

Detección de insecticidas utilizando tecnología de semiconductores por medición indirecta

Francisco Gerardo Flores García¹

Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de la Laguna
Calzada Instituto Tecnológico de la Laguna y Blvd.
Revolución, s/n
Torreón, Coahuila, México, C. P. 27000
52 8711634930
fgfloresg@lalaguna.tecnm.mx
Autor de Correspondencia

Mario Francisco Jesús Cepeda Rubio³

Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de la Laguna
Calzada Instituto Tecnológico de la Laguna y Blvd.
Revolución, s/n
Torreón, Coahuila, México, C. P. 27000
52 8714590939
mfjcepedar@lalaguna.tecnm.mx

Ramón Humberto Sandoval Rodríguez²

Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de la Laguna
Calzada Instituto Tecnológico de la Laguna y Blvd.
Revolución, s/n
Torreón, Coahuila, México, C. P. 27000
52 8718860860
rhsandovalr@lalaguna.tecnm.mx

José Irving Hernández Jacquez⁴

Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de la Laguna
Calzada Instituto Tecnológico de la Laguna y Blvd.
Revolución, s/n
Torreón, Coahuila, México, C. P. 27000
52 8713332998
jihernandezj@lalaguna.tecnm.mx

Resumen: La utilización de insecticidas para la conservación de los cultivos agroalimentarios sigue siendo alternativa hoy en día del cuidado de los cultivos a pesar de los efectos nocivos para la salud de los seres humanos que estos insecticidas conllevan. Mediante la combinación de moléculas neurotransmisoras y tecnología electrónica de transistores tipo MOSFET es posible realizar detección de especies o moléculas complejas, que no cuentan actualmente con un sensor específico. Se logró detectar insecticidas del tipo Organofosforados y Carbamatos utilizando la enzima Acetil-Colinesterasa en combinación con un transistor del tipo ISFET, el cual es un MOSFET con la característica de que la terminal de puerta no está aislada; el biosensor creado es un EnFET, ISFET con una membrana polimérica que contiene la molécula AChE. El biosensor se utilizó para detección de insecticidas mediante la inhibición provocada por los insecticidas en la reacción de la AChE, con esto se demuestra la capacidad tecnológica aplicada a la medición de cualquier variable, y no menos importante, la aplicación del dispositivo sensor para detectar especies que son nocivas para los seres humanos. Se logró detectar insecticida Carbofurán con un límite de detección de 2.216 ppb y Paraoxón con límite de 1.376 ppb. La posibilidad de detectar cualquier tipo de especie en líquidos, gases o radiación son posibles aplicaciones de esta tecnología.

Palabras Clave: ISFET, Detección de insecticidas, Acetilcolinesterasa, Biosensor.

Abstract: The use of insecticides for the preservation of agri-food crops is still an alternative for crop care today, despite the harmful effects that these insecticides have on human health. Through the combination of neurotransmitter molecules and electronic technology of MOSFET type transistors, it is possible to detect complex species or molecules, which currently do not have a specific sensor. It was possible to detect organophosphate and carbamate insecticides using the enzyme Acetylcholinesterase in combination with an ISFET type transistor, which is a MOSFET with the characteristic that the gate terminal is not isolated; the biosensor created is an EnFET, ISFET with a polymeric membrane containing the AChE molecule. The biosensor was used to detect insecticides through the inhibition caused by the insecticides in the AChE reaction, thus demonstrating the technological capacity applied to the measurement of any variable, and not least, the application of the sensor device to detect species that are harmful to humans. Carbofuran insecticide was detected with a detection limit of 2,216 ppb and Paraoxon with a limit of 1,376 ppb. The possibility of detecting any type of species in liquids, gases or radiation are possible applications of this technology.

Keywords: ISFET, Insecticide Detection, Acetylcholinesterase, Biosensor.

Introducción

La agricultura es una de las principales actividades del ser humano. Muchas culturas han basado su actividad social y económica en este ámbito. Uno de los principales problemas que ha tenido que resolver para lograr cosechas de buena calidad es la eliminación o el control de plagas que destruyen las plantas y los cultivos (Casida J. E. Y Durkin, K.A., 2013).

Se han desarrollado cantidad de pesticidas que eliminan las plagas provocándoles la muerte por medio de la interrupción de las funciones vitales; pero la mayoría de los pesticidas interfieren también en algunas de las funciones vitales de los seres humanos (Jhonson M. K., 1975). Particularmente los pesticidas organofosforados y carbamatos interfieren en la función de la enzima colinesterasa. Esta enzima juega un papel importante en la transmisión de los impulsos eléctricos en los centros neuronales de los seres humanos (Nurull Illya, Muhamad *et al.*, 2021).

