

ENSAMBLAJE Y VALIDACIÓN DE UN “CARTRIDGE” BASADO EN UN ARRAY DE SENSORES HFF-QCM PARA APLICACIONES DE HIGH-THROUGHPUT SCREENING (HTS)

María del Señor Calero Alcarria

Tutor: Yolanda Jiménez Jiménez

Cotutor: José Vicente García

Trabajo Fin de Máster presentado en la Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Telecomunicación de la Universitat Politècnica de València, para la obtención del Título de Máster Universitario en Ingeniería de Telecomunicación

Curso 2016-2017

Valencia, 3 de julio de 2017

Resumen

En este Trabajo Fin de Máster se ha contribuido a la definición del protocolo de fabricación de un “cartridge” basado en sensores HFF-QCM para aplicaciones en el ámbito de la salud y de la seguridad y calidad alimentaria. Durante el desarrollo del TFM se han fabricado diversos prototipos que han sido testeados y evaluados. Con la definición del protocolo de fabricación del “cartridge” se ha apoyado en las tareas de los proyectos LIQBIOPSENS y PQHTS-Honey en los que participa la empresa en la que se ha desarrollado este TFM (AWSensors). El objetivo final del proyecto LipBiopSens es la creación de un método que permita, de forma rápida, sencilla y poco costosa, la detección de diferentes mutaciones de cáncer colorrectal. Mientras que el objetivo del proyecto PQHTS-Honey es el desarrollo de un demostrador tecnológico para aplicaciones de High-Throughput Screening (HTS) en la detección de residuos de antibióticos y pesticidas en miel.

El cartridge a desarrollar en ambos proyectos está compuesto por tres elementos: un array de 24 sensores HFF-QCM, una PCB de contactos y una capa de microfluídica. Salvo en la capa del array, que ya estaba diseñada al comienzo de este trabajo, este TFM ha contribuido a definir: 1) las características geométricas de cada capa, 2) los materiales empleados para su fabricación y 3) los protocolos a seguir en la adhesión de las 3 capas. Durante el trabajo desarrollado en el TFM, se han definido y se han puesto a punto diversos montajes experimentales que facilitan la fabricación de los prototipos, así como su testeo y evaluación. Finalmente, se han realizado medidas de caracterización de espectros de admitancia, y de los parámetros de scattering, para los diversos prototipos de las diferentes fases del cartridge. Gracias a la elaboración de diversas medidas comparativas, se ha podido establecer el efecto que tiene sobre un sensor del array la adhesión de la placa de contactos y de la capa de microfluídica, lo que ha permitido establecer las soluciones más adecuadas para minimizar el efecto que tiene la adhesión de ambas capas.

Resum

En este Treball Fi de Màster s'ha contribuït a la definició del protocol de fabricació d'un "cartridge" basat en sensors HFF-QCM per aplicacions en l'àmbit de la salut i de la seguretat i qualitat alimentària. Durant el desenvolupament del TFM s'han fabricat diversos prototips que han sigut testejats i avaluats. Amb la definició del protocol de fabricació del "cartridge" s'ha donat suport en les tasques dels projectes LIQBIOPSENS i PQHTS-Honey en els que participa l'empresa (AWSensors) en què s'ha desenvolupat aquest TFM. L'objectiu final del projecte LipBiopSens és la creació d'un mètode que permeti, de forma ràpida, senzilla i poc costosa, la detecció de diferents mutacions de càncer colorectal. Mentre que l'objectiu del projecte PQHTS-Honey és el desenvolupament d'un demostrador tecnològic per a aplicacions de High-Throughput Screening (HTS) en la detecció de residus d'antibiòtics i pesticides en mel.

El cartridge a desenvolupar en els dos projectes està compost per tres elements: una matriu de 24 sensors HFF-QCM, una PCB de contactes i una capa de microfluídica. A excepció de la capa de la matriu, que ja estava dissenyada al començament d'aquest treball, aquest TFM ha contribuït a definir: 1) les característiques geomètriques de cada capa, 2) els materials emprats per a la seua fabricació i 3) els protocols que s'ha de seguir en l'adhesió de les 3 capes. Durant el treball desenvolupat en el TFM, s'han definit i s'han posat a punt diversos muntatges experimentals que faciliten la fabricació dels prototips, així com el seu testeo i avaluació. Finalment, s'han realitzat mesures de caracterització d'espectres d'admitància i dels paràmetres de scattering per als diversos prototips de les diferents fases del cartridge. Gràcies a l'elaboració

de diverses mesures comparatives, s'ha pogut establir l'efecte que té en un sensor de la matriu l'adhesió de la placa de contactes i de la capa de microfluídica, el que ha permès establir les solucions més adequades per minimitzar l'efecte que té l'adhesió d'ambdues capes.

Abstract

This Final Master Project have contributed to the definition of the protocol of manufacture of a cartridge based on HFF-QCM sensors for applications in the field of health, and safety and food quality. During the development of the project several prototypes have been manufactured, tested and evaluated. The definition of the "cartridge" manufacture protocol has helped the projects LIQBIOPSENS and PQHTS-Honey, projects in which the company (AWSensors) in which this project has been developed, is involved. The final objective of the LipBiopSens project is the creation of a method that allows, in a quick, simple and inexpensive way, the detection of different mutations of colorectal cancer. In the case of the PQHTS Honey project, the objective is the development of a technological demonstrator for High-Throughput Screening (HTS) applications in the detection of residues of antibiotics and pesticides in honey.

The cartridge to be developed in both projects consists of three elements: an array of 24 HFF-QCM sensors, a contact PCB and a microfluidic layer. Except for the layer of the array, which was already designed at the beginning of this work, this Final Master Project has contributed to define: 1) the geometric characteristics of each layer, 2) the materials used for its manufacture and 3) the protocols to be followed in the Adhesion of the 3 layers. During the work developed in the project, several experimental assemblies have been defined and developed that facilitate the manufacture of prototypes, as well as their testing and evaluation. Finally, characterization measures of admittance spectra and of the scattering parameters have been performed for the several prototypes of the different phases of the cartridge. Thanks to the development of several comparative measures, it has been possible to establish the effect of the adhesion of the contact plate and microfluidic layer on an array sensor, which has allowed to establish the most suitable solutions to minimize the effect that has the adhesion of both layers.

Índice

Capítulo 1. Marco en el que se desarrolla el Trabajo Fin de Máster.....	3
1.1 La empresa Advanced Wave Sensors S.L.....	3
1.2 Descripción de la tecnología desarrollada por AWSensors	4
1.2.1 Fundamentos de los sensores desarrollados por AWSensors.....	4
1.2.2 Plataforma AWS A20RP y AWS F20.....	7
1.3 Proyectos en los que está enmarcado el Trabajo: LipBiopSens y PQHTS Honey.....	8
Capítulo 2. Objetivos, metodología y estructura del trabajo.....	10
Capítulo 3. Evaluación de los arrays HFF-QCM.....	12
3.1 Caracterización y evaluación de sensores HFF-QCM de 150MHz inverted MESA individuales	12
3.1.1 Simulaciones teóricas mediante ANSYS	13
3.1.2 Caracterización experimental de los prototipos fabricados por CONWIN	15
3.2 Definición de las medidas de caracterización del array HFF-QCM.....	18
3.3 Definición del montaje experimental para la caracterización del array HFF-QCM....	19
3.4 Resultados y discusión	23
3.5 Conclusiones del capítulo.....	28
Capítulo 4. Evaluación del conjunto array (HFF-QCM) + Placa de contactos.....	29
4.1 Definición de la propuesta de fijación del array HFF-QCM a la placa de contactos ..	29
4.1.1 PCB soporte. Solución 1	30
4.1.2 PCB soporte. Solución 2	32
4.2 Definición del montaje experimental para la caracterización del conjunto array+PCB	34
4.3 Resultados y discusión	35
4.4 Conclusiones del capítulo.....	41
Capítulo 5. Evaluación del Cartridge completo incorporando la capa de microfluídica	43
5.1 Descripción de los diferentes métodos de fijación de la capa de microfluídica empleados.....	43
5.1.1 Prueba 1. Capa de microfluídica fabricada en la Université Catholique de Louvain (UCL).....	43
5.1.2 Prueba 2. Leveling Layer + Capa de microfluídica.....	45
5.1.3 Prueba 3. Leveling Layer + Channels Layer + PSU Pieces	47
5.2 Definición del montaje experimental para evaluar el buen funcionamiento de la capa de microfluídica	49
5.3 Resultados y discusión	49
5.4 Conclusiones del capítulo.....	51

Capítulo 6.	Planificación.....	52
Capítulo 7.	Conclusiones	53
Capítulo 8.	Futuras Líneas	54
Capítulo 9.	Bibliografía.....	55

Capítulo 1. Marco en el que se desarrolla el Trabajo Fin de Máster

1.1 La empresa Advanced Wave Sensors S.L.

Este Trabajo Fin de Máster ha sido realizado en la empresa AWSensors dentro del desarrollo de dos proyectos en los que participa: LIQBIOPSENS y PQHTS Honey, los cuales serán descritos con más detalle en la sección 1.3. El proyecto LIQBIOPSENS, financiado en un 85% por la Comisión Europea, tiene como objetivo la detección temprana del cáncer colorrectal a través de biopsia líquida. Esta ayuda es proporcionada a través del programa Horizonte 2020 (H2020), un espacio para la financiación de proyectos de investigación e innovación de la Unión Europea que se llevará a cabo desde 2014 hasta el año 2020 y que cuenta con 80.000 millones de euros. El proyecto PQHTS Honey está financiado íntegramente por el Ministerio de Economía y Competitividad dentro del programa i+D+I orientada a los retos de la sociedad, y tiene como objetivo el desarrollo de un demostrador tecnológico basado en matrices de sensores de microbalanza de cuarzo de alta resolución para aplicaciones de High-Throughput Screening (HTS) en la detección de residuos de antibióticos y pesticidas en mieles. La empresa AWSensors participa en dicho proyecto como ente promotor observador, cediendo personal para el equipo de trabajo del proyecto.

AWSensors S.L es una empresa de alta tecnología que desarrolla y comercializa instrumentación de alta precisión basada en sistemas electrónicos de caracterización de sensores acústicos. Se creó a partir de una patente presentada en 2009 por un grupo de investigadores del Departamento de Ingeniería Electrónica de la Universitat Politècnica de València (UPV). AWSensors fue creada con el propósito de satisfacer la necesidad de disponer de técnicas de prevención y diagnóstico rápido en los ámbitos de salud, seguridad y calidad alimentaria. La tecnología de que dispone AWSensors permite alcanzar resoluciones varios órdenes de magnitud superiores a las obtenidas por otras tecnologías ya asentadas. Para ello hace uso de técnicas de análisis en tiempo real y de alta sensibilidad muy demandadas tanto en el sector sanitario como en el alimentario. Algunas aplicaciones en las que es de gran utilidad la tecnología desarrollada por AWSensors son: caracterización de nuevos materiales en aplicaciones del sector de la energía, detección de polución en el medio ambiente y aplicaciones de biotecnología en áreas muy diferentes, como aplicaciones de diagnóstico médico, por ejemplo, para la detección de patógenos como bacterias y virus, o biomarcadores para la detección del cáncer.



Fig. 1 Logos de la empresa y de los organismos financiadores de los proyectos en los que se ha desarrollado el TFM

1.2 Descripción de la tecnología desarrollada por AWSensors

AWSensors desarrolla sensores haciendo uso de materiales piezoeléctricos. También desarrolla celdas de flujo de diseño propio (ver Fig. 2), que sirven de soporte al sensor y permiten conectarlo al sistema de caracterización, al mismo tiempo que hacen posible que pueda ser empleado en aplicaciones que se desarrollan en medio líquido. La información que proporciona el sensor es adquirida por la instrumentación electrónica que también desarrolla AWSensors. A continuación, se incluye un breve resumen de las características de dicha instrumentación, así como los principios de funcionamiento de los sensores desarrollados.

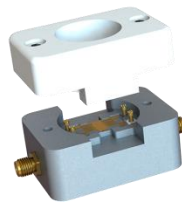


Fig. 2 Celda fabricada por AWSensors que sirve de soporte para los sensores

1.2.1 Fundamentos de los sensores desarrollados por AWSensors

La piezoelectricidad se describe como el fenómeno que define la aparición de cargas negativas y positivas en la superficie de un cristal, el cual presenta esta propiedad cuando se ejerce una presión sobre él. La deformación del material modifica su estructura cristalina generándose dipolos y quedando el material polarizado. Dicha polarización genera un campo eléctrico que produce un flujo de cargas libres cuando se colocan dos electrodos, uno en cada una de las caras del material, unidos por un hilo conductor. Si se deja de ejercer presión, la polarización desaparece y con ello el flujo de cargas. Por tanto, un material piezoeléctrico puede considerarse como un transductor: la energía mecánica que provoca la deformación del cristal se transforma en energía eléctrica. De igual forma, si se aplica una diferencia de potencial sobre el material piezoeléctrico, éste se deformará. Esta deformación será máxima a una determinada frecuencia de excitación de dicho potencial. Esa frecuencia recibe el nombre de frecuencia de resonancia, y es la causa de que a estos materiales se les denomine también resonadores piezoeléctricos.

AWSensors comercializa tres tipos de sensores piezoeléctricos:

- Quartz Crystal Microbalance (QCM)
- High Fundamental Frequency QCM (HFF-QCM)
- Surface Acoustic Wave Love (SAW-Love)

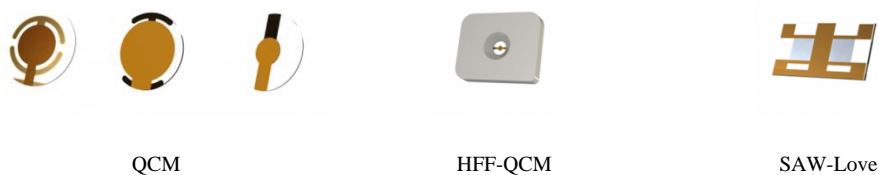


Fig. 3 Detalle de los tres tipos de sensores comercializados por AWSensors

El uso de un sensor u otro queda determinado por la aplicación en la que se vaya a emplear. Cuando la aplicación precisa de una gran resolución de medida es necesario emplear sensores

SW-Love o HFF-QCM. Si, además, otro requisito es la miniaturización del sensor, entonces el más adecuado es el HFF-QCM. La posibilidad de reducir el tamaño del sensor es un requerimiento necesario cuando se tiene como objetivo el desarrollo de arrays de sensores para aplicaciones multianálisis. En este TFM, se trabaja únicamente con cristales de cuarzo de alta frecuencia fundamental, ya que su objetivo principal es el desarrollo de un cartridge que contenga un array de sensores de alta resolución. Por ello, a partir de ahora la memoria se centrará en este tipo de sensores.

El cristal de cuarzo comenzó a usarse como micro balanza (Quartz Crystal Microbalance, QCM) a partir de los trabajos de investigación desarrollados por Sauerbrey, quien demostró experimentalmente que existía una relación proporcional entre el cambio en la frecuencia de resonancia y la cantidad de masa añadida sobre el cristal, siempre que esa masa formase una capa muy fina y uniforme [1]. Bajo estas condiciones, el material queda unido rígidamente al cristal y la deformación que sufre al ser atravesado por una onda acústica se considera nula. De esta manera, es posible afirmar que las propiedades viscoelásticas del material no modifican la frecuencia de resonancia y, por tanto, el resultado es igual a haber aumentado el grosor del cristal de cuarzo. Estudios experimentales posteriores demostraron que el sensor de cristal de cuarzo podía medir masas del orden de picogramos. Las partículas situadas sobre la superficie del sensor soportan aceleraciones proporcionales al cuadrado de la frecuencia de vibración del cristal, siendo ésta la razón de su gran sensibilidad. De esta manera, la aceleración que sufren las partículas de un material depositado sobre un cristal cuya frecuencia de vibración fuese 10MHz es del orden de 10^7g , siendo g la fuerza de la gravedad. Por tanto, una partícula pesa 10^7 veces más sobre una balanza de cristal de cuarzo que sobre una balanza común.

Con el descubrimiento de Sauerbrey los cristales de cuarzo comenzaron a utilizarse para controlar el crecimiento de una película delgada en sistemas de evaporación de metales, o para detectar compuestos contaminantes en el ambiente. Al recubrir el sensor con recubrimientos sensibles a gases concretos, éstos absorberán dichos gases, y por tanto la masa del recubrimiento aumentará modificando la frecuencia de resonancia del sensor.

La ecuación establecida por Sauerbrey presenta dos restricciones importantes que limitan su uso en otras aplicaciones (por ejemplo, en aquellas que se desarrollan mejor sobre medio líquido). Dichas restricciones son las siguientes:

1. La capa depositada debe estar en contacto con un medio gaseoso.
2. La capa depositada debe ser muy fina.

Fue en la década de los 80, cuando la estabilidad de un oscilador controlado por cristal de cuarzo estando en contacto con un medio líquido quedó demostrada. Hasta ese momento prevalecía la creencia de que el sensor dejaría de oscilar al depositar sobre él un medio líquido [2]. A partir de ese momento, se abre la posibilidad de emplear el sensor de cuarzo como biosensor, ya que en este tipo de aplicaciones los agentes biológicos que intervienen en el proceso necesitan un medio líquido para no desnaturalizarse. Al recubrir el cristal con un polímero o al modificar su superficie bioquímicamente (por ejemplo, pegando antígenos o anticuerpos), se obtiene una interfaz biológica útil para ser expuesta a complejos biomoleculares en solución acuosa. De esta manera, un biosensor permite la realización de medidas de biofluidos in situ como son la detección de reacciones inmunológicas o bioelectroquímicas de enzimas redox, así como la detección de pesticidas y antibióticos en alimentos.

La segunda limitación de la ecuación de Sauerbrey limita el grosor de la capa depositada sobre el sensor. Al aumentar el espesor de la misma, debe considerarse la deformación de la capa provocada por la onda acústica al atravesarla. De esta manera, un cambio en las propiedades viscoelásticas del material depositado sobre el sensor provoca cambios en la frecuencia de resonancia y, por tanto, la ecuación de Sauerbrey deja de ser válida [3]. En este sentido, los sensores acústicos también pueden utilizarse para detectar cambios en las propiedades viscosas y elásticas de los materiales depositados sobre su superficie, abriendo el abanico de aplicaciones en las que emplear el sensor. En este tipo de aplicaciones, la medida de la frecuencia de resonancia del cristal no es suficiente para caracterizar al sensor, siendo necesaria la medida de

otros parámetros eléctricos como su resistencia o incluso su impedancia eléctrica a diferentes frecuencias.

Los cristales de cuarzo se obtienen cortando láminas de piezas hexagonales según determinadas direcciones. La dirección del corte determinará el modo de vibración del cristal, así como el coeficiente de temperatura del mismo o los modos de vibración no deseados que pueda presentar. De entre todos los cortes empleados, el más común es el corte AT (los cristales empleados en este TFM son de este corte), ya que proporciona un reducido número de modos de vibración no deseados y presenta un coeficiente de temperatura de frecuencia bajo en comparación con los otros cortes. Para poder aplicarle al cristal una diferencia de potencial que le haga resonar, se depositan sobre ambas caras del cristal dos electrodos. La diferencia de potencial aplicada genera un campo eléctrico en la misma dirección del espesor, provocando una deformación del cristal en forma de cizalla. Si el potencial es alterno, la deformación producida presentará la misma frecuencia de variación que dicho potencial, dando lugar a una onda acústica cuya dirección de propagación es la del espesor del cristal, y que desplaza a las partículas del material en la dirección perpendicular a la del espesor. La frecuencia que maximiza la amplitud de vibración se denomina frecuencia de resonancia. Si en estas condiciones se deposita un material sobre el sensor, la onda acústica procedente del cuarzo penetra en él deformándolo. Cuando las propiedades de dicho material son diferentes a las del cuarzo, la amplitud y la velocidad de la onda acústica varían, modificando la impedancia acústica del mismo. Dicha impedancia acústica está relacionada con la impedancia eléctrica del cristal, por lo que los cambios se verán reflejados en la respuesta de la resonancia eléctrica.

El espesor del resonador fija su frecuencia de resonancia, en este sentido, los sensores QCM tradicionales presentan espesores entre $332,8\mu\text{m}$ y $166,4\mu\text{m}$ para frecuencias de resonancia entre 5 y 10 MHz, respectivamente. Por otro lado, a mayor frecuencia de resonancia mayor sensibilidad presenta el dispositivo. De este modo, el mismo cambio de masa provoca una mayor desviación de frecuencia en un sensor de mayor frecuencia de resonancia. En la mayoría de las aplicaciones en las que se utiliza actualmente este sensor se demandan sensibilidades muy elevadas. Para conseguir esos niveles de sensibilidad, se han desarrollado sensores de alta frecuencia de resonancia fundamental (High Fundamental Frequency) denominados HFF-QCM [7]. Su principio de funcionamiento es el mismo que el de los sensores QCM tradicionales, sin embargo, se fabrican con espesores mucho más finos que resultan en frecuencias de resonancia mucho más elevadas, entre 50 y 150MHz. El hecho de que para conseguir frecuencias de resonancia más elevadas sea necesario disminuir el espesor del sensor, los convierte en dispositivos muy frágiles. Para resolver ese inconveniente se desarrolló la tecnología Inverted MESA (ver Fig. 4a) [11]. En esta tecnología sólo se reduce el espesor de la parte central del sensor, llegando hasta unas $11\mu\text{m}$. Esta zona será por tanto más frágil que el resto del cristal. Alrededor de dicha zona (denominada MESA) se mantiene un espesor más grande que sirve como marco para poder manipularlo. No obstante, incluso aplicando esta solución la fragilidad de los sensores seguía siendo elevada, por lo que la empresa AWSensors diseñó un marco de Poly-Phenylene Sulphide (PPS) con un agujero cónico que deja accesible la zona MESA (ver Fig. 4b). Esta solución permite manipular los sensores sin romperlos.

