



República Federativa do Brasil

Ministério do Desenvolvimento, Indústria,  
Comércio e Serviços

Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) BR 102022006496-2 A2

(22) Data do Depósito: 04/04/2022

(43) Data da Publicação Nacional:  
17/10/2023

(54) **Título:** DISPOSITIVO HÍBRIDO ELÉTRICO-ELETROQUÍMICO BASEADO EM HETEROJUNÇÃO DE VAN DER WAALS DE GRAFENO MONOCAMADA E FERROCENO

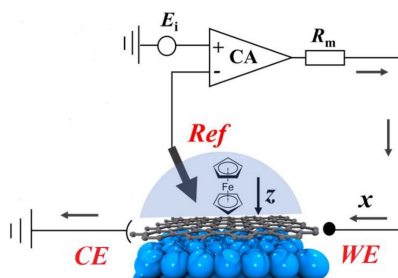
(51) **Int. Cl.:** G01N 27/327.

(52) **CPC:** G01N 27/327; G01N 27/3275.

(71) **Depositante(es):** UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO - USP.

(72) **Inventor(es):** ISABELA ALTEIA MATTIOLI; FRANK NELSON CRESPILO.

(57) **Resumo:** DISPOSITIVO HÍBRIDO ELÉTRICO-ELETROQUÍMICO BASEADO EM HETEROJUNÇÃO DE VAN DER WAALS DE GRAFENO MONOCAMADA E FERROCENO. A presente invenção se refere a um dispositivo elétrico-eletoquímico vertical, denominado DEEV, que compreende uma heterojunção de van der Waals de grafeno monocamada suportado em chips de Si/SiO<sub>2</sub> e ferroceno adsorvido sobre o grafeno (heterojunção grafeno-fc). A presente invenção tem a finalidade de permitir detecções analíticas baseadas na adsorção dos analitos-alvo na interface de grafeno a partir de variações do potencial de interface do dispositivo. O funcionamento dos DEEVs se dá a partir da conexão direta dos dois terminais por meio da heterojunção grafeno-fc (contatos elétricos), eletrodo de trabalho (WE) e contra-eletoelrodo (CE), em curto-circuito, cujo potencial de varredura no WE se dá em relação ao eletrodo de referência, RE, conectado em posição ortonormal ao plano basal do grafeno.



**DISPOSITIVO HÍBRIDO ELÉTRICO-ELETROQUÍMICO BASEADO EM  
HETEROJUNÇÃO DE VAN DER WAALS DE GRAFENO MONOCAMADA E  
FERROCENO**

**Campo da Invenção**

[001] A presente invenção se insere no domínio da Química e Materiais, em particular na eletroquímica e na aplicação de transístores de efeito de campo de grafeno em biossensoriamento, bem como de biossensores eletroquímicos visando a detecção de biomoléculas de interesse, e se refere a um dispositivo híbrido elétrico-eletroquímico baseado em heterojunção de van der Waals de grafeno monocamada e ferroceno. O dispositivo tem a finalidade de detectar analitos baseado na adsorção dos analitos-alvo na interface de grafeno.

**Fundamentos da Invenção**

[002] Transístores de efeito de campo de grafeno (GFETs, sigla em inglês) são conhecidos por serem dispositivos de biossensor altamente sensíveis e terem aplicações potenciais no desenvolvimento de sensores portáteis e miniaturizados (Macedo et al., 2019). A detecção eficaz de uma série de espécies biologicamente relevantes usando GFETs já foi relatada na literatura para glicose (Kwak et al., 2012), HIV e doenças relacionadas (Islam et al., 2019b), antígeno embrionário carcinogênico (Zhou et al., 2019), nucleobases de DNA e moléculas de DNA de fita simples (ssDNA) (Dontschuk et al., 2015; Kim et al., 2019; Sun et al., 2019), para citar alguns.

[003] Especificamente, a detecção de DNA de fita simples é de particular importância para o diagnóstico de doenças genéticas, terapia gênica e desenvolvimento de

metodologias de saúde (Cinti et al., 2018; Sun et al., 2019). Recentemente, a resposta fisiológica das células devido ao dano ao DNA pôde ser melhor compreendida por meio de quantificações de ssDNA (Bantele et al., 2019), onde ssDNA foi usado como um biomarcador para identificação e quantificação de danos ao DNA, uma vez que o ssDNA é frequentemente encontrado em locais de lesão do material genético devido ao processamento de danos (Bantele et al., 2019). Além disso, há uma ampla gama de aplicações emergentes para ssDNA em estudos envolvendo aptâmeros, sondas de hibridização e a elucidação de mecanismos de recombinação de DNA para biologia molecular (Damase et al., 2017; Yang e Ha, 2018).

[004] Neste contexto, muitos dos GFETs já relatados para quantificações analíticas de moléculas baseadas em DNA são considerados ultrassensíveis e geralmente envolvem procedimentos litográficos caros (Cai et al., 2014; Campos et al., 2019; Fu et al., 2017; Sun et al., 2019) e metodologias não triviais para a sua preparação. No entanto, poucos são capazes de atingir o atto-molar (Campos et al., 2019) e limites de detecção zepto-molar (Hwang et al., 2020) (LOD) por meio de técnicas elétricas e eletroquímicas. Portanto, é necessário melhorar a sensibilidade dos dispositivos analíticos à base de grafeno para chegar um passo mais perto da detecção de uma única molécula.

[005] Embora muitos esforços tenham sido feitos para empregar grafeno monocamada puro para o desenvolvimento e aplicação de GFETs sensíveis, a funcionalização ainda é frequentemente usada para melhorar o limite de detecção (LOD) e a reprodutibilidade (Eissa et al., 2015; Macedo et al.,

2018). Para conseguir isso, é realizado uma funcionalização covalente com sais de diazônio (Xia et al., 2016), peróxidos de benzoíla (Lonkar et al., 2015) e a produção de óxido de grafeno reduzido (Lei et al., 2017; Thakur et al., 2018) têm sido algumas das principais estratégias adotadas. No entanto, esses métodos frequentemente envolvem a ruptura das ligações  $sp^2$  no plano basal do grafeno, o que reduz a condutividade eletrônica do grafeno (Macedo et al., 2018).

[006] Uma alternativa interessante é o desenvolvimento de heterojunções de van der Waals (vdW) com ferroceno. Como discutido no estado da técnica (Gao et al., 2011; Nigar et al., 2019; Zribi et al., 2019), a adsorção de ferroceno no grafeno por fisissorção não envolve hibridização ou ligação covalente do substrato e moléculas de ferroceno. Portanto, grafeno e ferroceno interagem por acoplamento  $\pi$ - $\pi$  resultante de interações vdW fracas. Consequentemente, a rede  $sp^2$  e a estrutura da banda do grafeno são mantidas intactas após a adsorção do ferroceno (Nigar et al., 2019).

[007] O desenvolvimento da interface vdW com uma monocamada de grafeno também melhora a condutividade do plano basal e a concentração de portadores de carga, resultando no aumento da sensibilidade da heterojunção resultante (Zribi et al., 2019). Esses fenômenos foram monitorados anteriormente em termos de mudanças no ponto de neutralidade de carga (CNP) do grafeno usando espectroscopia Raman (Van Den Beld et al., 2017). Poucos conhecimentos contidos no estado da técnica usaram ferroceno para investigações de *band-gap* em grafeno puro (Zribi et al., 2019) e aplicações de biossensor (Rabti et al., 2016).

[008] A vantagem adicional de utilizar este sistema é a possibilidade de observar o processo faradaico na interface devido à transferência de elétrons no centro redox ativo do ferroceno quando irreversivelmente adsorvido no grafeno. A ocorrência de transferência de elétrons em heterojunções semelhantes já foi demonstrada em alguns estudos (Lima et al., 2014; Zribi et al., 2019) e pode ser usada para observar, estudar e desenvolver métodos analíticos baseados em características eletroquímicas das heterojunções de grafeno (Neubert et al., 2020).

[009] Além dos problemas mencionados acima, frequentemente enfrentados em aplicações dos GFET, outro problema relacionado à sua implementação como dispositivos de detecção envolve o uso frequente de  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$  como eletrodo de porta polarizável para monitoramento de CNP. Do ponto de vista eletroquímico, esse processo é inadequado devido às características não polarizáveis dos eletrodos de referência, levando a medições de potencial CNP imprecisas e não estáveis.

[010] Diante do exposto, e de forma a solucionar os problemas técnicos mencionados anteriormente, é proposto na presente invenção uma nova configuração de dispositivo, o dispositivo híbrido eletro-eletroquímico vertical, denominado DEEV. A estratégia combina uma heterojunção grafeno-ferroceno alinhada horizontalmente, na qual o dispositivo é conectado em uma configuração de "curto-circuito", mantendo assim a configuração convencional de três eletrodos. Comparando o desempenho do dispositivo DEEV com a configuração GFET tradicional, os DEEVs representam um dispositivo de custo mais baixo do que os dispositivos

relatados no estado da técnica, o que é vantajoso para o desenvolvimento de estratégias de biossensorização econômicas.

### **Estado da Técnica**

[011] O documento Rabti et. al (2016), intitulado "*Bio(sensing) devices based on ferrocene-functionalized graphene and carbon nanotubes*" aborda do uso de grafeno e nanotubos de carbono funcionalizados com ferroceno. De fato, o uso do ferroceno para funcionalização de grafeno não é um aspecto inédito do estado da técnica. No entanto, o uso da heterojunção de grafeno e ferroceno proposta na presente invenção é inédito, uma vez que envolve um mecanismo híbrido de funcionamento com princípios elétricos e eletroquímicos. No trabalho descrito acima, o uso dos compostos baseados em grafeno e ferroceno são voltados apenas para estudos eletroquímicos, cujos princípios base de funcionamento são significativamente diferentes dos princípios dos DEEVs de grafeno e ferroceno.

[012] O documento CN110579523B descreve e protege um biossensor para detectar chumbo e um método de preparação e aplicação do biossensor. No entanto, é utilizado óxido de grafeno reduzido, um composto derivado de grafeno, mas com propriedades diferentes do grafeno pristino utilizado na presente invenção. Além disso, o composto baseado em óxido de grafeno reduzido conta com a presença não apenas de ferroceno, mas também de nanopartículas de ouro e outros "probes", compostos extra que dão novas características e propriedades diferentes da heterojunção de grafeno pristino e ferroceno utilizada nos DEEVs. Ainda, o composto proposto pelos autores é utilizado para modificação de um eletrodo de

carbono vítreo. Na presente invenção, a própria heterojunção grafeno-ferroceno é o material eletródico base. Ainda, assim, o referido documento é voltado para técnicas puramente eletroquímicas, não há proposta de mecanismo híbrido elétrico-eletroquímico com a configuração dos DEEVs. Assim, os materiais bem como os resultados que são obtidos com o material são significativamente diferentes dos dados que podem ser coletados com os DEEVs, ainda que ambos os trabalhos tenham a finalidade de biossensoriamento.

[013] O documento Singh et. al (2020), intitulado *"Design of a sensitive electrochemical sensor based on ferrocene-reduced graphene oxide/mn-spinel for hydrazine detection"* estabelece um eletrodo de carbono vítreo modificado com óxido de grafeno-Mn reduzido de ferroceno (Fc-G/Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub>/GCE) como uma sonda eletroquímica sensível para a detecção de hidrazina por meio de sua oxidação. Entretanto, assim como o documento mencionado anteriormente, é utilizado óxido de grafeno reduzido ao invés de grafeno pristino, e o composto caracterizado por uma mistura entre óxido de grafeno reduzido, ferroceno, e nanopartículas de magnetita é utilizado para modificação de um eletrodo de carbono vítreo. Esta mistura tem propriedades diferentes da heterojunção de grafeno e ferroceno utilizada na presente invenção. Estes eletrodos de carbono vítreo não são utilizados na presente invenção e não podem ser aplicados para estudos híbridos elétrico-eletroquímicos como propostos com os DEEVs de grafeno e ferroceno, isso porque nos DEEVs é primordial a conexão em "curto-circuito" entre os terminais WE e CE para que haja passagem no plano basal da heterojunção. Os eletrodos de carbono vítreo são cilíndricos e não possuem

estas propriedades físicas e químicas. Assim, estes eletrodos são voltados apenas para estudos eletroquímicos, e não para estudos elétrico-eletroquímicos que são possibilitados pelos DEEVs.

