

Universidade Federal de Minas Gerais

Instituto de Ciências Exatas

Departamento de Física

Thiago Alonso Stephan Lacerda de Sousa

**TRANSISTORES DE EFEITO DE CAMPO BASEADOS EM GRAFENO
CRESCIDO POR CVD COMO UMA PLATAFORMA PARA
BIOSENSORES**

Belo Horizonte

Fevereiro de 2014

Thiago Alonso Stephan Lacerda de Sousa

**TRANSISTORES DE EFEITO DE CAMPO BASEADOS EM GRAFENO
CRESCIDO POR CVD COMO UMA PLATAFORMA PARA
BIOSSENSORES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Física do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Física.

Orientador: Prof. Flávio Orlando Plentz Filho

Belo Horizonte

Fevereiro de 2014

“Uns confiam em carros e outros em cavalos, mas nós faremos menção do nome do SENHOR nosso Deus.”

Davi (Salmos 20:7)

Agradecimentos

Há muito tempo eu descobri que não posso fazer nada sozinho confiando apenas na minha própria capacidade. Desde então eu tenho feito do SENHOR a minha força e colocado nele a minha inteira confiança. Portanto, agradeço a Deus por ter me prosperado em cada um dos meus caminhos desde então.

Aos meus indispensáveis pais, Vânia e Galba, por terem sempre acreditado em mim e investido em cada um dos meus sonhos. Aos meus irmãos, Gabriel e Lucas, pelo companheirismo, palhaçadas e amizade verdadeira.

Aos meus avós Nilza, Dalva, José Francisco e Jovelino Camilo (*in memoriam*) por, mesmo contrariados, entenderem as minhas inúmeras ausências nas reuniões de família. Aos meus tios, tias por todas as imprescindíveis palavras de apoio. Aos meus primos e primas por todo o incentivo e vários momentos de bagunça.

Ao Flávio Plentz pela orientação, confiança e pela oportunidade de aprender algo novo. Ao Elmo por sempre ter me ajudado pacientemente e por ter dado todo o suporte necessário. Ao Daniel Elias por ter compartilhado um pouco da experiência e conhecimento adquiridos ao longo dos anos de trabalho.

Aos meus amigos de laboratório, Juliana, Eduardo, Campolina e Pedro por toda ajuda, paciência e disponibilidade de sempre. Ao “comando” pela convivência diária, risadas e por tornarem o ambiente de trabalho em um local mais descontraído e divertido. À Paola por ter sido sempre um grande exemplo de dedicação e trabalho duro para mim, e por ter me ensinado coisas que levarei para o resto da minha vida.

Aos professores Jafferson, Mário, Monken, Rachid e Rodrigo pelos ensinamentos que transcendem conteúdos acadêmicos. Aos meus amigos que me seguem desde o tempo de graduação pelo apoio mútuo e por formarem um ambiente bastante acolhedor. À dupla ibérica Sara Costa e Elena del Corro por toda a disposição em ajudar nas medidas e pelos vários momentos de descontração e conversas aleatórias. Aos companheiros de sala limpa por compartilhar as aflições, angústias, mas, principalmente pelo encorajamento diário que incita a perseverança

em cada um. Aos meus amigos da sala do quarto andar pelas discussões filosóficas, políticas, e por serem fiéis companheiros de peleja.

À Shirley e demais funcionários da biblioteca pelo carinho de sempre, gentileza e sorriso fácil nos atendimentos mais que agradáveis. Ao Pádua por sempre manter a sala limpa funcionando de forma adequada e pela disposição em resolver eficientemente todos os problemas que surgiram ao longo da árdua caminhada.

Ao Clóvis e demais funcionários da criogenia pelo trabalho prestado de forma excelente e fundamental contribuindo de maneira ímpar no nosso projeto de pesquisa. Ao senhor João e demais funcionários da oficina mecânica por todo o empenho e esforço para ajudar no que era preciso.

Ao Luiz, representante da empresa Bioaptus, por fornecer os materiais biológicos e equipamentos necessários no andar da pesquisa, além de sempre contribuir com ideias, sugestões e entusiasmo sempre bem vindos.

Às agências financiadoras do projeto CNPq, CAPES, FAPEMIG.

Aos meus amigos mais chegados que irmãos, a todos que estiveram presentes nesse momento único da minha vida.

Muito obrigado.

Resumo

O grafeno pode ser aplicado desde a detecção de gases a biomoléculas complexas como o DNA. Embora os sensores de grafeno sejam altamente sensíveis, isso não implica que eles também sejam seletivos. O problema da seletividade pode ser solucionado modificando a superfície do material através de funcionalização. Este trabalho visa à fabricação de dispositivos que possam ser produzidos em larga escala usando grafeno crescido por CVD adquirido comercialmente. Desenvolvemos a transferência de filmes de grafeno para substratos de Si/SiO₂, fabricamos dispositivos tipo transistor de efeito de campo (FET) por fotolitografia com escrita direta a laser e realizamos a caracterização por espectroscopia Raman e por medidas de transporte elétrico. Foi realizada uma extensa caracterização das propriedades de transporte elétrico dos dispositivos sem funcionalização e funcionalizados com moléculas de Tionina ou PBSE. Os resultados indicam que os dois compostos são ligados à superfície do grafeno e que a funcionalização com Tionina, além de promover uma significativa dopagem tipo-n no material, também gera uma diminuição da mobilidade dos portadores de carga no dispositivo. A funcionalização com o PBSE não produz o mesmo efeito de dopagem. Tanto a Tionina quanto o PBSE são capazes de modificar a superfície do grafeno de modo a proporcionar a imobilização de biomoléculas como os aptâmeros, que são anticorpos artificiais com alta afinidade e especificidade pela proteína alvo. Os experimentos indicaram a ocorrência de uma alta sensibilidade à detecção da proteína Taq DNA polimerase ligada ao seu aptâmero específico. Concluimos que a estratégia de funcionalizar a superfície do grafeno para ancorar anticorpos específicos tem o potencial de levar a uma plataforma sensora ao mesmo tempo de alta sensibilidade, grande especificidade e seletividade.

Abstract

Graphene can be applied in the detection of substances ranging from gas to complex biomolecules such as DNA. Although graphene sensors are highly sensitive, it does not imply that they are also selective. The selectivity problem can be solved by modifying the material surface by functionalization. This work aims at the fabrication of devices that can be mass produced using commercial CVD grown graphene. We developed the transfer of graphene films to Si/SiO₂ substrates, we fabricated field effect transistor (FET) devices by photolithography using direct laser writing and performed characterization by Raman spectroscopy and by electrical transport measurements. An extensive characterization of the electrical transport properties of the devices without functionalization and functionalized with Thionine or PBSE molecules was performed. Results show that both compounds are bonded to graphene surface and that Thionine functionalization promotes a significant n type doping in the material and also produces a decrease in the mobility of charge carriers in the devices. Functionalization with PBSE does not produce the very same doping effect. Both Thionine and PBSE are capable of modifying graphene surface in order to provide the immobilization of the aptamer with high affinity and specificity for the target protein. The experiments indicated the occurrence of a high sensitivity to the detection of Taq DNA polymerase protein linked to its specific antibody. We conclude that the strategy of functionalization of graphene surface to attach specific antibodies can lead to a sensing platform with high sensitivity and selectivity.

Sumário

Agradecimentos	ii
Resumo.....	iv
Abstract	v
Capítulo 1 – O Grafeno.....	1
1.1 – Grafeno.....	1
1.2 – Produção de Filmes de Grafeno	3
1.2.1 – Clivagem Micromecânica	3
1.2.2 – Chemical Vapor Deposition (CVD).....	4
1.3 – Estrutura de rede do Grafeno	6
1.4 – Estrutura Eletrônica do Grafeno	8
1.4.1 – Hibridização do Carbono	8
1.4.2 – Estrutura de Bandas do Grafeno	10
1.5 – Dopagem no Grafeno	13
1.6 – Dispositivos de Grafeno	15
Capítulo 2 - Biossensores	20
2.1 – Introdução a Biossensores	20
2.2 – Biossensores Baseados em Nanotubos de Carbono	23
2.3 – Biossensores Baseados em Grafeno.....	26
Capítulo 3 – Dispositivos de Grafeno	31
3.1 – Transferência de Substrato	31
3.2 – Caracterização por Espectroscopia Raman	37
3.3 – Dispositivos à base de Grafeno	39
3.4 – Funcionalização dos Dispositivos	42
Capítulo 4 – Transporte Elétrico em Biossensores à base de Grafeno	45
4.1 – Medidas de Transporte Elétrico	45
4.2 – Ensaio em Biossensores à Base de Grafeno	55
Conclusões	60
Referências Bibliográficas	63

Capítulo 1 – O Grafeno

1.1 – Grafeno

O carbono é um elemento singular devido a sua capacidade de formar muitas hibridizações e, conseqüentemente, formas alotrópicas diversas. Algumas são conhecidas há muito tempo como o diamante e o grafite, e outras descobertas recentemente como o fulereno e o nanotubo [1].

Entretanto, outra forma alotrópica que tem suas propriedades eletrônicas estudadas desde 1947 [9] e que ainda não havia sido produzida e observada é o grafeno, que foi isolado pela primeira vez em 2004 [2,3]. O grafeno é um material composto por átomos de carbono dispostos em uma estrutura bidimensional hexagonal, conhecida como favos de mel (*honeycomb*), que se repete ao longo de um plano que contém apenas um átomo de espessura [4].

A estrutura planar do grafeno é ponto de partida para a formação de outros compostos grafíticos com dimensionalidades diferentes como o fulereno (0D), nanotubo (1D) e grafite (3D) [3]. A figura 1.1 ilustra a folha de grafeno e exemplifica como ela forma outras estruturas grafíticas.

Após o grafeno ter sido produzido pela primeira vez e estabilizado através da interação com o substrato sobre o qual ele está colocado, o material tem sido amplamente estudado devido às suas excelentes propriedades mecânicas, estruturais e eletrônicas [5].

Desde a descoberta experimental do grafeno várias possibilidades de aplicações vêm sendo demonstradas e verificadas experimentalmente [6,7]. Uma das características do material é ter suas propriedades de transporte elétrico altamente modificadas por interação com o ambiente. Isso pode ser entendido de forma simples pelo fato do grafeno ser um material bidimensional, ou seja, a razão área superficial/volume diverge. Sendo assim espera-se que as propriedades do

material sejam altamente influenciadas por quaisquer modificações ou interações que ocorrem na superfície. Isso é demonstrado de forma mais evidente em um resultado experimental onde, através de medidas elétricas, a detecção de moléculas únicas de gás foi realizada [8]. Há uma extensa produção científica e tecnológica em torno do uso do grafeno como sensor. Uma pesquisa rápida no *Web of Science* exigindo que as palavras *graphene* e *sensors(s)* estejam no título da publicação produz cerca de 430 resultados, sendo que utilizando a palavra *biosensor(s)* cerca de 230 resultados são observados (235 em 11/02/2014).

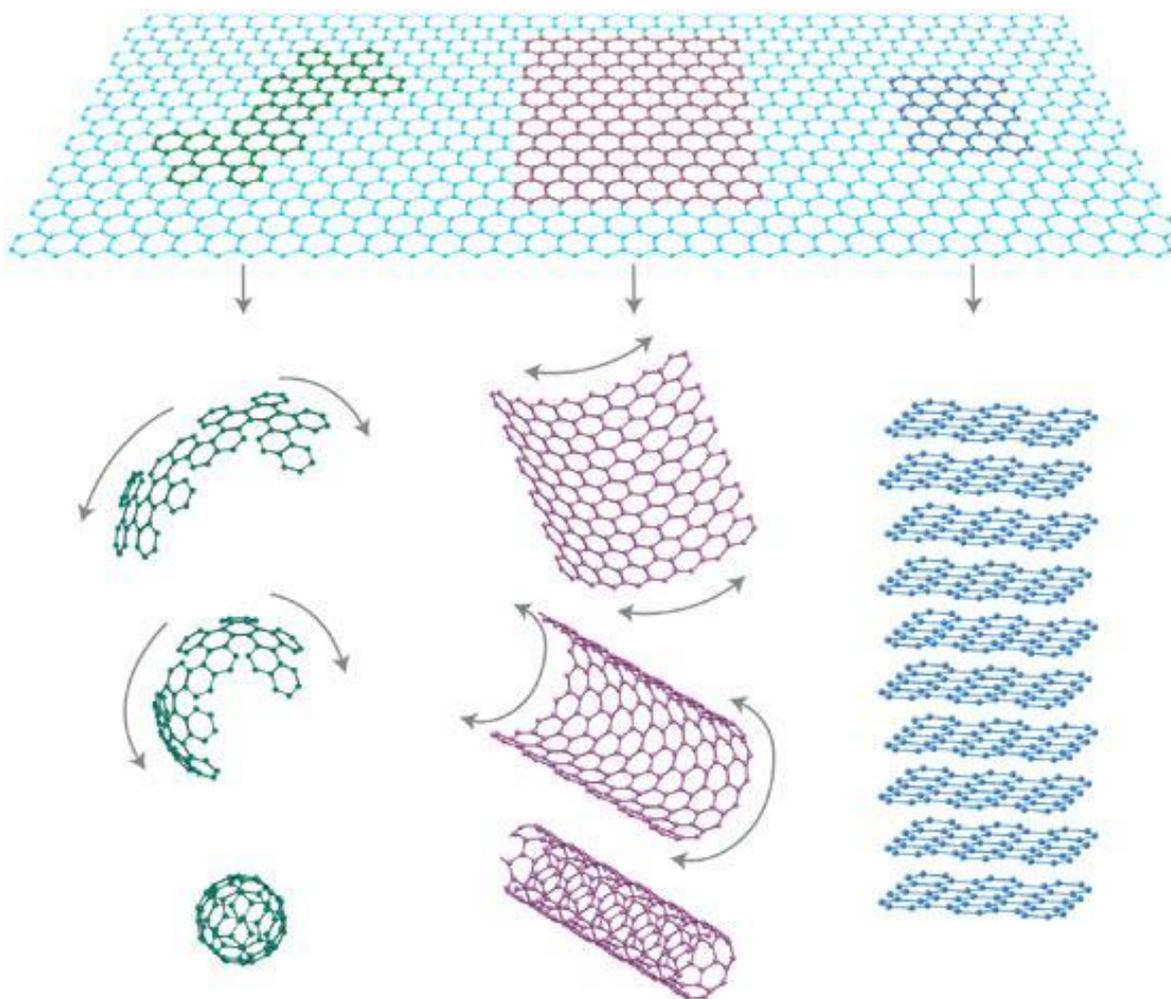


Figura 1.1 - Representação da folha de grafeno e das estruturas que podem ser formadas a partir desse material: fulereno, nanotubo e grafite. Figura retirada da referência [3].

A capacidade do grafeno em ter suas propriedades elétricas alteradas quando moléculas externas interagem com o filme será explorada neste trabalho a fim de investigar a possibilidade de uso do grafeno como plataforma para sensores ao mesmo tempo sensíveis e seletivos.

1.2 – Produção de Filmes de Grafeno

1.2.1 – Clivagem Micromecânica

O primeiro floco de grafeno isolado foi obtido por meio da técnica de clivagem micromecânica em 2004 [2]. A técnica consiste em primeiramente esfoliar repetidamente com uma fita adesiva um cristal de grafite de alta qualidade cristalina de tal forma que, devido a esse processo repetido de clivagem, haja uma probabilidade razoável de que flocos de poucas camadas estejam presentes na área da fita onde o processo foi realizado. Depois a fita é pressionada contra o substrato desejado e, por meio de interação de Van der Waals, os filmes ficam aderidos à superfície dele. Ao retirar cuidadosamente a fita uma nova esfoliação pode ocorrer de modo a deixar filme de grafeno ainda menos espessos no substrato [10,11]. A figura 1.2 ilustra esquematicamente as etapas descritas acima.

O que torna essa técnica viável é que o grafite é composto por vários filmes de grafeno empilhados e ligados entre si por interações fracas. Esses filmes são facilmente separados e isso torna a esfoliação um processo bastante prático e simples uma vez que a técnica tenha sido desenvolvida [12,13]. Pela simplicidade do método, por ser de baixo custo e por não utilizar processos químicos para esfoliar o grafite, a técnica de clivagem micromecânica tem sido amplamente utilizada.

Como o filme de grafeno é obtido diretamente do cristal de grafite, logo o floco possui alta qualidade cristalina. Contudo, a técnica produz filmes de tamanho reduzidos, de fato microcristais de grafeno, e é limitada quanto à produção em larga escala [12].

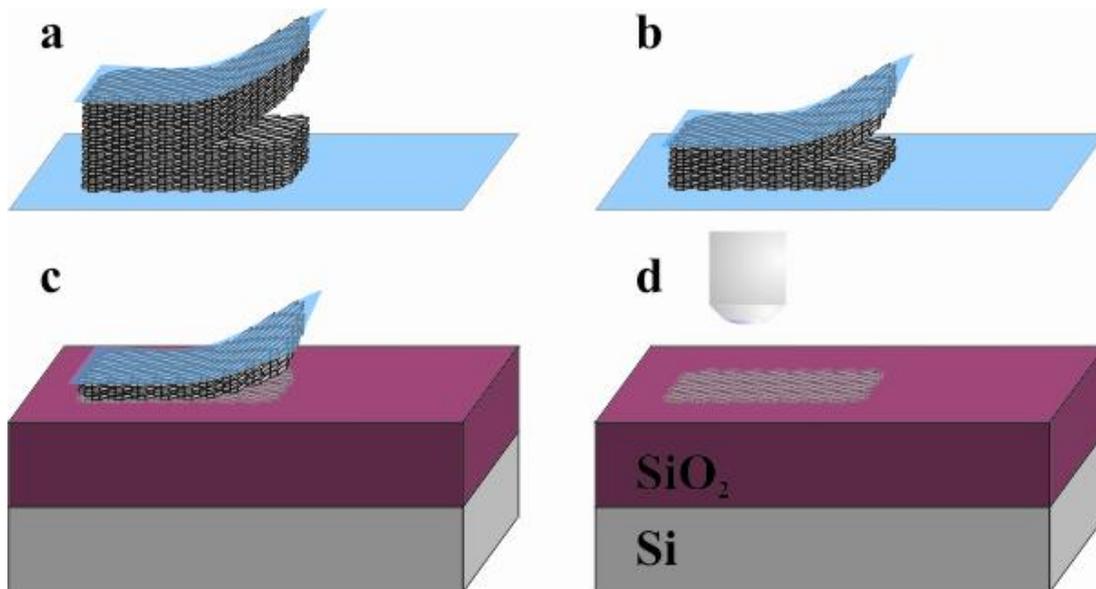


Figura 1.2 - Ilustração do processo de esfoliação do grafite. Em **(a)** o cristal de grafite é colocado na fita adesiva (em azul). Em **(b)** a esfoliação é feita repetidas vezes de modo que a espessura do filme diminua cada vez mais. Em **(c)** o filme é colocado sobre a superfície do substrato. Em **(d)** a fita adesiva é removida deixando apenas um flaco de grafeno sobre a superfície. Imagem retirada da referência [10].

1.2.2 – Chemical Vapor Deposition (CVD)

O processo de crescimento de filmes de grafeno por deposição de vapores químicos, ou *chemical vapor deposition* (CVD), é uma alternativa para produzir filmes policristalinos de grafeno monocamada de boa qualidade, em grandes áreas e em larga escala. Hoje a técnica é capaz de produzir domínios monocristalinos da ordem de centímetros [57].

O método de crescimento consiste em usar uma superfície metálica atuando como uma superfície catalisadora sobre a qual o filme de grafeno será produzido. O cobre e o níquel são os metais mais usados para esse fim. Nessa técnica uma fina folha metálica é colocada em uma câmara aquecida a temperaturas tipicamente da ordem de 1000°C. Quando um hidrocarboneto é inserido dentro da câmara de crescimento, ao entrar em contato com o metal em alta temperatura as moléculas do gás são quebradas e os átomos de carbono são dissolvidos no metal até o limite de solubilidade característico. À medida que um excesso de carbono se acumula ele é

expelido para a superfície do metal (interface metal-gás) e se deposita sobre a superfície metálica. E à medida que a folha de grafeno se forma sobre a superfície, ela mesma inibe a continuação desse processo e um filme de poucas camadas se forma. No cobre, o filme formado possui, tipicamente, uma camada, enquanto no níquel ele possui, tipicamente, poucas camadas.

O metal mais usado no processo é o cobre devido à baixa solubilidade de carbono na temperatura de crescimento, que propicia uma dinâmica que gera mono e bicamadas, e também, devido ao seu baixo custo e fácil corrosão, que torna o processo de transferência de substrato bastante viável [14,16]. Como o carbono é pouco solúvel em cobre, filmes de grafeno podem ser compostos por até 95% de monocamada em crescimentos por CVD [16].

As folhas de cobre são naturalmente recobertas por uma fina camada de óxido nativo que reduz a atividade catalítica do metal. Para amenizar esse efeito e também aumentar o tamanho dos grãos de cobre é feito um tratamento térmico em uma temperatura por volta de 1000°C, em atmosfera de gás inerte, antes de iniciar-se o crescimento do grafeno. O recozimento é importante porque por meio dele a morfologia da superfície do metal é reorganizada, o que promove o crescimento de filmes de grafeno mais homogêneos e uniformes [14,17].

Na primeira etapa de crescimento do filme de grafeno ocorre a nucleação, um acúmulo de átomos de carbono em certas regiões da superfície do metal. Cada átomo que se adere à superfície se difunde para esses centros de crescimento e se fixam neles, de modo que cada centro de nucleação cresce separadamente seguindo distintas orientações cristalográficas [14]. A figura 1.3 ilustra o processo de crescimento do grafeno sobre o cobre de maneira simples. Nela está representada a folha de cobre coberta por uma camada de óxido nativo, em seguida ela mostra os estágios iniciais do processo de crescimento, evidenciando a formação de vários centros distintos de nucleação. Por fim, a figura mostra a formação de um filme contínuo de grafeno dada pela junção dos vários centros de nucleação que crescem separadamente ao longo da superfície metálica.

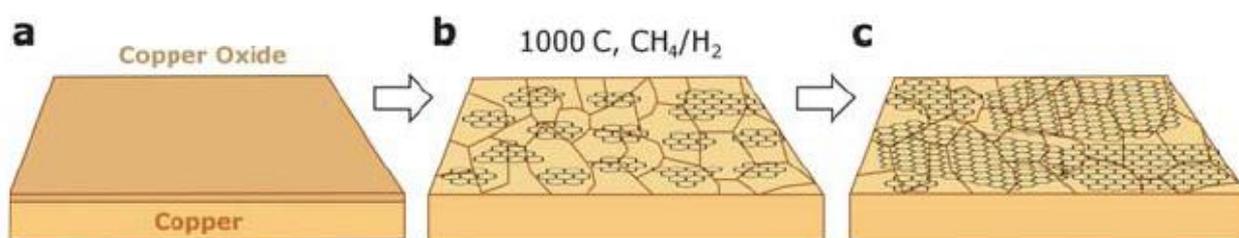


Figura 1.3 – Etapas do crescimento de grafeno sobre folha de cobre por CVD. Em **(a)** é feito o tratamento térmico da folha para remover a fina camada de óxido nativo que interfere na capacidade catalítica do metal e aumentar o tamanho dos grãos. Em **(b)** os gases H₂ e CH₄ são inseridos na câmara, os átomos de carbono são aderidos à superfície e os centros de nucleação se formam. Em **(c)** ocorre a difusão dos átomos de carbono para os centros de nucleação que crescem e formam um filme contínuo de grafeno monocamada. Figura retirada da referência [15].