En el análisis elaborado por Thorat Tanmay *et al.* del 2023 se recopilan 96 artículos históricos que versan sobre detección de pesticidas utilizados en la agricultura en los que compara los aspectos de tipo de sensores, arquitectura electrónica utilizada y técnicas de computacionales y de Inteligencia Artificial asociadas. Lo destacable respecto de la plataforma de manejo del sensor es la utilización de sistemas de microfluídica, PCBs con el sensado embebido, Chips de silicio de

sección cruzada, sensores electroquímicos y tecnología de dispersión Raman mejorada en superficie (SERS). Se observa que en los cinco métodos iniciales la Acetilcolinesterasa es fundamental para la detección, ya que tiene límites de detección mínimos. Respecto a la plataforma asociada, la microfluídica, los PCBs y los Chips de silicio son tecnologías que demuestran menor tiempo de respuesta, miniaturización de sistemas, acoplamiento con los sistemas modernos de comunicación y compatibles con las técnicas de programación actuales para análisis de datos; y aunque no compiten en precisión con los resultados del análisis de equipos de laboratorio tradicionales, son una alternativa robusta, rápida, menos costosa en algunos casos y menos dependiente del factor humano. Específicamente, la conjunción de tecnología de dispositivos semiconductores de Silicio combinados con la sensibilidad de moléculas neurotransmisoras es una alternativa viable que ofrece robustez, miniaturización y compatibilidad con las técnicas modernas de instrumentación, comunicación y análisis computacional de datos.

En el presente artículo se describe el desarrollo de un biosensor enzimático para la detección de estos pesticidas basado en un transistor de efecto de campo sensible a los iones (ISFET de sus siglas en inglés). El transistor de efecto de campo sensible a los iones más básico, aquel que cuenta con una compuerta de nitruro de silicio, es capaz de detectar la concentración de iones hidrógeno de una solución y traducirla en una diferencia de potencial. La reacción de la enzima colinesterasa con su sustrato, la tiocolina, produce iones hidrógeno, la enzima contenida en una membrana polimérica adherida a la puerta (G) del ISFET generó un biosensor de tipo EnFET (transistor de efecto de campo enzimático) que es capaz de detectar pesticidas (Sarcina, L. *et al.*, 2022).

La detección se basa en la reacción de la colinesterasa que produce iones hidrógeno y estos iones son detectados por el ISFET. Pero cuando la enzima entra en contacto con los pesticidas mencionados, su acción se inhibe y la reacción produce menor cantidad de iones hidrógeno (ecuación 1), lo cual a su vez produce una variación en el potencial de respuesta del sensor.

Transmisión nerviosa (Neurona)

La acetilcolinesterasa (AChE) es una de las enzimas que participan en el proceso de la transmisión de los impulsos nerviosos en los seres vivos en general y algunos vertebrados en particular. Además, se ha demostrado la influencia que tiene sobre el crecimiento de terminales nerviosas en los ganglios axónicos de la espina dorsal (Bigbee John *et al.*, 2000).

La transmisión nerviosa se realiza a través de las neuronas. Una neurona es básicamente el conjunto de tres partes: el cuerpo neuronal o soma, el axón y las dendritas (Levitan Irwin, *et al.*, 2001). La representación de una neurona puede verse en la figura 1.

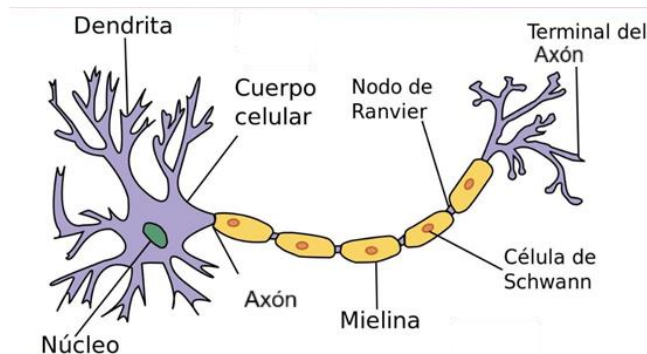


Figura1. Esquema de una neurona [Guyton, A. C. 1994].

El soma es el centro de la neurona donde se procesan los mensajes eléctricos enviados entre neuronas (transmisión nerviosa). El axón o terminal nerviosa se encarga de la transmisión física de los impulsos entre neuronas.

Las dendritas son terminales nerviosas ramificadas que establecen el contacto entre neuronas. La información que activa a las dendritas es convertida en el soma en una señal eléctrica que modifica al potencial llamado de reposo y lo eleva hasta un valor llamado potencial de acción. Esta señal viaja a lo largo del axón a una velocidad de centenares de metros por minuto. El potencial de acción tiene como magnitud alrededor de 100 mV con respecto al potencial de reposo y el tiempo que dura el impulso nervioso es del orden 1 ms, como se observa en la figura 2.