[014] O documento CN110208343A aborda um tipo de método de preparação para o sensor biológico eletroquímico para a detecção de aflatoxina B1. Neste documento, são utilizados mecanismos muito similares aos que são aplicados no documento Singh et. al (2020). Isso inclui o uso de uma mistura contendo óxido de grafeno reduzido, ferroceno e outras moléculas para modificação de um eletrodo de carbono vítreo visando biossensoriamento. Pelas mesmas razões mencionadas anteriormente, a invenção em tela apresenta diferenças relevantes em relação ao referido documento.

[015] O documento Guo et. al (2020), intitulado "*A facile ratiometric electrochemical sensor for sensitive 4-acetamidophenol determination based on ferrocene-graphene oxide-nafion modified electrode*" descreve um complexo baseado em interações eletrostáticas entre ferroceno e outro derivado de grafeno, o óxido de grafeno. Isso difere da heterojunção dos DEEVs, em que grafeno pristino é utilizado e o ferroceno se adsorve a esta superfície por interações de van der Waals. Novamente, propõe-se uma mistura que apresenta óxido de grafeno e ferroceno para modificação de um eletrodo de carbono vítreo, que não pode ser utilizado da mesma forma que os DEEVs. Assim, o eletrodo utilizado no referido documento para aplicações puramente eletroquímicas possui princípios de funcionamento diferentes dos DEEVs, com passagem de corrente pelo plano basal da heterojunção e princípios de funcionamento híbridos elétrico-



eletroquímicos.

[016] E por fim, o documento CN110514713A protege um composto formado por uma mistura de óxido de grafeno (e não grafeno pristino, como usado nos DEEVs). Esta mistura é adicionada na superfície de um eletrodo impresso de carbono, formado por um material *bulk* com propriedades significativamente diferentes da heterojunção composta por grafeno pristino com espessura de monocamada atômica e ferroceno da presente invenção. Ainda, a heterojunção da presente invenção é o material eletródico base, e no referido documento, é o eletrodo de carbono impresso. Por fim, estudos eletroquímicos são realizados, e não estudos híbridos elétrico-eletroquímicos.

[017] Diante do exposto, em nenhum documento encontrado no estado da técnica é apresentada a aplicação de uma heterojunção de grafeno pristino e ferroceno como eletrodo para um dispositivo cujos princípios de funcionamento envolvem princípios elétricos (com a passagem de corrente pelo plano basal da heterojunção e conexão direta entre os terminais WE e CE através desta heterojunção) e eletroquímicos (caracterizados pelo uso do eletrodo Ag/AgCl<sub>sat</sub> como eletrodo de referência para modular a varredura de potencial entre os terminais WE e CE).

#### **Breve descrição da invenção**

[018] A presente invenção se refere a um dispositivo elétrico-eletroquímico vertical, denominado DEEV, que compreende uma heterojunção de van der Waals de grafeno monocamada suportado em chips de Si/SiO<sub>2</sub> e ferroceno adsorvido sobre o grafeno (heterojunção grafeno-fc). A presente invenção tem a finalidade de permitir detecções

analíticas baseadas na adsorção dos analitos-alvo na interface de grafeno a partir de variações do potencial de interface do dispositivo. O funcionamento dos DEEVs se dá a partir da conexão direta dos dois terminais por meio da heterojunção grafeno-fc (contatos elétricos), eletrodo de trabalho (WE) e contra-eletrodo (CE), em “curto-circuito”, cujo potencial de varredura no WE se dá em relação ao eletrodo de referência, RE, conectado em posição ortonormal ao plano basal do grafeno.

#### **Breve descrição das figuras**

[019] Para complementar a presente descrição, de modo a obter uma melhor compreensão das características do presente invento e, de acordo, com uma preferencial realização prática do mesmo, acompanha a descrição em anexo, um conjunto de figuras, onde de maneira exemplificada, embora não limitativa, se representou seu funcionamento.

[020] Na Figura 1 é mostrada uma representação esquemática do funcionamento de um DEEV baseado em uma heterojunção de grafeno-fc.

[021] Na Figura 2 são mostradas curvas  $I$ - $V$  para DEEV baseado na heterojunção grafeno-fc obtidas no sentido para potenciais mais positivos (curvas alaranjadas, oxidação do fc) e no sentido para potenciais mais negativos (curvas verdes, redução do fc), em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7.2,  $n = 5 \text{ mV s}^{-1}$ .

[022] Na Figura 3 é apresentada a curva de calibração para detecções de ssDNA no intervalo de concentração de  $1 \text{ mol L}^{-1} - 1 \text{ mmol L}^{-1}$  em tampão fosfato  $0,1 \text{ mol L}^{-1}$  pH 7.2 com o DEEV baseado em grafeno-fc.

[023] Na Figura 4 é mostrada uma representação

esquemática da produção dos DEEVs.

[024] Na Figura 5 é mostrado um gráfico do perfil de corrente de fuga das interfaces grafeno e grafeno-fc como uma função de varreduras de potencial de porta com Ag/AgCl sat usado como eletrodo de porta no GFET configuração.

[025] Na Figura 6 são mostrados os gráficos de Nyquist, confirmando que o grafeno puro exhibe comportamento capacitivo puro, com  $R_{ct}$  tendendo ao infinito na ausência de uma espécie eletroativa.

[026] Na Figura 7 é mostrado o gráfico obtido da espectroscopia Raman aplicada para a caracterização de heterojunção grafeno-fc e grafeno-fc-ssDNA.

[027] Na Figura 8 é mostrado como ocorre a detecção de ssDNA usando os DEEVs com base na interface grafeno-fc.

#### **Descrição detalhada da invenção**

[028] A presente invenção se refere a um dispositivo elétrico-eletroquímico vertical, denominado DEEV, que compreende uma heterojunção de van der Waals de grafeno monocamada suportado em chips de Si/SiO<sub>2</sub> e ferroceno adsorvido sobre o grafeno (heterojunção grafeno-fc). Estes dispositivos são obtidos pelo processo de transferência de grafeno monocamada mediada por polímero.

[029] Conforme mostrado na Figura 1, os DEEVs consistem em pelo menos um chip de Si/SiO<sub>2</sub> com contatos elétricos de ouro (Au) sobre o qual encontra-se aderida uma heterojunção composta de grafeno em monocamada e ferroceno (grafeno-fc). Esta heterojunção é baseada em interações de van der Waals entre os dois componentes. Os DEEVs apresentam dois terminais cujos contatos elétricos são feitos por uma camada nanométrica de Au (10 nm). A um destes contatos é

designada a função de “eletrodo de trabalho” (WE, do inglês, *working electrode*), e ao outro, a função de contra-eletrodo (CE, do inglês, *counter electrode*). Uma vez que ambos os terminais são equivalentes e fazem contato com a heterojunção grafeno-fc do mesmo modo, não há preferência para a designação de WE e CE em um ou outro terminal, especificamente.

[030] Assim que os terminais WE e CE são conectados diretamente, a passagem de corrente elétrica do WE para o CE é feita através do plano basal da heterojunção grafeno-fc. Como o grafeno em monocamada é largamente conhecido pela sua alta mobilidade de carga no plano basal, a passagem de corrente entre WE e CE ocorre com alta intensidade, apesar da ocorrência de perda parcial de mobilidade de carga no plano basal devido à aderência do grafeno em um substrato recoberto por SiO<sub>2</sub>.

[031] Desta forma, a presente configuração, similar a um “curto-circuito entre WE e CE”, proporciona aos DEEVs uma resposta de corrente em função de uma perturbação de potencial muito maior do que os transistores de efeito de campo, dispositivos com configuração similar aos DEEVs. A varredura de potencial feita em WE ocorre com relação a um eletrodo de referência não-polarizável do tipo Ag/AgCl em KCl saturado (Ag/AgCl<sub>sat</sub>). Este eletrodo é conectado em um terceiro terminal e é posicionado perpendicularmente ao plano basal da heterojunção grafeno-fc.

[032] O uso do eletrodo de referência nos DEEVs é fundamental para a diferenciação do dispositivo aqui proposto com relação aos transistores de efeito de campo de grafeno (GFETs, do inglês, *Graphene Field-Effect*

*Transistors*). Nos GFETs a varredura de potencial ocorre no eletrodo Ag/AgCl<sub>sat</sub>, comumente designado por *Gate Electrode*. Nos DEEVs, por sua vez, o eletrodo Ag/AgCl<sub>sat</sub> atua como um eletrodo de referência não-polarizável segundo princípios eletroquímicos e conforme é feito em configurações de células eletroquímicas padrão de três eletrodos. Sendo assim, os DEEVs não contam com modulação de campo elétrico e, portanto, não apresentam efeito de campo. A contribuição em potencial de interface feita pelo eletrodo RE Ag/AgCl<sub>sat</sub> consiste no seu potencial intrínseco de 0.197 V vs. SHE (do inglês, *Standard Hydrogen Electrode*).

[033] Ao utilizar a configuração em curto-circuito, aproxima-se da configuração convencional de uma célula eletroquímica de três eletrodos ao utilizar o RE Ag/AgCl<sub>sat</sub> como um eletrodo de referência, e não como um *gate electrode*. Com isso, é possível monitorar fenômenos faradaicos de um componente eletroquimicamente ativo, como no caso do ferroceno na heterojunção grafeno-fc. Os fenômenos faradaicos, ou seja, processos de transferência de elétrons, são verticais, ocorrendo no plano ortonormal ao plano basal do grafeno. Desta forma, propõe-se que parte da corrente entre os terminais WE e CE dos DEEVs se deve a contribuições faradaicas no eixo z. Isto pôde ser comprovado pela observação de picos redox referentes ao ferroceno em curvas *I-V* dos DEEVs de grafeno-fc, conforme ilustrado na Figura 2.

#### Fabricação do dispositivo (DEEV)

[034] Brevemente, chips de silício (Si) recobertos com 90 nm de SiO<sub>2</sub> foram, em uma primeira etapa, limpos em solução piranha (3H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> : 1H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), água deionizada e isopropanol, respectivamente. Então, para formação de

contatos elétricos, filmes finos de 10 nm de titânio (Ti) e 20 nm de ouro (Au) foram feitos nas extremidades destes chips, separados por uma distância de aproximadamente 700 nm. Os substratos resultantes foram, então, limpos novamente em isopropanol.

[035] Em seguida, partiu-se para a transferência úmida de grafeno crescido por CVD em folha de cobre (Cu) para a superfície destes substratos. Para isso, obtiveram-se pequenos recortes de grafeno CVD em folha de Cu de aproximadamente 1 mm<sup>2</sup> de área. A estes recortes, um volume de 6,5 µL de poliestireno em tolueno foi adicionado. Este filme polimérico foi seco por 10 minutos a 70°C, em atmosfera ambiente. Feito isso, os recortes recobertos com poliestireno foram adicionados à uma solução "etching" para remoção da folha de Cu, contendo 40 mL de água deionizada, 7,5 mL de HCl 37% e 2,5 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30-32%. Após corrosão da folha de Cu, o material restante deste procedimento consiste na folha de grafeno CVD recoberta com poliestireno que, devido ao seu caráter hidrofóbico, não decanta na solução "etching".

[036] Após lavagem com água deionizada, o substrato de Si/SiO<sub>2</sub> foi imerso na solução e emergido de modo a levar em sua superfície o recorte de grafeno recoberto com poliestireno. Assim, em seguida, o substrato com o grafeno já transferido foi seco em atmosfera ambiente a 90°C por 15 minutos. Por fim, o filme de poliestireno é removido por lavagens com tolueno. Como última etapa, procedeu-se com o isolamento elétrico do canal do dispositivo no qual o grafeno monocamada encontra-se depositado pela aplicação de um filme de resina nitrocelulose.

[037] O depósito do filme é feito de modo a expor para o meio reacional apenas a superfície do grafeno depositado. Além disso, este depósito foi feito em um arranjo no qual fosse possível fazer o despejo de algumas gotas de eletrólito na superfície do grafeno para a realização dos experimentos em condições miniaturizadas (*on drop*).

