UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP – DEPARTAMENTO DE FÍSICA

Guilherme de Oliveira Silva

**Estudo e desenvolvimento de sensores e dispositivos
utilizando nanoestruturas alotrópicas de carbono**

Ribeirão Preto

2018

Guilherme de Oliveira Silva

**Estudo e desenvolvimento de sensores e dispositivos
utilizando nanoestruturas alotrópicas de carbono**

Versão Original

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área: Física Aplicada à Medicina e Biologia

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Mulato

Ribeirão Preto

2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Guilherme de Oliveira

Estudo e desenvolvimento de sensores e dispositivos utilizando nanoestruturas alotrópicas de carbono. Ribeirão Preto, 2018.

127 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Filosofia,

Nome: Silva, Guilherme de Oliveira

Título: Estudo e desenvolvimento de sensores e dispositivos utilizando nanoestruturas
alotrópicas do carbono

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de
Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, como parte das
exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Agradecimentos

Eu gostaria de agradecer todas as pessoas que me acompanharam e ajudaram ao longo dessa jornada, começando pela minha companheira Cíntia e a minha família;

Aos professores Marcelo Mulato e Alexander Star por supervisionarem o meu trabalho, e ao Prof. Dr. Antonio Riul Junior pelo material cedido e incentivo;

Aos meus amigos e colegas do trabalho: Tobias, Raphael, Júlio, Jessica, Marina e David, Hugo, Fernando, Ricardo, Stephanie, Bassam, Luiz, Joyce, Mariane e Daísy, além dos colegas gringos Zack, James, Sean, Mike, Miles, Gordon, Seth e Phil;

A todos funcionários da USP, sem os quais esse trabalho jamais teria condições de ter sido realizado, especialmente aos técnicos do Laboratório de Sensores e Materiais, Natalia (in memorium) e Marcilio, além do Élcio (eletrônica), Aziani e Renato (oficina mecânica), Ivana (MFA), Rodrigo (MEV), a dona Érica e dona Fátima (limpeza), ao Júlio (manutenção), a Nilza (secretária da FAMB), Serginho (Raman-Araraquara) e a Profa. Ana Paula Ramos;

A Universidade de São Paulo por toda a estrutura, e as agências financiadoras CAPES, CNPq e FAPESP;

E um agradecimento mais que especial ao Fernando Haddad, ex-ministro da educação (2005–2012), e a Vossa Excelência Presidenta Dilma Rousseff, pela concepção e execução, respectivamente, do programa do governo federal Ciências sem Fronteiras.

A todos meus sinceros agradecimentos, muito obrigado.

Resumo

Silva, Guilherme de Oliveira. **Estudo e desenvolvimento de sensores e dispositivos utilizando nanoestruturas alotrópicas do carbono**. 2018. Tese (Doutorado em Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Um desafio central na área das ciências da saúde e biomédica tem sido o desenvolvimento de testes clínicos embasados em novas tecnologias que resultem em medidas precisas, com resultados consistentes mais rápidos que os convencionais, e ao menor custo possível. Os esforços atuais têm se concentrado em integrar a análise de materiais biológicos a componentes de circuitos integrados compatíveis com a indústria de semicondutores existente. Nesse contexto, esse trabalho apresenta duas contribuições a partir do uso de materiais nanoestruturados alotrópicos do carbono. Primeiramente, demonstramos como o desempenho de um sensor de pH embasado na tecnologia EGFET (*Extended Gate Field Effect Transistor*) pode ser controlado com a incorporação de grafenos, com diferentes graus de funcionalização, a eletrodos de FTO (*Fluorine doped Tin Oxide*). Os eletrodos de FTO foram modificados através da deposição dos materiais nanoestruturados de carbono via eletroforese. O desempenho dessas amostras como sensor de íons H^+ mostrou dependência quanto ao tempo de deposição e composição tampão utilizado, tendo seu desempenho aumentado em até 24%, atingindo uma sensibilidade máxima de $67 \text{ mV} \cdot \text{pH}^{-1}$ para tampão fosfato. A segunda contribuição desse trabalho trata-se da combinação das informações obtidas com um arranjo de dispositivos de NTFETs (*Nanotubes Field Effect Transistors*) decorados com nanopartículas metálicas e análise de discriminantes lineares, empregados na classificação de diferentes populações celulares. O método proposto foi capaz de identificar e classificar corretamente entre as linhagens de células cancerígenas B16 (melanoma), 3LL (carcinoma) e 3L4 (linfoma), além de distingui-las corretamente de suas contrapartes saudáveis. Adicionalmente, utilizamos esse conjunto de dados para classificar uma população celular desconhecida, demonstrando uma possível utilidade clínica da metodologia desenvolvida.

Abstract

Silva, Guilherme de Oliveira. **Study and development of sensor and devices based on nanostructured carbon allotropes**. 2018. Tese (Doutorado em Física Aplicada à Medicina e Biologia) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

A central challenge in the biomedical field has been the development of new approaches for clinical tests based on microelectronic technologies, aiming trustful and precise results, faster and cheaper than the standard techniques. Current efforts have focused on integrating the analysis of biological samples and integrated circuit components compatible with the standard semiconductor industry. In this context, the present work gives two contributions on the usage of carbon nanostructure allotropes. First, we show how the performance of pH sensors based on EGFET (Extended Gate Field Effect Transistor) can be tuned with the integration of graphene nanosheets, with different degrees of functionalization, into FTO (Fluorine doped Tin Oxide) electrodes. The FTO electrodes were modified through EPD (electrophoretic deposition) of the carbon nanomaterials. The device performance as pH sensor showed dependence on the time of deposition and buffer composition, increasing up to 24% compared to the bare FTO electrode and reaching a maximum sensitivity of $67 \text{ mV} \cdot \text{pH}^{-1}$ for phosphate buffer. The second contribution of this work regard the combination of the data gathered using an array of NTFETs (Nanotube Field Effect Transistors) decorated with metal nanoparticles and LDA (Linear Discriminant Analysis) to distinguish among different cell populations. The proposed method correctly classifies among the cancer cell lines B16 (melanoma), 3LL (carcinoma), and 3L4 (lymphoma), as well as cancer cells from their healthy counterparts. Additionally, we demonstrated a possible application of the method correctly classifying blind samples.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. 1. a) Mostra a variação da dispersão em função do tamanho do número total de átomos de um aglomerado atômico. b) Número de coordenação médio em função de $N^{-1/3}$. c) e d) mostram a variação da temperatura de fusão em função do diâmetro (c) e do inverso do diâmetro (d). As figuras a) e b) foram modificadas da referência ³. As figuras c) e c) foram modificadas da referência ⁴. 17

Figura 1. 2. Transição entre condutor e isolante decorrente da diminuição do tamanho do material. A figura mostra como se comportam os níveis de energias e a densidade de estados permitidos em função das dimensões do material. 18

Figura 1. 3. Suspensões coloidais de seleneto de cádmio (CdSe) com diâmetros crescente da esquerda (1,8 nm) para a direita (4 nm). Na parte de cima os tubos de ensaio foram iluminados com luz UV e enchemos a luz emitida decorrente do processo de relaxação. Na parte inferior da figura os mesmo tubos iluminados por luz ambiente. Modificado da ref. ⁶. 19

Figura 1. 4. A figura mostra o número de publicações por ano encontradas buscando-se pelos termos a) “*graphene*” (preto) e “*graphene*” + “*sensor*” (vermelho). b) “*carbon nanotubes*” (preto) e “*carbon nanotubes*” + “*sensor*” (vermelho) através da plataforma *Web of Science*. (acessado em outubro de 2017). 20

Figura 1. 5. A figura ilustra como o mesmo elemento (carbono) pode dar origem a diferentes materiais. A parte superior (azul claro) ilustra uma folha ideal de grafeno e como ela pode ser dobrada, enrolada ou empacotada, dando origem a diferentes estruturas alotrópicas do carbono: fulerenos (verde), nanotubos de carbono (rosa) e grafite (azul escuro), respectivamente. Modificado da ref. ¹¹. 21

Figura 2. 1. a) O elemento Carbono na tabela periódica. b) Imagem de um cristal de grafite natural. c) Imagem de um diamante. d) Ilustração esquemática dos alótropos cristalinos do carbono e suas estruturas moleculares. Modificado da ref. ¹³. 23

Figura 2. 2. Representação esquemática dos orbitais atômicos de um átomo de carbono com hibridização sp^3 em (a) e sp^2 em (b). c) Ilustra a sobreposição entre orbitais π adjacentes, ortogonais as ligações sigmas que compõe a estrutura hexagonal da rede cristalina. d) Ilustração esquemática da estrutura molecular de três planos de um cristal de grafite. e) Representação esquemática da vista frontal da estrutura mostrada em (d). 24

Figura 2. 3. a) Imagem ilustrativa de uma grelha. b) Representação esquemática da estrutura molecular de uma camada única de grafeno. c) Imagem por microscopia de tunelamento de grafeno. d) Representação esquemática de como uma camada única de grafeno pode ser obtida a partir do grafite. Modificado da ref. ¹³. 25

Figura 2. 4. Métodos de obtenção de grafeno encontrados na literatura. Modificado da ref. ³⁶. 26

Figura 2. 5. Ilustração esquemática do Método de Hummer e suas etapas. a) Primeiramente o grafite é oxidado, obtendo-se o óxido de grafite em b), que ainda mantém a estrutura lamelar do grafite, porém com uma distância interplanar maior devido a presença dos grupamentos oxigenados (representados como esferas vermelhas). O óxido de grafite é esfoliado em folhas individuais de óxido de grafeno (GO) c), que posteriormente são reduzidas para obtenção do grafeno derivado quimicamente (rGO) em d). Modificado da ref. ⁴². 28

Figura 2. 6. A figura mostra algumas das variações do Método de Hummer encontradas na literatura. Modificado da ref. ⁴⁵. 29

Figura 2. 7. Diagrama mostrando as estruturas moleculares idealizadas do óxido de grafeno (GO) a) e do grafeno derivado quimicamente (rGO) em b) ²⁸. 30

Figura 2. 8. Passo a passo ilustrando montagem de um transistor de efeito de campo feito de uma camada grafeno (GFET). Modificado da ref. ³⁶. 32

Figura 2. 9. a) Ilustração esquemática de como dispositivos GFETs são conectados a aparelhagem eletrônica para realizar experimentos de sensoriamento. Modificado da ref. ⁵¹. b) Foto mostrando os contatos elétricos em ouro e a camada de grafeno, tiradas com microscópio óptico (esquerda) e por MEV (direita). Modificado da ref. ⁵² c) A imagem mostra como a curva característica de um dispositivo GFET é alterada conforme o dispositivo é modificado. GFET sem modificação exposto a tampão phosphato salino (preto), após o crescimento de nanopartículas de ouro (vermelho), após exposição ao corante rodamina 123..... 33

Figura 2. 10. O diagrama esquemático de um MOSFET tipo N ilustrado em a). Diagrama esquemático de um dispositivo do tipo ISFET representado em b). Curva característica (V_{GS} vs I_{DS}) obtida com o dispositivo c). Modificados da ref. ⁶². 35

Figura 2. 11. Modelo simplificado em uma dimensão das quedas de potenciais eletrostáticos envolvidas ao longo do conjunto ISFET, solução eletrolítica e eletrodo de referência. Modificado da ref. ⁶⁶. 37

Figura 2. 12. Representação esquemática dos tipos de deposição por eletroforese. a) Catódica, o material particulado migra em direção e se deposita no eletrodo polarizado com carga negativa. b) Anódica, o material particulado migra e se deposita no eletrodo carregado positivamente. Modificado da ref. ⁶⁹. 38

Figura 2. 13. Fluxogramas esquemáticos com o passo-a-passo para síntese de GT e GPSS. a) Pré-oxidação do grafite. b) Método para obtenção do precursor de GT. c) Síntese de GPSS a partir de GT. Modificado da ref. ⁷⁰. 40

Figura 2. 14. Diagrama esquemático da montagem experimental utilizada no processo de deposição por eletroforese..... 42

Figura 2. 15. Diagrama esquemático do potencial zeta. a) Mostra o potencial zeta de uma partícula com carga superficial negativa, o plano de Stern formado pelos contra-íons mais próximos e o potencial zeta. b) Ilustra a cubeta (*DTS1070*) utilizada para medidas de potencial zeta e seus eletrodos, assim como a região onde é incidido o feixe de luz laser. 43

Figura 2. 16. Ilustração esquemática do sistema de medidas EGFET utilizado, mostrando o béquer com a amostra, eletrodo de refência (Ag/AgCl) e circuito amplificador instrumental. .. 47

Figura 2. 17. Diagrama esquemático mostrando as etapas da modificação superficial de eletrodos de FTO com o silano APTES. 48

Figura 2. 18. Distribuição dos valores obtidos para o potencial zeta e a mobilidade eletroforética utilizando concentrações de $0,01 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ dos materiais grafênicos em água ultrapura. a) GT. b) GS. c) GPSS. 49

Figura 2. 19. Espectro Raman obtidos para os materiais grafênicos depositados em lâmina de vidro por *casting*. 51

Figura 2. 20. Valor da integral em relação ao tempo da corrente de deposição em função do potencial de deposição, utilizando dispersão de GS na concentração de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ por 300 segundos. 55

Figura 2. 21. Deposição de óxido de grafeno comercial (GS) na concentração de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ utilizando diferentes potenciais de deposição por 300 segundos..... 56

Figura 2. 22. Corrente registrada durante o processo de deposição. Os eletrodos foram polarizados com 4 volts, tempo de deposição de 300 segundos e as dispersões na concentração de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ 57

Figura 2. 23. Valor da integral em relação ao tempo da corrente de deposição em função do tempo de deposição, para o potencial de deposição de 4 V e utilizando dispersões nas concentrações de 0,1 mg·ml⁻¹. a) Para tempos de deposição de até 300 segundos em escala linear. b) Os mesmos valores de a) combinados com os resultados para o tempo de deposição de 3600 segundos em escala log-log. Os quadrados coloridos (verde, anil e cinza) são para deposições feitas sobre eletrodos de FTO previamente modificados com APTES. 58

Figura 2. 24. Espectro de reflectância em função do tempo de deposição para amostras para amostras depositadas com potencial de 4 V e utilizando dispersões nas concentrações de 0,1 mg·ml⁻¹ em a). Fotografias de amostras representativas para cada tempo de deposição organizadas do menor para o maior tempo de deposição utilizado (30, 60, 120, 180, 300 e 3600 segundos, respectivamente). 59

Figura 2. 25. Micrografias de microscopia eletrônica de varredura para amostras com diferentes tempos de deposição. As imagens na primeira coluna são de amostras em que foi depositado o material GT, na segunda coluna GPSS e GS na terceira coluna, utilizando o potencial de deposição de 4 V e dispersões na concentração de 0,1 mg·ml⁻¹. Primeira e segunda linhas o tempo de deposição utilizado foi de 60 s a) e b) e 300 s em c). Na segunda linha o tempo de deposição utilizado foi 60 s. Na terceira linha o tempo de deposição foi 300 segundos, na quarta e última linha constam imagens para o tempo de deposição de 3600 s. 61

Figura 2. 26. Micrografias de microscopia eletrônica de varredura da fratura lateral de amostras com diferentes tempos de deposição. As imagens na primeira coluna são de amostras em que foi depositado o material GT, na segunda coluna GPSS e GS na terceira coluna, utilizando potencial de deposição igual a 4 V e dispersões na concentração de 0,1 mg·ml⁻¹. São exibidas imagens para o tempo de deposição de 60 s e 3600 s na primeira e segunda linha, respectivamente. 62

Figura 2. 27. Imagens de microscopia de força atômica para amostras depositadas com o tempo de deposição de 60 segundos, potencial de 4 V e dispersões na concentração de 0,1 mg·ml⁻¹. Na primeira linha são imagens 2D onde a altura é dada pela escala de cores, e a segunda linha os respectivos modelos tridimensionais para depósitos do material GT (a-d), GPSS (b-e) e GS (c-f). 64

Figura 2. 28. Imagens de microscopia de força atômica. Na primeira linha são imagens 2D onde a altura é dada pela escala de cores, e a segunda linha os respectivos modelos tridimensionais para depósitos do material GT (a-d) para o tempo de deposição de 300 s, GPSS (b-e) e GS (c-f) para o tempo de deposição de 3600 segundos. Em todos os casos foi utilizado potencial de deposição igual a 4 V e dispersões na concentração de 0,1 mg·ml⁻¹. 65

Figura 2. 29. Dados utilizados para estimativa do parâmetro f. a) Gráfico da altura do depósito em função do tempo de deposição, utilizado para determinar coeficiente angular (m). b) Imagem de microscopia de força atômica mostrando a região formada entre dois depósitos de GS. c) Imagem de microscopia de varredura ampliada 100 vezes. d) Variação de altura medida no segmento AB marcado na parte b). 68

Figura 2. 30. Variação de potencial medida em função do tempo para GT para tempo de deposição 180 segundos em a), GPSS para o tempo de deposição 300 segundos em b) e GS para o tempo de deposição de 120 segundos. Todas amostras foram depositadas utilizando potencial de 4 V e suspensões na concentração de 0,1 mg·ml⁻¹, utilizando soluções tampão do pH 2 (t = 0) a 12 (t = 600 s) em ordem crescente. 70

Figura 2. 31. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GT depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampões com composições variadas. pHs 2 a 7: ácido cítrico/fosfato de sódio bibásico. pHs 8 a 10: ácido bórico, cloreto de potássio e hidróxido de sódio. pHs 11 e 12: fosfato de sódio bibásico/hidróxido de sódio. f) Valores de sensibilidade dados pelos ajustes lineares. 71

Figura 2. 32. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GPSS depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a

tampões com composições variadas. pHs 2 a 7: ácido cítrico/fosfato de sódio bibásico. pHs 8 a 10: ácido bórico, cloreto de potássio e hidróxido de sódio. pHs 11 e 12: fosfato de sódio bibásico/hidróxido de sódio. f) Mostra o valor de sensibilidade dados pelos ajustes lineares. 72

Figura 2. 33. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GS depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampões com composições variadas. pHs 2 a 7: ácido cítrico/fosfato de sódio bibásico. pHs 8 a 10: ácido bórico, cloreto de potássio e hidróxido de sódio. pHs 11 e 12: fosfato de sódio bibásico/hidróxido de sódio. f) Mostra o valor de sensibilidade dados pelos ajustes lineares. 73

Figura 2. 34. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GT depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampão fosfato. f) Valores de sensibilidade dados pelos ajustes lineares. 75

Figura 2. 35. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GPSS depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampão fosfato. f) Valores de sensibilidade dados pelos ajustes lineares..... 76

Figura 2. 36. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GS depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampão fosfato. f) Valores de sensibilidade dados pelos ajustes lineares. 77

Figura 2. 37. Curvas analíticas de eletrodos de FTO não modificados. a) FTO exposto a tampões fosfato com pHs entre 2 a 12. b) FTO exposto a tampão citrato/fosfato entre os pHs 2 a 8. c) Valores das sensibilidades obtidas para eletrodos modificados de FTO com os três materiais grafênicos em função do tempo de deposição em escala monolog. 80

Figura 3. 1. Tipo de CNTs e suas características estruturais. a, b e c, são considerados nanotubos de paredes simples (SWCNT). a) é um dito nanotubo quiral (qualquer um com $n \neq m$), b) ilustra um SWCNT do tipo zigzag ($m=0$), e em c) trata-se de SWCNT armchair ($n=m$). d) Representação esquemática de um nanotubo de paredes múltiplas (MWCNT). e) ilustra como uma folha de grafeno deve ser enrolando para se obter os diferentes tipos de nanotubos. Imagem modificado da ref. ⁸⁸ 83

Figura 3. 2. Representação esquemática ilustração como é ligado um NTFET a). Curva caracterísitica b). 84

Figura 3. 3. Diagramas de bandas de energia da junção entre SWCNT e um metal. a) enquanto os materiais estão separados por uma distância X. b) Após estabelecer contato entre os materiais. Modificado da Ref.⁹⁷. 85

Figura 3. 4. Curvas de transferências resultantes a expor um NTFET transistor a gás composto por moléculas doadoras de densidade eletrônica (NH_3), sequestradoras de densidade eletrônica (NO_2) e inertes (N_2). Modificado da Ref.⁹⁷. 86

Figura 3. 5. Ilustração esquemática e curvas características de exemplos de sensores embasados em NTFETs que utilizam como parâmetro de funcionamento o valor de conductância a um valor particular de V_g . a) Diagrama esquemático de NTFET funcionalizado com um glicano e sensetivo a lectina. b) Curvas de transferência obtidas ao se expor o dispositivos a diferentes concentração de β -d-galactose, e a ampliação mostra a curva analítica. c) Diagrama ilustrativo mostrando outras possibilidade de funcionalização de NTFET, a seta representando um anticorpo, seguida por um DNA e uma proteína. d) Curvas de transferência obtidas ao expor NTFET funcionalizados com ssDNA a sua fita de DNA complementa, a amplianção mostra as curvas analíticas obtidas. a) e b) modificados da ref. ⁹⁸. c) modificado da ref. ¹⁰³. d) modificado da ref. ¹⁰¹. 87

Figura 3. 6. Diagrama esquemático ilustrando o conceito de língua eletrônica. a) Um conjunto de sensores não seletivos são expostos aos compostos que se deseja classificar (B16, 3LL e EL4) obtendo-se um padrão de resposta característico para o analito em questão b) Os dados obtidos pelo arranjo de sensores são organizados em uma matriz de treinamento. c) Um

algoritmo de aprendizagem autônoma é utilizado para identificar os padrões de respostas obtidos, fazendo a diferenciação entre os compostos analisados. 89

Figura 3. 7. Diagrama ilustrativo de curvas da corrente (I_{DS}) em função do potencial aplicado com o eletrodo de referência (V_{GS}) calculadas para quatro mecanismos distintos associados ao biossensoriamente com NTFETs. a) Efeito de uma mudança de 50 mV do potencial aplicado (V_{GS}). b) Variação da barreira Schottky formada devido ao aumento de 30 meV na diferença de função trabalho entre o metal e o SWCNT. c) Mudança provocada pela variação de capacitância causada pelo recobrimento de 90% do SWCNT por uma proteína. d) Mudança acarretada por uma diminuição de apenas 2% na mobilidade dos portadores de cargas. Modificado da ref. ¹²² 90

Figura 3. 8. A figura mostra a imagem da máscara utilizada para construção de um chip contendo quatro pares de eletrodos interdigitados de ouro E(IO). 93

Figura 3. 9. Fotografia mostrando o posicionamento do líquido sobre uma amostra e o posicionamento do eletrodo de referência. 95

Figura 3. 10. Imagem ilustrando como foi calculado o parâmetro (1), variação da transcondutância da curva característica dos dispositivos. 96

Figura 3. 11. Imagem ilustrando como foi calculado o parâmetro (2), variação do limiar de tensão característico dos dispositivos. 97

Figura 3. 12 Imagem ilustrando como foram calculados os parâmetros (3 e 10), variação da condutância para $V_g = \pm 0.6$ V. 97

Figura 3. 13. Imagem ilustrando como foram calculados os parâmetros (4 a 10), variação da condutância nos potenciais V_g iguais a ± 0.6 V, ± 0.4 V e ± 0.3 V. 98

Figura 3. 14. Imagem ilustrando como foram calculados o parâmetro (11), variação do mínimo de condutância. 98

Figura 3. 15. Esquema da funcionalização química resultado do processo de oxidação. Os SWCNTs são cortados em tubos menores, com grupamentos ácido carboxílicos covalentemente ligados as paredes e as extremidades abertas dos tubos. Modificado da ref. ¹³⁰ 99

Figura 3. 16. Fotografias e micrografias de SWCNTs depositados perpendicularmente entre eletrodos interdigitados de ouro. a) fotografia de um dispositivo após deposição de SWCNT por DEP. b) magnificação mostrando em detalhes o posicionamento dos SWCNTs paralelos aos terminais de ouro adjacentes. c) micrografias MEV de uma amostra, a escala de 200 μ m. A ampliação mostra SWCNTs decorados com nanopartículas de ouro, escala representa 1 μ m. Modificado da ref. ⁸⁶ 100

Figura 3. 17. Resultados da distinção dos cinco sabores básicos à percepção humana. São colecionados em a) os 11 parâmetros utilizados ao longo deste capítulo. b) traz o resultado da análise de discriminantes lineares quando utilizados todos os 11 parâmetros. c) mostra os resultados obtidos quando são utilizados na análise de discriminantes lineares apenas os parâmetros marcados em azul na parte a). Em ambos os casos foi utilizado um arranjo de cinco dispositivos distintos (apenas SWCNTs, e SWCNTs decorados com nanopartículas de ouro, platina, ródio e chumbo). 101

Figura 3. 18. Curvas representativas para dispositivos com cada funcionalização superficial quando expostos a cada população celular. A primeira linha mostra diagramas esquemáticos de dispositivos para cada tipo de funcionalização: a) dispositivo contendo nanopartículas de ouro (Au-SWCNT). b) e c) são dispositivos modificados com camadas auto-organizadas de dodecanetiol (DD-SWCNT) e ácido lipoico (LA-SWCNT), respectivamente. Cada coluna corresponde a dados obtidos com dispositivos com a funcionalização ilustrada na primeira linha. Na segunda linha os dispositivos foram expostos a população de linhagem de células B16, na terceira linha a linhagem 3LL e na quarta linha a linhagem EL4. 103

Figura 3. 19. A figura mostra a média obtida para cada um dos valores calculados dos 11 parâmetros exibidos na Fig. 3.17a, por funcionalização de dispositivo e tipo de linhagem celular testada. Roxo para 3LL, anil para EL4, cinza para B16. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em a) 0,6 V, b) – 0,6 V. c) Variação da transcondutância. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em d) 0,4 V, e) – 0,4 V. f) Variação do valor mínimo da condutância. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em g) + 0,3 V, h) – 0,3 V. Variação da condutância normalizada pela condutância inicial em 0,6 V, b) – 0,6 V..... 104

Figura 3. 20. Resultados obtidos através da análise de discriminante lineares para dispositivos expostos a linhagens de células tumorais. a) Utilizando os três dispositivos com diferentes funcionalizações. b) Utilizando os dados obtidos apenas com dispositivos com nanopartículas de ouro. c) Utilizando apenas dispositivos DD-SWCNT. d) Utilizando apenas dispositivos LA-SWCNT. 105

Figura 3. 21. Curvas representativas para dispositivos com cada funcionalização superficial quando expostos a diferentes tipos células de tecidos saudáveis. Primeira coluna Au-SWCNT, segunda coluna para DD-SWCNT e terceira coluna para LA-SWCNT. Na primeira linha os dispositivos foram expostos a células isoladas da pele, na segunda linha a células isoladas do pulmão, na terceira linha a células isoladas de baço, na quarta linha a células isoladas da medula, e a quinta linha a células isoladas do fígado. 107

Figura 3. 22. A figura mostra a média obtida para cada um dos valores calculados dos 11 parâmetros, por funcionalização de dispositivo e tecido exposto. Preto para células da pele, vermelho para medula, verde para pulmão, bege para fígado, azul para baço. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em a) 0,6 V, b) – 0,6 V. c) Variação da transcondutância. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em d) 0,4 V, e) – 0,4 V. f) Variação do valor mínimo da condutância. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em g) + 0,3 V, h) – 0,3 V. Variação da condutância normalizada pela condutância inicial em 0,6 V, b) – 0,6 V..... 108

Figura 3. 23. Resultado da análise de discriminantes lineares para células de tecidos saudáveis coletadas de ratos. São exibidos os dois primeiros vetores canônicos em a) o primeiro e quarto vetor canônico em b), utilizando dispositivos com os três diferentes tipos de funcionalização. c) Resultados utilizando apenas os dados de dispositivos Au-SWCNT e DD-SWCNT. d) Resultados utilizando apenas os dados de dispositivos Au-SWCNT e LA-SWCNT. e) Resultados utilizando apenas os dados de dispositivos DD-SWCNT e LA-SWCNT..... 109

Figura 3. 24. Possíveis aplicações da metodologia desenvolvida nesse trabalho. a) É exibido o resultado da análise de discriminantes lineares em três amostras a cegas, marcadas como desconhecidas na matriz de dados e classificadas corretamente como células de medula através da análise (círculos em anil). b) São exibidos os resultados combinando os dados obtidos para amostras saudáveis e suas contrapartes cancerosas. 111

Figura 3. 25. Gráficos biplots das análises de discriminante lineares. Cada vetor é representado pelo número de acordo com os parâmetros mostrados na Fig. 17a e duas letras representando o tipo de funcionalização do dispositivo. A intensidade desses vetores representa quanto ele contribui para a distinção entre os dados. a) Biplots para linhagens de células tumorais (Fig. 20a). b) Biplots para células isoladas de tecidos saudáveis de ratos (Fig. 23a-b). c) Biplots obtidos utilizando células saudáveis e suas contrapartes cancerosas (Fig. 24c). 112

Figura 3. 26. Avaliação da exocitose na resposta final do dispositivo. a) Fotografia de dispositivo exposto a células de medula após experimento para caracterização elétrica. As células aderidas à superfície do dispositivo foram contadas manualmente utilizando o *software* ImageJ. b) Resultado de LDA obtido com população de células de medula tratadas com inibidor de exocitose monensin..... 113

SUMÁRIO

Capítulo 1	15
------------------	----

1.1.	A nanotecnologia e os materiais nanoestruturados	15
Capítulo 2		22
2.1.	Introdução – O grafeno e seus derivados	22
2.1.1.	Métodos de obtenção do grafeno.....	25
2.1.2.	Sensores feitos com grafeno.....	30
2.1.3.	Sensores embasados na tecnologia MOSFET	34
2.1.4.	A deposição por eletroforese	37
2.2.	Hipótese	39
2.3.	Objetivos.....	39
2.4.	Materiais e Métodos	39
2.4.1.	Materiais iniciais	39
2.4.2.	Obtenção das nanoestruturas utilizadas	39
2.4.3.	Soluções percussoras dos materiais grafênicos.....	40
2.4.4.	Limpeza e preparo dos eletrodos de FTO.....	41
2.4.5.	A deposição por eletroforese	41
2.4.6.	Caracterizações.....	42
2.4.6.1.	Potencial zeta	42
2.4.6.2.	Espectroscopia Raman	44
2.4.6.3.	Microscopia eletrônica de varredura	44
2.4.6.4.	Microscopia de força atômica.....	45
2.4.6.5.	Espectroscopia de Reflectância	45
2.4.6.6.	Caracterização elétrica (EGFET)	45
2.4.7.	Soluções tampão utilizadas.....	47
2.4.8.	Modificação com APTES.....	47
2.5.	Resultados e Discussões	48
2.5.1.	Potencial Zeta.....	48
2.5.2.	Espectroscopia Raman	50
2.5.3.	Modificação de eletrodos FTO com materiais grafênicos	53
2.5.4.	Caracterização morfológica (MEV e MFA).....	60
2.5.5.	Caracterização elétrica (pH-EGFET)	68
2.5.6.	Discussões finais.....	78
2.6.	Conclusões do capítulo	81
Capítulo 3		82
3.1.	Introdução – Os nanotubos de carbono e seus dispositivos	82
3.1.1.	O conceito de língua eletrônica.....	87
3.1.2.	Distinção entre populações celulares com NTFETs	89
3.2.	Hipótese	91
3.3.	Objetivos.....	91
3.4.	Materiais e Métodos	91
3.4.1.	Materiais iniciais	91
3.4.2.	Preparação dos nanotubos de carbono	91
3.4.3.	Montagem dos NTFETs	92

3.4.4.	Modificação dos NTFETs com nanopartículas metálicas e SAMs	93
3.4.5.	Preparo das amostras de células utilizadas.....	94
3.4.6.	Caracterização elétrica dos NTFETs	94
3.4.7.	Cálculo das variáveis utilizadas para análise de discriminantes.....	95
3.5.	Resultados e Discussão	98
3.5.1.	Prova de conceito e classificação dos sabores básicos a percepção humana	100
3.5.2.	Distinção de populações celulares com arranjo de NTFETs	102
3.6.	Conclusões do capítulo	113
4.	Conclusões gerais e perspectivas futuras	115
	Referências	118
	APÊNDICE A.....	124

Capítulo 1

Este capítulo apresenta uma pequena introdução geral sobre as origens das incomuns propriedades intrínsecas aos materiais nanoestruturados que justificam tanto a importância quanto a motivação da escolha em se trabalhar com ciência e nanotecnologia.