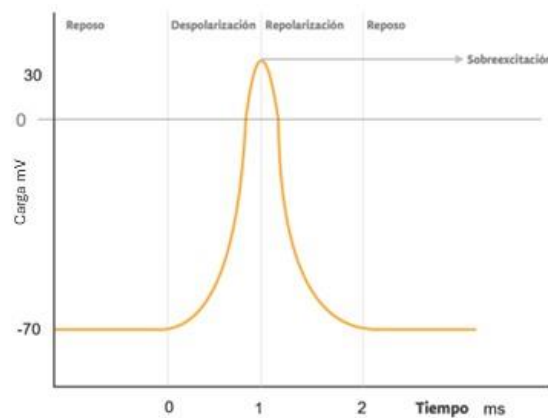


Figura 2. Potencial de acción de estímulo entre neuronas (Fisiosaludable 13 de agosto de 2017).

En la terminación del axón el potencial de acción promueve la liberación de los neurotransmisores (contenidos en pequeñas vesículas). Estos se difunden hacia la neurona vecina donde activan receptores específicos capaces de modificar la actividad eléctrica. A su vez, esta información podrá generar un nuevo potencial de acción en la segunda neurona. La representación de la sinapsis entre neuronas se puede ver en la figura 3.

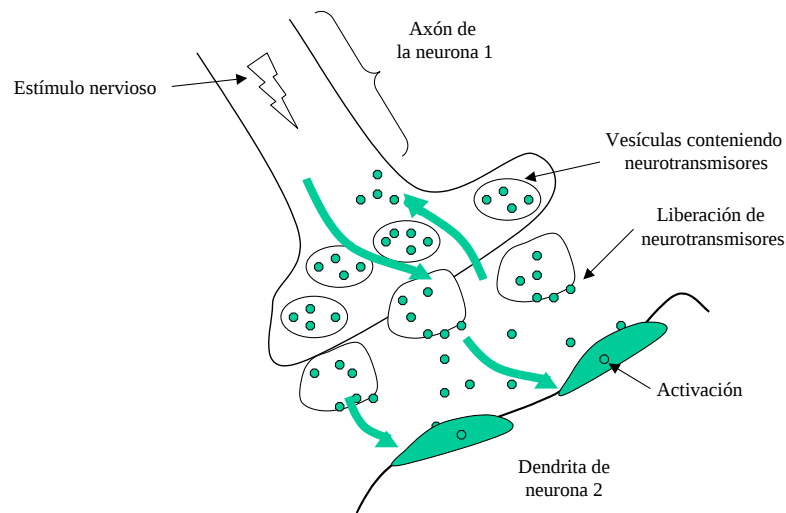


Figura 3. Representación de la sinapsis y la liberación de los neurotransmisores (Flores F. 2003, Tesis Doctoral).

La enzima AChE reacciona ante otra molécula llamada sustrato descomponiéndola; en el caso de la Acetilcolinesterasa su sustrato es la Acetilcolina (ATC). La reacción que se genera entre estas dos moléculas se muestra en la ecuación 1 (Ruiz Perez, P., 2023):



Los insecticidas que se utilizan para controlar plagas en los campos de cultivo inhiben esta reacción enzimática, provocando daños en los seres humanos cuando entran en contacto con los mismos (Jhonson M. K., 1975).

Estructuras tipo FET, MOSFET, ISFET y EnFET

El sensor desarrollado en el presente artículo es del tipo electroquímico, utilizando como transductor a un transistor de efecto de campo sensible a iones.

El ISFET se basa en un transistor MOSFET, el cual es una estructura MOS con dos zonas en las que se difunden impurezas, formando las regiones de drenaje (D del inglés Drain) y fuente (S del inglés Source) montadas en otra región más grande de silicio que es el sustrato (B del inglés Bulk) y en la región del sustrato que está entre drenaje y fuente se coloca el óxido para la terminal de puerta (G del inglés Gate). Se agregan contactos metálicos a cada terminal disponiendo que la región de puerta quede entre las regiones de drenaje y fuente. La configuración básica de un MOSFET se muestra en la figura 4.

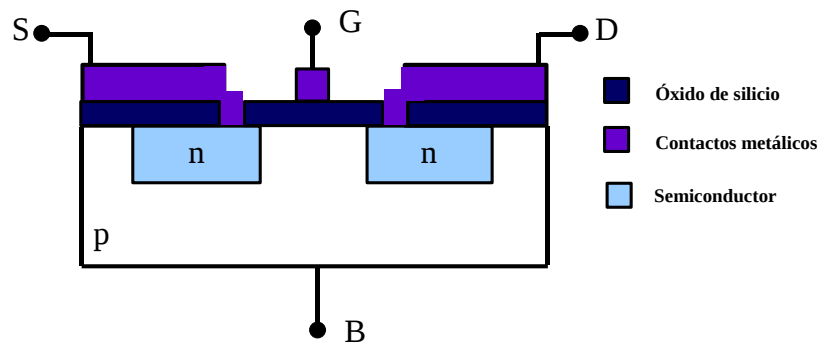


Figura 4. Constitución básica de un MOSFET, (Flores F. 2003, Tesis Doctoral).