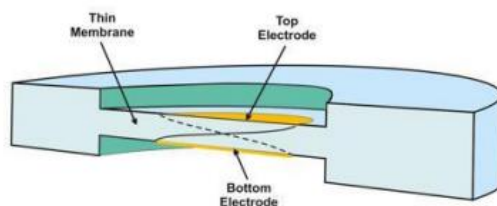


Fig. 4a Tecnología Inverted Mesa

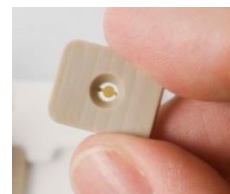


Fig. 4b Sensor HFF-QCM montado sobre el marco de PPS

1.2.2 Plataforma AWS A20RP y AWS F20

AWSensors comercializa dos equipos de instrumentación para trabajar con sensores acústicos. Éstos pueden trabajar conectados entre sí o hacerlo de manera independiente. Estos equipos reciben el nombre de AWS A20 y AWS F20.

- **AWS A20**
Este equipo permite obtener la respuesta eléctrica de diferentes tipos de sensores acústicos. A partir de los parámetros eléctricos obtenidos por el instrumento es posible determinar las propiedades físicas de los materiales depositados sobre el sensor. El instrumento permite caracterizar 4 sensores simultáneamente. Presenta cuatro modos de trabajo diferentes: Sweep, Tracking, High Resolution y High Resolution Multiple Harmonic. El modo de funcionamiento *Sweep* es similar al funcionamiento de un analizador de impedancias. Así pues, para cada frecuencia obtiene la amplitud y la fase de la respuesta eléctrica del resonador. El modo *Tracking* proporciona la frecuencia en la que el sensor presenta su valor máximo de conductancia, así como el valor de ésta. Es el modo de funcionamiento recomendado cuando se producen grandes variaciones en la conductancia y en la frecuencia de su máximo. Su principal limitación reside en que su velocidad es lenta, por lo que no puede ser empleado en aplicaciones en las que los procesos bioquímicos que se pretende detectar suceden a gran velocidad. El modo *High Resolution* es el empleado cuando los fenómenos físicos que se producen sobre la superficie del sensor provocan un desplazamiento de su espectro sin alterar de forma significativa su forma. Este modo de funcionamiento es mucho más veloz que el anterior, lo que lo hace adecuado para monitorizar procesos bioquímicos que suceden a gran velocidad. Por último, el modo *High Resolution Multiple Harmonic* proporciona la respuesta del sensor en sus múltiples armónicos siguiendo el funcionamiento del modo High Resolution.
- **AWS F20**
La plataforma AWS F20 permite controlar el flujo de fluidos sobre el sensor. Presenta 4 canales lo que permite realizar 4 experimentos con fluidos de forma simultánea. Un canal de fluídica está formado por una jeringa, una bomba solenoidal para cargar la muestra, una válvula de distribución para conseguir un flujo continuo y una válvula de inyección.



Fig.5a Plataforma AWS A20



Fig.5b Plataforma AWS F20

Las plataformas descritas anteriormente permiten la caracterización simultánea de hasta 4 sensores, sin embargo, su capacidad multianálisis sigue estando muy limitada si se compara con otras técnicas de análisis que permiten caracterizar simultáneamente hasta 98 muestras. Así pues, uno de los grandes retos a los que se enfrenta esta tecnología es su limitación en la capacidad multianálisis. La solución más factible se basa en utilizar sistemas de sensores en array. Este Trabajo Fin de Máster realiza una aportación que contribuye a abordar dicho reto.

1.3 Proyectos en los que está enmarcado el Trabajo: LipBiopSens y PQHTS Honey

El proyecto **LiqBiopSens** se enmarca dentro del programa Horizon 2020 de la Comisión Europea para la financiación de proyectos de investigación e innovación. Este proyecto con presupuesto de 2,7 millones de euros y de tres años de duración (2016–2018), tiene como principal propósito el desarrollo y la validación de un instrumento de diagnóstico para llevar a cabo una detección temprana y rápida de ADN tumoral circulante¹ (ctDNA) y sus mutaciones asociadas al cáncer colorrectal² (KRAS y BRAF) mediante muestras de sangre.

Los principales retos de LiqBiopSens son: (1) elevar la fiabilidad del diagnóstico, (2) mejorar el límite de detección del ADN tumoral circulante en el rango de los zeptomeros (10^{-21}), (3) reducir al mínimo el tiempo de análisis y, por último, (4) reducir el coste de la prueba médica.

La consecución de los retos anteriormente mencionados implica el trabajo conjunto y coordinado de diferentes disciplinas científicas como son la microelectrónica, la microfluídica, los nanomateriales y la genómica. Se trata por tanto de un proyecto multidisciplinar en el que participan las siguientes instituciones: Destina Genomics LTD, Foundation for research and technology Hellas (FORTH), el servicio andaluz de salud, Sistemas Genómicos S.L. y la Université Catholique de Louvain. A la cabeza del proyecto y como coordinador del mismo se sitúa AWSensors.

El objetivo final es obtener un equipo de diagnóstico al que se introduzca un “cartridge” sobre el que irá la muestra a analizar. El cartridge estará formado por una base de 24 sensores HFF-QCM dispuestos en formato de array, y debidamente funcionalizados para que cuando se le inyecten las muestras de ADN a través de una serie de canales de microfluídica, se pueda discriminar si se trata de muestras de un paciente sano o no. El disponer de hasta 24 sensores para analizar la muestra, permite realizar análisis de diferentes tipos de mutaciones sobre la misma muestra.

Las tareas a desarrollar por parte de AWSensors son: (1) el desarrollo del instrumento de diagnóstico y (2) el desarrollo del Cartridge basado en un array de sensores HFF-QCM. El trabajo realizado en este TFM realiza una aportación a la tarea (2) de este proyecto.

El objetivo principal del proyecto **PQHTS Honey** es el diseño, implementación y evaluación experimental de un demostrador tecnológico basado en matrices de sensores de microbalanza de cuarzo de alta resolución para aplicaciones de High-Throughput Screening (HTS) en la detección de residuos de antibióticos y pesticidas en mieles. El control de la presencia de residuos químicos es esencial en la comercialización de miel para garantizar la seguridad del consumidor. En la actualidad, esta tarea no está completamente resuelta. Si bien existen equipos basados en técnicas analíticas que alcanzan los límites de detección (LODs) requeridos, tal es el caso de las técnicas basadas en cromatografía de líquidos (HPLC), tienen algunos inconvenientes que los hacen poco indicados para su implantación in-situ en una industria de envasado de mieles. Se trata de técnicas en general costosas, que requieren un tiempo considerable y de personal altamente cualificado. Hay otras opciones en el mercado basadas en técnicas que, aunque son más rápidas y no precisan de personal tan cualificado, no alcanzan los LODs requeridos. Existe, por tanto, la necesidad de proponer técnicas de medida alternativas

¹ Las células tumorales que van muriendo pueden liberar pequeñas partes de su ADN a la sangre. Este ADN que circula por todo el torrente sanguíneo contiene los marcadores genéticos del tumor. El análisis de este ADN tumoral circulante es también conocido como biopsia líquida la cual es menos invasiva que las biopsias tradicionales.

² El cáncer colorrectal es la segunda causa más común de muerte debido al cáncer.

y/o complementarias que sean rápidas, sencillas de manejar, de bajo coste y que alcancen los LODs requeridos. El requerimiento de LOD se consigue empleando sensores HFF-QCM basados en el reconocimiento antígeno-anticuerpo. Sin embargo, uno de los retos pendientes que quedan por resolver de esta tecnología, es su capacidad para detectar simultáneamente un gran número de compuestos. Esto permitiría analizar diferentes tipos de pesticidas o antibióticos en la misma muestra de miel. La capacidad multianálisis es uno de los principales retos pendientes de la tecnología HFF-QCM. Para ello, es fundamental desarrollar “cartridges” basados en sistemas de sensores dispuestos en arrays con canales de microfluídica que permitan hacer pasar, bien la misma muestra, o bien diferentes muestras por el array de sensores. Al igual que ocurría en el proyecto anterior, este TFM realiza una aportación al desarrollo del “cartridge”.

Para una mejor comprensión de los objetivos del trabajo y de la metodología propuesta para llevarlos a cabo, se ha considerado necesario incluir en este epígrafe una breve descripción del cartridge.

En la Fig. 6 se muestra un esquema de la estructura del cartridge. Se trata de una estructura tipo “sándwich” de 3 capas en la que el array de sensores de cuarzo queda ubicado entre una capa de contactos y una capa de microfluídica. El array de sensores es una oblea de cuarzo en la que se han fabricado 24 sensores HFF-QCM en tecnología invertida MESA [6]. Esta topología permitiría realizar hasta 24 experimentos simultáneamente, abordando directamente el reto de la capacidad multianálisis de esta tecnología. Para conectar dichos sensores al equipo de caracterización encargado de registrar la respuesta eléctrica de cada uno de ellos, es necesario montar dicho array sobre una Printed Circuit Board (PCB), sobre la que se trazarán las pistas de oro necesarias para llevar a cabo dicha conexión. La PCB de contactos tiene una segunda función, y es servir de soporte al array para poder manipularlo, ya que debido a su fragilidad es inviable hacerlo directamente. De este modo, la cara inferior del array quedará montada sobre la PCB, y será en la cara superior del array en la que se depositen las muestras a analizar (cara activa). Las muestras a analizar son líquidas, por lo que es necesario una capa adicional que tendrá doble finalidad: 1) confinar sobre cada columna de sensores la muestra líquida sobre la que se va a hacer el análisis, y 2) trazar los canales que permitan conducir la muestra hasta la superficie activa del sensor y posteriormente extraerla.



Fig. 6 Estructura de las tres capas que constituyen el Cartridge

De las tres capas que forman el cartridge, la única cuyo prototipo ya estaba definido en el momento en el que se inicia este TFM es la capa del array de sensores. El array consta de 24 sensores dispuestos en 4 filas y 6 columnas tal y como se muestra en la Fig. 7. El espesor de la zona MESA de cada sensor del array es tal que sitúa la frecuencia de resonancia teórica de este alrededor de los 150MHz. La fabricación de este prototipo, siguiendo las especificaciones establecidas por la empresa AWSensors, se encargó a la empresa Connor-Winfield (CONWIN), una empresa estadounidense que actualmente centra su actividad en el diseño y fabricación de osciladores de cristal de cuarzo.

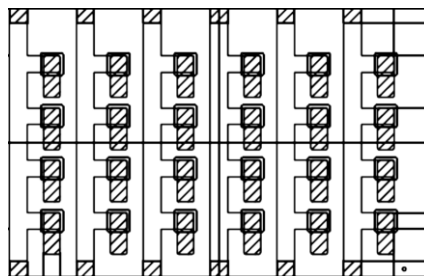


Fig. 7 Esquemático del array de sensores. No se muestran dimensiones por razones de confidencialidad.

Capítulo 2. Objetivos, metodología y estructura del trabajo

El objetivo principal de este Trabajo Fin de Máster es el desarrollo y evaluación del cartridge en el que se depositarán las muestras a analizar en los dos proyectos a los que contribuye este trabajo. En base a la descripción realizada sobre el cartridge en el apartado anterior se fijan los siguientes objetivos:

Objetivo 1: Evaluación de los prototipos de arrays HFF-QCM fabricados por la empresa CONWIN. Debe evaluarse tanto la respuesta eléctrica de cada sensor individual del array, como el efecto que tiene la excitación de un sensor sobre otro que no está excitado (crosstalk) [9].

Objetivo 2: Diseño de la placa de contactos y evaluación del prototipo formado por el conjunto array HFF-QCM + placa de contactos. Se considerará que el objetivo se ha cumplido cuando se compruebe (1) que la conexión del array al equipo de caracterización es correcta, y (2) que la respuesta del conjunto (array + placa de contactos) difiere lo menos posible de la registrada sobre el array sin unir a la placa de contactos.

Objetivo 3: Diseño de la capa de microfluídica y evaluación del prototipo formado por el array HFF-QCM + placa de contactos + capa de microfluídica (cartridge completo). Se considerará que el objetivo se ha cumplido cuando se compruebe (1) que los canales que define la capa son estancos, y (2) que la respuesta del conjunto (array + placa de contactos + capa de microfluídica) difiere lo menos posible de la registrada sobre el array sin unir a nada.

El principal requisito que se persigue en el diseño del cartridge es que la capa de contactos y la capa de microfluídica afecten lo menos posible a la respuesta de la impedancia eléctrica del array de resonadores. Para llevar a cabo la evaluación de las diferentes fases que comprende la fabricación del cartridge, se estableció un protocolo que permitiese conocer la respuesta de los sensores en cada una de las etapas del ensamblado de las 3 capas que forman el cartridge. El protocolo consiste en evaluar la respuesta de los sensores antes y después del ensamblado de cada una de las capas que constituyen el cartridge, y así establecer cómo afecta cada una de ellas. Esto posibilita modificar alguno de los procedimientos en busca de un mejor comportamiento de los sensores antes de continuar con la siguiente etapa del proceso. En base a este protocolo se estableció la metodología que se describe a continuación para lograr los objetivos planteados.

Objetivo 1 (Evaluación de los prototipos de arrays HFF-QCM fabricados por CONWIN). Las tareas, así como los resultados obtenidos y su discusión se incluyen en el **capítulo 3** de este TFM:

- Tarea 1.1: Definición de las medidas necesarias para realizar la caracterización y evaluación completa de los prototipos de arrays HFF-QCM fabricados por CONWIN. Las medidas definidas se utilizarán también para evaluar la respuesta de los sensores

cuando se vayan añadiendo al array el resto de capas del cartridge (array+PCB y array+PCB+microfluídica).

- Tarea 1.2: Definición y realización del montaje experimental que permita llevar a cabo la caracterización del array HFF-QCM.
- Tarea 1.3: Caracterización y evaluación de la bondad del array HFF-QCM fabricado por CONWIN.
- Tarea 1.4: Elaboración de una propuesta de mejora de las especificaciones del array, si fuera el caso, en función de los resultados obtenidos con la consecución de la tarea 1.3.

Una vez evaluado el array se procederá a fijarlo a la capa de PCB de contactos.

Tareas a desarrollar para lograr el **Objetivo 2** (Diseño de la placa de contactos y evaluación del prototipo formado por el conjunto array HFF-QCM + placa de contactos). El **capítulo 4** incluye las tareas realizadas y sus resultados, así como la discusión de los mismos:

- Tarea 2.1: Definición de diferentes propuestas de fijación del array HFF-QCM a la placa de contactos.
- Tarea 2.2: Evaluación de posibles materiales para llevar a cabo la fijación
- Tarea 2.3: Definición y realización del montaje experimental para fijar el array a la PCB y para su posterior caracterización.
- Tarea 2.4: Caracterización del bloque array HFF-QCM+placa de contactos. Evaluación del efecto que introduce la fijación a la placa de contactos.

Finalmente es necesario añadir al cartridge una capa que permita trazar los canales de fluídica por los diferentes sensores.

Tareas a llevar a cabo para la consecución del **Objetivo 3** (Diseño de la capa de microfluídica y evaluación del prototipo formado por el array HFF-QCM + placa de contactos + capa de microfluídica (cartridge completo)). Las tareas realizadas, así como los resultados obtenidos y su discusión se incluyen en el **capítulo 5** de este TFM:

- Tarea 3.1: Proponer diferentes métodos de fijación de la capa de microfluídica al conjunto array + placa de contactos.
- Tarea 3.2: Definición del montaje experimental que permita evaluar el buen funcionamiento de la capa microfluídica.
- Tarea 3.3: Caracterización del cartridge completo y evaluación del efecto que introduce sobre la respuesta de los resonadores la adhesión de la capa de microfluídica.
- Tarea 3.4: Evaluación de la estanqueidad del cartridge.

Capítulo 3. Evaluación de los arrays HFF-QCM

La caracterización de un array permite conocer el espectro de frecuencias de impedancia eléctrica de cada uno de los 24 sensores que lo componen, así como la influencia que la excitación de un sensor tiene sobre otro que no está siendo excitado. Con el fin de dotar a esta caracterización de un carácter estadístico, el estudio debe realizarse sobre un número significativo de arrays.

El array que se emplea en el desarrollo del cartridge está constituido por 24 sensores HFF-QCM, los cuales hacen uso de la tecnología inverted MESA y cuya frecuencia de resonancia es de 150MHz. Conocer cómo se comportan estos sensores individualmente, sin estar dispuestos junto a otros en forma de array, es importante, ya que permite disponer de una referencia de la respuesta eléctrica esperable de ellos. A continuación, se presenta el estudio comparativo teórico-experimental que se llevó a cabo para sensores HFF-QCM individuales de 150MHz como los que se integran en el array a caracterizar.

3.1 Caracterización y evaluación de sensores HFF-QCM de 150MHz inverted MESA individuales

El estudio de los modos de vibración de un sensor permite determinar su frecuencia fundamental de vibración, así como los modos inarmónicos de vibración que aparecen. Se define como frecuencia de vibración fundamental de un resonador piezoeléctrico, aquella en la que la amplitud de vibración que el resonador experimenta es máxima. A dicha frecuencia, la parte real del espectro de admitancia del resonador, la conductancia (G), alcanza su máximo valor. La respuesta del resonador también presenta otros modos de vibración de menor amplitud en múltiplos de la frecuencia fundamental (modos armónicos), y otras frecuencias no múltiplos de la frecuencia fundamental de resonancia (modos inarmónicos). Los modos de vibración inarmónicos no serán relevantes a menos que se encuentren próximos a la resonancia fundamental del sensor o presenten valores de conductancia elevados de manera que puedan afectar a la resonancia fundamental.

Como ya se comentó en el epígrafe 1.2.1, la frecuencia de resonancia fundamental del sensor viene fijada por su espesor, de manera que, a menor espesor, más elevada será la frecuencia de resonancia. Por otra parte, la relación entre las dimensiones físicas del espesor y del diámetro de los electrodos, así como el alineamiento entre ellos, es lo que determina la aparición de modos inarmónicos de vibración a diferentes frecuencias y con diferentes amplitudes. Por motivos de confidencialidad, no se proporcionarán los valores de las dimensiones anteriormente mencionadas.

Antes de proceder a la fabricación de los prototipos de sensores individuales, se realizaron una serie de simulaciones empleando el software ANSYS. Estas simulaciones permitieron fijar las especificaciones de las dimensiones del espesor y del tamaño del electrodo [5]. ANSYS es un software basado en la teoría de elementos finitos que permite estimar, según las dimensiones establecidas para el sensor, así como las propiedades de los materiales de que estará hecho el mismo, los modos de vibración teóricos que presentará el resonador [15]. Una vez fijadas las dimensiones del resonador y de sus electrodos, se puede proceder a la fabricación de los prototipos, los cuales fueron encargados a la empresa estadounidense CONWIN. Los prototipos fabricados fueron caracterizados mediante un analizador de redes, y los resultados experimentales se compararon con las simulaciones teóricas llevadas a cabo con ANSYS.

Al inicio del TFM que aquí se presenta, ya se disponía tanto de las simulaciones ANSYS de los sensores, como de algunos prototipos fabricados por CONWIN. Como parte del trabajo de este TFM se realizaron las medidas experimentales de los prototipos disponibles. A partir de ellas se realizó el análisis comparativo que se presenta a continuación. A pesar de no haber sido objeto de este TFM la realización de las simulaciones mediante ANSYS, se explicará en que se basan las mismas y se mostrarán los resultados obtenidos, para así poder compararlos con los valores experimentales adquiridos tras haber caracterizado los resonadores.

3.1.1 Simulaciones teóricas mediante ANSYS

Las simulaciones realizadas fueron de dos tipos, a continuación, se explica en qué consiste cada una y qué tipo de resultados proporciona:

A. Simulación Modal

Este tipo de simulación proporciona información sobre el comportamiento mecánico del sensor en función de su estructura. Este estudio facilita datos sobre la frecuencia de resonancia fundamental del cristal y sus otros modos de vibración en un contexto de “vibración libre” del resonador. El contexto de vibración libre se produce excitando mecánicamente el resonador durante un periodo de tiempo limitado, para posteriormente eliminar dicha excitación mecánica. Para mantener este estado de vibración “libre” no se tienen en cuenta las pérdidas del material piezoeléctrico (dumping), ya que de otro modo la vibración del resonador se extinguiría transcurrido un intervalo de tiempo. Por lo tanto, esta simulación presenta dos objetivos, por una parte, establecer la frecuencia fundamental de vibración del sensor, la cual nos servirá como referencia para lanzar la simulación eléctrica y por otra, conocer los modos de vibración que mecánicamente existen en el sensor.