[038] Os contatos elétricos de Ti para os DEEVs foram criados usando um evaporador com um feixe de elétrons de 8 kV. Os contatos de Au foram depositados em um evaporador (corrente de 100 mA e taxa de deposição de  $1 \text{ nm s}^{-1}$ ). Os experimentos eletroquímicos foram realizados em um potenciostato/galvanostato com um módulo de impedância FRA32, gerenciado por um software usando  $\text{Ag/AgCl}_{\text{sat}}$  como eletrodo de referência e um fio de Pt como eletrodo auxiliar. Os experimentos de efeitos de campo foram realizados em uma unidade medidor de fonte, usando  $\text{Ag/AgCl}_{\text{sat}}$  e uma gota de 40  $\mu\text{L}$  de eletrólito como eletrodo de porta. Os dados da espectroscopia Raman foram adquiridos usando um software em um espectrômetro. Um laser HeNe 633 nm com ponto de  $0,86 \mu\text{m}$  para aumento de 100x foi aplicado com um tempo de aquisição de 1s para 64 espectros.

[039] Para confecção dos DEEVs, realizou-se uma deposição química de vapor (CVD) de grafeno de monocamada crescido em folha de cobre (Cu). Foi utilizado ssDNA (tecnologia de DNA integrada, EUA) com o seguinte código genético: 20A (5-GTG AGC TAA CGT GTC AGT AC-3). Todas as soluções aquosas foram preparadas usando água desionizada ( $> 18 \text{ M}\Omega \text{ cm}$ ).

[040] Os DEEVs são preparados usando CVD monocamada de grafeno transferido para um substrato de  $\text{SiO}_2/\text{Si}$  ( $\phi = 90$

nm) com contatos elétricos consistindo em 10 nm de Ti e 20 nm de Au. Antes da preparação, todos os chips de SiO<sub>2</sub>/Si foram limpos em uma solução de piranha (3 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: 1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), seguido de enxágue com água desionizada e isopropanol. Em seguida, a transferência de grafeno monocamada CVD foi realizada da seguinte forma: aproximadamente 10 µL de poliestireno em tolueno foi inicialmente moldado por gota na superfície de um pequeno pedaço de grafeno monocamada cultivado em CVD suportado por Cu e depois seco a 70°C em um forno por 10 min.

[041] O Cu foi então removido por meio de uma solução de corrosão (HCl e H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), abandonando o grafeno suportado em poliestireno. O grafeno foi então transferido para um substrato SiO<sub>2</sub>/Si e finalmente pré-recozido a 90°C por 15 min. Após o resfriamento à temperatura ambiente, o poliestireno foi dissolvido do chip usando tolueno e o chip foi recozido a 585°C por 1 minuto sob uma atmosfera de ar inerte. Qualquer resíduo de Cu remanescente do procedimento de transferência foi removido por ataque eletroquímico em 0,10 mol.L<sup>-1</sup> HCl usando voltametria cíclica.

[042] Os experimentos de curto-circuito foram realizados em um potenciostato/galvanostato. O terminal do dreno foi conectado a um terminal de contra-eletrodo (CE) e o terminal da fonte foi conectado a um terminal WE do eletrodo de trabalho. Um eletrodo de referência Ag/AgCl<sub>sat</sub> e 40 µL de eletrólito de suporte foram usados como sistema de controle superior. As características eletroquímicas foram inicialmente estudadas por voltametria cíclica de -0,2 V a 0,6 V a 25 mV s<sup>-1</sup> em tampão fosfato (0,10 mol L<sup>-1</sup> pH 7,2) e KCl (0,10 mol L<sup>-1</sup>). As heterojunções DEEVs vdW usando grafeno



e ferroceno (grafeno-fc) foram construídas por *drop casting*, usando aproximadamente 30  $\mu\text{L}$  de ferroceno em solução de etanol ( $5,0 \text{ mg mL}^{-1}$ ).

[043] O excesso de ferroceno na superfície do grafeno foi removido por voltametria cíclica em  $0,10 \text{ mol L}^{-1} \text{ KCl}$ . Uma representação esquemática da produção dos DEEVs é apresentada na Figura 4. A espectroscopia de impedância eletroquímica (EIS) também foi realizada antes e após as modificações do ferroceno de 100 kHz a 0,1 Hz, aplicando um potencial de circuito aberto (OCP) com uma amplitude de 5,0 mV para cada eletrodo. Três espectros foram obtidos para cada interface. O ssDNA foi adsorvido em DEEVs modificados por ferroceno por queda de 40  $\mu\text{L}$  de solução de ssDNA em um tampão de fosfato ( $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , pH 7,2).

[044] Um tempo de adsorção de 5 min à temperatura ambiente foi adotado como metodologia padrão na presente invenção, e os experimentos foram conduzidos na mesma solução tampão de fosfato. Para experimentos de curva de calibração, uma gota de 40  $\mu\text{L}$  foi adicionada à superfície de grafeno-fc para cada concentração e lavada após as medições. Os efeitos da adsorção de ssDNA nas características interfaciais e no comportamento eletroquímico dos DEEVs foram monitorados por EIS e voltametria cíclica, respectivamente.

[045] As análises de espectroscopia Raman foram realizadas usando o mesmo dispositivo de grafeno monocamada suportado em um substrato de  $\text{Si/SiO}_2$ . Os espectros de  $1000 \text{ cm}^{-1}$  a  $3000 \text{ cm}^{-1}$  foram adquiridos para o grafeno puro usando um laser de excitação HeNe ( $\lambda = 633 \text{ nm}$ ) em um espectrômetro. Uma gota de aproximadamente 30  $\mu\text{L}$  de ferroceno em etanol foi adicionada à superfície do grafeno e foi eletroquimicamente

estabilizada por voltametria cíclica em KCl 0,1 mol L<sup>-1</sup>, de -0,2 V a 0,6 V, a  $v = 25 \text{ mV s}^{-1}$ . Para as amostras modificadas com ferroceno, os espectros Raman foram adquiridos de 1000 cm<sup>-1</sup> a 3000 cm<sup>-1</sup>.

[046] Depois disso, uma gota de 1,0 fmol L<sup>-1</sup> ssDNA foi adicionada ao dispositivo grafeno-fc e espectros de 1000 cm<sup>-1</sup> a 3000 cm<sup>-1</sup> também foram adquiridos após aproximadamente 10 min. Escolheram-se soluções de ssDNA de baixa concentração para evitar quaisquer efeitos de espalhamento ou alterações nos espectros causados pela saturação da superfície. Os espectros Raman da aresta e do plano basal do grafeno usados na presente invenção também foram coletados nas mesmas condições. Experimentos de microscopia de força atômica (AFM) foram realizados por NMS para fornecer informações úteis sobre a natureza de monocamada do grafeno usado na presente invenção.

[047] Para os experimentos de efeito de campo, foram usados dispositivos de grafeno e grafeno-fc. Uma gota de 40 µL de solução salina tamponada com fosfato 0,01 mol L<sup>-1</sup> (pH 7,4) foi usada como porta de eletrólito. Uma gota de ferroceno foi depositada na superfície do grafeno, que foi estabilizada por voltametria cíclica.  $I_{ds}$  vs.  $V_{ds}$  ( $I_{ds}$  = corrente dreno-fonte;  $V_{ds}$  = tensão dreno-fonte) foram realizados de -0,2 V a 0,2 V, e para a interface de grafeno nua, especificamente, uma faixa de potencial mais estreita também foi investigada (de -0,05 a 0,05 V). A tensão de porta ( $V_g$ ) foi varrida de -0,3 V para 0,5 V (vs. Ag/AgCl<sub>sat</sub>) para todos os experimentos  $I_{ds}$  vs.  $V_g$ . Para diferentes avaliações usando um dispositivo de grafeno simples, valores de  $V_{ds}$  de 0,01, 0,02, 0,03, 0,04, 0,05, 0,075 e 0,1 V foram aplicados.

[048] A Figura 1 ilustra os princípios de funcionamento do dispositivo em comparação com o dispositivo de efeito de campo convencional. Conforme mencionado, o DEEV é composto por dois terminais: eletrodos de trabalho e auxiliares. Esses dois eletrodos estão em uma configuração de curto-circuito e são análogos ao dreno e à fonte em um dispositivo GFET. No entanto, usando um potenciostato, um superpotencial controlado pode ser aplicado ao eletrodo de trabalho versus um eletrodo de referência ( $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ ). Quando um potencial negativo é aplicado ao eletrodo de trabalho, a corrente flui do eletrodo de trabalho para o eletrodo auxiliar e flui na direção oposta, após a aplicação de um potencial positivo.

[049] Como o dispositivo está em uma configuração de curto-circuito, a corrente flui através do plano basal do grafeno, conectando assim os terminais de trabalho e auxiliares. Nessas condições, a sobrecarga de corrente é esperada durante uma varredura de potencial, especialmente por causa da alta condutividade do plano basal do grafeno. No entanto, em um DEEV, o grafeno é suportado em  $\text{SiO}_2/\text{Si}$  e seu plano basal é conectado eletroquimicamente ao ferroceno e ao eletrólito de suporte. Nessa configuração, os eletrodos auxiliares e de trabalho polarizam a superfície do grafeno que está em contato com o ferroceno e o eletrólito no plano vertical, e um novo tipo de corrente surge da interface (a corrente z).

[050] Consequentemente, uma carga adicional é inserida no grafeno. Essa carga adicional é adicionada à corrente elétrica gerada pelo movimento de elétrons e lacunas no plano xy do grafeno, resultando em um aumento

significativo na corrente total medida. Como a corrente  $z$  se origina do eletrólito e da interface grafeno-fc, sua contribuição surge principalmente da corrente faradaica do centro redox do ferroceno e da corrente capacitiva da camada dupla de eletrólito/eletrodo. Portanto, o monitoramento das pegadas redox faradaicas por adsorção de ferroceno, bem como outras sondas redox, são úteis para melhorar a seletividade em dispositivos 2D à base de grafeno.

[051] Enquanto a transferência de elétrons do ferroceno pode ser monitorada no eixo  $z$ , alguns recursos relacionados à interface grafeno-fc possam ser inferidos por meio de medições de potencial interfacial ( $E_{int}$ ) usando a abordagem DEEV. Do ponto de vista eletroquímico, é proposto na presente invenção que o potencial interfacial total desses dispositivos pode ser descrito como uma função das contribuições individuais de grafeno ( $E_{int}^{gr}$ ), ferroceno (ou seja, a heterojunção grafeno-fc resultante,  $E_{int}^{fc}$ ), duplo-camada (EDL) e potenciais do eletrodo de referência ( $E_{ref}$ ), conforme descrito pela Eq. (1).

$$E_{int} = E_{int}^{gr} + E_{int}^{fc} + E_{DL} + E_{ref} \quad \text{Equação (1)}$$

[052] Como a concentração de eletrólito usada é suficientemente alta ( $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ ), as questões relacionadas à força iônica não são significativas em relação à interface de grafeno e as contribuições de capacitância de camada dupla do eletrólito permanecem constantes. As contribuições do eletrodo de referência também permanecem as mesmas ao longo dos experimentos. Portanto, quaisquer alterações de  $E_{int}$  em DEEVs são devidas a interações entre o grafeno e o grafeno-fc com a mídia externa, conforme indicado na Eq. (2).

$$E_{int} = E_{int}^{gr} + E_{int}^{fc} + E^{\circ}\text{constante} \quad \text{Equação (2)}$$

[053] Para confirmar as premissas relacionadas às características de funcionamento do DEEV, experimentos foram realizados usando a configuração DEEV e foram comparados com os resultados obtidos usando a configuração GFET. Inicialmente, as curvas  $I_{ds}$  vs.  $V_{ds}$  foram registradas varrendo o potencial do eletrodo de referência do DEEV e comparando-as com as curvas  $I_{ds}$  vs.  $V_{ds}$  registradas sob  $Ag/AgCl_{sat}$  eletrólito-gating a 0 V. Este  $V_g$  foi escolhido após a investigação de diferentes valores de  $V_g$ . Uma corrente  $I_{ds}$ , notavelmente mais alta, foi obtida na configuração de curto-circuito em comparação com a configuração  $I_{ds}$  de efeito de campo convencional para as interfaces de grafeno nuas.