Filmes de grafeno crescidos por CVD possuem área muito maior que os filmes esfoliados, embora não apresentam a mesma qualidade em sua estrutura cristalina. Entretanto, a técnica de crescimento por CVD tem sido aprimorada de modo que os filmes de grafeno crescidos por ela possuem qualidade cada vez mais alta e, portanto, eles podem se tornar tão bons quanto os obtidos por clivagem micromecânica [16].

1.3 – Estrutura de rede do Grafeno

O grafeno é um material composto inteiramente por átomos de carbono que formam uma estrutura cristalina bidimensional hexagonal conhecida como “favo de mel” [18,19]. Na rede do grafeno os átomos de carbono estão separados por uma distância $a_0 \approx 1,42\text{Å}$ e formam ligações covalentes coplanares separadas por 120° que são responsáveis pela rigidez do material [18].

A rede cristalina do grafeno é uma rede de Bravais triangular com uma base de dois átomos não equivalentes, A e B, por célula unitária [19]. Ou seja, a partir de um único vetor de translação, não se pode chegar a um sítio B partindo de um sítio A, e vice-versa. Portanto, a rede de Bravais para o grafeno pode ser vista como

duas subredes triangulares A e B que se interpenetram [10]. Os vetores primitivos da rede direta podem ser descritos por [19]:

$$\vec{a}_1 = \left(\frac{3a_0}{2}, \frac{\sqrt{3}a_0}{2} \right) \quad \text{e} \quad \vec{a}_2 = \left(\frac{3a_0}{2}, -\frac{\sqrt{3}a_0}{2} \right) \quad (1.1)$$

Os vetores primitivos da rede recíproca são definidos por: $\vec{b}_i \cdot \vec{a}_j = 2\pi\delta_{ij}$ (1.2) [19,20]. Logo:

$$\vec{b}_1 = \left(\frac{2\pi}{3a_0}, \frac{2\pi\sqrt{3}}{3a_0} \right) \quad \text{e} \quad \vec{b}_2 = \left(\frac{2\pi}{3a_0}, -\frac{2\pi\sqrt{3}}{3a_0} \right) \quad (1.3)$$

Escolhendo um átomo B arbitrário, as coordenadas dos três primeiros átomos A vizinhos no espaço direto são dadas por [19]:

$$\vec{\delta}_1 = \left(\frac{a_0}{2}, \frac{a_0\sqrt{3}}{2} \right), \quad \vec{\delta}_2 = \left(\frac{a_0}{2}, -\frac{a_0\sqrt{3}}{2} \right) \quad \text{e} \quad \vec{\delta}_3 = (-a_0, 0) \quad (1.4)$$

Portanto, a partir de um átomo B arbitrário pode-se chegar a qualquer outro átomo B da rede por meio de uma translação dada por \vec{R}_B , e também pode-se chegar a qualquer átomo A da rede por meio da translação dada por \vec{R}_A . Os vetores \vec{R}_A e \vec{R}_B são descritos por:

$$\vec{R}_A = m\vec{a}_1 + n\vec{a}_2 + \vec{\delta} \quad \text{e} \quad \vec{R}_B = m\vec{a}_1 + n\vec{a}_2 \quad (1.5)$$

sendo m, n inteiros e $\vec{\delta}$ o vetor que liga um átomo aos seus três primeiros vizinhos.

A figura 1.4 ilustra a rede direta e a rede recíproca do grafeno, assim como os vetores primitivos de cada uma delas, a célula unitária do espaço direto (área sombreada na figura 1.4 - a) e a primeira zona de Brillouin (área sombreada na figura 1.4 - b).

Os pontos não equivalentes de alta simetria, K e K', que ocupam os seis vértices do hexágono sombreado (figura 1.4 – b) são de suma importância para as propriedades eletrônicas do grafeno já que nesses pontos a banda de valência e a banda de condução se tocam, caracterizando dessa forma o grafeno como um semicondutor de *gap* nulo [10,19,21].

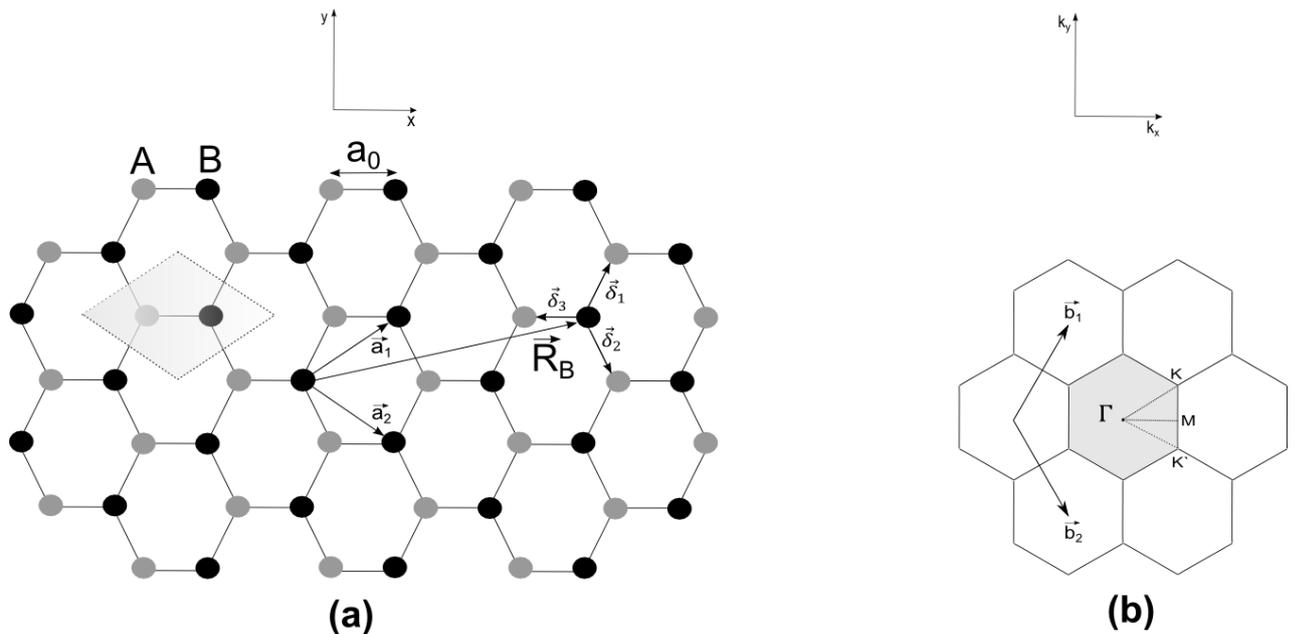


Figura 1.4 – Em **(a)** está ilustrada a rede direta do grafeno. A área sombreada em forma de um losango indica a célula unitária que contém os dois átomos não equivalentes A e B. Também estão indicados os vetores primitivos a_1 e a_2 , assim como os vetores $\vec{\delta}_1$, $\vec{\delta}_2$ e $\vec{\delta}_3$ que ligam um átomo aos seus três primeiros vizinhos. Em **(b)** está ilustrada a rede recíproca associada do grafeno e os vetores primitivos b_1 e b_2 . Os pontos Γ , K, M e K' são pontos de alta simetria e a área sombreada representa a primeira zona de Brillouin.

1.4 – Estrutura Eletrônica do Grafeno

1.4.1 – Hibridização do Carbono

Hibridização é o processo em que os orbitais atômicos se combinam de modo a formar novos orbitais que são descritos como uma combinação linear dos orbitais atômicos originais [10,18,22]. Na configuração eletrônica do átomo de carbono, $1s^2 2s^2 2p^2$, os dois elétrons que ocupam o orbital 1s são fortemente ligados ao núcleo e, portanto, não participam das ligações químicas e por isso são pouco influentes nas propriedades físicas dos materiais de carbono [21,22]. Os quatro elétrons de valência ocupam os orbitais 2s e 2p e dão origem aos orbitais $2s$, $2p_x$, $2p_y$ e $2p_z$ que descrevem as propriedades físicas desses materiais [18]. Na ligação carbono-carbono os orbitais atômicos 2s e 2p se misturam e formam orbitais hibridizados sp^n ($n=1,2,3$) [18,22].

O grafeno é um material composto por átomos de carbono hibridizados na forma sp^2 . O orbital hibridizado sp^2 é formado pela combinação linear dos orbitais atômicos $2s$, $2p_x$ e $2p_y$. Nessa configuração cada átomo de carbono se liga a outros três por meio de intensas ligações covalentes coplanares separadas por um ângulo de 120° , conhecidas como ligações σ , formando assim a rede hexagonal “favo de mel” [22]. Essas ligações σ entre átomos de carbono são as ligações mais intensas na natureza e, portanto, elas são responsáveis pela alta rigidez mecânica do grafeno [22]. O orbital não hibridizado $2p_z$ é perpendicular aos demais e é esse orbital que gera as bandas de valência e de condução do grafeno, respondendo pela condução elétrica no material [12,13,22]. Ligações químicas realizadas pelos orbitais $2p_z$ são conhecidas como ligações π e são muito mais fracas que as ligações σ . A figura 1.5 ilustra a rede hexagonal do grafeno e os orbitais σ e π .

O orbital atômico não hibridizado, $2p_z$, permite que moléculas externas interajam com a folha de grafeno através de interações π não covalentes. Ou seja, essas interações não alteram a hibridização dos átomos de carbono, preservando assim a estrutura cristalina, e ocorrem em uma faixa de energia muito menor do que a energia típica das ligações σ . Justamente pelo fato das interações com o ambiente envolverem os orbitais π , que geram as bandas de condução e valência e determinam as propriedades de transporte elétrico, o grafeno tem alta sensibilidade a interações com agentes externos.

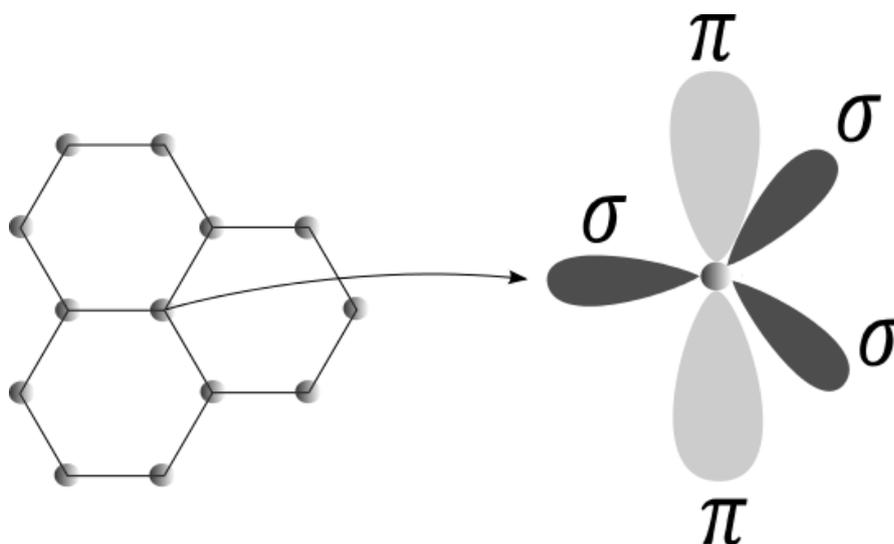


Figura 1.5 – Orbitais σ e π devidos à hibridização sp^2 dos átomos de carbono.

1.4.2 – Estrutura de Bandas do Grafeno

Foi visto na seção anterior que o grafeno possui hibridização sp^2 e, portanto, apenas o elétron π participa da condução elétrica no material. Como a célula unitária do grafeno possui dois átomos de carbono e cada um deles possui um elétron de condução π , logo, haverá na primeira zona de Brillouin duas bandas de energia: banda ligante (π) e banda antiligante (π^*) [18]. Já que apenas o elétron π participa do transporte elétrico, então o cálculo da estrutura de bandas do grafeno leva em conta apenas o orbital não hibridizado $2p_z$.

O cálculo da estrutura de bandas do grafeno pode ser feito de forma relativamente simples utilizando o método de *tight-binding*. O procedimento padrão consiste em usar as funções de Bloch, construídas a partir dos orbitais atômicos dos átomos não equivalentes A e B, como base. Na aproximação feita são consideradas apenas interações com os primeiros vizinhos, cujas coordenadas são dadas pelos vetores $\vec{\delta}_1$, $\vec{\delta}_2$ e $\vec{\delta}_3$ [18].

A relação de dispersão das bandas de valência e de condução do grafeno monocamada, denominadas respectivamente bandas π e π^* , obtida através do modelo *tight-binding* é dada por [19]:

$$E_{\pm}(\vec{k}) - \varepsilon_{2p_z} = \pm t \sqrt{1 + 4\cos\left(\frac{3a_0}{2}k_x\right)\cos\left(\frac{\sqrt{3}a_0}{2}k_y\right) + 4\cos^2\left(\frac{\sqrt{3}a_0}{2}k_y\right)} \quad (1.6)$$

onde t é o elemento de matriz de transferência e ε_{2p_z} é a energia do orbital $2p_z$. O termo t é devido à interação entre primeiros vizinhos, sendo $|t| \approx 2,8 \text{ eV}$ [18,19].

Considerando $t < 0$ a relação de dispersão para $E(\vec{k})$ (1.6) admite os valores $E_+(\vec{k})$ e $E_-(\vec{k})$ que estão associados, respectivamente, às bandas de energia π e π^* [18,22]. Desse modo é visto que a banda π possui energia menor que a banda π^* já que $E_+(\vec{k}) < E_-(\vec{k})$. Além disso, como há dois elétrons π por célula unitária e esses elétrons possuem spin com orientações opostas, eles ocupam a banda π (valência) deixando, conseqüentemente, a banda π^* (condução) completamente vazia [18]. De acordo com a equação (1.6) a estrutura de bandas do grafeno em relação à ε_{2p_z} é

ilustrada na figura 1.6. Avaliando a relação de dispersão ao longo das direções que ligam os pontos de alta simetria Γ , M e K (K'), conclui-se que a curva superior descreve a banda π^* , enquanto a curva inferior descreve a banda π [18,23].

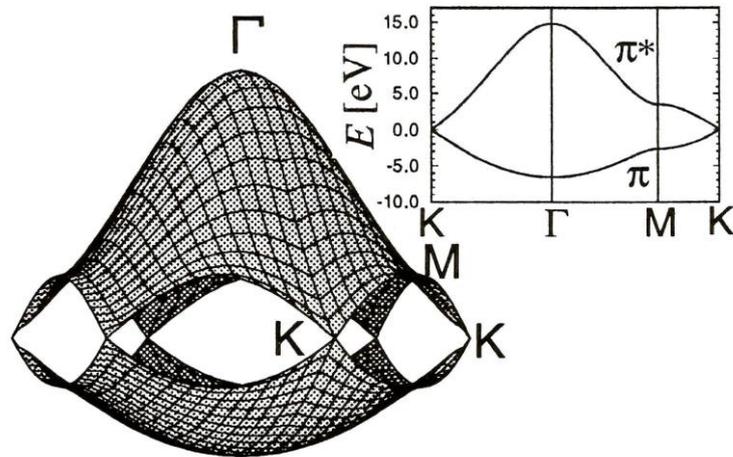


Figura 1.6 – Lado esquerdo: relação de dispersão de energia para os elétrons π e π^* do grafeno calculado por meio do *tight-binding*. Lado direito: dispersão eletrônica ao longo dos pontos de alta simetria Γ , M e K (K') da primeira zona de Brillouin. Imagem retirada da referência [18].

Expandindo a relação de dispersão (1.6) em torno dos pontos de alta simetria K (K') obtém-se uma relação de dispersão linear [19,22] e dada por:

$$E_{\pm}(k) \approx \pm \hbar k v_F \quad (1.7)$$

sendo $v_F = \frac{3ta_0}{2\hbar} \approx 10^6 \text{ m/s}$. A curva que representa a relação (1.7) é mostrada na figura 1.7.

O fato da descrição da estrutura de bandas do grafeno poder ser reduzida por uma expansão em torno dos pontos de alta simetria K e K' traz implicações importantes em relação aos fenômenos de transporte elétrico no material. A relação de dispersão linear (1.7) se assemelha a equação relativística $E = pc$ e, portanto, os portadores de carga no grafeno se comportam como partículas de massa nula. Dessa forma, para pontos próximos aos pontos K e K' os portadores de cargas são descritos pela equação de Dirac, que descreve férmions relativísticos de massa nula, e por isso esses pontos de alta simetria são conhecidos com pontos de Dirac.

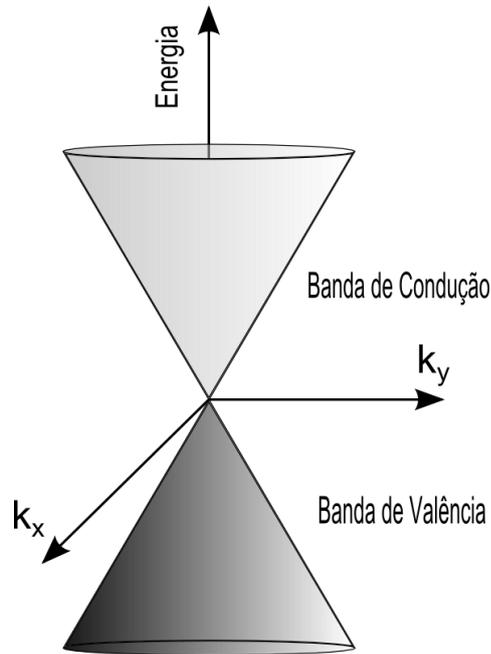


Figura 1.7 – Relação de dispersão linear para pontos próximos aos pontos K e K' onde as bandas de valência e de condução se tocam. A banda π constitui a banda de valência enquanto a banda π^* constitui a banda de condução [23].

Pela figura 1.7 nota-se que as bandas de energia E_+ e E_- se tocam nos pontos de alta simetria, K (K'), caracterizando assim o grafeno como um semiconductor de *gap* nulo [19,22]. Essa característica peculiar do grafeno é devido ao fato da célula unitária do material possuir dois átomos da mesma espécie química [18]. Como os dois elétrons π ocupam a banda π , logo a banda π constitui a banda de valência enquanto a banda π^* constitui a banda de condução do grafeno [23].

Portanto, como a maioria dos fenômenos de transporte elétrico para o grafeno ocorre no regime em que a energia é da ordem da energia de Fermi (regime de baixa energia), então a aproximação linear da curva de dispersão (1.7) é válida já que o nível de Fermi se encontra justamente no ponto em que os cones de Dirac se tocam [10,23]. Ou seja, no regime de baixa energia os fenômenos de transporte elétrico no grafeno ocorrem na região em que a curva de dispersão é linear e, portanto, ela pode ser descrita pela equação (1.7).

1.5 – Dopagem no Grafeno

O grafeno possui dois elétrons π por célula unitária que ocupam a banda de valência, dessa forma ela estará completamente preenchida enquanto a banda de condução estará completamente vazia. Portanto, o nível de Fermi E_F se encontra no ponto onde essas bandas se tocam, conhecido também como ponto de neutralidade de carga. Quando o nível de Fermi se encontra no ponto de neutralidade o grafeno não possui dopagem e as concentrações de elétrons (n_e) e buracos (n_h) são iguais já que vacâncias na banda de valência são produzidas apenas por excitação térmica.

O mecanismo mais simples e mais utilizado para induzir portadores de carga no grafeno consiste na aplicação de um campo elétrico externo usando o *gate*. Como consequência direta da ausência de *gap*, decorrente da relação linear de dispersão (1.7), os portadores de carga no grafeno podem mudar continuamente entre elétrons e buracos [3]. Portanto, pela aplicação de um campo elétrico externo carga negativa ou positiva pode ser induzida no grafeno por efeito de campo. Ademais, substratos de SiO_2 possuem corrugações em sua superfície que aprisionam portadores de carga elétrica e promovem uma ondulação na folha de grafeno depositada sobre o óxido [53]. Dessa forma a própria interação do grafeno com o substrato e com os centros de carga aprisionada na camada de óxido, juntamente com a ondulação promovida na superfície do filme, produzem campos elétricos locais que são responsáveis por parte da dopagem que ocorre naturalmente no material [25].

Moléculas interagindo com a superfície do grafeno podem, através de transferência de carga elétrica, comportar-se como doadoras ou receptoras de elétrons promovendo dopagem tipo-n (doadoras) ou tipo-p (receptoras), alterando dessa forma as propriedades de transporte elétrico do material [21,24]. Geralmente, o próprio ambiente oferece uma dopagem tipo-p ao grafeno, principalmente devido a presença de moléculas de água e O_2 que ficam adsorvidas à superfície do grafeno [10,23,25,27].

O nível de Fermi tem sua posição na curva de dispersão do grafeno alterada de acordo com o grau de dopagem do material. Quando E_F se encontra na banda de valência o material possui dopagem tipo-p e os portadores de carga majoritários são buracos. Porém, se E_F encontra-se na banda de condução o grafeno possui dopagem tipo-n e o transporte é realizado majoritariamente por elétrons. A figura 1.8 ilustra o fato descrito acima.

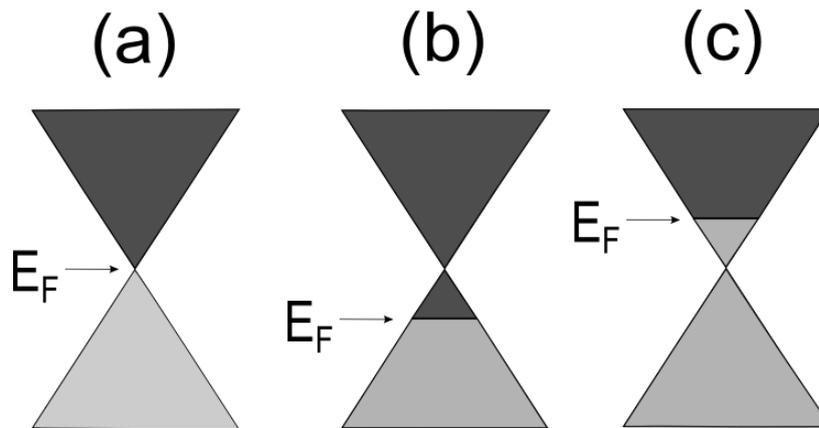


Figura 1.8 – A figura mostra o cone de dispersão do grafeno, o cone superior (cinza escuro) representa a banda de condução e o cone inferior (cinza claro) representa a banda de valência. Em **(a)** o nível de Fermi E_F se encontra no ponto de neutralidade e o grafeno não possui dopagem ou está compensado (mesma dopagem tipo-n e tipo-p), em **(b)** E_F se encontra na banda de valência e o grafeno possui dopagem tipo-p, e em **(c)** E_F se encontra na banda de condução e então o grafeno possui dopagem tipo-n.

