

Sistema eletrônico para a caracterização elétrica do EGFET como sensor de pH

Luiz Roberto Filho e Pablo Diniz Batista*
Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas -
Rua Dr. Xavier Sigaud,
150 - Urca - Rio de Janeiro - RJ - Brasil - CEP:22290-180†
(Dated: 5 de Junho de 2013)

Este trabalho apresenta o desenvolvimento de um sistema eletrônico para a caracterização elétrica de sensores de pH baseados no transistor de efeito de campo com gatilho estendido (EGFET). O protótipo possui duas saídas de tensão programáveis e um circuito para medida de uma corrente elétrica. A título de aplicação, um eletrodo de vidro é utilizado como membrana sensível para investigar o funcionamento do EGFET como sensor de pH. Os resultados obtidos mostram que o sistema desenvolvido é uma alternativa aos equipamentos comerciais para a caracterização elétrica desses dispositivos semicondutores.

ISFET, EGFET, pH sensor, microcontroller

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento dos bio-sensores ocorreu devido à crescente necessidade de identificação e quantificação de metabólitos de forma rápida, específica e em quantidades de amostras muito pequenas no campo da medicina. Em geral, os bio-sensores podem ser definidos como um sensor químico cujo reconhecedor é um componente biológico ativo, o que significa que um processo bioquímico é a fonte de um sinal analítico. Assim, uma das características dos bio-sensores deve ser a sua alta seletividade para uma determinada substância [1–8]. A importância dos bio-sensores está fundamentada em suas diversas aplicações na área médica, seja em laboratórios de pesquisa, laboratórios clínicos, em cuidados clínicos ou como componente de instrumentos terapêuticos especiais. Cada uma destas aplicações envolve uma demanda por um sensor específico. Por exemplo, a aplicação de bio-sensores em laboratórios clínicos origina-se pela grande demanda por métodos rápidos, confiáveis e baratos para a determinação de substâncias em fluidos biológicos tais como glicose no sangue, colesterol, lactato, uréia, creatinina, ácido úrico, hemoglobina, e etc [8–14]. Nessa perspectiva, a pesquisa na área de bio-sensores tem tido um enorme crescimento nestes últimos anos e uma grande quantidade de tipos de bio-sensores já foram propostos [8, 10, 11]. É neste sentido que destacamos o surgimento do transistor de efeito de campo sensível a íons (ISFET, abreviado direto do inglês ion-sensitive field effect transistor).

2. DISPOSITIVOS DE EFEITO DE CAMPO COMO SENSORES DE PH

O ISFET foi apresentado por Bergveld, na Universidade de Twente em 1968, como o primeiro sensor químico com

pequenas dimensões utilizando um dispositivos semicondutor [15]. Aproximadamente ao mesmo tempo que Bergveld, mas um pouco atrasado, Matuso da Universidade de Tohoku no Japão, depois de voltar de férias na Stanford, publicou seus resultados em que apresentava um novo tipo de dispositivos semelhante ao ISFET, primeiramente em um periódico Japonês [16], e mais tarde, em um jornal internacional [17]. Em seguida várias aplicações utilizando o ISFET foram realizadas [18, 19]. Por exemplo, em 1983, J Van De Spiegel e colaboradores relataram o funcionamento do primeiro EGFET (transistor de efeito de campo com porta estendida) [20]. Esse dispositivo utiliza o mesmo princípio de funcionamento do ISFET mas tem como principal diferença o fato de que a porta não é fabricada diretamente na estrutura do MOSFET. O EGFET foi inicialmente proposto como uma alternativa ao ISFET para a detecção ao mesmo tempo em um só dispositivo de várias substâncias. Sua estrutura consistia em uma membrana conectada à um MOSFET através de uma cabo coaxial. A estrutura da membrana e o MOSFET são fabricados em um substrato de silício e o material assim como as características utilizadas para a fabricação da membrana dependem da substância a ser detectada. Por exemplo, foram utilizados filmes de $IrOx$, LaF_3 , $AgCl$ e Ag_2S . Após 17 anos, Li-Te Yin e colaboradores apresentaram à comunidade científica uma nova alternativa à fabricação do EGFET [21, 22]. Ao contrário de J Van Der Spiegel, eles desenvolveram o EGFET a partir da conexão entre uma membrana sensível a íons de hidrogênio e o MOSFET comercial CD4007UB. Nesse primeiro trabalho, a membrana foi desenvolvida a partir de um filme fino de SnO_2 depositado por *sputtering* em um substrato de vidro coberto por uma camada de alumínio. Os primeiros resultados mostraram que esse dispositivo apresentou uma sensibilidade de 50 mV/pH. A principal diferença do EGFET em relação ao ISFET é que para o mesmo não é necessário fabricar a estrutura do MOSFET. Consequentemente, os custos são reduzidos facilitando assim a fabricação de sensores de pH já que algumas etapas envolvidas no desenvolvimento do MOSFET são excluídas. Por exemplo, como o MOSFET comercial não é imerso na solução, ao contrário do ISFET, o

*batista@cbpf.br

†URL: <http://batistapd.com>; URL: <http://cbpf.br>

mesmo não é danificado e pode ser reutilizado várias vezes; além do mais, os problemas relacionados ao encapsulamento do ISFET não são observados na fabricação do EGFET. A primeira aplicação do EGFET como bio-sensor consistiu na detecção de acetilcolina através de uma reação enzimática como o acetilcolinesterase [23]. A acetilcolinesterase foi imobilizada em uma membrana de SnO_2 de tal maneira que a reação enzimática com a acetilcolina resultasse na liberação de H^+ . Consequentemente, a variação do pH foi facilmente detectada pelo EGFET. O bio-sensor apresentou um tempo de resposta de 100 segundos e uma resposta linear para concentrações de 1 até 2.5 mM de acetilcolina. Em seguida, outros trabalhos foram desenvolvidos explorando tanto a otimização do dispositivos como sensor de pH como em aplicações envolvendo bio-sensores [24–29]. Essas características fizeram com que a nova abordagem para o desenvolvimento de sensores de pH e bio-sensores se tornasse uma alternativa viável à fabricação do ISFET.