[054] A principal diferença entre essas duas configurações experimentais envolve o uso de  $Ag/AgCl_{sat}$ . Nos experimentos GFET convencionais,  $Ag/AgCl_{sat}$  atua como um eletrodo de porta superior polarizado através da aplicação de um  $V_g$  pré-determinado, enquanto  $V_{ds}$  é varrido. Para GFETs operando na região linear, a aplicação de  $V_g$  controla a resistência do canal, e  $I_{ds}$  aumenta linearmente com  $V_g$ . A aplicação deste campo elétrico externo modula a condutividade do canal. Na configuração de curto-circuito,  $Ag/AgCl_{sat}$  não é mais polarizado e, em contraste com a configuração GFET, a condutividade do canal não é mais controlada. Portanto, a corrente observada não inclui uma contribuição de efeito de campo.

[055] A varredura  $V_{ds}$  é realizada sob controle de potencial por meio de um eletrodo de referência  $Ag/AgCl_{sat}$ , semelhante às células convencionais de três eletrodos eletroquímicos. Sua contribuição para o potencial do sistema é, então, seu potencial eletroquímico intrínseco de meia-

célula de aproximadamente 0,197 V versus um eletrodo de hidrogênio padrão. Além disso, sabe-se que a variação no potencial aplicado em um semicondutor altera a concentração do portador de carga superficial.

[056] A resistividade da folha de grafeno ( $R_s$ ) alcançada em cada configuração também foi investigada. As diferenças na resistividade da folha entre a fonte e o dreno devido à falta de modulação da condutividade do canal são observadas quando a expressão  $R_s = [(V_{ds}/j_{ds})(W/L)]$  é aplicada a ambas  $I_{ds}$  vs. Curvas  $V_{ds}$ , tais que  $R_s = 0,34 \, \Omega \, \text{cm}^{-2}$  enquanto  $R_s = 22,8 \, \Omega \, \text{cm}^{-2}$  nos experimentos de curto-circuito e efeito de campo, respectivamente. Além disso,  $R_s$  pode ser descrito em termos da resistência de contato dos contatos de metal/grafeno ( $R_{\text{contato}}$ ) e  $1/ne\mu$ , onde  $n$  é a concentração do portador de carga,  $e$  é a carga elementar e  $\mu$  é a mobilidade do portador de carga. Portanto, a mobilidade do portador de carga alcançada em cada configuração desempenha um papel importante na resistência da folha obtida. Quando a condutividade do canal de curto-circuito sem modulação externa é explorada, maior mobilidade do portador de carga pode ser alcançada, justificando os maiores valores de  $I_{ds}$  obtidos com a configuração proposta. Devido à baixa resistividade das interfaces grafeno- $\text{SiO}_2$ , assume-se que a adsorção de camadas extras no grafeno modula seu comportamento em curvas  $I_{ds}$  vs.  $V_{ds}$ .

[057] Em geral,  $V_{ds}$  pode ser expresso em termos do potencial de banda plana,  $V_{fb}$ , e da queda de potencial na camada de carga espacial,  $V_s$ , pela expressão  $V_{ds} = V_{fb} + V_s$ .  $V_{fb}$  está relacionado à condição em que o semicondutor não apresenta excesso de carga ou produz potenciais redox nas

bordas da banda. A última expressão ainda é válida na ausência de polarização externa, ou seja, onde  $V_{ds} = OCP$ . Expandindo este conceito para DEEVs, pode-se confirmar que tanto  $V_{fb}$  quanto  $V_s$  são inseridos nas contribuições de grafeno ( $E_{int}^{gr}$ ) e grafeno-fc ( $E_{int}^{fc}$ ) para o potencial interfacial total  $E_{int}$  da presente invenção. Isso significa que qualquer mudança em  $V_s$  devido a alterações na largura da camada de carga superficial ou capacitância influenciará o valor de OCP.

[058] De fato, para semicondutores com um circuito equivalente contendo um elemento RC, a dependência da capacitância de carga espacial foi relatada anteriormente. Essa dependência foi observada não apenas para as taxas de varredura de varredura potenciais, mas também para qualquer prepolarização à qual o eletrodo semicondutor foi submetido. Assim, o que é esperado para superfícies eletroquimicamente ativas é confirmado para as heterojunções grafeno e grafeno-fc. Para obter correntes  $I_{ds}$  mais altas e minimizar os efeitos de carga mencionados (por aprisionamento ou capacitância), continuou-se a usar uma taxa de varredura fixa de  $5 \text{ mV s}^{-1}$ .

[059] Os dados obtidos até o momento fornecem informações sobre a interface da monocamada de grafeno e seu comportamento em meios não eletroativos. Para entender o efeito da presença de um par redox (ou seja, processos faradaicos) e suas contribuições para o comportamento DEEV, o grafeno foi modificado de forma não covalente com ferroceno. Embora os processos de transferência de elétrons de espécies adsorvidas em semicondutores sejam normalmente considerados insignificantes, o ferroceno foi escolhido por causa de seu conhecido empilhamento  $\pi$ - $\pi$  com grafeno e seu acoplamento eletrônico com grafeno por meio de inserção de

portador de carga. Um excesso de superfície de  $5,3 \times 10^{-12}$  mol  $\text{cm}^{-2}$  foi obtido usando a equação relatada no estado da técnica, após a estabilização eletroquímica da interface grafeno-fc em KCl.

[060] Semelhante ao procedimento adotado para DEEVs de grafeno nu, as curvas  $I_{ds}$  vs.  $V_{ds}$  foram adquiridas para a interface grafeno-fc sob condições de efeito de campo e de curto-circuito após a otimização de  $V_g$  (0 V). Apesar do aumento da intensidade da corrente, conforme observado com dispositivos de grafeno simples, um perfil tipo voltamétrico foi observado para as curvas  $I_{ds}$  obtidas em condições de curto-circuito com um pico de oxidação em aproximadamente 0,14 V (vs.  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ ). Em direção a potenciais mais negativos, um pico de redução em 0,10 V (vs.  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ ) foi observado. Três curvas de saída foram obtidas em cada direção do potencial, e as posições dos picos de oxidação e redução permaneceram estáveis. Após a comparação com perfis de voltametria cíclicos obtidos com a mesma interface grafeno-fc, esses picos foram atribuídos ao ferroceno devido à sua capacidade de transferência de elétrons ao longo do eixo z, que está ausente em experimentos de efeito de campo puro. Além disso, as intensidades de corrente de pico do par ferroceno/ferrocênio obtidas em voltametria cíclica convencional (voltametria cíclica intitulada "grafeno-fc" dentro da Figura 4) e abordagem de curto-circuito foram comparadas, e um aumento notável na densidade de corrente em condições de curto-circuito foi obtido.

[061] Isso sugere que o acoplamento de uma sonda redox levou a uma heterojunção Si/SiO<sub>2</sub>-grafeno-fc com transferência de elétrons ao longo do eixo z, o que amplifica



as respostas eletroquímicas. Infere-se que a intensidade desses picos e a forma das curvas de curto-circuito  $I_{ds}$  vs.  $V_{ds}$  dependem fortemente do excesso de ferroceno na superfície do grafeno. Isso é semelhante ao que é observado nas curvas  $I$  vs.  $V$  (voltamogramas) de camadas adsorvidas eletroativas (Eq. (S2)).

[062] A resistividade da folha também foi avaliada usando a expressão  $R_s = [(V_{ds}/j_{ds}) (W/L)]$ , onde  $R_s = 0,45 \, \Omega \, \text{cm}^{-2}$  e  $1,39 \, \Omega \, \text{cm}^{-2}$  para fluxo de corrente no curto-configurações de circuito e efeito de campo, respectivamente. Para garantir a ocorrência deste fenômeno redox na interface grafeno-fc através da corrente  $z$ , investigou-se o perfil de corrente de fuga das interfaces grafeno e grafeno-fc como uma função de varreduras de potencial de porta com  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$  usado como eletrodo de porta no GFET configuração (Conforme mostrado na Figura 5). Nesta configuração, a corrente de fuga é semelhante à corrente  $z$  do DEEV. Isso se refere à corrente fluindo entre o terminal de drenagem de grafeno e a porta  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$ .

[063] Como esperado, uma corrente de pico foi observada para o grafeno-fc, que foi atribuído à oxidação do ferroceno. No entanto, as diferenças no potencial de pico foram devido aos diferentes usos de  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$  como eletrodo de referência eletroquímica ou eletrodo de porta. Discrepâncias nas intensidades de corrente também são atribuídas à aplicação de diferentes configurações, como discutido acima. Essas observações forneceram conclusões sobre como os processos de transferência de elétrons verticais e as características interfaciais influenciam as propriedades do grafeno do plano basal. Portanto, aplicações

sem precedentes de configurações de curto-circuito para estudar processos eletroquímicos são possíveis. Ao usar DEEVs de grafeno puro, as características cinéticas de transferência de elétrons lentas podem ser superadas.

[064] Depois de confirmar as características redox e capacitivas das heterojunções grafeno-fc sob condições de curto-circuito, compararam-se os perfis das curvas de transferência DEEV e GFET obtidos por cada configuração. Também se avaliou a adequação dos DEEVs como uma alternativa aos GFETs. Para conseguir isso, as curvas de transferência de efeitos de campo  $I_{ds}$  vs.  $V_g$  sob varreduras de tensão de porta e curvas de curto-circuito foram obtidas. Em cada caso, diferentes aplicações  $Ag/AgCl_{sat}$  e potenciais mecanismos de varredura foram adotados. Para esclarecer essas alterações, as modificações de sinal dos gráficos  $I_{ds}$  vs.  $V_{ds}$  foram tomadas e o resultado das curvas apresentaram um perfil bastante semelhante àqueles obtidos para os experimentos de efeito de campo.

[065] Para compreender totalmente e caracterizar as plataformas GFET com interfaces de grafeno e grafeno-fc, vários parâmetros relevantes, como capacitância de porta ( $C_g$ ), capacitância de camada dupla ( $C_{dl}$ ), capacitância quântica ( $C_q$ ), mobilidade do portador de carga ( $\mu$ ), dopagem ( $n$ ) e a transcondutância ( $g_m$ ) foram avaliadas. Em condições típicas de efeito de campo, foi observado um deslocamento no CNP ( $\Delta V$ ) devido à adsorção de ferroceno, correspondendo a um valor de  $\Delta V = -0,057$  V. O deslocamento observado para potenciais  $V_g$  mais negativos é atribuído ao doping n, devido à doação de densidade eletrônica do anel de ciclopentadienil ao grafeno durante o acoplamento de grafeno e fc.

[066] Curiosamente, depois de comparar as curvas de transferência GFET com as curvas de transferência  $I_{ds}$  vs.  $V_{ds}$  de curto-circuito EEVD, um perfil semelhante foi obtido. Nesse caso, deslocamentos de OCP foram observados devido a mudanças na capacitância de carga espacial promovidas pela adsorção de fc, que são interpretados como estados de superfície. A magnitude do deslocamento OCP foi  $\Delta V = -0,065$  V após a modificação do ferroceno. Os valores de  $\Delta V$  obtidos foram muito semelhantes para GFETs e DEEVs, indicando que os dispositivos DEEV propostos são adequados para estudos de dopagem e de portadores de carga. Como o OCP e a capacitância de carga superficial estão relacionados, as razões para desvios  $\Delta V$  entre os dispositivos ocorrerem por causa de mudanças capacitivas locais devido à adsorção de ferroceno em alguns locais ativos no grafeno, embora alguns parâmetros de capacitância (por exemplo,  $C_{dl}$  e  $C_g$ ) não apresentam alterações relevantes.

[067] Sabe-se que os deslocamentos do CNP estão relacionados à inserção do portador de carga no grafeno e, também podem ser correlacionados a características capacitivas, conforme já discutido. No entanto, o tratamento teórico do CNP não pode ser aplicado na presente invenção porque eles não foram realizados em condições de efeito de campo, como evidenciado por 1) o uso de Ag/AgCl como um eletrodo de referência e não um eletrodo de porta; e 2) varredura potencial do dreno para os terminais da fonte e não no eletrodo da porta. No entanto, a inserção do portador de carga e os potenciais OCP são frequentemente relacionados ao assumir uma formação de junção de barreira *Schottky* no contexto de semicondutores e heterojunções *Schottky* para

células solares, o que claramente não é o caso da presente invenção.

[068] Além disso, os experimentos não foram realizados em condições fotovoltaicas e, portanto, a formação da barreira *Schottky* pode ser superada por heterojunções vdW usando grafeno-fc. Assim, a base teórica para células solares de grafeno não poderia ser aplicada para interpretar esses resultados.