A capacidade do grafeno ser dopado por moléculas externas e ter sua densidade de portadores de carga controlada por um campo elétrico aplicado abre a possibilidade de se construir dispositivos de transistor de efeito de campo (FET) de modo a explorar essas propriedades. Em virtude dessas características o grafeno pode ser amplamente explorado como biossensor e essa possibilidade será o tema de estudo desse trabalho.

1.6 – Dispositivos de Grafeno

Dispositivos de efeito de campo baseados em grafeno do tipo FET (*Field Effect Transistor*) podem ser construídos usando uma estrutura composta por um substrato de silício altamente dopado, sobre o qual é crescida uma camada de óxido de silício (SiO_2), e pelo grafeno depositado sobre a camada de óxido. O silício altamente dopado atua como um contato metálico que permite a aplicação de uma diferença de potencial elétrico entre o substrato e o grafeno que permite o controle da densidade de carga no grafeno (efeito de campo como descrito anteriormente) [34]. Essa diferença de potencial aplicada é denominada tensão de porta (*gate*) em referência à tensão de porta aplicada nos transistores de efeito de campo (FET).

A figura 1.9 ilustra um dispositivo tipo FET baseado em grafeno que, apesar de conceitualmente simples, permite uma grande variedade de estudos de transporte elétrico. Essa é a arquitetura dos dispositivos fabricados ao longo do trabalho. Nesse dispositivo aplica-se uma corrente elétrica ao longo do canal principal da ponte Hall que possui largura W , ao passo que é medida a diferença de potencial longitudinal entre dois contatos separados de uma distância L . Esse método de medida que utiliza quatro terminais evita efeitos de resistência dos cabos e dos contatos nos resultados.

Como o grafeno é um sistema bidimensional a resistência medida entre o par de contatos é dada por:

$$R = \frac{1}{\sigma} \frac{L}{W} \quad (1.8)$$

A partir de um modelo clássico de transporte difusivo no grafeno (modelo de Drude) a condutividade elétrica σ é escrita por [20]:

$$\sigma = |\mu n e| \quad (1.9)$$

onde μ é a mobilidade do grafeno, n é a densidade de portadores de carga na superfície e e é o módulo da carga do elétron.

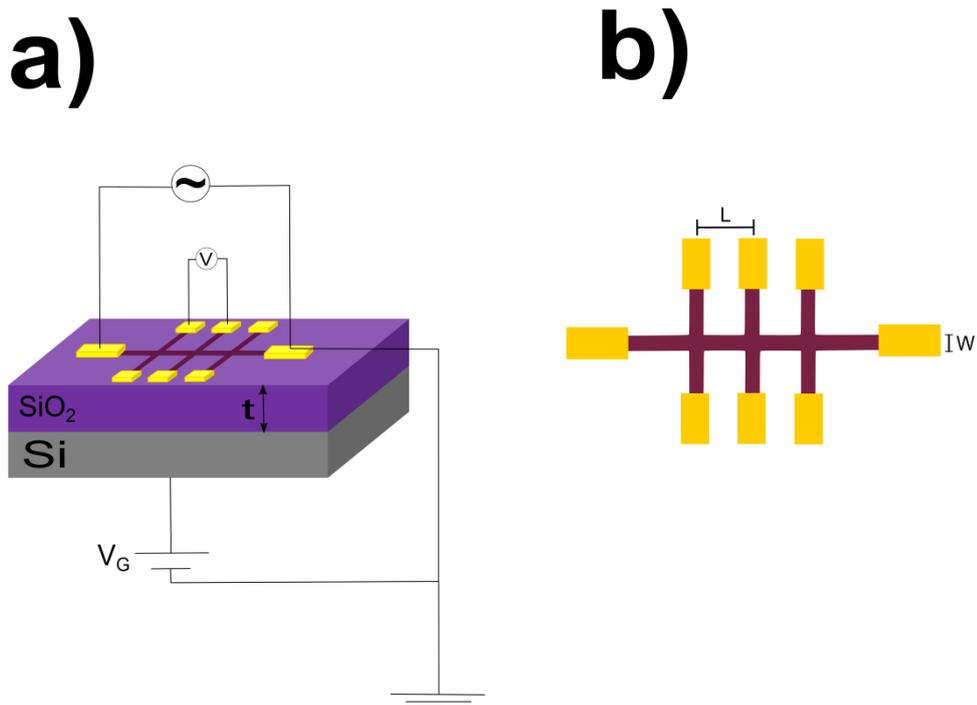


Figura 1.9 -- Esquema ilustrativo de um dispositivo de efeito de campo. Em (a) está exemplificado o dispositivo e em (b) é mostrado apenas a ponte Hall vista de cima.

Para o caso em que a espessura do óxido de silício é muito menor que as dimensões da ponte Hall a aplicação da tensão de *gate* entre o silício e o grafeno pode ser aproximada por um modelo de capacitor de placas paralelas. O silício e o grafeno desempenham o papel das placas enquanto o óxido é um material dielétrico entre elas. Então, a capacitância por unidade de área é dada por [10,11]:

$$C = \frac{\epsilon_0 \epsilon_{ox}}{t} \quad (1.10)$$

sendo ϵ_0 a permissividade do vácuo e ϵ_{ox} a constante dielétrica do óxido de silício. Portanto, a tensão de *gate* aplicada e a densidade de portadores de carga induzida na superfície do grafeno podem ser relacionadas por:

$$n = n_0 - \alpha V_G \quad (1.11)$$

onde n_0 é a densidade intrínseca de portadores de carga no grafeno (para $V_G = 0$) e $\alpha \approx 7,2 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-2}\text{V}^{-1}$, sendo $\alpha \equiv \frac{\epsilon_0 \epsilon_{ox}}{t e}$.

A densidade intrínseca de portadores de carga n_0 é proveniente de resíduos químicos no grafeno oriundos do processo de fabricação do dispositivo, moléculas de água e oxigênio adsorvidas no filme [52], e também pelos efeitos de dopagem causada pelo próprio substrato e por corrugações [53]. Quando se aplica uma tensão de *gate* (V_G) positiva (substrato positivo em relação ao grafeno), ocorre a transferência de elétrons do substrato para o grafeno, o nível de Fermi desloca-se para a banda de condução e o transporte elétrico é realizado por elétrons. Por outro lado, quando se aplica uma tensão de *gate* negativa ocorre a transferência de elétrons do grafeno para o substrato, o nível de Fermi desloca-se para a banda de valência e o transporte é realizado por buracos.

A resistência elétrica então pode ser relacionada com V_G da seguinte forma:

$$R = \frac{1}{\sigma} \frac{L}{W} \therefore R = \frac{1}{|\mu n e|} \frac{L}{W} \therefore R = \left| \frac{L}{W \mu e (n_0 - \alpha V_G)} \right| \quad (1.12)$$

Ou então, expressando em termos da resistividade:

$$\rho = R \frac{W}{L} \therefore \rho = \frac{1}{|\mu e (n_0 - \alpha V_G)|} \quad (1.13)$$

A equação (1.13) possui uma singularidade para $n_0 = \alpha V_G$ e a tensão $V_{PN} = \frac{n_0}{\alpha}$ é chamada de ponto de neutralidade porque nesse caso $n = 0$. No entanto, experimentalmente é verificado que a curva de $\rho \times V_G$ apresenta um pico finito nesse ponto. Isso pode ser explicado porque os defeitos estruturais do filme de grafeno atuam como uma região de acúmulo de elétrons e buracos que são responsáveis por uma condução mínima, embora, na média a carga total seja nula no ponto de neutralidade [11]. Isso está normalmente associado ao fato de que localmente os potenciais e curvaturas da folha de grafeno sobre o substrato são distintos e geram densidades de carga diferentes. Logo, a tensão na qual ocorre o ponto de neutralidade é aquela que minimiza a densidade média de portadores.

Como $n = n_0 - \alpha V_G$ e $n_0 = \alpha V_{PN}$, a relação da densidade de portadores de carga em função da tensão de *gate* pode ser reescrita como:

$$n = \alpha (V_{PN} - V_G) \quad (1.14)$$

A equação (1.14) mostra que se $V_{PN} > 0$ a densidade de portadores de carga será nula para $V_G > 0$, ou seja, é necessário injetar elétrons no grafeno para que a densidade seja nula. Isso representa uma dopagem inicial tipo-p (buracos em excesso). Caso $V_{PN} < 0$ a densidade de portadores de carga será nula para $V_G < 0$, assinalando uma dopagem inicial tipo-n (elétrons em excesso). A figura 1.10 mostra uma curva de $\rho \times V_G$ de uma amostra de grafeno produzida nesse trabalho, e mostra também a posição do nível de Fermi para cada um dos casos citados acima.

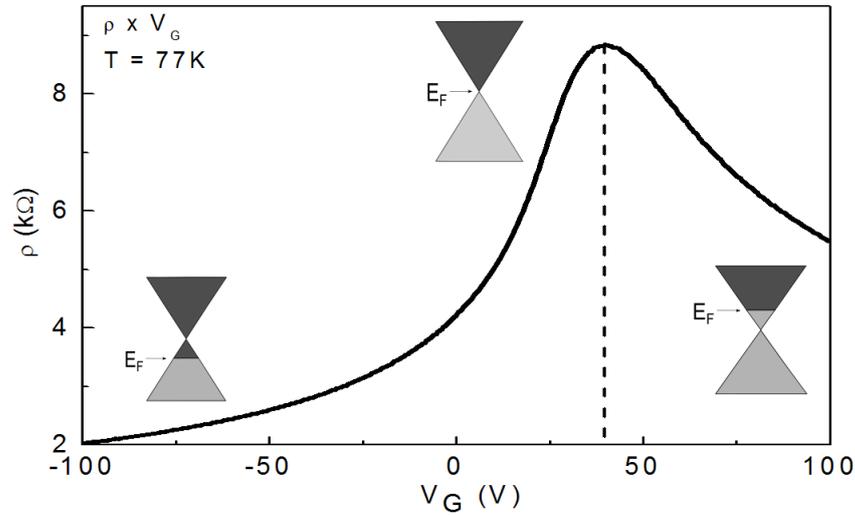


Figura 1.10 – Curva de $\rho \times V_G$ para uma amostra produzida nesse trabalho. O ponto de neutralidade V_{PN} encontra-se em aproximadamente $V_G \approx 40$ V e a dopagem inicial é do tipo-p.

As medidas de transporte elétrico também podem ser graficadas na forma de $\sigma \times V_G$ já que $\sigma = \frac{1}{\rho}$. A relação entre σ e V_G é obtida reescrevendo-se a equação (1.9) em termos da equação (1.14), ou seja, $\sigma = |\mu n e|$, mas como $n = \alpha(V_{PN} - V_G)$, logo:

$$\sigma = |\mu e \alpha (V_{PN} - V_G)| \quad (1.15)$$

Como a equação (1.15) depende linearmente de V_G ela permite a obtenção da mobilidade do grafeno através de um ajuste linear da curva medida.

A figura 1.11 exemplifica uma curva de $\sigma \times V_G$ obtida a partir da curva ilustrada na figura 1.10. Apesar da equação (1.15) prever uma dependência linear de σ em função de V_G , a curva ilustrada na figura 1.11 apresenta um comportamento

sublinear da condutividade em função da tensão de *gate* aplicada. Esse comportamento sublinear é devido à presença de centros espalhadores extrínsecos de longo alcance [10,55] e será abordado mais detalhadamente no capítulo 4. A figura 1.11 mostra também que o nível de Fermi se encontra na banda de valência quando $V_G < V_{PN}$, no ponto em que as bandas se tocam quando $V_G = V_{PN}$, e na banda de condução quando $V_G > V_{PN}$.

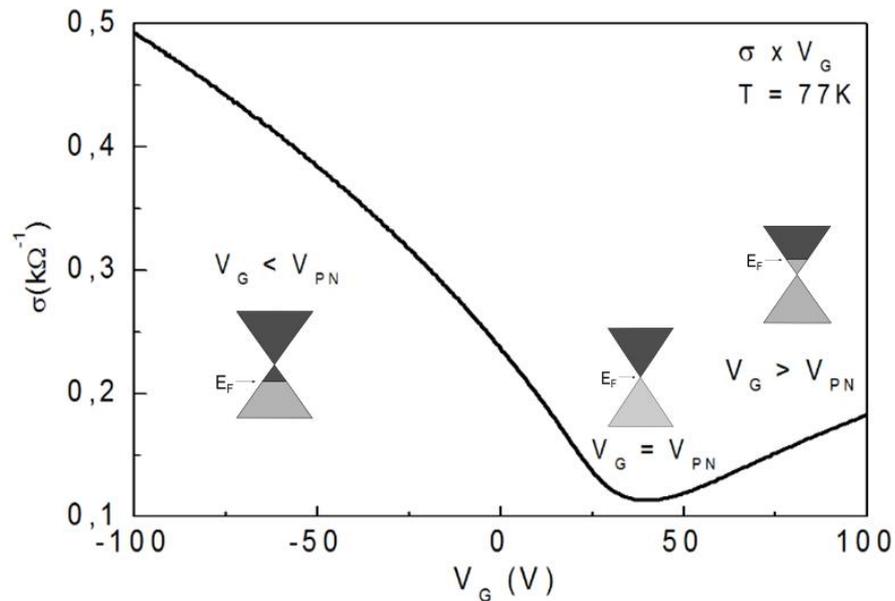


Figura 1.11 – Curva de $\sigma \times V_G$ para uma amostra produzida nesse trabalho. O ponto de neutralidade V_{PN} encontra-se em aproximadamente $V_G \approx 40\text{ V}$.

No caso de $\sigma \times V_G$ o ponto de neutralidade V_{PN} está relacionado com o mínimo da condutividade, que é não nulo mesmo para o caso $V_G = V_{PN}$ pelos mesmos motivos que a resistividade possui um valor finito nesse ponto.

Capítulo 2 - Biossensores

2.1 – Introdução a Biossensores

Biossensores são dispositivos que podem desempenhar várias funções diferentes associadas à detecção qualitativa ou quantitativa de substâncias ou moléculas, simples ou complexas, associadas a processos e sistemas biológicos e organismos vivos. Um biossensor é composto por um elemento ativo sensível e um transdutor que gera sinais elétricos, ópticos, térmicos ou magnéticos quando um determinado composto é identificado. Portanto, o elemento sensível é responsável pela detecção seletiva enquanto o transdutor converte a ocorrência de um evento específico em um sinal de leitura [31]. A figura 2.1 apresenta uma ilustração geral de um biossensor e também mostra como os elementos sensíveis desempenham o papel de detecção seletiva de seus respectivos materiais biológicos.

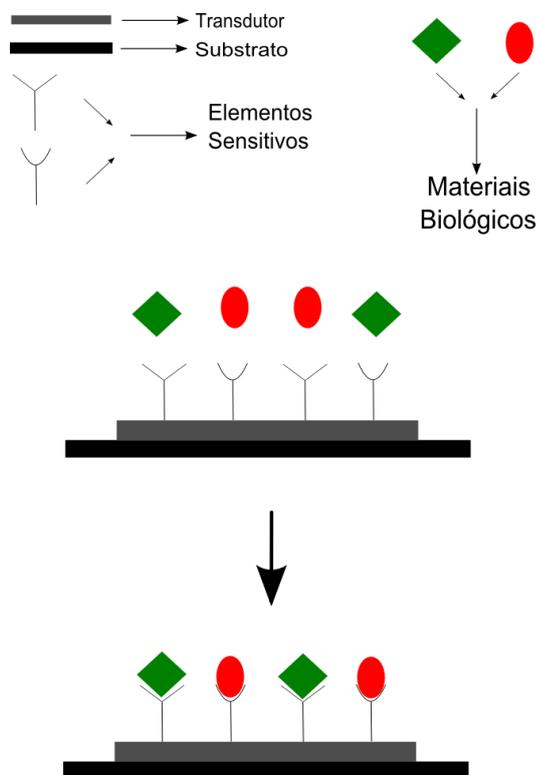


Figura 2.1 - Esquema geral do princípio de funcionamento de um biossensor. Em preto está representado um substrato qualquer, em cinza está mostrado o elemento transdutor, os elementos sensíveis correspondentes a materiais biológicos distintos também estão representados.

O conceito de se usar agentes e moléculas do sistema imunológico como agentes sensitivos foi relatado pela primeira vez em 1959 com o surgimento do teste caseiro de gravidez [29]. Desde então essa ideia tem sido aprimorada de modo que na década de 60 surgiram os primeiros biossensores mais complexos [31]. O biossensor moderno incorpora, em geral, um material biológico e um material biologicamente derivado intimamente associados a um sistema transdutor. Nesse caso os elementos sensitivos são proteínas, podendo ser anticorpos, enzimas, ácidos nucleicos, receptores celulares e ainda microorganismos, que reagem com a molécula alvo [28,31,33].

Um dos princípios de funcionamento de um biossensor baseia-se na sua capacidade de detectar interações diretas e específicas entre o complexo antígeno-anticorpo, ou então usando um material sensitivo que indica quando a identificação molecular ocorre [28]. A alta especificidade e sensibilidade de um biossensor permitem que vários tipos diferentes de compostos possam ser identificados em tempo real [28]. Nesse âmbito os biossensores mais comuns são os chamados biossensores eletroquímicos, que são biossensores cujo mecanismo de funcionamento é normalmente baseado em transferência eletrônica direta em processos de catálises enzimáticas. Sensores eletroquímicos levam vantagem pela alta seletividade, facilidade de uso, capacidade de detectar concentrações muito baixas e por possuir potencial de miniaturização [28,30,31].

Recentemente várias alternativas têm sido testadas a fim de melhorar o desempenho dos biossensores, sendo uma delas a utilização de nanopartículas metálicas com o intuito de formar uma base estável para ancorar os agentes sensitivos. As nanopartículas metálicas promovem um aumento da área superficial em que os agentes sensitivos são imobilizados, o que aumenta por sua vez a sensibilidade do sensor [31]. As nanopartículas metálicas também promovem um aumento da atividade catalítica do biossensor já que elas favorecem um aumento da taxa de transferência eletrônica, que por sua vez possibilita o dispositivo detectar concentrações de biocompostos cada vez menores [31]. Os metais mais utilizados para esse fim são, em geral, o ouro, a prata e a platina [28].

Um avanço importante para a pesquisa e produção de biossensores foi a produção de fragmentos de anticorpos de alta especificidade para uma molécula alvo [28]. Alguns compostos biológicos são grandes e assimétricos e esse fato dificulta a orientação de ligação entre as moléculas e os sensores, o que diminui a especificidade do sensor. Portanto, fragmentos de anticorpos aumentam a imobilização e promovem uma maior seletividade já que eles mantêm a especificidade biológica desejada e são menores e mais simétricos [28].

O contínuo avanço da indústria eletrônica também tem possibilitado uma notável melhora na performance dos biossensores. Dispositivos MOSFET (*Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor*) podem ser implementados na composição de biossensores, e de fato já foi verificada a capacidade de biossensores baseados em dispositivos MOSFET de detectar moléculas únicas de DNA e células cancerígenas [28].

A grande vantagem da aplicação de dispositivos MOSFET em biossensores é que eles permitem uma estável imobilização de vários elementos sensitivos distintos, além disso, eles são altamente sensíveis, possuem grande potencial para miniaturização e demandam uma pequena quantidade de substâncias biológicas por análise clínica [28]. Essas características permitem a realização de análises múltiplas e simultâneas com alta seletividade e especificidade, automação completa, portabilidade, precisão, facilidade no uso e baixo custo [28]. Portanto, biossensores baseados em dispositivos MOSFET tem se mostrado os mais promissores devido a suas peculiares características e, por isso, eles tem atraído grande interesse ultimamente.

Nanotubos de carbono e grafeno têm sido amplamente utilizados na composição de dispositivos semelhantes aos MOSFET visando à aplicação em biossensores. Avanços recentes na pesquisa de biossensores baseados em nanotubos de carbono e em grafeno serão abordados nas próximas seções.

Muito progresso já foi feito na pesquisa de biossensores, porém, para a plena comercialização ainda falta a disponibilidade de dispositivos robustos, portáteis, reproduzíveis, de simples operação e úteis em localidades como hospitais,

aeroportos, postos policiais e postos de saúde [28]. O desafio recai no desenvolvimento ancorado em técnicas que permitam produção em massa e de baixo custo de biossensores com alta qualidade na especificidade e reprodutibilidade. Quando esse panorama for atingido então haverá no mercado biossensores que permitem desde testes simples como glicemia, monitoramento epidemiológico, ou exames complexos como um diagnóstico antecipado e específico de doenças graves como diversos tipos de câncer, aumentando assim a possibilidade de sucesso no tratamento [28].

2.2 – Biossensores Baseados em Nanotubos de Carbono

Nanotubo de carbono é um nanomaterial composto inteiramente por átomos de carbono hibridizados na forma sp^2 e está ilustrado na figura 1.1. Os nanotubos de carbono apresentam propriedades notáveis como alta rigidez, alta razão área/volume, flexibilidade, excelente condutividade elétrica e térmica que trazem grande interesse pelo material [28].

Estudos recentes têm apontado para o uso de nanomateriais em biossensores como uma interessante alternativa para melhorar o desempenho e a sensibilidade desses dispositivos [33]. Inseridos nesse contexto estão os nanotubos de carbono já que a dependência de suas propriedades elétricas e mecânicas com interações com o ambiente faz deles sistemas muito atrativos para a aplicação em biossensores, por exemplo, como os componentes de sensores eletroquímicos [31,32]. Nesse caso faz-se uso da alta área superficial para gerar eletrodos eletroquímicos com alta sensibilidade. A alta condutividade elétrica, a grande área de contato e alta taxa de transferência eletrônica permitem que biossensores baseados em nanotubos de carbono possuam uma maior sensibilidade e um menor limite de detecção molecular, o que melhora consideravelmente a performance do dispositivo em comparação a sensores convencionais [28,31,33].

A considerável sensibilidade da condutividade elétrica dos nanotubos de carbono em relação a compostos atados em sua superfície permite o uso do material em biossensores baseados em dispositivos tipo FET altamente sensíveis e com grande potencial para miniaturização [31,32]. Essa possibilidade baseia-se no fato de que apenas pequenas trocas de carga elétrica já são suficientes para alterar as propriedades de transporte elétrico do material [31]. Esse fato também gera novas perspectivas já que moléculas com atividade eletroquímica reduzida podem ser também detectadas e, portanto, uma nova diversidade de biossensores baseados em dispositivos tipo FET torna-se factível [32].

Paralelamente ao desenvolvimento de biossensores baseados em nanotubos de carbono surgiram algumas técnicas com a finalidade de melhorar ainda mais o desempenho desses dispositivos. Um método que ganhou grande destaque nos últimos anos consiste na utilização de nanopartículas de ouro. O grande benefício que essa técnica traz é que as nanopartículas metálicas promovem um aumento da superfície sensível, e conseqüentemente, a sensibilidade dos biossensores também aumenta [31]. A combinação das propriedades dos nanotubos de carbono e das nanopartículas metálicas promove um aumento da atividade catalítica devido a grande área de contato e a biocompatibilidade, portanto, a eficiência, a capacidade sensível e a seletividade dos biossensores aumentam substancialmente.