3. MÓDULO ELETRÔNICO PARA CARACTERIZAÇÃO DO EGFET

De uma maneira geral, os procedimentos adotados para realizar a caracterização elétrica do EGFET como sensor de pH tem sido semelhante aos procedimentos utilizados para levantar as curvas características do MOSFET (ver figura 1). Mas, ao contrário deste, as curvas de correntes são estudadas em função da concentração de íons de hidrogênio presentes na solução na qual a membrana está imersa. Na prática um analisador de parâmetros poderia ser utilizado para realizar medidas da corrente em função do valor de pH da solução. Entretanto, esse trabalho tem como objetivo principal desenvolver um módulo eletrônico dedicado para a caracterização elétrica do EGFET como sensor de pH. Basicamente, deve ser capaz de aplicar tensões ao MOSFET e ao eletrodo de referência ao mesmo tempo em que a corrente entre o dreno e a fonte é monitorada. É fundamental também que o valor dessas tensões assim como as medidas de corrente possam ser controlados remotamente de modo a permitir medidas automatizadas da corrente em função da tensão para diversas situações.

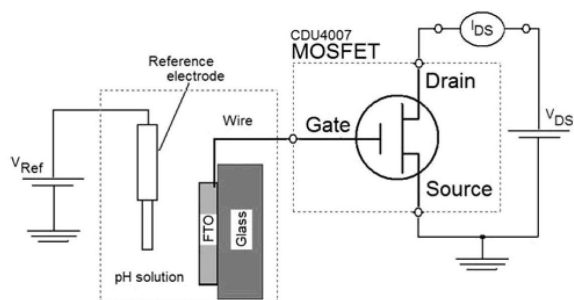


Figura 1: Representação da estrutura do EGFET conectado ao sistema de medida. Esse dispositivo consiste em uma membrana sensível conectada a um MOSFET comercial. A caracterização do sensor consiste simplesmente em monitorar a corrente entre a fonte e dreno em função do pH em diferentes modos de operação do transistor. Um das vantagens é o baixo custo, pois ao contrário do ISFET, o transistor não precisa ser fabricado.

Nessa perspectiva, a figura 2 apresenta em diagramas de blocos, a proposta para o analisador de parâmetros para dispositivos semicondutores. O bloco analógico consiste em um conversor digital para analógico conectado (DAC) a um seguidor de tensão. Esse conversor será utilizado como uma fonte de tensão programável para a polarização do MOSFET. Para cada fonte de tensão está presente um bloco dedicado ao voltímetro e ao amperímetro, cujas saídas são multiplexadas para um conversor analógico digital por meio de amplificador de ganho programável de seis entradas. A comunicação entre o microcontrolador e os periféricos é realizada por meio do protocolo SPI, enquanto que, com o computador pessoal através de uma porta USB. Algumas das principais características esperadas deste módulo eletrônico são: baixo custo, flexibilidade, portabilidade, fonte de alimentação integrada ao módulo e comunicação com um computador pessoal. Cada um desses blocos será apresentado em detalhes a seguir.

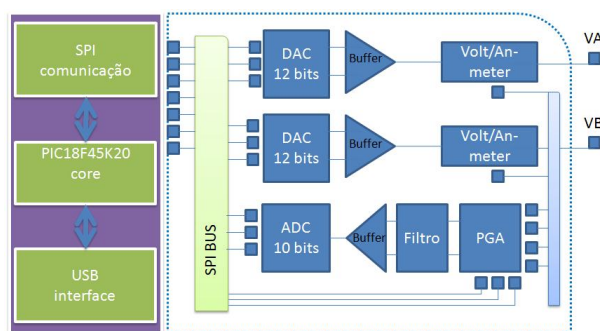


Figura 2: Representação esquemática do analisador de parâmetros para dispositivos semicondutores desenvolvido por meio de microcontrolador PIC18F45K20. Este módulo fornece duas saídas de tensões programáveis acopladas a voltímetros e amperímetros

3.1. Fonte de tensão programável

A caracterização elétrica do EGFET como sensor de pH necessita de duas fontes de tensões para a polarização do MOSFET. Nessa perspectiva, a figura 3 apresenta em detalhe o esquema elétrico para uma fonte de tensão com duas saídas programadas remotamente projetadas usando o MCP4822 [30]. Acoplado a cada saída deste circuito encontra-se um seguidor de tensão elaborado por meio do amplificador operacional LM358 de tal maneira que as saídas A e B são monitoradas pelo voltímetro e disponibilizadas para a polarização do EGFET.

O MCP4822 é um conversor digital para analógico de duas saídas com resolução de 12 bits e interface de comunicação SPI. Cada um dos dois canais pode operar em modo ativo ou desligado de acordo com os valores presente nos registradores de configuração. Para garantir a estabilidade da tensão de saída optou-se por utilizar o MCP1541 que fornece uma tensão de referência de 4.096 V e consequentemente, a tensão na saída da fonte programável terá uma resolução de 1 mV [31]. A tensão de entrada do MCP1541 é conectada ao dispositivo na entrada V_{IN} em paralelo com o capacitor cerâmico. Este capacitor rejeita na entrada o ruído de tensão