El MOSFET tiene como característica un valor de voltaje inverso puerta-fuente de ensanchamiento ($V_{GS_{OFF}}$). En este límite de voltaje inverso, el valor de corriente entre drenaje y fuente es máximo, debido a que las zonas de agotamiento de las uniones puerta-fuente decrecen hasta que ensanchan la zona de conducción. Si se aplica un potencial en la puerta que sea superior al potencial de ensanchamiento entre puerta y fuente, se creará una zona de inversión en la superficie cercana a la puerta, formando así un canal entre el drenaje y la fuente. Si se aplica un potencial entre fuente y drenaje V_{DS} habrá una conducción de electrones entre estas terminales (el canal) como se muestra en la figura 5 a). Entonces se puede controlar la corriente a través del canal por medio del campo eléctrico que surge de aplicar el potencial de puerta, a este fenómeno se le denomina efecto de campo (Boylestad y Nashelsky L. 1999).

Cada transistor de efecto de campo tiene un potencial de umbral (V_T) que es el mínimo que se debe aplicar a la puerta para que se forme el canal entre fuente y drenaje. Si no se alcanza ese valor, el canal no se forma y no habrá conducción de corriente. En las figuras 5 a) y 5 b) se observan estos dos fenómenos en una estructura de MOSFET canal P.

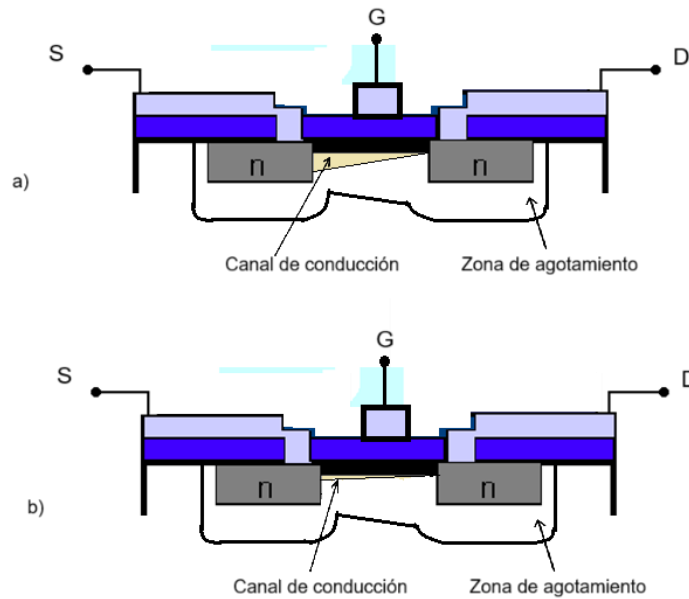


Figura 5. Estructura del MOSFET. a) Aplicando un $V_{GS} > V_T$ se puede controlar el ancho del canal de conducción. b) Aplicando un $V_{GS} > V_G - V_T$ se agota el canal, (Flores F. 2003, Tesis Doctoral).

A partir de la estructura MOSFET se obtiene el ISFET, el cual tiene la región de puerta al descubierto. Se deposita una capa de encapsulante que cubra las terminales eléctricas para que la solución no haga contacto con las conexiones de fuente y drenaje y provoque algún corto circuito que derive en un mal funcionamiento del dispositivo.

Un ISFET es un dispositivo similar a un MOSFET pero con la particularidad de tener la región de puerta al descubierto. Tiene las mismas terminales, fuente (S), drenaje (D), sustrato (B) y la región de puerta al descubierto que funciona como una cuarta terminal a través de la solución y el electrodo de referencia.

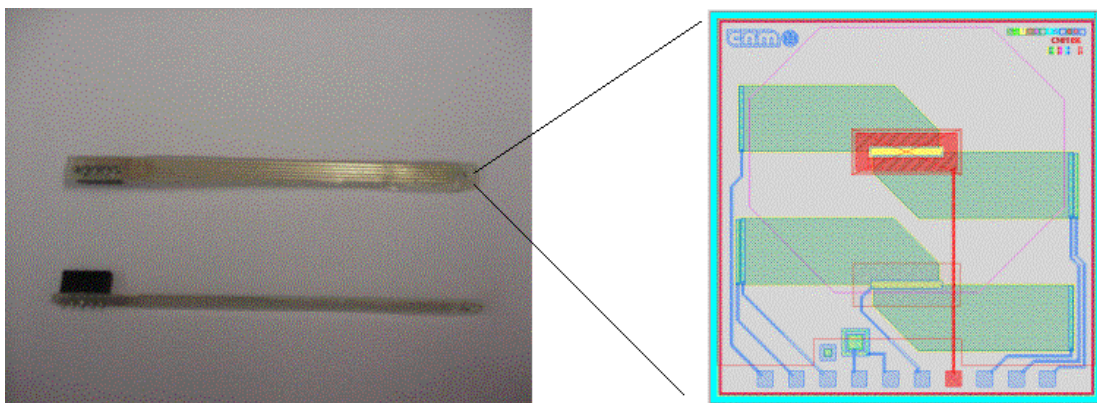


Figura 6. Estructura del ISFET y de su sonda química (Flores F. 2003, Tesis Doctoral)