As nanopartículas de ouro são amplamente utilizadas porque há protocolos bem estabelecidos para ancorar biomoléculas nelas, sendo assim elas funcionam como âncoras para esses compostos biológicos. A desvantagem desse método é que os processos de conjugação entre o material biológico a ser detectado e o elemento sensível é realizado na superfície das nanopartículas, e não na superfície do nanotubo de carbono ou do grafeno. Nesse trabalho não foi utilizada a funcionalização com nanopartículas metálicas porque a proposta principal é justamente fazer o ancoramento das moléculas biológicas diretamente na superfície do grafeno.

Entretanto, foi verificado que a ligação direta entre proteínas e nanotubos de carbono ocorre de maneira não específica [31]. Para superar essa dificuldade surgiu a ideia de funcionalizar o nanomaterial com moléculas que possuem alta

seletividade e especificidade para proteínas alvo. A funcionalização não covalente é vantajosa em relação à funcionalização covalente porque ela não altera de forma significativa a estrutura eletrônica do grafeno em torno do ponto de Dirac, o que não compromete muito as propriedades de transporte elétrico do grafeno e a atividade do biossensor [31]. Portanto, o processo de funcionalização gera uma considerável melhora na seletividade, biocompatibilidade e sensibilidade do biossensor já que ela combina a especificidade das reações químicas e as propriedades eletroquímicas dos nanotubos [31].

Um ponto importante para o funcionamento do sensor é a faixa de detecção em que ele é sensível [31]. Por exemplo, um dispositivo capaz de diagnosticar o diabetes deve ser sensível à glicose na faixa de poucos μM até, aproximadamente, 15 mM já que um nível de glicose no sangue acima de 7 mM sugere a doença. Biossensores à base de nanotubos de carbono funcionalizados com nanopartículas metálicas detectam, por exemplo, quantidades de glicose na faixa de 0,5 μM até algumas dezenas de mM, o que possibilita o emprego do material na composição de dispositivos específicos para a detecção de diabetes [31]. Uma ampla faixa de detecção semelhante ocorre em eficientes biossensores na detecção de outros compostos como colesterol, dopamina, DNA, lactose, álcool, aminoácidos, lactato, glutamato e vários outros, o que viabiliza a aplicação dos nanotubos de carbono em diversos outros tipos de dispositivos biossensores [31,32,33].

As atrativas características dos biossensores à base de nanotubos de carbono funcionalizados são o ponto de partida para a construção de uma grande variedade de dispositivos altamente sensíveis e seletivos [32]. Entretanto, para uma aplicação ainda mais ampla desses dispositivos é necessário compreender mais profundamente o mecanismo sensorial para que biossensores cada vez mais eficientes tornem-se produtos comerciais [31].

2.3 – Biossensores Baseados em Grafeno

O grafeno foi isolado pela primeira vez em 2004 [2,3] e desde então várias possibilidades de aplicações tecnológicas têm sido verificadas, sendo uma delas o emprego desse material na composição de biossensores altamente sensíveis e seletivos. Devido à possibilidade de controle por efeito de campo das propriedades de transporte elétrico do grafeno, e devido ao fato anteriormente mencionado da grande dependência de suas propriedades de transporte com modificações e interações em sua superfície, o material tem atraído grande interesse visando aplicação em biotecnologia [33,34,35].

As notáveis propriedades de transporte elétrico e estruturais do grafeno como a alta taxa de transferência eletrônica, alta condutividade elétrica, facilidade de funcionalização, excelente flexibilidade, alta rigidez mecânica e grande razão área superficial/volume, dão ao nanomaterial um grande potencial de aplicação em biossensores baseados em dispositivos do tipo FET precisos, com intensa atividade eletrocatalítica, seletivos, altamente sensíveis e com baixo limite de detecção [34,36]. Apesar da descoberta do material ainda ser recente, um grande progresso já foi feito na pesquisa de biossensores baseados em grafeno porque ele demanda os mesmos métodos de funcionalização e fixação de antígenos e anticorpos utilizados nos nanotubos de carbono. Portanto, todo o conhecimento já adquirido no estudo de biossensores baseados em nanotubos é aplicável ao grafeno.

Por conta das características citadas acima como facilidade de funcionalização e grande sensibilidade, oriunda da alta razão área superficial/volume, o grafeno tem grande potencial na composição de simples, úteis e eficientes biossensores baseados em dispositivos de efeito de campo [34]. Por exemplo, como os antígenos e anticorpos podem ser fixados diretamente na superfície do grafeno através de processos de funcionalização, as propriedades de transporte elétrico do grafeno serão mais sensíveis à conjugação direta do antígeno-anticorpo na superfície do material, o que garante uma maior sensibilidade dos dispositivos biossensores [28].

Outra característica importante é o fato do grafeno ser composto por apenas uma camada atômica disposta em uma estrutura bidimensional, visto que o processo de funcionalização é mais efetivo em filmes uniformes e planos [38]. A decoração do filme de grafeno com nanopartículas metálicas, por exemplo, combina a boa condutividade elétrica do metal com o aumento da superfície sensível promovido pela decoração do filme com essas nanopartículas.

Essa combinação permite um aumento na sensibilidade e seletividade do biossensor por promover uma maior taxa de transferência eletrônica, sendo já reportada a capacidade de detectar glicose na ordem de 0,6 μM para um dispositivo decorado com nanopartículas de platina [34,36,42], e moléculas de DNA na ordem de 0,01 nM para outro dispositivo decorado com nanopartículas de ouro [37]. Para o último caso também foi reportado que decorar o filme com nanopartículas de ouro aumentou o limite superior de detecção de 10 para 500 nM [37], ou seja, o biossensor tornou-se sensível em uma escala maior. Portanto, devido às extraordinárias propriedades de transporte elétrico e à grande superfície sensível, o grafeno funcionalizado possui maior taxa de transferência eletrônica entre o elemento sensível e o eletrodo, sendo esse processo mais eficiente para o grafeno do que para nanotubos de carbono [35].

Em comparação aos nanotubos de carbono, o grafeno pode ser uma alternativa mais viável na composição de biossensores [35,37,38]. A facilidade de manuseio durante a fabricação do dispositivo eletrônico, a facilidade de funcionalização, a maior biocompatibilidade e a maior superfície sensível atribuem ao grafeno uma capacidade eletroquímica e catalítica superior. Portanto, biossensores baseados em grafeno demonstram um desempenho superior em relação aos biossensores baseados em nanotubos e em outros materiais de carbono, tanto em sensibilidade quanto em limite de detecção mais baixo [35,37,38].

Desde que os primeiros biossensores baseados em grafeno começaram a ser produzidos, já foi reportada a capacidade de identificação de vários compostos diferentes. Por exemplo, o grafeno tem demonstrado excelente sensibilidade e seletividade na detecção de íons metálicos como Ag^+ , Hg^{2+} , Cd^{2+} e Pb^{2+} [34] e esse tipo de biossensor pode trazer profundo impacto biológico e ambiental.

Dispositivos nanoeletrônicos baseados em grafeno também são capazes de detectar vários compostos gasosos diferentes. Nesse caso a troca individual de elétrons entre a molécula de gás e o grafeno pode ser verificada experimentalmente por meio de uma alteração da condutância do material e permite a detecção de uma única molécula de gás [39]. Inclusive já foi testada a capacidade do grafeno detectar individualmente compostos gasosos como o CO, NO, CO₂, NO₂, H₂, NH₃, O₂, N₂, além de vapores de H₂O e etanol [34,39]. O benefício trazido por esses biossensores é a capacidade de identificar eficientemente alguns gases tóxicos e outros relevantes na indústria alimentícia como umidade, por exemplo.

Outros materiais biológicos cotidianos também já foram detectados satisfatoriamente através de biossensores baseados em grafeno. Glicose, como já foi dito anteriormente, já foi identificada com baixo limite de detecção [42], colesterol e hemoglobina também são outros compostos já reconhecidos [34]. Foi reportado também que biossensores de grafeno podem distinguir efetivamente ácido ascórbico, ácido úrico, dopamina e serotonina, sendo que na ordem de 0,17 µM esse dispositivo consegue fazer distinção plena entre as substâncias [34]. Para esses compostos biológicos os biossensores baseados em grafeno são mais sensíveis do que os baseados em nanotubos de carbono [34,35]. Além da alta sensibilidade e seletividade também já foi citado que biossensores baseados em grafeno mantiveram 90% da sensibilidade original após 30 medidas realizadas, portanto, o nanomaterial tem grande potencial na composição de biossensores eletroquímicos mais eficientes em análises clínicas e diagnósticos médicos [34].

Biossensores de grafeno são capazes de reconhecer especificamente moléculas complexas de DNA com alta sensibilidade e seletividade [28,34], sendo que já foi reportada a capacidade de detecção desses compostos na ordem de 0,01 nM [37]. Além de longas moléculas de DNA, biossensores de grafeno também são capazes de realizar detecções múltiplas, distintas e simultâneas de bases nitrogenadas individuais como adenina e guanina [34]. Portanto, biossensores baseados em grafeno também podem ser utilizados no reconhecimento de moléculas de DNA, que pode ser aplicado em diagnósticos de doenças genéticas [37].

Biossensores baseados em grafeno podem utilizar enzimas, anticorpos ou outras proteínas como elemento sensível [33,34]. A glicose, por exemplo, é detectada através de uma oxidação promovida pela enzima GOD (glicose oxidase) [34]. Colesterol, hemoglobina e etanol são outros exemplos de compostos que também são detectados enzimaticamente [34]. Biossensores enzimáticos baseados em grafeno são altamente sensíveis e seletivos, entretanto, o método de imobilização das enzimas é complexo, e ainda, a atividade enzimática é fortemente afetada pela temperatura, pH e toxicidade do sistema [34].

Em contrapartida, neste trabalho foi utilizado como elemento sensível um aptâmero, anticorpo sintético de alta afinidade e especificidade pela proteína alvo, que foi ancorado diretamente na superfície do grafeno [33]. O diferencial deste trabalho consiste justamente no ancoramento direto dos compostos biológicos na superfície do grafeno porque poucos trabalhos utilizando um método similar foram reportados na literatura, inclusive não foi encontrado nenhum que utiliza grafeno CVD como plataforma para biossensores.

Para solucionar o problema da difícil imobilização do elemento sensível foi utilizado neste trabalho um método direto e simples de funcionalização que se mostrou bastante efetivo. Como moléculas de proteínas possuem terminação amina (NH_2) [45], a funcionalização foi feita de modo a deixar a superfície do grafeno adequada para a fixação dos aptâmeros. Ou seja, o filme de grafeno foi funcionalizado com Tionina ou com PBSE (1-pyrenebutanoic acid succinimidyl ester) já que esses compostos possuem um grupo pireno em uma das extremidades da molécula que se liga não covalentemente à superfície do grafeno através de empilhamento π [44,45]. A outra extremidade da molécula se liga covalentemente ao aptâmero por meio de uma ligação amina (amida) no caso da Tionina (PBSE) [38,44,45]. Portanto, a proposta apresentada nesse trabalho oferece uma vantagem potencial na fixação de biomoléculas no grafeno, gerando mais sensibilidade e não perdendo a seletividade que é garantida pelo uso dos aptâmeros.

A biomolécula estudada neste trabalho é a proteína Taq DNA polimerase. A importância de uma DNA polimerase baseia-se no fato de que esse composto é responsável direto pela polimerização de novas fitas de DNA, portanto, a polimerase

é parte fundamental no processo de replicação do DNA. Como o Taq DNA polimerase é uma proteína, a recombinação direta com o aptâmero de alta afinidade e especificidade é prontamente detectada por meio de respostas elétricas que ocorrem no grafeno, e essas alterações das propriedades de transporte elétrico do material formam a base dos experimentos realizados nesse projeto.

A escolha pelo grafeno crescido por CVD neste trabalho é justificada pelo fato de que, em princípio, essa técnica de crescimento viabiliza a produção em massa de filmes de grafeno monocamada de alta qualidade que podem ser utilizados na produção em larga escala de biossensores altamente sensíveis e seletivos [34,35,37]. Além disso, como filmes de grafeno crescidos por CVD possuem grande área de contato, eles podem ser utilizados na composição de um dispositivo biossensor que é capaz de detectar simultaneamente vários tipos diferentes de componentes biológicos [34].

Alguns trabalhos recentes tem demonstrado o efetivo uso da Tionina e PBSE na funcionalização dos filmes de grafeno, assim como o sucesso do uso de aptâmeros na identificação específica de biomoléculas. Biossensores baseados em grafeno funcionalizado com Tionina foram capazes de detectar compostos como PSA (Prostate Specific Antigen) na faixa de 0,002 – 10 ng/mL [43], e também Noretisterona na faixa de 0,01 – 10 ng/mL [36]. Já o uso de aptâmeros se mostrou promissor porque compostos como Trombina [40] e Imunoglobina E [41] foram especificamente detectados por um aptâmero específico para cada uma dessas proteínas.

Portanto, este trabalho é justificado pelo recente sucesso obtido na funcionalização de filmes de grafeno com Tionina ou PBSE, e pelo êxito alcançado na detecção sensível e seletiva de biomoléculas por meio do uso de aptâmeros altamente específicos a esses compostos.

Capítulo 3 – Dispositivos de Grafeno

3.1 – Transferência de Substrato

A técnica de crescimento por CVD possibilita a produção em larga escala de filmes de grafeno com grande área superficial, alta qualidade e com poucos defeitos estruturais [46]. Os filmes de grafeno utilizados neste trabalho foram adquiridos comercialmente da empresa GRAPHENE SUPERMARKET e, portanto, o crescimento do material não faz parte do escopo deste trabalho. A figura 3.1 mostra uma imagem do grafeno crescido sobre cobre produzido pela empresa.



Figura 3.1 – Grafeno monocamada crescido por CVD sobre folhas de cobre produzido pela empresa GRAPHENE SUPERMARKET. A folha de cobre possui 4'' x 2'' de dimensão.

O primeiro passo na fabricação de dispositivos à base de grafeno é a transferência do filme para outro substrato mais adequado [47,49]. Como este trabalho visa aplicações em dispositivos eletrônicos foram utilizados substratos de silício (Si) altamente dopados tipo-p com uma camada de óxido (SiO_2) com 300 nm

de espessura que é crescida termicamente. Os substratos também foram adquiridos comercialmente da empresa University Wafers.

O processo de transferência de substrato é bastante crítico e importante para o bom desempenho dos dispositivos [49,51]. Um método ideal de transferência é aquele que não contamina o grafeno com resíduos químicos e preserva a morfologia e continuidade do filme [49]. Resíduos de cobre e outros compostos, assim como defeitos estruturais, atuam como centros espalhadores que dificultam o transporte elétrico no grafeno e diminuem drasticamente o desempenho dos dispositivos [49].

Há três métodos de transferência que são similares e largamente utilizados. A figura 3.2 apresenta esquematicamente o processo de transferência utilizado nesse trabalho. Nos três processos uma solução aquosa é utilizada a fim de remover o cobre sob o grafeno e as substâncias mais comuns usadas para esse fim são o nitrato de ferro, cloreto de ferro e persulfato de amônio [49]. O método mais popular [49] consiste na deposição de uma fina camada de PMMA (polymethyl methacrylate) sobre o grafeno que serve como suporte para o filme após a remoção do cobre [48]. Com o cobre removido o grafeno/PMMA é lavado em água DI (deionizada), depois é transferido para o substrato e então o PMMA é removido com o solvente adequado [47,49]. Essa técnica permite a transferência de uma área contínua na ordem de mm^2 [48], que é o suficiente para aplicação em dispositivos eletrônicos, porém, resíduos de PMMA que servem como centros espalhadores e promovem dopagem no grafeno [52] sempre permanecem sobre o filme e são difíceis de remover.

Neste trabalho foi escolhido o método de transferência que utiliza o PMMA já que essa técnica é a mais simples, mais difundida e já era utilizada na transferência de nanotubos de carbono [51]. Mais adiante serão detalhadas as etapas envolvidas no processo realizado que está esquematizado a seguir na figura 3.2. Vale ressaltar que neste trabalho foi utilizado inicialmente o cloreto de ferro para remover o cobre, no entanto, o composto sempre deixava resíduos metálicos no filme de grafeno. Então foi adotado como produto padrão o persulfato de amônio porque ele deixou o grafeno essencialmente livre do cobre utilizado como substrato inicial.

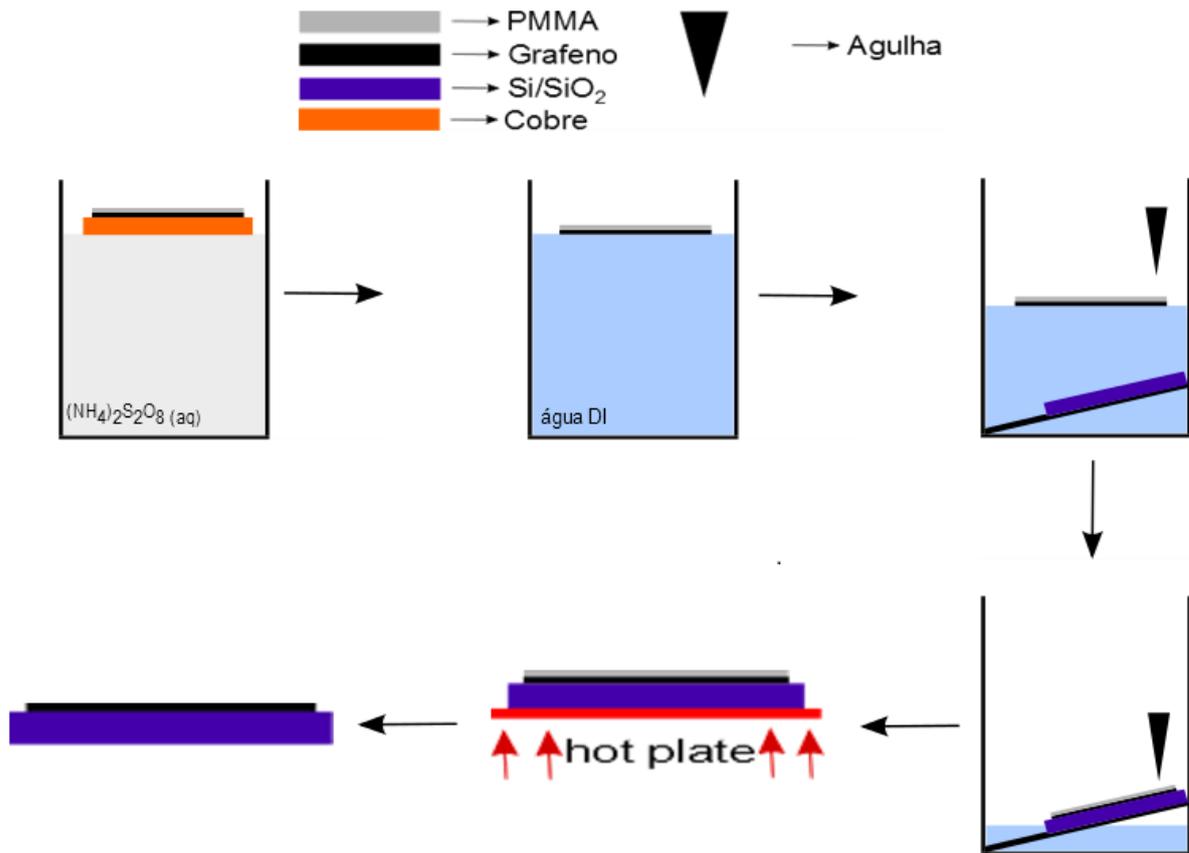


Figura 3.2 – Representação esquemática do processo de transferência do grafeno crescido sobre cobre para um substrato de Si/SiO₂. Na primeira imagem da figura o grafeno/PMMA sobre cobre é colocado em um béquer que contém uma solução aquosa de persulfato de amônio que é responsável pela remoção completa do metal. Na imagem seguinte o filme de grafeno/PMMA é lavado por várias vezes com água DI a fim de que resíduos de persulfato de amônio sejam removidos. Na terceira imagem o substrato de Si/SiO₂ e o grafeno/PMMA são colocados em outro béquer contendo água DI, que é removida com o uso de uma seringa. A quarta imagem representa o estágio em que o nível da água é baixo o suficiente para que o grafeno/PMMA seja colocado, com o auxílio da agulha, sobre o substrato de Si/SiO₂. Posteriormente é realizado um tratamento térmico (quinta imagem) para que o PMMA seja mais facilmente removido, etapa que é exemplificada na última imagem da figura.

A técnica de transferência da fita térmica é bem parecida com a do PMMA, a diferença é que uma fita adesiva térmica é usada no lugar do polímero [49]. O cobre é removido da mesma maneira, o grafeno/fita é lavado em água DI e depois transferido para o substrato utilizado, que então é aquecido a 100°C para que a fita térmica perca a adesão e seja facilmente removida. Esse método de transferência não contamina o filme de grafeno com resíduos químicos como o método do PMMA, porém, o filme transferido é descontínuo e por isso possui vários defeitos estruturais [49].

A terceira técnica de transferência utiliza um substrato plástico de PDMS (polydimethylsiloxane) como suporte para o grafeno em vez do PMMA. O PDMS é colocado sobre o grafeno e a remoção do cobre é feita da maneira usual [50]. Posteriormente o grafeno/PDMS é lavado em água DI, transferido para o substrato utilizado e o PDMS é por fim removido [50]. Esse método viabiliza a transferência de uma larga área e é muito parecido com o da fita adesiva térmica, entretanto, o PDMS é removido mais facilmente do que a da fita térmica [50]. Ainda existem outras propostas de transferência de substrato, mas elas essencialmente apenas modificam o polímero utilizado como suporte.

Antes de iniciar-se o processo de transferência o substrato de Si/SiO₂ é clivado em peças de aproximadamente 10 x 10 mm. A limpeza do substrato de óxido de silício é feita em acetona, metanol e álcool isopropílico, por cinco minutos cada, sob agitação em ultrassom. Depois o substrato é seco com um sopro de N₂ gasoso para remover quaisquer resíduos de solvente. Em seguida, o substrato é limpo por um plasma de oxigênio de baixa pressão que remove qualquer vestígio de composto orgânico que, por ventura, tenha permanecido sobre o óxido de silício. O tratamento por plasma de oxigênio é importante também porque ele torna o SiO₂ mais hidrofílico, assim a água se espalha por ele mais uniformemente o que promove um aumento da aderência do filme de grafeno sobre o substrato durante a transferência [49].

O grafeno é depositado sobre os dois lados da folha de cobre durante o processo de crescimento por CVD [49]. Para iniciar o processo de fabricação de dispositivo é necessário remover, utilizando plasma de O₂ em baixa pressão, o filme crescido sobre em um deles. Depois disso, uma fina camada de PMMA com aproximadamente 300 nm de espessura é depositada sobre o grafeno, que foi preservado no outro lado da folha de cobre, a fim de suportar o filme durante o processo de transferência. Não é feito o procedimento de cura do PMMA porque ele pode tornar o filme mais rígido e dificultar a sua remoção. Posteriormente o filme de cobre/grafeno/PMMA é colocado em uma solução aquosa de persulfato de amônio com concentração de 0,1M com o intuito de remover completamente o metal. A escolha pelo persulfato de amônio baseia-se no fato de que a substância deixa

menos resíduos metálicos e promove uma transferência mais limpa em comparação com o nitrato de ferro e cloreto de ferro [51] como citado anteriormente.