1.1. A nanotecnologia e os materiais nanoestruturados

A primeira ideia de manipular, processar e fabricar dispositivos e sistemas em escala nanoscópica é atribuída a Richard P. Feynman em seu famoso discurso “*Plenty of Room at the Bottom*” dado para a Sociedade Americana de Física em 1959, no qual divaga sobre as imensas possibilidades oriundas da miniaturização. Feynman propôs como poderiam ser feitas as primeiras máquinas nanoscópica utilizando a tecnologia disponível naquele tempo, e previu a possibilidade da existência de infinitas aplicações, ainda inconcebíveis à época, mas que decorreriam das características inerentes aos materiais nanoestruturados. No entanto, foi somente após as invenções dos microscópios de tunelamento (STM, *Scanning Tunneling Microscopy*) e do microscópio de força atômica (AFM, *Atomic Force Microscopy*) nos anos oitenta que possibilitaram os primeiros estudos capazes de investigar a relação entre os aspectos morfológicos e estruturais com as características físico-químicas dos nanomateriais. ¹

Materiais nanoestruturados possuem ao menos uma de suas dimensões na faixa de um bilionésimo do metro, podendo variar entre décimos (0,1 nm) a centenas (100 nm) de nanômetros. Nestas dimensões os materiais possuem menor temperatura de transição de fase, têm maior resistência mecânica, capacidade de auto-organização, propriedades óticas, de condutividade elétrica e magnéticas que variam com o tamanho, dentre outras características distintas daquelas observadas para materiais formados pelos mesmos elementos, mas em escala micro ou macroscópica. Essas diferenças são consequências de basicamente dois efeitos oriundos à miniaturização: o aumento da área específica (razão entre área e volume) e da característica descontínua do confinamento quântico com o preenchimento dos subníveis energéticos moleculares. ²

A alta reatividade dos materiais nanoestruturados tem origem no aumento da fração de átomos na superfície dos materiais decorrente do aumento da área específica com a miniaturização. Podemos facilmente calcular o aumento da área específica a partir das relações

matemáticas para área (Eq. 1.1) e volume (Eq. 1.2) de uma partícula esférica e verificar seu aumento quantitativamente conforme os resultados explicitados na (tabela 1).

$$S = 4\pi R^2 = \pi D^2 \quad (\text{Equação 1.1})$$

$$V = \frac{4\pi R^3}{3} = \frac{\pi D^3}{6} \quad (\text{Equação 1.2})$$

em que S é a área superficial, V o volume, R é o raio e D o diâmetro da partícula.

Tabela 1. Variação da área específica com a diminuição do tamanho.

Diâmetro (nm)	Diâmetro (μm)	Volume (nm^3)	Área superficial (nm^2)	Área específica (nm^{-1})
1	0,001	0,524	3,14	6
10	0,01	524	314	0,6
100	0,1	523598	31416	0,06
1000	1	5,24E+08	3,14E+06	0,006
10000	10	5,24E+11	3,14E+08	0,0006
100000	100	5,24E+14	3,14E+10	0,00006
1000000	1000	5,24E+17	3,14E+12	0,000006

O número de átomos (N) de um sólido aumenta linearmente com seu volume (V), enquanto que a fração de átomos da superfície, chamada de dispersão (F), é proporcional a área específica, o que faz com que F varie com o inverso do raio (R^{-1}), e também com $N^{-1/3}$. Podemos calcular a dispersão (F) de um sólido cúbico com n átomos por aresta ($N = n^3$) corrigindo a contagem dupla dos átomos de cada aresta e recolocando os átomos dos vértices (Eq. 1.3). O comportamento de F como função de N é mostrado na Fig. 1.1a. Em um cubo de um milímetro com aproximadamente 10^{21} átomos (10^7 átomos por lado), apenas 0,000005% deles são átomos de superfície, enquanto em um cubo formado por 1000 átomos (10 átomos por lado) 488 deles fazem contato com o ambiente externo. Todas as propriedades que dependam do fator de dispersão levam a uma linha reta quando plotados como função de R^{-1} , D^{-1} ou $N^{-1/3}$, como por exemplo a energia de ligação, o número de coordenação ($\langle NN \rangle$), ou a temperatura de fusão (T_m), como ilustrado na Fig. 1.1. ^{3,4}

$$F = \frac{6n^2 - 12n + 8}{n^3} \quad (\text{Equação 1.3})$$

Figura 1. a) Mostra a variação da dispersão em função do tamanho do número total de átomos de um aglomerado atômico. b) Número de coordenação médio em função de $N^{-1/3}$. c) e d) mostram a variação da temperatura de fusão em função do diâmetro (c) e do inverso do diâmetro (d). As figuras a) e b) foram modificadas da referência ³. As figuras c) e d) foram modificadas da referência ⁴.

Cada um dos átomos que compõem um material (N) contribui com a formação dos seus níveis de energia. A extensão da sobreposição dos orbitais atômicos de átomos vizinhos determina a separação e grau de modificação entre níveis de energia adjacentes. A dependência da densidade de estados com o tamanho e distância atômica do aglomerado é ilustrada na Fig. 1.2. Em sólidos a partir de alguns micrômetros N é da ordem do número de Avogadro (N_A), o que torna a densidade de estados ($N \cdot \text{eV}^{-1}$) alta, de maneira que a diferença entre a energia do estado ocupado mais alto e o próximo nível permitido de mais baixa energia permitido (Kubo gap, δ) seja inferior a energia térmica (KT), dando origem a estrutura eletrônica conhecida por bandas de energia. Os materiais podem mudar de condutor a isolante quando essa diferença de energia for maior que a energia térmica (KT). ³

Figura 1. 2. Transição entre condutor e isolante decorrente da diminuição do tamanho do material. A figura mostra como se comportam os níveis de energias e a densidade de estados permitidos em função das dimensões do material.

O pequeno número de elementos ($N \ll N_A$) e menor distância interatômica leva a estrutura eletrônica de pequenos aglomerados atômicos a depender criticamente de suas dimensões físicas, exibindo níveis de energias distintos e quantizados de forma que podem ser tratados mais como moléculas do que materiais macroscópicos (*bulk materials*). Assim, para nanomateriais podemos pensar na diferença de energia entre o estado energético ocupado mais alto e subsequente estado energético não ocupado com mais baixa energia em termos da diferença energética entre os orbitais HOMO e LUMO. Quando um subnível formado por estados degenerados de energia é completamente preenchido, o próximo elétron precisa ser acomodado em um subnível desocupado de maior energia. Nestes casos, a transição condutor-isolante ocorre se o número de elementos (N) levar a um nível de energia parcialmente cheio, diminuição da temperatura, ou pela separação de níveis de energia devido a sobreposição de orbitais atômicos ao se aproximar átomos vizinhos. No limiar entre 1 – 2 nm de diâmetro, ou 300 ± 100 átomos, até mesmo metais nobres como ouro e prata deixam de se comportar como condutores.

As discontinuidades dos níveis de energia dos materiais nestas dimensões surgem naturalmente com a solução do poço de potencial quadrado, como o descrito para o modelo da partícula em uma caixa, no qual os limites da caixa são determinados pelas dimensões físicas do cristal.⁵ Esse fenômeno chama atenção quando é visualizado através da emissão fosforescente de nanopartículas semicondutoras como o seleneto de cádmio (CdSe), com cores variando do violeta (1,8 nm) ao vermelho (4 nm) em função do aumento do diâmetro do nanocristal (Fig. 1. 3) ⁶. Além das transições metal-isolante, os preenchimentos dos níveis de energia quantizados podem dar origem a características não vistas nas contrapartes macroscópicas do mesmo material, como as propriedades magnéticas apresentadas por materiais como ouro, chumbo ou platina em cristais que levarem a um subnível HOMO degenerado incompleto. ^{7,8}

Figura 1. 3. Suspensões coloidais de seleneto de cádmio (CdSe) com diâmetros crescente da esquerda (1,8 nm) para a direita (4 nm). Na parte de cima os tubos de ensaio foram iluminados com luz UV e enchemos a luz emitida decorrente do processo de relaxação. Na parte inferior da figura os mesmos tubos iluminados por luz ambiente. Modificado da ref. ⁶

Devido às características incomuns e a alta reatividade dos nanomateriais pesquisadores têm desenvolvido novas aplicações ou os introduzindo a tecnologias já existentes em busca de dispositivos com propriedades únicas e sinérgicas. Nas últimas décadas inúmeros nanomateriais foram descobertos, sintetizados e estudados. Dentre eles, o desenvolvimento dos nanotubos de carbono, por Sumio Iijima em 1991 e, posteriormente, do grafeno, por Sir Kostya Novoselov em 2004, alimentaram intensa pesquisa na área da nanotecnologia (Fig. 1. 4). ^{9,10} O grafeno é a matéria-prima de todas as outras estruturas gráficas, pode ser dobrado em fullerenos (0D), enrolado em nanotubos de carbonos (1D), empacotado (*stacking*) para formar o grafite (3D) (Fig. 1. 5). ¹¹

Figura 1. 4. A figura mostra o número de publicações por ano encontradas buscando-se pelos termos a) “*graphene*” (preto) e “*graphene*” + “*sensor*” (vermelho). b) “*carbon nanotubes*” (preto) e “*carbon nanotubes*” + “*sensor*” (vermelho) através da plataforma *Web of Science*. (acessado em outubro de 2017).

Como discutido, sabemos que as propriedades físico-químicas de qualquer material dependem do seu número de átomos, da forma geométrica, da composição química e de sua estrutura cristalina. Assim, podemos afirmar que mesmo formados pelo mesmo elemento e mesma célula unitária hexagonal, os materiais da Fig. 1.5 possuem características distintas. Além disso, as propriedades físico-químicas destes materiais são também influenciadas pelas moléculas que estão ligadas diretamente em sua superfície e pela interação dessa superfície com os componentes do meio externo. Em materiais como o grafeno ou nanotubos de carbono, idealmente cada um de seus átomos constituintes são átomos de superfície, o que os tornam extremamente sensíveis ao ambiente externo. Assim, podemos estudar a interação dessas estruturas com moléculas alvos através do monitoramento da variação de suas características físico-químicas. Não obstante, os materiais gráfiticos são baratos e mais abundantes que qualquer outro material inorgânico, além de possuírem grupos funcionais orgânicos inerentes a sua estrutura que podem ser utilizados para a imobilização de receptores biológicos, tanto covalentemente ou via empilhamento (π - π *stacking*). Esse conjunto de características justificam a expressiva utilização desses materiais para construção e desenvolvimento de novos sensores.

Figura 1. 5. A figura ilustra como o mesmo elemento (carbono) pode dar origem a diferentes materiais. A parte superior (azul claro) ilustra uma folha ideal de grafeno e como ela pode ser dobrada, enrolada ou empacotada, dando origem a diferentes estruturas alotrópicas do carbono: fulerenos (verde), nanotubos de carbono (rosa) e grafite (azul escuro), respectivamente. Modificado da ref. ¹¹.

Neste trabalho mostraremos a utilização de nanoestruturas alotrópicas de carbono na construção de novos sensores. Essa tese está organizada da seguinte maneira: no Capítulo 2 apresentamos os resultados obtidos com a integração de diferentes materiais gráfiticos nanoestruturados à eletrodos de FTO (*Fluorine doped Tin Oxide*) através da técnica de deposição por eletroforese e sua aplicação como sensor de pH utilizando a tecnologia EGFET, desenvolvido no laboratório de Sensores e Materiais da FFCLRP-USP, sob a supervisão do Prof. Dr. Marcelo Mulato. No Capítulo 3, são apresentados os resultados do trabalho desenvolvido durante o período de estágio sanduíche realizado junto a Universidade de Pittsburgh sob a supervisão do Prof. Dr. Alexander Star, no qual os dados obtidos de um conjunto de transistores de efeitos de campo construídos a partir de nanotubos de carbono (NTFET) foram combinados com análise de discriminantes lineares para distinguir e classificar diversas populações de células. Finalmente, no Capítulo 4 encontram-se as conclusões gerais e as perspectivas futuras.

Capítulo 2

Neste capítulo são apresentados os resultados frutos do trabalho desenvolvido no Laboratório de Sensores e Materiais da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, sob a supervisão direta do Prof. Dr. Marcelo Mulato. A ideia desenvolvida nesse projeto foi o controle do desempenho de um sensor de pH embasado na tecnologia EGFET através da modificação de eletrodos de FTO pela incorporação diferentes nanoestruturas de carbono.

2.1. Introdução – O grafeno e seus derivados

O carbono (C) é o elemento químico com seis prótons da tabela periódica (Fig. 2. 1.a). É classificado como um não-metal e possui quatro elétrons de valência, podendo formar até quatro ligações covalentes com um ou mais elementos para dar origem a diversos compostos. Suas formas alotrópicas macroscópicas mais comuns são o carvão, um sólido amorfo, e os sólidos cristalinos grafite e diamante. Enquanto o grafite é condutor, frágil, escuro e opaco (Fig. 2. 1.b), o diamante é um isolante, translúcido e conhecido como o material mais duro encontrado naturalmente na crosta terrestre (Fig. 2. 1.c). Como mencionado anteriormente, sabemos que as características distintas de materiais formados pelos mesmos elementos são consequências do diferente arranjo em que os átomos estão organizados para formar o material.

Figura 2. 1. a) O elemento Carbono na tabela periódica. b) Imagem de um cristal de grafite natural. c) Imagem de um diamante. d) Ilustração esquemática dos alótropos cristalinos do carbono e suas estruturas moleculares. Modificado da ref. ¹³.

No diamante cada átomo de carbono faz ligações simples com outros quatro átomos de carbono com hibridização sp^3 (Fig. 2. 2. a), formando uma estrutura cúbica tetraédrica com ângulos de aproximadamente 109° graus. Nas demais estruturas alotrópicas da Fig. 2. 1.d cada átomo de carbono combina seus orbitais s, p_x e p_y ao ligar-se a outros três átomos vizinhos com hibridização sp^2 (Fig. 2. 2. b), dando origem a uma estrutura trigonal plana de célula unitária hexagonal com ligações sigma C—C—C formando ângulos de 120° graus. O quarto elétron remanescente dos três átomos vizinhos, ficam alocados em orbitais p_z , perpendiculares a estrutura planar (Fig. 2.2.c), se sobrepõe, e podem se mover através da rede cristalina. O deslocamento desses elétrons faz com que esses materiais sejam bons condutores de calor e eletricidade. ¹⁴

Figura 2. 2. Representação esquemática dos orbitais atômicos de um átomo de carbono com hibridização sp^3 em (a) e sp^2 em (b). c) Ilustra a sobreposição entre orbitais π adjacentes, ortogonais as ligações sigmas que compõe a estrutura hexagonal da rede cristalina. d) Ilustração esquemática da estrutura molecular de três planos de um cristal de grafite. e) Representação esquemática da vista frontal da estrutura mostrada em (d).

O grafite é formado devido a atuação de forças de Van der Waals que mantém agrupados múltiplos planos compostos apenas por átomos de carbono e que permanecem unidos formando uma estrutura lamelar com distância interplanar de 0,34 nanômetros. Cada um desses planos possui um átomo de espessura e pode ser imaginado como uma grelha¹ (Figura 2.3a). A Fig. 2.3b mostra um diagrama esquemático de uma folha isolada, e a Fig. 2.3c uma micrografia de STM. Grafeno é o nome dado a um único plano ou folha isolada da estrutura lamelar que forma o grafite (Fig. 2. 3d). Apesar de estudado teoricamente desde a década de quarenta, era acreditado ser instável termodinamicamente não existindo em condições normais de temperatura e pressão ^{15,16}. Apenas em 2004 que os Professores Andre Geim e Konstantin Novoselov conseguiram isolar uma camada única do material e determinar experimentalmente a mobilidade ($20000 \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$) e densidade dos portadores de carga (10^{13} cm^{-2}), sendo por esta contribuição laureados com o Prêmio Nobel de física em 2010. ¹⁷

¹ O termo em inglês normalmente utilizado para exemplificar a estrutura da rede cristalina do grafeno é *honeycomb lattice*, no entanto, considerando que se trata de uma estrutura com apenas um átomo de espessura, o termo grelha pareceu mais adequado.

Figura 2. 3. a) Imagem ilustrativa de uma grelha. b) Representação esquemática da estrutura molecular de uma camada única de grafeno. c) Imagem por microscopia de tunelamento de grafeno. d) Representação esquemática de como uma camada única de grafeno pode ser obtida a partir do grafite. Modificado da ref.¹³.

Deste então, as características físico-químicas únicas deste material, como a condutância superior a 200 S.m^{-1} ¹⁸, condutividade térmica entre 3080 e $5150 \text{ W.m}^{-1}\text{K}^{-1}$ ¹⁹, transmitância no visível acima de 97% ²⁰, módulo de Young maior que 1 TPa ²¹ (aproximadamente 200 vezes maior que do aço) e uma área superficial teórica de $2630 \text{ m}^2.\text{g}^{-1}$ ²², despertaram grande interesse da comunidade científica em desenvolver novos métodos de síntese, crescimento e isolamento de folhas grafeno individuais. A fácil introdução de diversas funcionalidades ao grafeno permitiram sua exploração para o desenvolvimento de novas tecnologias nos mais diversos ramos de pesquisas, tais como optoeletrônica e fotônica^{23,24}, novos dispositivos eletrônicos^{25,26}, sensores^{27–29}, compósitos de interesse clínico³⁰ e carreadores de fármaco³¹, na geração e armazenamento de energia^{32–35}, entre outras.

2.1.1. Métodos de obtenção do grafeno

Na literatura é possível encontrar inúmeras abordagens para obtenção do grafeno, catalogados Fig. 2.4. São elas: a esfoliação mecânica (Fig. 2.4a), *anodic bonding* (Fig. 2.4b), esfoliação por foto-indução (Fig. 2.4c), exfoliação em fase líquida (Fig. 2.4d), crescimento em cima

de *wafers* tipo SiC (Fig.2.4e), precipitação a partir de metal (Fig.2.4f), deposição química em fase vapor (CVD, do inglês para *chemical vapor deposition*) (Fig.2.4g), epitaxia por feixe molecular (Fig.2.4h) e (Fig.2.4i) síntese química.³⁶ Estes métodos podem ser classificados como *Top Down* (Fig. 2.4a-d) ou *Bottom Up* (Fig. 2.4e-i). Enquanto a abordagem *Bottom Up* consiste em obter o material a partir da combinação átomo-a-átomo ou molécula por molécula a partir de precursores, no método *Top Down* nanoestruturas são obtidas diretamente do material macroscópico. Os métodos CVD e crescimento epitaxial diretamente em *wafers* SiC são os métodos *Bottom Up* mais relatados na literatura por serem mais facilmente integráveis a tecnologia CMOS existente, no entanto, essas técnicas requerem maquinário específico que restringem o uso dessa tecnologia a poucos centros de pesquisa de ponta.³⁷

Figura 2. 4. Métodos de obtenção de grafeno encontrados na literatura. Modificado da ref. ³⁶.

A CVD é o processo mais utilizado para deposição ou crescimento de filmes finos utilizado na indústria de semicondutores a décadas. O método foi utilizado inicialmente para deposição de pequenas amostras sobre substratos de metais nobres como Ir, Pt, Ru e Pd para estudos de microscopia de tunelamento que exigissem substratos de alta condutividade. Atualmente, pode-se obter grafenos via CVD em metais mais baratos como Ni, Co e Cu, podendo-se obter grafenos com áreas da ordem de alguns centímetros quadrados (cm²), a partir

de diversas fontes de hidrocarbonetos. ³⁸ O processo de crescimento epitaxial usando SiC consiste em aquecer *wafers* SiC a altas temperaturas em ultra-alto vácuo (*Ultra-high vacuum*). O silício sublima em temperaturas acima de 1400°C deixando para trás os átomos de carbono. Apesar da diferença de tamanho entre as redes cristalinas do SiC e grafeno, esses átomos difundem-se pela superfície e se rearranjam em uma estrutura final de célula unitária (*lattice*) equivalente ao de um plano isolado do grafite natural. ³⁹

As abordagens Top Down mais populares são a esfoliação mecânica e a esfoliação em fase líquida. O método de exfoliação mecânica teve grande evidência em 2004 (Fig. 2.3a), no qual uma fita adesiva foi usada para obtenção do grafeno a partir de um floco de grafite pirolítico. ¹⁰ Esta técnica ainda é até hoje utilizada para obtenção de folhas individuais estruturalmente intactas com micrômetros de comprimento, que podem ser utilizadas em pesquisa e desenvolvimento de protótipos ⁴⁰, mas inviável para produção em larga escala. A esfoliação em fase líquida pode ser pensada como o desmonte do grafite tridimensional em suas lamelas individuais. O método consiste na obtenção do grafeno através de um intermediário do grafite solúvel em água, o óxido de grafite, utilizando uma mistura de agentes oxidantes. Hummer e Offeman ⁴¹ desenvolveram em 1957 uma metodologia (Fig. 2.5) para obtenção do óxido de grafite tratando grafite em pó com uma mistura de permanganato de potássio (KMnO₄), nitrato de sódio (NaNO₃) e ácido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado. O meio extremamente oxidante é capaz de degradar parte das ligações sp² (Fig. 2.2b) do grafite, convertendo uma parcela de átomos de carbono à hibridização sp³ (Fig. 2.2a), nos quais são inseridos grupamentos oxigenados diversos (Fig. 2.5).

Figura 2. 5. Ilustração esquemática do Método de Hummer e suas etapas. a) Primeiramente o grafite é oxidado, obtendo-se o óxido de grafite em b), que ainda mantém a estrutura lamelar do grafite, porém com uma distância interplanar maior devido a presença dos grupamentos oxigenados (representados como esferas vermelhas). O óxido de grafite é esfoliado em folhas individuais de óxido de grafeno (GO) c), que posteriormente são reduzidas para obtenção do grafeno derivado quimicamente (rGO) em d). Modificado da ref.⁴².

Apesar do óxido de grafite ainda manter a estrutura lamelar formada de planos sobrepostos empilhados do grafite, este material possui maior distância interplanar devido a repulsão eletrostática entre átomos de oxigênios posicionados em folhas distintas. Além disso, as interações desses grupamentos oxigenados com a água também aumentam o caráter hidrofílico do material. O intercalamento de moléculas de água entre planos adjacentes permite que o material seja facilmente esfoliado em folhas individualizadas dando energia o suficiente ao sistema para vencer a interação de Van der Waals responsável por manter unidos os múltiplos planos da estrutura. O tratamento mais empregado na literatura para separar a estrutura lamelar do óxido de grafite e transforma-lo em folhas de individuais de óxido de grafeno (GO, do inglês *graphene oxide*) é submeter o material já oxidado a banho ultrassônico. Este processo foi amplamente explorado na literatura usando diferentes agentes oxidantes ou com a adição de

outros reagentes, como surfactantes, monômeros poliméricos e uma grande variedade de nanopartículas ou sais metálicos e semicondutores (Fig. 2.6). Apesar das modificações apresentadas, a ideia principal envolvida não difere daquela proposta no método originalmente proposto por Hummer e Offeman, de maneira que todas essas variações são normalmente referidas na literatura como “Método de Hummers”.^{43,44}

Figura 2. 6. A figura mostra algumas das variações do Método de Hummer encontradas na literatura. Modificado da ref. ⁴⁵.

O grafeno derivado quimicamente (rGO, do inglês *reduced graphene oxide*) é obtido submetendo o material esfoliado a um processo de redução, seja por redução térmica (*annealing*), eletroquímica, ou por meio do uso de um agente redutor, como borohidreto, ácido ascórbico, hidrazina etc. O processo de redução reestabelece parte das ligações danificadas durante a etapa de oxidação, eliminando uma porcentagem dos átomos de oxigênio. Esse processo diminui a carga elétrica que confere estabilidade eletrostática à suspensão, podendo fazer com que as folhas individuais de rGO voltem a se agregar. Dessa forma, é comum que o processo de redução do GO a rGO use algum agente capaz de conferir estabilização elétrica ou estérica à suspensão.⁴⁶

No GO são encontrados grupamentos epóxis contidos no plano basal do material em grande quantidade, nas bordas de folhas individuais contém majoritariamente grupamentos ácido carboxílicos, e hidroxilas são encontradas em menor quantidade tanto no plano basal como nas bordas (Fig. 2.6a). No rGO o processo de redução elimina prioritariamente os grupamentos

epóxios localizados no meio (plano basal) do material, mantendo os grupamentos ácidos carboxílicos e hidroxilas nas bordas, resultando um material com estrutura como a ilustradas na Fig. 2.6b. A quantidade e natureza dos grupamentos oxigenados influenciam a performance eletroquímica desses materiais, modulando tanto a taxa de transferência eletrônica, quanto as constantes de adsorção/desorção de moléculas. Consequentemente, os defeitos estruturais formados naturalmente com o processo de oxidação-redução podem ser vistos como vantajosos do ponto de vista de aplicações de cunho eletroquímico, como é o caso sensores e biossensores.

47,48

Figura 2. 7. Diagrama mostrando as estruturas moleculares idealizadas do óxido de grafeno (GO) a) e do grafeno derivado quimicamente (rGO) em b) ²⁸.

2.1.2. Sensores feitos com grafeno

Um desafio central na área das ciências da saúde e biomédica tem sido o desenvolvimento de testes clínicos embasados em novas tecnologias que resultem em medidas precisas, com resultados consistentes mais rápidos que os convencionais, e ao menor custo possível. Normalmente testes clínicos não são realizados no consultório médico, mas dentro de laboratórios, por meio de técnicas como a cromatografia líquida (HPLC), espectroscopia de massas ou fluorescência. Estes procedimentos necessitam recurso humano altamente qualificado para preparação de amostras, realização de experimentos e coleta de dados. Na maior parte dos casos o material biológico precisa ser preservado em condições ambientais específicas enquanto é transportado ao laboratório, aumentando o risco de deterioração e contaminação das amostras. Assim, a tendência atual é minimizar essas dificuldades através do desenvolvimento de novas tecnologias capazes de realizar os mesmos testes clínicos com equipamentos portáteis, pequenos, baratos e de fácil manuseio, possibilitando que o próprio

médico ou paciente possam fazer testes sem ter de deixar o consultório ou mesmo em casa, como no caso de pacientes com diabetes. Neste contexto, tem se procurado integrar a análise de material biológico a componentes de circuitos integrados compatíveis a indústria de semicondutores existente. A utilização de circuitos miniaturizados possibilitam reduzir drasticamente a quantidade de material biológico requerido para análise e resultados em tempo real.⁴⁹

Ao se buscar pelos termos sensor e grafeno na literatura é mais comum encontrar sensores chamados de GFET (*Graphene field effect transistors*). Este tipo de dispositivo era inicialmente construído depositando-se contatos elétricos metálicos sobre uma amostra de grafeno. Inicialmente, amostras de grafeno obtidos por esfoliação, que eram isolados e transferidos para um substrato sólido, onde posteriormente eram depositados os contatos elétricos usando procedimentos padrões de litografia. O desenvolvimento de métodos de síntese realizados diretamente sobre substratos condutores, como a CVD ou o crescimento epitaxial sobre SiC, não requerem a etapa de transferência pois já ocorrem sobre substratos sólidos. A Fig. 2.8 ilustra como é construído esse tipo de dispositivo a partir de uma amostra de grafeno sintetizada sobre folha de cobre, com posterior remoção desse substrato via corrosão.⁵⁰

Figura 2. 8. Passo a passo ilustrando montagem de um transistor de efeito de campo feito de uma camada grafeno (GFET). Modificado da ref. ³⁶.