B. Simulación Eléctrica

En este tipo de simulación, se muestra el comportamiento esperable del sensor diseñado cuando se excita su vibración mediante la aplicación de una tensión de 500mV entre sus electrodos. En esta simulación se consideran las pérdidas del material piezoeléctrico, en este caso la vibración no se extingue porque se mantiene la excitación eléctrica durante toda la simulación.

A través de ambas simulaciones se conocerá la frecuencia de resonancia fundamental y la frecuencia a la que se sitúan los diferentes modos inarmónicos de vibración. Puesto que las simulaciones realizadas son diferentes, los valores obtenidos no son los mismos y, por tanto, no es conveniente trabajar con los valores absolutos. Para disponer de un resultado relativo y poder comparar ambas simulaciones se decide calcular la frecuencia a la que se producen los modos inarmónicos de vibración respecto a la frecuencia fundamental de manera porcentual, tal y como refleja la ecuación (1).

$$\%f_{fund} = \frac{f_{modo\ inarmónico}}{f_{fund}} \times 100 \quad (1)$$

Los resultados obtenidos a partir de la simulación modal se muestran en la Tabla 1. Como se puede observar, 7 son los modos inarmónicos de vibración medidos con la simulación realizada incluyendo el modo fundamental de vibración. Para cada uno de ellos se muestra la frecuencia a la que se producen (segunda columna) y el valor porcentual (tercera columna) calculado con la ecuación (1).

Modos de vibración	f [MHz]	$\%f_{fund}$
Fundamental (Modo 1)	151.529	-----
Modo 2 (inarmónico)	151.744	100.142
Modo 3 (inarmónico)	151.785	100.169
Modo 4 (inarmónico)	151.969	100.290
Modo 5 (inarmónico)	152.080	100.363
Modo 6 (inarmónico)	152.150	100.409
Modo 7 (inarmónico)	152.283	100.497

Tabla 1 Frecuencias de los modos de vibración obtenidos a partir de la simulación modal del sensor individual

La respuesta obtenida tras la simulación eléctrica se muestra en la Fig. 8. En ella se observa el espectro de la conductancia del sensor, cuyo valor queda representado en el eje de las ordenadas, a lo largo del espectro de frecuencias (eje de abscisas). En esta gráfica se aprecia el modo fundamental de vibración y dos modos inarmónicos. En la Tabla 2 se muestran las frecuencias a la que se producen los modos de vibración (segunda columna), así como el valor porcentual calculado mediante la ecuación (1) (tercera columna).

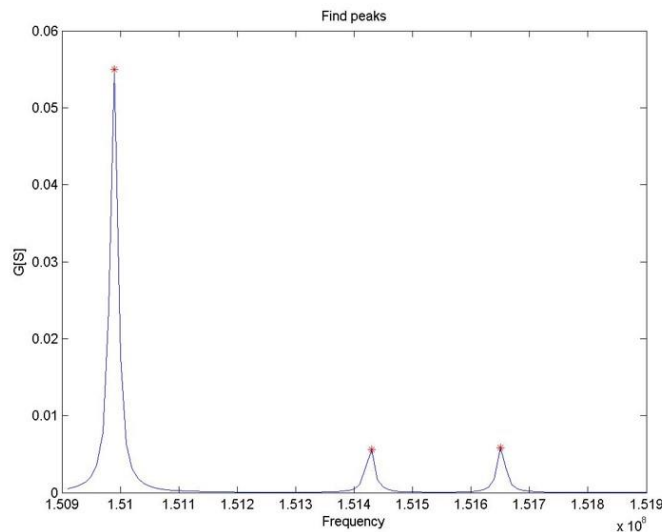


Fig. 8 Espectro obtenido con ANSYS a partir de la simulación eléctrica de la resonancia de un sensor

La simulación modal permite conocer 6 modos inarmónicos de vibración que mecánicamente existen en el sensor en el margen de frecuencias analizado, sin embargo, en la eléctrica solo 2 de esos modos se reflejan en el espectro de la conductancia. Esto se debe a que el resto de modos inarmónicos presentan varios nodos de vibración de igual amplitud, pero en contrafase por lo que se anulan y no son detectables. El parámetro $\%f_{fund}$ permite establecer la correspondencia entre los dos modos de vibración observados en la simulación eléctrica y los obtenidos en la simulación modal. De este modo se puede concluir que el inarmónico 1 observado en la simulación eléctrica corresponde al modo de vibración 4 obtenido en la simulación modal, mientras que el inarmónico 2 observado en la simulación eléctrica corresponde al modo de vibración 6 obtenido en la simulación modal.

Modos de vibración	f [MHz]	$\% f_{fund}$
Fundamental	150.99	-----
Inarmónico 1	151.43	100.291
Inarmónico 2	151.65	100.437

Tabla 2 Frecuencias de los modos de vibración obtenidos a partir de la simulación eléctrica del sensor individual

Los resultados obtenidos de las simulaciones confirmaron que las dimensiones fijadas para el espesor del sensor y la relación entre el espesor y el diámetro del electrodo son adecuadas, ya que los modos inarmónicos se encuentran suficiente alejados del modo de vibración fundamental. En consecuencia, los valores geométricos establecidos en las simulaciones se utilizaron como especificaciones de los prototipos que se ordenó fabricar a CONWIN.

3.1.2 Caracterización experimental de los prototipos fabricados por CONWIN

Los resultados teóricos proporcionados por ANSYS se compararon con los obtenidos a partir de la caracterización experimental de los prototipos fabricados. Para ello se emplearon 9 sensores HFF-QCM inverted MESA de 150MHz de frecuencia fundamental de vibración fabricados por CONWIN. Es importante destacar de nuevo en este punto que, una vez comprobado el buen funcionamiento de los prototipos individuales fabricados, se emplearán las mismas dimensiones en los sensores que componen el array. Puesto que los sensores del array irán montados sobre una PCB, se consideró necesario fijar los sensores individuales sobre una PCB, con el fin de reproducir de este modo unas condiciones de trabajo de los sensores similares a las que tendrá cuando forme parte del array. Para su caracterización se empleará un analizador de redes de SDR-Kits (<http://sdr-kits.net/>), en concreto el modelo DG8SAQ VNWA 3E (ver Fig. 9). Este analizador permite realizar un barrido en frecuencias desde 1kHz hasta los 1.3GHz y se conecta mediante USB a cualquier ordenador. Presenta dos puertos de conexión, lo que permite realizar medidas tanto en reflexión como en transmisión.



Fig. 9 Analizar de redes DG8SAQ VNWA 3E

La caracterización de la respuesta eléctrica de cada resonador se realizará registrando el espectro de frecuencias de su admitancia eléctrica $Y = G + jB$, siendo G su conductancia y B su susceptancia, ambas magnitudes medidas en *siemens* [S]. La frecuencia de vibración fundamental corresponde a la frecuencia en la que la conductancia del sensor es máxima, por ello, para realizar el estudio de los modos de vibración se registra la conductancia. La medida de este parámetro se corresponde con una medida en reflexión, por lo se conectará el sensor al analizador de redes únicamente a través del puerto TX out utilizando un cable coaxial, de manera que se transmite una excitación por el mismo puerto que captará la reflexión de la señal.

Tras la medida del espectro resonante del sensor mediante el analizador de redes, se desarrolló un script de Matlab que permitía detectar los picos de mayor magnitud en el espectro de la conductancia del sensor. En primer lugar, se localiza el máximo valor de conductancia, la frecuencia a la que se produce dicho máximo corresponde a la frecuencia de resonancia fundamental del sensor. A continuación, se localizan todos aquellos puntos de un margen del espectro cuyo valor de conductancia sea al menos un 24.5% del valor de la conductancia máxima. Este valor es establecido con la intención de localizar todos los inarmónicos presentes en un margen del espectro cercano al modo de vibración fundamental y que son relevantes, evitando en la medida de lo posible la detección de falsos picos. En la Fig. 0 se muestran dos ejemplos de detección de inarmónicos para dos sensores diferentes. En ella se muestra el espectro de la conductancia en un determinado rango de frecuencias en torno a la frecuencia teórica fundamental del sensor, en este caso desde 145MHz a 155MHz. Se observa la detección de varios picos en el espectro. El primero de ellos se trata del modo de vibración fundamental, el resto corresponden a modos inarmónicos de vibración.

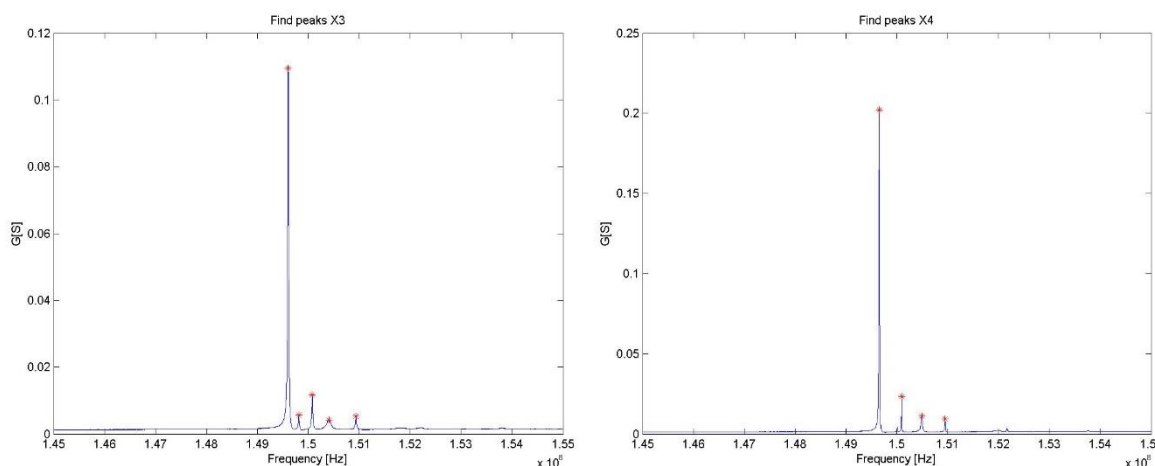


Fig. 10 Detección de picos en el espectro de la conductancia para dos sensores individuales

Sobre los 9 sensores enviados por CONWIN como prototipos se aplicó el mismo procedimiento de detección explicado anteriormente, obteniéndose los resultados que se muestran en la Tabla

3. En la segunda columna de la Tabla 3, se proporciona la frecuencia del modo fundamental de cada sensor, en la tercera y quinta columnas se muestra la frecuencia de dos de los modos inarmónicos de vibración del sensor detectados. Por último, en la cuarta y sexta columna se muestra el parámetro $\%f_{fund}$ calculado según la ecuación (1).

Sensor	f_{fund} [MHz]	$f_{inarm.1}$ [MHz]	$\%f_{fund.1}$	$f_{inarm.2}$ [MHz]	$\%f_{fund.2}$
Sensor 1	149.529	149.981	100.303	150.317	100.527
Sensor 2	149.798	150.268	100.314	150.539	100.495
Sensor 3	149.606	150.079	100.316	150.406	100.535
Sensor 4	149.654	150.097	100.296	150.492	100.560
Sensor 5	149.820	150.303	100.322	150.633	100.543
Sensor 6	149.753	150.252	100.333	150.498	100.497
Sensor 7	150.393	150.857	100.308	151.239	100.562
Sensor 8	149.855	150.313	100.306	150.646	100.528
Sensor 9	149.898	150.383	100.323	150.727	100.553

Tabla 3 Resultados experimentales de la medida de los prototipos de sensores individuales HFF-QCM de 150 MHz

La caracterización de los sensores individuales permitió observar que ciertos modos inarmónicos de vibración que aparecen en el espectro real de la conductancia medida no aparecen en la simulación eléctrica llevada a cabo (no se han representado los valores de estos modos en la Tabla 3 por simplificación). Mecánicamente, estos modos están formados por varios nodos de vibración sobre la superficie del sensor que presentan igual amplitud de vibración, pero se encuentran en contrafase. Esto significa que se anulan, motivo por el cual no son visibles en el espectro de la conductancia de la simulación eléctrica, pero si observados en la simulación modal. Uno de los motivos por los que experimentalmente son visibles, podría deberse a que la alineación de los electrodos del sensor no es perfecta, impidiendo que se anulen entre sí los nodos de vibración. Los dos modos inarmónicos que se presentan en la Tabla 3 se producen a una distancia de la frecuencia fundamental de vibración del sensor igual a la obtenida en la simulación eléctrica del sensor y se corresponden, como ya se ha mencionado, con los modos 4 y 6 (véase la Tabla 1) obtenidos en la simulación modal llevada a cabo.

Con lo que respecta a los valores de conductancia medidos experimentalmente en los sensores individuales, se observa que, aunque en 2 de los 9 casos la respuesta no es óptima, el valor de la conductancia máxima se sitúa en torno a los 120mS. Este valor es más elevado de lo esperado si se compara con los 55mS obtenidos mediante la simulación eléctrica. En cuanto al factor de calidad, los valores obtenidos tanto en la simulación eléctrica como en la caracterización experimental de los sensores individuales son similares, tomando en el primer caso un valor de 15099 y en el segundo, un valor medio de 11391.

Tras este análisis comparativo se puede concluir que los resultados obtenidos a partir de la caracterización de los sensores diseñados, los cuales constituirán el array, se corresponden con

los datos de las simulaciones teóricas llevadas a cabo y, por tanto, que su comportamiento es el esperado.

Así pues, la siguiente tarea a realizar es la caracterización de los sensores cuando forman parte del array, analizando los efectos que tiene sobre la respuesta del sensor el hecho de tener 8 sensores vecinos (en el peor de los casos). En el siguiente apartado, se definen las medidas a realizar sobre el array para establecer la bondad del mismo.

3.2 Definición de las medidas de caracterización del array HFF-QCM

En el apartado que aquí se presenta, se detalla la realización de la tarea 1.1 planteada para lograr el objetivo 1 del Trabajo Fin de Máster. Esta tarea consiste en la definición de las medidas necesarias que permitan evaluar la bondad de un array HFF-QCM. A continuación, se definirán estas medidas, las cuales pueden ser agrupadas en dos grandes grupos: 1) caracterización de la respuesta de cada sensor individual del array cuando es excitado, y 2) efecto que tiene la excitación de un sensor del array sobre otros vecinos que no están siendo excitados (crosstalk) [14].

El estudio realizado en el epígrafe anterior ha permitido fijar qué medidas es necesario realizar sobre cada sensor individual del array para determinar la bondad del mismo.

1. Caracterización de los inarmónicos presentes en la respuesta del resonador, a través de su localización en frecuencia y de su amplitud.
2. Caracterización de la resonancia del modo fundamental, a través de su valor de conductancia en el máximo.
3. Caracterización del factor de calidad de la resonancia, a través del ancho de banda de la conductancia.

Cuando se excita un sensor a su frecuencia de resonancia, la mayor parte de la amplitud de vibración de las partículas se concentra en el área del electrodo por efecto de la masa de éste (energy trapping). La amplitud de vibración de las partículas del resonador presenta una distribución con un máximo localizado en el centro del electrodo, el cual va decayendo de forma exponencial a medida que la distancia al centro del electrodo aumenta. En este caso, los sensores utilizados presentan una estructura inverted MESA lo cual hace que la cantidad de energía atrapada bajo el área del electrodo sea mayor que en cualquier otra configuración diferente a la MESA. Esto permite reducir el tamaño del electrodo, y con ello el de todo el resonador, cuando se compara con las dimensiones de otras estructuras tradicionales [4]. Sin embargo, no toda la energía que provoca la vibración del resonador se concentra en el electrodo, sino que una fracción de dicha energía se transmite por toda la superficie del sensor, cuando se trata de sensores individuales, o de la oblea cuando se trata de estructuras en array. Por consiguiente, el hecho de excitar un sensor hace que los otros 23 sensores reciban en mayor o menor medida parte de la energía acústica procedente del sensor excitado. Es razonable afirmar que los sensores más afectados serán aquellos que estén más próximos al excitado, es decir, sus vecinos. Este fenómeno de interferencia es conocido como crosstalk, y para cuantificarlo se registra el parámetro de scattering de transmisión s_{21} . Este parámetro permite conocer el nivel de energía que recibe un sensor del array cuando el que está siendo excitado es otro distinto, lo cual puede influir en la respuesta de cada sensor individual.

3.3 Definición del montaje experimental para la caracterización del array HFF-QCM

En el apartado que aquí se presenta, se detalla la realización de la tarea 1.2 planteada para lograr el objetivo 1 del Trabajo Fin de Máster.

Para llevar a cabo las medidas descritas en el apartado anterior se diseñó un set-up de medida que permitiese obtener el valor de la admitancia eléctrica de cada sensor. La adquisición de este parámetro se realizó con el mismo analizador de redes *DG8SAQ VNA 3E* de *SDR-Kits* mencionado en el apartado 3.1, y haciendo uso del robot de dispensación *I&J4300/4400-LF* de *I&J FISNAR*. El uso del robot permite realizar con gran precisión el posicionamiento del contacto con el que se establece la conexión entre el array y el analizador, puesto que permite el movimiento de una base móvil, sobre la que estará depositado el array, con una resolución de 0.001mm en un espacio delimitado de dimensiones 300x300x100mm. Además, permite establecer una rutina de movimientos con una repetitividad de 0.02mm. El uso del robot es necesario puesto que las dimensiones de la zona de contacto del sensor son muy reducidas y su fragilidad muy elevada.

La geometría de los sensores HFF-QCM que forman parte del array se muestra en la Fig. 11 (no se han incluido dimensiones por razones de confidencialidad). Consta de una zona inverted MESA cuadrada en la que los electrodos, uno por cada cara del cristal, se superponen de forma perpendicular. El área de la zona inverted MESA es ligeramente mayor a la cubierta por los electrodos. El electrodo de la cara inferior del sensor presenta una forma rectangular y está representado por la zona rayada en la Fig. 11. El electrodo de la cara superior también tiene forma rectangular y se une a la línea que conecta todos los sensores de una misma columna (zonas no rayadas en la Fig. 11).

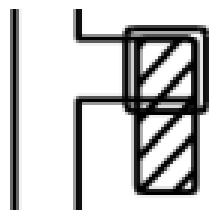


Fig. 11 Esquema de un sensor del array

Para caracterizar el array con del analizador de redes, se utiliza un cable coaxial con un conector SMA en el extremo que se conecta al analizador a través del puerto TX out. El otro extremo del cable está manipulado para conectar la malla del coaxial al plano de masa del array (plano al que van conectados los electrodos de la cara superior), y el vivo del cable coaxial a un *spring contact*³ que hará la conexión al electrodo inferior de cada sensor del array.

Sobre la base móvil del robot de dispensación, se colocó una placa sobre la que se adhirió una pequeña lámina de oro que realiza la función de plano de masa. Al depositar el array sobre dicho plano todos los electrodos superiores del array quedan conectados a dicho plano de masa, el cual a su vez está conectado a la malla del cable coaxial. A la punta de dispensación del robot se le adaptó el vivo del cable coaxial unido al *spring contact*. El otro extremo del cable coaxial va conectado a la entrada de transmisión del analizador de redes. En la Fig. 12 se muestra un esquema del set-up descrito, donde la capa amarilla representa la lámina de oro que realiza la

³ Se trata de un contacto que presenta un muelle que cede al ejercer presión, por lo que la longitud del contacto es adaptable.

función de plano de masa, sobre esta capa se deposita el array que se representa por la capa azul. Por último, el analizador de redes se ha representado mediante la caja VNA (Vector Network Analyzer), al cual se conecta tanto el plano de masa, como el spring contact. En la Fig. 13 se muestra una imagen del montaje real.

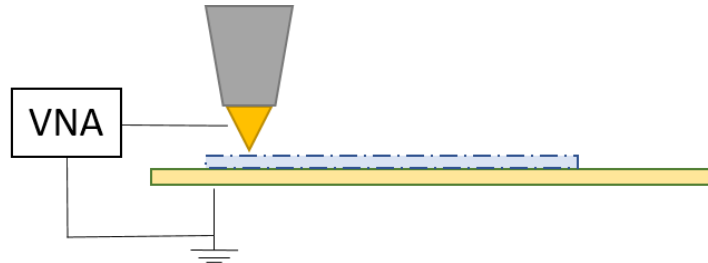


Fig. 12 Esquemático del set-up de medida del array

Es importante destacar que la cara del array que se deposita sobre el plano de masa (lámina de oro) es la misma que más tarde estará en contacto con la muestra, y que, por tanto, el contacto eléctrico a través del *spring contact* se realiza en la cara inferior del array, siendo esta última la que se adherirá a la PCB de contactos en la etapa de diseño posterior del cartridge.