Los ISFETs utilizados en este proyecto están fabricados con tecnología NMOS en el Centro Nacional de Microelectrónica (CNM) de la Universidad Autónoma de Barcelona en Bellaterra, Barcelona, España. Estos ISFETs son sensibles al pH y el material de puerta es nitruro de silicio (Si_3N_4). En la figura 6 se pueden ver la estructura superficial de los ISFETs utilizados, y la sonda completa.

En todos los casos, la polarización del ISFET incluye una fuente de voltaje entre drenaje y fuente, referenciado a través del sustrato y conectando un electrodo de referencia sumergido en la solución contactada por la puerta del ISFET. El electrodo debe estar conectado al potencial de realimentación o de referencia del circuito utilizado. La conexión de un ISFET, así como su estructura interna se muestran en la figura 7.

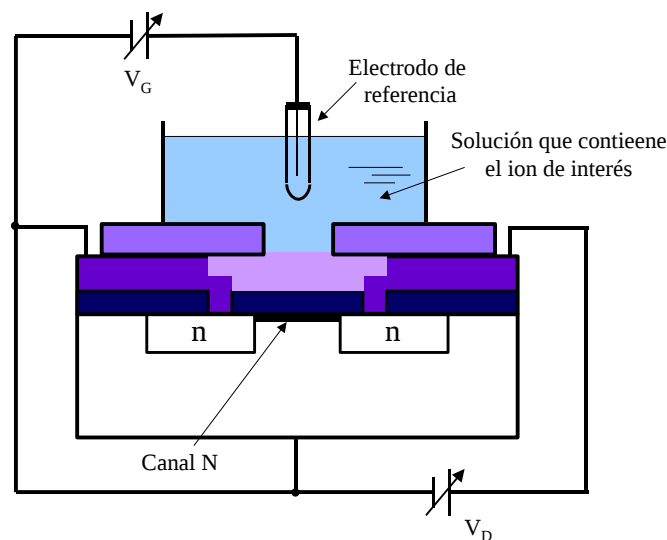


Figura 7. Polarización y conexión del ISFET con un electrodo de referencia (Flores F. 2003, Tesis Doctoral).

Se coloca la región de puerta en contacto con una solución que contenga iones hidrógeno (H^+) y el material superficial de la zona de puerta tiene una afinidad por estos iones, como el nitruro de silicio (Bausells, J. *et al.*, 1999 y Basanta, R. *et al.*, 1996); se genera una acumulación de cargas en la puerta del ISFET. Esta acumulación de cargas positivas (por los iones hidrógeno) provoca un potencial negativo en la región que une a la fuente y el drenaje y esto produce una variación en el ancho del canal por el que puede pasar una corriente. Así se controla el ancho del canal interno de conducción drenaje-fuente con la concentración de iones hidrógeno y de esta forma se controla el nivel de corriente en el canal. Entonces la corriente de drenaje será proporcional a la concentración de iones hidrógeno de la solución, o sea el pH de dicha solución.

Circuito de manejo de corriente constante

El circuito empleado para controlar el ISFET tiene como principio de funcionamiento, el mantener una corriente de canal constante (I_{DS}) a un potencial de drenaje constante (Bergveld P.,1988).

La corriente constante se logra a través del potencial negativo ($-V$) y la resistencia que se compone con la resistencia fija R , en serie con una resistencia variable R_1 como se observa en la figura 8. La terminal de fuente del ISFET está conectada a la entrada inversora del amplificador operacional, lo cual indica que se utiliza como un amplificador inversor. El electrodo de referencia está conectado a la salida del operacional, que corresponde a una configuración con retroalimentación negativa a través de la solución. Cuando el pH de la solución varía, la tendencia sería a provocar una variación de la corriente de drenaje, pero el amplificador operacional varía su voltaje de salida para compensar la diferencia de corriente provocada por el cambio químico y así mantener la corriente constante.

Sobre el ISFET se dispone una membrana polimérica, que contenga a una enzima. El biosensor así producido se denomina EnFET o transistor de efecto de campo enzimático, como se ve en la figura 9.