Como o nome sugere, os GFETs operam de maneira similar a dispositivos embasados no conceito de FET (do inglês, *Field Effect Transistor*), onde o próprio grafeno atua como transdutor. Quando um composto de interesse é adsorvido a superfície da camada de grafeno ocorre um processo de transferência de carga, que leva a alteração das propriedades elétricas do grafeno e a modulação da corrente do dispositivo. Esta variação de corrente pode ser utilizada para se obter informações a respeito do mecanismo de interação entre o composto e o grafeno ou como parâmetro de funcionamento de sensores. A Fig. 2.10a mostra uma ilustração esquemática da aparelhagem experimental utilizada em medidas com dispositivos do tipo GFETs. A Fig. 2. 10b são imagens ópticas e de MEV mostrando os eletrodos metálicos e a camada de grafeno. A Fig. 2.10c mostra exemplos de curvas característica obtidas de experimentos de sensoriamento com GFET. As propriedades elétricas desse tipo de dispositivo são determinadas pelas características estruturais do grafeno utilizado, pelos materiais utilizados como contatos elétricos e substrato sobre o qual a camada do grafeno é posicionada, além da composição do meio no qual se realizará a medida.

Figura 2. 9. a) Ilustração esquemática de como dispositivos GFETs são conectados a aparelhagem eletrônica para realizar experimentos de sensoriamento. Modificado da ref. ⁵¹. b) Foto mostrando os contatos elétricos em ouro e a camada de grafeno, tiradas com microscópio óptico (esquerda) e por MEV (direita). Modificado da ref. ⁵² c) A imagem mostra como a curva característica de um dispositivo GFET é alterada conforme o dispositivo é modificado. GFET sem modificação exposto a tampão phosphato salino (preto), após o crescimento de nanopartículas de ouro (vermelho), após exposição ao corante rodamina 123.

O acesso ao maquinário para o processo litográfico, bem como a síntese de grafeno por meio de CVD ou epitaxia sobre SiC, limitam o acesso a esse tipo de tecnologia. Uma segunda alternativa, mais facilmente implementável, é a posterior integração do material nanoestruturado a eletrodos metálicos previamente depositados sobre um substrato isolante. Apesar de existirem inúmeras publicações de grafeno que utilizam tecnologia, estes conceitos foram primeiramente desenvolvidos para o estudo de nanotubos de carbono, e reaproveitados para o grafeno. Esse tipo de dispositivo e suas aplicações serão melhores abordadas no capítulo 3.

Ainda no contexto de aplicações do grafeno, destaca-se a síntese pelo método de esfoliação em fase líquida do grafite, pois além de não exigir equipamento específico, uma vez que requer apenas reagentes comuns, vidraria e capela, produz grande quantidade do material a um preço módico, além de poder ser escalonado para produção em larga escala. Estas características impeliram a comunidade científica a desenvolver processos de fabricação capazes de integrar nanomateriais dispersos em meio aquoso diretamente a dispositivos, normalmente através da utilização de eletrodos modificados. Neste sentido, o grafeno pode ser depositados diretamente sobre eletrodos de platina ⁵³, ouro ⁵⁴, carbono vítreo ⁵⁵, ou através do

uso de técnicas como *spin coating* ⁵⁶ ou *dip coating* ⁵⁷, Langmuir-Blodgett ⁵⁸, *layer-by-layer*, eletroforese ⁵⁹, dieletroforese ⁶⁰, entre outras. A modificação de eletrodos através da incorporação do grafeno ou seus derivados dão origem a dispositivos com propriedades únicas e sinérgicas, diferentes daquelas observadas em seus componentes individuais.

2.1.3. Sensores embasados na tecnologia MOSFET

A Fig. 2.10a mostra um diagrama esquemático de um dispositivo do tipo NMOS. A região entre os terminais da fonte (S) e dreno (D) destacada na cor anil é conhecido como canal. O terminal da porta (G) fica separado do canal por um material isolante (verde). Enquanto os terminais S e D são feitos de semicondutores do tipo n, o corpo do transistor é tipo p. Se não for aplicado nenhum potencial ao eletrodo da porta, os terminais da fonte e dreno permanecem desconectados devido à baixa condutividade do canal e aos potenciais formados nas junções PNs, entre o corpo (tipo p) e os terminais S e D (tipo n). Aplicar um potencial positivo no terminal de porta irá repelir eletrostaticamente os buracos da região do canal, logo abaixo no corpo do MOSFET, levando ao aparecimento de uma camada de depleção similar àquela de junções PNs. Conforme esse potencial é aumentado, o terminal polarizado positivamente será capaz de atrair os portadores de carga minoritários, elétrons, para a região denominada canal (anil), tornando-a condutora e conectando eletricamente os terminais de S e D. Aplicando um segundo potencial (V_{DS}) entre os terminais S e D ocorre o surgimento de uma corrente (I_{DS}), que é modulada pelo valor do potencial de porta (V_{GS}). Em outras palavras, para um V_{DS} fixo, o valor de I_{DS} é uma medida da quantidade de carga acumulada no canal, que por sua vez é igual a carga aplicada ao terminal de porta e, assim, o MOSFET pode ser entendido como um sensor de carga. ⁶¹

Figura 2. 10. O diagrama esquemático de um MOSFET tipo N ilustrado em a). Diagrama esquemático de um dispositivo do tipo ISFET representado em b). Curva característica (V_{GS} vs I_{DS}) obtida com o dispositivo c). Modificados da ref. ⁶².

O fenômeno da formação da dupla camada elétrica observado em interfaces entre eletrodos e soluções eletrolíticas é estudado desde o século XIX. Em 1853, Helmholtz concebeu a ideia de que a dupla camada elétrica seria essencialmente um dielétrico molecular capaz de armazenar carga eletrostaticamente. Quando colocado em uma solução eletrolítica, eletrodos depletariam íons de mesma carga, ao mesmo tempo em que contra-íons seriam atraídos à sua superfície, dando origem a dois planos de cargas opostas na interface sólido-líquido, hoje chamados de dupla camada elétrica. ⁶³ Mais de cem anos depois, Piet Bergveld demonstrou a comunidade científica como o potencial oriundo à dupla camada elétrica poderia ser utilizado como parâmetro de funcionamento de um dispositivo do tipo MOSFET modificado, então batizado de ISFET (*Ion-sensitive field effect transistor*), a partir do qual poderia se obter informações a respeito das características de soluções eletrolíticas. ⁶⁴

O ISFET consiste de um dispositivo MOSFET o qual não foi depositado o eletrodo metálico de porta, permitindo então o contato direto entre o óxido isolante e uma solução eletrolítica (Fig. 2.10b). Neste caso é utilizado um eletrodo de referência externo inserido na solução eletrolítica capaz de fornecer um potencial estável ao sistema. Uma das características mais importantes desse tipo de dispositivo é o limiar tensão (V_{th}), valor mínimo a ser aplicado para que ocorra o processo de inversão de cargas e a formação do canal condutor na estrutura FET. O valor desse parâmetro é determinado pela quantidade de carga acumulada no material dielétrico da porta. Diferentes fenômenos decorrentes de processos químicos ou biológicos podem causar o aumento (ou diminuição) da quantidade de carga contida no dielétrico,

permitindo que o ISFET seja utilizado para se monitorar tais processos eletronicamente de maneira eficiente e com alta sensibilidade, através da variação do valor de V_{th} .⁶⁵ (Fig. 2.10c)

A Fig. 2.11 mostra um modelo simplificado em uma dimensão da distribuição dos potenciais eletrostáticos envolvidos em um sistema composto por um ISFET, eletrodo de referência e solução eletrolítica, dando origem a uma diferença de potencial total V_a . Há diversas quedas de potenciais características nessa estrutura que podem ser agrupadas em quatro regiões distintas: (i), a diferença de potencial na interface entre eletrodo de referência e solução eletrolítica devido a formação da dupla camada elétrica, dada segundo o modelo proposto por Gouy-Chapman-Stern ($E_{ref} + \chi_{sol} - \chi_M$); (ii), a diferença de potencial na interface entre a solução eletrolítica e o material dielétrico de porta, também dada em termos do modelo proposto Gouy-Chapman-Stern (Ψ_0); (iii), a queda de potencial no interior do óxido de porta (Ψ_{ox}); (iv), a queda de potencial devido a depleção de cargas no interior do semicondutor (Ψ_s). Essas diferenças de potenciais características são inerentes a difusão das cargas intrínsecas aos materiais devido a discrepância dos valores das funções trabalho dos materiais ao longo do sistema, e uma vez em equilíbrio, não há fluxo de cargas pela estrutura devido a presença do óxido isolante de porta. Na ausência de contaminantes e defeitos, o potencial aplicado através do sistema eletrodo, solução eletrolítica e ISFET é dado por:⁶⁶

$$V_a = V_{FB} + \psi_{ox} + \psi_s - \psi_0 \quad (\text{Equação 2.1})$$

onde a variável V_{FB} agrupa todos os termos que não dependam do potencial aplicado e são determinados pela natureza dos materiais utilizados, tanto da solução eletrolítica quanto aos materiais que fazem parte da estrutura FET, em uma única constante análoga a tensão de *flatband* de um MOSFET convencional. Ψ_{ox} é o potencial no óxido isolante, Ψ_s o potencial no semicondutor e Ψ_0 é o potencial determinado pelo material adsorvido ou ligado quimicamente a superfície do eletrodo de porta. Ψ_{ox} , Ψ_s e Ψ_0 são dados em função do potencial aplicado (V_a). O termo Ψ_0 é a componente responsável pelo funcionamento de sensores embasados no conceito de efeito de campo, uma vez que processos físico-químicos que ocorram na interface formada pela solução eletrolítica e o óxido de porta podem alterar o valor deste potencial.

Figura 2. 11. Modelo simplificado em uma dimensão das quedas de potenciais eletrostáticos envolvidas ao longo do conjunto ISFET, solução eletrolítica e eletrodo de referência. Modificado da ref. ⁶⁶.

2.1.4. A deposição por eletroforese

A deposição por eletroforese (EPD, *electrophoretic deposition*) é um método utilizado para fabricação de revestimentos e deposição de filmes finos ou compósitos sobre materiais condutores, a partir de materiais inorgânicos metálicos, não metálicos ou poliméricos, dispersos na forma de suspensões coloidais. É uma combinação de dois processos distintos: a eletroforese, que se trata do movimento de partículas eletricamente carregadas dispersas em um meio fluido devido a ação de um campo elétrico, e a deposição em si, que ocorre formando uma estrutura compacta no eletrodo polarizada com carga oposta a do material particulado. O processo de EPD tem um baixo tempo de processamento, pois não exige nenhum procedimento elaborado para o preparo das amostras, podendo ser facilmente implementável em escala industrial devido a sua simplicidade de funcionamento, versatilidade e baixo custo. ⁶⁷ Uma diferença de potencial constante (DC) é aplicada entre um eletrodo de trabalho e um contra

eletrodo, ambos previamente imersos em uma cela eletroquímica contendo uma suspensão coloidal estável do material que se deseja depositar. O eletrodo auxiliar precisa ser feito de um material inerte, e é o responsável por trocar cargas com a solução, enquanto que durante o processo o material é depositado sobre o eletrodo de trabalho. O tipo de deposição, catódica ou anódica, é determinado pela polarização do eletrodo de trabalho (Fig. 2. 12) e a polarização dos eletrodos precisa ser determinado de acordo com a carga do material que se deseja depositar adquire quando disperso no solvente escolhido. O modelo cinético do processo de deposição foi proposto por Hamaker em 1940 a partir do Princípio da Conservação das Massas, e é dado por:

68

$$w(t) = \int_{t_1}^{t_2} f \mu E A C_s dt \quad (\text{Equação 2.2})$$

onde: f é um fator de eficiência ($f < 1$), w : massa depositada (kg), μ : a mobilidade eletroforética ($m^2.(V.s)^{-1}$), E : o campo elétrico ($V.m^{-1}$), A : a área do eletrodo, C_s : concentração das partículas carregadas ($kg.m^{-3}$) e t : tempo (s). A mobilidade eletroforética depende das propriedades da partícula e da suspensão, é dada pela equação de Smoluchowski:

$$\mu = \frac{\epsilon \epsilon_0 \zeta}{\eta} \quad (\text{Equação 2.3})$$

onde: ϵ : constante dielétrica do líquido, ϵ_0 : permissividade do vácuo ($C^2.(J.m)^{-1}$), ζ : potencial zeta (V) e η : é a viscosidade do líquido (Pa.s).

Figura 2. 12. Representação esquemática dos tipos de deposição por eletroforese. a) Catódica, o material particulado migra em direção e se deposita no eletrodo polarizado com carga negativa.

b) Anódica, o material particulado migra e se deposita no eletrodo carregado positivamente. Modificado da ref. ⁶⁹.

2.2. Hipótese

A incorporação de grafenos possuindo diferente composição e quantidade de grupamentos funcionais a eletrodos de FTO modulará as características da amostra como sensor de pH. A sensibilidade de uma amostra dependerá da densidade e tipo dos grupamentos funcionais incorporados ao eletrodo.

2.3. Objetivos

Controlar a sensibilidade de um sensor de pH embasado na tecnologia EGFET a partir da incorporação de diferentes grafenos e óxidos de grafeno sobre eletrodos de FTO.

2.4. Materiais e Métodos

2.4.1. Materiais iniciais

Ácido fosfórico (H_3PO_4), fosfato monossódico (NaH_2PO_4), fosfato dissódico (Na_2HPO_4), hidróxido de sódio (NaOH), ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), ácido bórico (H_3BO_3), cloreto de sódio (NaCl), cloreto de potássio (KCl), ureia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$), urease (EC 3.5.1.5, tipo III, pó, 20990 unidades/g), FTO, grafeno. EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida), NHS (N-hidroxissuccinimida), APTES (3-aminopropil)triétoxissilano, álcool isopropílico, acetona, peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

2.4.2. Obtenção das nanoestruturas utilizadas

Para testar a hipótese proposta neste trabalho foram utilizados três materiais distintos, sendo dois deles óxidos de grafenos (GT e GS), e um grafeno derivado quimicamente (GPSS). Ao longo do texto estes materiais serão referidos de maneira genérica como materiais grafênicos. Dois desses materiais (GT e GPSS) foram obtidos através de uma colaboração com o Prof. Dr. Antonio Riul Júnior, hoje docente do Instituto de Física “Gleb Wataghin” – UNICAMP. GS denomina o óxido de grafeno comercializado pela empresa Sigma.

GT e GPSS foram sintetizados via esfoliação do grafite em fase líquida, a partir de uma modificação do Método de Hummer original, que divide o processo de oxidação em duas etapas.

Na primeira etapa, chamada de pré-oxidação, o grafite foi diluído em uma mistura de ácido sulfúrico (H_2SO_4), persulfato de potássio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) e pentóxido de fosforo (P_2O_5) a temperatura de 80°C , garantindo maior oxidação do grafite e aumento da solubilidade do material (Fig. 2.13a). Subsequentemente, o produto da pré-oxidação foi submetido a uma segunda etapa de oxidação, usando uma mistura de permanganato de potássio (KMnO_4) em ácido sulfúrico, obtendo ao final óxido de grafite (Fig. 2.13b). Este material pode ser esfoliado em banho ultrassônico para obtenção de GT ou reduzido utilizando hidrazina (N_2H_4) na presença do polímero poli(sódio 4-estirenosulfonado) (PSS) para obtenção do grafeno derivado quimicamente (GPSS) (Fig. 2.13c). Maiores informações sobre a metodologia de síntese podem ser encontradas na publicação listada como a referência ⁷⁰.

Figura 2. 13. Fluxogramas esquemáticos com o passo-a-passo para síntese de GT e GPSS. a) Pré-oxidação do grafite. b) Método para obtenção do precursor de GT. c) Síntese de GPSS a partir de GT. Modificado da ref. ⁷⁰.

2.4.3. Soluções precursoras dos materiais grafênicos

Os materiais grafênicos foram obtidos na forma material particulado desidratado, e posteriormente diluídos em soluções estoques nas concentrações de $4,5\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ (GT), $4,0\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ (GPSS) e $2,0\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ (GS), respectivamente. Para realizar o processo de deposição a solução estoque era submetida a banho ultrassônico por 30 minutos e depois diluída à concentração de $0,1\text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. A solução era submetida novamente a banho ultrassônico por duas horas antes do processo de deposição para garantir uma boa dispersibilidade do material.

2.4.4. Limpeza e preparo dos eletrodos de FTO

O óxido de estanho dopado com flúor (FTO: *Fluorine Tin Oxide*) é um óxido condutor anfótero amplamente utilizado como eletrodo, empregado em aplicações diversas como vidros inteligentes, sensores, eletrodos transparentes, célula solar, entre outros.⁷¹⁻⁷⁴ Para este trabalho foi utilizado o FTO comercializado pela empresa Sigma Aldrich. Segundo o fabricante o material foi depositado por spray pirólise e possui resistência de folha de $\sim 7\Omega/\square$. As chapas de vidro contendo o material semicondutor, inicialmente nas dimensões de 300 mm x 100 mm x 2 mm, foram divididas em pedaços medindo de 25 mm x 10 mm. Os pedaços menores foram submetidos a um processo de limpeza que consistiu em banho ultrassônico em água, álcool isopropílico e acetona, por 10 minutos cada. Subsequentemente, as amostras foram secas em fluxo de nitrogênio e guardadas em recipientes fechados para futuro uso. O processo de limpeza visa eliminar contaminantes orgânicos e sujeira que por ventura vieram a entrar em contato com a superfície do material durante o processo de corte ou manipulação das chapas de vidro.

2.4.5. A deposição por eletroforese

O processo de deposição foi feito utilizando uma célula eletroquímica composta por um béquer de 10 ml modificado e um suporte customizado para dois eletrodos mantendo suas faces planas paralelas e separadas por uma distância fixa de 10 mm, como ilustrado esquematicamente na Fig. 2.14. A diferença de potencial foi aplicada entre os eletrodos utilizando uma fonte de tensão contínua (Agilent 34970A) e a corrente monitorada com um amperímetro (Agilent 34970A). O polo negativo da fonte de tensão foi conectado ao eletrodo auxiliar, e o terminal positivo conectado ao eletrodo de trabalho. Como eletrodo auxiliar foi utilizada uma chapa de aço inoxidável, e como eletrodo de trabalho amostras de FTO, ambos com as mesmas dimensões de 25 mm x 10 mm. Foram utilizados 8 ml de solução dos diferentes materiais grafênicos diluídos em água ultrapura Milli-Q tipo 1 (Direct-Q® 5-UV Millipore) na concentração de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Os eletrodos eram imergidos 1,5 cm dentro da dispersão a ser utilizada, sendo o processo de deposição realizado sobre uma área efetiva de $1,5 \text{ cm}^2$. A fonte de tensão, o amperímetro, o potencial e o tempo de deposição, foram controlados via software através de uma interface GPIB.

Figura 2. 14. Diagrama esquemático da montagem experimental utilizada no processo de deposição por eletroforese.

2.4.6. Caracterizações

2.4.6.1. Potencial zeta

Ao se colocar um material particulado em um líquido ele irá adquirir uma carga elétrica superficial devido a dissociação ou ionização de seus grupamentos funcionais e pela adsorção de íons da solução à superfície de suas partículas. Essa carga superficial altera a distribuição de íons nas vizinhanças do material particulado, atraindo uma camada de contra-íons junto a superfície (*Stern plane*) e dando origem a uma dupla camada elétrica na interface entre a partícula e o líquido, como uma camada de solvatação. Essa camada de solvente forma o chamado plano de cisalhamento, que contém os íons mais próximos que não podem ser separados e se movem juntamente com a partícula, de maneira que podemos considerar que a partícula dispersa e essa camada de cargas formam um único ente (Fig. 2. 15a). O potencial zeta (ζ) é a medida da carga líquida contida no plano hidrodinâmico de cisalhamento. O potencial zeta não pode ser medido diretamente, mas é calculado indiretamente pela equação de Smoluchowski (Eq. 2.3) a partir da medida da mobilidade eletroforética.

Figura 2. 15. Diagrama esquemático do potencial zeta. a) Mostra o potencial zeta de uma partícula com carga superficial negativa, o plano de Stern formado pelos contra-íons mais próximos e o potencial zeta. b) Ilustra a cubeta (DTS1070) utilizada para medidas de potencial zeta e seus eletrodos, assim como a região onde é incidido o feixe de luz laser.

A mobilidade eletroforética é calculada pela mudança de fase decorrente do espalhamento de uma luz causado por partículas em movimento em um fluido. A medida é feita introduzindo uma dispersão do material em uma cubeta capilar contendo dois eletrodos, pelos quais é aplicado um potencial elétrico. As partículas carregadas irão migrar sob a influência do campo elétrico na direção do eletrodo polarizado de carga oposta, enquanto um feixe de luz polarizada, monocromática e coerente é incidido na amostra (Fig. 2.15b). A velocidade de arraste (v_d) das partículas é determinada pela variação de fase do laser incidente, e é proporcional a magnitude da sua carga (ζ). A mobilidade eletroforética (μ) é a razão entre a velocidade de arraste das partículas no fluido e a magnitude do campo elétrico aplicado (Eq. 2.4).

$$\vec{\mu} = \frac{\vec{v_d}}{E} \quad (\text{Equação 2.4})$$

A mobilidade eletroforética e o potencial zeta dos materiais grafênicos foram determinados para soluções na concentração de $0,01 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ dos materiais grafênicos dispersos em água ultrapura, através do equipamento Zetasizer Nano ZS do fabricante Malvern localizado no laboratório de físico-química de coloides e superfícies do Dep. de Química da FFCLRP – USP, e utilizando uma cubeta modelo DTS1070.

2.4.6.2. Espectroscopia Raman

A técnica de espectroscopia Raman pode ser utilizada para se obter informações sobre as características químicas e estruturais de materiais sólidos. Quando um laser é incidido sobre uma amostra, a maior parte da radiação incidente é refletida elasticamente, enquanto uma pequena fração é espalhada inelasticamente, sendo absorvida pela amostra e excitando-a a um vibracional (ou rotacional) de maior energia, de maneira que um fóton com comprimento de onda (energia) diferente da luz incidente é emitido. Tal efeito é chamado de espalhamento Raman. Cada material tem seus modos vibracionais característicos, que sofrem pequenas alterações ao ter outros compostos ligados covalentemente ou adsorvidos à sua estrutura, assim como mudanças do estado de oxidação ou a presença de defeitos em sua estrutura cristalina. É uma técnica rápida, simples e não destrutiva, sem contato físico com o material. Não há necessidade de preparo da amostra, e é realizada a pressão e temperatura ambiente. Os espectros Raman foram obtidos utilizando um espectrômetro modelo LabRAM HR da Horiba Jobin Yvon, localizado no Laboratório Multiusuário de Análises Químicas do Instituto de Química da UNESP, em Araraquara. Com laser de comprimento de onda $\lambda = 633 \text{ nm}$ e potencial de 17 mW. Os materiais grafênicos dispersos em água milli-Q pura foram depositados por *casting*, 25 μl nas concentrações de 4,5 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ para GPSS e 4,0 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ e 50 μl (duas vezes 25 μl) para GS na concentração de 2,0, em uma lamínula de vidro de microscópio previamente higienizada com detergente neutro, e banho ultrassônico por 10 minutos em água milli-Q, álcool e acetona, respectivamente.

2.4.6.3. Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica utilizada para produzir imagens de alta resolução que revelam características morfológicas e estruturais da superfície de um material. A imagem é obtida varrendo a amostra com um feixe de elétrons, que é acelerado e focalizado por um conjunto de lentes. Ao material ser atingido pelo feixe de elétrons, seus átomos excitados emitem elétrons secundários, que são coletados ao mesmo tempo em que se faz o feixe de elétrons do microscópio percorrer a amostra, criando uma imagem topográfica superficial a partir dos elétrons secundários captados pelos detectores. As micrografias desse

trabalho foram obtidas com um microscópio ZEISS EVO 50 localizado no departamento de química da USP – FFCLRP e operando com voltagem de aceleração do feixe de elétrons de 20 KV. As amostras de FTO foram recobertas com uma fina camada de ouro (tempo de metalização de 30s) em um Sputter Coater–Balzers SCD 050 e coladas sobre o porta amostra do aparelho com uma fita dupla face condutora.

2.4.6.4. Microscopia de força atômica

A microscopia de força atômica é um tipo de microscopia de varredura em que é utilizado uma pequena ponta de prova mecânica que é colocada próxima o suficiente da superfície da amostra para haver interação eletrônica. A distância da ponta de prova a superfície da amostra é mantida constante enquanto a sonda se move pela amostra. Ao interagir com a superfície, a sonda experimenta forças de atração ou repulsão, que são armazenadas e processadas em computador para se criar uma imagem 3D topográfica do material com resolução de dezenas de nanômetros. As imagens de AFM neste trabalho foram obtidas por um SPM-600 Shimadzu operando no modo contato, localizado no departamento de química da USP – FFCLRP. As imagens foram feitas diretamente da superfície das amostras de FTO, fixadas no porta amostra com fita dupla face.

2.4.6.5. Espectroscopia de Reflectância

A espectroscopia de refletância é uma técnica que monitora a intensidade da radiação refletida ao irradiar um material com luz visível. Os espectros de reflectância apresentados nesse trabalho foram obtidos utilizando o espectrômetro portátil modelo Color-Guilher BYK-Gardner, e os espectros registrados entre os comprimentos de onda 400 nm a 700 nm, tomando-se como branco uma amostra de FTO sem modificações. Para a análise apresentada foram utilizados os valores do parâmetro de luminosidade (L^*) gerados pelo software do próprio aparelho.

2.4.6.6. Caracterização elétrica (EGFET)

Os eletrodos de FTO modificados pela incorporação dos materiais grafênicos tiveram seu desempenho como sensor de pH (sensor de íons H^+) avaliados conectando as amostras em um circuito eletrônico na configuração chamada EGFET (Extended Gate Field Effect Transistor).

O EGFET é uma derivação do ISFET em que a camada do óxido isolante sensível a íons da porta foi separada do restante do componente eletrônico. Essa modificação foi proposta pela primeira vez em 1983 por Van der Spiegel et al como uma solução para os problemas de encapsulamento decorrentes do contato direto da solução eletrolítica com o corpo do FET necessário ao funcionamento dos ISFETs.⁷⁵ Na configuração EGFET, a camada sensível a íons é conectada por meio de um fio condutor a um circuito elétrico externo, bastando a substituição apenas do material sensível a íons para obtenção de um novo dispositivo, ao passo que em ISFETs é necessário a fabricação de novo componente eletrônico inteiro para cada amostra a ser utilizada. O funcionamento de ambos dispositivos é idêntico, no entanto, o EGFET requer que a camada sensível a íons seja feita a partir com um material condutor, ao contrário do óxido isolante necessário ao funcionamento de ISFETs. A partir das propostas apresentadas a comunidade científica por Spiegel, o próprio dispositivo evoluiu, sendo hoje em dia possível encontrar diversos circuitos diferentes ao MOSFET inicialmente usado, mas ainda classificados como EGFET devido a presença de componentes do tipo MOSFETs utilizados nas entradas do circuito, responsáveis por conferir ao dispositivo alta impedância de entrada.⁶⁵

Neste trabalho, utilizamos um circuito amplificador de instrumentação com ganho unitário para fazer a medida do potencial associado a superfície do filme (Ψ_0), como esquematicamente ilustrado na Fig. 2. 16. Ao utilizar esse circuito, elimina-se a necessidade do uso de duas fontes de tensão necessárias à polarização do MOSFET (V_{DS} e V_{GS}). As amostras de FTO foram ligadas a entrada não inversora e um eletrodo de referência (Ag/AgCl) aterrado ligado a entrada inversora. As amostras eram inseridas em um béquer contendo a solução eletrolítica de interesse, e o valor do potencial monitorado por um *Agilent Data Acquisition/Switch unit* (34970A) controlado por computador via GPIB. Cada valor apresentado representa a média de ao menos três amostras distintas e as barras de erro correspondem a um desvio padrão.

Figura 2. 16. Ilustração esquemática do sistema de medidas EGFET utilizado, mostrando o béquer com a amostra, eletrodo de referência (Ag/AgCl) e circuito amplificador instrumental.

2.4.7. Soluções tampão utilizadas

Solução tampão multicomponentes: para se compor soluções entre os pHs 2 a 12, inicialmente foram combinadas soluções tampões feitas com diferentes componentes. Do pH 2 ao 7 foi utilizado o tampão de McIlvaine, misturando-se proporções adequadas de ácido cítrico 0,1 M e fosfato de sódio bibásico 0,1 M. Do pH 8 ao 10 foi utilizado tampão de ácido bórico, misturando-se alíquotas de hidróxido de sódio 0,1 M a uma mistura de ácido bórico e cloreto de potássio (6,20 g de H_3BO_3 + 7,46 g KCl e dilui-se em 1 litro de água milli-Di). Para os pHs 11 e 12 foi utilizado tampão de Ringer, combinando alíquotas de hidróxido de sódio bibásico 0,1 M e hidróxido de sódio 0,1 M.

Solução de tampão fosfato: As soluções de tampão fosfato foram feitas misturando-se proporções adequadas de ácido fosfórico, fosfato de sódio monobásico, fosfato de sódio bibásico e hidróxido de sódio. Todas as soluções tiveram seus pHs monitorados com pHmetro 827 pH Lab Metrohm.

2.4.8. Modificação com APTES

O procedimento para funcionalização dos eletrodos de FTO com APTES foi realizado em amostras previamente limpas (Fig. 2.17a). As superfícies das amostras foram hidrofílicas (Fig. 2.17b) utilizando uma mistura de (5:1:1) de água, solução de hidróxido de sódio (NaOH, 29% m/m) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) por 30 minutos a temperatura de 75 °C. Após esse

período as amostras eram enxaguadas com água milli-DI em abundância, e colocadas em solução de APTES 10% a temperatura de 40 °C por duas horas. Depois disso, as amostras eram novamente enxaguadas e secadas em fluxo de gás nitrogênio, se encontrando então prontas para uso.

Figura 2. 17. Diagrama esquemático mostrando as etapas da modificação superficial de eletrodos de FTO com o silano APTES.