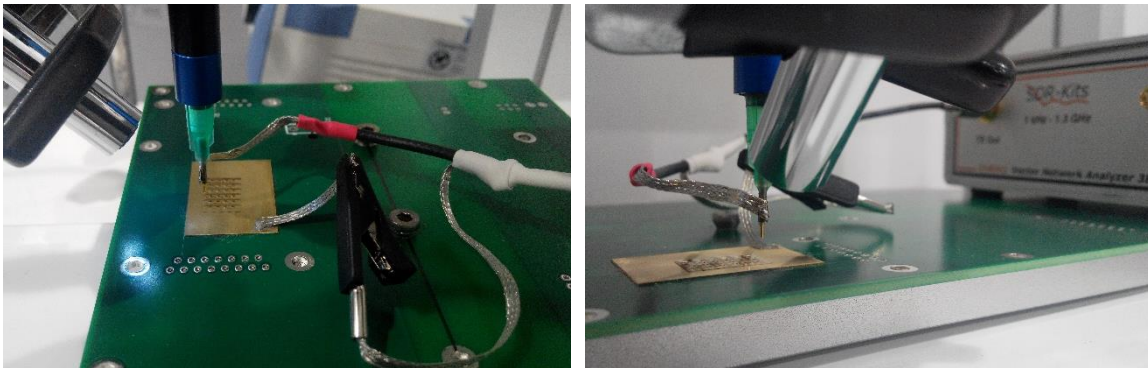


Fig. 13 Montaje del set-up de medida del array

Para posicionar correctamente el *spring contact*, cuyo diámetro es de 0.1mm, sobre un sensor del array se utilizó una cámara de aumento, la cual permitió tener una visión más ampliada de la zona de contacto. Además, con el objetivo de realizar una colocación precisa del *spring contact* sobre el array, se hace uso del robot descrito anteriormente. Este robot permite colocar con exactitud el contacto manteniéndose en esa posición durante el tiempo necesario para capturar los datos y, por tanto, hacer posible la medición del array. Es importante destacar, que esta tarea no sería viable realizarla manualmente debido a la gran fragilidad del cristal. En la Fig. 14, se muestra un detalle del array con el spring contact posicionado sobre el electrodo de uno de los sensores del array. Es extremadamente importante no tocar con el spring contact en la zona MESA del sensor (zona señalada en rojo en la Fig. 15) ya que su espesor es más reducido que en el resto de la oblea. Al tocar con el spring contact en esta zona el sensor podría romperse.

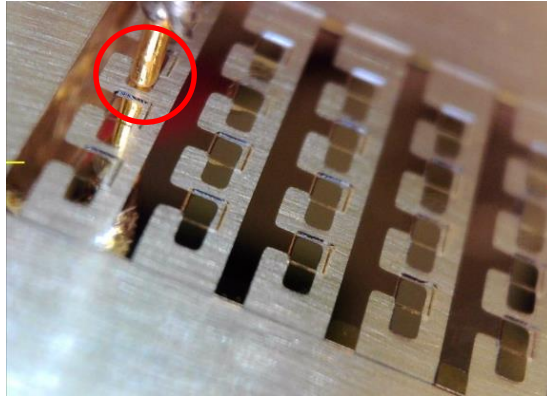


Fig. 14 Posicionamiento del Spring Contact. Imagen obtenida mediante cámara de aumento

Previamente a la realización de las medidas, todo el set-up de caracterización fue calibrado en el margen de frecuencias de interés. El set-up se calibró en el ancho de banda comprendido entre 145MHz y 155MHz para tres cargas conocidas: circuito abierto (OPEN), corto circuito (SHORT) y con carga de 50Ω (LOAD).

Es importante comentar que, antes de depositar cada array a caracterizar sobre el plano de masa, se aplicó un protocolo de limpieza consistente en aplicar sobre el array agua bidestilada, etanol, acetona y nitrógeno para su secado, siempre en ese orden.

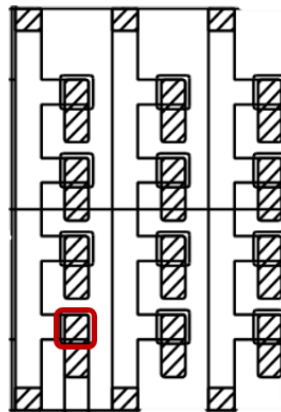


Fig. 15 Zona inverted MESA del sensor

Cabe mencionar que el montaje aquí presentado solo permitirá caracterizar los sensores del array con respecto a la respuesta de su admitancia eléctrica. Para evaluar el crosstalk es necesario disponer de dos spring contacts que puedan ser posicionados con precisión sobre dos sensores diferentes del array. De esta manera, uno de los dos sensores sería excitado a través de un cable coaxial conectado al puerto de transmisión del analizador de redes, y el otro sensor, que actuaría como receptor de la señal de interferencia, estaría conectado mediante otro coaxial al puerto de recepción del analizador de redes. Por tanto, para realizar la medida del crosstalk se necesitaría otro robot de posicionamiento que permita realizar el contacto eléctrico en dos puntos del array sin dañar la zona inverted MESA del sensor. En el momento, de realizar este Trabajo Fin de Máster no se disponía de los medios necesarios para poder medir este parámetro.

Para verificar que el set-up propuesto proporciona medidas de forma repetitiva se realizó la medida de la respuesta de los sensores de un mismo array tres veces. En la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos para la frecuencia de resonancia y el valor de máxima conductancia de cada uno de los sensores del array. Los valores de desviación de estos parámetros con respecto a

los valores medios son aceptables, por lo que, a raíz de estos datos, se concluye que el set-up de medida es válido para la caracterización de los arrays.

	$media f_{G_{max}} [MHz]$	$\sigma f_{G_{max}} [kHz]$	$media G_{max} [mS]$	$\sigma G_{max} [mS]$
Sensor 1	149.628	0.849	78.730	1.634
Sensor 2	149.832	2.149	51.343	15.888
Sensor 3	149.586	0.755	95.327	2.878
Sensor 4	149.149	11.519	115.632	19.533
Sensor 5	148.226	1.039	29.678	0.461
Sensor 6	147.848	4.439	9.253	0.567
Sensor 7	150.796	0.758	81.468	3.497
Sensor 8	150.489	2.456	78.929	0.891
Sensor 9	149.693	0.794	69.005	2.745
Sensor 10	149.596	35.882	79.557	28.078
Sensor 11	148.896	1.952	8.673	0.886
Sensor 12	148.801	0.458	33.479	0.177
Sensor 13	149.874	4.029	8.379	0.378
Sensor 14	150.109	0.300	94.805	2.200
Sensor 15	149.377	0.866	91.647	4.946
Sensor 16	149.455	7.314	26.142	7.509
Sensor 17	148.612	2.272	77.429	2.274
Sensor 18	148.983	11.187	53.757	25.509
Sensor 19	149.579	3.892	59.421	23.412
Sensor 20	149.999	13.870	53.112	1.131
Sensor 21	149.732	1.082	145.222	4.594
Sensor 22	149.359	0.346	64.492	0.829
Sensor 23	148.684	0.600	42.282	0.646
Sensor 24	149.141	3.300	23.423	3.224

Tabla 4 Desviación en las medidas realizadas para la comprobación de la repetitividad

3.4 Resultados y discusión

En este apartado se muestran los resultados de las medidas descritas en el epígrafe 3.2 de este capítulo, con el montaje descrito en el epígrafe 3.3

Para la identificación de los sensores se han aplicado dos métodos (ver Fig. 16): 1) Numerando directamente el sensor según su posición empezando de izquierda a derecha y de arriba abajo y 2) Numerando las filas y las columnas del array de izquierda a derecha y de arriba abajo. De esta manera los sensores del array quedan identificados de dos posibles maneras: numerados por orden según su posición o mediante la identificación de la fila y la columna a la que pertenecen.

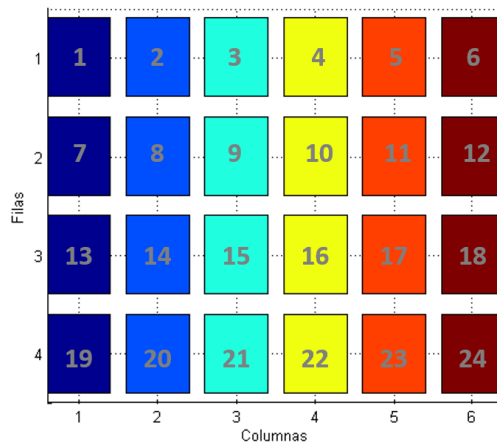


Fig. 16 Identificación de los sensores en el array

Como se ha explicado en el epígrafe anterior, la conexión con la punta del spring contact se realizó en su cara inferior (ver Fig. 17), es decir, aquella que posteriormente será adherida sobre la PCB de contactos cuando se ensamble el cartridge.

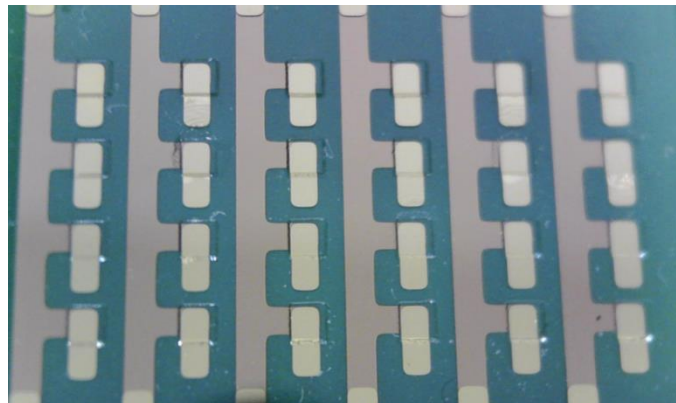


Fig. 17 Cara inferior del array de sensores la cual es adherida a la PCB de contactos

Las medidas obtenidas se procesaron utilizando MATLAB, para ello se elaboraron diversos scripts que recogían las medidas proporcionadas por el analizador y, tras su procesado, generaban un conjunto de gráficas que permiten validar el comportamiento del array.

El primer resultado gráfico que se muestra es la representación de los espectros de la conductancia de los sensores del array. Este resultado proporciona la siguiente información:

1. Valores de las frecuencias en las que se produce el máximo de la conductancia del sensor, es decir, de la frecuencia de resonancia.
2. Valor de la máxima conductancia, el cual está relacionado con las pérdidas del resonador. Cuanto mayor es su conductancia, menores son sus pérdidas.
3. Ancho de banda, el cual está relacionado también con las pérdidas del resonador. A menor ancho de banda, menores pérdidas.
4. Posición y amplitud de los inarmónicos.

En la Fig. 18 se muestra el espectro de la conductancia de los 24 sensores de un mismo array (eje de ordenadas). Mediante la escala de colores se representa el valor de la conductancia en función de la frecuencia, la cual aparece representada en el eje de abscisas. Para facilitar, la observación de pequeñas variaciones en el valor de la conductancia, se aplicó el logaritmo creando así una escala de colores más diferencial.

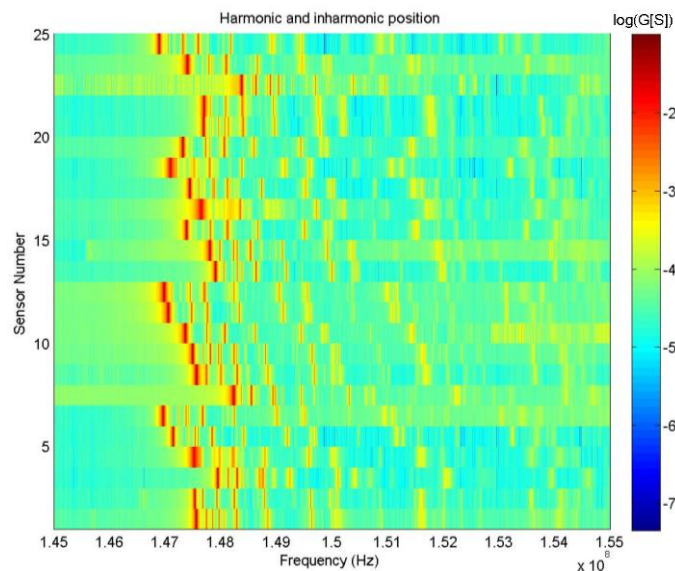


Fig. 18 Espectros de los 24 sensores de un array

Como se puede observar en la Fig. 18, los valores máximos de conductancia quedan representados por una gama de colores roja, en este sentido, no se observan diferencias relevantes entre los diferentes sensores que forman el array. La posición de dicha franja de color respecto del eje de las abscisas de la gráfica, indica la frecuencia de resonancia del sensor. Observando los resultados, se aprecia que, para todos los sensores de una misma fila, la frecuencia de máxima conductancia se desplaza hacia la izquierda progresivamente. Así pues, se concluye que las frecuencias de resonancia más bajas se concentran en los sensores de las columnas de la derecha.

En relación a los inarmónicos, es importante observar si existe un patrón o relación entre los inarmónicos que se producen en cada uno de los sensores, y sus frecuencias de resonancia fundamentales. Esto permite saber si los inarmónicos aparecen siempre la misma distancia del armónico fundamental (o frecuencia de resonancia) en todos los sensores del array. Del mismo modo, analizando la posición de los inarmónicos de cada sensor, en relación a la frecuencia fundamental de otro sensor diferente, se podría establecer una posible influencia de unos sensores sobre otros. Para estudiar una posible pauta, se decide realizar una representación de los espectros normalizando la frecuencia de cada sensor respecto a la frecuencia de máxima conductancia (ver Fig. **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.**19).

Observando la Fig. 19 se aprecia que existen dos inarmónicos que aparecen en todos los sensores aproximadamente a la misma distancia respecto a su armónico del fundamental. El primero de ellos aparece a la frecuencia normalizada de 1.003 aproximadamente, es decir, a unos 450kHz de distancia del armónico fundamental. Expresado en porcentaje para poder compararlo con los resultados obtenidos en las Tablas 2 y 3 del epígrafe 3.1 resulta 100.3%. En relación al segundo inarmónico, aparece entorno a 750kHz de distancia del fundamental, que expresado en porcentaje resulta en 100.5%. Comparando estos datos con los simulados para los sensores individuales que fueron presentados en la sección 3.1 se puede concluir que los valores porcentuales coinciden con los obtenidos en las simulaciones teóricas del sensor individual. De aquí se desprende que cada sensor del array tiene un comportamiento similar al observado en el individual, lo que supone un excelente resultado.

Sin embargo, aparecen otros modos inarmónicos que pueden ser problemáticos cuando se trabaja en presencia de muestras líquidas. En estos casos, el ancho de banda de la resonancia fundamental aumenta, absorbiendo dichos modos inarmónicos, esto puede provocar la deformación del espectro de admitancias y afectar a la medida.

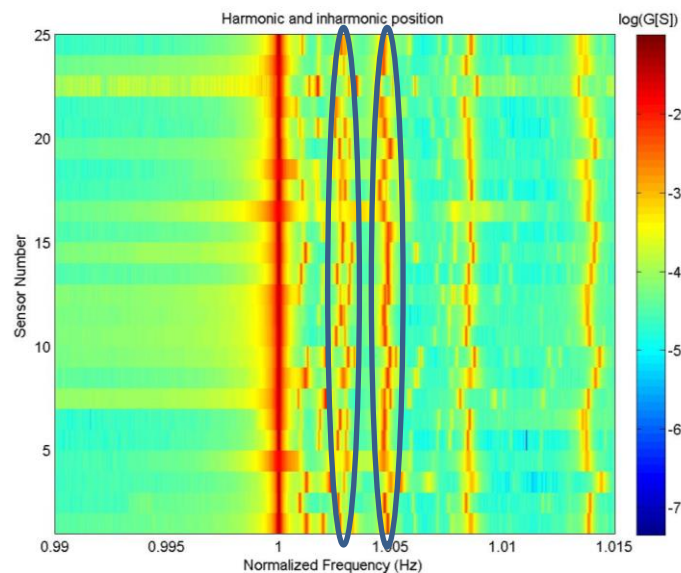


Fig. 19 Inarmónicos presentes en todos los sensores de un array

Si se observa con detalle la Fig. 18, es posible apreciar como a la misma frecuencia a la que se produce el armónico fundamental de un sensor, aparece un modo inarmónico de un sensor vecino. Sin embargo, determinar que el modo fundamental provoca ese inarmónico en el sensor vecino no se puede justificar de este modo, sería necesario realizar un estudio del crosstalk para concluir dicha relación

Otro de los análisis llevados a cabo, busca determinar una posible relación entre la posición del sensor en el array y el valor que toman los parámetros que se están considerando de interés: la frecuencia fundamental de resonancia, el valor de la máxima conductancia y el factor de calidad que presenta el armónico fundamental.

Para ello, se caracterizaron 33 arrays y se calculó la media y la desviación típica de estos tres parámetros entre los sensores que comparten la misma posición del array. Los resultados se muestran en las Fig. 20, 21 y 22, en el eje de abscisas de dichas figuras se indica el número del sensor dentro del array, y en el eje de ordenadas se presenta el valor del parámetro analizado.

En la Fig. 20, se representa la media y la desviación de la frecuencia fundamental de resonancia por posición en el array. En ella se observa una tendencia clara respecto de los sensores que

ocupan la misma fila. De esta manera, en general, el primer sensor de cada fila es el que presenta una media de frecuencia fundamental más alta con respecto al resto de sensores de esa misma fila, y superior a la frecuencia del ultimo sensor de la fila que le precede (excepto en la última fila que parecen estar más igualados). Los valores de desviación se mantienen similares en todos los sensores, estableciéndose el margen de variación de las frecuencias fundamentales de resonancia entre los 147MHz y los 151MHz.

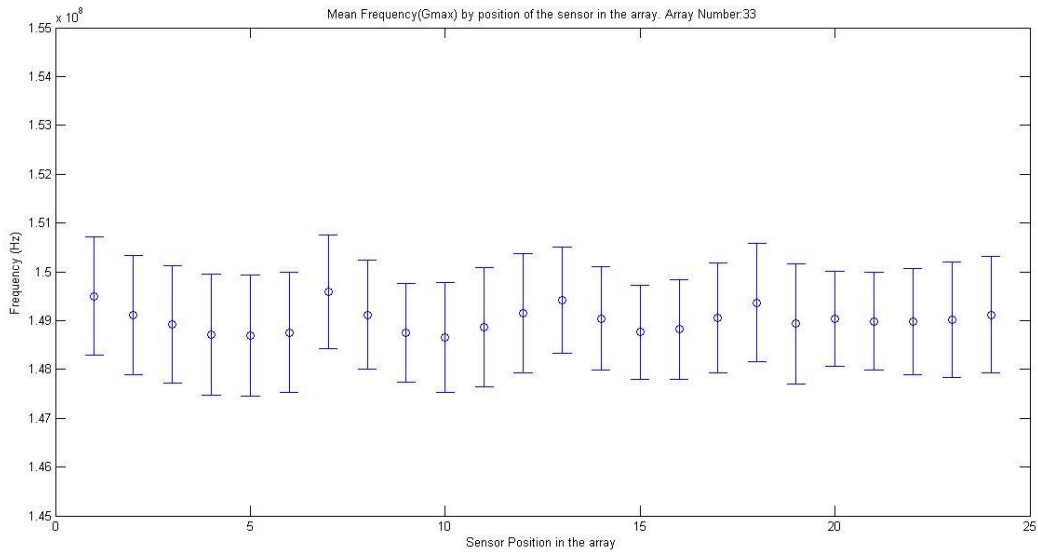


Fig. 20 Valor medio de la frecuencia fundamental de resonancia según la posición del sensor en el array y para una población de 33 arrays

La información relativa a la conductancia máxima se muestra en la Fig. 21. De esta gráfica se concluye que, aunque la media puede fijarse en torno a 60mS, el margen de valores de conductancia de todos los sensores analizados está comprendido entre 20mS y 120mS (información extraída a partir de las barras de error de la figura). Estos resultados coinciden con los obtenidos tras la caracterización de los 9 sensores individuales presentada en el apartado 3.1.2. A pesar del gran margen de variación que presentan los resultados, puede concluirse que los valores obtenidos son aceptables para las aplicaciones en las que se utilizarán los arrays. Analizados los datos según filas o columnas, se puede concluir que no se aprecia ninguna relación entre los valores de conductancia correspondientes a los sensores que comparten la misma fila. Sin embargo, los sensores que comparten la misma columna presentan valores similares entre sí.

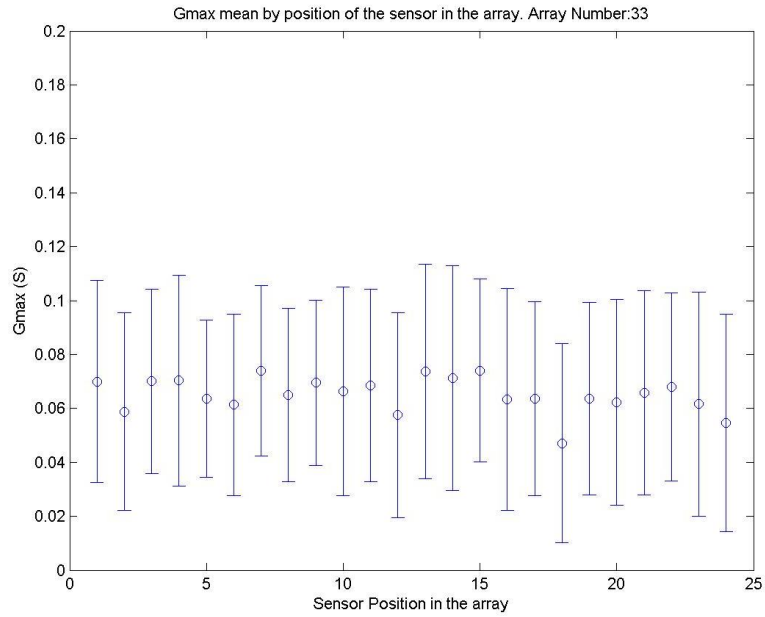


Fig. 21 Valor medio de la conductancia máxima según la posición del sensor en el array

Por último, se presentan los valores obtenidos para factor de calidad de la resonancia fundamental de cada sensor. El margen de variación de este parámetro es extremadamente amplio (entre 2500 y 35000), situándose la media en torno a 20000 para prácticamente todos los sensores.

