración - cetonas [M]')
ylabel('Corriente - i [nA]')
legend('SIMULACION','EXPERIMENTO')

figure('Name','Concentración VS Distancia (Normalizado)');
nomx = x / max(x);
nomTCP = TCP / max(TCP);
nomH2O2 = H2O2 / max(H2O2);
nomDCQ = DCQ / max(DCQ);
plot(nomx,nomTCP(:,1))
hold on
plot(nomx,nomH2O2(:,1))
hold on
plot(nomx,nomDCQ(:,1))
title('Concentración VS Distancia (Normalizado)')
xlabel('Distancia')
ylabel('Concentración')
legend('CETONAS','OXIGENO','RESPUESTA')

```

B. Script de Arduino IDE

```
// include the library code:
#include<LiquidCrystal.h>
float voltaje_salida = A0;
float concentracion;
float voltaje;
float corriente;

// initialize the library by associating any needed LCD interface pin
// with the arduino pin number it is connected to
const int rs = 13, en = 12, d4 = 11, d5 = 10, d6 = 9, d7 = 8;
LiquidCrystal lcd(rs, en, d4, d5, d6, d7);

void setup()
{
  Serial.begin(9600);
  lcd.begin(16,2);
}

void loop()
{
  concentracion = analogRead(voltaje_salida);
  voltaje = concentracion*(5.0/1023.0);
  concentracion = (9.5279*voltaje*10) - 4.33;

  lcd.setCursor(0,0);
  lcd.print("concentracion:");
  Serial.println("concentracion");

  lcd.setCursor(0,1);
  lcd.print(concentracion*1.00000);
  Serial.print(concentracion*1.00000);
  lcd.print(" ppm");
  Serial.println(" ppm");
  delay(5000);
  lcd.clear();
}
```