



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE QUÍMICA

DHANIELLA CRISTHINA DE BRITO OLIVEIRA

**MICROFLUÍDICA INTEGRADA A TRANSISTORES DE EFEITO DE CAMPO COM
PORTA ESTENDIDA PARA A QUANTIFICAÇÃO DE MARCADORES DE
DISFUNÇÕES RENAIIS**

CAMPINAS
2025

DHANIELLA CRISTHINA DE BRITO OLIVEIRA

**MICROFLUÍDICA INTEGRADA A TRANSISTORES DE EFEITO DE CAMPO COM
PORTA ESTENDIDA PARA A QUANTIFICAÇÃO DE MARCADORES DE
DISFUNÇÕES RENAI**

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de
Química da Universidade Estadual de Campinas
como parte dos requisitos exigidos para
obtenção do título de Doutora em Ciências.

Orientador: Prof. Dr. José Alberto Fracassi da Silva

O arquivo digital corresponde à versão final da Tese defendida por Dhaniella Cristhina de Brito Oliveira e orientada pelo Prof. Dr. José Alberto Fracassi da Silva.

CAMPINAS

2025

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP)
Biblioteca do Instituto de Química
Simone Luiz Alves - CRB 8/9094

Ol4m Oliveira, Dhaniella Cristhina de Brito, 1997-
Microfluídica integrada a transistores de efeito de campo com porta
estendida para a quantificação de marcadores de disfunções renais /
Dhaniella Cristhina de Brito Oliveira. – Campinas, SP : [s.n.], 2025.

Orientador: José Alberto Fracassi da Silva.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP),
Instituto de Química.

1. Transistor de efeito de campo com porta estendida. 2. Creatinina. 3.
Sensor. 4. Potenciometria. 5. Membranas (Biologia). I. Silva, José Alberto
Fracassi da, 1970-. II. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).
Instituto de Química. III. Título.

Informações complementares

Título em outro idioma: Microfluidics integrated with extended gate field effect transistors for the quantification of renal dysfunction markers

Palavras-chave em inglês:

Extended gate field-effect transistor

Creatinine

Sensor

Potentiometry

Membranes (Biology)

Área de concentração: Físico-Química

Titulação: Doutora em Ciências

Banca examinadora:

José Alberto Fracassi da Silva [Orientador]

Renato Sousa Lima

Wendel Andrade Alves

Laís Canniatti Brazaca

Raphael Nagao de Sousa

Data de defesa: 12-03-2025

Programa de Pós-Graduação: Química

Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS)

ODS: 3. Saúde e bem-estar

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-9051-3584>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/8647709387393347>

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. José Alberto Fracassi da Silva (Universidade Estadual de Campinas)

Prof. Dr. Raphael Nagao de Sousa (Universidade Estadual de Campinas)

Prof. Dr. Renato Sousa Lima (Universidade Estadual de Campinas)

Prof. Dr. Wendel Andrade Alves (Universidade Federal do ABC)

Prof. Dr. Laís Canniatti Brazaca (Universidade de São Paulo)

A Ata da defesa assinada pelos membros da Comissão Examinadora, consta no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/ Tese e na Secretaria do Programa da Unidade.

DEDICATÓRIA

Dedico esta tese de doutorado a minha mãe,
Maria Rosa de Brito Oliveira,
que sempre me estimulou a sonhar grande.

AGRADECIMENTOS

Minha convicção religiosa me impede de iniciar este agradecimento se não for direcionado Àquele que cuida dos nossos sonhos, dirige de forma maravilhosa nossos passos e nos dar sabedoria e ânimo para enfrentar todas as adversidades do caminho. A Deus toda a honra!

Meus agradecimentos à minha família, em especial, à minha mãe Maria Rosa que foi também a minha primeira professora. Agradeço ainda pelas palavras de incentivo e por todas as orações realizadas.

Aos novos laços de amizade desenvolvidos durante o período de estudo em Campinas-SP. Pessoas as quais foram essenciais em vários momentos de dúvidas e incertezas quanto ao caminho da pós-graduação e quanto a vida no geral. Em especial, nominalmente agradeço a Elisângela Santana e família. Obrigada por tornarem esses dias mais leves e felizes.

Aos meus amigos de pós-graduação, Fernando Costa, Brenda Costa, Kionnes Novaes e Elisângela Sanchez por sempre me motivarem a realizar esta pesquisa e a cumprir satisfatoriamente o doutorado e a todos os demais colegas do Grupo de Eletroforese Capilar e Microssistemas de Análises – GEM.

Ao Prof^o Dr^o José Alexandre Diniz pela colaboração junto a Faculdade de Engenharia Elétrica e de Computação e do Centro de Componentes Semicondutores e Nanotecnologias - CCSNano da Universidade Estadual de Campinas. Agradeço toda a dedicação quanto ao desenvolvimento dos sistemas de medida e retirada de dúvidas ao longo da escrita desta tese.

Ao Prof^o Dr^o Dosil de Jesus que se envolveu na presente pesquisa auxiliando em dúvidas pontuais sobre equipamentos e teorias envolvidas possibilitando o desenvolvimento desta tese. Meu muito obrigada!

Ao meu orientador Prof^o Dr^o José Alberto Fracassi da Silva por direcionar a pesquisa até o presente passo, desdobrando-se no desenvolvimento desta orientação e de outras atividades acadêmicas. Muito obrigada pelo trabalho conjunto durante todos esses anos e aos ensinamentos gerados por esta parceria.

Ao Instituto de Química da Unicamp, secretarias e demais profissionais. Finalizo agradecendo a todos os profissionais da Universidade Estadual de Campinas pois diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização desta conquista.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

Nesta pesquisa desenvolvemos um sistema de medida baseado em transistores de efeito de campo e uma membrana fotocurável com mesooctametilcalix[4]pirrol para testes comparativos de reconhecimento de creatinina em sistema estático e em fluxo para soluções preparadas em diferentes matrizes, incluindo água, urina sintética e tampão pH 4. Os resultados potenciométricos são apresentados em duas vertentes: variação da corrente de fonte e dreno e tensão de limiar dos transistores. Os dados são discutidos comparando-os a testes em Eletroforese Capilar com detector C⁴D e achados da literatura. O dispositivo demonstrou detectar creatinina nas matrizes desde a menor concentração testada (3 mmol.L⁻¹) conseguindo abranger valores entre 21% e 31% dentro da faixa de variação de creatinina para indivíduos saudáveis (3-27 mmol.L⁻¹) com coeficiente de determinação (R²) de 0,9766. O menor LOD alcançado nos testes foi de 3 mmol. L⁻¹. Os LOQs estavam entre 24 a 27 mmol. L⁻¹ para as diferentes matrizes. O sistema demonstrou ótimo funcionamento nas medidas com histerese entre 1,09% e 8,61%. Após 90 dias confeccionado o sensor mantinha ainda mais de 70% de sua resposta inicial, mesmo quando usado periodicamente na primeira semana. Quando armazenado sem uso, a -18 °C, o dispositivo era capaz de manter 96,67% de sua resposta inicial. Embora o sensor tenha demonstrado boa estabilidade em medidas estáticas, sua resposta analítica em fluxo apresentou queda significativa após três dias, indicando a necessidade de ajustes no design do eletrodo e na configuração do fluxo. No teste de interferência a membrana demonstrou responder também à molécula de ureia, mas em uma janela de resposta diferente, que graficamente permitia a diferenciação das contribuições das duas moléculas. Os dados obtidos com o EGFET quando comparados com os advindos da técnica de Eletroforese Capilar com detector C⁴D indicaram bom comportamento mas a técnica é útil em concentrações abaixo de 3 mmol.L⁻¹ tendo a resposta mais significativa nesta área. Apesar dos desafios enfrentados, o sensor desenvolvido representa um avanço para plataformas de diagnóstico *point-of-care*, permitindo a detecção de creatinina de forma portátil e acessível. Futuras otimizações incluem melhorias na membrana sensora e ajustes no eletrodo para reduzir o LOD e aumentar a durabilidade do sensor em fluxo.