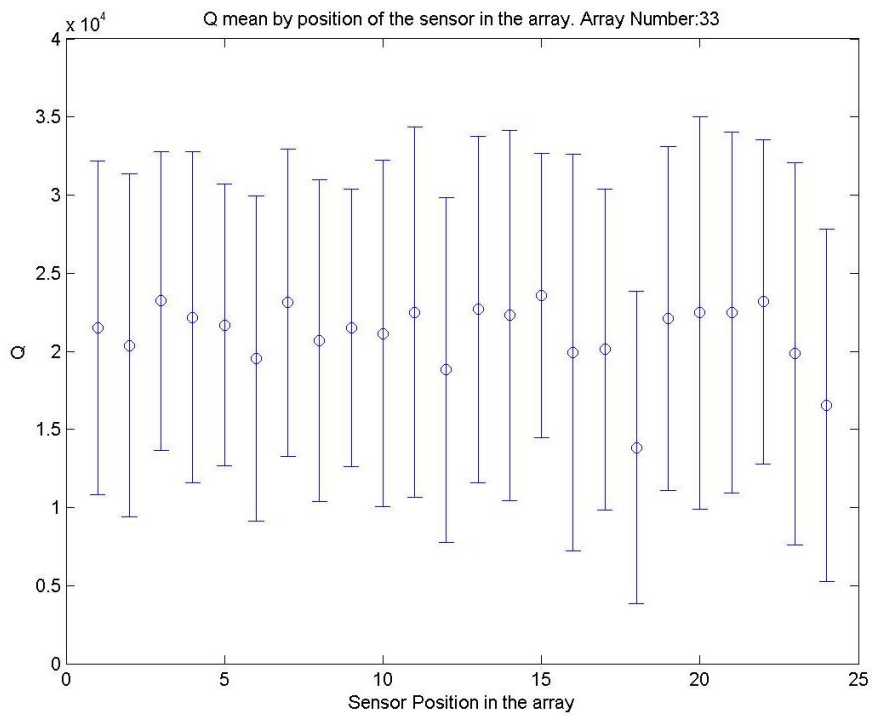


Fig. 22 Valor medio del factor de calidad según la posición del sensor en el array

3.5 Conclusiones del capítulo

Los resultados presentados en el apartado anterior confirman que el comportamiento de los sensores, una vez dispuestos formando un array, es muy similar al que presentan los sensores individuales en algunos aspectos, pero difieren en otros. De este modo, la frecuencia a la que se produce el modo fundamental de vibración presenta una mayor desviación en el caso de los sensores dispuestos en array si se compara con el margen de frecuencias obtenido para los sensores individuales. Sin embargo, los márgenes en los que se sitúan los valores tanto de la conductancia máxima como del factor de calidad de los sensores del array son similares a los obtenidos para los sensores individuales.

La diferencia más relevante es la presencia de modos inarmónicos próximos a la frecuencia fundamental de resonancia, los cuales no aparecen en los sensores individuales. Estos modos pueden llegar a ser problemáticos cuando se trabaje en presencia de muestras líquidas, si aparecen a frecuencias muy próximas a la fundamental. Cuando se trabaja en medio líquido, el ancho de banda de la resonancia fundamental aumenta, de modo que si dichos inarmónicos están muy próximos al fundamental quedan dentro de su ancho banda, esto provoca la deformación del espectro de admitancias y tiene efecto directo sobre la medida.

La presencia de modos inarmónicos “no esperados” puede deberse, bien debido a que las máscaras empleadas en el proceso de fabricación del array (diferentes a las empleadas en la fabricación de los sensores individuales), no realicen bien la alineación de los electrodos, o bien a la influencia de la resonancia fundamental de unos sensores sobre otros. Las medidas de crosstalk no han podido realizarse en este TFM, debido a que no se disponían de suficientes infraestructuras para realizar el set-up experimental necesario. Por tanto, en estos momentos no se puede descartar ninguna de las dos opciones.

En cualquier caso, y dado que la localización de los inarmónicos “no esperados” está suficientemente alejada de la frecuencia fundamental de resonancia, se concluye que los prototipos del array proporcionados por la empresa CONWIN son apropiados para continuar con el desarrollo del cartridge.

Capítulo 4. Evaluación del conjunto array (HFF-QCM) + Placa de contactos

4.1 Definición de la propuesta de fijación del array HFF-QCM a la placa de contactos

En el epígrafe que aquí se presenta se detalla la realización de las tareas 2.1, 2.2 y parte de la tarea 2.3 (descripción del montaje para fijar el sensor al array), todas ellas planteadas para lograr el objetivo 2 del Trabajo Fin de Máster.

La utilización del array necesita de un soporte físico que permita aplicar una excitación a cada uno de los sensores, y a la vez obtener la respuesta eléctrica de ellos. Además, dicho soporte sirve para aumentar la robustez del array, de manera que su reducido espesor no se convierta en una desventaja para trabajar con los arrays de cristal de cuarzo. Este soporte, como ya se avanzó en el capítulo de introducción, es una PCB sobre la que se adhiere el cristal haciendo uso de un epoxi conductor.

En el momento de llevar a cabo esta parte del proceso de fabricación del cartridge, se disponía de un epoxi de un solo componente compuesto por polvo de plata puro, esta composición hace que sea eléctricamente conductor. Su secado o curado se realiza mediante su exposición a una temperatura de 150°C durante 30 minutos. El exceso de este material se podría retirar mediante disolventes como la acetona. Dado que el epoxi disponible no había sido seleccionado después de un estudio serio comparativo de los diferentes epoxis disponibles en el mercado, se consideró la posibilidad de explorar otros materiales con el fin de seleccionar el más adecuado. Las características que se tuvieron en cuenta en el estudio comparativo fueron las siguientes:

- 1) El epoxi conductor debía ser de plata con bajo out-gassing, con el fin de que durante su curado no se produjeran evaporaciones tóxicas.
- 2) Conductividad alta por unidad de volumen.
- 3) Su viscosidad debía ser elevada, puesto que se consideró que esto facilitaría la dispensación del epoxi.

El estudio se centró en el catálogo de productos de la empresa MASTERBOND, donde se encontraron varios adhesivos que cumplían las especificaciones anteriormente descritas. En relación a la información que se proporciona sobre la viscosidad de estos materiales, es importante destacar que la viscosidad de todos los epoxis analizados depende del esfuerzo al que se someta al epoxi (materiales tixotrópicos). De entre todos los posibles candidatos se seleccionó el epoxi EP3HTS-LO. El retraso en la adquisición del epoxi seleccionado por parte de la empresa impidió hacer pruebas con él, por ello, todas las pruebas que se describen en este capítulo han sido realizadas con el epoxi disponible en la empresa (epoxi de un solo componente compuesto por polvo de plata puro).

Para la adhesión del array a la PCB, el epoxi es distribuido mediante el mismo robot de dispensación que se utilizó en el montaje de caracterización de los arrays (*I&J4300/4400-LF* de *I&J FISNAR*). El uso de este robot permite automatizar el proceso, consiguiendo una mayor precisión y repetitividad en todos los depósitos del material epoxi. El robot empleado permite controlar tanto el tiempo de dispensación, como la posición en la que se produce el depósito. Hace uso además de un sistema de dosificación (*eco-CONTROL EC200-K*) con el que es posible ajustar la velocidad de flujo y la presión ejercida en la jeringa que contiene el epoxi, así como la cantidad de epoxi que es reabsorbido al final de cada depósito. Con ello, se controla perfectamente la cantidad de adhesivo suministrado sobre la PCB.



Fig. 23 Robot de dispensación I&J4300/4400-LF de I&J FISNAR (imagen de la izquierda). Sistema de dosificación eco-CONTROL (imagen de la derecha).

Para llevar a cabo la dispensación del epoxi, se programó una rutina mediante una consola de programación propia del robot. Mediante la utilización de un bucle, se programó el robot para que generara depósitos de volúmenes del epoxi exactamente iguales en cada uno de los puntos de contacto existentes entre el array y la PCB. En la Fig. 23 se muestran sendas imágenes del robot de dispensación y del sistema de dosificación y en la Fig. 25 una imagen de los puntos de contacto de epoxi depositados sobre la PCB.

Se diseñaron 2 formatos de PCB diferentes sobre los que realizar la fijación de array de sensores, a continuación, se describen ambos formatos indicando las ventajas y desventajas de cada uno de ellos.

4.1.1 PCB soporte. Solución 1

En esta primera solución, la cara superior de la PCB, que sirve de soporte y conexión del array al equipo de caracterización, consta de 24 vías sobre las que se situará el contacto inferior de cada uno de los sensores del array. La conexión entre los electrodos de cada uno de los sensores del array y la vía implementada en la PCB se realiza mediante el epoxi conductor. La existencia de la vía permite disponer del contacto eléctrico situado en la cara inferior del array (cara en

contacto con la PCB) en la cara inferior de la PCB (cara de la PCB que no está en contacto con el array y que irá conectada al sistema de caracterización). Adicionalmente, la cara superior de la PCB (cara en contacto con el array) presenta dos filas de seis contactos, los cuales conectan a masa los extremos de las seis columnas que tiene el array. Los contactos de estas 6 columnas del sensor son de tipo *wrapped*, lo que permite pasar la señal de masa desde la cara del sensor que está en contacto con la PCB, a la cara superior del array. Este tipo de contactos *wrapped* se consigue metalizando con oro el borde de la oblea del array. En todos los puntos de contacto entre el sensor y el array, 36 puntos en total, se deberá depositar un volumen suficiente de epoxi conductor que garantice el contacto eléctrico. Por otro lado, dicho volumen debe ser tal que asegure que el epoxi no se esparce por áreas sensibles (zona mesa), lo que provocaría un mal funcionamiento del sensor o incluso el cortocircuito eléctrico de las dos caras.

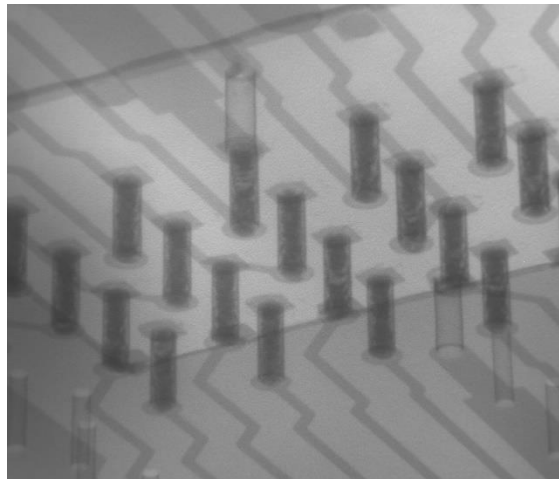


Fig. 24 Vías de la PCB soporte del array rellenas de epoxi conductor observadas mediante imagen de rayos X

La imagen de la Fig. 24 corresponde a una imagen de rayos X de la PCB, en ella se observan las vías que contiene. Aquéllas que se han rellenas del material epoxi presentan un color más oscuro, a diferencia de otras en las que no ha penetrado el epoxi conductor. Se observó que en aquellas vías en las que el epoxi había penetrado completamente en toda la vía, el sensor no presentaba resonancia. Para dar una explicación a este fenómeno se propuso la hipótesis de que todo el volumen de epoxi depositado se había introducido por completo en la vía de manera que no había material en la superficie de esta y como consecuencia no se producía contacto eléctrico provocando que el sensor dejara de presentar respuesta resonante.

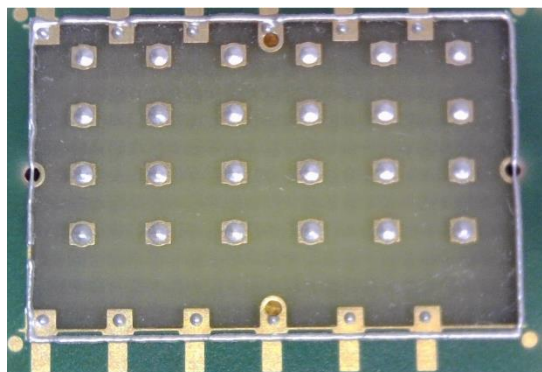


Fig. 25 Epoxi depositado sobre la PCB soporte

En la Fig. 25 se puede observar el aspecto de la PCB con el epoxi conductor depositado en cada una de las vías y en los 6 contactos correspondientes a las columnas del array. En la imagen que se muestra, todavía no se había depositado el array, cuya cara inferior irá en contacto con la cara de la PCB que se muestra en la figura. En la figura también se observa un cordón de epoxi que delimita el contorno del área de colocación de array. La utilidad de este cordón se explicará más adelante.

Puesto que las vías no conseguían rellenarse completamente en todos los casos, con las consecuencias negativas que tiene este efecto, se exploró otra solución que se describe en el siguiente apartado de esta memoria.

4.1.2 PCB soporte. Solución 2

La solución que se propuso para resolver los problemas detectados en la solución 1 descrita en el apartado anterior, fue la de añadir en la zona de contacto un pad de oro conectado a cada vía. En la Fig. 26 se muestran las imágenes de las dos soluciones exploradas para la PCB. En la imagen de la izquierda se muestra la solución implementada sólo con vías (solución 1), mientras que en la imagen de la derecha se observan los pads conectados a cada vía (solución 2).

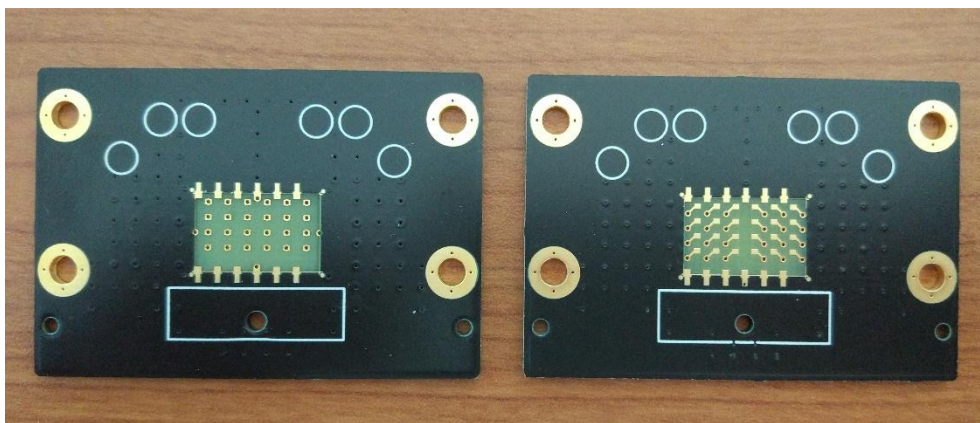


Fig. 26 Imagen de las dos soluciones de PCB propuestas

Se comprobó que el depósito del epoxi era más sencillo de realizar sobre el pad que sobre la vía. La cantidad de material epoxi depositado se redujo considerablemente, en esta solución no es necesario que el epoxi penetre por la vía para que el exceso no se distribuya por zonas del sensor no permitidas. Esta solución no redujo la tasa de sensores que dejaban de resonar. Por otro lado, en relación a la respuesta resonante de los sensores que funcionaban en ambas soluciones, no se detectaron diferencias significativas entre ambas. Esto implica que el uso de una PCB u otra no suponía una mejora ni en el número total de sensores resonantes en un mismo array ni en la calidad de la respuesta de los mismos. Sin embargo, la segunda solución reduce la cantidad de epoxi empleado y facilita el depósito del mismo al tener que hacerlo sobre un pad en lugar de sobre una vía.

Como ya se ha mencionado, para el depósito del epoxi se realizó una rutina de programación que permitía dispensar el conjunto de puntos de epoxi con una separación y geometría bien definidas. Dicha dispensación se realiza siempre en los mismos puntos geométricos tomando como referencia el eje de coordenadas propio del robot. En un primer momento, la colocación del array sobre la base del robot se realizaba de forma manual, lo cual, introducía un error espacial que obligaba a reajustar los parámetros del programa antes de comenzar cada proceso

de dispensación de un array diferente. Esto hacía que el proceso no fuese tan repetitivo y automático como era deseado.

Para solventar el problema asociado al posicionamiento manual, se implementó una placa que iba atornillada a la base del robot (ver Fig. 27), y que incluía unos topes que permitían situar siempre en la misma posición la PCB de contactos.

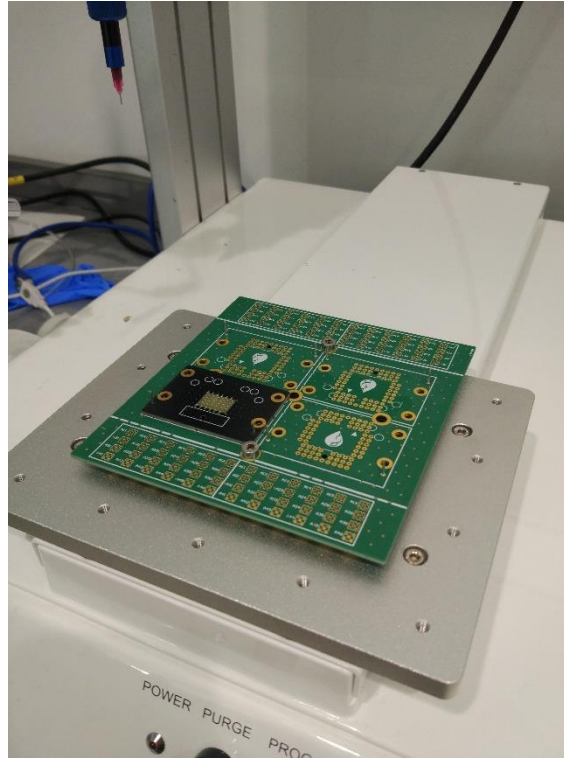


Fig. 27 PCB atornillada a la base del robot para la colocación de la PCB de contactos durante el proceso de dispensación

Antes de la dispensación del epoxi conductor, las PCBs son limpiadas con acetona y secadas en el horno a 65°C durante 5 min para eliminar cualquier posible resto contaminante. Los arrays también son sometidos a un proceso de limpieza consistente en aplicar agua bidestilada, etanol y acetona, y posteriormente nitrógeno para secarlos. Una vez realizada la dispensación del epoxi, la colocación del array sobre la PCB se efectúa manualmente haciendo uso de una cámara de aumento y una bomba de vacío que permite sujetar el array y desplazarlo hasta la posición adecuada. Este proceso debe realizarse con sumo cuidado debido a la fragilidad del cristal, por un lado, y para asegurar el correcto alineamiento del cristal sobre las posiciones de contacto por otro, evitando así posibles contaminaciones con el epoxi en las zonas no deseadas. Una vez situado el array, es necesario realizar cierta presión para asegurar la correcta adhesión del mismo. En un primer momento, la presión se hizo de forma manual en determinados puntos del array, utilizándose para ello la misma punta empleada para la sujeción del array en el proceso de posicionamiento sobre la PCB.

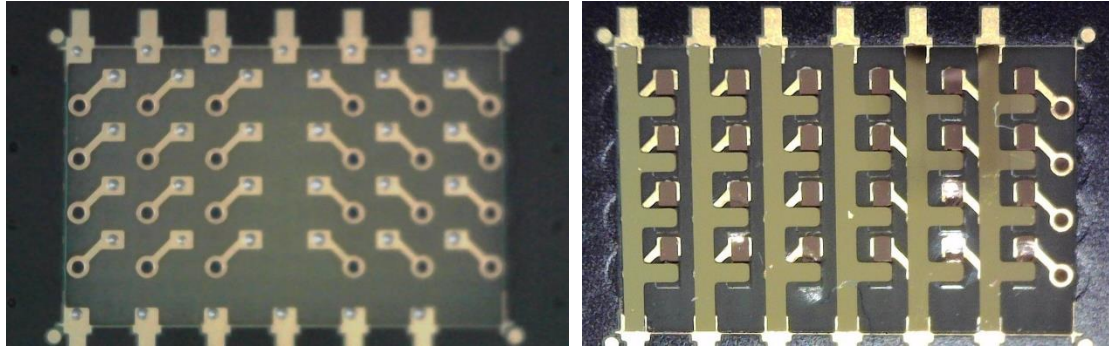


Fig. 28 Aspecto de la PCB tras la dispensación de epoxi en los diferentes puntos de contacto (imagen de la izquierda) y tras la colocación del array sobre estos (imagen de la derecha)

Colocado el array, se inicia el proceso de curado del epoxi conductor. Para ello, se introduce el conjunto del array+PCB de contactos en un horno durante 30 minutos a 150°C. Tras las mediciones realizadas después el curado del epoxi se observó que en torno al 40% de los sensores del array dejaban de resonar, o que su respuesta no era lo suficientemente buena. La hipótesis que se propuso para dar una explicación a estos resultados fue que no se estaba produciendo un buen contacto entre el array y la PCB, debido fundamentalmente al modo de ejercer la presión entre ambas capas. El procedimiento de hacer presión sólo en determinados puntos, al colocar el array y antes del curado, en lugar de aplicar una presión uniforme en todo el compuesto podría ser la razón de los resultados observados. Para comprobar si la hipótesis era cierta se modificó el proceso de curado, de modo que, con la finalidad de ejercer una presión uniforme sobre todo el conjunto, se introdujo dicho conjunto (array+PCB) sobre un soporte en una bolsa a la que se aplicó el vacío y se selló. Con el fin de proteger el cristal, evitando el contacto con la bolsa, se colocó sobre él una fina lámina de FEP (fluoroetileno-propileno). Todo ello se introdujo en el horno durante una hora a 110°C. Con este nuevo procedimiento de curado se elevó la tasa de funcionamiento de los sensores al 100%, demostrándose la hipótesis de partida.