2.5. Resultados e Discussões

2.5.1. Potencial Zeta

Ao se colocar um material particulado em um meio aquoso, este irá adquirir uma carga elétrica superficial devido a dissociação ou ionização de seus grupamentos funcionais e pela adsorção de íons da solução à superfície das partículas, dando origem a uma carga elétrica chamada de potencial zeta (ζ). Para fins práticos, o potencial zeta representa a carga efetiva do material disperso em solução, e sua caracterização se fez importante por ser uma medida indireta da estabilidade da solução coloidal, além de determinar como os eletrodos de trabalho (FTO) e contra eletrodo (inox) deveriam ser polarizados durante o processo de deposição por eletroforese. O mesmo equipamento e soluções foram utilizados para determinar o potencial zeta (ζ) e o valor da mobilidade eletroforética (μ). As distribuições obtidas para os materiais testados são exibidas na Fig. 2. 18. Por se tratar de dispersões coloidais em que os materiais particulados não são homogêneos, obtém-se como resultado distribuições centradas nos valores exibidos na tabela 2. 1. Os resultados indicam que o material GPSS possui maior carga em módulo, apresentando um valor de -31 ± 8 mV, seguido por GS com -29 ± 6 mV e GT com -24 ± 4 mV. Apesar de serem materiais com origens diferentes, todos eles foram obtidos por meio de

exfoliação do grafite em fase líquida. Nesse processo o grafite é submetido a um processo oxidativo, que degrada parte das ligações entre carbonos introduzindo grupos oxigenados ao longo da estrutura do material, aumentando o caráter hidrofílico do material. Esses grupamentos funcionais podem estar protonados ou desprotonados em meio aquoso, conferindo as dispersões estabilização por meio da repulsão eletrostática entre os oxigênios de folhas de grafeno/óxido de grafeno distintas que acarretam em um valor negativo de potencial zeta. Segundo a literatura, dispersões coloidais com potencial zeta em torno de ~ 30 mV possuem estabilidade moderada. GS e GT permaneciam estáveis por algumas horas, enquanto que o material estabilizado pelo polímero PSS (GPSS) permanecia disperso em solução por períodos superiores que 24h.

Figura 2. 18. Distribuição dos valores obtidos para o potencial zeta e a mobilidade eletroforética utilizando concentrações de $0,01 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ dos materiais grafênicos em água ultrapura. a) GT. b) GS. c) GPSS.

Tabela 2. 1. Valores obtidos de potencial zeta e mobilidade eletroforética.

Material	Potencial Zeta (mV)	Mobilidade Eletroforética ($\mu\text{mcm}\cdot(\text{Vs})^{-1}$)
GPSS	-31 ± 8	$-2,4 \pm 0,9$
GS	-29 ± 6	$-2,3 \pm 0,6$
GT	-24 ± 4	$-1,9 \pm 0,3$

2.5.2. Espectroscopia Raman

A quantidade dos grupamentos funcionais entre os materiais pode ser comparada utilizando a espectroscopia Raman. Esse tipo de espectroscopia é uma técnica não destrutiva que possibilita obter informação estrutural a partir do espalhamento inelástico da luz produzido pelos modos vibracionais dos materiais. O espectro Raman para os três materiais é mostrado na Fig. 2. 19 e os principais resultados compilados na Tabela 2. 2. O pico característico mais comum do espectro Raman de materiais grafíticos é a chamada banda G, apresentando picos nos comprimentos de onda 1568 cm^{-1} , 1582 cm^{-1} , 1587 cm^{-1} para GS, GT e GPSS, respectivamente, que correspondem a elongação de ligações C – C no plano da rede do grafite, ativo em todos alótropos de carbono com hibridização sp^2 . Segundo a literatura, o deslocamento da banda G para maiores frequências observado para GT e GPSS seria um indicativo de dopagem tipo P (buracos), ocorrência de transferência de densidade eletrônica do grafeno para o dopante, evidenciando a transferência de carga a grupos aromáticos do polímero PSS, que estariam agindo como aceitados de carga. ^{76,77}

Figura 2. 19. Espectro Raman obtidos para os materiais grafênicos depositados em lâmina de vidro por *casting*.

Materiais grafênicos também apresentam a chamada banda D, correspondendo ao pico com máximo em aproximadamente 1325 cm^{-1} , que se manteve constante para os três materiais. A banda D é induzida pela presença de defeitos na rede cristalina, como a variação do ângulo ou comprimento das ligações, presença de pentágonos ou heptágonos, vacâncias e pelos efeitos de borda, presentes devido a conversão de parte de átomos com hibridização sp^2 em carbonos com hibridização do tipo sp^3 e da introdução de átomos de oxigênio a estrutura (hetero-átomos) durante processo de oxidação do grafite proporcionado pelo Método de Hummers. A aparição do ombro ao redor de $\sim 1605\text{ cm}^{-1}$, chamado de banda D', é um indicativo de se tratar de um grafeno com poucas camadas (de 15 a 20 camadas, de acordo com o fabricante), e foi observado somente para GS, sendo também um indicativo de baixo grau de desordem em relação aos outros materiais. Além disso, a intensidade da banda D e a largura da banda G são mais pronunciadas com o aumento do número de camadas, sendo um indicativo dos materiais GPSS e GT possuírem inicialmente mais camadas do que o GS. A banda G' e as demais bandas entre ~ 2500 a $\sim 2900\text{ cm}^{-1}$ são decorrentes de espalhamento de fônons de segunda ordem, e a largura

dos picos podem ser utilizadas para distinção entre grafenos de camadas únicas, duplas, e algumas camadas.⁷⁸

Tabela 2. 2. Valores dos picos característicos e parâmetros relevantes obtidos por Raman

	λ_D (cm ⁻¹)	λ_G (cm ⁻¹)	I_D	I_G	I_D/I_G	L_a (nm)
GS	1325	1368	9768	15055	0,64	59,4
GT	1325	1582	173322	237006	0,73	52,7
GPSS	1325	1587	144052	200141	0,71	53,5

A intensidade relativa entre os picos das bandas D e G (razão entre a área dos picos, I_D/I_G) é uma proporção relativa entre domínios desordenados e ordenados do material, utilizado na literatura para estimar a quantidade de grupamentos funcionais presentes na estrutura, por ser inversamente proporcional ao tamanho médio dos domínios aromáticos (L_a) da estrutura cristalina, e dado pela por: ⁷⁹

$$L_a(nm) = (2,4 \times 10^{-10}) \lambda_{Laser}^4 \left(\frac{I_D}{I_G} \right)^{-1} \quad (\text{Equação 2. 5})$$

em que λ_{Laser} é o comprimento de onda da luz laser utilizada no espectrofotômetro Raman. Os valores calculados de L_a (Tabela 2. 2) mostram que dentre os materiais GS é o que possui menor densidade de grupamento funcionais. A análise Raman também sugere que o material GT possui mais grupos funcionais do que GPSS. Esse resultado já era esperado, uma vez que o material GPSS é obtido fazendo a redução química de GT, que reestabelece parte das ligações danificadas durante o processo de oxidação, aumentando o tamanho dos domínios aromáticos. Não obstante, podemos comparar os resultados obtidos através da espectroscopia Raman com os de potencial zeta. Ambas análises corroboram a ideia de que GS possui menos grupamentos funcionais, exibindo o menor valor de potencial zeta, em concordância com maiores domínios aromáticos (maior valor de L_a) e, conseqüentemente menor porcentagem de funcionalização, que segundo a especificações do fabricante, o grau de funcionalização desse material seria de 4 a 10% de bordas oxidadas. Em se tratando dos materiais obtidos diretamente através da esfoliação do grafite (GPSS e GT), ambos apresentam maior grau de funcionalização que o grafeno comercial (GS). Os resultados do Raman indicam que GPSS possui menos grupamentos funcionais que GT, no entanto, este possui maior potencial zeta (em módulo). Esse resultado sugere que o polímero PSS estaria interagindo com a rede do grafeno através de interações entre seus grupos aromáticos (π - π *stacking*), enquanto os grupamentos sulfônicos estariam

contribuindo para carga total negativa observada nas medidas de potencial zeta. Não obstante, GT possui maior porcentagem de funcionalização e menor potencial zeta. Como todos materiais foram caracterizados sob as mesmas condições, esta discrepância (maior funcionalização e menor potencial superficial) é um indicativo que GT apresenta maior diversidade de grupos funcionais (ver Fig. 2.7), mas que ainda estariam protonados nas condições utilizadas para análise.

2.5.3. Modificação de eletrodos FTO com materiais grafênicos

A proposta deste trabalho foi investigar como os diferentes materiais grafênicos influenciariam na sensibilidade de sensores de pH utilizando a tecnologia EGFET. Para tal, os materiais grafênicos foram incorporados a eletrodos de FTO, para posterior caracterização elétrica como sensor de íons. A incorporação dos nanomateriais aos eletrodos de FTO foi realizada através da técnica de eletroforese, aplicando uma diferença de potencial em uma célula eletroquímica de dois eletrodos, sendo o eletrodo auxiliar feito de um material inerte (inox), responsável por trocar cargas com a suspensão coloidal do material a ser depositado, e o FTO utilizado como eletrodo de trabalho. Segundo os resultados de potencial zeta, todos três materiais grafênicos apresentaram carga superficial negativa quando disperso em meio aquoso, devendo, portanto, os eletrodos de FTO serem utilizados como ânodo, ou seja, conectados ao terminal positivo da fonte de tensão, e o eletrodo de inox utilizado como cátodo, ligado ao terminal negativo da fonte de tensão.

Ainda não há consenso na literatura a respeito do mecanismo de formação do depósito de materiais grafênicos, não se sabendo exatamente como esse tipo de material se liga ao eletrodo de trabalho. Em materiais cerâmicos, para os quais a EPD é mais bem estabelecida, em muitos casos o depósito ocorre por floculação devido ao acúmulo de material particulado e a pressão por ele exercida na superfície do eletrodo de trabalho. No entanto, para materiais grafênicos, são mais bem aceitos na literatura outros dois processos para a formação do depósito: a neutralização de cargas e/ou a redução anódica do nanomaterial.⁵⁹ O processo de deposição ocorrendo via redução anódica dos materiais grafênicos foi determinante para estabelecer os parâmetros de deposição utilizados nesse trabalho. O grupo do prof. Ruoff⁸⁰ descreveu a deposição por eletroforese e simultânea redução anódica do GO, monitorando a

quantidade de grupamentos funcionais presentes no material precursor e após a deposição via EPD, verificando a diminuição da porcentagem entre oxigênio e carbono (O/C). Em outras palavras, GO estaria sendo convertido a rGO durante o processo de deposição. O mecanismo de deposição proposto sugeriu um processo de três etapas com a eliminação CO_2 , descrito pelas equações:

Apesar da deposição de GO e redução a rGO em um procedimento único ser interessante do ponto de vista de aplicações práticas que requeiram o uso apenas de rGO, esse fenômeno determinou condições que deveriam ser contornadas para a realização desse trabalho. Uma vez que nosso objetivo era determinar como a diferença entre os grupos funcionais dos materiais (GO e rGO) influenciam na sensibilidade final de um sensor de íons, a redução durante o processo de deposição foi algo a ser minimizado. Nesse contexto, o grupo do prof. Aldo Boccaccini ⁸¹ realizou intensa investigação sobre a cinética do processo de deposição, na tentativa de isolar o processo de deposição ao da redução química do GO. Os resultados sugeriram que a utilização de baixos potenciais (≤ 5 V) durante o processo de deposição e soluções com baixas concentrações (0,2 e 0,4 mg·ml⁻¹ no referido trabalho) minimizam significativamente o processo de redução. Tendo isso em mente, as amostras preparadas para experimentos comparativos entre os diferentes materiais foram então depositadas utilizando a concentração de 0,1 mg·ml⁻¹ e potencial de deposição igual a 4 volts.

Ainda no que tange o mecanismo de deposição, a maior parte dos artigos apontam que a neutralização de cargas no eletrodo de trabalho seja o processo central que leva a formação do depósito. Uma vez que as dispersões dos materiais grafênicos são estabilizadas eletrostaticamente devido a carga remanescente a base conjugada dos óxidos de superfície ionizados, e como a polarização dos eletrodos durante a EPD causa a hidrólise da água levando a geração de prótons junto ao ânodo, prótons poderiam se recombinar com os grupamentos oxigenados, diminuindo a repulsão eletrostática entre folhas de óxido de grafeno e favorecendo

o processo de deposição.^{82,83} Esse fenômeno sugere, portanto, que a carga elétrica decorrente desse processo pode ser um parâmetro de análise do processo de deposição.

A Figura 2. 20 mostra o valor calculado da integral da corrente (carga depositada) medida durante o processo de deposição utilizando uma solução 0,1 mg·ml⁻¹ de GS, permitindo que o depósito ocorresse por 300 s, para vários potenciais diferentes. Como pode se observar da Fig. 2.20, foi obtida uma relação linear entre o potencial aplicado e a carga depositada, mesmo padrão esperado segundo o modelo proposto por Hamaker.

Figura 2. 20. Valor da integral em relação ao tempo da corrente de deposição em função do potencial de deposição, utilizando dispersão de GS na concentração de 0,1 mg·ml⁻¹ por 300 segundos.

A função primária do campo elétrico aplicado no processo EPD é induzir o movimento das partículas carregadas em direção ao eletrodo polarizado com carga de sinal contrário, mas de maneira que também promova uma deposição eficiente. O material particulado se acumula perto do eletrodo de carga oposta, onde eventualmente se deposita. Aumentar o valor do potencial entre os eletrodos irá causar também aumento da velocidade de migração do material particulado em direção ao eletrodo de carga oposta (o ânodo, nesse caso), e esse efeito pode ser quantificado através das equações:⁸⁴

$$J = \sigma \cdot E \quad (\text{Equação 2.9})$$

$$J = nqv_d \quad (\text{Equação 2.10})$$

nas quais J é a densidade de corrente ($A \cdot m^{-2}$), σ é a condutividade da elétrica da solução ($S \cdot m^{-1}$), E é o campo elétrico ($V \cdot m^{-1}$), n é a densidade de partícula por volume (m^{-3}), q é a carga da partícula (C) e v_d a velocidade das partículas ($m \cdot s^{-1}$). Como pode ser visto na Fig. 2.21, a corrente medida durante o processo de deposição é proporcional ao potencial aplicado, aumentando a velocidade induzida pelo campo elétrico mais intenso e a quantidade de material depositado (Fig. 2.20). No entanto, como evidenciado na Fig. 2.21 para a deposição aplicando entre os eletrodos $V = 1V$, o potencial aplicado deve ser superior a um valor mínimo. O potencial aplicado precisa ser alto o suficiente para que a força eletroforética supere a viscosidade do líquido e a força exercida pelos contra íons nas vizinhanças do nanomaterial, possibilitando que o material particulado se mova ao longo do gradiente do campo, e ainda supere a força repulsiva entre as próprias partículas, para que assim o depósito ocorra.

Figura 2. 21. Deposição de óxido de grafeno comercial (GS) na concentração de $0,1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ utilizando diferentes potenciais de deposição por 300 segundos.

Na Fig. 2.22 são mostradas as curvas das correntes monitoradas durante o processo de EPD para uma amostra representativa de cada um dos três materiais, utilizando a concentração de $0,1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$, potencial de deposição igual a 4 V e tempo de deposição de 300 segundos.

Figura 2. 22. Corrente registrada durante o processo de deposição. Os eletrodos foram polarizados com 4 volts, tempo de deposição de 300 segundos e as dispersões na concentração de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$.

A corrente de deposição para o material GT (curva vermelha) decresce monotonicamente com o tempo de deposição, condizente com o depósito de um material com características isolante. Conforme GT forma um depósito sobre o eletrodo de FTO, parte do potencial aplicado diretamente no eletrodo cairia internamente, dentro do próprio material depositado, causando o decréscimo observado na corrente, sugerindo que o processo de deposição continua com menor intensidade. Idealmente, óxido de grafeno (GT) seria um material isolante, enquanto o GPSS, por ser um óxido de grafeno reduzido e tendo parte de seus domínios sp^2 reestabelecidos, seria condutor. Apesar da diferença de valor obtido para o tamanho dos domínios sp^2 (La, eq. 2.5) através da análise Raman ser pequena (Tab. 2.2), os resultados corroboram a hipótese de GPSS ser mais condutor que GT. Não obstante, o resultado da análise Raman aponta que GS é o material grafênico mais preservado, possuindo ainda menor quantidade de grupamentos funcionais que GPSS, ou seja, é ainda mais condutor. Portanto, é plausível inferir que os resultados na Fig. 2. 22 para GS e GPSS (curvas preta e azul) são

consistentes com o depósito de materiais condutores, embora com baixa taxa de deposição, mas constante ao longo de todo o tempo de deposição.

São exibidos na Fig. 2.23a os valores de carga depositados para os três materiais grafênicos, a concentração de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ e potencial de 4 V. Inicialmente, cada um dos três materiais foi depositado para os tempos de deposições iguais a 30, 60, 120, 180, 300 segundos. Todos materiais apresentaram uma relação linear entre a carga depositada e o tempo do processo de deposição. Como pode ser observado das Fig. 2.23 e Fig. 2.22, o material GT apresentou a maior intensidade de corrente durante o processo de deposição, no entanto, é o material que apresenta o menor potencial zeta, e, segundo a análise Raman, maior porcentagem de funcionalização. Esse é um indicativo que a população de grupamentos funcionais tem grande importância nas reações eletroquímicas, tendo papel determinante no processo de deposição.

Figura 2. 23. Valor da integral em relação ao tempo da corrente de deposição em função do tempo de deposição, para o potencial de deposição de 4 V e utilizando dispersões nas concentrações de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. a) Para tempos de deposição de até 300 segundos em escala linear. b) Os mesmos valores de a) combinados com os resultados para o tempo de deposição de 3600 segundos em escala log-log. Os quadrados coloridos (verde, anil e cinza) são para deposições feitas sobre eletrodos de FTO previamente modificados com APTES.

Com a finalidade de monitorar o crescimento dos filmes indiretamente, utilizamos a espectroscopia de refletância. O monitoramento da transmitância para o comprimento de onda $\lambda = 550 \text{ nm}$ é comumente utilizado para correlacionar a espessura de filmes condutores transparentes a base de materiais gráfiticos com suas propriedades óticas.⁵⁶ Quanto maior a espessura do material, maior será a absorbância e, consequentemente, menor a transmitância. Os dados obtidos apontam para o decréscimo da transmitância para GS (preto) em função do aumento do tempo de deposição. Para GPSS, há a diminuição da transmitância para os menores tempo de deposição ($\leq 60\text{s}$), que se mantém constante mesmo com o aumento do tempo de

deposição. GT não apresentou variação da transmitância, sugerindo que o processo de deposição continua a uma taxa de deposição negligente após o período inicial. Com os dados da Fig. 2.22 (curva vermelha), foi calculado que a taxa de decaimento da corrente de deposição (Eq. 2.11) nos primeiros 30s corresponde a aproximadamente 73% do decaimento em relação ao sinal para o tempo de deposição de 300 s.

$$\Delta I (\%) = \frac{I_{t=0} - I_{t=30\text{ s}}}{I_{t=0} - I_{t=300\text{ s}}} \quad (\text{Equação 2.11})$$

Figura 2. 24. Espectro de reflectância em função do tempo de deposição para amostras para amostras depositadas com potencial de 4 V e utilizando dispersões nas concentrações de 0,1 mg.mL⁻¹ em a). Fotografias de amostras representativas para cada tempo de deposição organizadas do menor para o maior tempo de deposição utilizado (30, 60, 120, 180, 300 e 3600 segundos, respectivamente).

Fizemos ainda outro experimento, para verificar se a relação entre a carga depositada e o tempo de deposição manteria a relação linear por longos períodos de deposição. Na Fig. 2.23b são exibidos os dados da Fig. 2.23a combinados com os resultados obtidos utilizando tempo de deposição igual 3600 segundos, apresentados em escala log-log para melhor visualização. A tendência de se manter a carga constante com o processo de deposição é clara. Cabe salientar ainda que para nenhum dos materiais, para tempos de deposição até 300s, não puderam ser notadas mudanças de coloração nos eletrodos a olho nu (Fig. 2.24b). Para GT, mesmo para o tempo de deposição de 3600 s, não pode ser detectada nenhuma variação de coloração (primeira linha na Fig. 2.24b). Para GS pôde ser observado estruturas macroscópicas espalhadas ao longo de toda superfície da amostra para o tempo de deposição de 3600 s (última imagem da segunda

linha na Fig. 2.24b). Para GPSS, uma pequena região mais acinzentada pode ser visualizada na região junto a interface ar-solução (terceira linha na Fig. 2.24b). Esses resultados dão indícios de que enquanto o processo de deposição para GT é mais eficiente para tempos de deposição menores que 30 segundos e continua a uma taxa de deposição negligente, os processos de deposição para GPSS e GS parecem continuar constante durante todo o período de deposição. Adicionalmente, na tentativa de aumentar a eficiência do processo de deposição foi utilizada a estratégia reportada Sarkar e Daniels-Race,⁸⁵ que reportaram ter obtidos melhores resultados se depositando filmes de CNTs via EPD em substratos previamente modificados com uma camada automontada do organosilicato APTES (3-aminopropil)triethoxilano). O tratamento com APTES confere ao eletrodo grupamentos NH_2^+ terminais carregados positivamente, que poderiam promover o processo de deposição mediando a interação com grupamentos oxigenados carregados negativamente dos materiais grafênicos. Os dados obtidos para o tempo de deposição de 300 segundos em eletrodos de FTO modificados com APTES são exibidos na Fig. 2.24b (quadrado verde para GT, anil para GPSS e cinza para GS). Como pôde ser observado, não foi obtida nenhuma melhora significativa nos resultados encontrados, não sendo adotado tal procedimento.

2.5.4. Caracterização morfológica (MEV e MFA)

A caracterização morfológica dos eletrodos de FTO modificados com as nanoestruturas grafênicas foi realizada por meio das análises de micrografias obtidas técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV) e microscopia de força atômica (MFA). Na Fig. 2.25 são exibidas na primeira coluna micrografias sobre amostras que o material GT foi depositado, na coluna do meio GPSS, e na terceira coluna GS. Como pode ser observado com uma ampliação de 5K (primeira linha), todos materiais se ligaram aos eletrodos formando aglomerados na forma de ilhas, formando regiões que não parecem estar conectadas umas as outras, estando pousadas paralelamente (face a face) ao plano da amostra. Para GT e GPSS (Fig. 2.25 a e b) os materiais se destacam claramente nas imagens, formando estruturas com aproximadamente $\sim 40 \mu\text{m}$. Para GS foi possível observar ilhas menores, vistas pela mudança de tonalidade distribuídas ao longo do substrato (Fig. 2.25c). Na segunda linha são exibidas imagens micrografias para o tempo de deposição de 60 segundos com ampliação de 50 k vezes. Como os materiais são transparentes

ao feixe eletrônico, é possível identificar a estrutura granular do substrato por baixo do material. Enquanto os depósitos de GT e GPSS podem ser facilmente identificados desde os menores tempos de deposição testados (segunda linha, $t_d = 60$ s), GS para essa ampliação é quase completamente transparente, sendo mais um indicativo que este material possui menor número de camadas quando comparado a seus pares. Não obstante, ainda é possível identificar que GT apresenta estrutura com maior rugosidade que GPSS, podendo também ser identificadas dobras ao longo das bordas do depósito formado, nítidas na Fig. 2.25a.

Figura 2. 25. Micrografias de microscopia eletrônica de varredura para amostras com diferentes tempos de deposição. As imagens na primeira coluna são de amostras em que foi depositado o material GT, na segunda coluna GPSS e GS na terceira coluna, utilizando o potencial de deposição de 4 V e dispersões na concentração de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$. Primeira e segunda linhas o tempo de deposição utilizado foi de 60 s a) e b) e 300 s em c). Na segunda linha o tempo de

deposição utilizado foi 60 s. Na terceira linha o tempo de deposição foi 300 segundos, na quarta e última linha constam imagens para o tempo de deposição de 3600 s.

Na terceira e quarta linhas da Fig. 2. 25 são exibidas micrografias para os tempos de deposição de 300 e 3600 segundos, respectivamente. Enquanto os depósitos de GT e GPSS (primeira e segunda colunas) permitem visualizar a estrutura granular do FTO sob o material igualmente para todos tempos de deposição caracterizados, GS fica cada vez mais fosco conforme o aumento do tempo de deposição, tampando completamente o substrato (FTO) para o maior tempo de deposição (Fig. 2. 25I). Embora não podemos tirar informações quantitativas sobre a quantidade de material depositado, GS é o único dos três materiais testados que parece continuar crescendo indefinidamente com o tempo de deposição, corroborando a discussão apresentada na secção precedente. Adicionalmente, na tentativa de determinar a altura dos depósitos formados, foram também feitas imagens laterais, fraturando a amostra e posicionando-a perpendicular ao feixe de elétrons, exibidas na Fig. 2. 26.

Figura 2. 26. Micrografias de microscopia eletrônica de varredura da fratura lateral de amostras com diferentes tempos de deposição. As imagens na primeira coluna são de amostras em que foi depositado o material GT, na segunda coluna GPSS e GS na terceira coluna, utilizando potencial de deposição igual a 4 V e dispersões na concentração de 0,1 mg.ml⁻¹. São exibidas imagens para o tempo de deposição de 60 s e 3600 s na primeira e segunda linha, respectivamente.

Na Fig. 2. 26 a primeira coluna são amostra em que foi depositado o material GT, GPSS na coluna do meio e GS na terceira coluna. Na primeira linha apresenta micrografias de amostras utilizando o tempo de deposição de 60 s, sendo a segunda linha imagens para o tempo de

deposição 3600 s. Apesar de ser encontradas predominantemente grandes aglomerados planos ao longo da superfície dos eletrodos (Fig. 2. 25), ao percorrer amostras dos materiais GT e GPSS ao longo do corte lateral possibilitou identificar também a presença de estruturas depositadas perpendicularmente ao plano do substrato (Fig. 2.22a-b e d-e). A espessura dos depósitos encontrados foram 1,37 μm e 1,54 μm para GT e para o material GPSS 500 nm e 4,33 μm , com os tempos de deposição de 60 e 3600 segundos, respectivamente. Cabe salientar ainda que a população de aglomerados encontrados ao longo da fratura foi baixa, não sendo encontrados para o tempo de deposição de 300 s. Para o material GS (terceira coluna), as estruturas gráficas encontradas estavam posicionadas predominantemente paralela ao FTO no menor tempo de deposição caracterizado, com a altura máxima igual a 558 nm (Fig. 2. 26c). Com o aumento do tempo de deposição a densidade dos aglomerados cresce, podendo até mesmo ser visualizados a olho nu (última amostra, coluna do meio da Fig. 2. 20b). Para o tempo de deposição igual a 3600 s foram encontradas nanofolhas depositadas sobre elas mesmas, sem se conectar ao substrato, formando grandes depósitos com orientações randômicas e altura máxima de 3,49 μm (Fig. 2. 26f).

As características morfológicas das amostras foram também investigadas utilizando a MFA. O menor tempo de deposição analisado foi de 60 segundos, e as imagens resultantes são exibidas na Fig. 2.27. Na primeira linha são imagens 2D em escalas de cores, e abaixo de cada uma, modelos em três dimensões. Na primeira coluna são imagens para o material GT, a coluna do meio GPSS, e na terceira coluna GS. Como pode ser observado da Fig. 2.27, para esse tempo de deposição, todas as amostras apresentaram depósitos com dimensões de aproximadamente 2 μm na maior direção, e alturas de 245 nm (Fig. 2.27a), 399 nm (Fig. 2.27b) e 584 nm (Fig. 2.27c) para GT, GPSS e GS, respectivamente. Essas imagens sugerem que GS se nucleou em mais pontos que os demais materiais, embora não podemos afirmar esse fato devido a imagem não representar a amostra como um todo. Além disso, a forma geométrica das imagens 3D formadas (Fig. 2.27d-f) faz parecer que as folhas dos materiais gráficas se nuclearam perpendicularmente (ou obliquamente) ao longo do filme de FTO.

Figura 2. 27. Imagens de microscopia de força atômica para amostras depositadas com o tempo de deposição de 60 segundos, potencial de 4 V e dispersões na concentração de 0,1 mg·ml⁻¹. Na primeira linha são imagens 2D onde a altura é dada pela escala de cores, e a segunda linha os respectivos modelos tridimensionais para depósitos do material GT (a-d), GPSS (b-e) e GS (c-f).

Um dos maiores desafios para se obter as imagens de MFA foi encontrar estruturas que nos permitíssemos identifica-las como o material depositado. Diferente da MEV que permite ter uma visão completa da superfície da amostra, identificar artefatos e fazer ampliações nas regiões de interesse, a ponta de prova do aparelho do MFA pode ser movimentada sobre o plano da amostra por uma distância limitada a partir dos controles via *software*, sendo posicionada inicialmente num ponto sobre a amostra pelo operador. Como sabemos que as estruturas depositadas podem ocupar regiões superficiais superiores a 40 μm (vide Fig. 2.25), o que faz com que seja difícil identificar se a ponta de prova está sobre um depósito ou sobre o substrato, isso porque a escala de trabalho do aparelho possibilita identificar a granulosidade do próprio FTO, e esta é muitas vezes semelhante ao do material depositado, fazendo com que seja mais fácil identificar depósitos com bordas salientes, como as exibidas na Fig. 2.27. Ainda assim, em muitas amostras foi possível identificar a presença de estruturas bidimensionais sobre os eletrodos modificados, que correspondem ao depósito de folhas de grafeno face-a-face com a superfície do FTO (Fig. 2.28). Na Fig. 2.28 na primeira linha são imagens 2D com altura em escalas de cores, e abaixo de cada uma, modelos em três dimensões. Na primeira coluna são imagens para o material GT, a coluna do meio GPSS, e na terceira coluna GS.

Figura 2. 28. Imagens de microscopia de força atômica. Na primeira linha são imagens 2D onde a altura é dada pela escala de cores, e a segunda linha os respectivos modelos tridimensionais para depósitos do material GT (a-d) para o tempo de deposição de 300 s, GPSS (b-e) e GS (c-f) para o tempo de deposição de 3600 segundos. Em todos os casos foi utilizado potencial de deposição igual a 4 V e dispersões na concentração de 0,1 mg·ml⁻¹.