ABSTRACT

In this research we have developed a measurement system based on field effect transistors and a photocurable membrane with mesooctamethylcalix[4]pyrrole for comparative creatinine recognition tests in static and flow systems for solutions prepared in different matrices, including water, synthetic urine and pH 4 buffer. The potentiometric results are presented in two ways: source and drain current variation and transistor threshold voltage. The data is discussed and compared to Capillary Electrophoresis tests with a C⁴D detector and literature findings. The device was able to detect creatinine in the matrices from the lowest concentration tested (3 mmol.L⁻¹), achieving values between 21% and 31% within the creatinine range for healthy individuals (3-27 mmol.L⁻¹) with a coefficient of determination (R^2) of 0.9766. The lowest LOD achieved in the tests was 3 mmol.L⁻¹. The LOQs were between 24 and 27 mmol.L⁻¹ for the different matrices. The system performed very well in measurements with hysteresis between 1.09% and 8.61%. After 90 days, the sensor still maintained more than 70% of its initial response, even when used periodically during the first week. When stored unused at -18 °C, the device was able to maintain 96.67% of its initial response. Although the sensor showed good stability in static measurements, its analytical response in flow showed a significant drop after three days, indicating the need for adjustments to the electrode design and flow configuration. In the interference test, the membrane was also shown to respond to the urea molecule, but in a different response window, which graphically allowed the contributions of the two molecules to be differentiated. The data obtained with the EGFET when compared to that obtained with the Capillary Electrophoresis technique with a C⁴D detector indicated good behavior, but the technique is useful at concentrations below 3 mmol.L⁻¹ and has the most significant response in this area. Despite the challenges faced, the sensor developed represents a breakthrough for point-of-care diagnostic platforms, allowing the detection of creatinine in a portable and affordable way. Future optimizations include improvements to the sensor membrane and adjustments to the electrode to reduce the LOD and increase the durability of the sensor in flow.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Representação simplificada da estrutura de um dispositivo MOSFET.	25
Figura 2: Diferentes regiões de funcionamento dos dispositivos FETs.	30
Figura 3: Design chip microfluídico com eletrodo em V.	36
Figura 4: Chip microfluídico em espiral com destaque aos eletrodos e reservatórios de injeção e evacuação de fluido.	37
Figura 5: Desenho CAD do dispositivo microfluídico fabricado por processamento digital de luz.	54
Figura 6: Sistema de medida estático e dinâmico.	56
Figura 7: Sistema de medida com injeção de alíquotas de amostra	58
Figura 8: Circuito elétrico projetado para as medidas com alíquotas no fluxo.	59
Figura 9: Curvas I_{DS} versus V_{DS} características de um MOSFET tipo enriquecimento.	64
Figura 10: Medida de transcondutância (GM) do dispositivo	65
Figura 11: Foto real do chip microfluídico impresso por processamento digital de luz.	67
Figura 12: Coeficientes angulares das medidas em $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$ 10 mM.L ⁻¹ até 10 ⁻⁶ mM.L ⁻¹ .	69
Figura 13: Medida estática de $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$.	70
Figura 14: Coeficientes angulares das medidas em cloreto preparado em água	71
Figura 15: Curvas I_{DS} - V_{DS} em diferentes concentrações de solução de cloreto em água. Curvas I_{DS} - V_{DS} para teste estático (a) e dinâmico (b). Sensibilidade em corrente para as soluções de cloreto preparado em água no SM (c) e no FM (d).	72
Figure 16: Curvas I_{DS} - V_{GS} para diferentes concentrações de cloreto em água. Transcondutância no teste SM (a) e FM (b). Sensibilidade em tensão para as amostras em SM (c) e FM (d).	74
Figura 17: Curvas I_{DS} - V_{DS} para diferentes concentrações de solução de tiocianato em água. Curvas I_{DS} - V_{DS} para SM (a) e FM (b). Sensibilidade em corrente para tiocianato preparado em água no SM (c) e no FM (d).	77
Figura 18: Curvas I_{DS} - V_{GS} para diferentes concentrações de tiocianato em água. Transcondutância do SM (a) e FM (b). Sensibilidade em corrente para amostras SM (c) e FM (d).	78
Figura 19: Sensibilidade em corrente para amostras de cloreto submetidas ao teste de fluxo de alíquotas.	80
Figura 20: Gráfico dos sinais de I_{DS} para diferentes concentrações de creatinina quando variada a proporção entre pasta condutora a base de grafite e OMCP. V_{GS} fixado em 3,5 V e V_{DS} 5 V. Medida efetuada para 4 mL de amostra. Valores de linearidade até 10 ⁻⁵ mol. L ⁻¹ para Mg1:5 e 10 ⁻³ mol.L ⁻¹ para as demais proporções.	82
Figura 21: Espectros de infravermelho (ATR-FTIR). (a) Conjunto de espectros para diferentes proporções de OMCP + pasta condutora a base de grafite. (b) Destaque para a região do estiramento de N-H do espectro.	83
Figura 22: Imagens MEV da superfície dos materiais. (a) Resina Clear V4 acrylic. (b) Pasta condutora. (c) Pasta condutora com OMCP. (d) Membrana finalizada.	84
Figura 23: Curvas I_{DS} - V_{DS} para SM (a) e FM (b). Sensibilidade em corrente para SM fluxo (c) e FM (d) para amostras em água, urina e tampão.	86
Figura 24: Curvas I_{DS} - V_{GS} para SM (a) e FM (b). Sensibilidade em tensão para SM (c) e FM (d).	89
Figura 25: Histerese para amostras em água, urina e tampão pH 4.	93

Figura 26: Seletividade de SM para solução de ureia ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$) em água. (a) Sensibilidade à corrente. (b) Sensibilidade à tensão. _____ 94

Figura 27: Gráfico da integração das áreas de pico de creatinina para urina sintética diluída 5 a 100 vezes e concentrações 3, 9, 15, 21, 24 e 27 mM de creatinina em água, tampão pH 4, urina sintética diluída 10x e 100 x utilizadas como matrizes. O eletroferograma da amostra de creatinina sérica preparada em urina diluída 10x com concentração de 3 mM é indicado ao lado inferior direito com o primeiro pico sendo de sódio, o segundo de creatinina e o maior deles o do fluxo eletromóscico. _____ 95

LISTA DE TABELAS

<i>Tabela 1: MOSFETs comerciais utilizados nas pesquisas de fabricação de EGFETs publicadas entre janeiro de 2018 e junho de 2022</i>	32
<i>Tabela 2: Comparativo dos diferentes materiais utilizados como filme sensor em EGFETs</i>	33
<i>Tabela 3: Sensibilidade em corrente e em voltagem de limiar para as amostras de cloreto.</i>	75
<i>Tabela 4. Sensibilidade em corrente e em voltagem de limiar para amostras de tiocianato</i>	79
<i>Tabela 5. Resultado da medida no teste ininterrupto de cloreto para diferentes matrizes</i>	81
<i>Tabela 6: Dados publicados relativos à detecção de creatinina</i>	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

APTES	Aminopropiltrietoxisilano
APS	Analizador de Parâmetros de Semicondutores
ATR-FTIR	Espectroscopia Vibracional no Infravermelho com Transformada de Fourier de Reflexão Total Atenuada
C ⁴ D	Deteção Condutométrica sem Contato Capacitivamente Acoplada
CMOS	Metal-Óxido-Semicondutor Complementar
DC	Corrente Contínua
DI	Água Deionizada
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
EGFETs	Transistores de Efeito de Campo com Porta Estendida
EGOFET	Transistores de Efeito de Campo Orgânico Dependentes de Eletrólitos
Elisa	Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
FEM	Força Eletromotriz
FET	Transistor de Efeito de Campo
FM	Medida Dinâmica
GM	Transcondutância
GO	Óxido de Grafeno
Gr-FET	Transistor de Efeito de Campo de Grafeno
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
I3D – 3D	Impressão 3D
I _{DS}	Corrente de Fonte-Dreno
IGZO	Óxido de Índio-Gálio-Zinco
ISFETs	Transistores de Efeito de Campo Íons Seletivos
ITO	Óxido de Índio e Estanho
K _d	Constante de Dissociação
KTPB	Tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil] Borato de Potássio
L-His	L-Histidina
LOD	Limite de Detecção
LOQ	Limite de Quantificação
M In	Medida Ininterrupta
MES	Ácido 2-(N-morfolino)etanossulfônico
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MOS	Metal-Óxido-Semicondutor
MOSFETs	Transistores de Efeito de Campo Metal-Óxido-Semicondutor
OECT	Transistor Eletroquímico Orgânico
OFETs	Transistores de Efeito de Campo Orgânicos
OMCP	Mesooctametilcalix[4]pirrol
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Solução Salina Tamponada com Fosfato
PDMS	Polidimetilsiloxano
PECVD	Deposição Química de Vapor Intensificada por Plasma
PEDOT:PSS	Poli(3,4-etilenodioxitiofeno): Poliestireno Sulfonato
pH	Potencial Hidrogeniônico
POCs	Point-of-Care
PSA	Antígeno Prostático Específico
PTFE	Politetrafluoretileno
Ref.	Referência

RF	Radiofrequência
SARS-Cov-2	Síndrome Respiratória Aguda Grave do Coronavírus 2
SM	Medida Estática
SMRs	Ressonadores Solidamente Montados
SMU	Unidade Elétrica de Medida
SPR	Ressonância de Superfície de Plasma
TFG	Taxas de Filtração Glomerular
TFT	Transistores de Filme Fino
UV	Ultravioleta
VAMNS	Nanocamadas Alinhadas Verticalmente
V_{FB}	Tensão de Flat Band
V_{GS}	Voltagem de Fonte-Porta
V_T	Voltagem de Limiar

Sumário

ASSISTENTE DE LEITURA	18
CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO	19
1.1 Um sensor não invasivo para a detecção de disfunções renais	20
CAPÍTULO 2: FETS E DISPOSITIVOS INTEGRADOS	24
2.1 Transistores	24
2.1.1 Transistores de Efeito de Campo Metal-Óxido-Semicondutor - MOSFET 24	
2.1.2 Transistores de Efeito de Campo Íons Seletivos - ISFETs	26
2.1.3 Transistores de Efeito de Campo com Porta Estendida - EGFETs	27
2.2 Consultando a literatura sobre o desenvolvimento de novos EGFETs	31
2.2.1 Manufatura aditiva para a confecção de chips microfluídicos integrados a eletrodos	35
2.2.2 Sistemas Integrados para Detecções Simultâneas e Ponto de Atendimento.....	38
2.2.3 Transistores de óxido de Índio-Gálio-Zinco integrados em chips microfluídicos	43
2.2.4 FETs flexíveis/vestíveis integrados	46
2.2.5 FETs Orgânicos	47
2.2.6 Dispositivos com contrapartes não elétricas.....	48
2.2.7 Dispositivos de Detecção de íons cloreto	50
2.2.8 Outras aplicações	51
CAPÍTULO 3: PARTE EXPERIMENTAL.....	53
3.1 Reagentes	53