No obstante, a pesar de que la tasa de funcionamiento de todos los sensores del array llegaba a ser del 100%, se observó que el espectro que presentaban algunos sensores aparecía deformado en comparación con el que presentaba el array antes de ser fijado a la PCB. La hipótesis que se propuso para dar una explicación a estos resultados fue que, quizás, la aplicación del vacío ejercía demasiada presión sobre los arrays. Para comprobar si la hipótesis era correcta, se decidió dejar de realizar el vacío. En su lugar, lo que se hizo fue colocar un peso de una masa equivalente a una de las celdas de calibración de AWSensors, sobre la superficie del conjunto “array+PCB” durante el proceso de curado, colocando sobre el array, para no dañarlo, una lámina de FEP y un cubreobjetos. Las últimas pruebas realizadas confirmaron que la hipótesis era cierta, ya que, aplicando este último proceso de curado, la tasa de funcionamiento de los sensores era del 100% y las respuestas resonantes observadas eran mucho más similares a las del array sin fijar a la PCB.

4.2 Definición del montaje experimental para la caracterización del conjunto array+PCB

En el epígrafe que aquí se presenta, se detalla parte de la realización de la tarea 2.3 planteada para lograr el objetivo 2 del Trabajo Fin de Máster. En particular, se describe el montaje experimental implementado para llevar a cabo la caracterización de la respuesta eléctrica del conjunto formado por la PCB y el array de sensores.

Con el objetivo de realizar las mismas medidas descritas en la sección 3.2 para el array sin fijar a la PCB, se diseñó otra PCB (ver Fig. 29) que incluía una “cama” de spring contacts (ver zona recuadrada en azul sobre la Fig. 30) sobre la que se deposita la cara inferior de la PCB de contactos. Esta segunda PCB dispone de un conector SMA por cada uno de los 24 sensores que forman el array (ver zona recuadrada en verde sobre la Fig. 30). De esta manera, cualquiera de ellos puede ser excitado para ser caracterizado de forma individual, o utilizado como puerto de recepción para medir el nivel de energía transmitida cuando se excita cualquier otro sensor del array (crosstalk).

Como en el caso del set-up de medida del array, también será necesario realizar una calibración del equipo de medida sobre el montaje implementado. En este caso, se debe llevar a cabo tanto una calibración en reflexión en las tres situaciones mencionadas previamente (OPEN, SHORT y OAD), como una calibración en transmisión utilizando para ello el componente (THRU) del analizador de redes. (Véase Fig. 29)

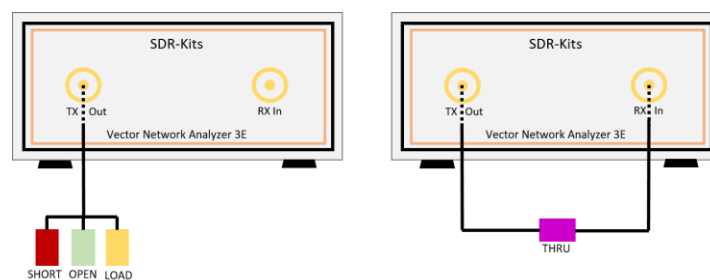


Fig. 29 Montaje empleado para la realización de la calibración del set-up de medida, tanto para el uso del analizador en reflexión (izquierda), como para su uso en transmisión (derecha)

El mismo set-up de media que se ha empleado para la caracterización del conjunto array+PCB, será el que se utilice para llevar a cabo la caracterización del cartridge completo, incluyendo también la capa de fluidica.

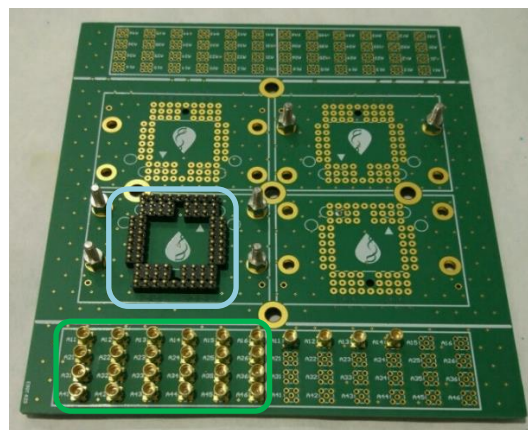


Fig. 30 PCB usada para medir las respuestas resonantes del conjunto array+PCB y del cartridge completo.

4.3 Resultados y discusión

En el epígrafe que aquí se presenta, se detalla la realización de la tarea 2.4 planteada para lograr el objetivo 2 del Trabajo Fin de Máster.

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para la caracterización de la respuesta del conjunto array+PCB implementado con la solución 2 explicada en el epígrafe 4.1.2 (PCB de contactos con pads unidos a las vías). Como se comentó en dicho epígrafe, esta solución era la que reducía la cantidad de epoxi conductor dispensado. Respecto al proceso de curado del epoxi, los resultados que aquí se presentan corresponden al que se realizó ejerciendo presión al depositar sobre el cristal un cierto peso, cuya masa se corresponde con la de una celda de calibración (para proteger el cristal se coloca una lámina de FEP y un cubreobjetos entre ambos):

Los resultados obtenidos para varios conjuntos array+PCB fabricados se muestran a continuación.

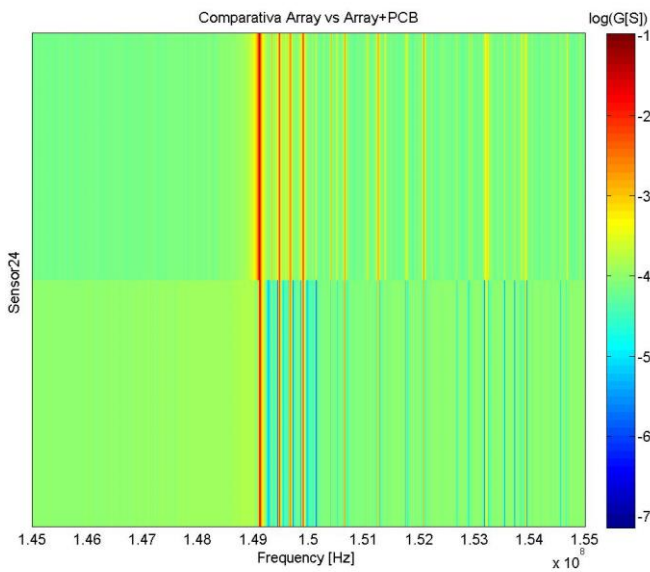


Fig. 31a Espectro del sensor 2,4 de un array antes y después de su adhesión a la PCB

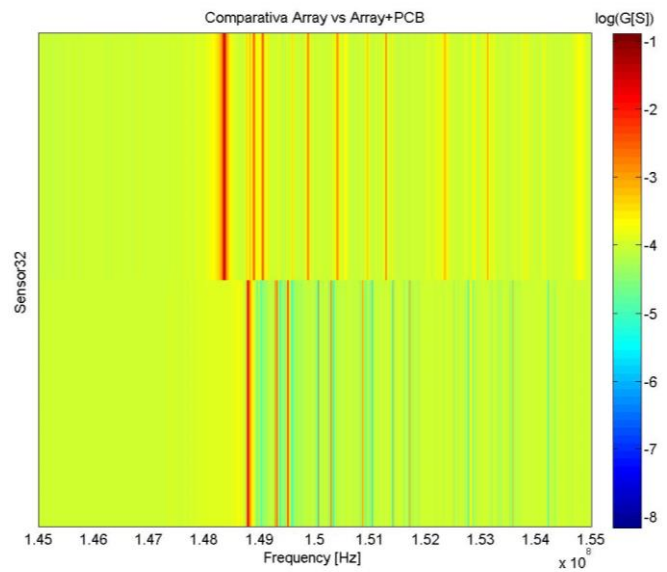


Fig. 31b Espectro del sensor 3,2 de un array antes y después de su adhesión a la PCB

En las Fig. 31a y 31b se representa el espectro de la conductancia (representado con la escala de colores) para el sensor colocado en la posición (2, 4) y para el sensor colocado en la posición (3, 2), respectivamente, del mismo array. Cada una de las figuras contiene en la mitad inferior el espectro medido de un array sin unir a la PCB, y en la mitad superior el mismo array ya montado sobre la PCB. Al igual que en representaciones anteriores, la amplitud de la conductancia se representa en escala logarítmica.

Las Fig. 32 y 33 muestran el espectro de la resonancia de los mismos sensores presentados en la Fig. 31. En la Fig. 32 se muestra el espectro del sensor colocado en la posición (2,4), y en la Fig. 33 el espectro del sensor colocado en la posición (3,2). Ambos sensores pertenecen al mismo array. En estas figuras se ha representado tanto el espectro de la parte real como el de la parte imaginaria de la admitancia del sensor. En color azul se muestra el espectro obtenido para el array sin conectar a la PCB, y en color rojo el espectro obtenido para el array ya conectado a la PCB.

En ambos tipos de representación se observa el efecto que tiene la unión del array a la PCB sobre los desplazamientos de la frecuencia de resonancia fundamental o de los inarmónicos. En la Fig. 32, se observa que, tanto el armónico fundamental, como los tres inarmónicos más cercanos, se sitúan en una frecuencia similar. Además, se observa que la unión del array a la PCB no genera la aparición de inarmónicos adicionales a los que aparecían en el array sin unir a la PCB. En el caso de las Fig. 33, sí que se observa un desplazamiento tanto del armónico

fundamental, como de los inarmónicos. Sin embargo, siguen sin generarse inarmónicos adicionales.

En ambos casos se observa una reducción en el valor máximo de la conductancia una vez adherido el sensor a la PCB. Sin embargo, a pesar de estos cambios la forma general del espectro de la resonancia se mantiene igual. También se observa claramente un desplazamiento vertical de la susceptancia, el cual puede atribuirse al efecto capacitivo introducido por la adhesión del array a la PCB.

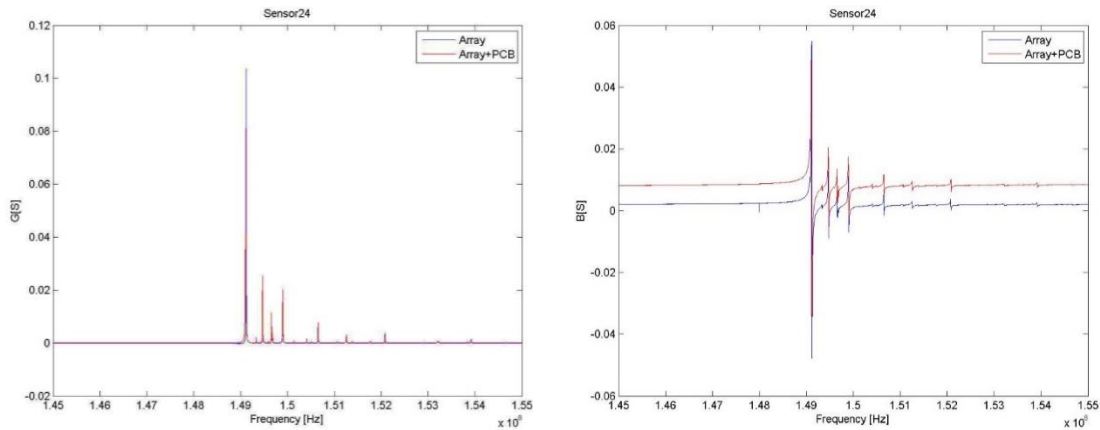


Fig. 32 Valor de la conductancia y la susceptancia para el mismo sensor (2,4) de un array antes y después de su pegado a la PCB

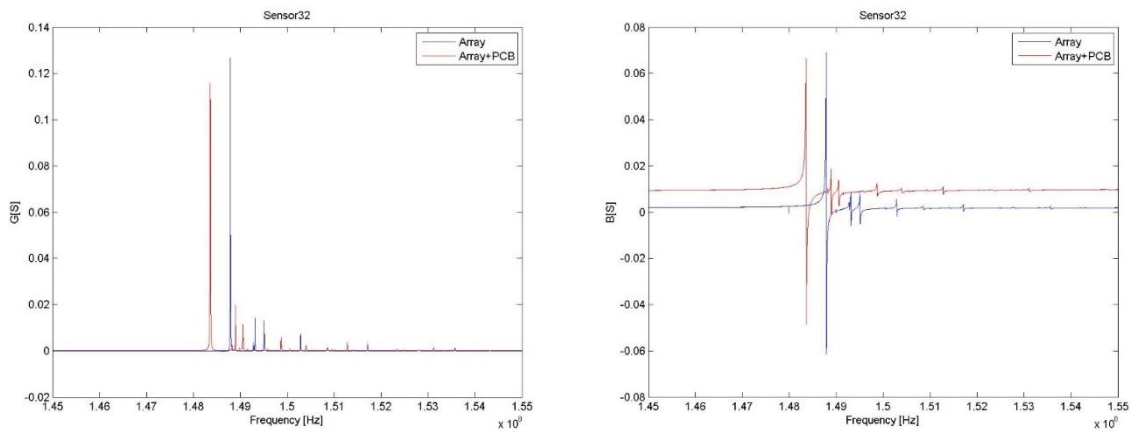


Fig. 33 Valor de la conductancia y la susceptancia para el mismo sensor (3,2) de un array antes y después de su pegado a la PCB

Se debe mencionar, que en la mayoría de los sensores analizados siempre se produce una disminución de su frecuencia de resonancia fundamental cuando se adhiere a la PCB. Del mismo modo, también se observa siempre una disminución del valor de la conductancia y un desplazamiento vertical de la susceptancia.

En la Fig. 34 se ha representado mediante una escala de colores el valor de la frecuencia fundamental de resonancia de los sensores que componen un array, antes y después de la adhesión a la placa PCB de contactos. En las dos filas superiores se observan valores similares

de la frecuencia de resonancia, sin embargo, en las dos filas inferiores se observa un decremento generalizado de dicha frecuencia de resonancia.

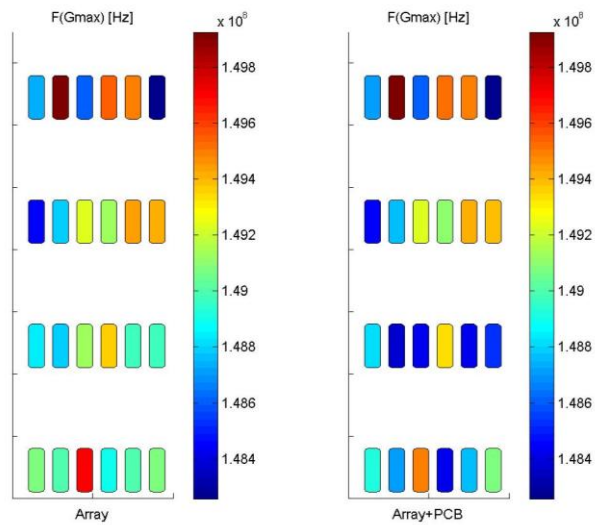


Fig. 34 Valores de la frecuencia fundamental de resonancia de los sensores de un array antes y después su adhesión a la PCB de contactos

En la Fig. 35 se ha representado mediante una escala de colores el valor de la máxima conductancia de los sensores que componen un array, antes y después de la adhesión a la placa PCB de contactos. La tendencia general que se observa es que la mayoría de los sensores reducen el valor de su conductancia máxima cuando se une el array a la placa de contactos, sin embargo, en algunos casos se produce la situación inversa.

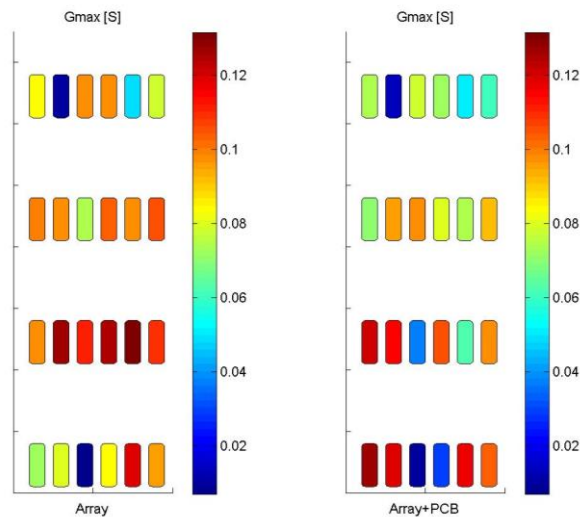


Fig. 35 Valores de la conductancia máxima de los sensores de un array antes y después su adhesión a la PCB de contactos

En este caso, la nueva disposición del montaje experimental implementado para la caracterización del conjunto array+PCB, sí que permite el análisis del crosstalk entre sensores a través de la medida del parámetro S_{21} . En la Fig. 36 se ha representado un ejemplo del análisis

realizado para cada uno de los sensores de un array. En este caso, se han representado los resultados obtenidos cuando se excita el sensor (3,5). En cada gráfica se ha representado el espectro de la conductancia del sensor excitado y el espectro de los cada uno de los sensores vecinos. Las gráficas se han ubicado en la figura en la misma posición que ocupan alrededor del sensor excitado. Además, en el eje de ordenadas situado a la izquierda, se ha representado el parámetro S_{21} en dB medido cuando se excita el sensor (3,5) y se mide la respuesta en alguno de sus 8 vecinos. En esta configuración el sensor (3,5) actúa como transmisor y el sensor sobre el que se está estudiando el crosstalk actúa como receptor. Y al revés, es decir, cuando se excita alguno de los vecinos (que actúan en este caso como transmisores) y se mide la señal en el sensor (3,5), que actúa en este caso como receptor.

Se observa que, a las frecuencias en las que están ubicadas la frecuencia de resonancia de cada pareja de sensores, aparece un pico en el parámetro S_{21} . Cuanto menor sea el valor que tome este parámetro, menor es la interferencia producida por la excitación de un sensor sobre otro. Es importante destacar que, para todos los sensores del array analizado, los valores del parámetro S_{21} se concentran sólo alrededor de 3 valores -50dB, -34dB y -26dB. Por otro lado, el valor más elevado de crosstalk, se produce con los sensores vecinos que forman parte de la misma columna del array (-26dB), para los sensores que forman parte de la misma fila, el crosstalk se concentra alrededor de (-34dB). Mientras que en los sensores que quedan en la diagonal se observa el nivel de crosstalk más reducido (-50dB).

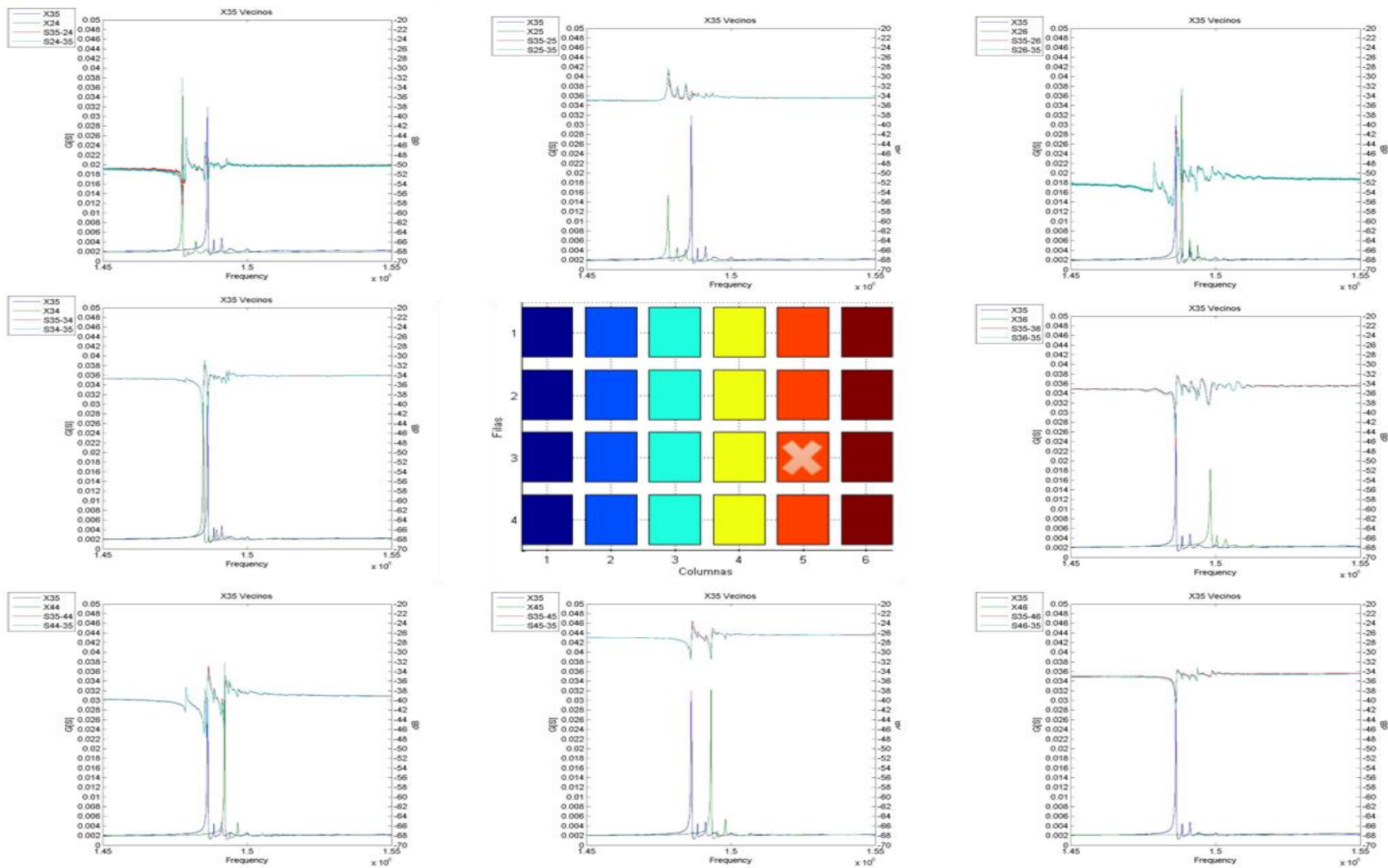


Fig. 36 Espectros de las conductancias del sensor (3,5) y el correspondiente vecino junto con el valor del parámetro S_{21} medido entre ellos

A partir de los valores presentados en la Fig.36, se observa un patrón que establece qué sensores se ven afectados en mayor medida cuando resuena un vecino (crosstalk es más elevado). De esta manera, se observa que cada sensor produce una mayor interferencia en los sensores con los que comparte columna. La interferencia sigue siendo elevada (aunque no tanto como en el caso anterior) en los sensores con los que comparte fila. Observando los datos, puede dividirse el conjunto array + PCB de contactos en 4 secciones, tal y como se observa en la Fig. 37. los sensores que pertenecen a cada sección son los que presentan un valor más elevado de crosstalk entre ellos. Este resultado puede ser debido al modo en el que están trazadas las pistas de contactos sobre PCB de contactos y la cercanía entre ellas. Las pistas de los sensores de una misma columna corren paralelas. A medida que los sensores se encuentran más alejados unos de otros el nivel de interferencia se ve reducido.