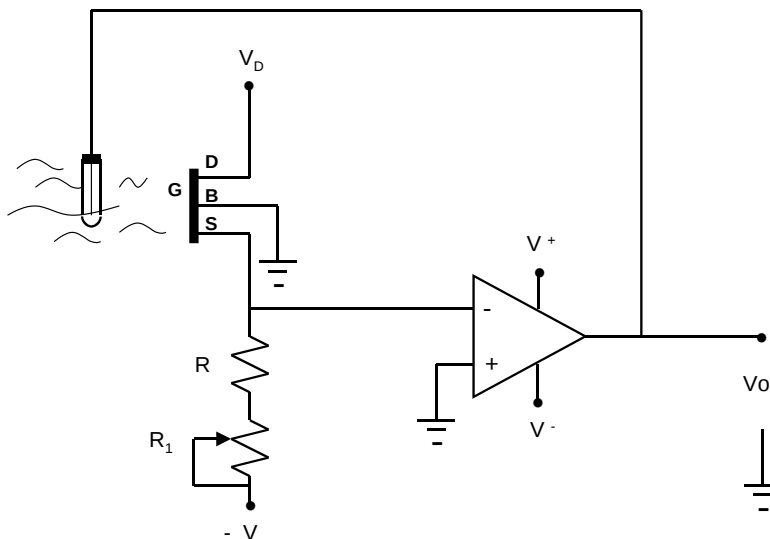


Figura 8. Circuito de polarización del ISFET con manejo de corriente constante (Flores F. 2003, Tesis Doctoral).

El potencial V_D se establece en 1 V, el potencial de la terminal de fuente (S) se utiliza con -15 V, las resistencias, fija (R) es de 120 K Ω y variable (R_1) de 50 K Ω siendo un potenciómetro de precisión. La R_1 se ajusta a un valor de 30 K Ω , de esta forma la suma de R y R_1 es de 150 K Ω

con lo cual la corriente que circula por la malla de $-V$, R , R_1 , y entrada inversora del Amplificador operacional, se ajusta en $100\ \mu\text{A}$. (quince volts entre $150\ \text{K}\Omega$).

El Amplificador Operacional utilizado es el LM 1458 fabricado por Texas Instruments (Dallas TX; Estados Unidos de América). El electrodo utilizado es de doble unión (ORION 902, Boston MA. Estados Unidos de América), con una solución de nitrato de potasio, (solución interna 1), este tubo a su vez se encuentra dentro de otro tubo de diámetro mayor que contiene una solución salina de nitrato de potasio (solución interna 2). Dichas soluciones son estándares en el uso del electrodo de referencia.

La experimentación se llevó a cabo en laboratorio a temperatura de $26\ ^\circ\text{C}$ aproximadamente. Las cuentas de voltaje son BK Precision 1745^a, de CJM MYS Instruments (Yorba Linda , CA. Estados Unidos de América).

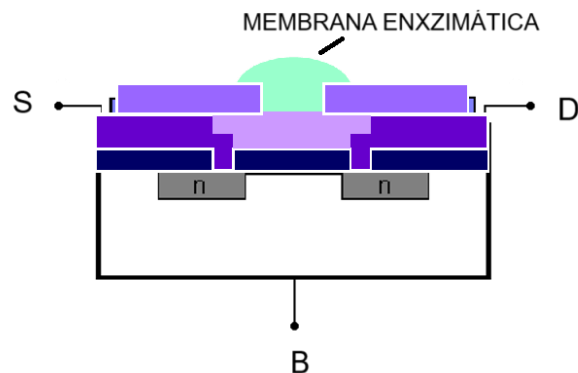


Figura 9. EnFET: ISFET con membrana polimérica conteniendo una enzima (Flores F. 2003, Tesis Doctoral).

Desarrollo y Metodología

Se preparó una solución basada en la enzima AChE, de anguila eléctrica, $0.06\ \text{mg}$, Sigma Aldrich, filial de Darmstadt (Alemania), Rehovot 7670603. Esta solución se combinó con alcohol polivinílico (PVA-SbQ) y glicerol.

Se dispone una gota de $3\ \mu\text{l}$ de solución sobre la puerta (G) del ISFET, se coloca sobre luz blanca por un lapso de 2 horas; esto plastifica la solución y la adhiere a la superficie de la puerta del ISFET.

La enzima se encuentra atrapada en la membrana polimérica sobre el ISFET y puede interactuar con el medio líquido de la muestra que se va a analizar. El biosensor se caracteriza colocándolo en agua destilada y haciendo adiciones de sustrato (Acetilcolina), se obtiene una curva de

comportamiento (figura 10). De esta forma se obtiene un sensor de Acetiltilicolina, que servirá como base para el sensor de pesticidas. El experimento se repite en 3 oportunidades hasta que el comportamiento del sensor es repetible.

Se observa que el EnFET tiene una pendiente negativa de 280 mV por década de concentración y la variación de potencial total después de realizar todas las adiciones es aproximadamente de 180 mV. El rango lineal se observa de la gráfica desde 1.5 mM hasta 48.5 mM aproximadamente.

