

Métodos de medida del pH para estudios invasivos prolongados: ISFET y fibra óptica.

Julián Oreggioni¹

Monografía vinculada a la conferencia del Ing. Quim. Juan Bussi sobre "Biosensores para determinaciones analíticas" del 13 de junio de 2006.

Resumen— Se presentan y analizan diferentes alternativas para medir pH en estudios invasivos prolongados (mayores a 6 meses). Se comparan sensores basados en ISFETs y de fibra óptica con el más tradicional sensor de vidrio. En los ISFETs el pH es proporcional a la tensión de salida de un transistor cuyo canal es modulado por la solución a medir, mientras que en los de fibra óptica el pH de la solución de interés modifica las propiedades ópticas de una señal. Estas nuevas tecnologías permiten contar con sensores pequeños adecuados para estudios invasivos. Sin embargo, las restricciones en cuanto a precisión, mantenimiento y costo que tienen hoy en día las hacen inviables para estudios prolongados.

Palabras Clave— sensor de pH, ISFET, sensor de fibra óptica, estudios invasivos prolongados

I. INTRODUCCIÓN

El pH es una variable de mucho interés en todas las disciplinas donde intervienen procesos biológicos o químicos: medicina, biología, química, veterinaria, agronomía, limnología, ecología (control ambiental), industria alimenticia, etc.

Los procesos biológicos y químicos más importantes probablemente son los que tienen lugar en disolución acuosa y el pH es un parámetro fundamental para la caracterización de las distintas reacciones químicas que tienen lugar entre las sustancias disueltas en el agua. Formalmente el pH se define como el negativo del logaritmo de la actividad del ion hidrógeno:

$$pH = -\log_{10} f_{H^+} [H^+] \quad (1)$$

Donde: f_{H^+} es el coeficiente de actividad, $[H^+]$ concentración de ión hidrógeno en moles.L⁻¹ y el producto $f_{H^+}[H^+]$ es la actividad del ión H⁺.

Los conceptos de acidez y basicidad usualmente utilizados para caracterizar soluciones acuosas se relacionan numéricamente con esta definición de pH en la forma siguiente:

pH > 7 corresponden a un medio básico o alcalino;
pH < 7 corresponde a un medio ácido; y,
pH = 7 corresponde a un medio neutro.

En la mayoría de las aplicaciones de interés la cantidad de agua que se consume o se forma durante la reacción química es pequeña comparada con la cantidad de agua presente, con lo cual se asume que el coeficiente de actividad f_{H^+} es 1:

$$pH = -\log_{10} [H^+] \quad (2)$$

El interés en este tema surge a raíz del desarrollo de Anubis, un dispositivo de bajo consumo que integra un sensor de pH de vidrio industrial y un sensor de temperatura de



Figura 1: Introducción de Anubis en el rumen bovino (Figura sacada de [1])

estado sólido, con el fin de medir y almacenar continuamente la temperatura y el pH del rumen de una vaca fistulada, para luego visualizar en un PC los datos recabados (ver figura 1). Anubis fue implementado en el marco del proyecto de grado "Monitoreo del rumen bovino" [1].

Si bien Anubis satisface una carencia que existe en el ámbito de la investigación agronómica, su adaptación para la producción primaria sería de alto impacto. Para ello, es preciso dejar de trabajar con vacas fistuladas. Esto implica reducir el tamaño del sensor para su ingreso por vía oral y utilizar una tecnología de medición del pH que no tenga los fuertes requerimientos de mantenimiento que tienen los sensores de vidrio (limpieza y calibración).

¹ Julián Oreggioni es estudiante de 5° año de Ingeniería Eléctrica en la Facultad de Ingeniería de la Universidad de la República Oriental del Uruguay. Montevideo, Uruguay (e-mail: juliano@cei.fing.edu.uy)

II. TECNOLOGÍAS DISPONIBLES PARA LA MEDICIÓN DE pH

Las tecnologías disponibles para la medición de pH pueden clasificarse en dos grandes grupos: Electroquímicos y Ópticos.

A. Sensores electroquímicos

Son aquellos que utilizan dispositivos que transducen la actividad química del ión de hidrógeno en una señal eléctrica. En esta categoría se destacan aquellos sensores que cuentan con Electroodos de Ion Selectivo (ISE por sus siglas en inglés): de vidrio, de membrana líquida y de metal-óxido de metal. Una sección aparte merecen los ISFET (Ion Selective Field Effect Transistor).