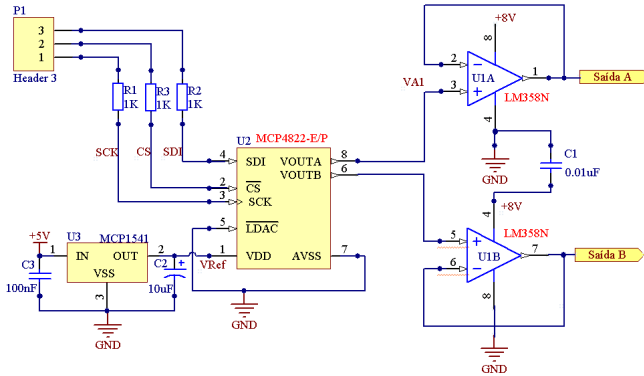


Figura 3: Esquema elétrico para a fonte de tensão programável por meio do MCP4822. O MCP4822 consiste em um conversor analógico digital com duas das saídas. O MCP1541 é responsável por fornecer uma tensão de 4.096 Volts estável para ser utilizada como uma tensão de referência, e conseqüentemente cada uma das tensões de saídas tem uma resolução de 1 mV.

na faixa de aproximadamente 1 a 2 MHz. Ruídos acima de 2 MHz estão bem além da largura de banda da tensão de referência, e conseqüentemente, não serão transmitidas do pino de entrada para a saída. A capacitância de carga é necessária para estabilizar a tensão de referência.

3.2. Amperímetro

Como mostra a figura 4, para realizar a medida de corrente utiliza-se um circuito de transimpedância seguido por um amplificador com ganho unitário por meio de amplificadores operacionais TL082 de alta impedância de entrada [32].

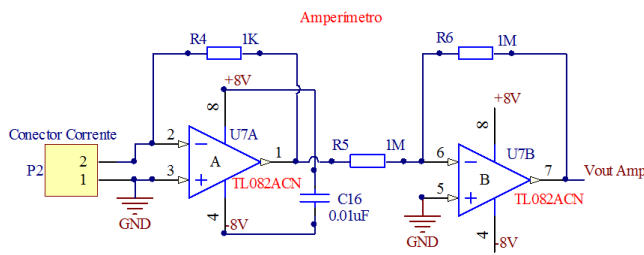


Figura 4: Esquema elétrico do circuito eletrônico responsável por converter a corrente elétrica entre a fonte e o dreno do MOSFET em uma tensão. Esse circuito apresenta um ganho na relação de corrente-tensão de 1:1000 graças ao amplificador de transimpedância seguido por um amplificador de ganho unitário

O amplificador de transimpedância tem por características a conversão de baixos valores de corrente em um valor de tensão. Este circuito destaca-se pela baixa sensibilidade à capacitância parasita do circuito e controle efetivo da estabilidade do circuito de realimentação [33]. Um resistor de realimentação no valor de 1 Kohms, proporciona um ganho na relação corrente-tensão de 1:1000, ou seja, uma corrente de 1 mA na entrada do amperímetro, disponibiliza na saída uma tensão de 1 V. Como a entrada não inversora está ater-

rada, os valores de corrente serão, então, percebidos pela entrada inversora, e desta forma, teremos na saída uma tensão com polaridade inversa. Assim, um segundo amplificador é utilizado para proporcionar tanto a inversão da polaridade quanto o casamento de impedância entre o amperímetro e próximo estágio.

3.3. Sistema de aquisição

A figura 5 apresenta o esquema elétrico do sistema de aquisição de dados tendo como principal componente o microcontrolador PIC18F45K20 [34]. Este sistema é projetado para monitorar a leitura de até seis canais por meio de um amplificador operacional de ganho programável (PGA). Embora o microcontrolador possua várias entradas de ADC, optou-se pela utilização de um PGA para manter a flexibilidade para a escolha do microcontrolador. Isto permitirá futuramente utilizar um conversor externo de 12 bits ao contrário do conversor de 10 bits interno do microcontrolador. O PGA utilizado é o circuito integrado da MCP6S26 capaz de multiplexar até seis canais de entrada com ganho de +1 V/V até +32 V/V [35]. Este circuito integrado utiliza uma interface serial padrão SPI para receber instruções de um controlador. Na saída do PGA o sinal é conduzido ao conversor analógico digital através de um filtro passa-baixa de segunda ordem do tipo Sellen Key com uma frequência de corte de 10 Hz [36].

O conversor analógico digital do microcontrolador possui resolução de 10 bits. Novamente, a tensão de referência para esta conversão é fornecida pelo o circuito integrado MCP1541. Uma tensão de referência de 4.096V proporciona uma resolução 4 mV para o ADC. Conectado aos pinos TX e RX do microcontrolador, o MAX232 converte os níveis de tensão TTL para o padrão RS-232 e vice-versa. Além disso, um conversor de RS-232 para USB foi desenvolvido com o objetivo de proporcionar uma maior flexibilidade para a utilização deste módulo. Como mostra o esquema elétrico ilustrado na figura 6, este conversor é desenvolvido por meio do microcontrolador PIC18F14K50 [37].

Todos os componentes presentes neste módulo eletrônico são alimentados por uma fonte de tensão simétrica em que um transformador, com capacidade de corrente de 1 A, reduz o valor de tensão da linha (127 V) para uma tensão simétrica de 12+12V. Um circuito retificador em ponte composto por quatro diodos retificadores 1N4007 retifica a tensão alternada, enquanto que, dois capacitores eletrolíticos de 1000 uF fazem a filtragem. Por fim, os componentes 7805 e 7905 regulam a tensão de modo a mantê-la constante.