3.1.1 Soluções de teste	53
3.2 Design do microchip e fabricação	53
3.3 Eletrodos	55
3.4 Transistor	55
3.5 Medidas experimentais	56
3.6 Membrana sensora à creatinina: Confeção e Caracterização	59
3.7 Parâmetros de avaliação do sensor	60
3.7.1 Sensibilidade	60
3.7.2 Linearidade	61
3.7.3 Histerese.....	61
3.7.4 Estabilidade.....	62
3.8 Teste em Eletroforese Capilar com detector C ⁴ D.....	62
CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÕES	63
4.1 Caracterização elétrica do transistor de efeito de campo e dos sistemas ..	63
4.2 Caracterização do chip microfluídico após a impressão 3D	66
4.3 Primeiros testes em solução: caracterização do comportamento do sistema em solução	68
4.4 Teste com solução de creatinina sérica.....	81
4.5 Teste usando Eletroforese Capilar com C ⁴ D	95
CAPÍTULO 5: CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	97
REFERÊNCIAS	101
Apêndice A- Fabricação do Microchip em PDMS	118
Apendice B - Síntese De Mesooctametilcalix[4]Pirrol	120
ANEXO 1 - Fabricação do Transistor	123

ANEXO 2- Datasheet do MOSFET Comercial..... 128

ASSISTENTE DE LEITURA

Este trabalho está dividido em cinco capítulos. A seguir é descrito cada parte constituinte desta tese de doutorado.

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

Relata pontos importantes da pesquisa abordando as vantagens de sistemas microfluídicos e o uso de técnicas potenciométricas, bem como o objetivo do estudo de doutorado e a justificativa em que ele se alicerça.

CAPÍTULO 2 - FETs E DISPOSITIVOS INTEGRADOS

Descreve teorias, conceitos e importantes equações envolvidas em estudos que fabricaram dispositivos como o aqui relatado o que auxilia na compreensão dos conteúdos dos capítulos seguintes, principalmente sobre o funcionamento de transistores de efeito de campo (FETs). Ao final é realizado um apanhado das publicações recentes na área.

CAPÍTULO 3 - PARTE EXPERIMENTAL

Detalha todas as etapas de caracterização do Transistor de Efeito de Campo Metal-Óxido-Semicondutor (MOSFET) comercial, construção do chip microfluídico, da membrana, dos sistemas de medida, da fabricação dos Transistores de Efeito de Campo com Porta Estendida (EGFETs), das integrações ao canal microfluídico e do uso da Eletroforese Capilar especificando materiais, métodos e instrumentações.

CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste capítulo é descrito os dados obtidos na caracterização dos sistemas desenvolvidos bem como especificamente da membrana de reconhecimento e relatada os resultados da aplicação deles na detecção de ferricianeto e ferrocianeto de potássio; cloreto; tiocianato e creatinina.

CAPÍTULO 5 - CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Apresenta as conclusões sobre os resultados obtidos comparando-os aos objetivos do estudo acentuando suas contribuições e apresentando as perspectivas futuras quanto ao trabalho exposto.

CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO

A alta demanda por análises químicas em laboratório resulta em elevado consumo de reagentes e geração de resíduos. Esse cenário impulsionou o desenvolvimento de novas tecnologias, como a microfluídica, que permite análises mais eficientes, sustentáveis e com menor consumo de amostras. No contexto da detecção de biomarcadores, os chips microfluídicos representam uma alternativa promissora para diagnóstico clínico rápido e de baixo custo [1-3].

Atualmente, os chips microfluídicos permitem a manipulação de volumes amostrais extremamente reduzidos, na faixa de picolitros (10^{-12} L) e microlitros (10^{-6} L), possibilitando a miniaturização e automação de análises químicas. Além de serem amplamente utilizados na separação e mistura de componentes em sínteses químicas, esses dispositivos vêm ganhando destaque na detecção de biomoléculas para diagnóstico clínico, permitindo medições rápidas e de alta sensibilidade [4-7].

Alguns pesquisadores têm aderido como procedimento de fabricação de chips microfluídicos à manufatura aditiva [8, 9], também denominada impressão tridimensional (I3D), uma vez que abrange os eixos x, y e z das coordenadas cartesianas. Essa técnica tem mostrado resultados promissores quanto à resolução dos canais microfluídicos. Vantagens como boa reprodutibilidade, alta precisão e fácil ajuste do comprimento, largura e profundidade dos ductos e também a possibilidade de fabricação nos mais variados ambientes sem a necessária manutenção de locais controlados como as denominadas salas limpas. Outra vantagem atrativa corresponde à eliminação de variados procedimentos que são integrados em apenas uma única etapa de confecção do chip [10, 11].

Na literatura, embora a manufatura aditiva esteja mais presente na fabricação de chips de análise com canais em escala milimétrica, ela também tem caminhado rumo a inovações metodológicas que possibilitam a aquisição de canais em escala micro. Pesquisas neste sentido relatam alguns bons resultados dada a utilização de métodos fotopoliméricos que utilizam reações de polimerização ativadas por luz em misturas líquidas de monômeros funcionais [12, 13].

A integração da manufatura aditiva à microfluídica visa tornar o desenvolvimento de dispositivos mais eficiente e acessível, permitindo a democratização de sua fabricação [14]. Essas técnicas têm sido oportunas na área de sensoriamento, contribuindo para avançar, principalmente, o estudo de

desenvolvimento de dispositivos para análises químicas e bioquímicas aplicados ao monitoramento clínico. Anualmente, a produção de sensores é responsável por um ascendente econômico significativo impulsionado pelas diferentes pesquisas em dispositivos com alta sensibilidade, linearidade, baixo tempo de resposta e detecção em baixas concentrações de analitos alvos ou quantidades de amostras [15-17].

Na área clínica, sensores de detecção de patologias permitem o diagnóstico rápido e precoce de doenças. Nesta área, pesquisas em detecções de doenças no coração, estômago, rins, pele, entre outros, auxiliam em uma melhor tomada de decisão pelos profissionais da saúde e, conseqüentemente, na resposta ao tratamento terapêutico [18].

Quando pensamos em sensoramento, existem alguns desafios. Destacam-se a busca por dispositivos projetados com materiais biocompatíveis, com baixa interferência de outros íons ou analitos, quantidade de espécies alvos cada vez menores, custo acessível, facilidade de manipulação, boa flexibilidade para design de dispositivos vestíveis, portabilidade, tempo de vida e detecção em fluidos corpóreos como urina, suor e saliva [19].

Dentre as pesquisas em sensores integrados, os que operam por efeito de campo têm ganhado atenção especial com chips de detecção formados a partir de transistores de efeito de campo com porta estendida - EGFETs. Eles são uma alternativa promissora por serem de fácil manuseio com possibilidade de uso em uma ampla gama de detecções devido sua porta estendida e alta sensibilidade de sinal de entrada [20, 21].

1.1 Um sensor não invasivo para a detecção de disfunções renais

A prevalência de disfunções renais em todo o mundo tem mostrado uma ascensão anual preocupante [22]. Sabe-se que em países desenvolvidos, pelo menos 10% da população apresenta alguma disfunção. Esta não se refere a uma doença específica, mas a uma condição patológica causada pelas doenças renais ou demais fatores que não estão associados apenas aos rins [23].

A principal técnica de detecção de doenças nos rins é a biópsia de tecido renal. Mas, normalmente, elas são clinicamente evitadas por acarretarem alto risco de hemorragias [24]. Existem também outras técnicas aplicadas ao reconhecimento de

marcadores de disfunções renais como a Ressonância Magnética, Espectroscopia de Ressonância Magnética, Espectrometria de Massa, Espectrofotometria e outros. Essas técnicas são caras, demoradas e algumas requerem muitas diluições das amostras o que pode trazer erros nas medidas [22,25, 26].

Devido a diferentes fatores, menos de 10% das pessoas descobrem que possuem alguma disfunção renal em estágios iniciais, quando o tratamento é mais eficaz [24]. Este dado é preocupante pois, lesões nos rins estão presentes em complicações de doenças como Alzheimer, Parkinson, cânceres, diabetes, doenças cardiovasculares e esclerose múltiplas [26, 27]. Doenças neurodegenerativas associadas às disfunções renais ocorrem, principalmente, devido a uma via de comunicação do sistema nervoso com os rins, conhecida como eixo rim-cérebro, que libera metabólitos tóxicos e moléculas inflamatórias quando há alguma lesão nos rins [28].

Nos centros médicos, pacientes com algum tipo de comprometimento renal também são mais propícios a terem algum evento cardiovascular, falhas múltiplas de órgãos, doença óssea, anemia, uremia, além de maior período de internações quando submetidos a quaisquer procedimentos médicos invasivos [24, 29, 30]. Nos últimos anos, pesquisadores têm proposto como método não invasivo de monitoramento a detecção de metabólitos na urina. Este é um fluido corpóreo produzido pelos rins, armazenado na bexiga e expelido pelo canal uretral [26]. Ele possui água, cloreto (Cl^-), ureia, sulfato (SO_4^{2-}), sódio (Na^+), potássio (K^+), fosfato (PO_4^{3-}), magnésio (Mg^{2+}), pirofosfato, citrato, cálcio (Ca^{2+}), creatinina ($\text{C}_4\text{H}_7\text{N}_3\text{O}$), cobre (Cu^{2+}), níquel (Ni^{2+}), ferro ($\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$) e outros variados metabólitos [26]. Tantos componentes fizeram com que este fluido fosse tido como uma possível matriz para a detecção de degenerações, principalmente renais.