Em seguida o grafeno/PMMA é lavado várias vezes em água DI para limpar qualquer resíduo da solução de persulfato de amônio que permanece no filme, como está ilustrado na figura 3.2 [51]. Na última etapa de limpeza do filme um substrato de Si/SiO₂ é colocado de forma oblíqua dentro de outro béquer contendo água DI, conforme a figura 3.2, de modo que essa posição do substrato facilita o processo de transferência do grafeno. A água é retirada com o uso de uma seringa cuja agulha (ilustrada na figura 3.2) também é utilizada para posicionar o filme de forma adequada sobre o substrato quando o nível de água é baixo o suficiente [51]. Depois do filme de grafeno/PMMA ser completamente colocado sobre o substrato, um sopro de N₂ gasoso é utilizado para secá-lo e evitar que água DI fique aprisionada entre o filme e o substrato. A água DI que eventualmente fica por baixo do filme pode promover uma má adesão do mesmo sobre o substrato ou criar rupturas no filme, danificando desse modo a estrutura do grafeno quando o PMMA é removido [49].

Durante o crescimento do filme de grafeno por CVD a superfície da folha de cobre passa por um processo de reconstrução como efeito da alta temperatura, e como consequência direta desse processo, a superfície do metal se torna rugosa [47,49,51]. O filme de grafeno crescido adquire a mesma morfologia rugosa da folha de cobre e a mantém até mesmo depois de transferido para o Si/SiO₂, nessas condições ele não se adere completamente ao substrato [47,49,51]. Nas regiões onde não há contato direto entre o grafeno e o substrato, o filme é danificado quando o PMMA é removido porque parte dele é removida juntamente com o polímero.

Para solucionar essa questão e promover um assentamento mais uniforme do filme de grafeno é feito durante 30 minutos um aquecimento do substrato acima da temperatura de transição vítrea do PMMA, aproximadamente 180°C. Assim ele se torna mais flexível e então o grafeno se acomoda melhor sobre a superfície do SiO₂ [47,49,51]. Portanto, o filme não é degradado quando o PMMA é removido porque o tratamento térmico aumenta a adesão ao substrato [51].

Após o processo de aquecimento do substrato no *hot plate* por aproximadamente 30 minutos o PMMA é removido em um banho de acetona quente [47]. A figura 3.3 exemplifica um filme de grafeno transferido para Si/SiO₂ pelo método descrito acima. Embora resíduos de PMMA (indicados na figura 3.3 pelas regiões mais claras sobre a superfície do filme) permaneçam após o processo de transferência, regiões contínuas de grafeno, com grande área superficial e onde os dispositivos podem ser fabricados, são transferidas com êxito.

Hoje o processo de transferência é feito de forma corriqueira e consistente sendo que o principal aprimoramento a ser buscado é deixar o grafeno transferido livre do PMMA usado como suporte. Recentemente um trabalho mostrou que a realização de um tratamento térmico do grafeno a 500°C em atmosfera de CO₂ pode ser um meio efetivo de gerar filmes livres de resíduos de PMMA [58].

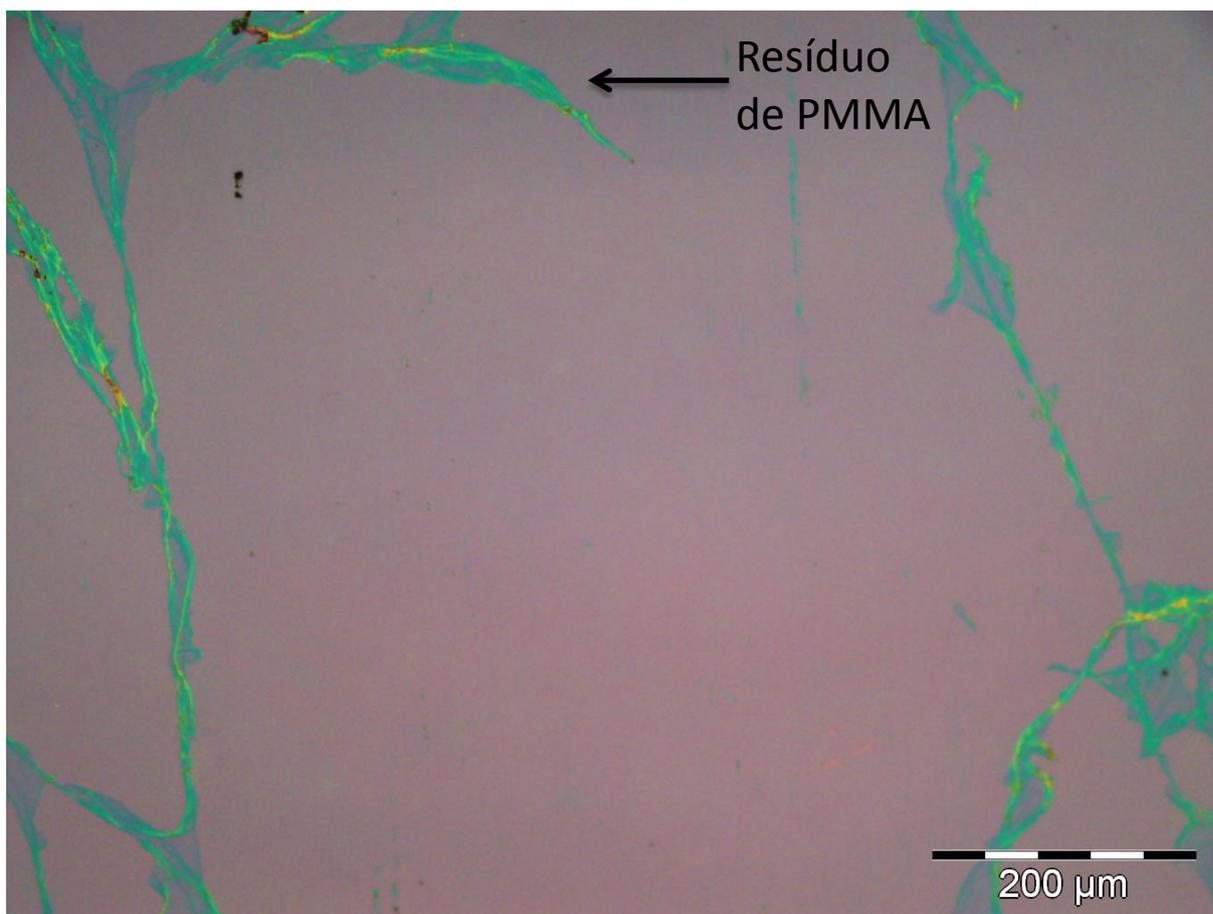


Figura 3.3 – Grafeno transferido para Si/SiO₂ pelo método que utiliza o PMMA. As regiões mais claras são resíduos de PMMA e é possível notar que o filme transferido possui áreas contínuas (região mais escura no centro da imagem) suficientemente grandes para aplicações em dispositivos eletrônicos.

3.2 – Caracterização por Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma das principais técnicas utilizadas na caracterização de nanoestruturas de carbono como, por exemplo, o grafeno [59]. A técnica fornece informações sobre a qualidade da estrutura cristalina do grafeno, número de camadas que compõem o filme, presença de impurezas químicas e nível de dopagem [22].

Resumidamente, a técnica consiste em incidir e focalizar um feixe de laser sobre uma amostra, ou pequena região da amostra, e coletar e analisar a luz espalhada inelásticamente. O espalhamento inelástico se dá, nesse caso, pelos modos normais de vibração (fônons) da amostra e de moléculas ou outros agentes extrínsecos presentes. O feixe de laser incidente excita estados eletrônicos, reais ou virtuais, os elétrons são espalhados por fônons ou defeitos estruturais e retornam ao estado inicial emitindo luz com comprimento de onda diferente do laser incidente [54]. O espectro Raman do grafeno possui três bandas principais, as bandas G, D e G' [54].

A banda G, centrada em $\sim 1580 \text{ cm}^{-1}$, é característica de materiais grafíticos e está associada a materiais de carbono com hibridização sp^2 , como o grafeno e o grafite cristalino [54]. Como a posição do pico da banda G não varia com o número de camadas, ela sozinha não permite a distinção entre o grafeno monocamada e filmes de muitas camadas [54]. Entretanto, contaminações químicas no material podem alterar a posição do pico, logo, a banda G pode ser usada para investigar o nível de dopagem da amostra [10].

A banda D, centrada em $\sim 1350 \text{ cm}^{-1}$, está associada à presença de defeitos estruturais na rede do grafeno [22]. Filmes de grafeno crescidos por CVD usualmente apresentam a banda D evidente porque eles possuem algumas regiões descontínuas. Como o cobre e o grafeno possuem coeficientes de expansão térmica diferentes, os materiais se contraem com taxas distintas quando a folha cobre é resfriada durante o processo e isso gera defeitos estruturais na rede cristalina [47].

A banda G', centrada em $\sim 2700\text{ cm}^{-1}$, é a principal banda utilizada para a determinação do número de camadas em amostras de grafeno e, no caso do grafeno monocamada, ela é ajustável por apenas uma função lorentziana [54]. À medida que o número de camadas cresce a razão entre as intensidades das bandas G' e G diminui. Para o grafeno monocamada a banda G' é mais intensa que a banda G, para a bicamada elas possuem aproximadamente a mesma intensidade e, por fim, para três camadas ou mais a banda G é mais intensa que a G'.

A figura 3.4 ilustra o espectro Raman de uma amostra de grafeno produzida nesse trabalho. Como a razão entre as intensidades das bandas G' e G é aproximadamente três [16] e como apenas uma função lorentziana se ajusta bem à banda G', portanto, o filme transferido é constituído por grafeno monocamada. A presença da banda D indica que há defeitos estruturais no filme que podem ter surgido durante o crescimento ou durante o processo de transferência. A banda G estar centrada em $\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ indica a presença de resquícios químicos no grafeno que provavelmente são resíduos de PMMA oriundos do processo de transferência [10]. Todas as medidas de espectroscopia Raman foram feitas pela Dra. Sara Costa ou pela Dra. Elena del Corro nos equipamentos *DILOR XY* e *HORIBA T64000* e eu acompanhei pessoalmente todas elas.

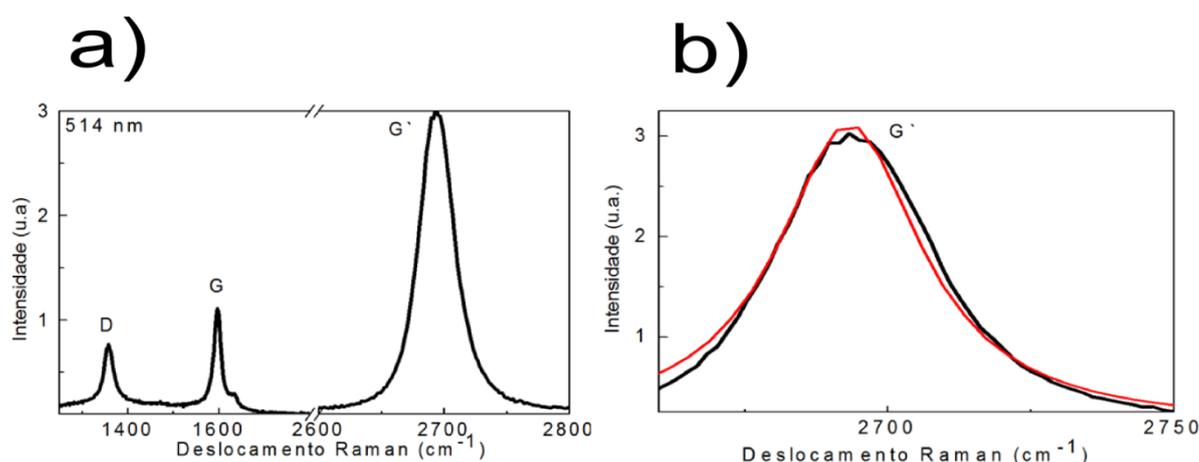


Figura 3.4 – Espectro Raman de uma amostra de grafeno monocamada. Em (a) é visto que a banda G' é simétrica e aproximadamente três vezes mais intensa que a banda G, o que indica que o filme de grafeno é composto por apenas uma camada. Em (b) é mostrada a banda G' isoladamente e uma função lorentziana (curva em vermelho) é ajustada para mostrar que o grafeno transferido é monocamada.

O espectro Raman obtido, juntamente com o ajuste feito, indicam que a amostra transferida é composta por grafeno monocamada e que há alguns defeitos estruturais no filme. Os espectros obtidos são comparáveis aos dos melhores filmes preparados e transferidos para substratos [16,60]. Esse fato justifica o sucesso logrado no processo de transferência de substratos e mostra que filmes de grafeno CVD sobre Si/SiO₂ com alta qualidade podem ser obtidos por meio da técnica que emprega o PMMA.

3.3 – Dispositivos à base de Grafeno

Após a transferência do grafeno para o substrato de Si/SiO₂ inicia-se o processo de fabricação dos dispositivos por meio de fotolitografia. A amostra é primeiramente analisada com um microscópio óptico e as regiões mais adequadas do filme são escolhidas para a produção dos dispositivos com geometria de ponte Hall.

O processo de fotolitografia é realizado por litografia por escrita direta a laser que foi desenvolvido e estabelecido de forma inédita na aplicação em dispositivos de grafeno no Departamento de Física da UFMG [61].

Para tal utilizou-se o equipamento *MICROTECH LASERWRITER LW405* que emprega um laser com comprimento de onda de 405 nm que é focalizado sobre a amostra ao passo que é realizada uma varredura do feixe ao longo do eixo x concomitantemente com o deslocamento da amostra ao longo do eixo y e com a modulação da intensidade do feixe. A combinação adequada das varreduras em x e y e da modulação da intensidade do laser é realizada pelo equipamento a partir do padrão que se deseja reproduzir sobre a amostra. O laser sensibiliza um polímero fotossensível previamente depositado sobre a amostra imprimindo sobre ela o padrão desejado. Após a etapa de sensibilização a região do fotorresiste exposta ao feixe de laser torna-se solúvel e é removida por um revelador alcalino.

A figura 3.5 ilustra o processo completo de fabricação de dispositivos adotado nesse trabalho. O primeiro passo na fabricação dos dispositivos é o processamento da ponte Hall no grafeno. Para esse fim é utilizado como resina fotossensível o fotorresiste S1805. O fotorresiste é espalhado sobre o substrato utilizando uma *spinner* que permite a deposição de um filme fino e uniforme, cuja espessura é controlada pela velocidade de rotação da plataforma giratória. Em sequência é feito um tratamento térmico a 100°C do fotorresiste colocando-se a amostra em uma chapa quente por noventa segundos e a figura 3.5 **(a)** ilustra a amostra logo após essa etapa. Depois a ponte Hall é processada por fotolitografia em regiões escolhidas no filme de grafeno como indica a figura 3.5 **(b)** e, em seguida, a região sensibilizada pelo feixe é removida pelo revelador MF 321 da *Microchem Corp.* Posteriormente o grafeno exposto é corroído por um plasma de O₂ em baixa pressão, restando grafeno apenas nas regiões protegidas pelo fotorresiste em forma de ponte Hall, que é removido com acetona. A figura 3.5 **(c)** ilustra a amostra após as etapas de revelação do fotorresiste e corrosão do grafeno.

O passo seguinte consiste na litografia com a forma dos contatos elétricos. Para isso primeiramente é depositado sobre a amostra um polímero chamado LOR 3B e, em seguida, sobre ele é depositado novamente o fotorresiste S1805, como mostra a figura 3.5 **(d)**. A função do LOR é auxiliar no processo de *lift-off* (remoção do resiste após a metalização da amostra) que está ilustrado na figura 3.5 **(f)** e o tratamento térmico dele é feito em chapa quente por 5-10 minutos com temperatura entre 150-180°C. A ação do LOR se dá criando uma reentrância logo abaixo da camada de fotorresiste após a revelação, indicado na figura 3.5 **(e)**, o que facilita o processo de *lift-off*. Após a litografia dos contatos ser feita, a amostra é levada ao MF 321 novamente e o fotorresiste sensibilizado juntamente com o LOR imediatamente abaixo dele são removidos. O LOR não é sensibilizado pelo laser, mas ele é também removido por ser solúvel no revelador usado.

Após a barra Hall e os contatos serem devidamente processados por fotolitografia, 5 nm de cromo seguido por 50 nm de ouro são depositados sobre a amostra por evaporação térmica como está ilustrado na figura 3.5 **(e)**. A função do cromo é promover a aderência do ouro ao substrato. Finalmente, o fotorresiste não

sensibilizado e o LOR 3B restante são removidos juntamente com a camada metálica sobre eles pelo solvente *PG Remover* em um processo conhecido como *lift-off*, indicado na figura 3.5 (f). O metal em contato direto com o substrato e com o grafeno permanece. A figura 3.6 exemplifica um dispositivo baseado em grafeno em forma de ponte Hall desenvolvido nesse trabalho a partir do método descrito anteriormente. O risco brilhante no filme é resíduo de PMMA.

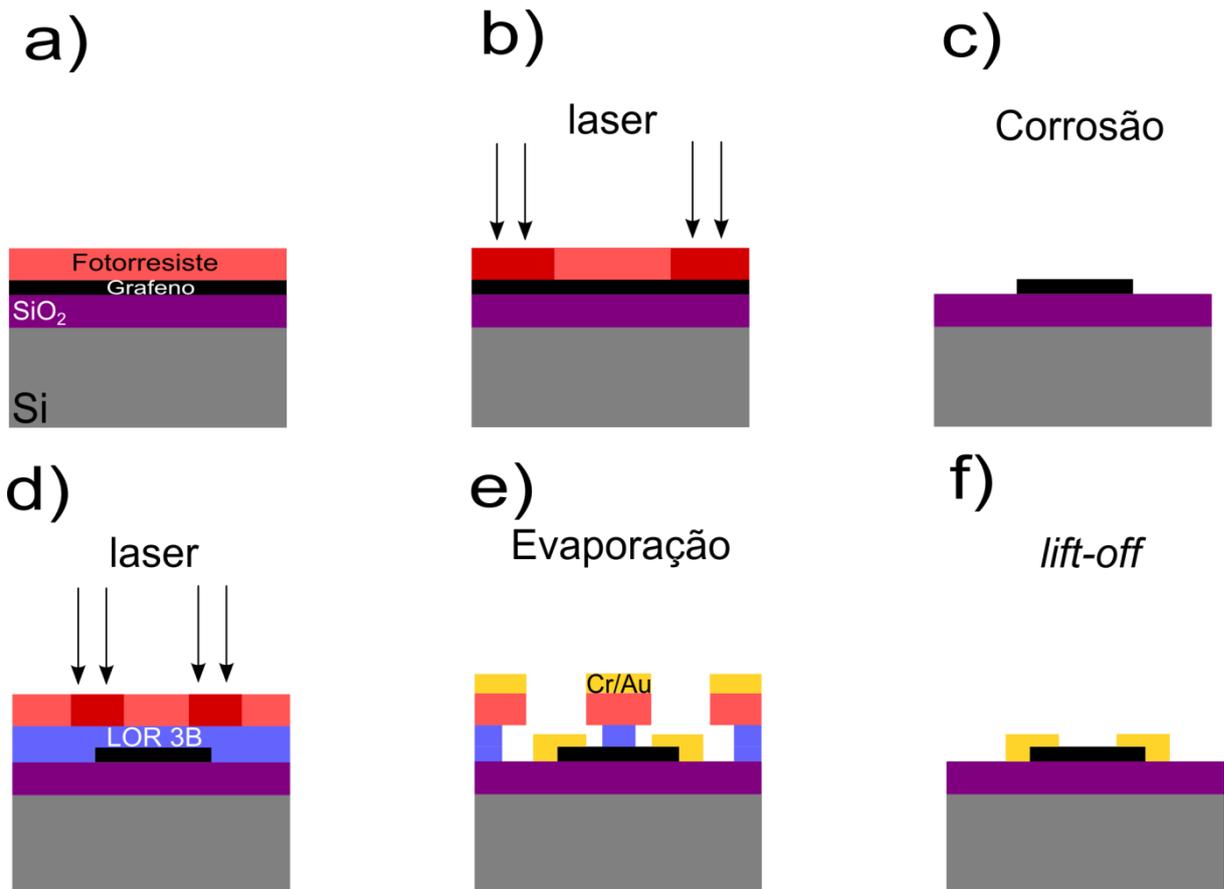


Figura 3.5 – Ilustração do processo completo de fabricação do dispositivo. A imagem (a) ilustra a amostra após o tratamento térmico do fotorresiste S1805, e então se inicia a fabricação do dispositivo. A imagem (b) mostra o processamento da ponte Hall, por fotolitografia, em regiões escolhidas no grafeno que são sensibilizadas pelo feixe de laser e, posteriormente, removidas com o revelador MF 321. O grafeno exposto é removido por um plasma de O₂ em baixa pressão, restando grafeno apenas sob as regiões protegidas pelo fotorresiste não revelado que, em seguida, é removido com acetona. A imagem (c) ilustra a amostra após as etapas de revelação, corrosão do grafeno e remoção do fotorresiste. Para realizar o processamento dos contatos elétricos é necessário cobrir a amostra com outro polímero, LOR 3B, que auxilia no processo de *lift-off*. O fotorresiste é novamente depositado sobre o LOR e então é feito, por fotolitografia, o processamento dos contatos como está indicado em (d). Após a barra Hall (c) e os contatos serem processados, 5 nm de cromo (Cr) e 50 nm de ouro (Au) são evaporados sobre a amostra como mostra a imagem (e). O LOR e o fotorresiste são facilmente removidos com *PG Remover* em um processo conhecido como *lift-off* e, então, apenas o metal em contato direto com o grafeno permanece, finalizando dessa forma o processamento do dispositivo indicado na imagem (f).

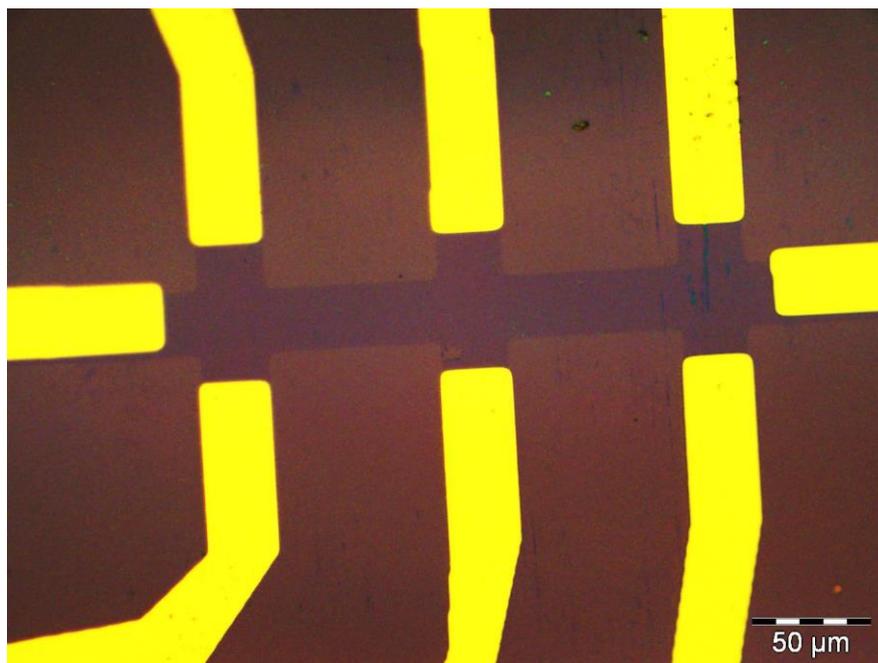


Figura 3.6 – Dispositivo em forma de ponte Hall à base de grafeno desenvolvido pelo método descrito acima. A cor amarela mostra o ouro evaporado sobre a amostra, a região mais escura no centro da imagem delimitada por uma ponte Hall indica o grafeno, ao passo que as regiões mais claras mostram o substrato de SiO₂.