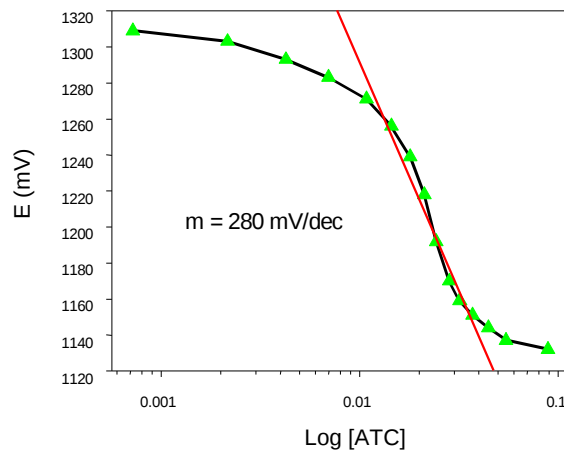


Figura 10. Gráfica de potencial del EnFET respecto de la concentración de acetiltilicolina.

Medición de pesticidas

Para lograr la detección de pesticidas se pone en contacto la membrana con una solución que contenga una concentración específica de pesticida durante un tiempo determinado. Al tiempo de exposición de la enzima con la solución del pesticida se le llama tiempo de incubación. El efecto de inhibición que provoca en la enzima se manifiesta como una disminución en la magnitud del potencial de salida del biosensor, una vez que se vuelve a hacer adición de ATC. La disminución en la variación de potencial es debida a que no se genera el mismo número de iones hidrógeno y no hay polarización de compuerta. Entonces la variación en el potencial de salida es indirectamente debida a la presencia del pesticida en la muestra (concentración) que se analiza. La disminución en el potencial está relacionada con la concentración del pesticida a la que se expuso el biosensor.

Una vez reconstruidas las gráficas de la figura 10 pero habiendo sumergido los EnFETs en solución de pesticida se realiza el cálculo de porcentaje de inhibición debido a la concentración de insecticidas utilizando la ecuación 2.

$$\% I = \left[\frac{E_0 - E_i}{E_0} \right] \times 100 \quad (2)$$

donde % I es el porcentaje de inhibición, E_0 es la variación de potencial obtenido en la calibración del EnFET, antes de la incubación con el pesticida, y E_i es la variación de potencial obtenida del calibrado del EnFET después de haberlo puesto en contacto con el pesticida. Se construye una gráfica de porcentaje de inhibición contra concentración del insecticida.

Resultados

La experimentación con pesticidas arrojó los siguientes resultados (figura 11):

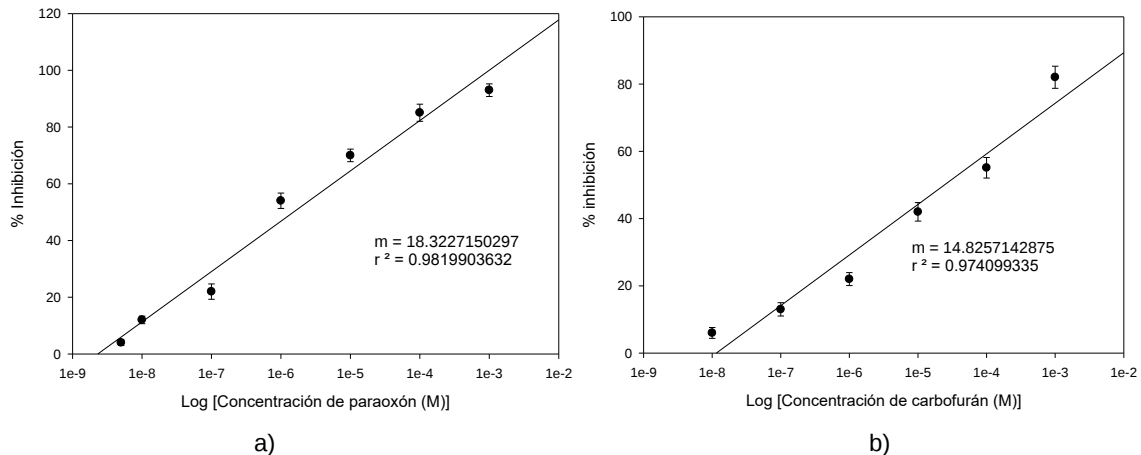


Figura 11. Porcentaje de Inhibición en la respuesta del EnFET respecto del a) Paraoxón y b) Carbofurán.

Los experimentos se realizaron en agua destilada se repitieron en 3 oportunidades para cada concentración distinta de pesticida y en condiciones de laboratorio. Los límites de detección para cada insecticida se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Límites de detección para cada tipo de pesticida.

Pesticida	Límite de detección	
	Molar	ppb
Carbofurán	10^{-8} M	2.2126
Paraoxón	5×10^{-9} M	1.376

Hallazgos y/o conclusiones

Los resultados obtenidos muestran límites de detección de 2.21 y 1.37 ppb. para Carbofurán y Paraoxón respectivamente, específicamente utilizando la enzima AChE de angula eléctrica, siendo estos resultados susceptibles de reproducirse con enzima AChE de otro organismo animal para validar si los resultados son concluyentes o dependen de la fuente de obtención del neurotransmisor.