4. ANÁLISE DO MÓDULO ELETRÔNICO

A caracterização deste módulo eletrônico consiste em investigar separadamente o desempenho de três blocos: a fonte de tensão programável, o voltímetro e o amperímetro. A figura 7 apresenta os resultados relacionados à curva de calibração da tensão programável na saída do MCP4822 obtida através de um Multímetro Digital. A tensão saída é ajustada por meio da porta SPI com valores entre 0 e 4.095 V em intervalos de 1.0 mV, permitindo assim, investigar a precisão

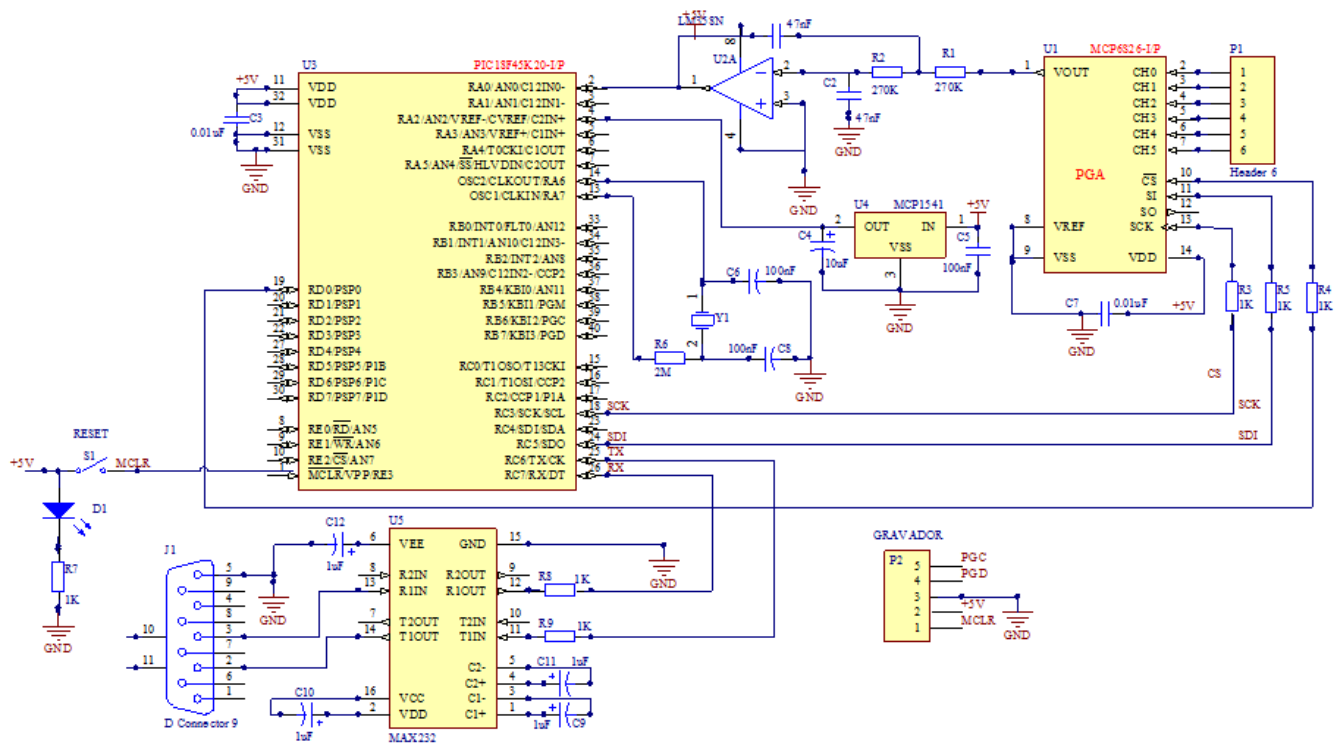


Figura 5: Esquema elétrico do módulo eletrônico responsável pela aquisição de dados. Este circuito eletrônico é composto pelo microcontrolador PIC18F14K50 cuja entrada do ADC está conectada ao amplificador operacional de ganho programável MCP6S26 através de um filtro passa-baixa do tipo Sallen Key.

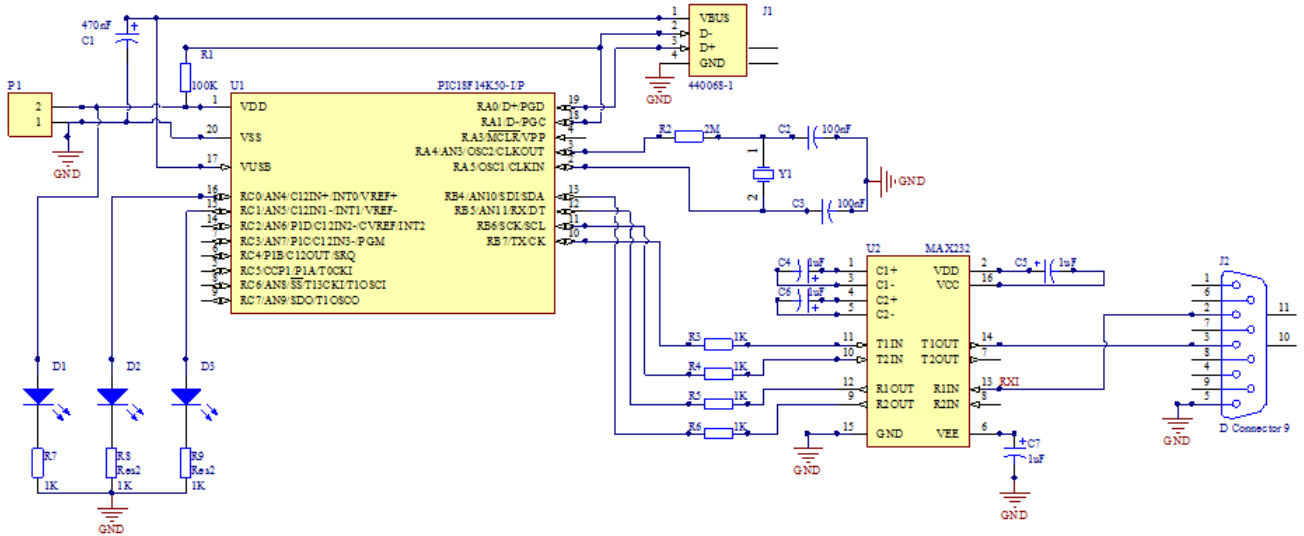


Figura 6: Esquema elétrico do conversor de porta USB-RS232 por meio do circuito integrado PIC18F14K50 conectado ao MAX-232

da fonte de tensão para cada um dos canais disponíveis no módulo eletrônico. A figura 8 apresenta o mesmo estudo em termos de estabilidade e consiste simplesmente em verificar se o módulo eletrônico mantém ao longo do tempo a tensão configurada pelo programa. As tensões de saída configuradas entre 0 e 4 V com intervalo de 0.5 V são monitoradas por um período de 10 segundos.