3.4 – Funcionalização dos Dispositivos

Depois de finalizada a fabricação dos dispositivos eletrônicos é realizado o processo de funcionalização das amostras que tem como objetivo permitir a fixação de biocompostos diretamente na folha do grafeno.

A funcionalização não covalente é a mais vantajosa para a aplicação em biossensores visados nesse trabalho porque, além de permitir uma subsequente imobilização direta e altamente específica de vários compostos biológicos no dispositivo, ela também gera pouca perturbação na estrutura eletrônica do grafeno quando comparada a funcionalizações covalentes. Consequentemente, as propriedades de transporte elétrico são menos afetadas [44,45]. A funcionalização não covalente é também muito mais simples de ser implementada do que a funcionalização covalente já que a última prescinde da geração de radicais livres altamente reativos e capazes de atacar as ligações sp² do grafeno [62].

Os compostos químicos utilizados nesse trabalho no processo de funcionalização são a Tionina e o PBSE (1-pyrenebutanoic acid succinimidyl ester), que se ligam ao grafeno de forma não covalente e estável [45] devido à presença de grupos aromáticos nas cadeias moleculares dos dois compostos, os quais interagem com o grafeno através do empilhamento π [44,45]. A molécula de Tionina, inserida na figura 3.7 **(a)**, possui duas terminações amina – NH_2 – simetricamente distribuídas e que podem ancorar, via interação amina, uma variedade de proteínas que desempenham funções sensitivas [44]. Já a molécula de PBSE, inserida na figura 3.7 **(b)**, possui uma terminação amida que interage na forma de ligações amida com o grupo amina presente nas proteínas [45]. É interessante notar que existe uma variedade de métodos para realizar o ancoramento de aptâmeros em superfícies [63] e que tanto os grupos amina quanto amida são adequados para tal fim. Nota-se também que o método de ancoramento aqui utilizado é bem mais simples que a maioria dos protocolos usuais [63]. Nesse trabalho a proteína ancorada tanto pela tionina quanto pelo PBSE é o aptâmero de alta afinidade e especificidade pela proteína Taq DNA polimerase.

Após o desenvolvimento da transferência do grafeno para os substratos e da fabricação dos dispositivos algumas amostras foram funcionalizadas com Tionina usando concentração de 1 – 3 mM, e outras foram funcionalizadas com PBSE com 6 mM de concentração. Água DI foi utilizada como solvente da Tionina, e DMF (dimethylformamide) foi utilizado como solvente do PBSE. As amostras ficaram mergulhadas nas soluções por aproximadamente seis horas e em temperatura ambiente, depois foram lavadas com os respectivos solventes para remover os compostos não atados ao grafeno.

A figura 3.7 ilustra esquematicamente dois biossensores baseados em grafeno funcionalizados com Tionina ou PBSE, aptâmero e proteína Taq DNA polimerase que foram estudados neste trabalho. Na figura estão ilustradas duas folhas de grafeno funcionalizadas não covalentemente com Tionina e PBSE, também está representado o aptâmero de alta afinidade e especificidade pela proteína Taq. O aptâmero se liga covalentemente a Tionina e PBSE através da terminação amina que é característica de uma proteína. Também está representada

na figura a fórmula estrutural das moléculas de Tionina **(a)** e PBSE **(b)**. Em cinza está ilustrado o substrato de silício altamente dopado, em azul o substrato de SiO_2 e o losango vermelho representa o Taq DNA polimerase que foi testado nos dois tipos de sensores.

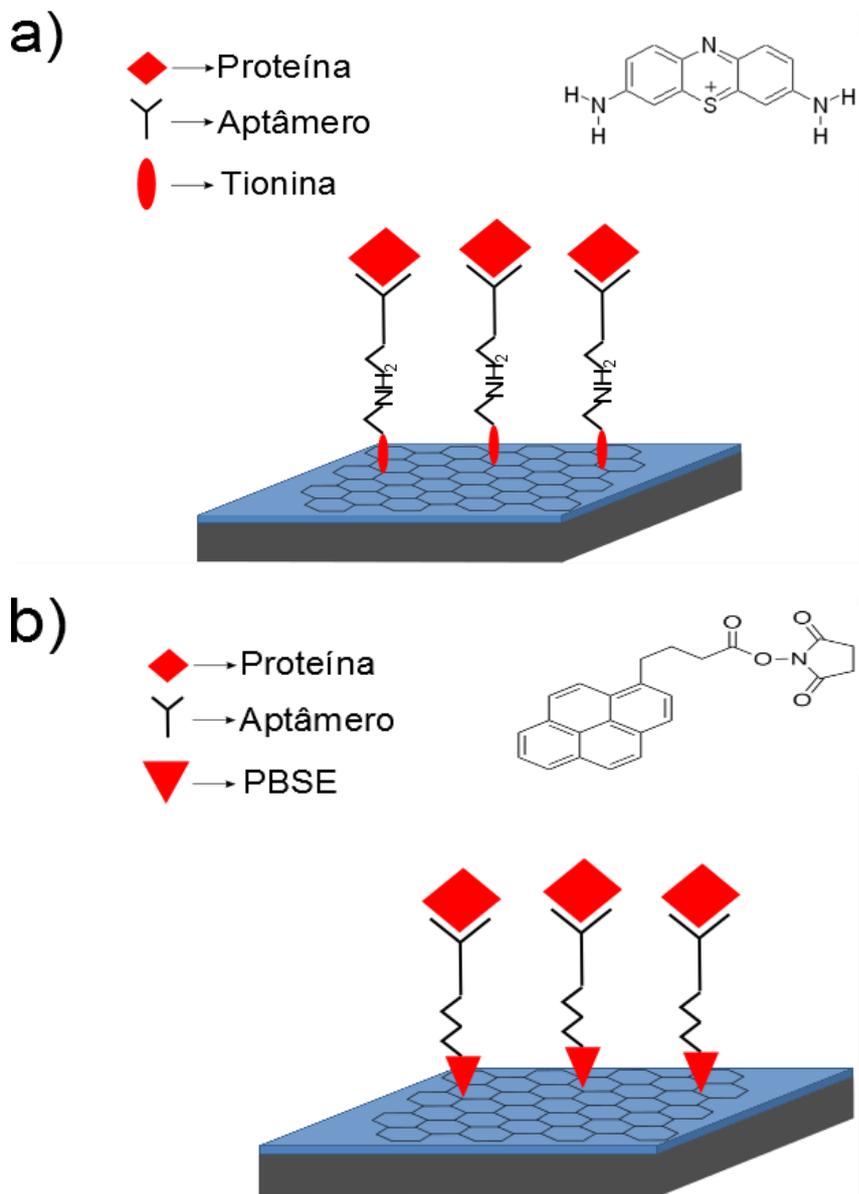


Figura 3.7 – Em **(a)** está representado o biossensor baseado em grafeno funcionalizado com Tionina e a fórmula estrutural dessa molécula, em **(b)** o biossensor está funcionalizado com PBSE e também mostra a fórmula estrutural desse composto. As duas imagens mostram a Taq DNA polimerase por um losango vermelho e também o aptâmero. Em cinza está representado o substrato de silício altamente dopado enquanto em azul está mostrado o substrato de SiO_2 .

Capítulo 4 – Transporte Elétrico em Biossensores à base de Grafeno

4.1 – Medidas de Transporte Elétrico

Os dispositivos de efeito de campo - FET (*Field Effect Transistor*) - desenvolvidos nesse trabalho têm como objetivo investigar as propriedades de transporte elétrico no grafeno funcionalizado e não funcionalizado, bem como a resposta desses dispositivos ao ancoramento dos aptâmeros e sua conjugação com a proteína alvo específica. A arquitetura dos dispositivos já foi discutida anteriormente, mas serão reproduzidos aqui os aspectos essenciais para o entendimento das medidas de transporte elétrico.

A figura 4.1 ilustra os dispositivos fabricados nesse trabalho e o método de medidas empregado. Para tal aplica-se uma corrente elétrica conhecida I ao longo do canal principal da ponte Hall, ao passo que é medida a queda de tensão entre dois contatos ao longo do canal. Esse método de medida que utiliza quatro terminais é amplamente utilizado porque ele evita efeitos indesejados de resistência elétrica dos cabos e dos contatos nos resultados obtidos [10]. Portanto, como $R = \frac{V}{I}$ os dados adquiridos são os valores da resistência do grafeno entre os dois contatos para cada valor de V_G aplicado. Além disso, como $\rho = R \frac{W}{L}$ e $\sigma = \frac{1}{\rho}$ a resistividade e a condutividade também podem ser plotadas em função da tensão de *gate* já que os valores de L e W são conhecidos enquanto R é medido experimentalmente. Nesse trabalho foi escolhido explorar as curvas $\sigma \times V_G$ porque além de possibilitar a estimativa da mobilidade da amostra, as curvas $\rho \times V_G$ não contém nenhuma informação que a curva para a condutividade também não contenha.

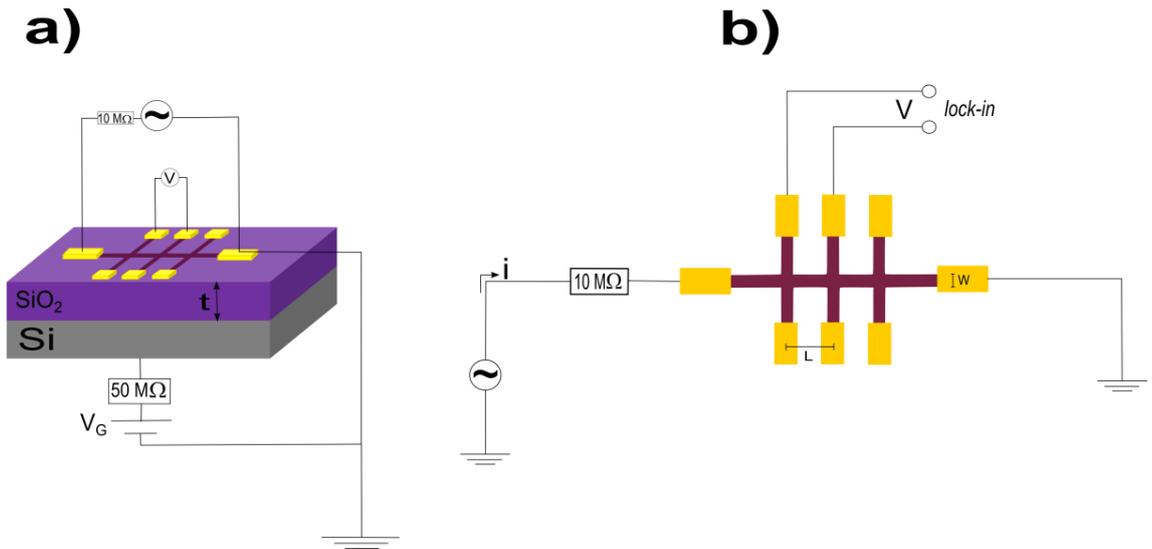


Figura 4.1 - Esquema ilustrativo de um dispositivo de efeito de campo utilizado nesse trabalho. Em **(a)** está mostrada uma visão mais completa do dispositivo. O resistor de $50\text{M}\Omega$ em série com o substrato de silício é colocado para proteger o dispositivo caso a camada de óxido se rompa. Em **(b)** é mostrado apenas a ponte Hall vista de cima e a configuração de medidas utilizada. O resistor de $10\text{M}\Omega$ é utilizado em série com a ponte Hall a fim de manter uma corrente elétrica constante no canal.

O óxido de silício usado nos dispositivos possui uma espessura t de 300 nm, o canal principal da ponte Hall possui 200 μm de comprimento e a largura W possui 20 μm de extensão. Portanto, como a espessura do óxido é muito menor se comparada às dimensões da ponte Hall, logo a aplicação da tensão de *gate* entre o silício e o grafeno pode ser aproximada pelo modelo de capacitor de placas paralelas descrito na seção 1.6. Ou seja, a condutividade em função da tensão de *gate* pode ser descrita como:

$$\sigma = |\mu e \alpha (V_{PN} - V_G)| \quad (4.1)$$

As medidas de condutividade em função da tensão de *gate* aplicada foram realizadas conforme mostra a figura 4.1. Um resistor de $10\text{M}\Omega$, cuja resistência é muito maior que a da amostra, foi utilizado em série com a ponte Hall a fim de manter uma corrente elétrica constante no dispositivo. Como a tensão aplicada valia 0,1 V rms, logo a corrente I na amostra é da ordem de 10 nA. A medida da queda de tensão entre dois contatos subsequentes ao longo da ponte Hall foi feita utilizando um amplificador *lock-in* SR830, portanto, dois terminais foram utilizados para aplicar a corrente ao longo do canal principal, ao passo que outros dois foram usados para

medir a diferença de potencial entre os contatos verificados conforme mostra a figura 4.1. A tensão de *gate* foi aplicada com uma fonte *Keithley 230 Programmable Voltage Source* e um resistor de 50 M Ω foi colocado em série com o substrato de silício com a finalidade de proteger o dispositivo caso a camada de óxido se rompesse.

Grande parte das medidas foi feita em baixa temperatura ($T = 77\text{K}$), e para tal a amostra era colocada dentro de um criostato e ficava em contato com um “dedo frio” que era resfriado com o uso de nitrogênio líquido. A temperatura dentro do criostato era indicada a todo instante por um controlador *LakeShore 331* que era acoplado a ele.

A mobilidade μ do grafeno é limitada por vários fatores, entre eles espalhamentos devido a impurezas ionizadas e aos *ripples*, que são ondulações que o filme de grafeno adquire em certas regiões devido à rugosidade do óxido de silício [55]. Ambas as fontes de espalhamento podem ser reduzidas no processamento dos dispositivos, entretanto, espalhadores intrínsecos como fônons não podem ser eliminados [55]. Desse modo a condutividade medida em função da tensão de *gate* é uma função sublinear em V_G [10,55] e não linear como prevê a equação (4.1).

Contudo, foi observado por Morozov et. al. que a resistividade do grafeno pode ser escrita empiricamente por duas contribuições, ou seja, $\rho = \rho_l + \rho_s$. O termo $\rho_l \propto \frac{1}{n}$ pode ser atribuído a espalhadores extrínsecos de longo alcance como impurezas ionizadas. Já o termo ρ_s é independente de n e é atribuído a fontes espalhadoras intrínsecas de curto alcance, geralmente associadas aos fônons [55]. Portanto, foi observado por Morozov que se ρ_s , determinado empiricamente, for subtraído de ρ para o caso $\rho \gg \rho_s$ então a condutividade $\sigma_l = \frac{1}{\rho - \rho_s} = \frac{1}{\rho_l}$ torna-se perfeitamente linear em V_G [10,55]. A figura 4.2 exemplifica um gráfico de σ e σ_l em função da tensão de *gate* e mostra claramente que σ possui uma dependência sublinear em V_G ao passo que σ_l varia linearmente com V_G .

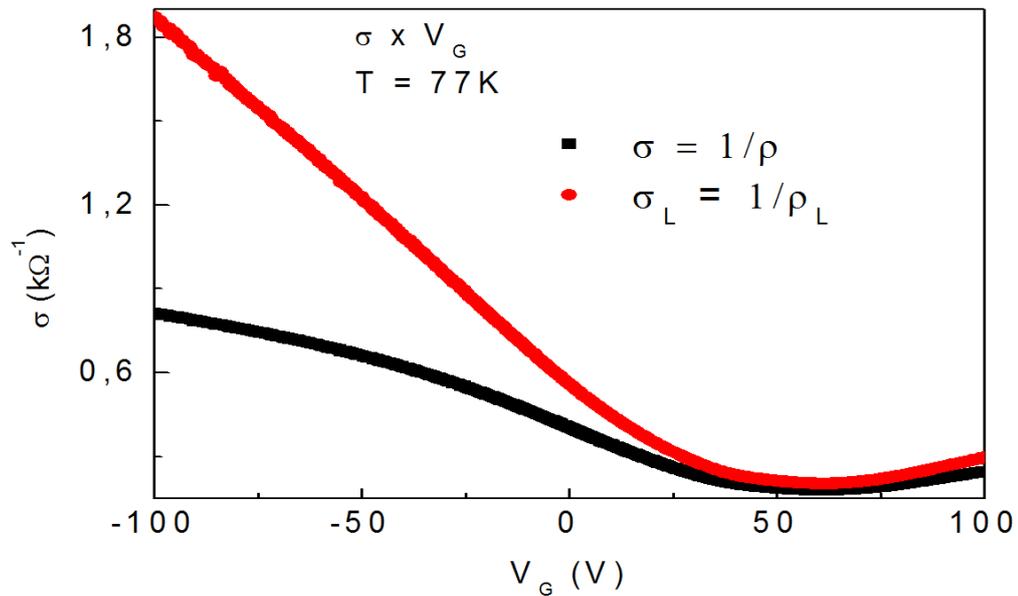


Figura 4.2 – Curvas de $\sigma \times V_G$ e $\sigma_L \times V_G$. O comportamento sublinear é visto na curva preta (σ) enquanto a curva vermelha (σ_L) é linear em V_G .

Como $\rho \gg \rho_s$ então $\rho \approx \rho_l$, mas como $\sigma = \frac{1}{\rho} \therefore \sigma \approx \frac{1}{\rho_l} = \sigma_l$. Portanto, a mobilidade da amostra pode ser estimada fazendo uma regressão linear da curva de condutividade em função da tensão de *gate*. A inclinação da reta ajustada relaciona-se a mobilidade do grafeno da seguinte forma:

$$\frac{d\sigma_l}{dV_G} = |\mu e \alpha| \therefore \mu = \frac{1}{e\alpha} \left| \frac{d\sigma_l}{dV_G} \right| \quad (4.2)$$

O procedimento de subtrair um valor constante da resistividade total do grafeno implica em, basicamente, estimar como a mobilidade do material é afetada apenas pela presença de centros espalhadores extrínsecos de longo alcance na amostra. Esse método é justificado pelo fato de que fontes espalhadoras intrínsecas não podem ser eliminadas do problema. O procedimento descrito acima foi aplicado para todas as curvas de $\sigma \times V_G$ medidas experimentalmente e expostas mais adiante.

A tabela 4.1 apresenta um histórico geral dos resultados obtidos nesse trabalho. Foram levados em consideração os três passos mais importantes para o desenvolvimento do projeto: transferência de substrato, fabricação dos dispositivos e medidas de transporte elétrico nas amostras. A fabricação dos dispositivos só foi

considerada completa para amostras que estavam plenamente em condições de serem medidas. Ao longo do trabalho as amostras só passaram a ser numeradas a partir do momento em que a técnica de transferência de substrato foi dominada. Nesse caso foram produzidas 25 amostras das quais as de número 6, 16, 19 e 22 foram medidas, porém, como os resultados obtidos foram inconclusivos, como, por exemplo, a não observação do ponto de neutralidade, optamos por não expô-los.

Tabela 4.1 – Histórico geral das amostras produzidas nesse trabalho.

Amostra	Transferência de Substrato	Fabricação dos Dispositivos	Medidas de Transporte Elétrico
1	✓	✓	✗
2	✓	✗	✗
3	✓	✓	✗
4	✓	✓	✗
5	✓	✓	✗
6	✓	✓	✓
7	✓	✓	✗
8	✓	✓	✓
9	✓	✓	✓
10	✓	✓	✓
11	✓	✓	✓
12	✓	✓	✗
13	✓	✗	✗
14	✓	✓	✓
15	✓	✗	✗
16	✓	✓	✓
17	✓	✓	✓
18	✓	✓	✗
19	✓	✓	✓
20	✓	✓	✗
21	✓	✓	✗
22	✓	✓	✓
23	✓	✓	✗
24	✓	✓	✗
25	✓	✓	✗

A figura 4.3 mostra a curva medida de $\sigma \times V_G$ para a amostra 8 que não foi funcionalizada. A reta em vermelho representa o ajuste linear feito e o valor subtraído de ρ foi $\rho_s = 0,7 \text{ k}\Omega$, resultando assim em $\mu \approx 1129 \frac{\text{cm}^2}{\text{V s}}$. O fato do ponto de neutralidade se encontrar em $V_{\text{PN}} = 61\text{V}$ indica o alto grau de dopagem da amostra causada provavelmente por resíduos de fotorresiste, resíduos de PMMA, defeitos estruturais e gases adsorvidos sobre a superfície do grafeno [52,53,56].

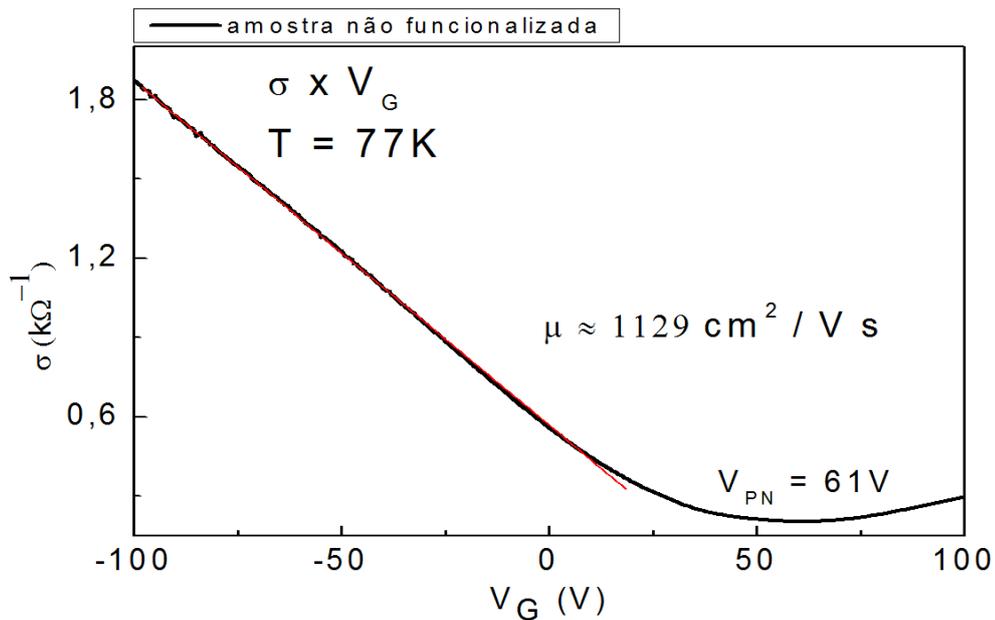


Figura 4.3 – Curva de $\sigma \times V_G$ para a amostra 8 não funcionalizada.