O monitoramento de marcadores em urina quando comparados aos baseados em sangue apresentam algumas vantagens como uma coleta não invasiva, menor influência do ritmo circadiano, do consumo de refeições, estresse e também maior período de armazenamento sem que haja uma degradação significativa que impossibilite o reconhecimento de variadas espécies clínicas [26].

Em situações em que, principalmente, as funções de filtração e reabsorção dos rins estão comprometidas por alguma enfermidade, a química tecidual desse órgão é alterada o que causa variações nas taxas de filtração glomerular (TFG) que é o principal indicador dos estágios clínicos de disfunções renais [24]. A estimativa da

TFG é monitorada a partir dos níveis de creatinina sérica (2-amino-1-metil-5H-imidazol-4-ona), que é um dos produtos finais do metabolismo proteico em humanos e padrão ouro no reconhecimento de disfunções renais [25].

Conforme a função renal diminui, ou seja, há o risco de morte por insuficiência dos rins desempenhar sua atividade no corpo, os níveis de creatinina em urina humana também diminuem indicando que as taxas de filtração glomerular estão em declínio [24, 25, 31-34]. Embora a taxa de creatinina no corpo sofra influência de fatores como gênero, massa corpórea, altura, entre outros, estima-se que uma faixa estável esteja entre 3 – 27 mmol.L⁻¹ e um declínio urinário diário entre 21% a 31% nesses valores seria um indicativo de perda da função renal [23, 35, 36]. Além de indicar problemas renais, este marcador é relevante ainda para avaliar o funcionamento da tireoide e lesões musculares, indicado por valores de creatinina abaixo de 3 mmol.L⁻¹ [37].

Na literatura, uma abordagem relativamente barata para a detecção de creatinina tem sido os sensores eletroquímicos [37-39]. A maioria dos sensores discutidos na literatura, no entanto, avaliam a concentração de creatinina a partir de uma análise adicional de amônio ou por remoção a priori de amônio para posterior reconhecimento do alvo [31, 36]. Quantificar diretamente a concentração de creatinina em fluidos biológicos apresenta, portanto, uma necessidade de pesquisa. Além disso, na literatura sensores eletroquímicos tem utilizado potencial de trabalho negativo na tentativa de evitar interferentes como ácido ascórbico, ácido úrico, ureia, glicose e outros sais inorgânicos que coexistem com a creatinina nas amostras de urina. Mas o baixo potencial de eletrodo impossibilita a realização dessas análises em fluidos biológicos reais [23, 31].

Projetar um dispositivo capaz de distinguir creatinina em um potencial de eletrodo aplicável a amostras biológicas reais é uma tarefa que requer maiores estudos. Tal avanço científico possibilitaria que a população tivesse acesso rápido aos testes de patologias, bem como da resposta aos exames e início de tratamentos terapêuticos adequados. Atrelado a isso, as mudanças bruscas no quadro clínico dos pacientes também são fatores que requerem agilidade nos métodos de reconhecimento de metabólitos marcadores de disfunções. Principalmente se considerarmos o público de idades avançadas ou crianças prematuras, o que pode contribuir também para um monitoramento regular [40].

O monitoramento de marcadores de disfunções renais nos pacientes neonatais apresenta alguns obstáculos pois, existem peculiaridades fisiológicas e clínicas quando comparadas aos exames de identificação em adultos [33, 41]. Nestes pacientes, devido ao baixo peso, o acesso vascular recorrente para exames de sangue que detectam creatinina pode causar anemia, dor e outras complicações como infecções hospitalares [33, 41, 42].

Muitos trabalhos que mapearam as condições clínicas de neonatos demonstraram que 30% deles apresentarão algum tipo de disfunção renal e maior probabilidade de mal neurodesenvolvimento. Recém-nascidos com disfunções renais também possuem 4,5 vezes mais chances de irem a óbito [32, 33]. Tão alta prevalência pode ser atribuída também ao fato de que medidas de alterações de creatinina em estágios iniciais da disfunção são difíceis e tem sido detectada apenas quando pelo menos 50% da função renal do neonato já foi perdida [40, 43-46].

O desenvolvimento de sensores de baixo custo, alta sensibilidade e resposta rápida é essencial para o monitoramento eficaz de biomarcadores de disfunção renal. A creatinina, amplamente utilizada como indicativo da função renal, pode ser detectada por meio de dispositivos microfluídicos acoplados a transistores de efeito de campo, permitindo uma abordagem inovadora para análises clínicas não invasivas. Nesse contexto, esta pesquisa busca explorar o potencial dos EGFETs para essa aplicação, visando a criação de uma plataforma confiável e acessível para diagnóstico *point-of-care*.

Diante da necessidade de métodos rápidos e sensíveis para a quantificação de creatinina sérica em diagnóstico clínico, esta tese propõe o desenvolvimento de um sistema microfluídico integrado a Transistores de Efeito de Campo com Porta Estendida (EGFETs) para detecção não invasiva desse biomarcador. Embora os EGFETs já tenham sido explorados na literatura para diferentes aplicações analíticas, sua integração em sistemas microfluídicos para quantificação de creatinina representa uma inovação promissora para o avanço de tecnologias *point-of-care*.

Os resultados obtidos nos testes com o EGFET foram comparados com resultados contidos na literatura e análises químicas feitas em laboratório por técnica de Eletroforese Capilar com detector C⁴D.

CAPÍTULO 2: FETS E DISPOSITIVOS INTEGRADOS

2.1 Transistores

Na indústria da microeletrônica o silício mostrou-se um material essencial à fabricação de diversos dispositivos como diodos e células fotovoltaicas dadas a sua propriedade óptica e função retificadora, além de sua superabundância na crosta terrestre [47]. As propriedades elétricas do silício podem ser alteradas por processos de dopagem o que permitiu que diferentes produtos fossem confeccionados a partir dele [48].

Em 1954, uma equipe de pesquisadores revolucionou a indústria telefônica apresentando um novo amplificador de sinal que agia mediante o comportamento de três camadas de materiais, sendo o silício a base desse novo produto. O diferencial da utilização de silício na estrutura era seu funcionamento em um amplo espectro de temperatura sem que fossem comprometidas as suas propriedades, além de apresentar menor fuga de corrente. A função do novo sistema, denominado como transistor, era a de amplificar sinais fracos para serem utilizados em diferentes finalidades [49-55].

2.1.1 Transistores de Efeito de Campo Metal-Óxido-Semicondutor - MOSFET

Normalmente, a estrutura que dá base aos transistores é composta por um material semicondutor dopado e o efeito de campo é o nome atribuído ao fenômeno de condutividade nesse material em resposta a aplicação de um campo elétrico externo que perpassa materiais com diferentes condutividades [51, 56, 53]. Detalharemos o funcionamento dos FETs a partir da estrutura de um MOSFET.

Os MOSFETs possuem um substrato semicondutor com quatro terminais de materiais condutivos que são denominados terminal corpo, fonte, dreno e porta [57]. Como representado na Figura 1, a seguir.

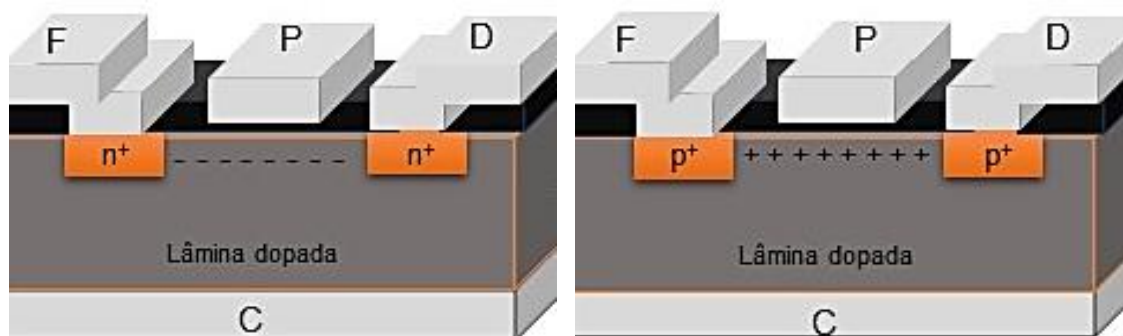


Figura 1: Representação simplificada da estrutura transversal de um dispositivo MOSFET.

Na Figura 1, a esquerda, tem-se um MOSFET tipo n e a direita um tipo p. O substrato é dopado formando as regiões n^+ e p^+ acima tem-se uma camada de óxido (em preto) que é a espécie isolante do sistema e em sequência tem-se depositado um material condutor. Na representação do circuito elétrico desses dispositivos o terminal de corpo está interno ou externamente integrado ao terminal de fonte. Quando há a aplicação de potencial na porta do dispositivo as cargas elétricas do semicondutor formam um canal condutor entre os eletrodos fonte e dreno, na região dopada.

Nos MOSFETs existem três interfaces: metal-óxido, óxido-semicondutor e semicondutor-metal. O terminal de porta, posicionado paralelo aos demais terminais, é eletricamente carregado pela acumulação de espécies em sua superfície e essas cargas induzem um fluxo de cargas opostas na interface óxido-semicondutor o que gera um canal condutor entre o terminal de fonte e dreno [58].

Devido à modulação das cargas no substrato semicondutor, o óxido por sua alta impedância atua como uma camada isolante. Ele faz com que a corrente entre os terminais dreno e fonte seja controlada pela variação do sinal de tensão na porta, caracterizando assim o efeito de campo [58, 59].