Los ISEs pueden pensarse como una “celda electroquímica”, donde uno de sus electrodos es la referencia y el otro se inserta en la solución a la cual se le quiere medir el pH. Ese segundo electrodo cuenta con una membrana, que para el caso del pH, es sensible al ión hidrógeno (ver figura 2). Como cualquier celda electroquímica, entre los electrodos se genera una diferencia de potencial según la ecuación de Nernst (ecuación 3), que es lo que efectivamente se mide y que está relacionada directamente con la medida de pH de la solución.

$$E = E_0 + \frac{RT}{F} \ln[H^+] \quad (3)$$

Donde: R es la constante de los gases y vale $8,31 \text{ }^\circ\text{K}^{-1}\text{mol}^{-1}$, T es la temperatura en $^\circ\text{K}$, F es la constante de Faraday que vale 96485 C y E_0 es una constante que agrupa una serie de potenciales: en primer lugar el valor del voltaje de referencia, pero también otros que aparecen en la pila y que escapan al alcance de este trabajo. Sin embargo se quiere mencionar que estos potenciales varían con el tiempo y es lo que provoca que se requiera una calibración periódica. Asimismo E_0 depende de la temperatura.

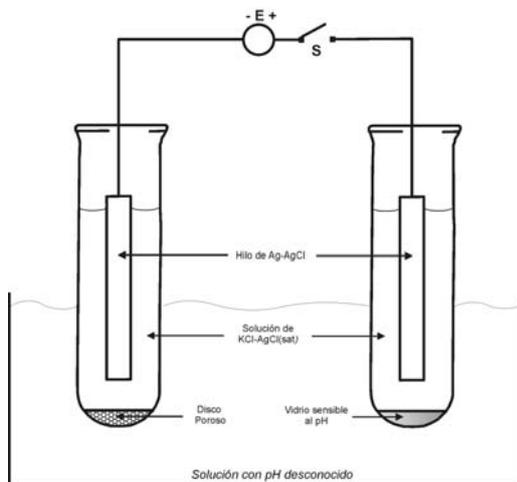


Figura 2: Modelo de “celda electroquímica” para un sensor de pH basado en el electrodo de membrana de vidrio selectivo al ión H^+ (Figura sacada de [1]).

El modelo de sensor, basado en el electrodo de vidrio formando parte de una celda electroquímica, es el más ampliamente difundido y es el que aparece en los textos de enseñanza a nivel superior (por ejemplo ver [2]). Tiene la ventaja de ser relativamente sencillo, a pesar de que hay fenómenos que no logra explicar. No entraremos en esos aspectos ya que exceden el alcance de este trabajo pero se deja constancia que existen modelos mas complejos, aunque no tan difundidos, basados en la ecuación de Boltzman que parecerían modelar de forma mas adecuada el funcionamiento del sensor (véase por ejemplo [3]).

En la realización de estudios prologados, la deriva de los sensores es el parámetro más relevante. Como la característica pH-Voltaje va variando con el tiempo es necesario calibrar, y por lo tanto suspender el estudio, para mantener las medidas dentro de una precisión aceptable.

Los ISE requieren calibración y limpieza periódica. Para mantener una precisión de 0,1 unidades de pH es necesario calibrar semanalmente. [1]

El *sensor de pH de vidrio* es un estándar a nivel industrial y de laboratorio. Su principio de funcionamiento se conoce desde principios de siglo XX y su uso está ampliamente generalizado y sus resultados ampliamente validados, al punto que el patrón de la medida de pH se basa en un electrodo de vidrio. El electrodo entra en contacto con el analito a través de una membrana de vidrio sensible al ión hidrógeno. Las características de esta membrana hacen que el sensor tenga una resistencia de salida muy grande (decenas o centenas de $M\Omega$) y sea necesario mantenerlo húmedo. Logran una precisión muy buena (0,01) y tienen tiempos de vidas relativamente cortos (1 año). Los costos varían entre 30 y 300 dólares. [1]

Los *electrodos de membrana líquida* son similares al electrodo de vidrio excepto que la membrana es un polímero orgánico saturado con un intercambiador iónico líquido. Por más detalles puede consultarse [5].