A figura 4.4 representa a curva de $\sigma \times V_G$ para a amostra 9 antes e depois da funcionalização com Tionina. Em preto e em vermelho estão representadas, nessa ordem, as curvas antes e depois da funcionalização. O ajuste linear feito para cada um dos casos é visto em azul, sendo $\rho_s = 1,2 \text{ k}\Omega$ antes da funcionalização e $\rho_s = 0,5 \text{ k}\Omega$ depois dela. No início do processo a amostra possuía dopagem tipo-p já que $V_{\text{PN}} = 21\text{V}$, já a mobilidade medida era de $\mu \approx 446 \frac{\text{cm}^2}{\text{V s}}$. Depois de funcionalizada a amostra adquiriu dopagem tipo-n já que o ponto de neutralidade se deslocou para $V_{\text{PN}} = -2\text{V}$, e o valor da mobilidade medida caiu para $\mu \approx 313 \frac{\text{cm}^2}{\text{V s}}$. Essa queda da mobilidade pode ser entendida porque, através do processo de funcionalização, moléculas são atadas à superfície do grafeno e com isso a

densidade de centros espalhadores aumenta. Consequentemente as propriedades de transporte elétrico são diretamente afetadas.

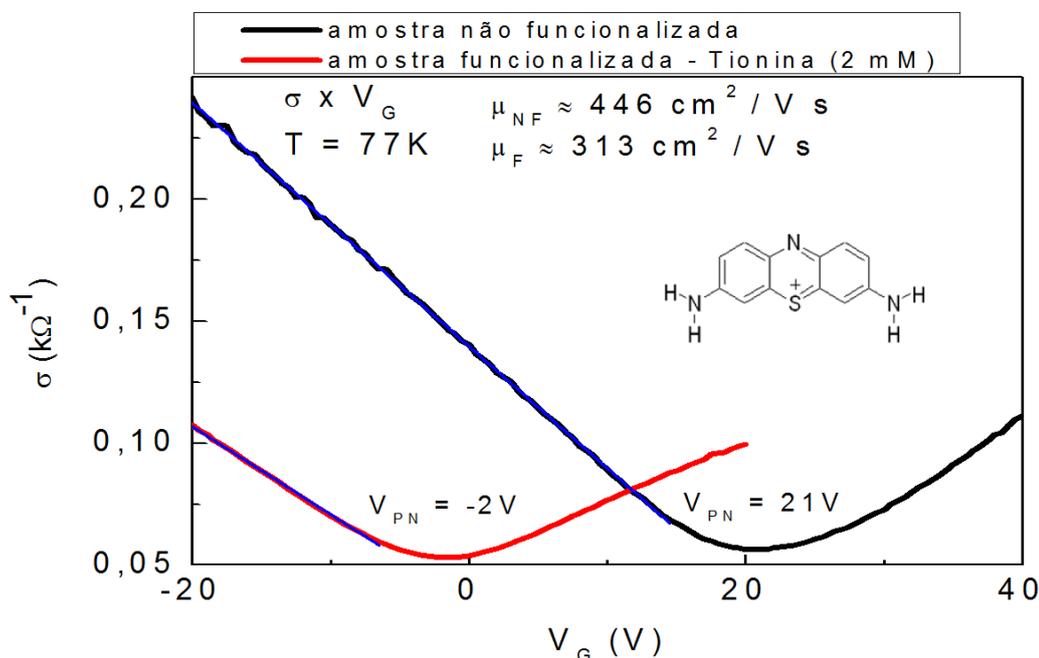


Figura 4.4 – Curva de $\sigma \times V_G$ para a amostra 9 antes e depois da funcionalização com Tionina (2mM).

Nas figuras 4.5 e 4.6 estão representadas as curvas de $\sigma \times V_G$ para as amostras 10 e 11 antes **(a)** e depois **(b)** da funcionalização com Tionina. Já em vermelho estão representados os ajustes lineares feitos para cada uma delas. Para a amostra 10, $\rho_s = 1,2 \text{ k}\Omega$ antes da funcionalização e $\rho_s = 0,6 \text{ k}\Omega$ depois. Já para a amostra 11, $\rho_s = 0,1 \text{ k}\Omega$ nos dois casos. Semelhantemente a amostra 9 foi observado que a Tionina mais uma vez promove uma dopagem tipo-n no grafeno. Antes da funcionalização $V_{PN} = 39V$ para a amostra 10 e $V_{PN} = 22 V$ para a amostra 11. Após o procedimento o ponto de neutralidade em ambos os casos encontra-se $V_{PN} = -3V$. Em concordância com o resultado obtido anteriormente foi verificado novamente que a mobilidade do grafeno diminui com a funcionalização com Tionina. A mobilidade medida na amostra 10 inicialmente vale $\mu \approx 321 \frac{\text{cm}^2}{\text{V s}}$ e após a funcionalização $\mu \approx 278 \frac{\text{cm}^2}{\text{V s}}$. Já para a amostra 11 $\mu \approx 35 \frac{\text{cm}^2}{\text{V s}}$ antes da funcionalização, ao passo que $\mu \approx 31 \frac{\text{cm}^2}{\text{V s}}$ depois.

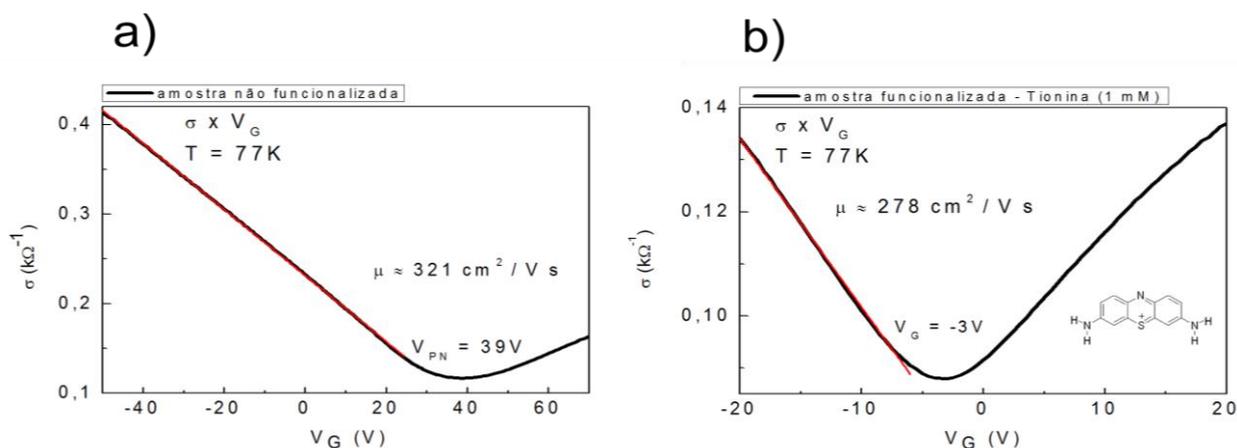


Figura 4.5 – Curva de $\sigma \times V_G$ para a amostra 10 antes **(a)** e depois **(b)** da funcionalização com Tionina (1mM).

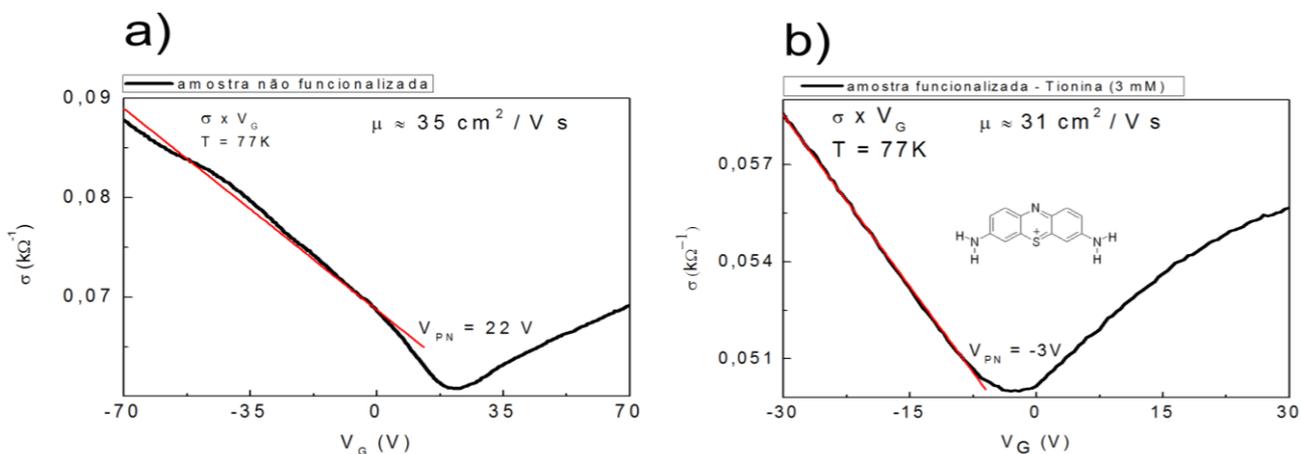


Figura 4.6 – Curva de $\sigma \times V_G$ para a amostra 11 antes **(a)** e depois **(b)** da funcionalização com Tionina (3mM).

A tabela 4.2 apresenta uma visão geral dos resultados obtidos nessa etapa de caracterização elétrica dos dispositivos de grafeno sem funcionalização, funcionalizados com Tionina ou PBSE. Estão listados na tabela os valores medidos da mobilidade de cada amostra, os valores de ρ_s subtraídos da resistividade total e o valor da tensão do ponto de neutralidade para cada um dos casos citados acima.

Tabela 4.2 – Resumo geral dos resultados obtidos nas medidas de transporte elétrico para amostras de grafeno sem funcionalização, funcionalizadas com Tionina ou PBSE.

Amostra	Funcionalização	V_{PN} (V)	μ ($\text{cm}^2/\text{V s}$)	ρ_s ($\text{k}\Omega$)
8	-	61	1129	0,7
9	-	21	446	1,2
9	Tionina (2 mM)	-2	313	0,5
10	-	39	321	1,2
10	Tionina (1 mM)	-3	278	0,6
11	-	22	35	0,1
11	Tionina (3 mM)	-3	31	0,1
14	PBSE (6 mM)	40	139	1,0
17	PBSE (6 mM)	35	1554	0,7

As amostras 14 **(a)** e 17 **(b)** foram funcionalizadas com PBSE e a figura 4.7 mostra as curvas de $\sigma \times V_G$ para ambas. Embora a condutividade em função da tensão de *gate* não tenha sido medida antes da funcionalização, aparentemente o PBSE não produz um efeito de dopagem tipo-n tão perceptível como a Tionina porque o ponto de neutralidade para a amostra 14 encontra-se em $V_{PN} = 40\text{V}$ e para a 17 em $V_{PN} = 35\text{V}$. Ademais, para a amostra 14 $\rho_s = 1,0 \text{ k}\Omega$ e a mobilidade medida foi de $\mu \approx 139 \frac{\text{cm}^2}{\text{V s}}$, já para a amostra 17 $\rho_s = 0,7 \text{ k}\Omega$ e o valor encontrado para a mobilidade é $\mu \approx 1554 \frac{\text{cm}^2}{\text{V s}}$. Esses resultados também são apresentados acima na tabela 4.2.

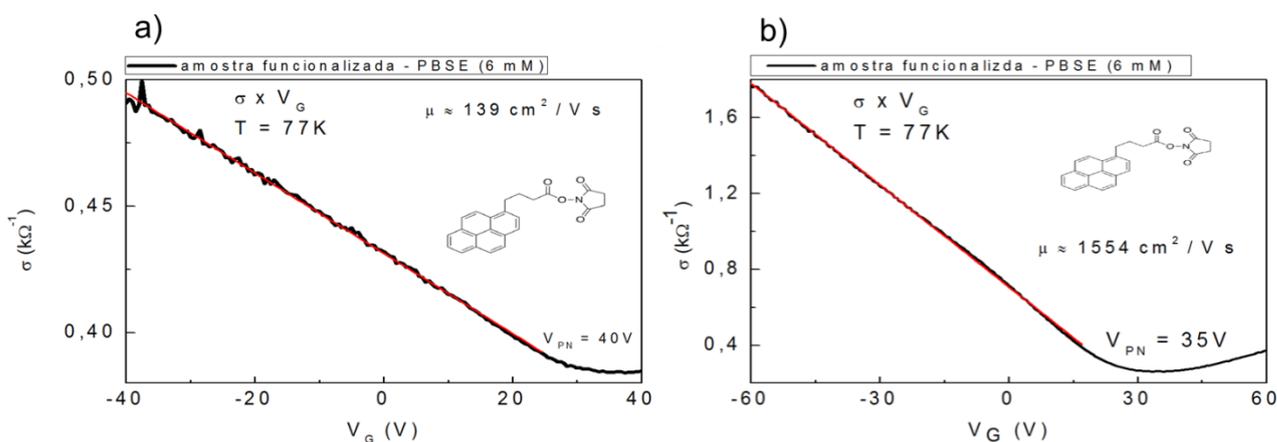


Figura 4.7 – Curva de $\sigma \times V_G$ para as amostras 14 **(a)** e 17 **(b)** funcionalizadas com PBSE. A condutividade em função da tensão de *gate* não foi medida antes do processo de funcionalização. Aparentemente o PBSE não produz um efeito de dopagem tipo-n tão intenso com a Tionina já que o ponto de neutralidade para as duas amostras encontra-se em valores positivos de V_G .

Foi observado que ponto de neutralidade das amostras funcionalizadas com Tionina foi fortemente deslocado para valores negativos de V_G , porém, o mesmo não ocorreu para as amostras funcionalizadas com PBSE. Esse fato pode ser entendido pela formação de uma ligação do tipo cátion- π entre um cátion e um sistema de elétrons π [64]. O modelo clássico de ligação cátion- π é a ligação entre um anel de Benzeno e um cátion metálico. Essa interação é bastante intensa tendo energia de ligação comparável à de pontes de hidrogênio.

No caso específico da Tionina ocorre o que se chama de ligação π -cátion- π já que a Tionina é um cátion formado, ele mesmo, por um sistema π . Desse modo a ligação entre a Tionina e o grafeno possui características tanto do clássico empilhamento π que envolvem interações de Van der Waals, quanto da ligação cátion- π tradicional. A interação π -cátion- π não é tão intensa quanto a cátion- π , mas é muito mais intensa (com uma energia de ligação entre duas e três vezes maior) que a ligação proporcionada pelo empilhamento π [65].

O efeito de dopagem tipo-n devido a ligações do tipo cátion- π já foi observado em sistemas onde o óxido de grafeno é reduzido na presença de íons de Sódio ou de Potássio [66]. Nesse trabalho ocorre um caso semelhante. A presença do cátion- π (no caso a Tionina) desloca o nível de Fermi do grafeno para a banda de condução, minimizando assim a energia do sistema na medida em que torna disponíveis elétrons livres para blindar a carga positiva das moléculas de Tionina ligadas à superfície do grafeno. O custo de energia associado ao deslocamento do nível de Fermi para a banda de condução é largamente compensado pela energia de interação Cuolombiana entre os íons positivos e os elétrons de condução.

Qualitativamente pode-se entender o fato da ligação π -cátion- π ser mais intensa que o empilhamento π . Isso se deve ao fato de que, além da interação de Van der Waals entre os sistemas π , há ainda um ganho líquido de energia pela interação entre os íons positivos e os elétrons de condução gerados pelo deslocamento do nível de Fermi para a banda de condução, na configuração energeticamente mais favorável ao sistema. Ademais, essa situação é bastante interessante pelo ponto de vista da funcionalização porque ela cria um mecanismo

de funcionalização não covalente bem mais robusto do que o simples empilhamento π .

No caso do PBSE, como as moléculas são eletricamente neutras [41], há apenas o caso clássico de empilhamento π e, assim, o ponto de neutralidade não sofre variações em sua posição inicial. Como durante o processamento dos dispositivos as amostras adquiriram uma dopagem tipo-p, portanto, por esse motivo as amostras funcionalizadas com PBSE mantém essa dopagem como foi verificado experimentalmente.

4.2 – Ensaaios em Biossensores à Base de Grafeno

Após ser realizada uma completa caracterização elétrica dos dispositivos de grafeno sem funcionalização, funcionalizado com Tionina ou PBSE, as amostras estão prontas para os primeiros testes como biossensores. A capacidade de interação com o grupo amina NH_2 das moléculas de proteínas que a Tionina e o PBSE possuem foi explorada nos testes realizados em biossensores. Para executar os experimentos foi utilizada uma amostra funcionalizada com Tionina (amostra 9) e outra com PBSE (amostra 17).

As proteínas sofrem desnaturação em sua forma estrutural em baixas e altas temperaturas, dessa forma elas perdem a capacidade de interação com outras moléculas o que interfere diretamente nos resultados medidos. Para evitar esses contratempos os testes iniciais foram realizados em pressão e temperatura ambientes, o que também serve para simular um caso real de diagnóstico. O óxido que isola o grafeno do substrato altamente dopado pode ser irreversivelmente danificado em medidas em temperatura ambiente caso altas tensões sejam aplicadas. Então, para preservar o pleno funcionamento deles as medidas de $\sigma \times V_G$ foram feitas aplicando-se uma baixa tensão de *gate* o que significa que não foi possível varrer a faixa de tensão necessária para observar o ponto de neutralidade, porém, os efeitos das interações com os aptâmeros foram claramente observados.

A funcionalização não covalente com o uso de aptâmeros foi escolhida na realização dos experimentos porque ela não introduz defeitos estruturais no grafeno, minimiza as ligações não específicas e, portanto, permite a detecção direta e específica da proteína alvo [41].

As amostras já funcionalizadas com Tionina e PBSE foram novamente funcionalizadas com o aptâmero e com a proteína específica Taq DNA polimerase, diluídos em água DI, e depois novas medidas de resistividade em função da tensão de *gate* foram realizadas. A figura 4.8 ilustra a funcionalização com o aptâmero conjugado à proteína. As elipses vermelhas representam tanto as moléculas de Tionina quanto as de PBSE e os aptâmeros se ligam a elas pela terminação amina (no caso da Tionina) e pela terminação amida (no caso do PBSE). O elemento sensitivo preto representa o aptâmero ao passo que o losango vermelho ilustra a proteína Taq DNA polimerase.

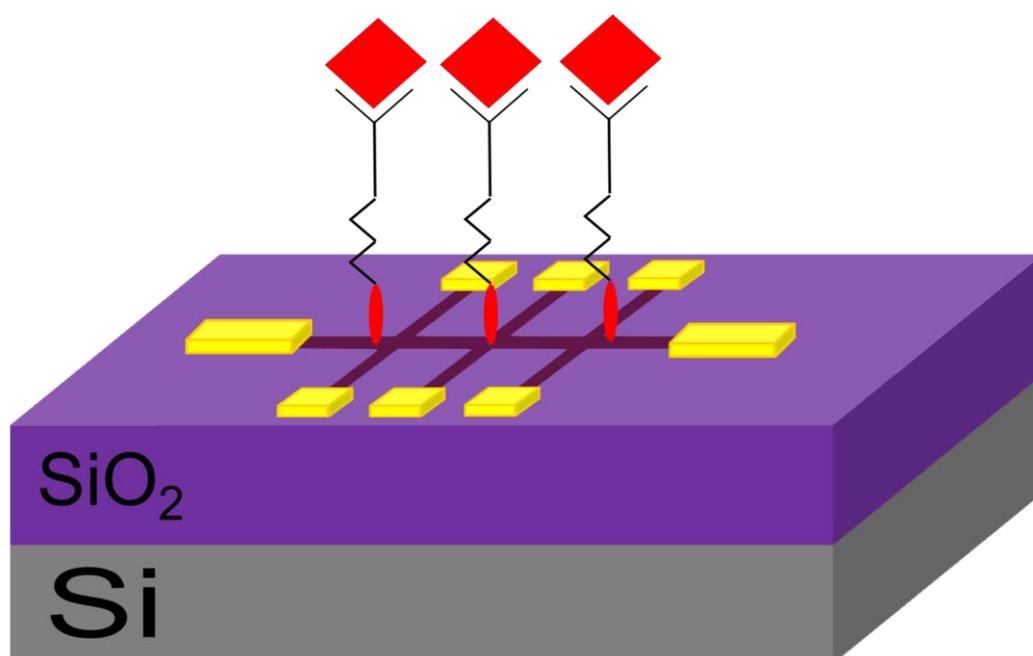


Figura 4.8 – Esquema ilustrativo da amostra de grafeno funcionalizada com moléculas de Tionina ou PBSE (elipse vermelha) ligadas à conjugação aptâmero/Taq DNA polimerase (elemento sensitivo e losango vermelho) através das terminações amina presentes nas moléculas do aptâmero.

A figura 4.9 mostra o resultado obtido para o teste de biossensor utilizando a amostra 9 previamente funcionalizada com Tionina. Embora não se pode fazer um

juízo seguro porque não foi possível localizar a posição do ponto de neutralidade, a análise da concavidade das curvas fornece informações importantes. No caso dessa medida o ponto de neutralidade que estava inicialmente em aproximadamente $V_{PN} = -2V$ parece ter-se deslocado para tensões positivas, acima de 5V, o que denota uma dopagem tipo-p.

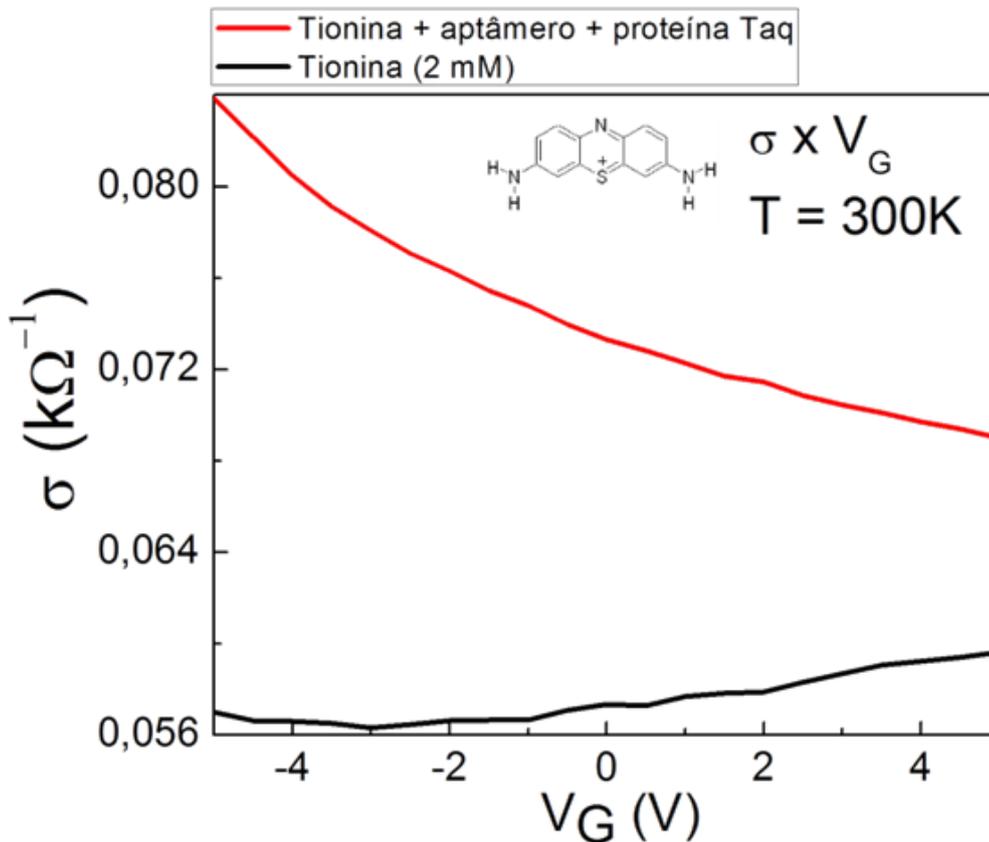


Figura 4.9 – Curva de $\sigma \times V_G$ para a detecção da proteína Taq DNA polimerase pela amostra 9. O fato do ponto de neutralidade ter se deslocado para tensões positivas, acima de 5V, indica que a funcionalização com o aptâmero já conjugado à sua proteína alvo promove uma dopagem tipo-p no grafeno previamente funcionalizado com Tionina (2mM).