Para testar a operação do voltímetro, a figura 9 apresenta os resultados obtidos para diferentes medida da tensão. Quando o microcontrolador receber um comando para leitura de dados este realiza a aquisição e conversão do sinal analógico presente na entrada do ADC e em seguida envia o resultado para o computador. Os resultados apresentados mostram que o voltímetro acoplado à fonte de tensão pode

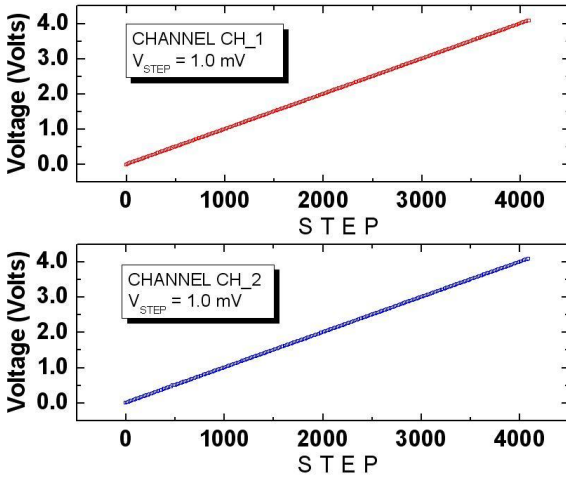


Figura 7: Curva de calibração para a tensão de saída programada remotamente com valores entre 0 e 4.095 em intervalos de 1.0 mV.

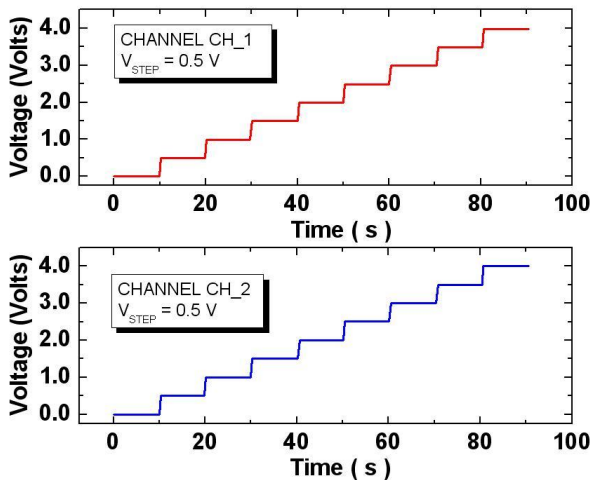


Figura 8: A caracterização da estabilidade da fonte de tensão programável pode ser realizada por meio do gráfico da tensão de saída em função do tempo. O valor da tensão em ambos os canais é monitorada pelo multímetro digital durante um período de 10 s.

ser utilizado para monitorar as tensões de saída da fonte de maneira eficiente levando-se em consideração uma resolução de 10 bits (resolução de 10 mV). Finalmente, a figura 10 apresenta a caracterização elétrica circuito eletrônico responsável pela medida da corrente elétrica. Para determinar o limite de operação desse módulo, diferentes valores de resistores foram utilizados como carga para o módulo eletrônico. Entretanto, apresentaremos aqui os resultados obtidos para um resistor de 1 Kohms. Cada medida de corrente representa uma média entre 10 medidas obtidas ao longo do tempo. A título de comparação o gráfico também apresenta a mesma medida realizada com o Multímetro Digital. Note-se que ambos apresentam praticamente a mesma resposta, mostrando assim, que o módulo eletrônico pode ser utilizado para monitorar a corrente elétrica no EGFET.

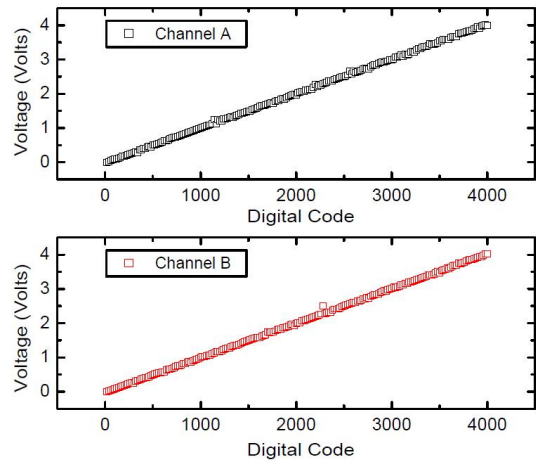


Figura 9: Apresenta a medida da tensão em ambos os canais em função da palavra enviada para o DAC de 12 bits através da porta SPI. A tensão aplicada em ambos os canais está entre 0 e 4 V com passos de 20 mV

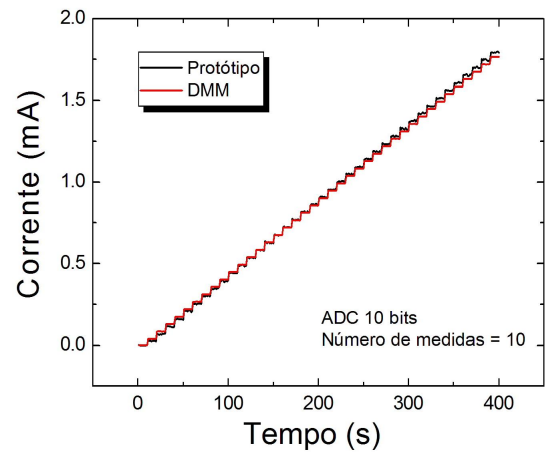


Figura 10: Medida da corrente elétrica através de um resistor em função do tempo para diferentes valores de tensão. Os dados destacados em vermelho correspondem às medidas realizadas por meio de um DMM