Além de gerar imagens da topologia superficial da amostra com grande precisão, a MFA permite traçar medidas do perfil de altura ao longo das imagens geradas. Por esse motivo é uma técnica amplamente utilizada para estimar a quantidade de camadas de grafeno depositadas sobre um substrato. Camadas únicas de grafeno possuem teoricamente 0,34 nm de espessura, que é distância interlamelar do grafite. Apesar do valor medido para camadas únicas de grafeno ser ligeiramente superior devido a interação da ponta de prova com a nanoestrutura e a presença de heteroátomos, que podem se projetar do plano bidimensional, da segunda camada em diante o material aumentaria seu tamanho por esse valor à cada camada adicional, sendo, portanto, esse valor considerado para estimar o número das múltiplas que compõem o depósito. O valor aproximado das medidas de altura para amostras de cada material para os tempos de deposição de 60, 300 e 3600 segundos são mostrados na Tabela 2.3, juntamente com o valor estimado do número de folhas que compõem a estrutura. Como pode ser observado, GT e GPSS apresentaram depósitos com altura média de 210 nm e 256 nm, respectivamente, enquanto que o depósito do material GT cresce monotonicamente com o tempo de deposição. Adicionalmente, GS depositado por 3600 s (Fig. 2.27c) apresentou estruturas notavelmente planas, que parecem ser compostas por grande número de folhas paralelas. Foram traçadas as medidas pelos perfis representadas pelas linhas ao longo da (Fig. 2.27c). A estimativa é a presença de pelo menos

280 folhas adjacentes ao longo do segmento AB, 123 em CD e 10 folhas em GH (vermelho), 6 (verde) e 9 (azul). Além disso, embora o seguimento EF aparenta ser uma folha plana, há uma variação de altura da ordem de 30 nm ao longo do seguimento EF, indicando que essas estruturas se encontram obliquamente ao plano formando pelo filme de FTO.

Tabela 2. 3. Medidas das alturas das estruturas depositadas e número máximo de camadas.

Tempo de deposição (s)	Altura aproximada (nm)			Nº máx. de camadas		
	GT	GPSS	GS	GT	GPSS	GS
60	200	320	235	588	941	691
300	150	200	250	441	588	735
3600	280	250	1680	823	735	4941

O modelo cinético da deposição por eletroforese (Eq. 2.2) foi proposto inicialmente por Hamaker, a partir do princípio de conversão de massas, e é o método mais utilizado para se determinar uma relação entre altura do material depositado e o tempo de deposição. O modelo prevê que a massa depositada é função do tempo ($w(t)$), e tem uma relação direta com a mobilidade eletroforética (μ), a intensidade do campo (E), a área superficial do eletrodo (A) e a concentração do material particulado em suspensão (C_s) e um de fator de eficiência (f), usualmente $f \ll 1$, e incluído para se levar em consideração que nem todas as partículas que migrarem em direção ao eletrodo polarizada com carga oposta irá se depositar. Considerando que essas grandezas se mantêm constantes ao longo do processo de deposição, a Eq. 2.2 pode ser integrada em relação ao tempo, obtendo-se: ⁵⁹

$$w(t) = f\mu EAC_s\Delta t \quad (\text{Equação 2.12})$$

onde Δt é o tempo de deposição. A massa de material depositado pode então ser escrita em função da área do eletrodo (A) e da altura do material depositado (d), assumindo um valor para a densidade do material depositado (σ), obtém-se:

$$d(t) = \frac{f\mu EC_s\Delta t}{\sigma} \quad (\text{Equação 2.13})$$

Assim, combinando os valores de altura de depósitos determinados experimentalmente com a Eq. 2.13, é possível inferir o valor do parâmetro f , e estabelecer uma equação matemática capaz de relacionar a espessura do material depositado em função do tempo de deposição ($d(t)$). O valor do parâmetro “A” (área do eletrodo) não aparece na Eq. 2.13 pois esse modelo assume

que o material tenha se depositado na forma de um filme fino, e portanto, não é aplicável para o caso em estudo nessa tese. Ainda assim, apenas para fins comparativos aos resultados encontrados por Dina et al.⁸¹ ($f = 0,1$), foi calculado o valor de f (Eq. 2.14)² a partir dos valores da altura de GS medidos por MFA, da mobilidade eletroforética (μ_{GS} , Tabela 2.1), e da densidade fornecida pelo fabricante ($\sigma_{GS} = 1,8 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$):

$$f = \frac{m\sigma d'}{\mu_{GS}VC_s} = \frac{0,40 \cdot 1,8 \cdot 1}{2,28 \cdot 4 \cdot 0,1} = \frac{0,76}{0,91} = 0,79 \quad (\text{Equação 2.14})$$

na qual d' é a distância entre os eletrodos, V é o potencial de deposição e m o coeficiente angular obtido experimentalmente (Fig. 2.29a). A Fig. 2.29b mostra o vale formado numa região entre dois depósitos para o material GS depositado por 3600 segundos, e a Fig. 2.29d as medidas do perfil de altura encontradas por MFA. O valor de $f = 0,79$ encontrado, muito superior ao calculado pela ref.⁸¹, faz sentido, uma vez que a área superficial ocupada pelo depósito é inferior a área total do eletrodo Fig. 2.29c. Foi utilizado o *software* ImageJ para calcular o valor da área efetivamente ocupada pelo material ($0,751 \text{ mm}^2$) em relação a área total do substrato ($3,746 \text{ mm}^2$) mostrado na Fig. 2.29c. Com os valores calculados, pôde-se inferir que o material ocupa aproximadamente 20% do substrato. Levando em conta essas correções, o valor do fator de eficiência de deposição calculado foi $f = 0,16$, aproximadamente o mesmo valor encontrado na ref.⁸¹.

² As unidades utilizadas para o cálculo de f na Eq. 2.14 foram escolhidas de maneira a ser comparável com os resultados calculados pela ref.⁸¹

Figura 2. 29. Dados utilizados para estimativa do parâmetro f . a) Gráfico da altura do depósito em função do tempo de deposição, utilizado para determinar coeficiente angular (m). b) Imagem de microscopia de força atômica mostrando a região formada entre dois depósitos de GS. c) Imagem de microscopia de varredura ampliada 100 vezes. d) Variação de altura medida no segmento AB marcado na parte b).

2.5.5. Caracterização elétrica (pH-EGFET)

Ao se imergir o eletrodo de FTO em uma solução eletrolítica, irá se formar uma dupla camada elétrica na interface eletrodo solução. Os portadores de carga do eletrodo se acumulam na superfície do eletrodo, fazendo com que os íons da solução eletrolítica se distribuam de uma maneira a neutralizar essa carga superficial (Ψ_s). Como os íons possuem tamanho finito, um plano único de cargas não é suficiente para neutralizar a carga contida no eletrodo, dando origem a uma região com excesso de íons difusos na vizinhança da interface eletrodo-solução. Existe uma distância de aproximação máxima entre os íons e a superfície do eletrodo, chamada de OHP (do inglês para Outer Helmholtz Plane), que é delimitada pelo raio iônico acrescido das camadas de moléculas de água que formam no íon sua camada de solvatação. O potencial de superfície decorrente dessas interações é conhecido como a dupla camada elétrica de Gouy-Chapman-Stern, e é um efeito decorrente das interações eletrostáticas entre o eletrodo e solução, que contribui com valor do potencial medido pelo circuito eletrônico (Ψ_0), mas não leva

em conta as reações químicas que podem ocorrer na interface. Como é necessário uma grande quantidade de energia para liberar os íons de sua camada de solvatação, apenas moléculas de solvente podem transpassar o OHP. Dessa forma, os únicos íons que podem entrar em contato diretamente com a superfície do eletrodo, na região conhecida como IHP (sigla do inglês para Inner Helmholtz Plane), e fazer ligações químicas com a superfície são prótons (H^+) ou hidroxilas (OH^-), por não possuírem camada de solvatação.

Na superfície de óxidos como o FTO, grande parte das ligações estão incompletas, que em condições ambiente são preenchidas com hidroxilas, dando origem as propriedades anfóteras deste material, isto é, a possibilidade do material se comportar como ácido ou como base (doar ao aceitar prótons):

A densidade da carga superficial do eletrodo de FTO é determinada pelo balanceio entre os sítios ativos protonados e desprotonados, dados pelas Eq. 2.15 e 2.16, que dependem da densidade de sítios de ligação (número de grupos anfóteros) disponíveis e do pH da solução, que determina a quantidade de íons H^+ disponíveis no meio. Ao modificar os eletrodos de FTO com os materiais grafênicos, devido a sua grande área específica e a presença dos grupamentos funcionais oxigenados, estamos aumentando artificialmente a quantidade de sítios ativos da estrutura inicial. Sabidamente, há pelo menos dois grupos funcionais nesses nanomateriais que podem se apresentar protonados ou desprotonados, sendo eles hidroxilas (Eq. 2.17 e 2.18) e ácidos carboxílicos (Eq. 2.19 e 2.20).

Pudemos acompanhar analiticamente a variação do potencial na superfície do filme e o efeito da inserção das estruturas grafênicas utilizando solução eletrolíticas com pHs variando do

2 ao 12. Na Fig. 2.30 são mostradas curvas da diferença de potencial medida entre a superfície do eletrodo de FTO modificado e o eletrodo de referência em função do tempo, para uma amostra representativa de cada um dos três materiais testados. Como pode ser observado da Fig. 2.30, a adsorção de íons H^+ na estrutura do filme tem efeito análogo a aplicar um potencial equivalente com o eletrodo de referência. O potencial medido na superfície dos filmes é tão maior quando menor o pH do meio, ou seja, diretamente proporcional a disponibilidade de íons hidrogênio no ambiente.

Figura 2. 30. Variação de potencial medida em função do tempo para GT para tempo de deposição 180 segundos em a), GPSS para o tempo de deposição 300 segundos em b) e GS para o tempo de deposição de 120 segundos. Todas amostras foram depositadas utilizando potencial de 4 V e suspensões na concentração de $0,1 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$, utilizando soluções tampão do pH 2 ($t = 0$) a 12 ($t = 600 \text{ s}$) em ordem crescente.

Para avaliação quantitativa do desempenho dos eletrodos modificados com os materiais gráfenicos, foram traçadas curvas analíticas para cada amostra, tomando-se como parâmetro o valor médio calculado sobre os últimos 30 segundos da medida realizada para cada valor de pH. Inicialmente foram testados pHs do 2 ao 12, no entanto, foram utilizadas soluções tampões com diferente composição para ser possível obter todos valores de pH utilizados. A Fig. 2.31 mostra as curvas analíticas obtidas para o material GT para os diferentes tempos de deposição testados, 30 (Fig. 2.31a), 60 (Fig. 2.31b), 120 (Fig. 2.31c), 180(Fig. 2.31d) e 300(Fig. 2.31e) segundos, e os valores de sensibilidades obtidos em função do tempo de deposição (Fig. 2.31f). Analogamente, nas Fig. 2.32 e Fig. 2.33 são exibidos gráficos equivalentes para os materiais GPSS e GS, respectivamente.

Figura 2. 31. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GT depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampões com composições variadas. pHs 2 a 7: ácido cítrico/fosfato de sódio bibásico. pHs 8 a 10: ácido bórico, cloreto de potássio e hidróxido de sódio. pHs 11 e 12: fosfato de sódio bibásico/hidróxido de sódio. f) Valores de sensibilidade dados pelos ajustes lineares.

Ao analisarmos os dados obtidos, a primeira característica que pôde ser observada das curvas analíticas para GT (Fig. 2.31) é a presença de dois regimes de funcionamento com características distintas, sendo um regime para pHs variando de 2 a 8 (Fig. 2.31a-d), e se estendendo até o pH 9 (Fig. 2.31e), sendo esses associados a protonação dos grupos funcionais (Eqs. 2.15, 2.17 e 2.19). No segundo regime, esse associado a desprotonação (Eqs. 2.16, 2.18 e 2.20), sendo encontrado para valores de pHs mais básicos, variando do pH 8 ao 12 (exceto

para o tempo de deposição de 300 segundos (Fig. 2. 31e), para o qual o dispositivo não apresentou padrão na variação de resposta). Para ambos modos de operação o sensor apresentou sensibilidade maior para os menores tempo de deposição, com valor máximo de 69 $\text{mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ na região mais ácida e sensibilidade de 24 $\text{mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ na região mais básica.

Figura 2. 32. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GPSS depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampões com composições variadas. pHs 2 a 7: ácido cítrico/fosfato de sódio bibásico. pHs 8 a 10: ácido bórico, cloreto de potássio e hidróxido de sódio. pHs 11 e 12: fosfato de sódio bibásico/hidróxido de sódio. f) Mostra o valor de sensibilidade dados pelos ajustes lineares.

O material GPSS apresentou maior sensibilidade para o menor tempo de deposição ($t_d = 30\text{s}$, Fig. 2.32a), no entanto, a linearidade encontrada para esse tempo de deposição se

encontra contida entre os pHs 2 a 7. Para os demais tempos de deposição, a sensibilidade cai ligeiramente, passando de $57 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ para $t_d = 60 \text{ s}$ (Fig. 2.32b) e atingindo o menor valor, com sensibilidade $53 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$, para o $t_d = 300 \text{ s}$ (Fig. 2.32e). No entanto, para os tempos de deposição maiores que 30 segundos, a linearidade difere da apresentada para o $t_d = 30 \text{ s}$, atingindo ajustes R^2 aceitáveis na região contida entre os pHs 2 a 10.

Figura 2. 33. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GS depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampões com composições variadas. pHs 2 a 7: ácido cítrico/fosfato de sódio bibásico. pHs 8 a 10: ácido bórico, cloreto de potássio e hidróxido de sódio. pHs 11 e 12: fosfato de sódio bibásico/hidróxido de sódio. f) Mostra o valor de sensibilidade dados pelos ajustes lineares.

O material GS também apresentou dois regimes de funcionamento com sensibilidades distintas, exibindo o pior desempenho para o menor tempo de deposição em ambos modos de operação, com cada região linear distinta variando em apenas 5 unidades de pH (Fig. 2.33a). Para os demais tempos de deposição, a linearidade do primeiro regime passa a se estender do pH 2 ao 9 (Fig. 2.33b-e), exibindo sensibilidade máxima de $75 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ (pHs 2 a 9) e $32 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ (pH 8 a 12) para $t_d = 60$ segundos (Fig. 2.33b). No entanto, uma característica que chamou a atenção no conjunto de experimentos apresentados nas Figs. 2.30 a 2.33 foram as mudanças de variação de resposta dos sensores conforme a alteração de composição do tampão, que se tornam evidente nos primeiros valores de pH com composições distintas, isto é, pHs 8 e 11, onde começam a ser utilizados os tampões composto por ácido bórico (pHs 8 ao 10) e tampão de Ringer (pHs 11 e 12). Adicionalmente, o efeito da variação amostral, na maioria dos casos se mostrou superior a variação proporcionada pela alteração da solução tampão, permitindo ser obtidos, em muitos dos casos dos acima apresentados, coeficientes lineares com R^2 acima de 95% para intervalos de pHs que se estendem por mais de uma composição de solução tampão. Não obstante, são obtidos valores para sensibilidade ainda melhores ao se realizar o ajuste linear para valores contidos entre os pHs 2 a 7 (tampão McIlvaine). Para não poluir demasiadamente as figuras, o ajuste linear entre os pHs 2 a 7 é exibido apenas na Fig. 2.32 (linhas segmentadas).

Assim, para uma avaliação mais confiável para uma ampla faixa de pH, foram realizados novos experimentos equivalentes aos anteriores, mas dessa vez utilizando apenas tampão fosfato. O ácido fosfórico (H_3PO_4) é um composto monovalente que pode ter seus hidrogênios substituídos gradualmente, de maneira a apresentar três pK_a s distintos: 2,15 ($\text{H}_3\text{H}_3\text{PO}_4 \rightleftharpoons \text{NaH}_2\text{PO}_4$), 7,1 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \rightleftharpoons \text{Na}_2\text{HPO}_4$) e 12,4 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \rightleftharpoons \text{Na}_3\text{PO}_4$), podendo, portanto, ser utilizado para soluções tamponadas em uma ampla faixa de pH. Além disso, para minimizar alterações advindas das variações da força iônica do meio, esta foi normalizada artificialmente com o uso de uma solução tampão a concentração de 10 mM contendo 0,1 M de NaCl na proporção (1:10). Os resultados obtidos são exibidos nas Figs. 2.34, 2.35 e 2.36.

Figura 2. 34. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GT depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampão fosfato. f) Valores de sensibilidade dados pelos ajustes lineares.

Utilizar tampão fosfato para caracterização dos eletrodos de FTO o material GT não resultou em grande modificação dos valores para sensibilidade encontrados anteriormente. Os dados das Figs. 2.34 e 2.31 exibem o mesmo padrão de comportamento, com dois regimes distintos de funcionamento. O primeiro, contido entre os pHs 2 a 8, apresentou o mesmo valor de sensibilidade ($67 \text{ mV} \cdot \text{pH}^{-1}$), no entanto, com o uso de tampão fosfato a diminuição da sensibilidade com o aumento do tempo de deposição foi menos acentuada nesse intervalo de pHs. Não obstante, a sensibilidade obtida para o regime de funcionamento na região contida

entre os pHs 8 a 12 exibiu um pequeno aumento com o aumento do tempo de deposição, passando de $23 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ para o $t_d = 30 \text{ s}$, atingindo $28 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ para o $t_d = 300 \text{ s}$.

Figura 2. 35. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GPSS depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampão fosfato. f) Valores de sensibilidade dados pelos ajustes lineares.

A caracterização do GPSS utilizando tampão fosfato resultou em dados mais consistentes que ao utilizar os tampões de composições variadas, exibindo linearidade consistente entre os pHs 2 a 10 para todos tempos de deposição exibidos na Fig. 2.35. Além disso, o valor máximo de sensibilidade obtido de $57 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ se iguala ao valor encontrado na

Fig. 2.32 para o mesmo intervalo de linearidade, e decresce monotonicamente com o aumento do tempo de deposição.

Figura 2. 36. Curvas analíticas para eletrodos FTO modificados com o material GS depositados por 30 (a), 60 (b), 120 (c), 180 (d) e 300 segundos (e) em resposta a exposição a tampão fosfato. f) Valores de sensibilidade dados pelos ajustes lineares.

O material GS foi o que apresentou maior diferença quanto a composição do tampão. Ao se utilizar tampões com composições variadas (Fig. 2.34), sensores feitos a partir de qualquer tempo de deposição apresentaram dois regimes distintos, com duas sensibilidades. Ao repetir os experimentos utilizando apenas tampão fosfato, apenas o menor tempo de deposição ($T_d = 30$ s) apresentou tal comportamento, sendo que para tempos de deposição maiores que 30

segundos os sensores apresentaram uma faixa linear de trabalho que se estende do pH 2 ao 10 (Figs. 3.36b-c) ou do pH 2 ao 12 (Fig. 3.36d-e). O valor de sensibilidade máxima obtida foi de 62 $\text{mV}\cdot\text{pH}^{-1}$, e se deu para o menor tempo de deposição, decrescendo monotonicamente com o aumento do tempo de deposição.

2.5.6. Discussões finais

Neste ponto, acreditamos ser pertinente um apanhado geral dos resultados obtidos ao longo das seções desse capítulo, juntamente com algumas considerações finais. GT foi o material que apresentou maior quantidade de grupamentos funcionais, sendo, portanto, o menos condutor entre os materiais utilizados. A corrente medida durante o processo de deposição decaiu exponencialmente, sendo que 73% dessa atenuação se deu nos primeiros 30 segundos de deposição. Embora a carga depositada aumente linearmente em função do tempo de deposição, a luminância dos eletrodos modificados por esse material se mantém inalterada, e as medidas de MEV e MFA não sugerem que houve aumento da quantidade de material depositado aumentando o tempo de deposição. Apresentou sensibilidade máxima de 67 $\text{mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ para o menor tempo de deposição, quando utilizados os tampões de composição mista e tampão fosfato na região contida entre os pHs 2 a 8, e sensibilidade de 74 $\text{mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ utilizando apenas tampão citrato/fosfato (pH 2 a 7). Apresentou sistematicamente dois regimes de funcionamento, enquanto a sensibilidade no primeiro regime (contido entre os pHs 2 a 9) decai, a segunda região apresenta uma pequena melhora, chegando a 28 $\text{mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ para tampão fosfato (Fig. 3.34).

Dentro os materiais grafênicos estudados, GPSS foi o que apresentou quantidade intermediária de grupamentos funcionais. Esse material foi obtido através da redução química de GT com hidrazina, que restabelece parte dos domínios sp^2 através da remoção de grupamentos epóxi introduzidos durante o processo de oxidação. A corrente medida durante o processo de deposição é praticamente constante ao longo do tempo, sendo essa uma característica condizente com o depósito de um material condutor. O valor da luminância tende a cair com o aumento do tempo de deposição, mas os dados levantados através de técnicas de microscopia não foram suficientes para confirmar o aumento dos depósitos em função do tempo de deposição. Foi o material que apresentou consistentemente a maior janela de trabalho, do pH 2 ao 10 (exceto para Fig. 2.32a). Para ambos tampões testados, os maiores valores de

sensibilidade foram obtidos para o menor tempo de deposição, sendo igual a $77 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ para tampão citrato/fosfato e $57 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ para o tampão fosfato.

O material GS é o que possui a menor quantidade de grupamentos funcionais, sendo o que mantém a estrutura do grafeno mais preservada entre os materiais testados. Assim como para GPSS, a corrente medida durante o processo de deposição permanece constante, independentemente do tempo de deposição utilizado, tendo a carga depositada comportamento linear em função do tempo de deposição. A luminância do material decresceu monotonicamente com o tempo de deposição, sugerindo o aumento das dimensões do depósito com o tempo de deposição, também constatados pelas técnicas de microscopia. Foi obtida sensibilidade máxima para $t_d = 60 \text{ s}$ e dois regimes distintos utilizando o tampão misto, com valor máximo de $75 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ e linearidade entre os pHs 2 a 9, e sensibilidade de $84 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ quando considerado apenas os valores de pH obtidos com tampão citrato/fosfato (pHs 2 a 7). Quando utilizado soluções tampão apenas com fosfato, o sensor apresentou um único regime de funcionamento, e sensibilidade máxima de $62 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ para o menor tempo de deposição.

Como pôde ser observado, o desempenho dos eletrodos de FTO modificados com estruturas grafênicas variam conforme a composição das soluções eletrolíticas empregadas, de maneira que pode ser escolhida obter uma melhor diferenciação entre pHs (maior sensibilidade) à custa da diminuição da janela de trabalho do dispositivo. No apêndice A, são apresentadas tabelas com os valores de sensibilidade, erro, ajuste linear e janela em que foi obtido a linearidade para todos os casos. Para o tampão fosfato (Fig. 2.37c), em que pôde ser testado uma ampla faixa de pH, o material que apresentou a maior sensibilidade (GT) foi aquele que apresentou maior quantidade de grupamento funcionais, no entanto, a faixa de operação nesse tampão com essa sensibilidade se estende somente até ao pH 8. Apesar da sensibilidade obtida com tampão fosfato para os outros materiais (GPSS e GS) ser mais baixa, esses materiais apresentam uma faixa mais ampla de trabalho. Curiosamente, ao utilizar o tampão citrato/fosfato, cujo o valor máximo de pH que pode ser obtido é 8, o material com menos grupos funcionais (GS) foi aquele que apresentou o maior valor de sensibilidade, o que salienta o quanto a composição do tampão influencia nos resultados observados.

Não obstante, a sensibilidade obtida para eletrodos de FTO não modificados foi de 54 e $15 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ para os regimes nas regiões ácida e básica, respectivamente, quando utilizado

tampão fosfato (pHs 2 a 12, Fig. 2.37a), e o valor de $58 \text{ mV}\cdot\text{pH}^{-1}$ quando utilizado tampão citrato/fosfato (pHs 2 a 8, Fig. 2.37b), o que mostra que independente do tampão escolhido, a modificação dos eletrodos de FTO com qualquer uma das nanoestruturas empregadas levou ao aumento da sensibilidade, além da modificação da janela de trabalho do dispositivo no caso do uso de tampão fosfato. Atribuímos essa melhora ao aumento da área efetiva e densidade de grupamentos funcionais propiciados pela incorporação das nanoestruturas nos eletrodos de FTO.

Figura 2. 37. Curvas analíticas de eletrodos de FTO não modificados. a) FTO exposto a tampões fosfato com pHs entre 2 a 12. b) FTO exposto a tampão citrato/fosfato entre os pHs 2 a 8. c) Valores das sensibilidades obtidas para eletrodos modificados de FTO com os três materiais grafênicos em função do tempo de deposição em escala monolog.

Um fato notável foi a diminuição da sensibilidade a íons dos eletrodos modificados em função do aumento do tempo de deposição, aferido em todos os cenários testados (Fig. 2.37c). Como discutido nas seções iniciais desse trabalho, os parâmetros de deposição empregados foram escolhidos em acordo com os dados disponíveis na literatura de maneira a minimizar a redução de GO à rGO durante o processo de deposição. O decréscimo da sensibilidade com o aumento do tempo de deposição indica que o caso estudado difere do sugerido na literatura, ao menos para os materiais GT e GPSS. O uso de dispersões diluídas e baixos potenciais de deposição não foram suficientes para minimizar as reações eletródicas capazes de eliminar os grupos funcionais oxigenados, que são os responsáveis pela capacidade de adsorção dos íons de interesse à estrutura do material. Os dados da caracterização elétrica dos eletrodos de FTO em que se foram depositados os materiais grafênicos por 3600 segundos corroboram essa ideia. Os materiais GT e GPSS, quais não foram verificados experimentalmente o aumento dos depósitos com o tempo de deposição, apresentaram 42% e 37% da sensibilidade máxima, respectivamente, ao passo que o material em que se verificou o aumento contínuo com o tempo

de deposição (GS), atinge um valor mínimo de sensibilidade constante para o tempo de deposição de 180 segundos (Fig. 2.37c).

2.6. Conclusões do capítulo

Neste capítulo demonstramos como materiais grafênicos com diferentes características iniciais foram integrados a eletrodos de FTO por meio da técnica de deposição por eletroforese. Para curtos períodos de deposição, esses nanomateriais têm a capacidade de aumentar a área efetiva e a quantidade de sítios ativos disponíveis a ser protonados, ao passo que manter o processo de deposição por longos períodos levam a diminuição da sensibilidade, podendo atingir valores até mesmo menores que do eletrodo não modificado. Além disso, os valores de sensibilidade registrados dependem da composição do tampão utilizado, sendo que o aumento máximo observado na sensibilidade foi de 24%, 5% e 15% para eletrodos modificados com GT, GPSS e GS, respectivamente, quando utilizado tampão fosfato, e 28%, 33% e 45% quando utilizando tampão citrato/fosfato.

Capítulo 3

Neste capítulo são apresentados parte dos resultados obtidos durante o período de estágio sanduíche realizado sobre a supervisão do Prof. Dr. Alexander Star junto ao Departamento de Química da University of Pittsburgh, em Pittsburgh – EUA. A ideia desenvolvida foi a construção de um arranjo de sensores capaz de fazer a distinção entre uma variedade de populações celulares. Aqui, apresentamos junto a uma introdução mais bem detalhada os resultados que encontram-se publicados na revista *ACS Sensors* com o título “*Nanoelectronic discrimination of non-malignant and malignant cells*”, referência de número ⁸⁶ deste trabalho.

3.1. Introdução – Os nanotubos de carbono e seus dispositivos

Os nanotubos de carbono podem ser pensados como uma folha de grafeno enrolada formando um cilindro de apenas alguns nanômetros de diâmetro, mas com comprimentos podendo atingir centenas de micrômetros, sendo considerado, portanto, uma forma alotrópica do carbono unidimensional (1D). Se o tubo for formado por apenas uma camada de grafeno, diz-se um SWCNT (do inglês, *Single Walled-Carbon Nanotube*) (Fig. 3.1a-c). Caso a estrutura formada possua diversos tubos concêntricos, diz-se tratar de um MWCNT (do inglês, *Multi-Walled Carbon Nanotube*) (Fig. 3.1d). Após o descobrimento dos nanotubos em 1991 ⁹, o comprimento da ordem de micrômetros e alta condutividade atraíram a atenção da comunidade científica pela possibilidade em utilizá-los como componentes unidimensionais em uma nova geração de dispositivos eletrônicos. ⁸⁷

Figura 3. 1. Tipo de CNTs e suas características estruturais. a, b e c, são considerados nanotubos de paredes simples (SWCNT). a) é um dito nanotubo quiral (qualquer um com $n \neq m$), b) ilustra um SWCNT do tipo zigzag ($m=0$), e em c) trata-se de SWCNT armchair ($n=m$). d) Representação esquemática de um nanotubo de paredes múltiplas (MWCNT). e) ilustra como uma folha de grafeno deve ser enrolando para se obter os diferentes tipos de nanotubos. Imagem modificado da ref. ⁸⁸

As propriedades elétricas dos CNTs (do inglês, *Carbon Nanotubes*) dependem da maneira como a folha de grafeno foi enrolada, se as bordas se encaixam perfeitamente ou se elas se fecham formando algum ângulo particular. Como visto anteriormente, cada átomo de carbono de uma folha de grafeno está ligado a outros três átomos vizinhos por meio de ligações sigma, e o quarto elétron se projeta ortogonalmente em orbitais π . O grau de sobreposição entre os orbitais π de um CNT depende do ângulo formado entre dois vetores (na_1, ma_2), através dos quais se derivam um par de índices quirais (n,m), que ditam as características elétricas do nanotubo. Os SWCNT podem ser agrupados em três tipos, zigue-zague (Fig. 3.1.b) se $m = 0$, dando origem a nanotubos de índices do tipo $(n,0)$; armchair (Fig. 3.1.c) se $n = m$, dando origem a nanotubos do tipo (n,n) ; Todos os outros são chamados nanotubos quirais (Fig. 3.1.a). Se $n - m = 0$ ou $n - m = 3k$, onde $(k \in \mathbb{Z})$, o SWCNT é metálico, assim como todos MWCNTs. Todas as

outras combinações de valores de n e m dão origem a nanotubos semicondutores. Com o avanço proporcionado pela intensa pesquisa nessa área ao longo das últimas duas décadas, hoje em dia existem diversas empresas especializadas na comercialização de CNTs com alto grau de pureza e preços acessíveis. Os métodos mais comuns de síntese são por descarga em arco elétrico, ablação a laser ou CVD, que dão origem a uma mistura contendo um terço de SWCNT metálicos e dois terços de semicondutores.^{89,90}

Os SWCNTs são extremamente sensíveis às variações das condições do ambiente local, uma vez que grande parte de seus átomos constituintes estão posicionados na superfície do tubo, característica que combinada as dimensões moleculares de seu diâmetro, e a possibilidade de serem integrados a componentes eletrônicos da indústria de semicondutores contemporânea, fazem dos CNTs uma plataforma única para estudar sistemas eletroquímicos.⁹¹ Esse tipo de dispositivo é construído posicionando um CNT isolado ou uma malha de nanotubos entrelaçados (CNT *network*), conectando dois terminais metálicos depositados sobre um substrato isolante. (Fig. 3. 2a). O uso de uma rede de nanotubos permite múltiplos caminhos para que a corrente consiga atravessar a estrutura, tornando o dispositivo seja mais suscetível a defeitos quando comparado a um sensor feito com um único SWCNT. Nesse tipo de dispositivo, a corrente é monitorada entre os dois terminais metálicos (Fig. 3. 2a), mantendo-se uma diferença de potencial (V_{DS}) entre eles constante. Um segundo potencial, equivalente ao potencial de porta (V_g), é aplicado através de um eletrodo de referência externo, que modula a condutância do dispositivo. A similaridade de operação desses dispositivos com MOSFETs (ou ISFETs) os levou a ser chamados de NTFET (do inglês, *Nanotube Field Effect Transistor*).⁹²

Figura 3. 2. Representação esquemática ilustração como é ligado um NTFET a). Curva característica b).