Fica evidente pela figura 4.9 acima que há uma grande alteração na resposta elétrica do dispositivo quando o aptâmero já conjugado à sua proteína específica interage com a superfície do grafeno funcionalizada com Tionina.

Outro teste como dispositivo biossensor foi realizado utilizando a amostra 17 que estava previamente funcionalizada com PBSE. A seguir a figura 4.10 apresenta a curva de $\sigma \times V_G$ medida nesse teste.

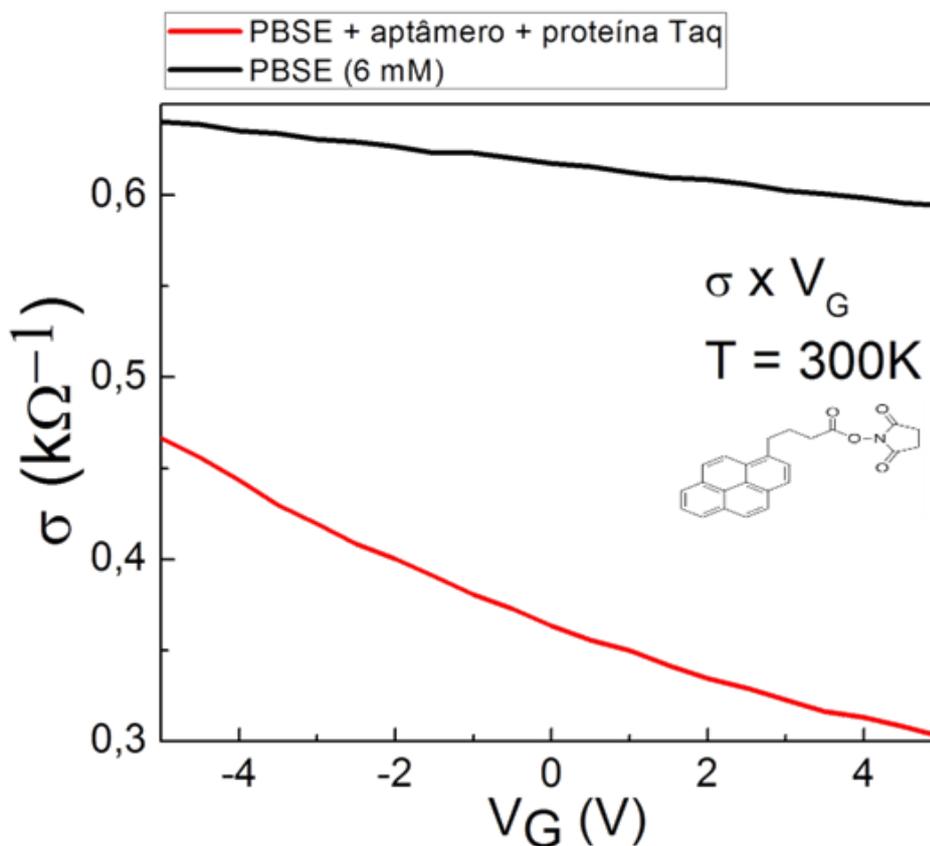


Figura 4.10 – Curva de $\sigma \times V_G$ para a detecção da proteína Taq DNA polimerase pela amostra 17. A comparação entre a concavidade das duas curvas indica que a funcionalização com o aptâmero já conjugado à sua proteína alvo promove uma dopagem tipo-n no grafeno previamente funcionalizado com PBSE (6mM).

A mudança verificada na condutividade do grafeno indica mais uma vez que ele é sensível à nova funcionalização com a conjugação aptâmero-proteína. Analisando o resultado acima também a partir da concavidade das curvas, aparentemente a interação dos aptâmeros já conjugados à proteína Taq DNA polimerase com a superfície do grafeno funcionalizada com PBSE deslocou o ponto de neutralidade para tensões de *gate* menores, ou seja, ela promoveu uma dopagem tipo-n. Nota-se que no caso das amostras funcionalizadas com PBSE o ponto de neutralidade localiza-se bem acima da faixa de tensões empregadas nas medidas da figura 4.10 (curva preta). A curva vermelha indica que o ponto de neutralidade aproximou-se muito de tensões da ordem de 10V.

Essas medidas indicam até o momento que de fato há uma grande sensibilidade do grafeno em relação à detecção de biocompostos, mas elas ainda

são bastante inconclusivas. Além disso, para determinar tanto a sensibilidade quanto a especificidade seria necessário realizar experimentos complementares da seguinte forma: (i) a partir do dispositivo funcionalizado com Tionina ou PBSE; (ii) imobilizar apenas o aptâmero e realizar a caracterização elétrica determinando o efeito dessa imobilização nas propriedades de transporte elétrico; (iii) funcionalizar o dispositivo com a proteína específica e avaliar a resposta elétrica; (iv) repetir o mesmo procedimento com proteínas inespecíficas com o intuito de verificar a seletividade; (v) avaliar a resposta quantitativa. Como mostrado anteriormente apenas um número pequeno de dispositivos pode, de fato, ser usados em experimentos de transporte elétrico porque a maioria apresenta fuga de corrente pelo óxido que isola o grafeno do substrato altamente dopado.

Portanto, os primeiros ensaios nos dispositivos biossensores baseados em grafeno funcionalizado com Tionina ou PBSE mostraram-se promissores na detecção direta e específica da proteína alvo e os resultados obtidos são bastante satisfatórios. Assim como era esperado o grafeno mostrou-se muito sensível à interação entre aptâmero-proteína e pode ser usado como material base na produção de biossensores altamente sensíveis.

Desenvolvemos e dominamos as etapas necessárias para a produção e teste dos dispositivos. As perspectivas futuras do trabalho são excelentes tendo em vista que, com o volume de conhecimento e aprendizado obtido até o momento, esperamos ter uma eficiência e produtividade maiores nas investigações em curso.

Conclusões

A proposta desse trabalho consistiu na investigação de rotas para a produção de biossensores à base de grafeno que sejam, ao mesmo tempo, sensíveis, seletivos e que possam ter a resposta medida de forma simples. Com o intuito de atingir o objetivo final com êxito o trabalho foi dividido em quatro etapas, são elas: transferência de substrato do filme de grafeno, fabricação e caracterização dos dispositivos eletrônicos, funcionalização e medidas de transporte elétrico dos dispositivos de grafeno funcionalizados, avaliação da resposta elétrica dos dispositivos à presença de aptâmeros conjugados com a sua proteína específica, no caso com aptâmero-proteína Taq DNA polimerase.

O processo de transferência de substrato é crucial para o sucesso do restante do trabalho porque as características do filme de grafeno que interferem no andamento dele, como dopagem e uniformidade do filme transferido, são adquiridas nessa etapa [49,51]. O método que utiliza o PMMA foi empregado e ele permitiu a transferência de grandes áreas contínuas de filmes de grafeno. No entanto, também foi verificada, primeiramente por espectroscopia Raman, a presença de resíduos químicos, provavelmente resíduos de PMMA, que atuam como dopantes e centro espalhadores [52,56], e também foi verificada a presença de defeitos estruturais no filme oriundos do processo de transferência e crescimento [47,49,51]. A presença de defeitos estruturais é indicada pelo aparecimento da banda D no espectro Raman [22], enquanto a dopagem é indicada pelo deslocamento da banda G em relação à sua posição original [10]. Ademais, os espectros obtidos revelam que a intensidade da banda G' é na faixa de 2 – 3 vezes maior que a da banda G e isso indica que o filme transferido é composto majoritariamente por grafeno monocamada [16]. Todas essas constatações justificam o sucesso alcançado no processo de transferência de substratos e mostram que filmes de grafeno CVD sobre Si/SiO₂ com alta qualidade podem ser obtidos por meio da técnica que emprega o PMMA. Portanto, o êxito logrado mostra que grandes áreas de filmes de grafeno CVD podem ser

consistentemente transferidas em um processo em larga escala para diferentes tipos de substrato.

A etapa subsequente à transferência de substratos é a produção dos dispositivos eletrônicos baseados em grafeno que foram fabricados por meio de fotolitografia a laser. O processo de litografia utilizado supriu bem as necessidades desse trabalho e permitiu a escrita com alta precisão das dimensões exigidas pelos dispositivos, tanto da ponte Hall quanto dos contatos metálicos. Alguns dispositivos foram funcionalizados com Tionina ou com PBSE e a funcionalização mostrou-se bastante prática e eficaz na imobilização dos aptâmeros no biossensor. Além disso, pelas curvas medidas de $\sigma \times V_G$ foi constatado que a proposta de funcionalização não covalente que explora o empilhamento π entre os grupos aromáticos das moléculas utilizadas e o grafeno preserva a estrutura eletrônica, e também não introduz defeitos estruturais no filme. Portanto, o processo de funcionalização não covalente descrito nesse trabalho pode ser amplamente utilizado na construção de biossensores altamente específicos e seletivos porque esse método não danifica o filme de grafeno, logo, ele não compromete as propriedades de transporte elétrico do material [44,45].

Após a fabricação dos dispositivos iniciou-se a etapa de caracterização elétrica das amostras funcionalizadas e não funcionalizadas. Foram medidas curvas de condutividade em função da tensão de *gate* que permitiram estimar os valores da mobilidade de cada uma delas. Observou-se que inicialmente o ponto de neutralidade de todos os dispositivos localizava-se em regiões positivas de V_G , isso indica que as amostras possuíam dopagem tipo-p proveniente de resíduos de PMMA [56] e gases adsorvidos na superfície do grafeno [52]. O processo de funcionalização com Tionina produz uma intensa dopagem tipo-n nas amostras que leva o ponto de neutralidade para regiões negativas de V_G . No entanto, a funcionalização com o PBSE não gera o mesmo efeito e isso pode ser explicado porque a molécula de Tionina é positivamente carregada ao passo que a de PBSE é eletricamente neutra. No caso da Tionina identificamos que a funcionalização se dá através da interação π -cátion- π produzindo uma imobilização mais estável das moléculas e uma dopagem tipo-n no grafeno.

Verificou-se também que a funcionalização com Tionina gera uma diminuição no valor da mobilidade das amostras. Centros espalhadores de longo alcance como impurezas ionizadas, resíduos químicos e defeitos estruturais são os principais limitadores da mobilidade dos dispositivos [55]. Portanto, como no processo de funcionalização novos centros espalhadores são atados aos filmes, a queda da mobilidade é justificada por esse mecanismo.

Os primeiros ensaios na aplicação dos dispositivos em biossensores foram feitos após a extensa etapa de caracterização elétrica. As amostras previamente funcionalizadas com Tionina ou PBSE foram novamente funcionalizadas com a conjugação aptâmero – proteína Taq e novas medidas foram realizadas. Os resultados mostram que essa subsequente etapa de funcionalização altera nitidamente as propriedades de transporte elétrico do grafeno porque uma larga mudança na condutividade do material foi observada. Portanto, esse efeito notado chama a atenção para o fato de que o grafeno pode ser plenamente utilizado na composição de dispositivos biossensores altamente sensíveis. Como já descrito anteriormente, o aptâmero adquire carga negativa enquanto a proteína Taq adquire carga positiva ao serem diluídos em água DI. Por isso os resultados também indicam que a detecção realizada é da associação do aptâmero a proteína Taq e, portanto, a funcionalização com o uso de aptâmero soluciona a questão da seletividade em biossensores baseados em grafeno.

Pela facilidade do processo de funcionalização não covalente, pela simplicidade da fabricação dos dispositivos biossensores e pela praticidade do método de medida empregado, portanto, o trabalho apresentado aponta novos caminhos para a produção em larga escala de dispositivos biossensores baseados em grafeno altamente eficientes, sensíveis e seletivos.

Referências Bibliográficas

- [1] KATESNELSON, Mikhail. Graphene: carbon in two dimensions. **Materials Today**, v. 10, n. 1-2, 2007.
- [2] NOVOSELOV, K. S. et al. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. **Science**, v. 306, 2004.
- [3] GEIM, A. K.; NOVOSELOV, K. S. The Rise of Graphene. **Nature Materials**, v. 6, 2007.
- [4] GEIM, A. K.; KIM, Philip. Carbon Wonderland. **Scientific American**, v. 89, abril, 2008.
- [5] WOJTASZEK, Magdalena. **Graphene: a two type charge carrier system**. Dissertação de mestrado – Faculteit der Wiskunde en Natuurwetenschappen, Rijksuniversiteit, 2009.
- [6] GEIM, A. K. Graphene: Status and Prospects. **Science**, v. 324, n. 19, 2009.
- [7] NOVOSELOV, K. S. et al. Two-dimensional atomic crystals. **PNAS**, v. 102, n. 30, 2005.
- [8] SCHEDIN, F. et al. Detection of individual gas molecules adsorbed on graphene. **Nature Materials**, v. 6, 2007.
- [9] WALLACE, P. S. The Band Theory of Graphite. **Physical Review**, v. 71, n. 9, 1947.
- [10] ELIAS, D. C. **Estudo das propriedades de transporte elétrico de grafeno e de grafeno hidrogenado**. Tese de doutorado – Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, 2009.

- [11] BRANT, J. C. **Transporte elétrico em nanoestruturas de grafeno: influência da funcionalização, da geometria e da dopagem do substrato**. Tese de doutorado – Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.
- [12] BARBOSA, T. C. **Emissão de Elétrons por Efeito de Campo em Dispositivos de Grafeno**. Dissertação de mestrado – Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, 2012.
- [13] ARAÚJO, E. N. D. **Fabricação de Estruturas Ordenadas sobre Grafeno Usando a Alumina Porosa como Máscara de Evaporação**. Dissertação de mestrado – Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.
- [14] BARCELOS, I. D. **Crescimento de Grafeno por CVD em folhas de Cobre**. Dissertação de mestrado – Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, 2011.
- [15] MATTEVI, C. et al. A review of chemical vapour deposition of graphene on copper. **Journal of Materials Chemistry**, v. 21, 2011.
- [16] LI, X. et al. Large-Area Synthesis of High-Quality and Uniform Graphene Films on Copper Foils. **Science**, v. 324, 2009.
- [17] BORYSIK, M. Graphene Synthesis by CVD on Copper Substrates. **The 2009 NNIN REU Research Accomplishments**, v. 70, 2009.
- [18] SAITO, R, DRESSELHAUS, G e DRESSELHAUS, M. S. **Physical Properties of Carbon Nanotubes**. London: Imperial College Press, 1998.
- [19] CASTRO NETO, A. H. et al. The electronic properties of graphene. **Review of Modern Physics**, v. 81, 2009.
- [20] ASHCROFT, N. W; MERMIN, N. D. **Solid State Physics**. United State of America: Thomson Learning, 1976.
- [21] RAO, C. N. R. et al. Graphene: The New Two-Dimensional Nanomaterial. **Angewandte Chemie**, v. 48, 2009.

- [21] CASTRO NETO, A. H. Les Houches Notes on Graphene. **Condensed Matter Material Science**, 2010.
- [22] JORIO, A. et al. **Raman Spectroscopy in Graphene Related Systems**. Weinheim: WILEY-VCH, 2011.
- [23] GUIMARÃES, M. H. D. **Aspectos eletrônicos e estruturais do grafeno e derivados: um estudo teórico-experimental**. Dissertação de mestrado – Departamento de Física, Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.
- [24] GUO. B. et al. Graphene Doping: A Review. **Insciences Journal**, v. 1, n. 2, 2011.
- [25] ISHIGAMI. M. et al. Atomic Structure of Graphene on SiO₂. **Nano Letters**, v. 7, n. 6, 2007.
- [26] MIWA. R. H. et al. Doping of graphene adsorbed on the a-SiO₂ surface. **Applied Physics Letters**, v. 99, 2011.
- [27] RYU. S. et al. Atmospheric Oxygen Binding and Hole Doping in Deformed Graphene on a SiO₂ Substrate. **Nano Letters**, v. 10, 2010.
- [28] HOLFORD. T. R. J. et al. Recent trends in antibody based sensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 34, 2012.
- [29] YALOW. R. S. e BERSON, S. A. Assay of Plasma Insulin in Human Subjects by Immunological Methods. **Nature**, v. 184, 1959.
- [30] Selvanayagam, Z.E. et al. An ISFET-based immunosensor for the detection of β -Bungarotoxin. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 17, n. 9, 2002.
- [31] BALASUBRAMANIAN. K. e BURGHARD. M. Biosensors based on carbon nanotubes. **Anal Bioanal Chem**, v. 385, 2006.
- [32] WANG. J. Carbon-Nanotube Based Electrochemical Biosensors: A Review. **Electroanalysis**, v. 17, n. 1, 2005.

- [33] BOERO. C. et al. New Approaches for Carbon Nanotubes-Based Biosensors and Their Application to Cell Culture Monitoring. **IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems**, v. 6, n. 5, 2012.
- [34] KUILA. T. et al. Recent advances in graphene-based biosensors. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, 2011.
- [35] SHAO. Y. et al. Graphene Based Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review. **Electroanalysis**, v. 22, n. 10, 2010.
- [36] WEI. Q. et al. Electrochemical immunosensor for norethisterone based on signal amplification strategy of graphene sheets and multienzyme functionalized mesoporous silica nanoparticles. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, 2010.
- [37] DONG. X. et al. Electrical Detection of DNA Hybridization with Single-Base Specificity Using Transistors Based on CVD-Grown Graphene Sheets. **Advanced Materials**, v. 22, 2010.
- [38] HUANG. Y. et al. Nanoelectronic biosensors based on CVD grown graphene. **Nanoscale**, v. 2, 2010.
- [39] SCHEDIN. F. et al. Detection of individual gas molecules adsorbed on graphene. **Nature Materials**, v. 6, 2007.
- [40] LOO. A. H. et al. Biorecognition on Graphene: Physical, Covalent, and Affinity Immobilization Methods Exhibiting Dramatic Differences. **Chemistry Asian Journal**, v. 8, 2013.
- [41] OHNO. Y. et al. Label-Free Biosensors Based on Aptamer-Modified Graphene Field-Effect Transistors. **J. Am. Chem. Soc.**, v. 132, 2010.
- [42] WU. H. et al. Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in platinum nanoparticles/graphene/chitosan nanocomposite film. **Talanta**, v. 80, 2009.
- [43] YANG. M. et al. Ultrasensitive immunosensor for the detection of cancer biomarker based on graphene sheet. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 26, 2010.

- [44] CHEN. C. et al. A facile method to prepare stable noncovalent functionalized graphene solution with Thionine. **Materials Research Bulletin**, v. 46, 2011.
- [45] CHEN. R. et al. Noncovalent Sidewall Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes for Protein Immobilization. **J. Am. Che. Soc.**, v. 123, 2001.
- [46] LEE. K. J. et al. Breakdown Current Density of CVD-Grown Multilayer Graphene Interconnects. **IEEE Electron Device Letters**, v. 32, n. 4, 2011.
- [47] LI. X. et al. Transfer of Large-Area Graphene Films for High-Performance Transparent Conductive Electrodes. **Nano Letters**, v. 9, n.12, 2009.
- [48] REN. Y. et al. An Improved Method for Transferring Graphene Grown by Chemical Vapor Deposition. **NANO: Brief Reports and Reviews**, v. 7, n. 1, 2012.
- [49] LIANG. X. et al. Toward Clean and Crackless Transfer of Graphene. **ACS Nano**, 2012.
- [50] KIM. K. et al. Large-Scale pattern growth of graphene films for stretchable transparent electrodes. **Nature**, v. 457, 2009.
- [51] SUK. J. et al. Transfer of CVD-Grown Monolayer Graphene onto Arbitrary Substrates. **ACS Nano**, v. 5, n. 9, 2011.
- [52] PIRKLE. A. et al. The effect of chemical residues on the physical and electrical properties of chemical vapor deposited graphene transferred to SiO₂. **Applied Physics Letters**, v. 99, 2011.
- [53] MIWA. R. H. et al. Doping of graphene adsorbed on the a-SiO₂ surface. **Applied Physics Letters**, v. 99, 2011.
- [54] FERRARI. A.C. et al. Raman Spectrum of Graphene and Graphene Layers. **Physical Review Letters**, v. 97, 2006.
- [55] MOROZOV. S. V. et al. Giant Intrinsic Carrier Mobilities in Graphene and Its Bilayer. **Physical Review Letters**, v. 100, 2008.
- [56] CHEN. T. Y. et. al. Label-free detection of DNA hybridization using transistors based on CVD grown graphene. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 41, 2013.

- [57] HAO. Y. et. al. The Role of Surface Oxygen in the Growth of Large Single-Crystal Graphene on Cooper. **Science**, v. 342, 2013.
- [58] GONG, C. et. al. Rapid Selective Etching of PMMA Residues from Transferred Graphene by Carbon Dioxide. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 117, 2013.
- [59] MALARD, L. M. et. al. Raman Spectroscopy in Graphene. **Physics Reports**, v. 473, 2009.
- [60] LEE. S. et. al. Wafer Scale Homogeneous Bilayer Graphene Films by Chemical Vapor Deposition. **Nano Letters**, v. 10, 2010.
- [61] LEON. J. A. et. al. Rapid Fabrication of Bilayer Graphene Devices Using Direct Laser Writing Photolithography. **Journal of Vacuum Science & Technology B**, v. 29, 2011.
- [62] GEORGAKILAS. V. et. al. Functionalization of Graphene: Covalent and Non-Covalent Approaches, Derivatives and Applications. **Chemical Reviews**, v. 112, 2012.
- [63] BALAMURUGAN. S. et. al. Surface Immobilization Methods for Aptamer Diagnostic Applications. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 390, 2008.
- [64] MA. J. C. e DOUGHERTY. D. A. The Cation- π Interaction. **Chemical Reviews**, v. 97, 1997.
- [65] SINGH. N. J. et. al. Comprehensive Energy Analysis for Various Types of π -Interaction. **Journal of Chemical Theory and Computation**, v. 5, 2009.
- [66] JEONG. S. Y. et. al. Highly Concentrated and Conductive Reduced Graphene Oxide Nanosheets by Monovalent Cation- π Interaction: Toward Printed Electronics. **Advanced Functional Materials**, v. 22, 2012.