Transistores de silício proporcionam alta estabilidade mecânica com menor perdas de suas propriedades durante a fabricação e operação do dispositivo. Os FETs feitos desse material possuem processos de fabricação estáveis e robustos, além de baixo ruído na utilização e apresentam potencial para sensores descartáveis [60-63].

Como anteriormente mencionado, para o funcionamento de um MOSFET é necessário que na porta metálica ocorra a aplicação de um potencial ou deposição de espécies carregadas que induzirão cargas do semicondutor até que seja criado um canal condutivo na interface óxido-semicondutor. O canal do dispositivo será formado conectando o terminal de fonte ao de dreno quando elétrons suficientes estiverem na região interfacial óxido-semicondutor a partir de uma tensão de valor característico de

cada tipo de FET, essa tensão é denominada como tensão de limiar [64]. Tais conceitos são de grande relevância para o entendimento das análises elétricas dos sistemas MOS utilizados neste trabalho.

Desde o surgimento dos dispositivos FET, vários estudos teóricos e experimentais foram desenvolvidos e isso deu base para o surgimento de novas estruturas de transistores. Existe uma infinidade de terminologia para estruturas FET, os mais difundidos incluem transistor de efeito de campo de metal-óxido-semicondutor (MOSFET), transistor de efeito de campo íons seletivos (ISFET), transistor de efeito de campo de porta estendida (EGFET) e transistor de efeito de campo orgânico (OFET). Todas eles compartilham do mesmo princípio, o efeito de campo. A diferença entre esses FETs está na forma em que o campo elétrico externo é incidido no sistema. Isso porque o canal induzido na interface óxido-semicondutor pode ter origem da aplicação direta de potencial na porta do dispositivo ou advir de outras origens como a presença de cargas de uma solução. Assim, é possível configurar esses transistores em diferentes formas para sensoramento de espécies químicas carregadas como é o caso dos ISFETs.

2.1.2 Transistores de Efeito de Campo Íons Seletivos - ISFETs

A estrutura de um ISFET, pode ser pensada a partir de um MOSFET que teve sua porta metálica substituída por uma solução, fazendo com que o óxido isolante da estrutura MOS fosse exposto diretamente a solução [48, 65]. Nos ISFETs uma membrana em contato direto com o óxido forma uma dupla camada elétrica na interface da solução com o isolante, fazendo com que a interação de cargas provoque alterações na funcionalidade do dispositivo. As alterações são observadas por dois parâmetros: o potencial de funcionamento do FET (V_T) e a modulação da corrente fonte-dreno (I_{DS}).

O V_T refere-se ao momento em que o valor do potencial entre a porta e a fonte do dispositivo (V_{GS}) estimula a formação do canal de condução de carga no FET e pode ser descrito como:

$$V_t(ISFET) = V_t(MOSFET) + E_{ref} - \phi_0 + X_{sol} - \frac{\phi_M}{q} \quad (\text{Equação 1}).$$

em que $V_t(MOSFET)$ é a tensão limite do MOSFET; E_{ref} é o potencial do eletrodo de referência; ϕ_0 é o potencial de superfície da interface do isolador do eletrólito em

relação ao volume do eletrólito; X^{sol} é o potencial do dipolo da interface isolador do eletrólito e $\frac{\phi_M}{q}$ é a função trabalho do metal [59, 66, 67].

Na equação acima, há uma dependência com o potencial do eletrodo de referência, pois o FET é ligado pelo potencial aplicado neste eletrodo. Devido a relação com o potencial de superfície, a tensão limite muda de acordo com a solução iônica.

$$V_{out} = E_{ref} - \phi_0 \quad (\text{Equação 2}).$$

Isso ocorre porque o potencial de superfície está relacionado a presença de cargas no detector de porta [66, 67].

A presença de cargas na superfície usualmente é prevista, para sensores de pH, a partir da teoria de Gouy-Chapman-Stern e do modelo de ligação ao local, mediante a identificação do número de sítios ativos para a interação das cargas. Modificando o filme sensível, os ISFETs podem ser projetados para uma infinidade de detecções. Dependendo do modo de funcionamento o dispositivo poderá consumir menor energia tendo uma baixa tensão de limiar [68]. Quando extrapolasse a tensão limite o dispositivo é ligado, ou seja, o potencial aplicado empurrará íons para o canal do FET que tentará compensar a presença de cargas injetando íons de carga oposta, o que alterará a corrente fonte-dreno do sensor [68].

Frente aos MOSFETs os ISFET expandiram-se rapidamente pois em comparação apresentam alta possibilidade de miniaturização por processos de microfabricação. Nos ISFETs, as medições ocorrem através do contato direto entre o óxido isolante e a solução analisada, isso diminui a vida útil dos dispositivos e pode aumentar o ruído. Este problema foi solucionado com o desenvolvimento dos EGFETs. Os EGFETs têm o mesmo mecanismo de resposta que os ISFETs, mas ao invés de colocar a solução medida diretamente sobre o óxido é feita uma conexão entre o FET e o local de detecção [69]. A configuração de um EGFET surge da conexão de um material transdutor, como uma camada sensível a alguma espécie, que forma uma extensão de parte da estrutura de um MOSFET, a saber, uma extensão do terminal de porta [20].

2.1.3 Transistores de Efeito de Campo com Porta Estendida - EGFETs

Os EGFETs foram propostos em 1983 por Van Der Spiegel et al. [70], neles uma membrana seletiva é depositada na forma de um filme fino sobre um transdutor físico-químico que pode ser conectado à porta de um MOSFET comercial ou especialmente projetado. A extensão da porta EGFET permite que o dispositivo seja utilizado em um maior número de medidas, pois ela pode ser facilmente substituída. O uso de MOSFETs comerciais vem tornando o processo de fabricação desses sensores mais rápido, o que tem contribuído para a sua disseminação.

Além dos fatores já citados, os sensores EGFETs apresentam uma estrutura simples, fácil processo de encapsulamento e maior estabilidade, pois apenas sua parte sensível está em contato direto com a solução [69]. Nesses dispositivos, a variação de carga na superfície da porta estendida leva à modulação do potencial do terminal de porta do MOSFET modificando a resistência do canal entre a fonte e o dreno do MOSFET, isso afeta a corrente entre dreno e fonte (I_{DS}).

Quando aplicado uma diferença de potencial nos terminais fonte e dreno, o dispositivo fica na iminência da formação do canal condutor por qualquer mínima aplicação de carga na porta estendida que seja acima do V_T do terminal de porta do MOS [71]. O potencial elétrico gerado na superfície sensora é devido a concentração das espécies em solução e pode ser calculado pela equação de Nernst. O EGFET irá permitir o fluxo de corrente I_{DS} de modo proporcional a concentração de carga na solução. Quanto menor a concentração de cargas da solução menor será o fluxo de corrente.

Uma variação de potencial ocasionada por variações na concentração das amostras modula a tensão de entrada dos EGFETs mediante o acúmulo de carga na superfície de um eletrodo indicador (E_{In}) [72].

Para o monitoramento de variações na concentração das espécies em soluções fora do equilíbrio é aplicada a equação de Nernst, conforme descrita abaixo:

$$E(cel) = E^\circ - \frac{RT}{nF} \ln Q \quad (\text{Equação 3}).$$

em que E° corresponde ao potencial padrão da semicélula que são valores tabelados, R é a constante dos gases ideais dada em unidade de $J.mol^{-1}.K^{-1}$, T a temperatura em Kelvin, n a quantidade de mols trocados na reação, F a constante de Faraday e Q o quociente da reação.

A partir da equação acima conseguimos identificar mudanças na força eletromotriz (FEM) da célula pelas variações no potencial do eletrodo indicador dados por cada concentração da espécie alvo na amostra. Em uma temperatura ambiente igual a 298 Kelvin e no equilíbrio, a equação 3 pode ser reescrita como:

$$E(cel) = E^{\circ} - \frac{0,05916}{n} \ln K \quad (\text{Equação 4}).$$

em que K é constante de equilíbrio. Isso quer dizer que cada variação logarítmica na concentração da espécie alvo na amostra para processos reversíveis terá uma diferença de 59,16 mV no potencial de célula quando trabalhamos com espécies monovalentes e metade deste valor para bivalentes [72,15].

Dispositivos potenciométricos que seguem a variação dada pela equação de Nernst são classificadas como possuindo comportamento Nernstiano enquanto valores menores ou maiores os classificam como sub-Nernstianas ou super-Nernstianas, respectivamente. Tais valores são indicativos importantes quando falamos de pesquisas utilizando o método potenciométrico, já que eles nos fornecem informações quanto a qualidade do eletrodo fabricado, principalmente, no que diz respeito a sua sensibilidade ao alvo e seletividade na presença de outras espécies [72].

Um fato que chama a atenção para o uso de métodos potenciométricos é que eles podem ser empregados nos mais variados tipos de detecção e, devido a isso, possuem grande abrangência laboratorial. Além do mais, sempre que existir uma diferença de carga através de qualquer material, há uma diferença de potencial elétrico através dele o que amplia os tipos de espécies que essa técnica pode reconhecer [15, 72, 73].

Configurações potenciométricas utilizando EGFETs integrados a chips microfluídicos já foram reportadas na literatura como estratégia para superar complexidades do manuseio de fluidos, diminuir o tempo de resposta e os ruídos de origem eletrônica [74-79]. Esses dispositivos, em maior parte, foram aplicados na detecção do potencial hidrogeniônico (pH) de diferentes meios amostrais [80-89]. O princípio de funcionamento dos EGFETs pode também ser utilizado para a construção de sensores com finalidades como a que relatamos nesta tese.