La reproducción de reacciones biológicas extracorporal abre un campo importante en las áreas de biomédica y salud, contribuyendo a detección de patologías, cuantificación de especies de interés y posible prevención de enfermedades mediante detección oportuna.

En el campo de diseño de semiconductores existe la ventaja de desarrollos más robustos, eficientes, miniaturizados y económicos, respecto de la tecnología electrónica de años anteriores. La perspectiva real a futuro es deposición de moléculas, ionoforos, o especies de detección sobre la superficie directa de silicio en los semiconductores.

Citas y referencias

- Casida, J.E., Durkin, K.A. (2013). Anticholinesterase insecticide retrospective. *Chem Biol. Interact.* 25, 203(1), 221-225. <https://doi:10.1016/j.cbi.2012.08.002>
- Johnson, M.K. (1977). The delayed neuropathy caused by some organophosphorous esters: mechanism and challenge. *Crit. Rev. Toxicol.* (3), 289-316. <https://doi.org/10.3109/10408447509079861>
- Nurull Illya, Muhamad F., Yap Wing, Fen, Nur Alia Sheh O., Hazwani Suhaila, H. (2021). Recent Advances on Detection of Insecticides Using Optical Sensors. *Sensors*, 21 (3856), 1-39. <https://doi.org/10.3390/s21113856>
- Thorat, Tanmay, Patle, B.K., Wakchaure Manas, Parihar Leena, (2023). Advancements in techniques used for identification of pesticide residue on crops. *Journal of Natural Pesticide Research*, (4), 10031, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.napere.2023.100031>
- Sarcina, L., Macchia, E., Tricase, A., Scandurra, C., Torricelli, F., Cioffi, N. (2022). Enzyme based field effect transistor: State-of-the-art and future perspectives. *Electrochemical Science Advances*, 3e2100216, 1-17. <https://doi.org/10.1002/elsa.2100216>
- Bigbee John, W., Sharma Karun V., Chan Ellen L.-P. y Bögl O. (2000). Evidence for the direct role of acetylcholinesterase in neurite outgrowth in primary dorsal root ganglion neurons. *Brain Research*, 861, 354-362. [https://doi.org/10.1016/S0006-8993\(00\)02046-1](https://doi.org/10.1016/S0006-8993(00)02046-1)

- Levitan, Irwin, B. Kaczmarek, Leonard K. (2001). *Neuron: Cell and molecular biology* 3rd edition, Oxford University Press.
- Ruiz Perez, Paula. (2023). *Interacciones de Acetilcolina y Acetilcolina en las actividades Fenilvaleratoesterasa y Fenilacetatoesterasa de la Acetilcolinesterasa humana recombinante*. URL: TFG Ruz Perez, Paula.pdf
- Guyton, A. C. (1994). *Anatomía y fisiología del sistema nervioso. Neurociencia básica*. Madrid: Editorial Médica Panamericana.
- Fisiosaludable (13 de agosto de 2017). *Potenciales de acción entre neuronas*. <https://fisiosaludable.com/publicaciones/articulos/179-potenciales-de-accion-entre-neuronas>
- Flores García, Francisco (2003). *Desarrollo de un EnFET para la detección de insecticidas Organofosforados y Carbamatos* [tesis doctoral, Tecnológico Nacional de México/Tecnológico de la Laguna, México].
- Boylestad, R. L. y Nashelsky L. (1999). *Electrónica teoría de circuitos 5ª edición*, Ed. Prentice Hall.
- Bausells, J., Carrabina, J., Errachid, A. y Merlos, A. (1999). Ion-sensitive field-effect transistors fabricated in a commercial CMOS technology. *Sensors and Actuators B*, 57 (1-3), 56-66. [http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4005\(99\)00135-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0925-4005(99)00135-5)
- Basanta, R., Núñez, E., Fernández, M., Diaz-Fierros, F. (1996). Measurement of cholinesterase activity inhibition for the detection of organophosphorus and carbamate pesticides in water, *Int. J. Environ. Studies* 48, 211-223. <https://doi.org/10.1080/00207239508710991>
- Bergveld, P. y Sibbald, A. (1988). *Analytical and Biomedical Applications of Ion-Selective Field-Effect Transistors*, Ed. Elsevier Science Ltd Hardcover, 102.
- Valdés-Perezgasga, F. (1990). *Intramyocardial pH measurements using Ion-Sensitive Field-Effect Transistors* [Tesis doctoral University of Newcastle Upon Tyne, Inglaterra]
- Montesinos, Thierry, Pérez-Munguía, Sandra, Valdés, F. y Marty, Jean-Louis (2001). Disposable cholinesterase biosensor for the detection of pesticides in water-miscible organic solvents. *Analytica Chimica Acta* 431 (2), 231-237. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)01235-6](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)01235-6)