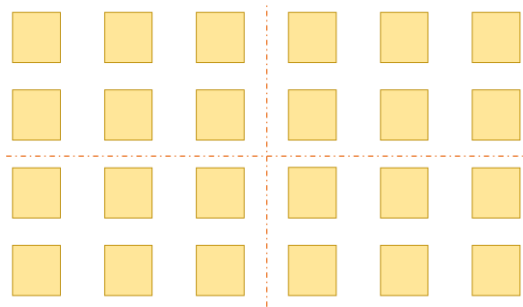


Fig. 37 Secciones en que queda dividido el array tras analizar el crosstalk del conjunto de array unido a la PCB

Ante este resultado, de nuevo aparece el interés de medir el crosstalk en el array sin haber sido adherido a la PCB de contactos. De esta manera, sería posible determinar si el nivel de este parámetro viene ya limitado por el comportamiento de los sensores dispuestos en array o si la introducción de la PCB hace que aumente el valor de interferencia.

4.4 Conclusiones del capítulo

Para conectar el array al equipo de caracterización encargado de registrar la respuesta eléctrica de cada uno de los sensores que lo forman, es necesario montar dicho array sobre una Printed Circuit Board (PCB). Sobre la PCB se trazan las pistas de oro necesarias para llevar a cabo dicha conexión. La PCB de contactos tiene una segunda función, y es servir de soporte al array para poder manipularlo, ya que debido a su fragilidad es inviable hacerlo directamente.

La unión entre el array y la PCB se hace mediante un epoxi conductor de un solo componente compuesto por polvo de plata puro. Se han llevado a cabo pruebas con dos diseños diferentes de PCB, en ambos casos se utilizan vías para “llevar” los contactos de la cara del array que está en contacto con la PCB (cara superior de la PCB), a la cara inferior de la PCB, la cual conectará el array con el sistema de caracterización. En el primer diseño el epoxi conductor se deposita directamente sobre la vía. En el segundo diseño, unido a la vía se ha implementado un pad sobre el que se deposita el epoxi. Tras las medidas realizadas, se comprueba que la tasa de sensores que dejan de resonar al unir el array a la PCB es similar. Sin embargo, la cantidad de epoxi necesario en la configuración que presenta el pad unido a la vía es mucho menor, y su dispensación mucho más fácil.

Para asegurar el correcto contacto entre array y PCB, y con ello reducir la tasa de sensores que dejan de resonar tras la adhesión del array a la PCB, es necesario aplicar cierta presión al conjunto. De este modo, se probaron diferentes métodos para ejercer presión sobre el conjunto

array+PCB durante el curado del epoxi conductor. Tres fueron los procedimientos seguidos: 1) haciendo presión en algunos puntos antes del curado del epoxi, 2) aplicando el vacío al conjunto de manera que el curado se realiza bajo estas condiciones y 3) ejerciendo presión de manera uniforme sobre toda la superficie durante el proceso de curado depositando cierto peso sobre el conjunto. Los métodos 2) y 3) presentaron la mayor tasa de sensores resonantes. Sin embargo, la deformación de las respuestas de los resonadores adheridos a la PCB, respecto a las respuestas obtenida sin unir era elevada para el método 2). Por lo que, se seleccionó el método 3) como el más adecuado. Las últimas pruebas de adhesión realizadas garantizan la resonancia de prácticamente el 100% de los sensores con respuestas adecuadas en cuanto a su forma.

Los resultados mostrados permiten concluir que la respuesta de los sensores que forman un array no se ve afectada, en gran medida, cuando éste se fija a la PCB de contactos. Se observa una ligera disminución de la frecuencia de resonancia, así como una reducción en el valor de la conductancia. También se aprecia un aumento del efecto capacitivo provocado por la adhesión mediante epoxi a la PCB. En relación a los modos de vibración inarmónicos, no se observa la aparición de modos adicionales por el hecho de unir el array a la PCB.

Con respecto a las medidas tomadas para evaluar el crosstalk del conjunto array+PCB, se observa que existe una mayor interferencia entre los sensores vecinos que ocupan la misma columna. Esto puede ser debido a que las pistas de estos sensores en la PCB son paralelas y están muy próximas, pudiendo ser este uno de los motivos del elevado crosstalk entre estos sensores. Quedaría pendiente evaluar el crosstalk de los sensores del array cuando éste aún no se ha adherido a la PCB de contacto, de este modo se podría concluir el efecto real que tiene la PCB en el crosstalk.

Capítulo 5. Evaluación del Cartridge completo incorporando la capa de microfluídica

5.1 Descripción de los diferentes métodos de fijación de la capa de microfluídica empleados

En el epígrafe que aquí se presenta, se detalla la realización de la tarea 3.1 planteada para lograr el objetivo 3 del Trabajo Fin de Máster.

Para la realización de los diferentes experimentos bioquímicos es necesario crear una estructura de microfluídica que conforme los canales necesarios para hacer llegar, a cada columna de sensores del array, el flujo de la muestra correspondiente. Dicha estructura estará formada por 6 canales, uno por cada una de las columnas del array, 6 pocillos en los que se depositará el componente a inyectar a cada columna de sensores (uno para cada canal), y un reservorio (*waste*) en el que se irá desechando cada componente una vez que ya haya pasado por el sensor. El material empleado para la fabricación de la estructura de microfluídica es OSTEMER. Este material es una resina (polímero) utilizado en microsistemas y bioMEMS (bio-Microelectromechanical Systems). Los OSTEMER empleados, están constituidos por dos componentes que deben ser mezclados en la correcta proporción, y que presentan dos fases de curado: 1) durante la primera fase se fijan las propiedades geométricas del OSTEMER; y 2) durante la segunda se establecen las propiedades mecánicas del material, además, de conseguir la completa adhesión del material a la superficie sobre la que se haya depositado. El resultado es una capa rígida de geometría perfectamente definida y adherida sobre la superficie en la que se ha depositado. En este TFM se ha trabajado con dos variantes de este material:

- OSTEMER Flex. Una vez curado se genera un material flexible y deformable.
- OSTEMER Crystal Clear. Tras su curado se mantiene transparente, lo cual es útil para tener un control visual de las capas que queden por debajo de él.

Durante el desarrollo de este TFM se han testeado diferentes métodos de elaboración de la estructura de microfluídica. En los apartados que se incluyen a continuación se presentan las diferentes soluciones testeadas.

5.1.1 Prueba 1. Capa de microfluídica fabricada en la Université Catholique de Louvain (UCL)

El diseño y fabricación de la capa de microfluídica era una tarea asignada a la Université Catholique de Louvain dentro del proyecto **LipBiopSens**. A continuación, se describe el proceso aplicado por el equipo de trabajo de esta institución para llevar a cabo su fabricación.

La primera propuesta de diseño consistió en hacer crecer la capa de OSTEMER directamente sobre el array+PCB. Para ello se creó un molde que marcaba las zonas que debían quedar despejadas de OSTEMER. La base de este molde era el array+PCB. Mediante inyección, se rellenaba el molde quedando vacías las áreas de los canales, los pocillos y el waste. Al realizar la inyección, y debido al desnivel que existe entre la PCB y el array, y que puede observarse en la Fig. 39, parte del OSTEMER se “fugaba” entre la oblea del array y la placa PCB, destruyendo totalmente la resonancia de los sensores. Para evitar dichas fugas, el equipo de AWSensors, colocó un cordón de epoxi a lo largo de todo el perímetro del array, dicho cordón sirve para fijar el array a la PCB, pero también para evitar que las fugas de OSTEMER se introduzcan entre la PCB y el array (ver Fig. 38).

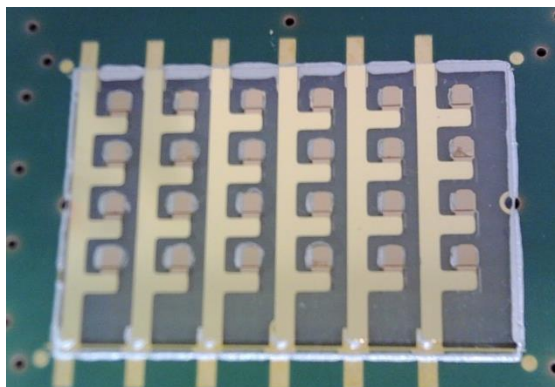


Fig. 38 Detalle del anillo de epoxi depositado a lo largo del perímetro del array para su unión con la PCB de contactos.

Puesto que los resultados no fueron satisfactorios, ya que los sensores del array dejaron de funcionar y se producían fugas de fluido, la Université Catholique de Louvain propuso una segunda solución en la que ya no era necesario crear el cordón de epoxi que rodea al array.

En primer lugar, se realiza un molde de aluminio que presente la estructura de micro-canales deseada. A continuación, se elabora un contra-molde de PDMS⁴ que se rellena con OSTEMER, adaptándose éste a la forma del contra-molde durante la primera fase del curado. El uso de PDMS facilita la separación de la capa de OSTEMER creada. Una vez retirado el contra-molde de PDMS, queda una capa de aproximadamente 1cm de espesor que se coloca sobre el conjunto array+PCB. Para acabar de fijar la capa de OSTEMER al conjunto, se aplica la segunda etapa de curado del material. El OSTEMER utilizado en este proceso es OSTEMER Crystal Clear, de modo que queda una capa transparente que permite ver los sensores del array.

Los cartridge fabricados siguiendo el proceso descrito anteriormente presentaban pérdidas del fluido, debido a que el pegado del OSTEMER sobre el array+PCB no era correcto. Se atribuyó este problema a los desniveles existentes entre la PCB y el array puesto que, a pesar de ejercer presión en la adhesión del array sobre la PCB, existían pequeñas diferencias de altura entre ambas superficies. Además, se observaron otros tres inconvenientes. El primero fue el bajo porcentaje de sensores que continuaban resonando tras el proceso de fijación de la estructura de microfluídica. Esto demostraba la necesidad de mejorar el proceso de fabricación en todas las etapas del mismo. El segundo inconveniente observado fue la diferencia de longitud del canal para sensores ubicados en posiciones diferentes. Es decir, estando todos los pocillos que alimentan cada columna cargados con el componente al mismo tiempo, éste llegaba antes a una fila que a otras. El tercer inconveniente que se detectó fue que, una vez rellenado el pocillo de la primera columna, el fluido se distribuía por los diferentes sensores de dicha columna antes de

⁴ El PDMS es un material que pertenece al grupo de las siliconas, es transparente, inerte y no tóxico.

que el resto de pocillos fueran rellenados. Para resolver este problema, se planteó la posibilidad de ejercer cierta presión desde el final del canal (desde el waste y en dirección hacia los pocillos). Dicha presión se debía ejercer mientras se iba depositando el componente en cada pocillo. Una vez rellenados los pocillos bastaba con cambiar de dirección la presión ejercida (desde los pocillos y hacia el waste ubicado al final del canal) para succionar el componente y hacerlo pasar por el sensor.

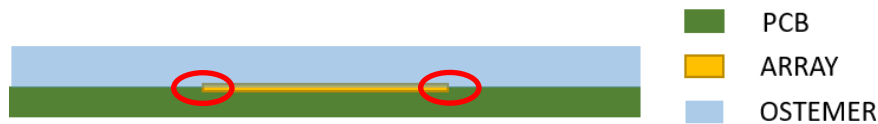


Fig. 39 Estructura del cartridge en la que existe un desnivel entre el array y la PCB (en rojo). Prueba 1

5.1.2 Prueba 2. Leveling Layer + Capa de microfluídica

Los problemas detectados en la solución anterior motivaron la propuesta de una segunda solución para la fabricación de la capa de microfluídica. En este caso, el proceso de fabricación de la estructura de microfluídica se realizó en AWSensors, y se dividió en dos etapas. En la primera etapa se hizo crecer una capa muy fina de OSTEMER que permitía salvar el desnivel existente entre la PCB y el array de sensores. Esta primera capa dejaba abiertos los canales sobre los sensores, de modo que su única misión era la de nivelar la unión de PCB con el array (ver leveling layer en Fig. 40). En la segunda etapa, se creaba la estructura formada por los 6 pocillos, el waste y los 6 canales de unión entre cada pocillo y el waste haciendo uso del contra-molde de PDMS presentado anteriormente. Una vez creada esta capa de microfluídica, se alineaba correctamente sobre el conjunto formado por la PCB de contactos, el array y la capa de nivelación fabricada en OSTEMER (leveling layer).



Fig. 40 Estructura de microfluídica. Prueba 2

Para la fabricación de la capa de nivelación (*leveling layer*), se implementaron 3 moldes idénticos de teflón los cuales se colocan sobre una misma base. De este modo, era posible obtener tres *leveling layers* simultáneamente cada vez que se aplicaba el proceso de fabricación. En este caso se utilizó el material OSTEMER FLEX formado por dos componentes que deben ser mezclados. La manipulación del OSTEMER debe realizarse en una cámara oscura, ya que la luz ultravioleta provoca su curado. Realizada la mezcla de OSTEMER, se depositaba en cada uno de los moldes de teflón la cantidad adecuada para rellenar el molde. Sobre los moldes y con el OSTEMER dispuesto, se deposita una lámina de PDMS (material al que no se pega el OSTEMER) que asegura que el OSTEMER, una vez realizada la primera fase de curado, quede

totalmente liso. Sobre la capa de PDMS se enrosca al molde una tapa de PSU⁵ que deja una estructura compacta para ser introducida en un *spin coater*.



Fig. 41 Moldes empleados para la fabricación de la leveling layer

Se programa el spin coater durante el tiempo adecuado y a un número de revoluciones por minuto con el fin de que el OSTEMER se reparta ocupando todo el molde. Durante la última parte del proceso de girado, se aplica sobre los moldes luz ultravioleta, lo cual permite fijar la posición del OSTEMER, iniciando así la primera etapa de curado. A continuación, y ya fuera del *spin coater*, se aplica individualmente a cada uno de los moldes luz ultravioleta durante otro espacio de tiempo, de manera que la primera fase de curado del OSTEMER se da por finalizada. El tiempo de exposición a la luz ultravioleta, debe ser el suficiente para que el OSTEMER adquiera consistencia, pero manteniendo un punto de humedad que facilite su pegado. El siguiente paso es el desmoldado de la fina lámina de OSTEMER, de unas 300 μ m, y su posicionado sobre el array+PCB. Esta etapa del proceso exige precisión y minuciosidad debido a la fragilidad de la lámina, y a la necesidad de un correcto alineamiento de las aperturas presentes en la lámina, las cuales se corresponden con las columnas de sensores. Una vez colocada la capa por su parte lisa sobre el array+PCB, es de gran importancia ejercer una presión uniforme en toda la superficie para asegurar la correcta adhesión de la lámina a la superficie, evitando que se queden cavidades con aire. Para conseguir esta presión uniforme, se introducen las tres muestras, haciendo uso de un soporte, en una bolsa que se cierra herméticamente haciendo vacío. Para evitar el pegado de las láminas de OSTEMER con la bolsa, se coloca entre ellas una lámina de FEP. Una vez realizado el vacío, se introduce todo el conjunto en el horno para llevar a cabo la segunda fase del curado del OSTEMER.

⁵ El PSU o Polisulfona es un termoplástico amorfo con una alta resistencia mecánica y rigidez. Es translucido de color marrón claro.

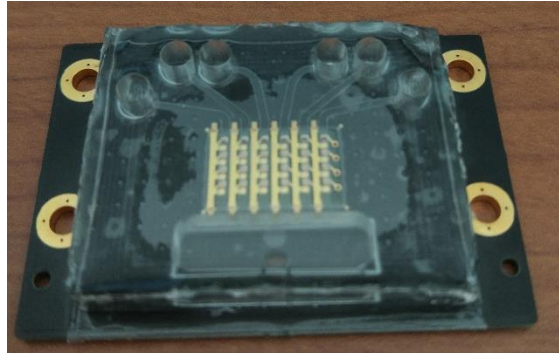


Fig. 42 Prototipo obtenido mediante la realización de la Prueba 2

Tras el curado de la *leveling layer* se midieron las respuestas de los sensores. Dichas medidas confirmaron que la adhesión de la capa de nivelación no introducía ningún efecto negativo en las resonancias de los sensores. Dicha comprobación confirmó que era posible continuar con la realización de la siguiente etapa del proceso de fabricación la capa de microfluídica. El tipo de OSTEMER utilizado para la fabricación de esta capa es OSTEMER Crystal Clear. Se eligió este tipo de material para asegurar que, tras su curado, dicho material se mantiene transparente, lo que facilitará su posicionado sobre el conjunto array+PCB. El proceso de fabricación de esta capa hace uso del contra-molde de PDMS presentado en el epígrafe 5.1.1. Este proceso era práctico, sin embargo, era necesario asegurarse de que se adhería correctamente a la capa de nivelación. Se llevaron a cabo diversas pruebas para asegurar la correcta adhesión de la capa de microfluídica al conjunto. Para lograr una buena adhesión de la capa, se aplicaron sobre el conjunto, presiones superficiales uniformes mediante la realización del vacío. Sin embargo, no se consiguió adherir bien la capa, debido a que probablemente su volumen era demasiado elevado.

5.1.3 Prueba 3. Leveling Layer + Channels Layer + PSU Pieces

Los resultados obtenidos con la prueba 2 obligaron a rediseñar el proceso de fabricación de la capa de canales de microfluídica. En esta solución se utilizan de nuevo dos capas de OSTEMER. La primera capa (capa de nivelación), *leveling layer*, se mantiene igual que en la solución anterior. La segunda capa (capa de canales), *channels layer*, delimita y cierra los canales sobre los sensores. Incorpora 6 micro orificios que se abren a los canales por los que se introducirá la muestra a analizar, y cuya posición coincide con la posición donde se situaran los pocillos, además de un micro orificio para la conexión con el *waste*. Después de su fabricación, tanto la capa de nivelación como la capa de los canales presentan una cara lisa y brillante (cara en contacto con el PDMS), y otra más rugosa correspondiente a la cara de la capa que no ha estado en contacto con el PDMS. En esta solución, la cara brillante del OSTEMER deberá quedar en la parte inferior, con el fin de facilitar su adhesión a la superficie correspondiente. Colocada la capa de canales se pegarán sobre ella unas piezas realizadas en PSU (pocillos y el *waste*) que conectan con los orificios de la segunda capa.

El proceso de montaje de la capa de microfluídica, una vez elaboradas sus diferentes láminas, es completamente manual. El posicionado de la capa de nivelación se realiza con ayuda de una pequeña pieza en la que se “encaja” la lámina, dejando su cara brillante a la vista. La posición de la PCB es siempre la misma y queda determinada por dos taladros que posee y que sirven de guía para posicionar la PCB sobre esta pieza (véase Fig. 43) Una vez colocada la PCB sobre la capa de nivelación se ejerce cierta presión para que se adhiera.