Independente do modelo, todos os FETs possuem 3 diferentes regiões de funcionamento. Conforme apresenta a Figura 2.

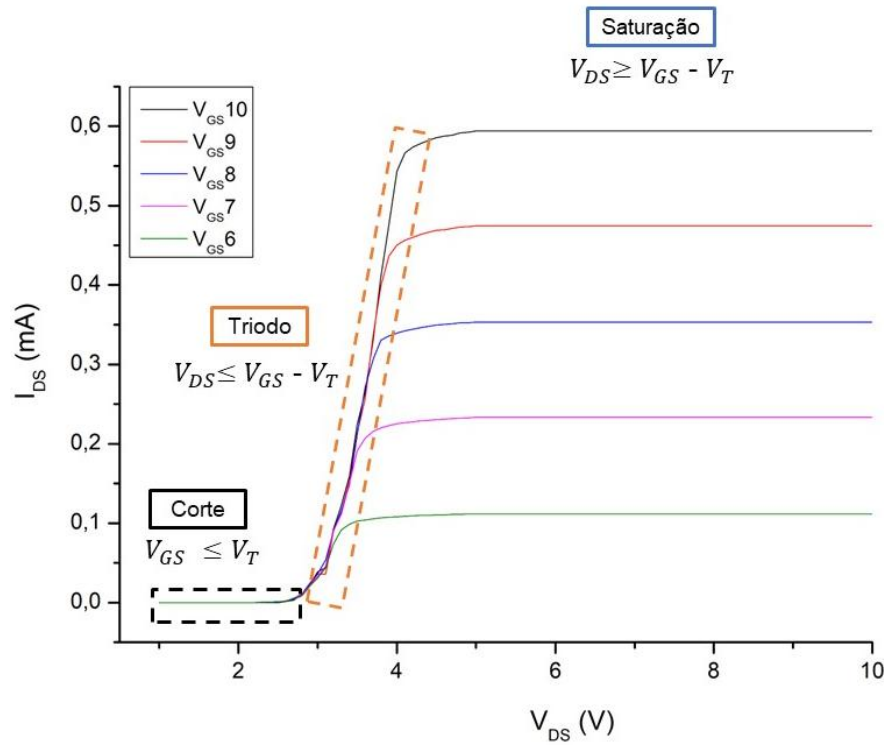


Figura 2: Regiões de funcionamento dos dispositivos FETs. Os valores de V_{GS} , I_{DS} e V_{DS} para cada região é característico de cada dispositivo.

A região de corte corresponde ao momento em que não há canal induzido sendo a voltagem entre porta e fonte menor do que a tensão de limiar necessária ao funcionamento do dispositivo e devido a isso ele encontrasse desligado. Para atingir a região de funcionamento é necessário que o sensor apresente tensões acima do limiar do transistor [78].

Uma segunda região de funcionamento, verificada no gráfico da Figura 2 acima, é a do triodo. Nesta, a corrente que circula no sensor é dada pela fórmula

$$I_{DS} = \frac{\mu_0 C_{ox}}{2} \frac{W}{L} [2(V_{ref} - V_t) V_{DS}]^2 \quad (\text{Equação 5}).$$

em que μ_0 é a mobilidade dos portadores; C_{ox} é a capacitância de óxido da porta por unidade de área; W e L são a largura e comprimento do canal no MOS, respectivamente; V_{ref} é a tensão do eletrodo de referência; V_{DS} o potencial aplicado ao dreno e a fonte e V_T é a tensão limite. Nela o canal do MOS ainda está modulando as cargas do semicondutor e expandindo no espaço entre os terminais de fonte e dreno.

A terceira região é a de saturação, nesta a corrente de saída é agora relativamente independente da variação de tensão de fonte-dreno e é controlada somente pela tensão da porta, podendo ser calculada por

$$I_{DS} = k[V_{DS} - V_t]^2 \quad (\text{Equação 6}).$$

em que K é $\frac{\mu_0 C_{ox}}{2} \frac{W}{L}$ que corresponde ao parâmetro de condução; V_T é a tensão de ativação do MOSFET que é calculada pela Equação 1 e V_{DS} o potencial fonte-dreno [64].

Isso quer dizer que em valores de V_{DS} maiores ao de atingir a saturação a corrente fonte-dreno não varia e é possível distinguir claramente a diferença entre as correntes geradas por cada potencial aplicado a porta.

Como o EGFET possui o eletrodo de referência interagindo com o eletrólito e o óxido de porta também, novas tensões devem ser consideradas nas equações já que elas atribuem diferenças também ao V_T do dispositivo. A equação para a região de saturação para um EGFET passa a ser

$$I_{DS} = \frac{\mu_0 C_{ox}}{2} \frac{W}{L} [V_{GS} - (V_{fb} - 2 \phi_{fermi})]^2 \quad (\text{Equação 7}).$$

em que ϕ_{fermi} é o potencial de Fermi e V_{FB} é a tensão de banda plana.

A Equação 7 difere das outras pois considera as interferências das diferentes concentrações das soluções na variação da corrente [48].

Em comparação aos outros modelos aqui apresentados, os EGFETs possuem maior resistência à corrosão em amostras salinas e são menos sensíveis a temperatura. Sua estabilidade vem do fato de que os ataques de íons provenientes da solução não ultrapassam o isolador de porta. Sua outra vantagem, que fez com que ele fosse escolhido para compor esse estudo, refere-se ao fato da possibilidade de uma porta estendida com diferentes geometrias o que melhoraria a adequação do eletrodo indicador aos canais microfluídicos.

2.2 Consultando a literatura sobre o desenvolvimento de novos EGFETs

Dentre as pesquisas sobre EGFETs, publicadas na base Science Direct de janeiro de 2018 a junho de 2022, um quantitativo de 19,60% delas fabricaram o próprio dispositivo MOS, enquanto que 68,64% utilizaram MOSFETs comerciais e fabricaram apenas a porta estendida do dispositivo. Embora a fabricação de MOSFETs seja uma etapa laboriosa, em alguns casos faz-se necessário para a aquisição de uma melhor faixa de sensibilidade do dispositivo já que a resistividade dos materiais incidirá na do sensor ou pela necessidade de um novo design do sistema [77]. Durante a pesquisa observamos que os trabalhos que utilizaram MOSFETs comerciais partiam de um mesmo modelo. Conforme estão tabelados abaixo (Tabela 1).

Tabela 1: MOSFETs comerciais utilizados nas pesquisas de fabricação de EGFETs publicadas entre janeiro de 2018 e junho de 2022

TIPO	MODELO COMERCIAL	SENSIBILIDADE	REF.
NMOS	2N 7000	51,59 – 64,29 mV/pH	21
NMOS	CD 4007 UB	60,96 - 78,25 mV/pH 1,44 – 2 $\mu\text{A}/\text{pH}$	80
PMOS	MC1 4007 UBCP	57,39-58,04 mV/pH	83
NMOS	HEF 4007 UBD	108,3 mV/pH 2,65 $\mu\text{A}^{1/2}/\text{pH}$	85
NMOS	CD 4007U BE	39,19-102 mV/pH 2,12-2,6 $\mu\text{A}^{1/2}/\text{pH}$	90, 91
NMOS	MC1 4007 UB	49,63 mV/pH	92

O último MOS citado na tabela acima, tem o uso relatado em um amplo número de pesquisas além daquelas de reconhecimento de pH. Na tabela é visível informações quanto as faixas de sensibilidade obtidas em pesquisas que utilizaram cada tipo dos MOS. Embora apenas o modelo 2N7000 seja diferente dos demais a segunda coluna da Tabela 1 expõe também informações quanto aos fabricantes e ao tipo de encapsulamento o que pode atribuir alguma divergência dada a critérios mais rigorosos de fabricação ou envelopamento mais eficaz.

As pesquisas neste campo também apresentaram informações relevantes quanto aos tipos de materiais utilizados como membrana sensora. Uma infinidade de novos materiais para a confecção de filmes tem sido desenvolvida, alguns deles podem ser visualizados na Tabela 2 abaixo.