Los *electrodos de estado sólido* consisten en metales cuya superficie está recubierta parcialmente por una capa de óxido del mismo metal. Entre ellos, el más utilizado es el electrodo de antimonio. Es resistente, adecuado para el registro continuo y operaciones de control. Su intervalo de utilización es de pH 2 a 8. Otros electrodos metal-óxido metálico bastante utilizados son los de telurio, tungsteno, y molibdeno. [6]

B. Sensores ópticos.

Estos sensores se basan en “indicadores ópticos” de pH que cambian sus propiedades ópticas en función del analito. Dependiendo de la propiedad óptica que cambia, los sensores pueden clasificarse en: sensores de absorbancia o luminiscencia. En los sensores de absorbancia la relación entre

intensidad de la luz incidente y la luz reflejada están en directa relación con el valor del pH de la muestra. En los sensores de luminiscencia la dependencia con el pH viene dada por el cambio en la longitud de onda entre la luz incidente y la reflejada.

El sensor óptico más conocido tal vez sea la “tira de pH”. Se trata de una tira de papel o plástico que tiene impregnado un indicador óptico, el cual hace que la tira cambie de color según el valor de pH del analito. Es un método simple, barato y rápido. Como contrapartida no permite un funcionamiento automático y es poco preciso (1 unidad de pH).

Los continuos avances que se producen en el campo de la optoelectrónica han impulsado el desarrollo en los últimos años de los sensores de fibra óptica (llamados optodos u optrodos). Estos son desarrollados en la sección IV del presente trabajo.

III. ISFET

A. Principio de Funcionamiento

El ISFET fue propuesto por primera vez en 1970 [7]. Su principio de operación es similar al de transistor MOS. A diferencia de éste, el ISFET no posee una compuerta metálica y el dieléctrico de esta misma región se expone directamente al analito. Es decir, utilizan como principio de medida la modulación del canal del transistor mediante la diferencia de tensión que se establece entre el analito y la puerta del dispositivo. La tensión de salida del transistor es función del pH de la disolución.

El transistor NMOS tiene un sustrato tipo p (bulk) y dos regiones tipo n (source y drain). Esta estructura es cubierta con capa aislante de óxido de silicio (SiO₂), la cual a su vez se conecta a una compuerta metálica (ver figura 3a).

En consecuencia, se crea un canal de conducción entre source y el drain. La conductividad de este canal puede ser modulada ajustando el valor del campo eléctrico mediante V_{GS}. Al mismo tiempo un voltaje V_{ds} puede ser aplicado, lo cual redundará en una corriente de Drain (I_D) entre drain y el source.

En el caso del ISFET, el gate es reemplazado por el analito y la capa de SiO₂ entra en contacto directo con el analito. La parte metálica del electrodo de referencia puede ser considerada con la puerta del MOSFET (ver figura 3b) [8].

En los ISFETs, la corriente I_D fluye a través del canal. Como en los MOSFET la resistencia del canal depende del campo eléctrico perpendicular a la dirección de la corriente. También depende del voltaje a través de la capa de SiO₂. Por lo tanto la corriente I_D, depende del potencial de interfaz que se desarrolla entre el óxido y el analito.

El SiO₂, utilizado como aislante en la construcción del MOSFET, no es la mejor elección cuando se trata de ISFET ya que parte de su funcionamiento depende de la respuesta del SiO₂ al pH; en este caso se utilizan Al₂O₃, Si₃N₄ y Ta₂O₅ cuyas propiedades químicas en lo que a ello refiere resultan más convenientes.

B. Principales Características

El sensor de ISFET en contraposición con el de vidrio es mucho más chico (algunos pocos mm²).

Son sensibles a la luz. Este fenómeno está vinculado a la ausencia de un metal sobre el dieléctrico de la puerta del ISFET, y también, al hecho de que a la hora de encapsularlo se deja al descubierto tanto parte de las difusiones como la puerta selectiva a iones que esté en contacto con la solución a analizar.

Los ISFETs presentan una inestabilidad térmica que se traslada a las medidas. Generalmente es necesario que el sensor funcione a temperatura constante para lograr resultados confiables. En [4] se explican otras técnicas para independizarse de estos problemas.

Uno de los problemas importantes que afectan a los ISFETs es el de la deriva temporal de la señal de respuesta. Si bien se han realizado trabajos para estimarla y corregirla sigue siendo un problema abierto [9].