5. APLICAÇÃO DO MÓDULO ELETRÔNICO

A título de aplicação, este módulo eletrônico é utilizado para obter a caracterização elétrica do CD4007B com o objetivo de determinar as melhores condições para o funcionamento do EGFET como sensor de pH. A figura 11-A apresenta em detalhes o valor da corrente entre a fonte e o dreno (I_{DS}) em função da tensão entre o dreno e a fonte (V_{DS}) para diferentes valores de tensões na porta (V_{GS}). Os resultados mostram a presença de uma corrente de saturação cuja amplitude está relacionada com a tensão na porta. Quanto maior o valor de V_{GS} maior o valor de I_{DS} e em especial, para V_{GS} igual a 2.5 Volts e V_{DS} igual 2 Volts I_{DS} é igual a 0.8 mA. Esse valor de corrente pode ser utilizada para comparar com os resultados obtidos com o EGFET em função do valor de pH da solução.

A figura 11-B apresenta a curva de I_{DS} versus V_{GS} para

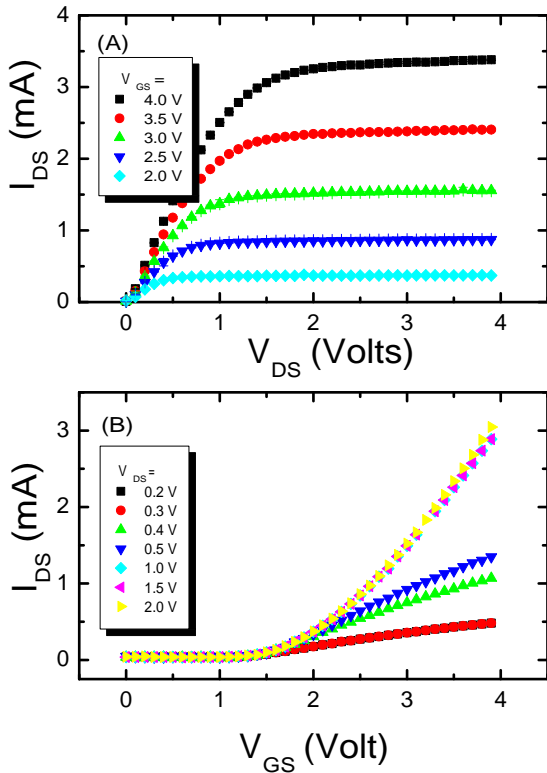


Figura 11: Caracterização elétrica do CD4007B. (A) Curva característica de I_{DS} versus V_{DS} para diferentes valores de V_{GS} e (B) I_{DS} versus V_{GS} para diferentes valores de V_{DS} .

diferentes valores de V_{DS} . Para pequenos valores de V_{DS} , isto é, $V_{DS} < 0.3$ Volts, o MOSFET opera na região ôhmica e a resistência é função de V_{DS} . Esses dados são importantes para determinar a tensão de limiar desse dispositivo (aproximadamente 1.5 Volts) assim como a sensibilidade do EGFET como sensor de pH. Note que, para V_{DS} maior que 0.3 essa linearidade é perdida.

5.1. Eletrodo de vidro como membrana para o EGFET

O funcionamento do EGFET é investigado tendo um eletrodo de vidro do tipo combinado conectado à porta do CD4007. Este eletrodo é adaptado ao EGFET para permitir que o desempenho do módulo eletrônico seja avaliado, desde que, o mesmo apresente uma sensibilidade de 55 mV/pH em uma faixa de 2 a 12. O fio relacionado ao sinal de pH é conectado à porta do MOSFET, enquanto que, a outra conexão (terra ou tensão de referência) permanece desconectado do circuito. Para completar o sistema de medidas é necessário que um eletrodo de referência também seja imerso na solução. Nesse caso, a tensão que outrora era aplicada à porta do V_{GS} é agora aplicada ao eletrodo de referência e será denominada por V_{REF} .

A figura 12-A apresenta a curva característica do EGFET obtida com o eletrodo de vidro imerso em soluções com

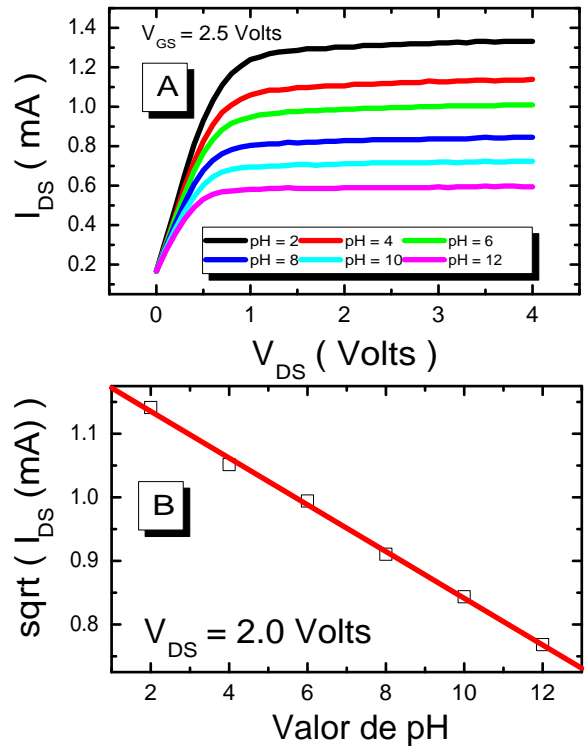


Figura 12: Resultados obtidos considerando o eletrodo de vidro conectado ao gate do CD4007B. (A) Curva característica de I_{DS} versus V_{DS} para diferentes valores de V_{GS} (região linear). (B) Raiz quadrada da corrente I_{DS} em função do valor de pH para V_{DS} igual a 2 Volts.

diferentes valores de pH. A corrente I_{DS} é obtida fixando um valor de V_{REF} em 2.5 Volts ao mesmo tempo em que valor de V_{DS} varia de 0 até 4V em intervalos de 100 mV. A intensidade de I_{DS} depende do valor de pH da solução e na medida em que o pH varia de 2 a 12 o valor de I_{DS} reduz de 1.25 para 0.6 mA. A partir desses resultados verifica-se uma relação linear entre a raiz quadrada de I_{DS} e os valores de pH como mostra a figura 12-B.