Tabela 2: Comparativo dos diferentes materiais utilizados como filme sensor em EGFETs

MATERIAL DA MEMBRANA	SENSIBILIDADE	REF.
Ga_2O_3 / ITO	51,59 - 64,29 mV/pH	21
$TbTaO_4$	65,39 - 79,71 mV/pH	66
CoN_xO_y	51,58 - 64,36 mV/pH	69
a-IGZO	52,06 - 59,45 mV/pH	71
TiO_2	60,96 - 78,25 mV/pH 1,44 - 2,0 $\mu A^{1/2}$ /pH	80
Flavin-phenol	55 mV/pH	82
ITO (SnO_2)	57,39 - 58,04 mV/pH	83
Zn/Ag/ZnO	3,2 – 5,4 mV/pH 0,25 - 0,62 $\mu A^{1/2}$ /pH	84
Psi-QD	108,3 mV/pH	85
Poly-Si / Ta_2O_5	59,15 - 478 mV/pH	86
ZnO	40,5 - 52,4 mV/pH	87
SnO_2 / ITO	56-58 mV/pH	89
TaO_x/Ta	39,19 - 61,28 mV/pH	90
Sn dopado 3D V_2O_5	87,1 - 102 mV/pH 2,12 – 2,6 $\mu A^{1/2}$ /pH	91
$Na_3BiO_4 - Bi_2O_3$	49,63 – 61,76 mV/pH	92
TiN	21,88 mV/pCTn-I	93
Gallium	79,46 mV/pH e 22,01mV/mM	94
Ga_2O_3 pure	60 mV/pH 1,23 - 1,47 $\mu A^{1/2}$ /pH	
$LaTi_xO_y$	60,29 - 68,17 mV/pH	95
a-IGZO (SnO_2)	57,4 - 387,6 mV/pH	96
IGZO	65,9 mV $déc^{-1}$	97
$ZnIn_xO_y$	46,28 mV/pH	98
$InZn_xO_y$	61,53 mV/pH	99
ZnOMRs	16,72 - 20,71 mV/pH 23,62 – 29 μA /mM	100
Y_2O_3	43,17 - 63,80 mV/pH	101
RuO_x	65,11 mV/pH 6,89 mV/mM	102
Ni/ITO	61,13 mV/pH 58,75 μA /pH	103
ZnO/Pb/G	1,124 mV/ μSV	104

Durante a coleta de dados, observamos que para a confecção dos dispositivos, as pesquisas utilizaram alguns métodos de confecção de filme sensor que se sobressaíram dentre outros como é o caso da pulverização catódica ou em inglês *sputtering*. Essa técnica consiste em um bombardeamento do alvo que é desalojado de um material por plasma de gases inertes e posteriormente depositado em uma câmara onde a lâmina está posicionada [81, 105].

Dependendo da fonte de corrente utilizada esse método pode ser subdividido em *sputtering* por corrente contínua (DC) ou radiofrequência (RF). A utilização de cada um desses métodos depende também do tipo de material. Nas pesquisas sobre EGFETs o RF tem se sobressaído devido ao uso de materiais isolantes e magnéticos. O *sputtering* apresenta muitas vantagens, mas a que faz com que ela seja a técnica mais utilizada na fabricação de filmes detectores é que os tipos de materiais que podem ser depositados por meio dele é extremamente amplo, embora a sua desvantagem seja o alto custo [106, 107].

A segunda técnica bastante utilizada é a sol-gel isso porque é uma técnica muito barata em comparação a outras, pois não necessita de equipamentos sofisticados. Nela um material sólido é solubilizado em solvente. Logo em seguida, a mistura passa por um processo de evaporação em que é formado um gel. Suas desvantagens são a baixa compatibilidade de sistemas de solventes orgânicos e a baixa molhabilidade do sol com o substrato, o que faz com que o filme tenha baixa vida útil devido a falta de aderências à superfície ao longo do uso do sensor [108].

A deposição por banho químico é a terceira técnica mais citada nos artigos sobre EGFETs. Nela um substrato é exposto a precursores voláteis em uma câmara evacuada, sob temperatura elevada. Neste método os precursores reagem e/ou decompõem-se na superfície do material produzindo o filme fino. Sua principal vantagem é que o processo pode ser realizado à baixa temperatura, porém sua taxa de deposição tem sido baixa [109-111].

Por último, tem-se o método hidrotérmico ou solvotérmico de fabricação. A técnica consiste em uma síntese de monocristais dadas as propriedades de solubilidade de minerais em água quente e sob alta pressão [112]. Devido a isso esse método é comumente realizado em uma autoclave, com politetrafluoretileno (PTFE) fazendo o revestimento do recipiente que contém a solução precursora. A principal vantagem desse processo, frente aos anteriormente citados, é a possibilidade de controlar o tamanho e forma das partículas [113].

O desenvolvimento de novos projetos e engenharia de superfícies com a otimização de diferentes parâmetros, principalmente relacionados à composição da membrana de sensoriamento, significa que dispositivos EGFETs têm sido explorados em diferentes pesquisas.

Dentre os trabalhos publicados na área de sensores integrados, os EGFETs têm sido o tipo de projeto mais utilizado para integração à chips microfluídicos. Isso se deve, exclusivamente, à sua vantagem de isolar o eletrodo indicador do terminal de porta do MOS, o que faz com que o eletrodo possa apresentar diferentes tamanhos e geometrias. Além disso, os EGFETs possuem uma estrutura de sensoriamento que pode ser facilmente removida permitindo múltiplos usos do sensor, com a possibilidade de integrar o eletrodo indicador nos mais variados tipos de estruturas microfluídicas [114].

Nas pesquisas com EGFETs, um grande obstáculo perceptível, que impulsionou o uso integrado deste em chips microfluídicos, está relacionado às dificuldades em medições que possuem fortes sinais eletrônicos de fundo provenientes da resposta elétrica de outras espécies presentes no analito.

A área de microfluídica apresenta muitas vantagens que dão base a fabricação de diversas plataformas, seus obstáculos, no entanto, são relacionados, principalmente, a integração dos canais à microdispositivos como os eletrodos. Isso requer tecnologias avançadas de fabricação que sejam viáveis a miniaturização dos diversos componentes fluídicos para que a compactualização entre os dois objetos atinja de maneira eficaz o objetivo do estudo.

2.2.1 Manufatura aditiva para a confecção de chips microfluídicos integrados a eletrodos

A redução de custo em matéria prima é uma preocupação crescente quando se pensa em confecção de dispositivos. Isso ocasionou o desenvolvimento do método de impressão 3D que vêm cada vez mais se expandido, dentre outros motivos, pela maior resolução na impressão de objetos, baixo custo de produção e menor tempo de fabricação [9].

A manufatura aditiva tem um baixo custo de fabricação, além de uma quantidade menor de materiais residuais provenientes do processo [115]. Entre

diferentes técnicas de fabricação 3D tem-se a fotopolimerização, que consiste em sequências de reações de polimerização de um fotopolímero líquido ativado por luz [116].

Luz ultravioleta (UV) é incidida no material que pela intensidade sofre uma alteração física de mudança de estado líquido para o sólido o que possibilita a confecção de peças rígidas. Esse método de fabricação pode ser subdividido em algumas diferentes abordagens a depender da configuração do feixe de laser para cura do material polimérico [9].

Costa et al. [115] testaram a viabilidade da utilização de uma impressora 3D por estereolitografia na confecção de chips. O dispositivo foi aplicado na separação e detecção amperométrica, acoplada a um sistema de eletroforese para reconhecimento de metanol ferroceno (FcMeOH) e hexaaminarutênio (III) $[Ru(NH_3)_6]^{3+}$ em meio de tampão fosfato. Para isso eles fizeram impressões variando a largura do canal de fluxo de 50 a $300\mu m$ com profundidade fixada em $200\mu m$. Os canais foram projetados para serem impressos abertos e fita de silicone foi utilizada posteriormente para fechar o canal (Figura 3).

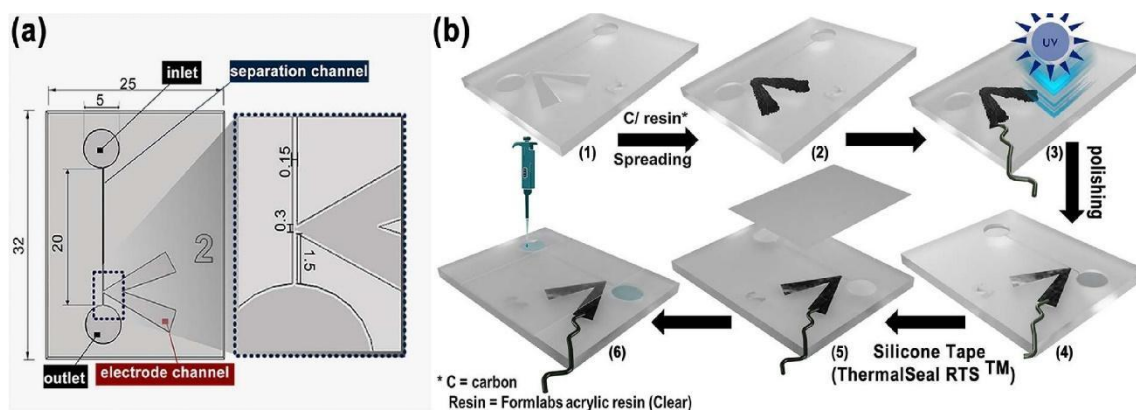


Figura 3: Design chip microfluídico com eletrodo em V. (a) projeção em software do dispositivo; (b) passo a passo da finalização do chip de detecção [115]. Tradução livre: inlet = entrada de fluxo; outlet= saída de fluxo; separation channel= canal de separação; electrode channel= canal de eletrodo.

A menor dimensão de canal obtida foi de aproximadamente $95\mu m$ de largura e $180\mu m$ de altura com um design computacional de sistema de $150\mu m$ de largura por $200\mu m$ de altura.

Usando uma configuração de eletrodo em forma de 'V' em que a área inferior estava em contato direto com o canal de fluxo, formando um contato lateral com a amostra, os autores preencheram a área com uma mistura de grafite e resina

fotocurável que formava uma pasta condutora fabricada exclusivamente ao interesse da pesquisa. Com esse chip eles obtiveram um LOD e LOQ de $4,5 \mu\text{M}$ e $15 \mu\text{M}$, respectivamente para a amostra de (FcMeOH) e na medida dinâmica os autores observaram que havia um incremento de quatro vezes esses valores para a detecção de $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$.

Em outra pesquisa Costa et al. [117] fabricaram um dispositivo de eletroforese capilar com dimensões de 12 mm de altura por 23 mm de comprimento. O dispositivo tinha um canal de fluxo em formato de cruz e dois canais em espiral que eram independentes e circundavam o canal de fluxo (Figura 4).