El proceso de encapsulación y aislamiento de los contactos eléctricos es el más crítico de la fabricación del sensor ya que de él depende el buen aislamiento eléctrico del dispositivo y su tiempo de vida. Una de las causas más importantes de la degradación del sensor es la filtración de la solución líquida, provocando corrientes de fuga entre los contactos y se podría provocar un cortocircuito. [4]

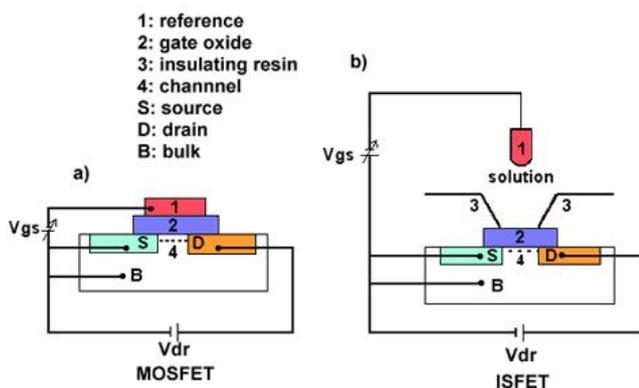


Figura 3: Diferencias y similitudes entre a) MOSFET y b) ISFET (Figura sacada de [8])

Si un voltaje positivo (respecto al Bulk) es aplicado al gate (V_{GS}>0), los electrones (que son portadores minoritarios en el sustrato) son atraídos a la superficie del semiconductor.

C. Disponibilidad Comercial

Si bien el sensor de ISFET se conoce desde hace más 30 años, recién en la última década empezaron a aparecer a nivel comercial y su desarrollo es todavía incipiente.

Los ISFETs se comercializan como parte de un electrodo que tienen un tamaño y una presentación similar a los sensores de vidrio. Esto llama un poco la atención ya que con los ISFET podrían obtenerse soluciones de tamaño mucho más reducido. Probablemente esto pueda deberse a dos factores. Por un lado los problemas de encapsulamiento mencionados en la sección anterior. En segundo lugar a las características del mercado. En efecto, las aplicaciones industriales o de laboratorio, en general, no requieren sensores pequeños y la infraestructura montada está estructurada para trabajar con sensores de vidrio.

En [9] se listan las empresas que comercializan ISFETs: Beckman Coulter, Belswan, Bioanalytical Systems, Delta TRAK, Elf Aquitaine, Elec, Fisher, Honeywell, Horiba, Lazar Res. Labs., Mettler Toledo, Nisso, Orion, Denver, Radiometer, Sanwa Tsusho, Sentron, Sera, Spectrum y Team Labs. Si bien no se realizó una búsqueda exhaustiva no todos estos fabricantes continuaban a la fecha comercializando estos sensores y en aquellos que se encontraron precio, éste era muy superior a los de vidrio (mayor de 500 dólares).

El integrado en el cual está basado el sensor de ISFET no está a la venta por separado. Algunos centros de investigación tienen desarrollos sobre el tema: "Fraunhofer Institut Photonische Mikrosysteme" [10] y el "Centro Nacional de Microelectrónica" [11]. El rango de medición es adecuado y la precisión es buena, pero los datos de deriva son altos. En la sección 5 se presenta una tabla comparativa con los datos disponibles de algunos sensores encontrados.

IV. SENSORES DE FIBRA ÓPTICA

A. Principio de Funcionamiento

Los sensores de fibra óptica consisten en un indicador inmovilizado, cuyas propiedades ópticas se modifican en función de la concentración de analito presente en la muestra. La señal óptica así generada es conducida a continuación a través de una fibra óptica hasta un detector, para más tarde ser amplificada y procesada convenientemente (ver figura 4). [12].

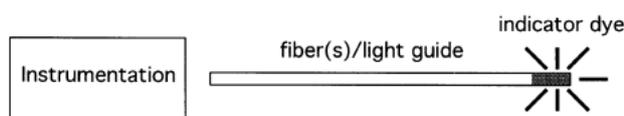


Figura 4: Esquema de un sensor óptico (Figura sacada de [12])

Los sensores que funcionan por absorbancia se rigen por la ley de Lambert-Beer, que establece una relación de

proporcionalidad directa entre la concentración de sustancia absorbente y la cantidad de luz absorbida por ésta, para una determinada longitud de onda:

$$A_{\lambda} = \log \frac{I_0}{I_T} = \epsilon_{\lambda} \cdot l \cdot c \quad (4)$$

Donde A es la absorbancia de la muestra (adimensionado), I_T e I_0 son los flujos fotónicos transmitido e incidente, respectivamente, l es el paso óptico (espesor atravesado por el haz de luz, en cm), c es la concentración de la sustancia absorbente (en mol.L⁻¹) y ϵ_{λ} es el coeficiente de absorción molar, característico para cada longitud de onda (en mol⁻¹.L cm⁻¹).