Em condições ambientes, os SWNTs têm parte de sua densidade eletrônica sequestrada devido a adsorção de moléculas de oxigênio (O_2), tornando parte da banda de valência desocupada. Por esse motivo, SWCNTs apresentam características de semicondutores tipo p, isto é, os portadores majoritários de carga são buracos ao invés de elétrons, e apresentam condutância mais intensa quando é aplicado um potencial negativo do que quando o mesmo valor (em módulo) positivo é aplicado (Fig. 3. 2b). No caso de SWCNT metálicos, eles têm seus gaps de energia abertos devido a presença de defeitos na estrutura do tubo. Devido a diferença do valor da função trabalho entre os materiais, ao se colocar um SWNT em contato com um metal, seus níveis de Fermi irão entrar em equilíbrio, deslocando a banda de valência na região da interface para energias mais baixas. Parte da densidade eletrônica do metal é transferida para o nanotubos recombinaando com parte das lacunas na interface, dando origem a uma barreira de Shocctky.⁹³ Num experimento típico com NTFETs, a condutância (G) do dispositivo é monitorada em função da tensão aplicada pelo eletrodo de referência (V_g), e a resposta de saída do dispositivo ($G \times V_g$) é chamada de curva de transferência (Fig. 3. 2b). Aplicar um potencial $V_g < 0$ diminui a diferença de energia entre a banda de valência e o nível de Fermi, assim como o valor da barreira Shocctky, tornando mais fácil o tunelamento de buracos pela interface metal-CNT, observada empiricamente através do aumentando da condutância resultante na curva de transferência do dispositivo (Fig. 3. 2b).⁹⁴

Figura 3. 3. Diagramas de bandas de energia da junção entre SWCNT e um metal. a) enquanto os materiais estão separados por uma distância X . b) Após estabelecer contato entre os materiais. Modificado da Ref.⁹⁷.

Expor o NTFET a espécimes químicas causará a alteração nas características da curva de transferência do dispositivo, e é explorando esse fenômeno que podem ser construídos

sensores com esse tipo de dispositivo. Por exemplo, fazer a rede de nanotubos de carbono entrar em contato com um composto que seja doador de elétrons promoverá o deslocamento da curva $G \times V_g$ para valores mais negativos. A adição de densidade eletrônica preencheria parte das lacunas da banda de valência, diminuindo a densidade desses portadores de carga, e resultando num menor valor de condutância para determinado V_g arbitrário. Alternativamente, pode-se pensar o fenômeno da adição de densidade eletrônica ao SWNT como um potencial análogo ao aplicado com o eletrodo de referência (equivalente $V_g > 0$), aumentando a barreira de Shocktt e, conseqüentemente, diminuindo a condutância observada no dispositivo. Esse fenômeno é ilustrado na figura 3.4, que mostra os resultados obtidos ao expor um NTFET a NH_3 (molécula doadora de densidade eletrônica) e a NO_2 (molécula sequestradora de densidade eletrônica).⁹⁵

96

Figura 3. 4. Curvas de transferências resultantes a expor um NTFET transistor a gás composto por moléculas doadoras de densidade eletrônica (NH_3), sequestradoras de densidade eletrônica (NO_2) e inertes (N_2). Modificado da Ref.⁹⁷.

Os dispositivos NTFET são extremamente sensíveis a variações no ambiente local, e nas curvas de transferência há uma vasta gama de informações úteis para analisar o mecanismo de interação entre SWCNT e biomoléculas. No entanto, a maior parte dos sensores embasados em NTFETs são desenvolvidos tornando o dispositivo extremamente específico a uma interação alvo, a um único analito em particular, enquanto interações não-específicas são bloqueadas ou mesmo desprezadas. A especificidade pode ser conferida ao dispositivo através da

funcionalização do SWCNT com glicanos, peptídeos, proteínas, ácidos nucleicos (ssDNAs ou mRNAs) ou biomarcadores (Fig. 3.5a e c),^{98–102}. Após a funcionalização, o dispositivo é exposto ao analito alvo, e, normalmente, a variação da condutância em relação a um valor de V_g particular, ou a variação total de condutância, é tomado como parâmetro de funcionamento (Fig. 3.5b e d).

Figura 3. 5. Ilustração esquemática e curvas características de exemplos de sensores embasados em NTFETs que utilizam como parâmetro de funcionamento o valor de condutância a um valor particular de V_g . a) Diagrama esquemático de NTFET funcionalizado com um glicano e sensível a lectina. b) Curvas de transferência obtidas ao se expor o dispositivos a diferentes concentração de β -d-galactose, e a ampliação mostra a curva analítica. c) Diagrama ilustrativo mostrando outras possibilidade de funcionalização de NTFET, a seta representando um anticorpo, seguida por um DNA e uma proteína. d) Curvas de transferência obtidas ao expor NTFET funcionalizados com ssDNA a sua fita de DNA complementar, a ampliação mostra as curvas analíticas obtidas. a) e b) modificados da ref. ⁹⁸. c) modificado da ref. ¹⁰³. d) modificado da ref. ¹⁰¹.

3.1.1. O conceito de língua eletrônica

O conceito de língua eletrônica surgiu a partir da ideia de mimetizar a capacidade gustatória humana de classificar os elementos a partir de padrões específicos de respostas resultante da combinação do conjunto de sabores básicos (doce, azedo, amargo, ácido e umami) e o odor dos alimentos. Os alimentos fazem com que as papilas gustativas de nossas línguas sejam estimuladas, produzindo um padrão de características particular. O cérebro humano tem

a capacidade única de codificar os padrões de resposta gerados pelo sistema gustativo como uma impressão digital, em que guarda todas as características do que foi experimentado. Corriqueiramente, ao nos alimentarmos somos capazes de identificar os alimentos através do reconhecimento e assimilação pelo cérebro dos padrões armazenados na memória formada pelo que já experimentamos ao longo da vida. Podemos reproduzir de maneira simplificada um resultado semelhante combinando informações obtidas através de um conjunto de sensores eletrônicos e técnicas de aprendizagem autônoma.¹⁰⁴ Este método já se mostrou eficaz para classificar os sabores básicos a percepção humana e uma vasta gama de produtos alimentícios, como uvas, vinhos, cafés, tipos de mel, marcas de águas e refrigerantes, e até mesmo gases explosivos.^{105–111}

O conjunto de sensores das línguas eletrônicas necessita ser formado por unidades não seletivas que exibam sensibilidade cruzada aos componentes a serem classificados. Isso significa que não é possível obter informações quantitativas a respeito de um único elemento específico a ser analisado. Assim, se faz necessário uma correção quanto a nomenclatura utilizada. Segundo a IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada), um sensor é uma ferramenta analítica capaz de captar determinado sinal físico-químico e fornecer informação quantitativa a respeito de um analito em particular, ou da composição total do meio, por meio de um sinal elétrico. Portanto, deixaremos de nos referir a esses componentes como sensores, e passaremos a chamá-los de dispositivos.¹¹² Dispositivos embasados em diferentes princípios já foram utilizados na construção de línguas eletrônicas, dentre elas podemos destacar o uso medidas potenciométricas (OCP) a partir de diferentes eletrodos metálicos, sensores impedimétricos (EIS) de filmes finos automontados (Langmuir-Blodgett) de polímeros semicondutores, membranas de corantes solvatocrômicos em capacitores interdigitados, entre outros.^{105,113–115} A ideia chave nesses estudos é que ao se expor o conjunto de sensores a um determinado analito, cada unidade produzirá uma resposta ligeiramente diferente dos demais, compondo um padrão de resposta particular à exposição aquele composto.

Os dados gerados pelo conjunto de dispositivos em resposta ao analitos testados e suas respectivas replicatas são armazenados em uma matriz de dados, chama de matriz de treinamento. Métodos computacionais de aprendizagem autônoma, como a regressão logística, análise de componentes principais, análise de discriminantes lineares ou redes neurais artificiais,

podem ser utilizados para classificar os componentes testados em categorias, baseadas nos padrões de respostas formados pelos dados armazenados na matriz de treinamento. Assim, as respostas obtidas como saídas dos dispositivos em si, sem nenhum tratamento, não são úteis para obter informação sobre a amostra testada, mas o padrão da variação da resposta formado combinando a saída de todos os dispositivos do conjunto é suficiente para classificar as amostras em categorias, bem como alocar novas amostras na categoria correta.^{116,117}

Figura 3. 6. Diagrama esquemático ilustrando o conceito de língua eletrônica. a) Um conjunto de sensores não seletivos são expostos aos compostos que se deseja classificar (B16, 3LL e EL4) obtendo-se um padrão de resposta característico para o analito em questão b) Os dados obtidos pelo arranjo de sensores são organizados em uma matriz de treinamento. c) Um algoritmo de aprendizagem autônoma é utilizado para identificar os padrões de respostas obtidos, fazendo a diferenciação entre os compostos analisados.

3.1.2. Distinção entre populações celulares com NTFETs

Uma população celular é determinada por um grupo de características moleculares em comum, decorrentes dos genes ativos e seus respectivos metabólitos, assim como outros compostos orgânicos sintetizados pelas próprias células, que dão origem uma “assinatura molecular” única baseada no estado de diferenciação celular.¹¹⁸ Embora possa ser fácil distinguir entre células de tecidos distintos, a discrepância entre células saudáveis e com câncer pode ser tênue. Essa tarefa normalmente é realizada através da utilização de marcadores biológicos de componentes intracelulares, como DNAs, RNAs ou proteínas, ou extracelulares, como exossomas, glicanos ou microRNAs, seguido de análise histopatológica, bioimagem ou ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*).

A detecção de um tipo celular específico utilizando NTFET ou qualquer sensor eletroquímico usualmente exige o prévio conhecimento do tipo celular em questão, a

identificação de um ou mais componentes de membrana, proteínas, antígenos, ou ácido nucleico pelo qual a célula possa ser identificada. O dispositivo NTFET é então funcionalizado, comumente com um ácido nucleico ou aptâmero relacionado ao componente já conhecido, e se monitora o valor de condutância G em relação a um V_g fixo como parâmetro de funcionamento do dispositivo.^{118–121} No entanto, apesar dessa metodologia ser funcional, ela é baseada em uma simplificação artificial do mecanismo de sensoriamento. Drekker e colaboradores já demonstraram a contribuição de quatro mudanças distintas nas curvas de transferência de dispositivos NTFETs associadas a mecanismos de sensoriamento com NTFETs distintos (Fig. 3.7).

Figura 3. 7. Diagrama ilustrativo de curvas da corrente (I_{DS}) em função do potencial aplicado com o eletrodo de referência (V_{GS}) calculadas para quatro mecanismos distintos associados ao biossensoriamento com NTFETs. a) Efeito de uma mudança de 50 mV do potencial aplicado (V_{GS}). b) Variação da barreira Schottky formada devido ao aumento de 30 meV na diferença de função trabalho entre o metal e o SWCNT. c) Mudança provocada pela variação de capacitância causada pelo recobrimento de 90% do SWCNT por uma proteína. d) Mudança acarretada por uma diminuição de apenas 2% na mobilidade dos portadores de cargas. Modificado da ref.¹²²

Se um dispositivo eletroquímico não for tornado seletivo artificialmente a um composto alvo por meio de uma funcionalização, teoricamente qualquer composto que venha com ele interagir, irá gerar algum tipo de resposta. Esse trabalho explora esse conceito à populações celulares, e seu princípio de funcionamento se baseia no fato de células diferentes possuírem constituintes de membrana distintos, assim como os compostos excretados por elas ao meio extracelular.

3.2. Hipótese

Cada população celular produzirá mudanças distintas na curva de transferência de NTFETs. Técnicas de aprendizagem autônoma serão capazes de detectar e discriminar entre populações celulares diferentes de acordo com os padrões de variação de resposta obtidos utilizando um conjunto de NTFETs não seletivos. Levar em consideração os múltiplos parâmetros de uma mesma curva de transferência permitirá a discriminação entre amostras muito semelhantes utilizando um arranjo com um número reduzido de dispositivos.

3.3. Objetivos

Desenvolver uma metodologia embasada no conceito de língua eletrônica capaz distinguir e classificar diferentes populações celulares a partir dos dados obtidos com um arranjo de dispositivos NTFETs.

3.4. Materiais e Métodos

3.4.1. Materiais iniciais

SWCNT do tipo P2, sintetizados por descarga por arco, foram obtidos da empresa *Carbon Solutions, Inc.* PDMS (do inglês, *polydimethyl siloxane*) foi comprado da empresa Ellsworth Adhesives. Os sais metálicos de ouro (HAuCl_4 , 99.9%), platina (H_2PtCl_6 , 99.9%), ródio (Na_3RhCl_6 , Mw: 384,59 g·mol⁻¹) e chumbo ($\text{Pd}(\text{Ac})_2$, 98%), os compostos usados como saborizantes: cafeína anidro ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$), L-glucose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_2$), ácido L-glutâmico monohidratado ($\text{C}_5\text{H}_8\text{NNaO}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, 169.11 g·mol⁻¹), ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$), e ácido lipoico ($\text{C}_8\text{H}_{14}\text{O}_2\text{S}_2$) foram comprados da empresa Sigma Aldrich. Dodecanotiol ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{SH}$) e cloreto de sódio (NaCl) da Fisher Scientific. Todos os outros reagentes de grau analítico. Água ultrapura tipo 1 com resistividade > 18,2 MΩ·cm (*Thermo Scientific Barnstead Nanopure System*) foi usada em todas as preparações.

3.4.2. Preparação dos nanotubos de carbono

Os SWCNT foram oxidados (ox-SWCNT) utilizando uma mistura de ácidos $\text{H}_2\text{SO}_4\text{:HNO}_3$ (3:1) concentrados (ácido sulfúrico e ácido nítrico, respectivamente), por duas horas em banho

ultrassônico. É sabido que esse procedimento produz uma variedade de grupos funcionais oxigenados nos defeitos que causa nas paredes do nanotubos efeito similar ao da etapa de oxidação do Método de Hummers. Os SWCNT oxidados são filtrados e lavados com água (tipo 1) até o pH atingir a neutralidade, depois, ressuspensos em água e guardados para uso futuro.

123

3.4.3. Montagem dos NTFETs

Os NTFET são formados por uma malha de SWCNT que faz contato elétrico entre os terminais metálicos de eletrodos interdigitados de ouro (EIO) depositados sobre *wafers* de silício utilizando fotolitografia, segundo as especificações da imagem abaixo (Fig. 3.8). Cada chip de 2 x 2 mm contém quatro pares de EIO, que foram fixados com tinta prata em suportes cerâmicos de 40 pinos (CerDIP). Os contatos elétricos foram feitos por *wirebonding* e depois passivados com PDMS. Ainda usando PDMS, a abertura de um ependorf com o fundo cortado foi fixado ao dispositivo, formando uma câmara concêntrica ao chip do dispositivo, capaz de conter um volume de aproximadamente 1,5 ml. Neste recipiente eram adicionadas as soluções utilizadas nos experimentos aqui descritos. Os SWCNT são depositados se alinhando perpendicularmente entre EIO fazendo o uso da técnica DEP (termo em inglês para *dielectrophoretic deposition*), que pode ser entendida como o procedimento de eletroforese descrito no capítulo anterior, mas aplicando um potencial senoidal, que resulta em uma malha de nanotubos que conecta eletricamente terminais de ouro adjacentes. Os parâmetros da DEP utilizados foram potencial senoidal com tensão pico-a-pico (V_{pp}) 10 V e frequência de 10 MHz entre os terminais de EIO por 60 segundos, utilizando uma solução de ox-SWCNT na concentração de $0,01 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ em água milli-Q. Foram selecionados para os experimentos dispositivos com condutância (G) da ordem de mili siemens (mS).

Figura 3. 8. A figura mostra a imagem da máscara utilizada para construção de um chip contendo quatro pares de eletrodos interdigitados de ouro E(IO).

3.4.4. Modificação dos NTFETs com nanopartículas metálicas e SAMs

Existem diversas metodologias descritas para a ancoragem de nanopartículas metálicas na superfície de SWCNTs.¹²⁴ Fizemos a opção de crescer diretamente nanopartículas dos metais ouro, platina, ródio e chumbo diretamente na superfície dos SWCNTs usando coulometria potenciométrica com um sistema de três eletrodos. Foram utilizadas 400 µl de solução do ácido metálico precursor (HAuCl_4 para ouro, H_2PtCl_6 para platina, Na_3RhCl_6 para ródio e $\text{Pd}(\text{Ac})_2$ para chumbo), na concentração de 1 mM em HCl 0,1 M foram utilizadas. Os terminais dos EIO eram curto circuitados, e ambos utilizados como eletrodo de trabalho, juntamente com um eletrodo de referência e um fio de platina como contra eletrodo. (*CH Instruments Electrochemical Analyser*, Ag/AgCl CHI111, contra eletrodo CHI115, ambos *CH Instruments*, Inc). O tamanho das nanopartículas foi otimizado de acordo com o potencial (-0,2 V) e o tempo de deposição (20 s).

^{125,126}

Monocamadas auto-organizadas (SAM, do inglês para *self-assembled monolayer*) de dodecanetiol e ácido lipoico foram utilizadas para fazer o recobrimento de nanopartículas de ouro (AuNP). Para SAM de dodecanetiol foi utilizada solução de 10 mM do precursor em uma mistura 1:1 EtOH:H₂O.¹²⁷ Para SAM de ácido lipoico, foi utilizada solução uma solução 10 mM do em EtOH.¹²⁸ 200 µl de solução precursora da monocamada desejada foi colocada sobre a superfície da amostra, que é vedada com parafilme, e encubada em geladeira por 24h. Depois disso, os

chips eram lavados com EtOH em abundância e secados com fluxo de gás N₂, estando prontos para serem usados.

3.4.5. Preparo das amostras de células utilizadas

Linhas de células de ratos tumorais B16 melanoma, 3LL carcinoma de Lewis e 3L4 linfoma de células T foram obtidas pela ATTC e cultivadas com meio de cultura RPMI 1640 (GIBCO BRL) suplementado com aminoácidos não essenciais, 10% soro bovino fetal inativada por calor, 2 mM L-glutamina, 100 IU·ml⁻¹ de penicilina e 100µm·ml⁻¹ de estreptomicina (Invitrogen Life Technologies, Ins). Células de medula, baço, pulmão, pelo e fígado foram coletadas de ratos C57BL/6 (Taconic) e separadas para obtenção de dispersões celulares com uma única população. As células de medula foram colhidas da tíbia, ressuspensas, separadas com filtro celular de nylon, e lavadas com meio de cultura RPMI 1640. Para os experimentos com exocitose bloqueada, as células de medula foram tratadas com monensin 0,2 mM (BioLegend) por 4 horas em meio de cultura RPMI 1640. Esplenócitos foram preparados a partir de pedaços do baço picados, usando lâminas de microscópio fosco, ressuspensas, e lavadas com RPMI 1640. Células do pulmão e fígado passaram por digestão enzimática com DNase e Collagenase tipo IV (Worthington) por 45 minutos em meio de cultura RPMI 1640, e então enxaguadas. Células de picadas foram digeridas com Dispase tipo II, tripsina, e Collagenase tipo IV (Roche). Todas suspensões celulares foram finalmente lavadas com PBS (tampão fosfato salino, do inglês para *phosphate buffer solution*) e tiveram o número de células determinado utilizando contador automático (Logos Biosystems).

3.4.6. Caracterização elétrica dos NTFETs

As curvas características dos dispositivos foram obtidas introduzindo a solução a ser analisada na câmara sobre o chip, e inserindo um eletrodo de referência de Ag/AgCl (CHI111, CH Instruments) nessa solução. A figura 3.9 ilustra o posicionamento do eletrodo de referência e da amostra em um dispositivo sem ependorf para melhor visualização do posicionamento do eletrodo de referência. Os terminais do dispositivo são ligados a duas Keithley 2400 SourceMeter controladas por computador via interface GPIB. A tensão aplicada com o eletrodo de referência (V_g) é varrida de +0,6 V a -0,6 V, mantendo a tensão (V_{ds}) constante e igual a 50 mV entre os

terminais dos EIO, enquanto se monitora a corrente (I_{ds}) que percorre o sistema. Para os experimentos para distinção de sabores, as curvas características de cada dispositivo do arranjo foram coletadas em água milli-Q como branco. Depois, soluções 1 mM de cada saborizante (NaCl para salgado, d-glicose para doce, ácido cítrico para ácido, cafeína para amargo e ácido glutâmico para umami) foram adicionados às amostras e deixado encubar por 5 minutos para garantir o equilíbrio, depois uma segunda curva registrada. Para experimentos utilizando suspensões celulares, a linha de base de cada um dos dispositivos do arranjo foi tomada em 1 mM PBS. Subsequentemente, eram adicionadas suspensões com um único tipo celular numa concentração de 10^6 células·ml⁻¹ em PBS e deixado encubado em temperatura ambiente por uma hora. Passado esse tempo, uma segunda curva característica era registrada.

Figura 3. 9. Fotografia mostrando o posicionamento do líquido sobre uma amostra e o posicionamento do eletrodo de referência.

3.4.7. Cálculo das variáveis utilizadas para análise de discriminantes

Como discutido na seção anterior, para cada um dos dispositivos do arranjo levantamos duas curvas, o branco, nessa seção denominado pelo sub índice “0”, e uma segunda curva, calculada após a exposição do dispositivo a determinada população celular (ou saborizante), denominada pelo sub índice “c”. Essas duas curvas são utilizadas para se fazer o cálculo de 11 parâmetros diferentes, que foram utilizados para se compor a chamada matriz de treinamento.

Parâmetro (1): variação relativa da transcondutância. A transcondutância do dispositivo foi calculada como o coeficiente angular (t) da região linear das curvas (linhas segmentadas da Fig. 3.10). A variação relativa foi calculada utilizando os valores de transcondutância encontrados para o branco e após o dispositivo ser exposto a população celular, conforme a equação abaixo:

$$(t_c - t_0)/t_0 \quad \text{(Equação 3.1)}$$

Figura 3. 10. Imagem ilustrando como foi calculado o parâmetro (1), variação da transcondutância da curva característica dos dispositivos.

Parâmetro (2): variação do limiar de tensão (V_{th}). O limiar de tensão foi calculado pelo método da segunda derivada, como descrito por Ortiz-Conde et al.¹²⁹ Foi considerado como V_{th} o valor de V_g para o qual a segunda derivada da condutância em relação ao potencial aplicado ($\partial^2 G / \partial V_g^2$) apresentou o maior valor. O parâmetro (2) foi considerado a diferença entre os valores de V_{th} encontrado para o branco ($V_{th,0}$) e após exposição (Fig. 3.11), matematicamente representado por:

$$V_{th,c} - V_{th,0} \quad \text{(Equação 3.2)}$$

Figura 3. 11. Imagem ilustrando como foi calculado o parâmetro (2), variação do limiar de tensão característico dos dispositivos.

Parâmetros (3 e 10): variação relativa da condutância para $V_g = \pm 0.6$ V, são ilustrados na Fig. 3.12, e calculados a partir da equação abaixo:

$$(G_c - G_0)/G_0 \quad (\text{Equação 3.3})$$

Figura 3. 12 Imagem ilustrando como foram calculados os parâmetros (3 e 10), variação da condutância para $V_g = \pm 0.6$ V.

Parâmetros (4 a 9): variação global da condutância através da curva (Fig. 3.13). Foram calculadas as variações de condutância nos potenciais $V_g = \pm 0.6$, ± 0.4 , and ± 0.3 V conforme a equação abaixo:

$$(G_c - G_0)/G_{0@V_{th}} \quad (\text{Equação 3.4})$$

Figura 3. 13. Imagem ilustrando como foram calculados os parâmetros (4 a 10), variação da condutância nos potenciais V_G iguais a ± 0.6 V, ± 0.4 V e ± 0.3 V.

Parâmetro (11): variação do mínimo de condutância é mostrada na Fig. 3.14, e calculado como:

$$(G_{c,min} - G_{0,min})/G_{0,min} \quad (\text{Equação 3.5})$$

Figura 3. 14. Imagem ilustrando como foram calculados o parâmetro (11), variação do mínimo de condutância.

3.5. Resultados e Discussão

Neste trabalho utilizamos P2-SWCNT da empresa Carbon Solutions, Inc. Esse material, em sua forma original, pode ser considerado como nanotubos ideais, contendo apenas átomos de carbonos, o que os conferem baixa solubilidade em água. Como mencionado, para montar os NTFET foi utilizado o processo de dieletoforese (eletroforese utilizando um sinal ac), que requereu o material disperso em meio aquoso. Para tal, se fez necessário submeter os SWCNT originais a um processo de oxidação utilizando uma mistura de ácido sulfúrico e ácido nítrico

concentrados, que encurta, abre as extremidades e degrada parte das ligações entre carbonos sp^2 ao longo das paredes do tubo, introduzindo grupos funcionais ácido carboxílico covalentemente ligados ao longo do tubo. O oxigênio inserido na estrutura dos tubos permite que os ox-SWCNT (SWCNT oxidados) sejam dispersos em água sonicando brevemente a amostra. Além disso, o ácido nítrico remove impurezas como carbono amorfo e partículas de carbono, obtendo um material final com maior grau de pureza.¹³⁰

Figura 3. 15. Esquema da funcionalização química resultado do processo de oxidação. Os SWCNTs são cortados em tubos menores, com grupamentos ácido carboxílicos covalentemente ligados as paredes e as extremidades abertas dos tubos. Modificado da ref.¹³⁰.

Ao se colocar a dispersão de ox-SWCNT sobre o chip e aplicar uma diferença de potencial senoidal entre os terminais dos eletrodos interdigitados, o campo elétrico oscilante gerado faz com que os ox-SWCNT sofram a ação de uma força dieletrorética, que faz com que os nanotubos se alinhem com o campo e migrem em direção aos fios de ouro, eventualmente se depositando perpendicularmente ao longo dos eletrodos. Redes de nanotubos são formadas, com os nanotubos ligando-se pelas extremidades e preenchendo a lacuna entre eletrodos adjacentes, fechando o circuito elétrico entre os terminais dos EIO (Figura. 3.16a-b). Subsequentemente, as nanopartículas foram depositadas na rede de nanotubos curto-circuitando ambos terminais dos EIO e aplicando uma diferença de potencial constante (em relação ao eletrodo de referência (Ag/AgCl) por 20 s, resultando em nanopartículas individuais ancoradas ao longo da estrutura do tubo (Fig. 3.16c). Para cada um dos cinco dispositivos, primeiro foi feita uma curva com água milli-Q, tomada como branco. Posteriormente, foram levantadas para cada dispositivo as curvas de cada um dos saborizantes individualmente.

Figura 3. 16. Fotografias e micrografias de SWCNTs depositados perpendicularmente entre eletrodos interdigitados de ouro. a) fotografia de um dispositivo após deposição de SWCNT por DEP. b) magnificação mostrando em detalhes o posicionamento dos SWCNTs paralelos aos terminais de ouro adjacentes. c) micrografias MEV de uma amostra, a escala de 200 μm . A ampliação mostra SWCNTs decorados com nanopartículas de ouro, escala representa 1 μm . Modificado da ref. ⁸⁶

3.5.1. Prova de conceito e classificação dos sabores básicos a percepção humana

Inicialmente como prova de conceito, utilizamos um arranjo de dispositivos NTFET para classificar os cinco sabores básicos à percepção humana. Foram utilizados cinco NTFETs diferentes, quatro deles modificados com nanopartículas metálicas, sendo elas dos materiais ouro, platina, ródio e chumbo, e um quinto dispositivo utilizando SWCNTs sem modificação. Esperamos que cada analito produza uma resposta ligeiramente diferente em cada um dos dispositivos, devido ao fato da quantidade de carga transferida de um analito para a rede de ox-SWCNTs ser modulada de acordo com a função trabalho das nanopartículas metálicas ancoradas no dispositivo. ¹³¹ A não especificidade e alta sensibilidade cruzadas do arranjo de dispositivos dão origem a um conjunto de dados que formam uma “impressão digital” de cada analito, que podem ser diferenciadas através de análise multivariada, conceito conhecido como língua eletrônica. Esse tipo de análise é utilizada para classificar indivíduos (saborizantes/células) em um ou mais grupos alternativos baseados em um conjunto de mensurações. As populações precisam ser sabidamente distintas, e cada indivíduo deve pertencer a apenas uma delas. Além disso, essas técnicas também permitem identificar quanto cada uma das variáveis contribuiu para a classificação.