[069] Muitas das observações discutidas acima dependem do comportamento redox da interface grafeno-fc e suas características de transferência de elétrons verticais decorrentes da adsorção da camada de ferroceno eletroativa. Para provar essas características da heterojunção, novas investigações foram realizadas usando EIS. Também foi demonstrada a ocorrência de n dopagem por ferroceno sobre grafeno por meio de espectroscopia Raman, também observada com base em deslocamentos de CNP. Além disso, a adsorção de ssDNA na interface grafeno-fc foi investigada para fornecer prova de conceito e algumas quantificações analíticas para DEEVs como uma alternativa para GFETs em tecnologia de biossensor.

#### **Exemplo de concretização**

[070] As características eletroquímicas interfaciais do grafeno, grafeno-fc e heterojunção grafeno-fc foram avaliadas após adsorção de ssDNA (grafeno-fc-ssDNA) por meio de EIS. Como ssDNA é uma biomolécula carregada negativamente em pH 7,2 e não exhibe processos de transferência de elétrons em eletrodos à base de grafeno puro, sua adsorção no grafeno-fc levaria apenas a mudanças capacitivas. A intenção é confirmar o comportamento redox da

interface grafeno-fc, conforme já mencionado, bem como avaliar as características capacitivas da interface grafeno-fc-ssDNA. Os gráficos de Nyquist (conforme Figura 6, mostra que o grafeno puro exhibe comportamento capacitivo puro, com  $R_{ct}$  tendendo ao infinito na ausência de uma espécie eletroativa. A interface grafeno-fc apresentou um semicírculo incompleto cujo diâmetro está relacionado à resistência de transferência de elétrons do par ferroceno/ferrocênio redox adsorvido. A observação desses fenômenos de transferência de elétrons confirmou o comportamento da interface grafeno-fc como uma heterojunção vdW eletroativa no eixo z (ou seja, transferência de elétrons vertical).

[071] Como esperado, a adsorção de ssDNA demonstra efeitos puramente capacitivos na interface grafeno-fc-ssDNA com base em evidências experimentais com base no desaparecimento do semicírculo no gráfico de Nyquist registrado para fc adsorvido em grafeno. A simulação usando o circuito equivalente mais adequado para grafeno-fc e grafeno-fc-ssDNA foi realizada considerando a modelagem anterior. Os valores de  $C_{dl}$ , obtidos para todas as interfaces estudadas, estão de acordo com o modelo de capacitância de dupla camada de Helmholtz aplicado ao comportamento eletroquímico de semicondutores. Isso sugere que efeitos de capacitância estão realmente presentes nas heterojunções de grafeno após a adsorção de ssDNA.

[072] Portanto, a presença de contribuições de capacitância em cada heterojunção torna-se mais clara quando o módulo de impedância interfacial total ( $Z$ ) é plotado versus o logaritmo de frequência. Enquanto os efeitos da resistência

de transferência de elétrons são notavelmente pronunciados em regiões de alta frequência do espectro de impedância, o comportamento capacitivo é destacado em regiões de baixa frequência. As curvas de grafeno-fc não exibem um aumento notável no módulo de impedância em regiões de frequência mais baixa, indicando que os efeitos da capacitância de camada dupla podem ser desprezíveis nesta interface.

[073] Entretanto, interfaces não eletroativas como o grafeno puro e o grafeno-fc-ssDNA apresentaram notável aumento no módulo de impedância em regiões de menor frequência, corroborando suas características capacitivas. Além disso, as últimas heterojunções apresentaram valores semelhantes de frequências de início nas curvas do módulo de impedância, a partir das quais as contribuições capacitivas se tornam mais evidentes e concordam com os dados anteriores que foram obtidos por meio de experimentos de efeito de campo usando essas interfaces). Esses dados sugerem que os DEEVs podem ser empregados com sucesso para a detecção de ssDNA por meio de estratégias adsorptivas e monitoramento de deslocamento OCP, visto que esses fenômenos são refletidos pelas características capacitivas das interfaces.

[074] A espectroscopia Raman foi então aplicada para a caracterização de heterojunção grafeno-fc e grafeno-fc-ssDNA (Conforme mostrado na Figura 7, bem como para obter informações sobre a ocorrência de abertura de *band-gap* nessas interfaces. A interface de linha de fundo, grafeno com suporte em SiO<sub>2</sub>/Si, é automaticamente dopada com p devido às impurezas atmosféricas restantes e recozimento térmico sob Ar em altas temperaturas. A adsorção de ferroceno no grafeno leva a uma abertura de *band-gap* resultante da dopagem,

permitindo a avaliação dos níveis de Fermi ( $E_F$ ) das interfaces dopadas. Os valores de  $E_F$  foram avaliados a partir dos dados Raman de grafeno-fc e grafeno-fc-ssDNA.

[075] Os parâmetros resultantes indicam a inserção de portadores de carga na heterojunção pelo ferroceno, levando à dopagem do tipo n. Embora o ferroceno seja uma molécula neutra com centro metálico  $Fe^{2+}$ , os portadores de carga foram inseridos por doação eletrônica de seus anéis ciclopentadienil resultantes do empilhamento  $\pi$ - $\pi$ , conforme já mencionado. A partir dos dados Raman obtidos após a adsorção de  $1,0 \text{ fmol L}^{-1}$  ssDNA, é aparente que os portadores de carga também foram inseridos, levando à dopagem do tipo n devido à carga negativa das moléculas de ssDNA e ao empilhamento  $\pi$  $\pi$   $\pi$ , como esperado. Outra evidência de dopagem do tipo n com a adição de camadas de ferroceno e ssDNA foi a diminuição da razão  $I_{2D}/I_G$ .

[076] Esses dados concordam com os resultados anteriores obtidos para GFETs e os DEEVs. Isso indica que os deslocamentos OCP (ou seja,  $E_{int}$ ) obtidos usando a última configuração, também podem ser interpretados como um indicador de ocorrência de dopagem em interfaces de grafeno-fc. É importante mencionar que, exceto os experimentos de grafeno de monocamada primitiva, nenhum potencial de porta foi aplicado durante os experimentos Raman, assim, a inserção do portador de carga observada ocorre somente por causa da dopagem química. Portanto, as heterojunções resultantes são p-n para grafeno-fc e p-n-n para grafeno-fc-ssDNA.

[077] Em seguida, realizou-se a detecção de ssDNA usando DEEVs com base na interface grafeno-fc. Neste caso, uma configuração miniaturizada com um volume de  $40 \text{ }\mu\text{L}$  de

eletrólito foi empregada, conforme mostrado na Figura 8. Variações OCP ( $\Delta$ OCP) da heterojunção grafeno-fc em relação à adsorção de ssDNA foi monitorada em uma ampla faixa de concentrações submicromolares. Observou-se que a adsorção de ssDNA a  $1,0 \text{ amol L}^{-1}$  (concentração atto-molar) pode alterar o potencial OCP, indicando a maior sensibilidade dos DEEVs.

[078] Usando DEEVs de grafeno-fc, um LOD sem precedentes de  $5,1 \times 10^{-21} \text{ mol L}^{-1}$  foi alcançado para a detecção de ssDNA em concentrações atto-molares. Para a obtenção do LOD, o ruído dos DEEVs foi estimado e as avaliações foram feitas utilizando o DP (Desvio Padrão) da menor concentração medida. De acordo com o estado da técnica, esta abordagem depende da relação sinal-ruído do dispositivo e comprova a presença do analito na amostra de teste com uma probabilidade maior que 99%. Outros relatos no estado da técnica também alcançaram concentrações zepto-molares para LOD usando dispositivos de grafeno, no entanto, nesses relatórios, fragmentos de DNA específicos foram detectados por meio da amplificação de fragmentos de DNA e funcionalização do grafeno com sondas de DNA específicas. Embora a metodologia apresentada aqui possa ser considerada mais simples, robusta e econômica do que outras abordagens, é importante considerar que mais estudos para melhorar a seletividade e robustez dos DEEVs são necessários para análises de amostras reais e desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis. DEEVs exibem um desempenho melhorado, quando comparados a outros biossensores não baseados em grafeno para detecção de ssDNA usando detecção eletroquímica e elétrica.

[079] A sensibilidade do grafeno-fc EEVD para o



biossensor de ssDNA foi de 1,3 mV/década. Essa sensibilidade é menor do que a relatada no estado da técnica para outros dispositivos baseados em grafeno. Baixas sensibilidades foram obtidas para GFETs amarrotados em relação à fisissorção de DNA de fita dupla simples (aproximadamente 6 mV de mudança de potencial por 12 décadas, ou seja, de  $10^{-18}$  a  $10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup>). Os valores de baixa sensibilidade geralmente indicam que as moléculas baseadas em DNA não são fortemente adsorvidas na interface grafeno-fc. A sensibilidade melhoraria com outras técnicas de funcionalização ou etapas de amplificação adicionais. Além disso, a heterojunção grafeno-fc também exibiu linearidade melhorada nas variações do OCP com a concentração de ssDNA, com uma faixa dinâmica de até 10<sup>9</sup>. Esta faixa é cinco ordens de magnitude maior do que a alcançada com o sistema GFET. Isso sugere que, um DEEV com a última heterojunção pode ser mais adequado para o desenvolvimento de uma metodologia analítica adequada, para futuras quantificações analíticas.

[080] A possibilidade de detectar concentrações atto-molares ou sub-atto-molares por meio de interfaces de monocamada de grafeno tem sido pouco explorada no estado da técnica. A maioria dos relatórios se concentra em dispositivos de efeito de campo baseados em grafeno com modificações estruturais. Os resultados preliminares usando os DEEVs propostos são comparáveis aos obtidos em outros lugares usando GFETs convencionais, que são conhecidos por sua sensibilidade notável.

[081] Para melhorar a seletividade na detecção de ssDNA, a funcionalização não covalente de heterojunções de grafeno-fc vdW é obrigatória. A imobilização de uma fita de

DNA de sonda em grafeno-fc é uma estratégia simples que pode ser realizada, e a quantificação de ssDNA por meio de hibridização de DNA *in situ* pode ser realizada com sucesso. Outras estratégias de sucesso relatadas anteriormente no estado da técnica também podem ser utilizadas. Como exemplo, a imobilização de bases nucleicas de peptídeos em grafeno provou ser bem-sucedida. A imobilização de sondas de DNA biotiniladas em heterojunções de grafeno-fc também pode ser considerada, levando ao desenvolvimento de genossensores baseados em arquiteturas EEVD. Se devidamente validados, esses dispositivos podem ser aplicados para a detecção de ssDNA em meios biológicos contendo proteínas, células inteiras e outros componentes de tais matrizes complexas.

[082] Portanto, ao combinar essas estratégias de seletividade com um DEEV, é possível prever o desenvolvimento bem-sucedido de metodologias eletroanalíticas robustas miniaturizadas sem precedentes para uma ampla gama de amostras usando um volume limitado, como sangue, soro e plasma, com alta sensibilidade, seletividade, análise rápida, baixa geração de resíduos e custo-benefício. A densidade de corrente de fonte de drenagem aumentada obtida com DEEVs permite o monitoramento de processos redox e detecção livre de laboratório de biomoléculas em concentrações extremamente baixas. Essas descobertas abrem o caminho para o surgimento de novas abordagens eletroquímicas para dispositivos de grafeno mais sensíveis e estáveis com mecanismos de detecção híbridos elétricos e eletroquímicos.

[083] Na presente invenção é proposta uma nova configuração de curto-circuito para aplicações

eletroquímicas híbridas que fornece contribuições de fluxo de corrente no plano basal, usando uma nova heterojunção grafeno-fc. Ao contrário dos experimentos de efeito de campo,  $\text{Ag}/\text{AgCl}_{\text{sat}}$  não é polarizado por varredura de potencial, aproximando assim a presente configuração de um processo eletroquímico de transferência de elétrons vertical puro. Os terminais de fonte e dreno de curto-circuito permitiram obter correntes notavelmente mais altas através da condutividade de elétrons do grafeno do plano basal, que não era modulada por um campo externo (como seria o caso em abordagens de efeito de campo).