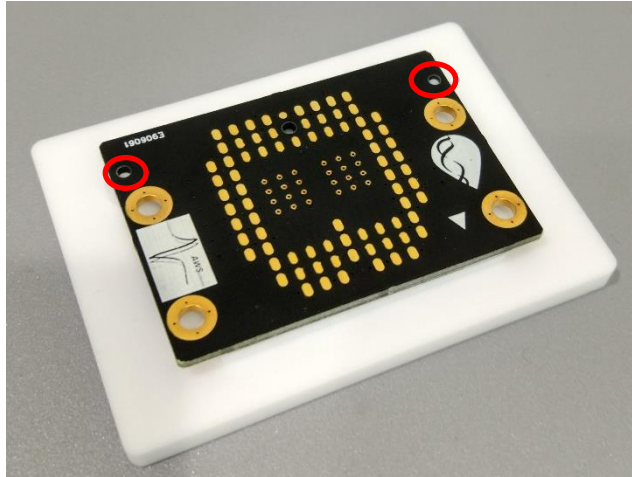


Fig. 43 Pieza sobre la que se coloca la lámina de OSTEMER. Marcado en rojo los taladros que permiten colocar la PCB de contactos

La capa de canales también se posiciona de forma manual empleando el mismo posicionador. Realizada esta tarea, se sigue el mismo procedimiento ya empleado anteriormente. Se introduce el conjunto en una bolsa, con una lámina de FEP sobre él y se aplica el vacío consiguiendo ejercer presión de manera uniforme en toda la superficie. A continuación, se introduce en el horno para iniciar la segunda etapa del proceso de curado del OSTEMER.

Tras la elaboración del prototipo (ver Fig. 44) se realizaron pruebas para evaluar posibles pérdidas de fluido, para ello se inyectó el líquido mediante una jeringa manual. En esta solución se observó un flujo perfecto del líquido a través de los canales formados por la capa de microfluídica. Sin embargo, al dejar el líquido estático sobre los canales, se observaron pequeñas fugas del líquido entre las dos capas de OSTEMER. Por tanto, la solución debe ser revisada. No obstante, para realizar las primeras pruebas podría utilizarse esta solución mientras no se deje el líquido estático.

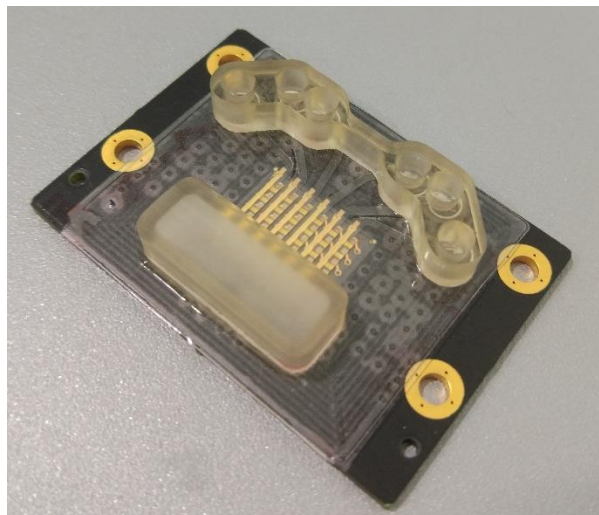


Fig. 44 Prototipo obtenido mediante la realización de la Prueba 3

5.2 Definición del montaje experimental para evaluar el buen funcionamiento de la capa de microfluídica

En el epígrafe que aquí se presenta, se detalla la realización de la tarea 3.2 planteada para lograr el objetivo 3 del Trabajo Fin de Máster.

Para la caracterización del cartridge completo, el cual está formado por la capa PCB de contactos adherida al array, y éste a su vez adherido a la capa de microfluídica, se empleará el mismo set-up de medida utilizado para la caracterización del conjunto array+PCB. Este set-up de medida se presentó en el epígrafe 4.2, y permitirá obtener la nueva respuesta de los sensores que conforman el array tras la colocación de la capa de microfluídica.

Además de obtener la respuesta en frecuencia de los resonadores, se deberá comprobar la estanqueidad de la estructura creada ante el paso de fluidos de manera que se asegure que éstos se mantienen dentro de las áreas destinadas para ello. Para llevar a cabo esta tarea, se emplearán tintes de colores diluidos en agua para facilitar la observación del flujo del líquido. Un cierto volumen de estos tintes se depositará, con ayuda de una micropipeta, en cada uno de los 6 pocillos. Con ayuda de una jeringa manual conectada al waste del cartridge mediante una tubería, se absorberán las muestras haciéndolas pasar a lo largo de los canales hasta llegar al reservorio. Llenados los canales, se dejarán en este estado durante un tiempo para comprobar si el líquido se difunde fuera de los canales. Tras la realización de esta prueba, se empleará una jeringa mecánica, como la que incluye la plataforma F20 para generar un flujo constante de absorción. Estas pruebas permitirán comprobar si el flujo por los diferentes canales circula de manera uniforme.

5.3 Resultados y discusión

Tras los diferentes rediseños y las pruebas llevadas a cabo, la solución final consigue mantener el porcentaje de sensores resonantes tras la adhesión de la *leveling layer*. Puesto que la adhesión de la capa de canales presentaba fugas, se emplearon prototipos en los que los sensores que componen el array no proporcionaban una respuesta adecuada, con el objetivo de optimizar el proceso de fabricación sin desaprovechar los recursos. Como consecuencia no se dispone de la respuesta en frecuencia de los sensores tras completar la fabricación del cartridge. Para comprobar que la resonancia de los sensores se mantenía al introducir la *leveling layer*, se caracterizaron diversos prototipos formados por el conjunto PCB de contactos+array+*leveling layer*. En la Fig. 45 se muestra la respuesta resonante de un sensor de un array en tres situaciones: (1) array sin adherir a ninguna capa, (2) conjunto array + PCB de contactos y (3) conjunto array+PCB de contactos+*leveling layer*. Como se puede observar, la adhesión de la *leveling layer* produce un desplazamiento de la frecuencia de resonancia fundamental hacia frecuencias más bajas, así como una disminución del valor de la conductancia máxima. En relación a la susceptancia, su nivel se mantiene igual que el obtenido para el conjunto array+PCB de contactos, aunque también ve reducido su máximo valor. Esta situación se repite en general para todos los sensores del array.

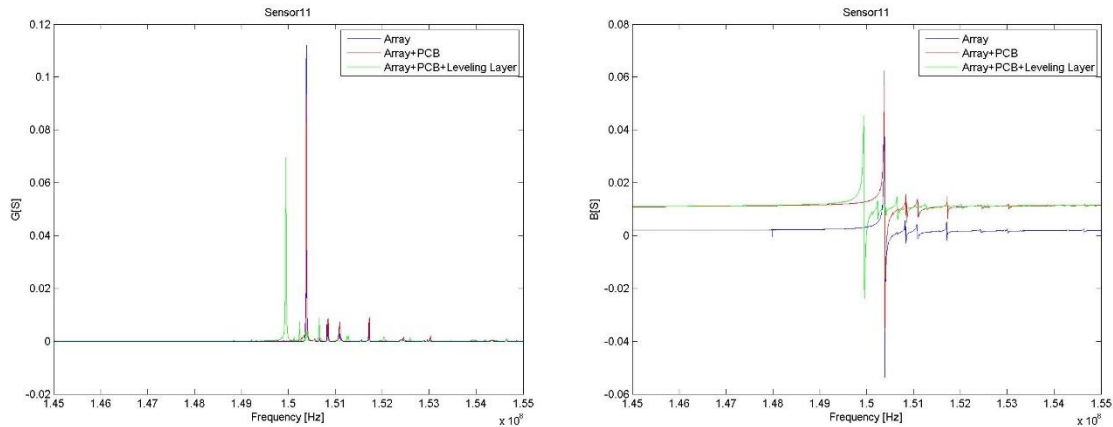


Fig. 45 Conductancia y susceptancia del sensor (1,1) de un mismo array antes y después de su adhesión a la PCB y tras el pegado de la leveling layer

En cuanto a las pruebas de estanqueidad, solo se llevaron a cabo las descritas empleando una jeringa manual, puesto que fueron suficientes para percibir la existencia de fugas. En la Fig. 46 se observan los 6 canales del cartridge rellenos con un tinte rojo. En la figura se observa que el tinte rojo queda perfectamente confinado al espacio trazado por los canales de la capa de microfluídica. Como se ha comentado anteriormente, al parar el flujo y dejarlo sobre el sensor de forma estática se producían pequeñas fugas del líquido fuera de los canales, principalmente en el área comprendida alrededor del array.

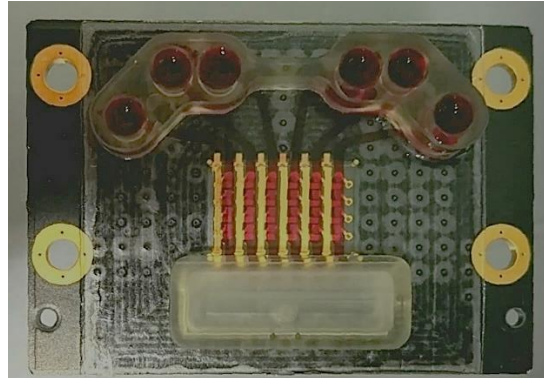


Fig. 46 Prueba de estanqueidad realizada haciendo uso de una jeringa manual y de tinte rojo diluido en agua.

Una vez completado el proceso de fabricación y llevadas a cabo todas las pruebas para asegurar la estanqueidad del cartridge, el siguiente paso para validar el mismo consistirá en realizar experimentos con muestras reales. Por cuestiones de tiempo, no se han llegado a realizar en este TFM, por tanto, la realización de los mismos se deja como futura línea de trabajo.

5.4 Conclusiones del capítulo

El proceso de fabricación de la capa de microfluídica ha supuesto la implementación de diferentes soluciones que han sido testeadas y evaluadas. El protocolo de fabricación que se ha dado por válido consiste en dos etapas. En la primera se fabrica una capa de nivelación que permite solventar las diferencias de altura entre la superficie del array y la superficie de la PCB de contactos. La capa de nivelación también delimita los canales sobre las columnas del array. En la segunda etapa se fabrica una capa que cierra los canales (channels layer), y que contiene unos micro-orificios que permiten el flujo de líquido sobre los sensores. Ambas capas se realizan en OSTEMER. Por último, se añaden unas piezas de PSU que conforman los pocillos y el waste.

Tras los resultados presentados, puede afirmarse que se dispone de un cartridge funcional al 90%. Se ha podido confirmar que los sensores que conforman el array continúan presentando resonancia en todas las etapas del proceso de fabricación hasta la adhesión de la capa de nivelación realizada en OSTEMER (leveling layer). No obstante, queda pendiente resolver el problema de las pequeñas fugas de líquido que se producen al introducir la segunda capa (channels layer). También queda pendiente el registro de la respuesta resonante de los sensores del cartridge completo.

Capítulo 6. Planificación

El Trabajo Fin de Máster que aquí se presenta contribuye a la realización de determinadas tareas de los proyectos LipBiopSens y PQHTS-Honey. En particular, el TFM se ha desarrollado dentro de las tareas de ambos proyectos consistentes en la integración y evaluación del cartridge. De acuerdo a esto, se realizó una división temporal de las diferentes labores a realizar para cumplir con el objetivo marcado.

Durante el primer mes (enero) se realizaron tareas de documentación sobre la tecnología empleada en este TFM, en particular, al conocimiento de los sensores de alta frecuencia basados en los diseños inverted MESA. Para ello se realizó una búsqueda bibliográfica de diversos artículos científicos relacionados con el tema. En paralelo con esta tarea, se dedicó tiempo a aprender el manejo del robot de dispensación (funcionamiento y programación del mismo), así como a la búsqueda de información sobre epoxis disponibles para llevar a cabo la fijación del array a la PCB de contactos. Durante el siguiente mes (febrero) se caracterizaron los sensores individuales, cuyas respuestas se utilizarían como referencia, y los prototipos de array enviados por CONWIN. A comienzos del mes de marzo se inició la fabricación de la PCB de contactos. El mes de marzo completo y parte del mes de abril se dedicó a las tareas que comprende la adhesión del array a la PCB de contactos. El mes de abril se dedicó a la caracterización de la respuesta resonante de los sensores del conjunto formado por array+PCB. A partir del mes de abril, comenzaron a enviarse los prototipos del conjunto array+PCB de contactos a la UCL, con el fin de que desarrollaran la capa de microfluídica. Los primeros prototipos llegaron en mayo, y los resultados no fueron buenos, por lo que todo el mes de mayo y junio se dedicaron al desarrollo de la capa de microfluídica y a la caracterización del cartridge global. En dicha caracterización se realizaron estudios comparativos del efecto que tiene la adhesión de la capa de microfluídica a la respuesta del sensor. También se realizaron las pruebas de estanqueidad de toda la estructura fabricada. El mes de junio, en paralelo con las pruebas anteriormente mencionadas, se dedicó a la redacción de la memoria de este TFM.

Integración y evaluación del cartridge	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio
Documentación sobre la tecnología	■					
Familiarización con el manejo del robot		■				
Caracterización de los arrays HFF-QCM			■			
Fabricación del conjunto array+PCB			■	■		
Caracterización del conjunto array+PCB				■		
Fabricación de diversas soluciones para implementar la capa de microfluídica					■	■
Caracterización del cartridge y pruebas de estanqueidad					■	■

Tabla 5 Diagrama temporal del desarrollo del TFM

Capítulo 7. Conclusiones

Las conclusiones del presente Trabajo Fin de Máster son:

1. Se han comparado las simulaciones realizadas para definir las especificaciones de diseño de un sensor individual HFF-QCM de 150MHz con la caracterización experimental de los sensores fabricados, y se ha comprobado que los resultados obtenidos se corresponden con lo simulado teóricamente.
2. Tomando como referencia las respuestas experimentales obtenidas para los sensores individuales, se ha comprobado el correcto funcionamiento de los sensores de un array comparando las respuestas resonantes de los sensores que lo forman con las obtenidas para los sensores individuales. Con este estudio se valida parcialmente el diseño del array, ya que, por motivos de montaje, no se ha podido evaluar el crosstalk entre sensores del array.
3. Se ha definido el procedimiento más adecuado para la adhesión de la PCB de contactos con el array de sensores. En este sentido, se ha seleccionado el epoxi más apropiado para llevar a cabo dicha adhesión, así como el diseño de las pistas, vías y pads que conforman la PCB. También se ha programado una rutina para controlar el robot de posicionado y dispensación encargado de realizar los depósitos del epoxi sobre la PCB.
4. Se concluye que la adhesión del array a la placa PCB produce una reducción de la frecuencia de resonancia de los sensores del array, así como la reducción del valor de la máxima conductancia. No se observa la aparición de nuevos modos inarmónicos de vibración. La adhesión de la PCB genera un desplazamiento de la susceptancia del sensor, debido a que introduce un efecto capacitivo adicional. El montaje en este caso sí ha permitido evaluar el crosstalk, observándose que cada sensor produce una mayor interferencia en los sensores con los que comparte columna. La razón puede deberse al modo en que están trazadas las pistas en la PCB de contactos.
5. Se han llevado a cabo diferentes pruebas para la elaboración de la capa de microfluídica buscando un proceso óptimo que garantice el sellado de esta capa sobre la PCB, y evite las fugas del fluido que circula por sus canales. Aunque debe seguir profundizándose en el diseño de esta capa para evitar pequeñas fugas que se producen, se ha podido comprobar que la adhesión de la capa de fluídica no introduce inarmónicos adicionales ni añade ninguna capacidad parásita, sin embargo, reduce tanto la frecuencia de resonancia como el valor de la máxima conductancia.

Capítulo 8. Futuras Líneas

El Trabajo Fin de Máster aquí descrito ha sido llevado a cabo dentro del desarrollo de dos proyectos de investigación: PQHTS Honey y LiqBiopSens. El proyecto PQHTS finaliza en diciembre de 2017, sin embargo, la ejecución del proyecto LiqBiopSens se extiende hasta el año 2018. La realización de este TFM ha supuesto un gran avance en las tareas de los dos proyectos de investigación y, adicionalmente, ha dejado muchas líneas futuras de investigación que se resumen a continuación:

1. Se debe realizar la medida del crosstalk (parámetro S_{21}) para los diferentes sensores de un array. De esta manera sería posible, comparar los resultados obtenidos con los adquiridos tras la adhesión del array a la PCB de contactos. De este modo se podría evaluar en qué grado la adhesión de la PCB aumenta dicho crosstalk.
2. Se debe continuar trabajando en el desarrollo de la capa de microfluídica, asegurando que no se producen fugas del fluido.
3. Se deben llevar a cabo experimentos que validen el correcto funcionamiento de los sensores comprobando que el límite de detección que presentan es suficiente para cumplir los objetivos marcados en los dos proyectos de investigación a los que da soporte. En este sentido, se plantean como líneas futuras la realización de los siguientes experimentos [10]:
 - a. Experimentos de detección de cambio de medio sobre el sensor. Se trata de hacer circular por cada sensor líquidos con diferentes propiedades viscoelásticas, y registrar los cambios en los parámetros eléctricos del sensor cuando cambian las propiedades de los medios depositados sobre él.
 - b. Detección de anticuerpos de la proteína A. Este experimento consiste en la inyección de cierta cantidad de proteína A en una determinada concentración sobre la superficie del sensor. El sensor absorbe la proteína hasta alcanzar su el límite de absorción. A continuación, se realiza la inyección del anticuerpo correspondiente, el cual se adherirá a la proteína A que se encuentra sobre la superficie del sensor. Reduciendo la concentración del anticuerpo, puede determinarse el Límite de Detección (LOD) del sensor.

Capítulo 9. Bibliografía

1. **Sauerbrey, G.;** Verwendung von Schwingquarzen sur Wägung Dünner Schichten und zur Mikrowägung. s.l. : Z. Physik, 1959, Vol. 155, págs. 206-222.
2. **Konash, P.L.; Bastiaans, G.J.** Piezoelectri Crystals as Detectors for Liquid Chromatography. s.l. : Analytical Chemistry, 1980, Vol. 52, págs. 1929-1931.
3. **Granstaff, V.E.; Martin, S.J.** Characterization of a Thickness Mde Quartz Resonator with Multiple Nonpiezoelectric Layers. s.l. : J.Appl.Phys, 1994, págs. 1319-1329.
4. **Shen, F.; Lu, P.; O'Shea, S.J.; Lee, K.H.;** Frequency Coupling and Energy trapping in mesa-shaped multichannel quartz crystal microbalances. s.l. : Elsevier, Kidlington, ROYAUME-UNI, 2004, Vol. 111, págs. 180-187.
5. *Quartz crystal resonator sensors under lateral field excitation - a theoretical and experimental analysis.* **Hempel, U.; Lucklum, R.; Hauptmann, P.R.; EerNisse, E.P.; Puccio, D.; Fernandez Diaz, R.;** 19, 19 de March de 2008, Measurement Science and Technology.
6. *Monolithic integration of AT-Cut Resonators Using Artificial Twin Quartz Plate.* **Noge, S.; Kamiyama, E.; Ueoka, Y.; Uno, T.;** 1997, IEEE Ultrasonics Symposium.
7. *Desing, manufacturing and characterization of high-frequency thickness-shear mode resonators.* **Rabe, Jens; Büttgenbach, Peter; Zimmermann, Bernd; Hauptmann, Peter.;** 2000, IEEE/EIA International Frequency Control Symposium and Exhibition.
8. *A dual lateral-field-excited bulk acoustic wave sensor array.* **Winters, Shane; Bernhardt, George; Vetelino, John F.;** 3, March de 2013, IEEE Transactions on ultrasonics, ferroelectrics and frequency control, Vol. 60.
9. *Influence of interchannel spacing on the dynamical properties of multichannel quartz crystal microbalance.* **Shen, Feng; Lu, Pin.;** 2, February de 2004, IEEE Transactions on ultrasonics, ferroelectrics and frequency control, Vol. 51.
10. *Real-time multianalyte biosensors based on interference-free multichannel monolithic quartz crystal microbalance.* **Jaruwongrunsee, Kata; Waiwijit, Uraiwan; Wisitsoraat, Anurat; Sangworasil, Manas; Pintavirooj, Chuchart; Tuantranont, Adisorn.;** 2014, Biosensors and Bioelectronics.
11. *A review of monolithic multichannels quartz crystal microbalance: A review.* **Tuantranont, Adisorn; Wisitsora-at, Anurat; Sritongkham, Pornpimol; Jaruwongrunsee, Kata.;** 2010, Analytica Chimica Acta.
12. *One-Chip multichannel quartz crystal microbalance (QCM) fabricated by Deep RIE.* **Abe, Takashi; Erashi, Msayoshi.;** 82, 2000, Sensors and Actuators.

13. *Acoustic interference suppression of quartz crystal microbalance sensor arrays utilizing phononic crystals.* **Chen, Yung-Yu; Huang, Li-Chung; Wang, Wei-Shan; Lin, Yu-Ching; Wu, Tsung-Tsong;**. 102, 2013, Applied Physics Letters.
14. *Frequency interference between two MESA-shaped quartz crystal microbalances.* **Shen, Feng; O'Shea, Sean J.; Lee, Kwok H.; Lu, Pin;**. 6, June de 2003, IEEE transactions on ultrasonics, ferroelectrics and frequency control, Vol. 50.
15. *Finite element analysis of interference for the laterally coupled quartz crystal microbalances.* **Lu, F.; Lee, H.P.; Lu, P.; Lim, S.P.;**. 2005, Sensors and Actuators, Vol. 119.