B. Principales Características

Los sensores de fibra óptica no requieren señal de referencia, esto aumenta la estabilidad de la medida y reduce los costos de fabricación.

La utilización de fibras ópticas de baja pérdida como guías de luz posibilita la medida a grandes distancias. Además, pueden transmitir mucha más información que los cables eléctricos, debido a su mayor ancho de banda. La flexibilidad de las guías de luz, junto a la separación física que éstas introducen entre el terminal sensible y el transductor y el hecho de que soportan medios hostiles como la presencia de radiaciones electromagnéticas o ionizantes, condiciones extremas de temperatura o el ataque de ácidos o bases presentes en las muestras, posibilitan la utilización de los optrodos en multitud de procesos industriales.

A pesar de las ventajas que poseen los sensores ópticos, para poder optimizar un método basado en este tipo de medidas es necesario tener en cuenta una serie de factores limitantes [13]:

- La señal óptica detectada por el equipo de medida debe proceder única y exclusivamente del indicador. Por este motivo, debe evitarse la exposición del terminal sensible a la luz ambiente, o bien modular la señal procedente del indicador con objeto de poder diferenciarla de la luz externa.
- La exposición durante horas del sensor a fuentes de luz puede provocar la fotodegradación de los indicadores. Por otro lado, éstos se encuentran generalmente inmovilizados en membranas o soportes poliméricos en los que, en algunas ocasiones, puede producirse lavado. Los avances introducidos en el campo de los sensores ópticos han subsanado estos dos inconvenientes introduciendo nuevos métodos de medida en los que la cantidad de analito presente en la muestra no depende de la cantidad de indicador inmovilizado en el terminal sensible. En el resto de métodos ópticos se evita, en la medida de lo posible, la influencia de estos factores mejorando los procedimientos de inmovilización, utilizando

indicadores fotoestables o bien con la oportuna calibración del sensor.

- En algunos casos pueden presentar tiempos de respuesta elevados.
- La existencia de pocos procesos en los que la interacción analito-indicador sea completamente reversible condiciona el carácter desechable o de obligada regeneración del sensor.
- Una de las principales desventajas que presentan los optrodos, es que no miden actividad, sino concentración, siendo por ello su señal analítica fuertemente dependiente de la fuerza iónica del medio.

C. Disponibilidad Comercial

En [13] se hace un relevamiento de las empresas que comercializan este tipo de sensores. Ocean Optics, Inc. es la única que vende sensores ópticos de pH pero la información que presenta en su sitio web no es mucha. Su costo es mayor a los 1000 dólares y los indicadores cuestan 50 dólares (no establece el tiempo de vida de los mismos). Asimismo los rangos de medición varían entre 6,5 y 12 unidades de pH [14].

V. CONCLUSIONES

En la tabla 1 se presentan tres sensores de pH, uno de cada una de las tecnologías analizadas. El PHE-7353 es el sensor de vidrio utilizado por Anubis.

En cuanto al de fibra óptica es importante aclarar que el rango de medición de pH de este sensor no es totalmente útil, ya que en aplicaciones biomédicas el rango de interés va de la neutralidad a la acidez.

Por último resaltar que el electrodo de vidrio tiene una deriva significativamente menor al del ISFET.

Tabla 1: Comparación de Sensores

	Omega PHE-7353	Fraunhofer	Ocean Optics
Tipo de sensor	Vidrio	ISFET	Fibra óptica
Rango pH	0 a 14	1 a 12	6.5 a 12
Rango temperatura (°C)	0 a 80	-10 a 75	0 a 220
Rango presión (psi)	0 a 100	7 a 145	0 a 100
Precisión	0, 1% sobre fondo de escala	0.02	s/d
Impedancia de salida	150M	s/d	s/d
Tiempo de respuesta (s)	10	60	s/d
Deriva (uV/hora)	12	80	s/d
Dimensiones (mm)	152(L) x 22(D)	3.5 x 3.5	108(L) x 3(D)
Compensación de temperatura	Pt100 incluida	Pt1000	NC
Mantenimiento	Húmedo	Seco	Seco
Costo (USD)	150	s/d	990

Tanto los sensores de pH basados en ISFETs como los de fibra óptica son interesantes por lo niveles de miniaturización que pueden alcanzar. Asimismo son caros, aunque eso seguramente se deba al poco desarrollo comercial que tienen.