Para tal, foi utilizada a análise de discriminantes lineares (LDA, do inglês para *linear discriminant analysis*), que calcula uma função discriminante capaz de classificar os saborizantes utilizando uma combinação linear das variações (parâmetros) observadas ao longo das curvas

características dos NTFETs, maximizando a variância entre classes distintas, e minimizando a variação entre replicatas. Para levar em conta todos os mecanismo envolvidos no sensoriamento com NTFETs propostos por Heller et al.,¹²² foram utilizados 11 parâmetros (Fig. 3.17a) a partir das mudanças observadas nas curvas características obtidas com o arranjo, compondo um total de 55 variáveis (cinco dispositivos do arranjo vezes onze parâmetros: $5 \times 11 = 55$). Assim, a matriz de treinamento foi formada por 56 colunas (55 parâmetros de calculados e mais uma variável de classe) e uma linha para cada réplica de cada saborizante. Essa matriz foi carregada no software PAST para realizar a LDA, que redimensiona a informação contida na matriz de treinamento para uma quantidade de vetores canônicos iguais ao número de classes distintas menos uma unidade (isto é, 5 saborizantes – 1 = quatro vetores canônicos) que retêm a informação da distribuição de dados. A Fig. 3.17b mostra o resultado obtido utilizando todos os 11 parâmetros calculados, e a Fig. 3.17c utilizando os parâmetros marcados em azul na Fig. 3.17a. O uso de todas as variáveis calculadas propiciou a correta identificação dos saborizantes com excelente separação entre os dados. Utilizando menos variáveis, apesar da informação contida nos dois vetores canônicos principais conservarem ~89% da variação dos dados utilizados, essa informação é insuficiente para se obter com boa discrepância a separação entre os saborizantes.

Figura 3. 17. Resultados da distinção dos cinco sabores básicos à percepção humana. São colecionados em a) os 11 parâmetros utilizados ao longo deste capítulo. b) traz o resultado da

análise de discriminantes lineares quando utilizados todos os 11 parâmetros. c) mostra os resultados obtidos quando são utilizados na análise de discriminantes lineares apenas os parâmetros marcados em azul na parte a). Em ambos os casos foi utilizado um arranjo de cinco dispositivos distintos (apenas SWCNTs, e SWCNTs decorados com nanopartículas de ouro, platina, ródio e chumbo).

Teoricamente, poderíamos considerar todos os pontos das curvas de caracterização como sendo um parâmetro para o cálculo da função discriminante. No entanto, a LDA requer o mínimo de uma replicata (uma linha) para cada parâmetro levado em consideração (cada coluna). Assim, considerando o capital humano e o tempo de máquina necessários, a utilização de 11 parâmetros se mostrou razoável, contemplando as mudanças nas curvas de transferência envolvidas nos mecanismos predominantes do sensoriamento com NTFETs, incluindo transferência de carga, alteração do valor da capacitância da dupla camada elétrica (*electrostatic gating*), mudança de mobilidade dos portadores de cargas e modulação das barreiras de Schottky. Adicionalmente, não é esperado que um único desses mecanismos se sobressaia, mas que todos contribuam moderadamente para variação total observada.

3.5.2. Distinção de populações celulares com arranjo de NTFETs

A discriminação entre diferentes populações celulares foi explorada utilizando um conjunto de dispositivos formados por três NTFET decorados com nanopartículas de ouro (AuNP): o primeiro continha AuNPs somente, sem maiores modificações (Au-SWCNT), o segundo teve suas AuNPs recobertas por SAM de dodecanetiol (DD-SWCNT) e o terceiro dispositivo tiveram SAM de ácido lipóico. Enquanto Au-SWCNT interagem diretamente com as amostras, DD-SWCNT e LA-SWCNT tem suas interações mediadas por grupamentos apolares e polares, respectivamente, que mediam a interação com a multitude de moléculas presentes na superfície celular e compostos excretados ao meio pelas células, responsáveis por causar as variações distintas nas curvas características nos diferentes dispositivos do arranjo. Inicialmente, foram testadas três linhagens tumorais B16 melanoma, ELL carcinoma e EL4 linfoma. Na Fig. 3.18 a primeira linha mostra diagramas esquemáticos de dispositivos para cada tipo de funcionalização. A partir da segunda linha em diante, são exibidas curvas representativas da interação de cada população celular para os três dispositivos, os dados para cada tipo de superfície estão organizados em colunas, e em cada linha estão os dados de uma população celular distintas. As diferenças sutis causadas podem ser verificadas através da discrepância entre as curvas tracejadas e cheias. Na Fig. 3.19 apresentamos as médias dos valores

calculados de cada parâmetro utilizado na análise, por tipo do dispositivo e população celular. Ao considerar as características individualmente a olho nu, não somos capazes de diferenciar adequadamente cada população celular pelo valor médio das variáveis, mas com a LDA essa tarefa foi possível.

Figura 3. 18. Curvas representativas para dispositivos com cada funcionalização superficial quando expostos a cada população celular. A primeira linha mostra diagramas esquemáticos de dispositivos para cada tipo de funcionalização: a) dispositivo contendo nanopartículas de ouro (Au-SWCNT). b) e c) são dispositivos modificados com camadas auto-organizadas de dodecanetiol (DD-SWCNT) e ácido lipóico (LA-SWCNT), respectivamente. Cada coluna corresponde a dados obtidos com dispositivos com a funcionalização ilustrada na primeira linha. Na segunda linha os dispositivos foram expostos a população de linhagem de células B16, na terceira linha a linhagem 3LL e na quarta linha a linhagem EL4.

Figura 3. 19. A figura mostra a média obtida para cada um dos valores calculados dos 11 parâmetros exibidos na Fig. 3.17a, por funcionalização de dispositivo e tipo de linhagem celular testada. Roxo para 3LL, anil para EL4, cinza para B16. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em a) 0,6 V, b) – 0,6 V. c) Variação da transcondutância. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em d) 0,4 V, e) – 0,4 V. f) Variação do valor mínimo da condutância. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em g) + 0,3 V, h) – 0,3 V. Variação da condutância normalizada pela condutância inicial em 0,6 V, b) – 0,6 V.

Utilizando a matriz de treinamento contendo as respostas e réplicas para Au-SWCNT, DD-SWCNT, LA-SWCNT referentes às linhas de células tumorais B16, 3LL e EL4 no *software* PAST, a LDA foi executada reduzindo o conjunto de 33 variáveis (três tipos de dispositivos x 11 parâmetros) a dois vetores canônicos (Fig. 3.20a), diferenciando entre as populações testadas com 100% de eficácia e excelente separação dos dados amostrais. Para conseguir uma boa distinção dos dados, todos três tipos de dispositivos precisam ser considerados, uma vez que a

separação obtida utilizando cada um dos dispositivos isoladamente produziu uma separação insatisfatória entre os tipos celulares testados, como evidenciado graficamente na Fig. 3.20b-d e na matriz de classificação na tabelas 3.1, 3.2 e 3.3.

Figura 3. 20. Resultados obtidos através da análise de discriminante lineares para dispositivos expostos a linhagens de células tumorais. a) Utilizando os três dispositivos com diferentes funcionalizações. b) Utilizando os dados obtidos apenas com dispositivos com nanopartículas de ouro. c) Utilizando apenas dispositivos DD-SWCNT. d) Utilizando apenas dispositivos LA-SWCNT.

Tabela 3. 1. Matriz de confusão para os resultados apresentados nas Figs. 3.20b.

	ELL	EL4	B16	total
3LL	9	0	1	10
EL4	0	8	1	9
B16	0	0	15	15
total	9	8	17	34

Tabela 3. 2. Matriz de confusão para os resultados apresentados nas Figs. 3.20c.

	ELL	EL4	B16	total
3LL	9	1	0	10
EL4	0	9	0	9
16	0	2	13	15
total	9	12	13	34

Tabela 3. 3. Matriz de confusão para os resultados apresentados nas Figs. 3.20d.

	ELL	EL4	B16	total
3LL	10	0	0	10
EL4	0	9	0	9
B16	0	0	15	15
total	10	9	15	34

Para demonstrar a aplicabilidade da plataforma formada pelos NTFETs em casos mais realísticos, a mesma metodologia foi aplicada utilizando diversos tipos de células coletadas de tecidos de ratos saudáveis, sendo essas células isoladas da pele, baço, fígado, pulmão e medula. Mesmo sendo populações celulares obtidas de tecidos previamente isolados, essas populações são formadas por uma distribuição de células semelhantes, representando um maior desafio quando comparado com uma linhagem celular, que é composta por células idênticas. Na Fig. 3.21, apresentamos curvas representativas para cada tecido saudável testado, e na Fig. 3.22 constam as médias calculadas para cada parâmetro, de acordo com o tipo de funcionalização do dispositivo.

Figura 3. 21. Curvas representativas para dispositivos com cada funcionalização superficial quando expostos a diferentes tipos células de tecidos saudáveis. Primeira coluna Au-SWCNT, segunda coluna para DD-SWCNT e terceira coluna para LA-SWCNT. Na primeira linha os dispositivos foram expostos a células isoladas da pele, na segunda linha a células isolados do pulmão, na terceira linha a células isoladas de baço, na quarta linha a células isoladas da medula, e a quinta linha a células isoladas do fígado.

Figura 3. 22. A figura mostra a média obtida para cada um dos valores calculados dos 11 parâmetros, por funcionalização de dispositivo e tecido exposto. Preto para células da pele, vermelho para medula, verde para pulmão, bege para fígado, azul para baço. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em a) 0,6 V, b) – 0,6 V. c) Variação da transcondutância. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em d) 0,4 V, e) – 0,4 V. f) Variação do valor mínimo da condutância. Variação da condutância normalizada pelo limiar de tensão inicial em g) + 0,3 V, h) – 0,3 V. Variação da condutância normalizada pela condutancia inicial em 0,6 V, b) – 0,6 V.

Assim como nos estudos anteriores, a LDA pode ser usada para visualizar a separação entre os dados. Apesar de classificar corretamente entre as cinco populações testadas, o gráfico exibindo os dois vetores canônicos, os quais retêm a maior parte da informação, correspondendo a ~86% da variação dos dados, não permite visualizar a separação entre células saudáveis do pulmão e do fígado em duas dimensões Fig. 3.23a. No entanto, esse efeito é conseguido plotando o primeiro e último dos vetores gerados pela análise, que juntos conservam ~75% da

variação dos dados. (Fig. 3.23b). Além disso, a análise considerando apenas os dados obtidos por qualquer combinação de dois tipos de dispositivos resultou numa discrepância pouco satisfatória para ser observada graficamente em apenas duas dimensões (Fig. 3.23c-e), embora ocorrendo poucas classificações erradas, como pode ser observado nas matrizes de classificação Tabelas 3.4, 3.5 e 3.6.

Figura 3. 23. Resultado da análise de discriminantes lineares para células de tecidos saudáveis coletadas de ratos. São exibidos os dois primeiros vetores canônicos em a) o primeiro e quarto vetor canônico em b), utilizando dispositivos com os três diferentes tipos de funcionalização. c) Resultados utilizando apenas os dados de dispositivos Au-SWCNT e DD-SWCNT. d) Resultados utilizando apenas os dados de dispositivos Au-SWCNT e LA-SWCNT. e) Resultados utilizando apenas os dados de dispositivos DD-SWCNT e LA-SWCNT.

Tabela 3. 4. Matriz de confusão para LDA exibida na Fig. 3.23c (Au-SWCNT e DD-SWCNT)

	Pele	Medula	Pulmão	Fígado	Baço	Total
Pele	8	0	0	0	0	8
Medula	0	11	0	0	0	11
Pulmão	0	0	8	0	0	8
Fígado	0	0	0	8	0	8
Baço	0	0	0	0	12	12
total	8	11	8	8	12	47

Tabela 3. 5. Matriz de confusão para LDA exibida na Fig. 3.23d (Au-SWCNT e LA-SWCNT)

	Pele	Medula	Pulmão	Fígado	Baço	Total
Pele	8	0	0	0	0	8
Medula	0	11	0	0	0	11
Pulmão	0	0	7	1	0	8
Fígado	0	0	1	7	0	8
Baço	0	0	0	0	12	12
total	8	11	8	8	12	47

Tabela 3. 6. Matriz de confusão para LDA exibida na Fig. 3.23e (DD-SWCNT e LA-SWCNT)

	Pele	Medula	Pulmão	Fígado	Baço	Total
Pele	8	0	0	0	0	8
Medula	0	11	0	0	0	11
Pulmão	0	0	8	0	0	8
Fígado	0	0	0	8	0	8
Baço	0	0	0	0	12	12
total	8	11	8	8	12	47

Ainda no que tange o contexto de aplicações da metodologia aqui proposta, realizamos outros dois experimentos para ilustrar como a plataforma de NTFET poderia ser utilizada em análises de tecidos. Utilizamos o conjunto de dispositivos em um teste cego. A LDA pode ser usada para classificar objetos em classes conhecidas, mas também para assinalar novos objetos nas classes apropriadas.¹¹⁶ Os dados levantados com a suspensão desconhecida foram inseridos na matriz de treinamento obtida previamente para os tecidos saudáveis. A LDA pôde identificar a amostra desconhecida, a endereçando conforme o padrão de resposta como célula de medula em três replicatas (Fig. 3.24a). Adicionalmente, foram combinados os dados das matrizes de treinamento obtidos com as linhagens de células cancerosas e suas contrapartes saudáveis, verificando o poder do método em distinguir entre populações saudáveis e cancerígenas. A plataforma foi capaz de distinguir corretamente todas as linhagens e tecidos testados. Os resultados da LDA mostram que os dois primeiros pares de vetores canônicos retêm aproximadamente ~82% da variância entre os dados, mas não são suficientes para visualização em duas dimensões. No entanto, considerando o terceiro vetor canônico, que contribui

adicionalmente com mais 9%, é possível discriminar visualmente os dados utilizando um gráfico 3D.

Figura 3. 24. Possíveis aplicações da metodologia desenvolvida nesse trabalho. a) É exibido o resultado da análise de discriminantes lineares em três amostras a cegas, marcadas como desconhecidas na matriz de dados e classificadas corretamente como células de medula através da análise (círculos em anil). b) São exibidos os resultados combinando os dados obtidos para amostras saudáveis e suas contrapartes cancerosas.

Determinadas características das curvas de transferência dos NTFET podem ser correlacionadas a mecanismos de interação específicos que contribuem para o sinal do dispositivo, propiciando um entendimento mais profundo do funcionamento dos mesmos. Todos três dispositivos utilizados apresentaram um deslocamento médio negativo do valor do limiar de tensão (V_{th}) de aproximadamente ~ 100 a 200 mV (Fig. 3.19j e Fig. 3.22j). Esse deslocamento é comumente observado em biossensores de NTFET tipo p, e evidencia a adsorção de carga ou o efeito de campo (*charge screening*) causado pela variedade de moléculas carregadas positivamente presentes na superfície das células, como as cabeças carregadas polares dos lipídios constituintes da membrana celular, assim como as proteínas de membrana, que provocam a diminuição da condutância ao longo de todo lado p das curvas (valores negativos nas colunas centrais das Fig. 19 e Fig. 22). A redução do valor mínimo de condutância (Fig. 19f e Fig. 22f) observado indica a ocorrência de transferência de carga entre moléculas adsorvidas nas AuNP ou diretamente à superfície da rede formada pelos nanotubos. A variação da transcondutância (t) pode ter origem em dois fenômenos distintos, a modulação da mobilidade dos portadores majoritários (buracos) de cargas devido ao efeito de espalhamento de cargas (*charge scattering*) e a variação da capacitância na superfície do dispositivo. Não é possível

determinar qual a contribuição de cada um desses efeitos devido ao baixo valor de condutância na região tipo n (isto é, para $V_g > 0$) em comparação a região tipo p ($V_g < 0$), típico de dispositivos operados através de um eletrodo de referência externo (típico a *liquid-gated NTFET devices*). Essas considerações demonstram que as mudanças resultantes observadas nas curvas obtidas com os dispositivos são complexas, sendo resultado da combinação de contribuições de diversos tipos de interações.

Os resultados LDA podem ser utilizados para identificar quanto cada um dos parâmetros levados em consideração contribuem para a separação entre os tipos de células testados, e assim, melhor estabelecer as diferenças de interação com os três tipos de dispositivos do arranjo. Essa análise pode ser feita utilizando a ferramenta “biplot” contida no *software* PAST. Ao ser selecionada, esta opção exibe o grupo de vetores associados a cada um dos parâmetros analisados, sendo que a intensidade e direção desses vetores representam o quanto cada parâmetro contribui para separação dos dados amostrais, sendo possível determinar o tipo da funcionalização do dispositivo e quais os parâmetros mais importantes para a correta classificação entre as amostras. A Fig. 3.25 exibe os gráficos tipo biplots obtidos para a diferenciação entre linhagens de células cancerígenas (a), entre células de tecidos saudáveis (b), e entre células saudáveis e suas contrapartes doentes (c), os números correspondem aos parâmetros (Fig. 3.17a) as letras indicam a funcionalização do dispositivo. Como pode se notar, o tipo de dispositivo e os parâmetros mais importante não se conservam, mudando experimento a experimento, embora nos casos estudados o parâmetro de número 4 tenha se mostrado predominante.

Figura 3. 25. Gráficos biplots das análises de discriminante lineares. Cada vetor é representado pelo número de acordo com os parâmetros mostrados na Fig. 17a e duas letras representando o tipo de funcionalização do dispositivo. A intensidade desses vetores representa quanto ele contribui para a distinção entre os dados. a) Biplots para linhagens de células tumorais (Fig. 20a). b) Biplots para células isoladas de tecidos saudáveis de ratos (Fig. 23a-b). c) Biplots obtidos utilizando células saudáveis e suas contrapartes cancerosas (Fig. 24c).

Fomos capazes de confirmar que havia células diretamente em contato com a superfície do dispositivo, como pode ser observado na imagem ótica de um dispositivo exposto a células de medula após o levantamento da caracterização elétrica do dispositivo (Fig. 3.26a). Além disso, dispositivos com menos ou mais que uma centena de células não exibiam padrões diferentes de resposta, sugerindo que algumas dezenas de células são suficientes para saturar a resposta do dispositivo. No entanto, não foi possível afirmar que as mudanças observadas nas curvas características decorriam apenas da adesão celular à superfície do dispositivo, uma vez que os compostos excretados pelas próprias células, e que variam entre tipos de células distintas, poderiam contribuir para a mudança de sinal observada. A contribuição do ambiente extracelular foi avaliada tratando células de medula com monensin, um composto bloqueador de exocitose, causando grande variação no resultado obtido pela LDA. (Fig. 3.26b), sendo um indicativo que o ambiente extracelular desempenha um papel significativo nas respostas observadas.

Figura 3. 26. Avaliação da exocitose na resposta final do dispositivo. a) Fotografia de dispositivo exposto a células de medula após experimento para caracterização elétrica. As células aderidas à superfície do dispositivo foram contadas manualmente utilizando o *software* ImageJ. b) Resultado de LDA obtido com população de células de medula tratadas com inibidor de exocitose monensin.

3.6. Conclusões do capítulo

Uma nova metodologia para extração de parâmetros de curvas de NTFET, que leva em conta os múltiplos mecanismos de sensoriamento com nanotubos de carbono previamente descritos na literatura, foi combinado com LDA dando origem a um dispositivo embasado no conceito de língua eletrônica. Inicialmente como prova de conceito demonstramos como um

arranjo contendo NTFETs decorados com diferentes nanopartículas metálicas foi utilizado para distinguir e classificar os sabores básicos a percepção humana. Neste processo foram utilizados cinco dispositivos distintos e extraídos onze parâmetros de cada um deles para compor a matriz de treinamento utilizada na LDA, obtendo-se excelente distinção entre os saborizantes. Posteriormente a mesma metodologia foi empregada com um conjunto com apenas três dispositivos NTFETs decorados com nanopartículas de ouro, e posteriormente modificados com SAMs. Esse novo arranjo foi utilizado para classificar diversos tipos de tecidos saudáveis extraídos de ratos, além de suas contrapartes cancerosas oriundas de linhagens celulares, novamente atingindo excelentes resultados. A utilização de menos do que três dispositivos diferentes, embora em alguns casos capaz de distinguir entre as populações celulares testadas, não geraram resultados satisfatórios. Adicionalmente, a abordagem permitiu identificar como cada parâmetro, e indiretamente o mecanismo de sensoriamento envolvido, contribuíram para a distinção das populações testadas, e embora as características mais relevantes se alterem em cada caso, os onze parâmetros combinados de três dispositivos permitiram distinguir entre todos os tipos de células testadas.

4. Conclusões gerais e perspectivas

Mostramos no primeiro capítulo desse trabalho porque os materiais em que o tamanho de ao menos uma de suas dimensões é da ordem de nanômetros apresentam características distintas de suas contrapartes macroscópicas. O aumento da área específica decorrente a redução das dimensões físicas torna os nanomateriais mais reativos, e por terem suas propriedades físico-químicas alteradas com a interação química com os compostos do ambiente externo, impulsionam o desenvolvimento de novas aplicações envolvendo nanomateriais, sobretudo na área de sensores. Nesse contexto, esse trabalho apresentou duas contribuições distintas a partir da utilização de diferentes nanoestruturas alotrópicas do carbono.

No capítulo 2 apresentamos como óxidos de grafeno com diferente quantidade de grupos funcionais foram incorporados a eletrodos de FTO. Esses eletrodos modificados tiveram seu desempenho como sensor de pH avaliados utilizando a tecnologia EGFET. Conforme as características iniciais do nanomaterial e o tempo de deposição pôde-se obter sensibilidades tanto menores quando maiores do que o eletrodo não modificado. Eletrodos modificados com baixa sensibilidade final poderiam ser utilizados como pseudo eletrodos de referência, conectados a entrada inversora do amplificador de instrumentação para eliminar ruídos ambientais, enquanto eletrodos modificados com alta sensibilidade poderiam ser transformados em biossensores através de sua funcionalização com receptores biológicos, como enzimas, DNAs e etc.

O fato de o material não ter se depositado sobre toda a superfície do FTO impediu que fosse determinada a massa do depósito a partir dos dados de corrente elétrica decorrente do processo de deposição, como era esperado. Esses dados combinados a uma análise de espectroscopia de fotoelétrons excitados por raio-X (XPS), permitiria estabelecer uma relação entre a quantidades dos grupamentos funcionais com os dados obtidos com a caracterização elétrica das amostras no EGFET. No sentido de contornar essa limitação, deixamos em aberto a proposta da utilização de eletrodos de nanomateriais alotrópicos de carbono construídos por meio de outras técnicas de deposição e eliminação da EPD. Outro aprimoramento seria o controle mais rígido sobre grupamentos funcionais, que poderiam ser posteriormente introduzidos aos eletrodos por técnicas como a exposição ao plasma de oxigênio ou a agentes oxidantes/redutores.

A melhora do procedimento de deposição por EPD em si parte da obtenção de uma dispersão coloidal de melhor qualidade. As alternativas são o uso de outros solventes, a adição de surfactantes, componentes capazes de aumentar o valor da carga efetiva do material disperso ou de facilitar o processo de deposição sobre o eletrodo de trabalho. Nesse contexto, foi possível verificar que diversos pesquisadores têm adicionado sais de óxidos metálicos a dispersão de óxido de grafeno, melhorando o processo de deposição e obtendo um material híbrido, composto pelo filme de óxido de grafeno e nanopartículas semicondutoras distribuídas pela estrutura. Essa metodologia nos despertou especial interesse, uma vez que um conjunto de filmes de grafeno com nanopartículas de diferentes materiais nos permitiria utilizá-los como um arranjo tipo língua eletrônica.

No capítulo 3 foram apresentados os resultados obtidos utilizando NTFETs, um tipo de sensor construído a partir de outro alótropo nanoestruturado do carbono, os SWNT. Embora a produção desse dispositivo requeira a utilização de maquinário para microfabricação, a natureza das interações utilizadas como parâmetro de funcionamento desse dispositivo e o EGFET têm as mesmas origens, mas em NTFET é o próprio SWNT que atua como transdutor. Demonstramos como que parâmetros selecionados extraídos das curvas de caracterização elétrica de dispositivos NTFETs podem ser combinados a análise de discriminantes lineares para discriminar entre amostras muito semelhantes. Inicialmente foi utilizado um arranjo de cinco NTFET decorados com nanopartículas de diferentes metais para classificar os sabores básicos a percepção humana, obtendo excelente distinção. No segundo caso apresentado, foi utilizado um conjunto de três NTFETs decorados com nanopartículas de ouro para classificação de populações celulares de tecidos saudáveis extraídos de ratos e linhagens tumorais de células. Foram obtidos excelentes resultados tanto na classificação das linhas celulares, como dos tecidos saudáveis e dos tecidos saudáveis de suas contrapartes doentes.

Não foi possível concluir se o aumento do número de dispositivos ou a adição de mediadores (SAMs) afeta mais o poder de distinção do método. No entanto, em ambos os casos, o aumento do número de dispositivos do arranjo melhorou consistentemente a separação dos resultados. Infelizmente, não foram realizados experimentos envolvendo o arranjo utilizado para classificar as populações celulares para classificar os saborizantes (ou vice e versa), mas acreditamos que a capacidade de classificação do dispositivo possa ser sempre melhorada

incorporando ao arranjo outros dispositivos diferentes, por exemplo a partir de tiols com outros grupos funcionais na extremidade, como o11-mercaptoundecil fosfônico, o16-mercapto hexadecanamida ou 2-feniletanotiol. Assim, essa metodologia pode ser empregada para o futuro desenvolvimento de aplicações incluindo língua e narizes eletrônicos, detecção de células de câncer maligno em tecidos de biopsia, na pesquisa da influência de células cancerosas em tecidos saudáveis e na resposta de células a medicamentos, dentre outras aplicações que dependa da detecção de mudanças sutis do microambiente bioquímico.

Referências

- (1) “Plenty of Room” Revisited. *Nat. Nanotechnol.* **2009**, 4, 781.
- (2) Rao, C. N. R.; Kulkarni, G. U.; John Thomas, P.; Edwards, P. P. Size-Dependent Chemistry: Properties of Nanocrystals. *Chem. - A Eur. J.* **2002**, 8, 28–35.
- (3) Roduner, E. Size Matters : Why Nanomaterials Are Different. **2006**, 583–592.
- (4) Unruh, K. M.; Huber, T. E.; Huber, C. A. Melting and Freezing Behavior of Indium Metal in Porous Glasses. *Phys. Rev. B* **1993**, 48, 9021–9027.
- (5) Rockenberger, J.; Eisebitt, S.; Rubensson, J.; Karl, A.; Lu, J.; Kornowski, A.; Weller, H.; Eberhardt, W. Soft X-Ray Spectroscopy of Single Sized CdS Nanocrystals : Size Confinement and Electronic Structure. **1999**, 112, 5–9.
- (6) Boatman, E. M.; Lisensky, G. C.; Nordell, K. J. A Safer , Easier , Faster Synthesis for CdSe Quantum Dot Nanocrystals. **2005**, 82, 1697–1699.
- (7) Yamamoto, Y.; Hori, H. DIRECT OBSERVATION OF THE FERROMAGNETIC SPIN POLARIZATION IN GOLD NANOPARTICLES : A REVIEW. **2006**.
- (8) Liu, X.; Bauer, M.; Bertagnolli, H.; Roduner, E.; Phillipp, F. Structure and Magnetization of Small Monodisperse Platinum Clusters. **2006**, 253401, 1–4.
- (9) Iijima, S. Helical Microtubules of Graphitic Carbon. *Nature* **1991**, 354, 56–58.
- (10) Novoselov, K. S.; Geim, A. K.; Morozov, S. V.; Jiang, D.; Zhang, Y.; Dubonos, S. V.; Grigorieva, I. V.; Firsov, A. A. Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films. *Science* **2004**, 306, 666–669.
- (11) Geim, A. K.; Novoselov, K. S. The Rise of Graphene. *Nat. Mater.* **2007**, 6, 183–191.
- (12) Jariwala, D.; Sangwan, V. K.; Lauhon, L. J.; Marks, T. J.; Hersam, M. C. Carbon Nanomaterials for Electronics, Optoelectronics, Photovoltaics, and Sensing. *Chem. Soc. Rev.* **2013**, 42, 2824–2860.
- (13) Tiwari, S. K.; Kumar, V.; Huczko, A.; Oraon, R.; Adhikari, A. De; Nayak, G. C.; Tiwari, S. K.; Kumar, V.; Huczko, A.; Oraon, R.; *et al.* Magical Allotropes of Carbon : Prospects and Applications. *Crit. Rev. Solid State Mater. Sci.* **2016**, 41, 257–317.
- (14) Allen, M. Honeycomb Carbon -- A Study of Graphene. *Am. Chem. Soc.* **2009**, 184.
- (15) Wallace, P. R. The Band Theory of Graphite. *Phys. Rev.* **1947**, 71, 622–634.
- (16) Fradkin, E. Critical Behavior of Disordered Degenerate Semiconductors. II. Spectrum and Transport Properties in Mean-Field Theory. *Phys. Rev. B* **1986**, 33, 3263–3268.
- (17) Dresselhaus, M.; Araujo, P. T. The 2010 Nobel Prize in Physics for Graphene: Some Perspectives. *ACS Nano - Nano Focus* **2010**, 4, 6297–6302.
- (18) Yoo, J. J.; Balakrishnan, K.; Huang, J.; Meunier, V.; Sumpter, B. G.; Srivastava, A.; Conway, M.; Mohana Reddy, A. L.; Yu, J.; Vajtai, R.; *et al.* Ultrathin Planar Graphene Supercapacitors. *Nano Lett.* **2011**, 11, 1423–1427.
- (19) Ghosh, S.; Calizo, I.; Teweldebrhan, D.; Pokatilov, E. P.; Nika, D. L.; Balandin, A. A.; Bao, W.; Miao, F.; Lau, C. N. Extremely High Thermal Conductivity of Graphene: Prospects for Thermal Management Applications in Nanoelectronic Circuits. *Appl. Phys. Lett.* **2008**, 92, 151911.
- (20) Nair, R. R.; Blake, P.; Grigorenko, A. N.; Novoselov, K. S.; Booth, T. J.; Stauber, T.; Peres, N. M. R.; Geim, A. K. Fine Structure Constant Defines Visual Transparency of Graphene. *Science (80-.)*. **2008**, 320, 1308–1308.
- (21) Lee, C.; Wei, X.; Kysar, J. W.; Hone, J. Measurement of the Elastic Properties and Intrinsic Strength of Monolayer Graphene. *Science* **2008**, 321, 385–388.
- (22) Stoller, M. D.; Park, S.; Zhu, Y.; An, J.; Ruoff, R. S. Graphene-Based Ultracapacitors. *Nano Lett.* **2008**, 8, 3498–3502.
- (23) Li, X.; Tao, L.; Chen, Z.; Fang, H.; Li, X.; Wang, X.; Xu, J.-B.; Zhu, H. Graphene and Related Two-Dimensional Materials: Structure-Property Relationships for Electronics and Optoelectronics. *Appl. Phys. Rev.* **2017**, 4, 21306.
- (24) Bonaccorso, F.; Sun, Z.; Hasan, T.; Ferrari, A. C. Graphene Photonics and Optoelectronics. *Nat. Photonics* **2010**, 4, 611–622.
- (25) Zeng, M.; Xiao, Y.; Liu, J.; Lu, W.; Fu, L. Controllable Fabrication of Nanostructured Graphene Towards Electronics. *Adv. Electron. Mater.* **2016**, 2, 1500456.
- (26) Yung, K. C.; Wu, W. M.; Pierpoint, M. P.; Kusmartsev, F. V. Introduction to Graphene Electronics – a New Era of Digital Transistors and Devices. *Contemp. Phys.* **2013**, 54, 233–251.