A figura 13-A corresponde ao experimento em que a corrente I_{DS} é medida com V_{DS} constante de tal forma que o valor da sensibilidade do dispositivo possa ser determinada. Como mostra a figura 13-B, a sensibilidade do sensor pode ser obtida determinando o valor de V_{REF} em função de pH para uma corrente de 0.3 mA. Note que, as curvas de corrente deslocam-se para a direita na medida em que os valores de pH variam de 2 para 12.

Para o ISFET, esse comportamento é compreendido como uma alteração na tensão limiar do dispositivo. Mas, para o EGFET, esse comportamento provavelmente não deva ser explicado dessa maneira. A partir dos resultados apresentados na figura 11 é possível observar que a corrente de saturação é superior ao valor de 0.8 mA quando o $pH > 7$ e $V_{REF} > 2$ Volts. Da mesma forma que, para $pH < 7$ o valor da corrente é inferior a 0.8 mA. Esse valor de corrente corresponde a uma corrente de saturação para o MOSFET com uma ten-

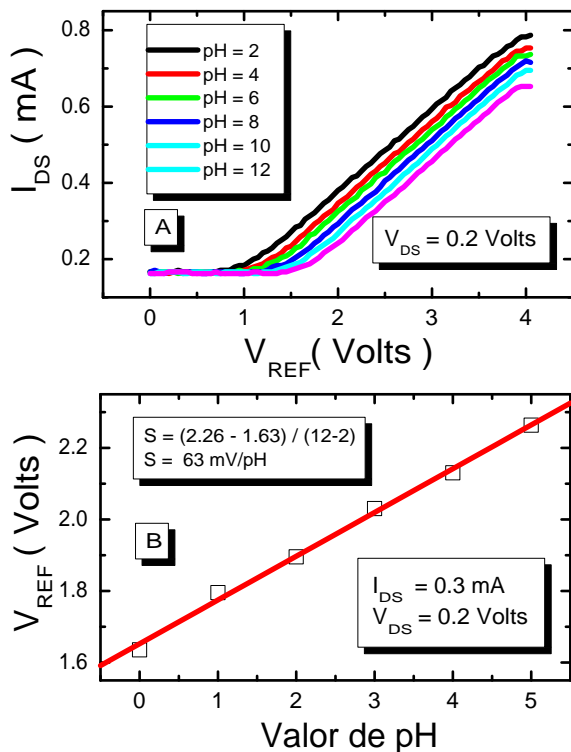


Figura 13: Resultados obtidos considerando o eletrodo de vidro conectado ao gate do CD4007B. (A) Curva característica de I_{DS} versus V_{DS} para diferentes valores de V_{GS} (região linear). (B) Curva de sensibilidade do EGFET tendo o eletrodo de vidro como sensor considerando I_{DS} igual a 0.30 mA.

são de V_{GS} igual a 2 Volts. É possível levantar a hipótese de que esse deslocamento seja consequência da tensão aplicada à porta do MOSFET proveniente do eletrodo de vidro. O eletrodo de vidro adiciona uma tensão positiva à porta do MOSFET para $pH < 7$ e negativa para $pH > 7$ fazendo com que o valor de corrente seja deslocado para cima ou para

baixo. Esse comportamento também é observado na figura 13, pois a curva desloca-se para a esquerda ($pH < 7$) ou para a direita ($pH > 7$) com relação a curva do MOSFET. Espera-se que um valor de pH igual a 7, tanto a curva de saturação como a de linear do EGFET terá o mesmo valor que a do MOSFET, pois a tensão do eletrodo será de aproximadamente 0 Volts.

6. CONCLUSÃO

Ao longo desse trabalho apresentamos o desenvolvimento de um módulo eletrônico projetado para investigar o funcionamento de sensores de pH tendo como plataforma o EGFET. Este sensor consiste em nada mais, nada menos que uma membrana sensível à íons de hidrogênio conectada à porta de um MOSFET comercial. Tendo em vista que, o EGFET pode ser caracterizado eletricamente através das curvas tradicionais do MOSFET, este módulo eletrônico usa como componente principal um PIC18F45K50 para disponibilizar dois canais de tensões programáveis assim como medidores de tensão e corrente. Esses periféricos são acessados por um programa rodando em um computador pessoal através de uma comunicação USB. Por meio deste módulo eletrônico, investigamos o funcionamento do EGFET tendo como membrana um eletrodo de vidro. A partir dos resultados apresentados conclui-se que o módulo eletrônico é capaz de gerar uma tensão de saída estável entre 0 e 4.095 V com uma resolução de 1mV. Futuramente, pretende-se ainda investigar a eficiência deste bloco quando submetido a diferentes tipos de cargas, tais como resistores, capacitores e indutores. Finalmente, foi possível mostrar que o módulo obtem de maneira satisfatórias as curvas características do EGFET funcionando como sensor de pH.

Agradecimento

Os autores desse trabalho agradecem à FAPERJ (E-26/110.997/2009) pelo financiamento deste projeto de pesquisa.