Como se mencionó en la sección II.A el parámetro más relevante para evaluar el desempeño de los sensores de pH en estudios prologados es la deriva. Los sensores de vidrio pueden trabajar correctamente por un lapso de tiempo del orden de semanas. Los ISFET se comportan sensiblemente peor que los de vidrio y respecto a los ópticos si bien no se tienen datos cuantitativos se sabe que requieren calibración [13], con lo cual tampoco serían adecuados para tratamientos invasivos prolongados (mayores a 6 meses).

Es de esperar que esta situación cambie y estos sensores logren mejores resultados en un futuro cercano. El vidrio luego de un siglo de desarrollo parecería haber llegado a sus límites de desarrollo, mientras que estas técnicas son muy jóvenes, hijas de tecnologías relativamente jóvenes.

REFERENCIAS

- [1] Mariano Cebey, Juan Curto, Julián Oreggioni, Pablo Aguirre, Pablo Chilbroste. "Monitoreo del rumen bovino". Tesis de grado, IIE, Facultad de Ingeniería, UdeLaR, Montevideo, Uruguay, Marzo 2006.
- [2] D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A., Nieman. "Principios de Análisis Instrumental". 5a edición, McGraw-Hill, 2001
- [3] K.L. Cheng. "Explanation of misleading Nernst slope by Boltzmann equation". *Microchemical Journal*, vol. 59, no. 3, pp. 457-461, Julio 1998.
- [4] Dina Zine. "Desarrollo y Caracterización de Sensores Químicos de Estado Sólido para Aplicaciones Biomédicas". Tesis de Doctorado, Dept. de Ing. Electrónica, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España, Diciembre 2004.
- [5] Wojciech Wroblewski (2006, junio 20). "Ion-selective electrodes" [On line]. Disponible en: <http://csrg.ch.pw.edu.pl/tutorials/ise>
- [6] Andrés Carvajal (2006, junio 20). "Electroquímica" [On line]. Disponible en: http://www.terra.es/personal/acarva/metal_htm, Mayo 1999.
- [7] Piet Bergvlet. "Develop of an ion-selective solid state device for neurophysiological measurements". *IEEE Tr. Biomedical Engineering*, vol. 17, no. 1, pp. 70-71, Enero 1970.
- [8] Wojciech Wroblewski (2006, junio 20). "Field effect transistors (FETs) as transducers in electrochemical sensors." [On line]. Disponible en: <http://csrg.ch.pw.edu.pl/tutorials/isfet>
- [9] P. Bergveld. "Thirty years of ISFETOLOGY: What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years". *Sensors and Actuators*, vol. B, no. 88 pp. 1-20, Agosto 2002.
- [10] Fraunhofer Institut Photonische Mikrosysteme (2006, junio 20). "Ion-Sensitive-Ta2O5-Field-Effect Transistor (ISFET) pHH3 Module" [on line]. Disponible en: <http://www.ipms.fraunhofer.de/en/products/SAS/Sensorik/isfet-e.pdf>
- [11] Centro Nacional de Microelectrónica. (2006, junio 20). "ISFET pH Sensors" [on line]. Disponible en: <http://www.cnm.es/imb/pages/products/chemical/isfet/isfet.PDF>
- [12] Artur Dybko (2006, junio 20). "Fiber optic chemical sensors" [On line]. Disponible en: <http://csrg.ch.pw.edu.pl/tutorials/fiber>
- [13] Nelia Bustamante. "Sensores de temperatura, ph y detergentes para control medioambiental con un prototipo que utiliza fibra óptica y luminiscencia con resolución de fase". Tesis de doctorado, Dept. de Química Orgánica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España, 2001.
- [14] Ocean Optics Inc. (2006, junio 20). "Fiber Optic pH Sensors" [on line]. Disponible en: <http://www.oceanoptics.com/products/phsensor.asp>