[084] Como esperado, os processos de transferência de elétrons faradaicos podem ser monitorados com sucesso em configurações de curto-circuito devido à adsorção de ferroceno, como evidenciado por gráficos e o aparecimento de oxidação de ferroceno e picos de redução em varreduras de curto-circuito. Isso se mostrou útil no estudo de moléculas redox adsorvidas, presentes em pequenas quantidades em excesso em uma superfície, como no caso da interface grafeno-fc. Além disso, as mudanças de capacitância causadas pela adsorção de ssDNA também foram investigadas, e descobriu-se que o potencial OCP pode ser aplicado como um parâmetro alvo para monitorar algumas características interfaciais de heterojunções grafeno-fc sob condições de curto-circuito. Usando esta nova configuração, foi alcançado um LOD de  $5 \times 10^{-21} \text{ mol L}^{-1}$  para a detecção de ssDNA.

### **Referências**

[085] Abad-Valle, P., Fernández-Abedul, M.T., Costa-García, A., 2007. DNA single-base mismatch study with an electrochemical enzymatic genosensor. Biosens.

Bioelectron. 22, 1642-1650.  
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2006.07.015>.

[086] Bantele, S.C.S., Lisby, M., Pfander, B., 2019. Quantitative sensing and signalling of single-stranded DNA during the DNA damage response. Nat. Commun. 10, 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08889-5>.

[087] Bard, A.J., Faulkner, L.R., 2001. Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications, Second ed. ed. John Wiley & Sons, New York.

[088] Barsoukov, E., Macdonald, J.R., 2005. Impedance Spectroscopy: Theory, Experiment, and Applications. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey. <https://doi.org/10.1002/0471716243>.

[089] Basu, J., Roychaudhuri, C., 2016. Attomolar Sensitivity of FET Biosensor Based on Smooth and Reliable Graphene Nanogrids. IEEE Electron Device Lett. 37, 492-495. <https://doi.org/10.1109/LED.2017.2655545>.

[090] Batchelor, R.A., Hamnett, A., 1992. Surface States on Semiconductors, in: Bockris, J.O., Conway, B.E., White, R.E. (Eds.), Modern Aspects of Electrochemistry N° 22. Springer Science & Business Media LLC.

[091] Behura, S.K., Mahala, P., Ray, A., Mukhopadhyay, I., Jani, O., 2013. Theoretical simulation of photovoltaic response of graphene-on- semiconductors. Appl. Phys. A Mater. Sci. Process. 111, 1159-1163. <https://doi.org/10.1007/s00339-012-7335-2>.

[092] Brownson, D.A.C., Varey, S.A., Hussain, F., Haigh, S.J., Banks, C.E., 2014. Electrochemical properties of CVD grown pristine graphene: Monolayer- vs. quasi-graphene. Nanoscale 6, 1607-1621.

<https://doi.org/10.1039/c3nr05643k>.

[093] Brunetti B, D.E., 2015. About Estimating the Limit of Detection by the Signal to Noise Approach. *Pharm. Anal. Acta* 06. <https://doi.org/10.4172/2153-2435.1000355>.

[094] Cai, B., Huang, L., Zhang, H., Sun, Z., Zhang, Z., Zhang, G.J., 2015. Gold nanoparticles-decorated graphene field-effect transistor biosensor for femtomolar MicroRNA detection. *Biosens. Bioelectron.* 74, 329-334. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.06.068>.

[095] Cai, B., Wang, S., Huang, L., Ning, Y., Zhang, Z., Zhang, G.J., 2014. Ultrasensitive label-free detection of PNA-DNA hybridization by reduced graphene oxide field-effect transistor biosensor. *ACS Nano* 8, 2632-2638. <https://doi.org/10.1021/nn4063424>.

[096] Campos, R., Borme, J., Guerreiro, J.R., Machado, G., Cerqueira, M.F., Petrovykh, D.Y., Alpuim, P., 2019. Attomolar label-free detection of dna hybridization with electrolyte-gated graphene field-effect transistors. *ACS Sensors*. <https://doi.org/10.1021/acssensors.8b00344>.

[097] Cinti, S., Proietti, E., Casotto, F., Moscone, D., Arduini, F., 2018. Paper-Based Strips for the Electrochemical Detection of Single and Double Stranded DNA. *Anal. Chem.* 90, 13680-13686. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b04052>.

[098] Damase, T.R., Ellington, A.D., Allen, P.B., 2017. Purification of single-stranded DNA by copolymerization with acrylamide and electrophoresis. *Bio Tech.* 275-282. <https://doi.org/10.2144/000114557>.

[099] Dontschuk, N., Stacey, A., Tadich, A., Rietwyk, K.J., Schenk, A., Edmonds, M.T., Shimoni, O., Pakes,

C.I., Prawer, S., Cervenka, J., 2015. A graphene field-effect transistor as a molecule-specific probe of DNA nucleobases. Nat. Commun. 6. <https://doi.org/10.1038/ncomms7563>.

[100] Eissa, S., Jimenez, G.C., Mahvash, F., Guermoune, A., Tlili, C., Szkopek, T., Zourob, M., Siaj, M., 2015. Functionalized CVD monolayer graphene for label-free impedimetric biosensing. Nano Res. 8, 1698-1709. <https://doi.org/10.1007/s12274-014-0671-0>.

[101] Fu, W., Feng, L., Panaitov, G., Kireev, D., Mayer, D., Offenhäusser, A., Krause, H.J., 2017. Biosensing near the neutrality point of graphene. Sci. Adv. 3, 1-8. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1701247>.

[102] Ganguli, A., Faramarzi, V., Mostafa, A., Hwang, M.T., You, S., Bashir, R., 2020. High Sensitivity Graphene Field Effect Transistor-Based Detection of DNA Amplification. Adv. Funct. Mater. 2001031, 1-9. <https://doi.org/10.1002/adfm.202001031>.

[103] Gao, Y., Hu, G., Zhang, W., Ma, D., Bao, X., 2011.  $\pi$ - $\pi$  Interaction Intercalation of Layered Carbon Materials With Metallocene. Dalt. Trans. 40, 4542-4547. <https://doi.org/10.1039/c0dt01392g>.

[104] Hassan, A., Macedo, L.J.A., Mattioli, I.A., Rubira, R.J.G., Constantino, C.J.L., 2020. A three component-based van der Waals surface vertically designed for biomolecular recognition enhancement. chemRxiv 1-22.

[105] Husale, B.S., Sahoo, S., Radenovic, A., Traversi, F., Annibale, P., Kis, A., 2010. SsDNA binding reveals the atomic structure of graphene. Langmuir 26, 18078-18082. <https://doi.org/10.1021/la102518t>.

[106] Hwang, M.T., Heiranian, M., Kim, Y., You, S.,

Leem, J., Taqieddin, A., Faramarzi, V., Jing, Y., Park, I., van der Zande, A.M., Nam, S., Aaluru, N.R., Bashir, R., 2020. Ultrasensitive detection of nucleic acids using deformed graphene channel field effect biosensors. *Nat. Commun.* 1543.

[107] Inczedy, J., Lengyel, T., Ure, A.M., 1998. Detection and quantification capabilities, in: *IUPAC Compendium on Analytical Nomenclature, Definitive Rules 1997*. International Union of Pure and Applied Chemistry.

[108] Iost, R.M., Crespilho, F.N., Zuccaro, L., Yu, H.K., Wodtke, A.M., Kern, K., Balasubramanian, K., 2014. Enhancing the Electrochemical and Electronic Performance of CVD-Grown Graphene by Minimizing Trace Metal Impurities. *ChemElectroChem* 1, 2070-2074. <https://doi.org/10.1002/celc.201402325>.

[109] Islam, S., Shukla, S., Bajpai, V.K., Han, Y.K., Huh, Y.S., Ghosh, A., Gandhi, S., 2019a. Microfluidic-based graphene field effect transistor for femtomolar detection of chlorpyrifos. *Sci. Rep.* 9, 1-7. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36746-w>.

[110] Islam, S., Shukla, S., Bajpai, V.K., Han, Y.K., Huh, Y.S., Kumar, A., Ghosh, A., Gandhi, S., 2019b. A smart nanosensor for the detection of human immunodeficiency virus and associated cardiovascular and arthritis diseases using functionalized graphene-based transistors. *Biosens. Bioelectron.* 126, 792-799. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.11.041>.

[111] Kim, C.H., Frisbie, C.D., 2014. Determination of quantum capacitance and band filling potential in graphene transistors with dual electrochemical and field-effect gates. *J. Phys. Chem. C*. <https://doi.org/10.1021/jp505391u>

Kim, H.E., Schuck, A., Lee, J.H., Kim, Y.S., 2019. Solution-gated graphene field effect transistor for TP53 DNA sensor with coplanar electrode array. *Sensors Actuators B Chem.* 291, 96-101. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2019.03.080>.

[112] Kwak, Y.H., Choi, D.S., Kim, Y.N., Kim, H., Yoon, D.H., Ahn, S.S., Yang, J.W., Yang, W.S., Seo, S., 2012. Flexible glucose sensor using CVD-grown graphene-based field effect transistor. *Biosens. Bioelectron.* 37, 82-87. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.04.042>.

[113] Lefrou, C., Fabry, P., Poignet, J.-C., 2009. *Electrochemistry, The Basics, With Examples*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

[114] Lei, Y.M., Xiao, M.M., Li, Y.T., Xu, L., Zhang, H., Zhang, Z.Y., Zhang, G.J., 2017. Detection of heart failure-related biomarker in whole blood with graphene field effect transistor biosensor. *Biosens. Bioelectron.* 91, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.12.018>.

[115] Li, P.P., Liu, X.P., Mao, C.J., Jin, B.K., Zhu, J.J., 2019. Photoelectrochemical DNA biosensor based on g-C<sub>3</sub>N<sub>4</sub>/MoS<sub>2</sub> 2D/2D heterojunction electrode matrix and co-sensitization amplification with CdSe QDs for the sensitive detection of ssDNA. *Anal. Chim. Acta* 1048, 42-49. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.09.063>.

[116] Lima, F.C.D.A., Calzolari, A., Caldas, M.J., Iost, R.M., Crespilho, F.N., Petrilli, H.M., 2014. Electronic structure of self-assembled monolayers modified with ferrocene on a gold surface: Evidence of electron tunneling. *J. Phys. Chem. C* 118, 23111-23116. <https://doi.org/10.1021/jp506425c>.

[117] Liu, Y., Stradins, P., Wei, S.H., 2016. Van



der Waals metal-semiconductor junction: Weak Fermi level pinning enables effective tuning of Schottky barrier. *Sci. Adv.* 2, 1-7. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600069>.

[118] Lonkar, S.P., Deshmukh, Y.S., Abdala, A.A., 2015. Recent advances in chemical modifications of graphene. *Nano Res.* 8, 1039-1074. <https://doi.org/10.1007/s12274-014-0622-9>.

[119] Misra, V., Öztürk, M.C., 2005. Field Effect Transistors. *Electr. Eng. Handb.* 109-126. <https://doi.org/10.1016/B978-012170960-0/50012-8>.

[120] Neubert, T.J., Wehrhold, M., Kaya, N.S., Balasubramanian, K., 2020. presence of redox active molecules Faradaic effects in electrochemically gated graphene sensors in the presence of redox active molecules. *Nanotechnology* 31, 405201.

[121] Nigar, S., Wang, H., Imtiaz, M., Yu, J., Zhou, Z., 2019. Applied Surface Science Adsorption mechanism of ferrocene molecule on pristine and functionalized graphene. *Appl. Surf. Sci.* 481, 1466-1473. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2019.03.222>.

[122] Nourbakhsh, A., Cantoro, M., Klekachev, A., Clemente, F., Sorée, B., Van Der Veen, M.H., Vosch, T., Stesmans, A., Sels, B., De Gendt, S., 2010. Tuning the fermi level of SiO<sub>2</sub>-supported single-layer graphene by thermal annealing. *J. Phys. Chem. C* 114, 6894-6900. <https://doi.org/10.1021/jp910085n>.

[123] Rabti, A., Mayorga-Martinez, C.C., Baptista-Pires, L., Raouafi, N., Merkoçi, A., 2016. Ferrocene-functionalized graphene electrode for biosensing applications. *Anal. Chim. Acta* 926, 28-35.

<https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.04.010>.

[124] Reiner-Rozman, C., Larisika, M., Nowak, C., Knoll, W., 2015. Graphene-based liquid-gated field effect transistor for biosensing: Theory and experiments. *Biosens. Bioelectron.* 70, 21-27.  
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.03.013>.

[125] Sherbet, G. V., Lakshmi, M.S., Cajone, F., 1983. Isoelectric characteristics and the secondary structure of some nucleic acids. *Biophys. Struct. Mech.* 10, 121-128. <https://doi.org/10.1007/BF00537554>.