- [1] *Sensors A Comprehensive Survey - Chemical and Biochemical Sensors*. Part 1 Vol 02, pp 2 (1991)
- [2] *Sensors A Comprehensive Survey - Chemical and Biochemical Sensors*. Part 1 Vol 02, pp 8 (1991)
- [3] *Sensors A Comprehensive Survey - Chemical and Biochemical Sensors*. Part 1 Vol 02, pp 469 (1991)
- [4] Asha Chaubey, B.D Malhotra, *Mediated Biosensors*. *Biosensors & Bioelectronics* 17 (2002) 441-456.
- [5] Daniel R. Thévenot, Klanra Toth, Richard A. Durst, George S, *Electrochemical biosensors: recommended definitions and classifications*. *Biosensors & Bioelectronics*, 16 (2001) 121-131
- [6] Alice J. Cunningham, *Introduction to Bionalytical Sensors*. pp 2006 (1998)
- [7] A. E.G CASS, *Biosensors: A practical approach*. pp 171 (1990).
- [8] P. Bergveld, *The future of Biosensors*. *Sensors and Actuators A* 56 (1996) 65-73
- [9] Bansi D. Malhotra, Asha Chaubey, *Biosensors for clinical diagnostics industry*. *Sensors and Actuators B* 6931 (2003).
- [10] M. J. Schoning, A. Poghossian, *Recent advances in biologically sensitive field-effect transistor*. *Analyst* 127 (2002) 1137-1151.
- [11] P. Bergveld, *Thirty years of ISFETOLOGY What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years*. *Sensors and Actuators B* (88) 1-20.
- [12] Miao Yuqing and at all, *Ion sensitive field effect transducer based biosensors*. *Biotechnology Advances* 21 (2003) 527-534.
- [13] Miao Yuqing and at all, *New technology for the detection of pH*. *J. Biochem. Biophys. Methods* 63 (2005) 1-9.
- [14] Jia-Chyi Chen and at all, *Portable urea biosensor on the extended gate field effect transistor*. *Sensors and Actuators B* 91 (2003) 180-186.

- [15] Bergveld P. *Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements*. IEEE Trans Biomet. Engineering, 1970, 17, 70.
- [16] T. Matsuo and at all, *Biomedical active electrode utilizing field effect of solid state device*. in: Digest of Joing Meeting of Tohoku Sections of I.E.E.J (1971) in Japanese
- [17] T. Matsuo and at all, *An integrated field-effect electrode for biopotential recording*. IEEE. Trans. Biomed. Eng. BME-21 (1974) 485-487.
- [18] Middelhoek, *Celebration of the tenth transducers conference: The past, present and future of transducer research and development*. Sensors and Actuators 82 (2000) 2-23.
- [19] Michael J. Shoning, *Playing around with Field-Effect Sensors on the Basis of EIS Structures, LAPS and ISFET*. Sensors (2005), 5, 126-138.
- [20] J Van Der Spiegel and at all, *The extended gate chemically sensitive field effect transistor as multi-species microprobe*. Sensors and Actuators 4 (1983) 291-298.
- [21] Li-Te Yin and at all., *Separate structure extended gate H+ ion sensitive field effect transistor on a glass substrate*. Sensor and Actuators B 71 (2000) 106-111.
- [22] Li-Lun Chi and at all, *Study on extended gate field effect transistor with tin oxide sensing membrane*. Materials Chemistry and Physics 63 (2000) 19-23.
- [23] Li-Lun Chi and at all, *Study on separative structure of EnFet to detect acetylcholine* Sensor and Actuators B 71 (2000) 68-72
- [24] Jai-Chyi Chen, Jung-Chuan Chou, Tai-Ping Sun, Shen-Kan Hsiung, *Portable urea biosensor based on the extended-gate field effect transistor*. Sensors and Actuators B 91 (2003) 180-186.
- [25] Li-Te Yin, Jung-Chuan Chou, Wen-Yaw Chung, Tai-Ping Sun, Shen-Kann Hsiung, *Study of indium tin oxide thin film for separative extended gate ISFET*. Materials Chemistry and Physics 70 (2001) 12-16.
- [26] Jung-Chuan Chou, Pik-Kwan and Zhi-Jie Chen, *SnO₂ Separative Structure Extended Gate H⁺-Ion Sensitive Field Effect Transistor by Sol-Gel Technology and Readout Circuit Developed by Source Follower*. J. Appl. Phys. Vol 42 (2003) pp 6790-6794.
- [27] Batista PD, Mulato M., *ZnO Extended-gate field-effect transistor as pH sensors*. Applied Physics Letter 87, 1435508 (2005)
- [28] Batista P. D, Graeff C.F. de O., Fernandez F.J.R., Marques F. das C., Mulato M., *SnO₂ Extended Gate Field-Effect Transistor as pH sensor* Brazilian Journal of Physics, vol 36, no 2A (2006).
- [29] Batista PD, Mulato M., *Polycrystalline fluorine-doped tin oxide as sensing thin film in EGFET pH sensor* J. Material Science (2010) 45:5478-5481.
- [30] Microchip Technology, *MCP4802/4812/4822, 8/10/12-Bit Dual Voltage Output Digital-to-Analog Converter with Internal VREF and SPI Interface* Application Report 2010
- [31] Microchip Technology, *MCP1525/41 - Voltage Reference* Data Sheet 2005
- [32] National Semiconductor Cooperation, *TL082 Wide Bandwidth Dual JFET Input Operational Amplifier* 2004
- [33] Keithley, *Low Current Measurements* Application Note, 2007
- [34] Microchip Technology, *PIC18F45K20 44-Pin Flash Microcontrollers with nano Watt XLP Technology* Data Sheet 2010
- [35] Microchip Technology, *MCP6S21/2/6/8 Single-Ended, Rail-to-Rail I/O, Low Gain PGA* Data Sheet 2005
- [36] Texas Instruments, *Analysis of the Sallen Key Architecture* Data Sheet 2002
- [37] Microchip Technology, *PIC14F/LF1xK50 - 20-Pin USB Flash Microcontrollers with nanoWatt XLP Technology* Application Report 2010