- (27) Liu, Y.; Dong, X.; Chen, P. Biological and Chemical Sensors Based on Graphene Materials. *Chem Soc Rev* **2012**, *41*, 2283–2307.
- (28) Shao, Y.; Wang, J.; Wu, H.; Liu, J.; Aksay, I. A.; Lin, Y. Graphene Based Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review. *Electroanalysis* **2010**, *22*, 1027–1036.
- (29) Zhan, B.; Li, C.; Yang, J.; Jenkins, G.; Huang, W.; Dong, X. Graphene Field-Effect Transistor and Its Application for Electronic Sensing. *Small* **2014**, *10*, 4042–4065.
- (30) Xie, H.; Cao, T.; Rodríguez-Lozano, F. J.; Luong-Van, E. K.; Rosa, V. Graphene for the Development of the next-Generation of Biocomposites for Dental and Medical Applications. *Dent. Mater.* **2017**, *33*, 765–774.
- (31) Zhang, Q.; Wu, Z.; Li, N.; Pu, Y.; Wang, B.; Zhang, T.; Tao, J. Advanced Review of Graphene-Based Nanomaterials in Drug Delivery Systems: Synthesis, Modification, Toxicity and Application. *Mater. Sci. Eng. C* **2017**, *77*, 1363–1375.
- (32) Cai, X.; Lai, L.; Shen, Z.; Lin, J. Graphene and Graphene-Based Composites as Li-Ion Battery Electrode Materials and Their Application in Full Cells. *J. Mater. Chem. A* **2017**, *5*, 15423–15446.
- (33) Shiraz, H. G.; Tavakoli, O. Investigation of Graphene-Based Systems for Hydrogen Storage. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2017**, *74*, 104–109.
- (34) Kagkoura, A.; Skaltsas, T.; Tagmatarchis, N. Transition-Metal Chalcogenide/Graphene Ensembles for Light-Induced Energy Applications. *Chem. - A Eur. J.* **2017**, *23*, 12967–12979.
- (35) Zhang, X.; Samori, P. Graphene/Polymer Nanocomposites for Supercapacitors. *ChemNanoMat* **2017**, *3*, 362–372.
- (36) Bonaccorso, F.; Lombardo, A.; Hasan, T.; Sun, Z.; Colombo, L.; Ferrari, A. C. Production and Processing of Graphene and 2d Crystals. *Mater. Today* **2012**, *15*, 564–589.
- (37) Bonaccorso, F.; Lombardo, A.; Hasan, T.; Sun, Z.; Colombo, L.; Ferrari, A. C. Production and Processing of Graphene and 2d Crystals. *Mater. Today* **2012**, *15*, 564–589.
- (38) Ferrari, A. C.; Bonaccorso, F.; Fal'ko, V.; Novoselov, K. S.; Roche, S.; Bøggild, P.; Borini, S.; Koppens, F. H. L.; Palermo, V.; Pugno, N.; *et al.* Science and Technology Roadmap for Graphene, Related Two-Dimensional Crystals, and Hybrid Systems. *Nanoscale* **2015**, *7*, 4598–4810.
- (39) Riedl, C.; Coletti, C.; Starke, U. Structural and Electronic Properties of Epitaxial Graphene on SiC(0 0 0 1): A Review of Growth, Characterization, Transfer Doping and Hydrogen Intercalation. *J. Phys. D. Appl. Phys.* **2010**, *43*, 374009.
- (40) Lei, N.; Li, P.; Xue, W.; Xu, J. Simple Graphene Chemiresistors as pH Sensors: Fabrication and Characterization. *Meas. Sci. Technol.* **2011**, *107002*, 1–23.
- (41) Hummers, W. S.; Offeman, R. E. Preparation of Graphitic Oxide. *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 1339–1339.
- (42) Jimenez, E.; Amieva, C.; Barroso, J. L.; Laura, A.; Hernández, M.; Santos, C. V. Graphene - Based Materials Functionalization with Natural Polymeric Biomolecules. In.
- (43) Cai, M.; Thorpe, D.; Adamson, D. H.; Schniepp, H. C. Methods of Graphite Exfoliation. *J. Mater. Chem.* **2012**, *22*, 24992.
- (44) Gotoh, K.; Kinumoto, T.; Fujii, E.; Yamamoto, A.; Hashimoto, H.; Ohkubo, T.; Itadani, A.; Kuroda, Y.; Ishida, H. Exfoliated Graphene Sheets Decorated with Metal/metal Oxide Nanoparticles: Simple Preparation from Cation Exchanged Graphite Oxide. *Carbon N. Y.* **2011**, *49*, 1118–1125.
- (45) Vashist, S. K.; Luong, J. H. T. Recent Advances in Electrochemical Biosensing Schemes Using Graphene and Graphene-Based Nanocomposites. *Carbon N. Y.* **2015**, *84*, 519–550.
- (46) Pei, S.; Cheng, H. M. The Reduction of Graphene Oxide. *Carbon N. Y.* **2012**, *50*, 3210–3228.
- (47) Wu, S.; He, Q.; Tan, C.; Wang, Y.; Zhang, H. Graphene-Based Electrochemical Sensors. *Small* **2013**, *9*, 1160–1172.
- (48) Kuila, T.; Bose, S.; Khanra, P.; Mishra, A. K.; Kim, N. H.; Lee, J. H. Recent Advances in Graphene-Based Biosensors. *Biosens. Bioelectron.* **2011**, *26*, 4637–4648.
- (49) Wilson, D. M.; Hoyt, S.; Janata, J.; Booksh, K.; Obando, L. Chemical Sensors for Portable, Handheld Field Instruments. *IEEE Sens. J.* **2001**, *1*, 256–274.
- (50) Fu, X. W.; Liao, Z. M.; Zhou, J. X.; Zhou, Y. B.; Wu, H. C.; Zhang, R.; Jing, G.; Xu, J.; Wu, X.; Guo, W.; *et al.* Strain Dependent Resistance in Chemical Vapor Deposition Grown Graphene. *Appl. Phys. Lett.* **2011**, *99*, 1–4.
- (51) Chen, D.; Tang, L.; Li, J. Graphene-Based Materials in Electrochemistry. *Chem. Soc. Rev.*

- 2010**, 39, 3157.
- (52) Liang, X.; Sperling, B. A.; Calizo, I.; Cheng, G.; Hacker, C. A.; Zhang, Q.; Obeng, Y.; Yan, K.; Peng, H.; Li, Q.; *et al.* Toward Clean and Crackless Transfer of Graphene. *ACS Nano* **2011**, 5, 9144–9153.
 - (53) Liu, Y.; Yu, D.; Zeng, C.; Miao, Z.; Dai, L. Biocompatible Graphene Oxide-Based Glucose Biosensors. *Langmuir* **2010**, 26, 6158–6160.
 - (54) Tuteja, S. K.; Priyanka; Bhalla, V.; Deep, A.; Paul, A. K.; Suri, C. R. Graphene-Gated Biochip for the Detection of Cardiac Marker Troponin I. *Anal. Chim. Acta* **2014**, 809, 148–154.
 - (55) Shan, C.; Yang, H.; Song, J.; Han, D.; Ivaska, A.; Niu, L. Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase and Biosensing for Glucose Based on Graphene Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase and Biosensing for Glucose Based on Graphene. *Anal. Chem.* **2009**, 81, 2378–2382.
 - (56) Becerril, H. A.; Mao, J.; Liu, Z.; Stoltenberg, R. M.; Bao, Z.; Chen, Y. Evaluation of Solution-Processed Reduced Graphene Oxide Films as Transparent Conductors. *ACS Nano* **2008**, 2, 463–470.
 - (57) Wang, X.; Zhi, L.; Müllen, K. Transparent, Conductive Graphene Electrodes for Dye-Sensitized Solar Cells. *Nano Lett.* **2008**, 8, 323–327.
 - (58) Cote, L. J.; Kim, F.; Huang, J. Langmuir # Blodgett Assembly of Graphite Oxide Single Layers Langmuir - Blodgett Assembly of Graphite Oxide Single Layers. **2009**, 131, 1043–1049.
 - (59) Diba, M.; Fam, D. W. H.; Boccaccini, A. R.; Shaffer, M. S. P. Electrophoretic Deposition of Graphene-Related Materials: A Review of the Fundamentals. *Prog. Mater. Sci.* **2016**, 82, 83–117.
 - (60) Wang, J.; Singh, B.; Park, J.-H.; Rath, S.; Lee, I.; Maeng, S.; Joh, H.-I.; Lee, C.-H.; Kim, G.-H. Dielectrophoresis of Graphene Oxide Nanostructures for Hydrogen Gas Sensor at Room Temperature. *Sensors Actuators B Chem.* **2014**, 194, 296–302.
 - (61) Bergveld, P. The Operation of an ISFET as an Electronic Device. *Sensors and Actuators* **1981**, 1, 17–29.
 - (62) Silva, G. O. Biossensor de Ureia Utilizando Dispositivo pH-EGFET, 2013.
 - (63) Helmholtz. Ueber Einige Gesetze. *Ann. Phys.* **1853**, 165, 211–233.
 - (64) Bergveld, P. Development of an Ion-Sensitive Solid-State Device for Neurophysiological Measurements. *IEEE Trans. Biomed. Eng.* **1970**, 70–71.
 - (65) Bergveld, P. Thirty Years of ISFETOLOGY. *Sensors Actuators B Chem.* **2003**, 88, 1–20.
 - (66) Waleed Shinwari, M.; Jamal Deen, M.; Landheer, D. Study of the Electrolyte-Insulator-Semiconductor Field-Effect Transistor (EISFET) with Applications in Biosensor Design. *Microelectron. Reliab.* **2007**, 47, 2025–2057.
 - (67) Ata, M. S.; Sun, Y.; Li, X.; Zhitomirsky, I. Electrophoretic Deposition of Graphene, Carbon Nanotubes and Composites Using Aluminon as Charging and Film Forming Agent. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2012**, 398, 9–16.
 - (68) Hamaker, H. C. Formation of a Deposit by Electrophoresis. *Trans. Faraday Soc.* **1940**, 35, 279–287.
 - (69) Besra, L.; Liu, M. A Review on Fundamentals and Applications of Electrophoretic Deposition (EPD). *Prog. Mater. Sci.* **2007**, 52, 1–61.
 - (70) Miyazaki, C. M. Fabricação de Filmes Ultrafinos Automontados Para Aplicações Em Células a Combustível. **2014**.
 - (71) Silva, G. O.; Mulato, M. Urea Detection Using Commercial Field Effect Transistors. *ECS J. Solid State Sci. Technol.* **2018**, 7, Q3014–Q3019.
 - (72) Kavan, L.; Liska, P.; Zakeeruddin, S. M.; Grätzel, M. Optically Transparent FTO-Free Cathode for Dye-Sensitized Solar Cells. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, 6, 22343–22350.
 - (73) Andersson, A.; Johansson, N.; Bröms, P.; Yu, N.; Lupo, D.; Salaneck, W. R. Fluorine Tin Oxide as an Alternative to Indium Tin Oxide in Polymer LEDs. *Adv. Mater.* **1998**, 10, 859–863.
 - (74) Carli, S.; Casarin, L.; Bergamini, G.; Caramori, S.; Bignozzi, C. A. Conductive PEDOT Covalently Bound to Transparent FTO Electrodes. *J. Phys. Chem. C* **2014**, 118, 16782–16790.
 - (75) van der Spiegel, J.; Lauks, I.; Chan, P.; Babic, D. The Extended Gate Chemically Sensitive Field Effect Transistor as Multi-Species Microprobe. *Sensors and Actuators* **1983**, 4, 291–298.

- (76) Liu, H.; Liu, Y.; Zhu, D. Chemical Doping of Graphene. *J. Mater. Chem.* **2011**, *21*, 3335.
- (77) Dong, X.; Fu, D.; Fang, W.; Shi, Y.; Chen, P.; Li, L. J. Doping Single-Layer Graphene with Aromatic Molecules. *Small* **2009**, *5*, 1422–1426.
- (78) Rao, C. N. R.; Biswas, K.; Subrahmanyam, K. S.; Govindaraj, A. Graphene, the New Nanocarbon. *J. Mater. Chem.* **2009**, *19*, 2457.
- (79) Pimenta, M. A.; Dresselhaus, G.; Dresselhaus, M. S.; Cançado, L. G.; Jorio, A.; Saito, R. Studying Disorder in Graphite-Based Systems by Raman Spectroscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2007**, *9*, 1276–1290.
- (80) An, S. J. FP1-21 Thin Film Fabrication and Simultaneous Reduction of Deposited Graphene Oxide Platelets by Electrophoretic Deposition. 1–2.
- (81) Diba, M.; Garca-Gallastegui, A.; Klupp Taylor, R. N.; Pishbin, F.; Ryan, M. P.; Shaffer, M. S. P.; Boccaccini, A. R. Quantitative Evaluation of Electrophoretic Deposition Kinetics of Graphene Oxide. *Carbon N. Y.* **2014**, *67*, 656–661.
- (82) He, W.; Zhu, L.; Chen, H.; Nan, H.; Li, W.; Liu, H.; Wang, Y. Electrophoretic Deposition of Graphene Oxide as a Corrosion Inhibitor for Sintered NdFeB. *Appl. Surf. Sci.* **2013**, *279*, 416–423.
- (83) Hasan, S. a; Rigueur, J. L.; Harl, R. R.; Krejci, A. J.; Gonzalo-Juan, I.; Rogers, B. R.; Dickerson, J. H. Transferable Graphene Oxide Films with Tunable Microstructures. *ACS Nano* **2010**, *4*, 7367–7372.
- (84) Cho, J.; Konopka, K.; Rozniatowski, K.; Garca-Lecina, E.; Shaffer, M. S. P.; Boccaccini, A. R. Characterisation of Carbon Nanotube Films Deposited by Electrophoretic Deposition. *Carbon N. Y.* **2009**, *47*, 58–67.
- (85) Sarkar, A.; Daniels-Race, T. Electrophoretic Deposition of Carbon Nanotubes on 3-Amino-Propyl-Triethoxysilane (APTES) Surface Functionalized Silicon Substrates. *Nanomaterials* **2013**, *3*, 272–288.
- (86) Silva, G. O.; Michael, Z. P.; Bian, L.; Shurin, G. V.; Mulato, M.; Shurin, M. R.; Star, A. Nanoelectronic Discrimination of Nonmalignant and Malignant Cells Using Nanotube Field-Effect Transistors. *ACS Sensors* **2017**, *2*, 1128–1132.
- (87) Dekker, C. Carbon Nanotubes As Molecular Quantum Wires. *Phys. Today* **1999**, *52*, 22–28.
- (88) Balasubramanian, K.; Burghard, M. Chemically Functionalized Carbon Nanotubes. *Small* **2005**, *1*, 180–192.
- (89) Zhang, Q.; Huang, J. Q.; Qian, W. Z.; Zhang, Y. Y.; Wei, F. The Road for Nanomaterials Industry: A Review of Carbon Nanotube Production, Post-Treatment, and Bulk Applications for Composites and Energy Storage. *Small* **2013**, *9*, 1237–1265.
- (90) Terrones, M. Science and Technology of the Twenty-First Century: Synthesis, Properties, and Applications of Carbon Nanotubes. *Annu. Rev. Mater. Res.* **2003**, *33*, 419–501.
- (91) Kauffman, D. R.; Star, A. Electronically Monitoring Biological Interactions with Carbon Nanotube Field-Effect Transistors. *Chem. Soc. Rev.* **2008**, *37*, 1197.
- (92) Ahmad, R.; Mahmoudi, T.; Ahn, M. S.; Hahn, Y. B. Recent Advances in Nanowires-Based Field-Effect Transistors for Biological Sensor Applications. *Biosens. Bioelectron.* **2018**, *100*, 312–325.
- (93) Svensson, J.; Campbell, E. E. B. Schottky Barriers in Carbon Nanotube-Metal Contacts. *J. Appl. Phys.* **2011**, *110*.
- (94) Appenzeller, J.; Knoch, J.; Derycke, V.; Martel, R.; Wind, S.; Avouris, P. Field-Modulated Carrier Transport in Carbon Nanotube Transistors. *Phys. Rev. Lett.* **2002**, *89*, 126801.
- (95) Kong, J.; Franklin, N. R.; Zhou, C.; Chapline, M. G.; Peng, S.; Cho, K.; Dai, H. Nanotube Molecular Wires as Sensors. *Science (80-.)*. **2000**, *287*, 622–625.
- (96) Kauffman, D. R.; Star, A. Carbon Nanotube Gas and Vapor Sensors. *Angew. Chemie - Int. Ed.* **2008**, *47*, 6550–6570.
- (97) Kauffman, D. R. Spectroscopic and Electrical Investigations into Chemical Interactions with Carbon Nanotubes. **2010**.
- (98) Vedala, H.; Chen, Y.; Cecioni, S.; Imbert, A.; Vidal, S.; Star, A. Nanoelectronic Detection of Lectin-Carbohydrate Interactions Using Carbon Nanotubes. *Nano Lett.* **2011**, *11*, 170–175.
- (99) Chen, Y.; Star, A.; Vidal, S. Sweet Carbon Nanostructures: Carbohydrate Conjugates with Carbon Nanotubes and Graphene and Their Applications. *Chem. Soc. Rev. Chem. Soc. Rev* **2013**, *42*, 4532–4542.
- (100) Mnzer, A. M.; Seo, W.; Morgan, G. J.; Michael, Z.; Zhao, Y. Sensing Reversible Protein-Ligand Interactions with Single-Walled Carbon Nanotube Field-Effect Transistors

- Supporting Information.
- (101) Star, A.; Tu, E.; Niemann, J.; Gabriel, J.-C. P.; Joiner, C. S.; Valcke, C. Label-Free Detection of DNA Hybridization Using Carbon Nanotube Network Field-Effect Transistors. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2006**, *103*, 921–926.
 - (102) Münzer, A. M.; Michael, Z. P.; Star, A. Carbon Nanotubes for the Label-Free Detection of Biomarkers. *ACS Nano* **2013**, *7*, 7448–7453.
 - (103) Allen, B. L.; Kichambare, P. D.; Star, A. Carbon Nanotube Field-Effect-Transistor-Based Biosensors. *Adv. Mater.* **2007**, *19*, 1439–1451.
 - (104) Riul, A.; Dantas, C. a R.; Miyazaki, C. M.; Oliveira, O. N. Recent Advances in Electronic Tongues. *Analyst* **2010**, *135*, 2481–2495.
 - (105) Martínez-Máñez, R.; Soto, J.; Garcia-Breijo, E.; Gil, L.; Ibáñez, J.; Llobet, E. An “electronic Tongue” design for the Qualitative Analysis of Natural Waters. *Sensors Actuators, B Chem.* **2005**, *104*, 302–307.
 - (106) Toko, K. Taste Sensor with Global Selectivity. *Mater. Sci. Eng. C* **1996**, *4*, 69–82.
 - (107) Litvinenko, S. V.; Bielobrov, D.; Lysenko, V.; Nychporuk, T.; Skryshevsky, V. A. Might Silicon Surface Be Used for Electronic Tongue Application? *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2014**, *6*, 18440–18444.
 - (108) Cet??, X.; Gonz??lez-Calabuig, A.; Crespo, N.; P??rez, S.; Capdevila, J.; Puig-Pujol, A.; Valle, M. del. Electronic Tongues to Assess Wine Sensory Descriptors. *Talanta* **2017**, *162*, 218–224.
 - (109) Medina-Plaza, C.; de Saja, J. A.; Fern??ndez-Escudero, J. A.; Barajas, E.; Medrano, G.; Rodriguez-Mendez, M. L. Array of Biosensors for Discrimination of Grapes according to Grape Variety, Vintage and Ripeness. *Anal. Chim. Acta* **2016**, *947*, 16–22.
 - (110) Lee, D. S.; Jung, H. Y.; Lim, J. W.; Lee, M.; Ban, S. W.; Huh, J. S.; Lee, D. D. Explosive Gas Recognition System Using Thick Film Sensor Array and Neural Network. *Sensors Actuators, B Chem.* **2000**, *71*, 90–98.
 - (111) Peveler, W. J.; Roldan, A.; Hollingsworth, N.; Porter, M. J.; Parkin, I. P. Multichannel Detection and Differentiation of Explosives with a Quantum Dot Array. *ACS Nano* **2016**, *10*, 1139–1146.
 - (112) Thévenot, D. R.; Toth, K.; Durst, R. A.; Wilson, G. S. Electrochemical Biosensors: Recommended Definitions and Classification. *Biosens. Bioelectron.* **2001**, *16*, 121–131.
 - (113) Khan, M. R. R.; Khalilian, A.; Kang, S. W. A High Sensitivity IDC-Electronic Tongue Using Dielectric/sensing Membranes with Solvatochromic Dyes. *Sensors (Switzerland)* **2016**, *16*.
 - (114) Daikuzono, C. M.; Dantas, C. A. R.; Volpati, D.; Constantino, C. J. L.; Piazzetta, M. H. O.; Gobbi, A. L.; Taylor, D. M.; Oliveira, O. N.; Riul, A. Microfluidic Electronic Tongue. *Sensors Actuators, B Chem.* **2015**, *207*, 1129–1135.
 - (115) Medina-Plaza, C.; Revilla, G.; Muñoz, R.; Fernández-Escudero, J. A.; Barajas, E.; Medrano, G.; de Saja, J. A.; Rodriguez-Mendez, M. L. Electronic Tongue Formed by Sensors and Biosensors Containing Phthalocyanines as Electron Mediators: Application to the Analysis of Red Grapes. *J. Porphyr. Phthalocyanines* **2014**, *18*, 76–86.
 - (116) Jurs, P. C.; Bakken, G. A.; McClelland, H. E. Computational Methods for the Analysis of Chemical Sensor Array Data from Volatile Analytes. *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 2649–2678.
 - (117) Berrueta, L. A.; Alonso-Salces, R. M.; Héberger, K. Supervised Pattern Recognition in Food Analysis. *Journal of Chromatography A*, 2007, *1158*, 196–214.
 - (118) Srinivas, P. R.; Kramer, B. S.; Srivastava, S. Trends in Biomarker Research for Cancer Detection. *Lancet Oncol.* **2001**, *2*, 698–704.
 - (119) Chandra, P.; Noh, H.-B.; Shim, Y.-B. Cancer Cell Detection Based on the Interaction between an Anticancer Drug and Cell Membrane Components. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1900.
 - (120) Abi, A.; Mohammadpour, Z.; Zuo, X.; Safavi, A. Nucleic Acid-Based Electrochemical Nanobiosensors. *Biosens. Bioelectron.* **2018**, *102*, 479–489.
 - (121) Andreescu, S.; Sadik, O. A. Advanced Electrochemical Sensors for Cell Cancer Monitoring. *Methods* **2005**, *37*, 84–93.
 - (122) Heller, I.; Janssens, A. M.; Männik, J.; Minot, E. D.; Lemay, S. G.; Dekker, C. Identifying the Mechanism of Biosensing with Carbon Nanotube Transistors. *Nano Lett.* **2008**, *8*, 591–595.
 - (123) Gou, P.; Kraut, N. D.; Feigel, I. M.; Bai, H.; Morgan, G. J.; Chen, Y.; Tang, Y.; Bocan, K.; Stachel, J.; Berger, L.; *et al.* Carbon Nanotube Chemiresistor for Wireless pH Sensing. *Sci. Rep.* **2014**, *4*, 4468.

- (124) Georgakilas, V.; Gournis, D.; Tzitzios, V.; Pasquato, L.; Guldi, D. M.; Prato, M. Decorating Carbon Nanotubes with Metal or Semiconductor Nanoparticles. *J. Mater. Chem.* **2007**, *17*, 2679.
- (125) Quinn, B. M.; Dekker, C.; Lemay, S. G. Electrodeposition of Noble Metal Nanoparticles on Carbon Nanotubes. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 6146–6147.
- (126) Ding, M.; Sorescu, D. C.; Kotchey, G. P.; Star, A. Welding of Gold Nanoparticles on Graphitic Templates for Chemical Sensing. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 3472–3479.
- (127) Dai, J.; Li, Z.; Jin, J.; Cheng, J.; Kong, J.; Bi, S. Study of the Solvent Effect on the Quality of Dodecanethiol Self-Assembled Monolayers on Polycrystalline Gold. *J. Electroanal. Chem.* **2008**, *624*, 315–322.
- (128) Vokert, A.; Subramaniam, V.; Ivanov, M.; Goodman, A.; Haes, A. Salt-Mediated Self Assembly of Thioctic Acid on Gold Nanoparticles. *ACS Nano* **2011**, *5*, 25–41.
- (129) Ortiz-Conde, A.; García-Sánchez, F. J.; Muci, J.; Terán Barrios, A.; Liou, J. J.; Ho, C. S. Revisiting MOSFET Threshold Voltage Extraction Methods. *Microelectron. Reliab.* **2013**, *53*, 90–104.
- (130) Xue, W.; Li, P. Dielectrophoretic Deposition and Alignment of Carbon Nanotubes. In *Carbon Nanotubes - Synthesis, Characterization, Applications*; 2011.
- (131) Kauffman, D. R.; Star, A. Chemically Induced Potential Barriers at the Carbon Nanotube-Metal Nanoparticle Interface. *Nano Lett* **2007**, *7*, 1863–1868.

APENDICE A

Tabelas contendo todos os valores de sensibilidade, erro, ajuste linear e janela de trabalho, em função do tempo de deposição e soluções tampões utilizadas.

Tampão misto (pHs 2 a 12)

pH 2 a 7: ácido cítrico e fosfato de sódio bibásico (Tampão Mcllvaine)

pH 8 a 10: ácido bórico, cloreto de potássio e hidróxido de Sódio

pH 11 e 12: hidróxido de sódio bibásico e hidróxido de sódio (Tampão de Ringer)

GT T _d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	67	±2	0,99	pH 2 a 8
60	69	±1	0,99	pH 2 a 8
120	60	±3	0,98	pH 2 a 8
180	46	±3	0,97	pH 2 a 7
300	47	±4	0,95	pH 2 a 9

GT T _d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	24	± 3	0,94	pH 8 a 12
60	24	±5	0,83	pH 8 a 12
120	18	±3	0,90	pH 8 a 11
180	7	±4	0,28	pH 8 a 12
300	–	–	–	–

GPSS T _d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	77	±1	0,99	pH 2 a 7
60	57	±3	0,97	pH 2 a 10
120	54	±3	0,97	pH 2 a 10
180	55	±4	0,96	pH 2 a 10
300	53	±5	0,92	pH 2 a 10

GS T _d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	43	±2	0,99	pH 4 a 7
60	75	±3	0,99	pH 2 a 9
120	61	±4	0,96	pH 2 a 9
180	60	±4	0,97	pH 2 a 9
300	69	±2	0,99	pH 2 a 9

GS T _d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	16	±3	0,85	pH 8 a 12
60	32	±6	0,87	pH 8 a 12
120	23	±4	0,88	pH 8 a 12
180	24	±3	0,92	pH 8 a 12
300	30	±2	0,99	pH 8 a 12

Considerando somente Tampão McIlvaine, pHs 2 a 7

pH 2 a 7: ácido cítrico e fosfato de sódio bibásico (Tampão McIlvaine)

GT T _d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	74	±1	0,99	pH 2 a 7
60	72	±1	0,99	pH 2 a 7
120	66	±4	0,98	pH 2 a 7
180	47	±3	0,99	pH 2 a 7
300	63	±3	0,99	pH 2 a 7

GPSS T _d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	77	±1	0,99	pH 2 a 7
60	75	±1	0,99	pH 2 a 7
120	67	±1	0,99	pH 2 a 7
180	75	±1	0,99	pH 2 a 7
300	75	±2	0,99	pH 2 a 7

GS T _d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	48	±5	0,98	pH 2 a 7
60	84	±3	0,99	pH 2 a 7
120	74	±1	0,99	pH 2 a 7
180	77	±2	0,99	pH 2 a 7
300	83	±3	0,99	pH 2 a 7

Tampão Fosfato, pHs 2 a 12

H_3PO_4 , NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , NaOH

GT T_d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	67	±3	0.98	pH 2 a 8
60	67	±3	0.99	pH 2 a 8
120	61	±3	0.98	pH 2 a 8
180	63	±4	0.97	pH 2 a 8
300	64	±3	0.98	pH 2 a 8
3600	29	±4	0.91	pH 4 a 12

GT T_d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	23	±1	0.99	pH 8 a 12
60	25	±1	0.99	pH 8 a 12
120	26	±3	0.98	pH 8 a 12
180	25	±2	0.98	pH 8 a 12
300	28	±1	0.99	pH 8 a 12

GPSS T_d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	57	±4	0.97	pH 2 a 12
60	57	±6	0.94	pH 2 a 10
120	54	±5	0.96	pH 2 a 10
180	52	±5	0.94	pH 2 a 10
300	44	±3	0.96	pH 2 a 12
3600	21	±3	0.92	pH 4 a 12

GS T_d (s)	Sensibilidade (mV·pH ⁻¹)	Erro (mV)	R-Square	Janela de trabalho
30	62	±4	0.98	pH 2 a 7
60	58	±4	0.96	pH 2 a 10
120	57	±5	0.94	pH 2 a 10
180	47	±2	0.98	pH 2 a 12
300	48	±2	0.98	pH 2 a 12
3600	48	±1	0.99	pH 2 a 12