[126] Sun, J., Xie, X., Xie, K., Xu, S., Jiang, S., Ren, J., Zhao, Y., Xu, H., Wang, J., Yue, W., 2019. Magnetic Graphene Field-Effect Transistor Biosensor for Single-Strand DNA Detection. *Nanoscale Res. Lett.* 14, 1-8.  
<https://doi.org/10.1186/s11671-019-3048-1>.

[127] Thakur, B., Zhou, G., Chang, J., Pu, H., Jin, B., Sui, X., Yuan, X., Yang, C.H., Magruder, M., Chen, J., 2018. Rapid detection of single E. coli bacteria using a graphene-based field-effect transistor device. *Biosens. Bioelectron.* 110, 16-22.  
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.03.014>.

[128] Thangaraj, V., Lepoitevin, M., Smietana, M., Balanzat, E., Bechelany, M., Janot, J.M., Vasseur, J.J., Subramanian, S., Balme, S., 2016. Detection of short ssDNA and dsDNA by current-voltage measurements using conical nanopores coated with Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> by atomic layer deposition. *Microchim. Acta* 183, 1011-1017.  
<https://doi.org/10.1007/s00604-015-1706-2>.

[129] Van Den Beld, W.T.E., Odijk, M., Vervuurt, R.H.J., Weber, J.W., Bol, A.A., Van Den Berg, A., Eijkel,

J.C.T., 2017. In-situ Raman spectroscopy to elucidate the influence of adsorption in graphene electrochemistry. Sci. Rep. 7, 1-8. <https://doi.org/10.1038/srep45080>.

[130] Vieira, N.C.S., Borme, J., Machado, G., Cerqueira, F., Freitas, P.P., Zucolotto, V., Peres, N.M.R., Alpuim, P., 2016. Graphene field-effect transistor array with integrated electrolytic gates scaled to 200 nm. J. Phys. Condens. Matter 28. <https://doi.org/10.1088/0953-8984/28/8/085302>.

[131] Wang, Q.H., Jin, Z., Kim, K.K., Hilmer, A.J., Paulus, G.L.C., Shih, C.J., Ham, M.H., Sanchez-Yamagishi, J.D., Watanabe, K., Taniguchi, T., Kong, J., Jarillo-Herrero, P., Strano, M.S., 2012. Understanding and controlling the substrate effect on graphene electron-transfer chemistry via reactivity imprint lithography. Nat. Chem. 4, 724-732. <https://doi.org/10.1038/nchem.1421>.

[132] Wu, J. Bin, Lin, M.L., Cong, X., Liu, H.N., Tan, P.H., 2018. Raman spectroscopy of graphene-based materials and its applications in related devices. Chem. Soc. Rev. 47, 1822-1873. <https://doi.org/10.1039/c6cs00915h>

[133] Xia, Z., Leonardi, F., Gobbi, M., Liu, Y., Bellani, V., Liscio, A., Kovtun, A., Li, R., Feng, X., Orgiu, E., Samorì, P., Treossi, E., Palermo, V., 2016. Electrochemical Functionalization of Graphene at the Nanoscale with Self-Assembling Diazonium Salts. ACS Nano 10, 7125-7134. <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b03278>.

[134] Yang, O., Ha, T., 2018. Single-Molecule Studies of ssDNA-Binding Proteins Exchange, in: Methods in Enzymology Vol. 600: Mechanisms of DNA Recombination and Genome Rearrangements: Methods to Study Homologous

Recombination. Elsevier Inc., pp. 463-477.  
<https://doi.org/10.1016/bs.mie.2017.11.017>.

[135] Zhang, X.G., 2005. Basic Theories of Semiconductor Electrochemistry, Electrochemistry of Silicon and Its Oxide. [https://doi.org/10.1007/0-306-47921-4\\_1](https://doi.org/10.1007/0-306-47921-4_1)

[136] Zhang, Y., Zhou, H., 2001. Stretching Single-Stranded DNA: Interplay of Electrostatic, Base-Pairing, and Base-Pair Stacking Interactions. *Biophys. J.* 81, 1133-1143.  
[https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(01\)75770-0](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(01)75770-0).

[137] Zhou, L., Wang, K., Sun, H., Zhao, S., Chen, X., Qian, D., Mao, H., Zhao, J., 2019. Novel Graphene Biosensor Based on the Functionalization of Multifunctional Nano-bovine Serum Albumin for the Highly Sensitive Detection of Cancer Biomarkers. *Nano-Micro Lett.* 11.  
<https://doi.org/10.1007/s40820-019-0250-8>.

[138] Zribi, B., Haghiri-Gosnet, A.M., Bendounan, A., Ouerghi, A., Korri-Yousoufi, H., 2019. Charge transfer and band gap opening of a ferrocene/graphene heterostructure. *Carbon N. Y.* 153, 557-564.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbon.2019.07.066>.

### **REIVINDICAÇÕES**

1) Dispositivo híbrido elétrico-eletroquímico **caracterizado** por compreender:

uma heterojunção de van der Waals de grafeno monocamada suportada em pelo menos um chip de SI/SiO<sub>2</sub> com contatos elétricos de ouro e ferroceno adsorvido sobre o grafeno,

um contra-eletrodo (CE) como um primeiro terminal,  
um eletrodo de trabalho (WE) como um segundo terminal,

eletrodo de Ag/AgCl<sub>sat</sub> como eletrodo de referência,  
e

uma fita de ssDNA adsorvida sobre a interface grafeno-ferroceno.

2) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de ocorrer passagem de corrente elétrica pelo plano basal da heterojunção grafeno-fc.

3) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o eletrodo de Ag/AgCl<sub>sat</sub> modular a varredura de potencial entre os terminais WE e CE.

4) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o potencial de varredura no eletrodo de trabalho (WE) ser determinado em relação ao eletrodo de referência não polarizável do tipo Ag/Cl em KCl saturado (Ag/Ag/Cl<sub>sat</sub>).

5) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o eletrodo de referência não-polarizável ser conectado em posição ortonormal ao plano basal do grafeno.

6) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de o contato entre os terminais ser feito por uma camada nanométrica de ouro de pelo menos 10 nm.

7) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de ambos os terminais serem equivalentes e fazerem contato com a heterojunção grafeno-ferroceno.

8) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de a heterojunção ser opcionalmente funcionalizada.

9) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de as heterojunções serem construídas por *drop casting*, usando aproximadamente 30 µL de ferroceno em solução de etanol (5,0 mg mL<sup>-1</sup>).

10) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de a fita de ssDNA ser para detectar fitas complementares de DNA.

11) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de opcionalmente ser usado um eletrodo de platina (Pt) como eletrodo auxiliar.

12) Dispositivo, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de opcionalmente ser acoplada uma sonda redox na heterojunção grafeno-ferroceno.

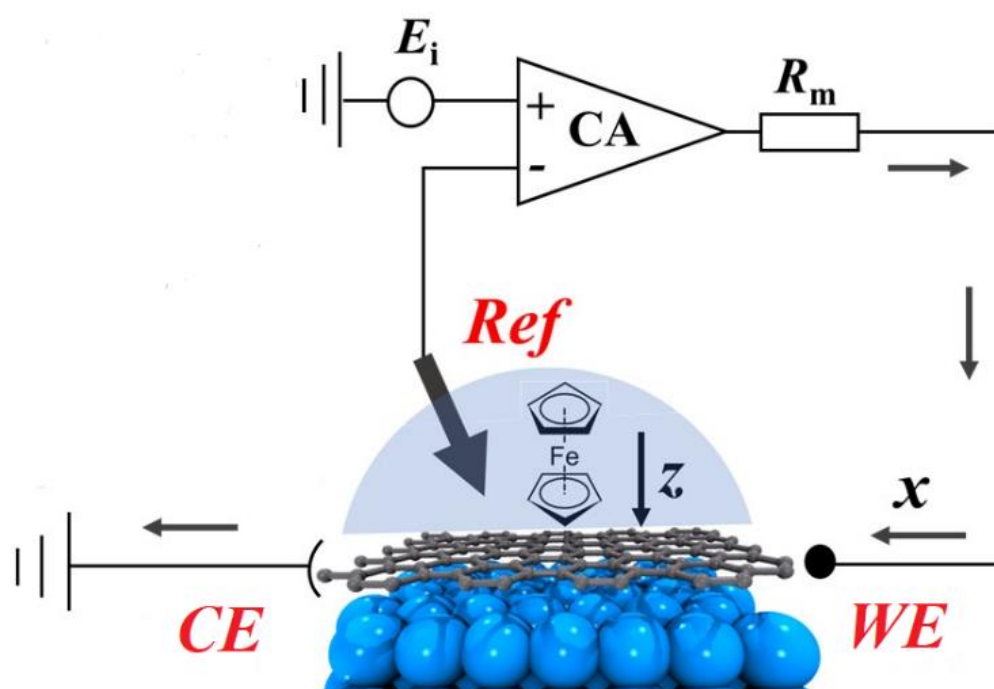


Figura 1

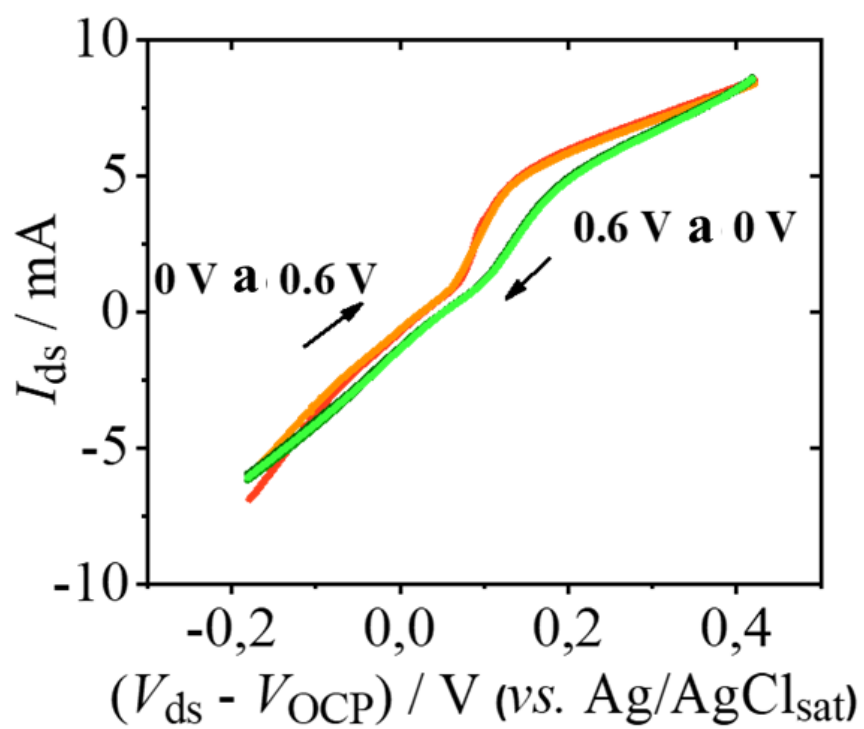


Figura 2



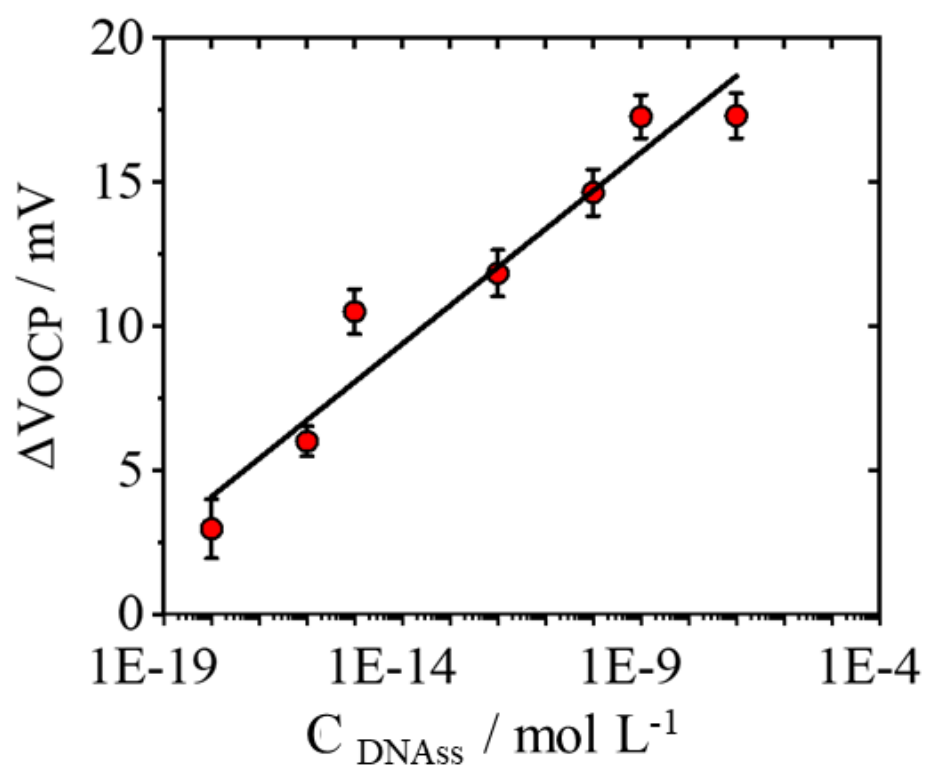


Figura 3

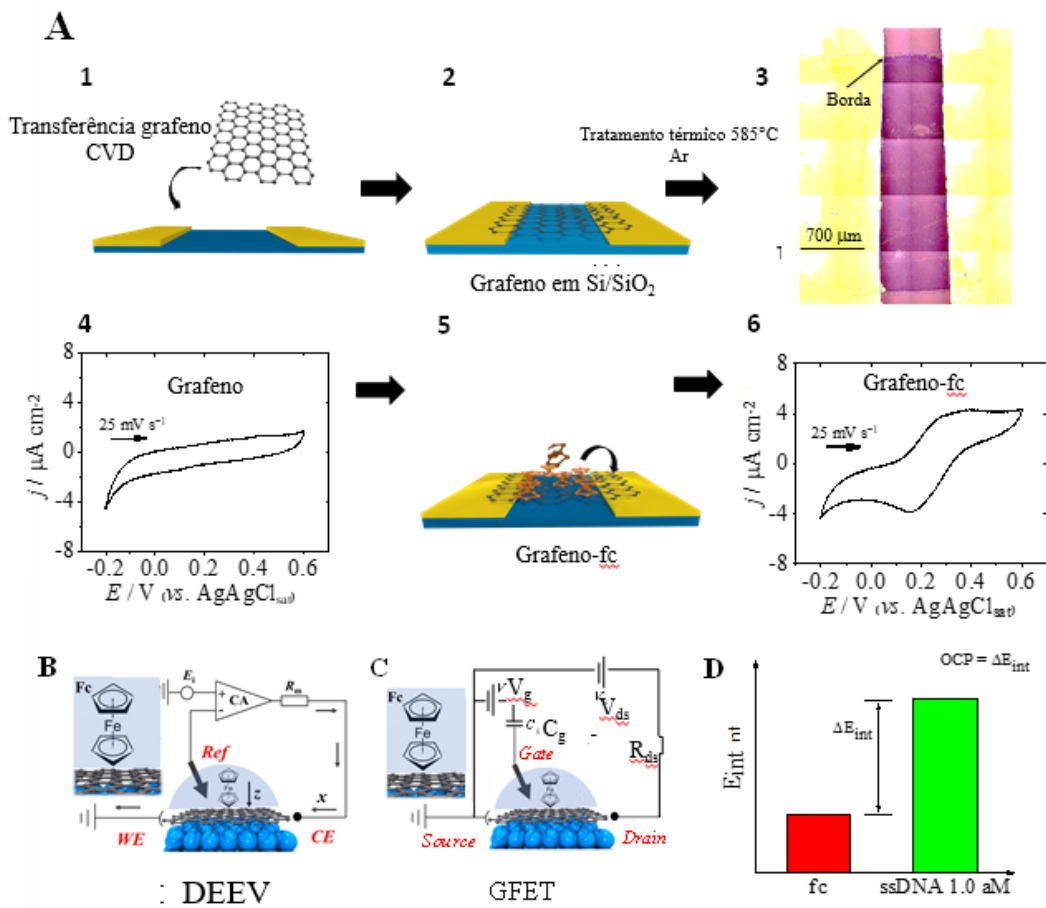


Figura 4

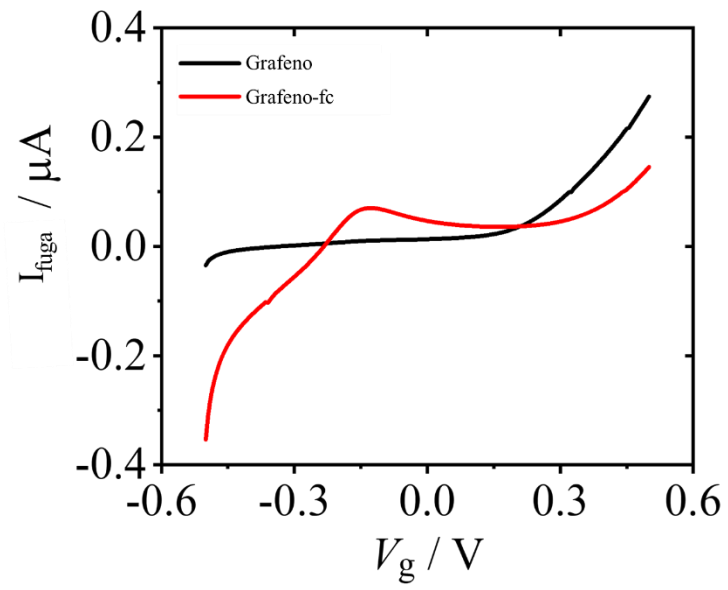


Figura 5

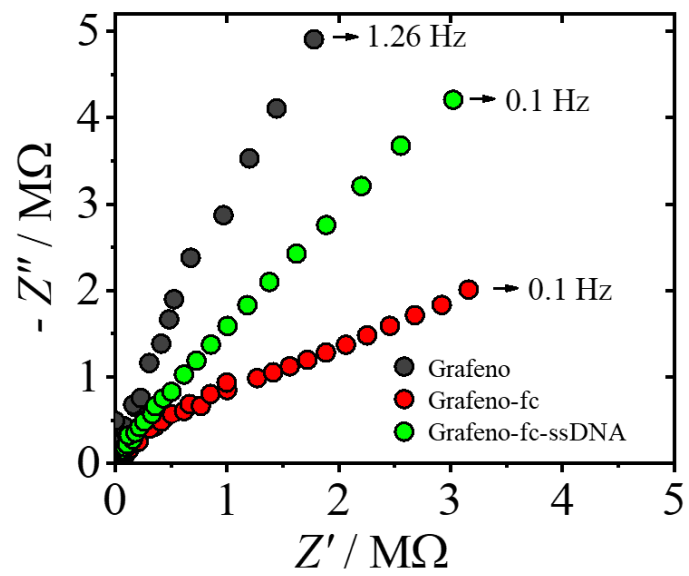


Figura 6

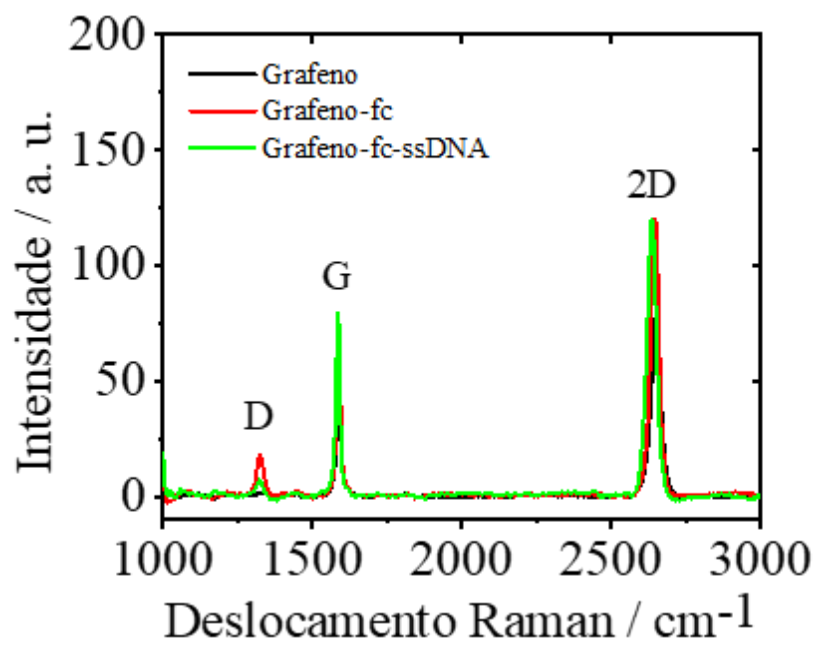


Figura 7

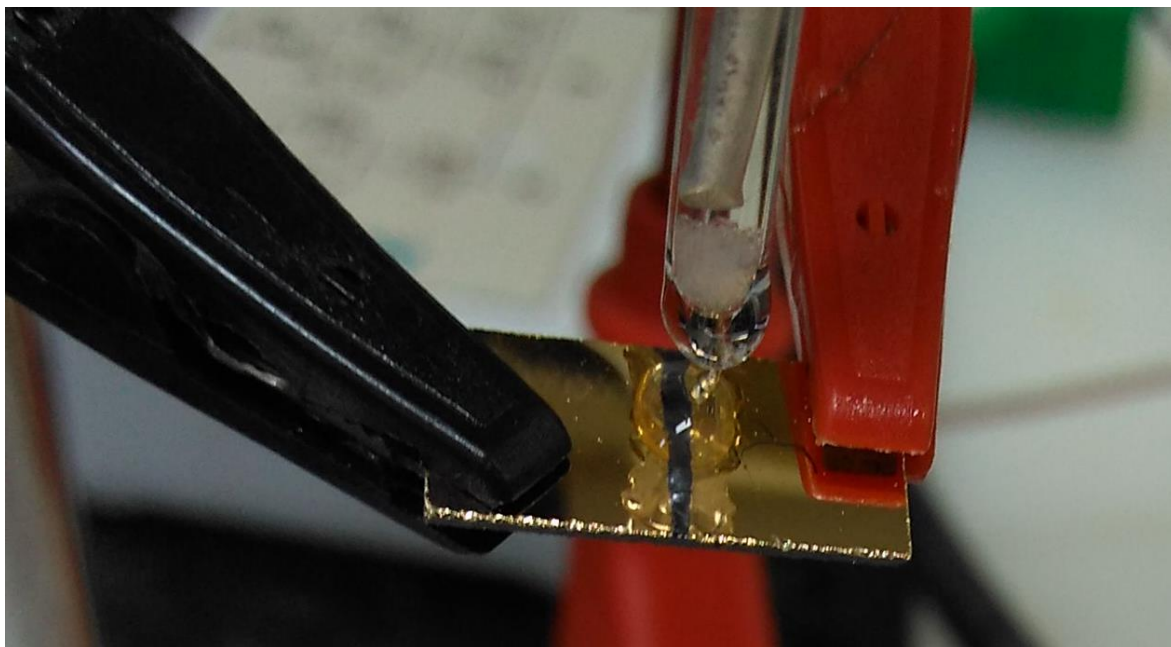


Figura 8

RESUMO**DISPOSITIVO HÍBRIDO ELÉTRICO-ELETROQUÍMICO BASEADO EM  
HETEROJUNÇÃO DE VAN DER WAALS DE GRAFENO MONOCAMADA E  
FERROCENO**

A presente invenção se refere a um dispositivo elétrico-eletroquímico vertical, denominado DEEV, que compreende uma heterojunção de van der Waals de grafeno monocamada suportado em chips de Si/SiO<sub>2</sub> e ferroceno adsorvido sobre o grafeno (heterojunção grafeno-fc). A presente invenção tem a finalidade de permitir detecções analíticas baseadas na adsorção dos analitos-alvo na interface de grafeno a partir de variações do potencial de interface do dispositivo. O funcionamento dos DEEVs se dá a partir da conexão direta dos dois terminais por meio da heterojunção grafeno-fc (contatos elétricos), eletrodo de trabalho (WE) e contra-eletrodo (CE), em "curto-circuito", cujo potencial de varredura no WE se dá em relação ao eletrodo de referência, RE, conectado em posição ortonormal ao plano basal do grafeno.