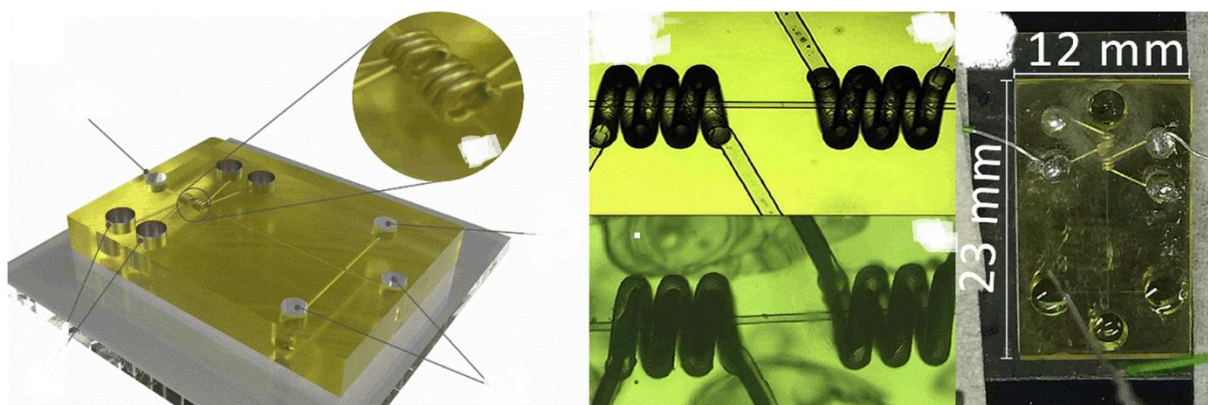


Figura 4: Chip microfluídico em espiral com destaque aos eletrodos e reservatórios de injeção e evacuação de fluido. Adaptado de [117].

O dispositivo foi fabricado utilizando uma impressora 3D por processamento digital de luz de 385 nm de intensidade luminosa e resina a base de polietileno glicol. Os autores alcançaram canais de $40 \mu\text{m}$ de largura e $50 \mu\text{m}$ de altura. Os canais em espiral foram preenchidos com gálio e formaram eletrodos para detecção C^4D .

O dispositivo foi aplicado à determinação de nitrato em amostras de saliva e obteve LOD e LOQ de $2 \mu\text{mol.L}^{-1}$ e $6 \mu\text{mol.L}^{-1}$, respectivamente, com coeficiente de correlação de R^2 0,994. Esta foi a primeira vez em que um dispositivo desse tipo e seguindo esses métodos de fabricação foi relatado na literatura.

Os trabalhos aqui citados respaldam a ideia de que é possível unir o método de fabricação aditiva a microfluídica para o desenvolvimento de sensores integrados tornando o processo de desenvolvimento desses dispositivos mais rápido e com possibilidade de fabricação em uma única etapa.

2.2.2 Sistemas Integrados para Detecções Simultâneas e Ponto de Atendimento

A possibilidade de utilizar um mesmo sistema integrado para realizar detecções simultâneas desperta o interesse de diversos grupos de pesquisa. Iniciativas nesse sentido permitem o monitoramento de multiespécies em um pequeno volume amostral e a detecção de cargas fluidas. No trabalho de Sinha et al. [75], foi desenvolvido um chip composto por quatro FETs em contato com canais microfluídicos distribuídos na mesma estrutura.

O sistema era portátil e tinha um processo automatizado que requeria pouco reagente e amostra. Ele foi usado na detecção simultânea de quatro biomarcadores de doenças cardiovasculares que foram identificados por interações com monocamadas automontadas de aptâmeros imobilizados em uma superfície de ouro. O chip foi desenvolvido em polidimetilsiloxano (PDMS) e tinha dimensões de $10 \times 60 \mu\text{m}^2$ com uma porta de sensor de $100 \times 120 \mu\text{m}$. Como o aparelho era automatizado ele também possuía reservatórios para armazenamento de amostras e soluções de lavagem, além de microbombas e reservatórios de dejetos.

O sensor foi aplicado para o reconhecimento de biomarcadores cardíacos troponina I (cTnI), N-terminal pro tipo-b peptídeo natriurético (NT proBNP), fibrinogênio e proteína C-reativa (PCR) a partir de sequências aptaméricas pré-definidas para cada molécula separadamente. A interação entre as espécies e os aptâmeros causava variações no potencial de porta, o que alterava a corrente dreno-fonte (I_{DS}). Desta forma, mudanças na capacitância da solução modulavam a corrente de dreno do FET. O sensor tinha um tempo de resposta de cinco minutos e um LOD de $0,14 \text{ mg.L}^{-1}$, $0,832 \text{ pg.L}^{-1}$, $0,394 \text{ pg.L}^{-1}$ e $20,2 \text{ mg.dL}^{-1}$ para PCR, NT-proBNP, cTnI e fibrinogênio, respectivamente.

O reconhecimento dos biomarcadores cTnI e NT proBNP superou aqueles adquiridos por meio de ensaios ELISA (Ensaio de Imunoabsorção Enzimática). Este trabalho foi o primeiro a relatar a aplicação de um sensor que permitiu a detecção simultânea de quatro biomarcadores em uma única amostra clínica e que não necessitou de intervenção humana durante o processo em um dispositivo portátil.

O monitoramento de mais de uma espécie de biomarcador reduz a demora de testes laboratoriais, materiais e tempo de espera para resultados e permite uma melhor tomada de decisão clínica.

Cheng et al. [118] também desenvolveram um sensor integrado para detecção de troponina I cardíaca, mas em seu estudo prepararam uma membrana funcionalizada com nanofitas de SnO_2 (dióxido de estanho). Os nanocinturões foram desenvolvidos por deposição física de vapor e seu uso no sensor fez com que a relação superfície-volume fosse maximizada. A superfície dos nanocinturões foi silanizada com aminopropiltrietoxissilano (APTES) para obter uma multicamada de silanóis que serviu como superfície de ligação para as moléculas de D-biotina. Essas moléculas atuaram como receptores de estreptavidina que foram identificados por detecção dupla com a resposta elétrica proveniente do FET e uma resposta óptica dada pelo uso de um microscópio de fluorescência.

O chip microfluídico foi feito em PDMS com canal com estrutura em forma de U com a área sensível posicionada no contato inferior do suporte do chip. Nos primeiros testes os autores modificaram o meio reacional em diferentes faixas de pH para verificar como a área sensível se comportava. Depois eles observaram que a resposta do sensor dependia do pH do meio da amostra devido ao ponto isoelétrico da estreptavidina e mudanças na carga líquida da molécula.

Após verificar que o sensor era capaz de identificar proteínas, ele foi usado para reconhecimento de cTnI dentro do complexo de troponina cardíaca humana e obteve boa seletividade à espécie. A ligação antígeno-anticorpo que ocorreu mostrou uma sensibilidade de 100 pmol.L^{-1} para cTnI (aproximadamente 2 ng.mL^{-1}), suportando o uso do sensor para esse propósito de detecção.

O trabalho apresentado acima traz um novo material, o SnO_2 . Ele compõe a classe dos óxidos binários e tais materiais são úteis devido ao seu pequeno tamanho, facilidade de processamento, alta mobilidade de portadores, compatibilidade com TFT (Transistores de filme fino) e processos CMOS (Circuito Metal-óxido-semicondutor) transparentes. Possuem multifuncionalidade e alta constante dielétrica, além de alta estabilidade termodinâmica e cinética quando em contato com a base de silício [119]. Pesquisas nessa direção têm investido na utilização de diferentes materiais óxidos além dos baseados em silício para obter um melhor acúmulo de cargas induzidas devido a maior condutividade elétrica, estabilidade e capacitância.

Os trabalhos apresentados acima resolvem uma lacuna científica relevante relacionada à fabricação de chips para detecção de doenças cardiovasculares. Os investimentos nessa área de estudo podem contribuir para a redução das taxas anuais de mortalidade por doenças causadas por lesões cardíacas, que equivalem a 31%

das mortes anuais registradas pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Além disso, as detecções multiespécies permitem um diagnóstico mais amplo da situação de vida do paciente e, quando realizadas na mesma amostra, reduzem custos e desperdícios de exames.

Os dispositivos de ponto de atendimento (POC) têm se difundido, pois globalizam o uso de sensores, permitindo que um amplo grupo de pessoas acessem essa tecnologia. No estudo de Song et al. [77], foi apresentado um dispositivo POC com um novo design de sensor. Ele baseou-se nas novas estratégias da nanotecnologia envelopada com perfil 3D. Na pesquisa, foram integrados nanoFETs enrolados conjugados por camadas de nitreto de índio, nitreto de silício e óxido de silício, que formaram uma estrutura de $\text{InN}/\text{SiN}_x/\text{SiO}_x$ em um chip microfluídico. Este trabalho foi o primeiro a explorar as propriedades do InN para a formação de microtubos, apostando na alta densidade eletrônica da superfície desse material, que foi a principal vantagem do estudo. Além disso, a nanotecnologia laminada do material só foi possível devido à propriedade de tensão elástica, que deve ser pensada quando consideramos a fabricação de chips, como o da pesquisa dos autores. Porém, a principal desvantagem quando precisamos utilizar esse tipo de material é o trabalhoso processo de preparo que exige maquinário adequado e consequentemente resulta no valor final do dispositivo [120, 121].

A estrutura do sensor foi utilizada na detecção de anticorpos relacionados ao vírus da imunodeficiência humana – HIV – para permitir resultados clínicos mais rápidos. O chip foi feito em PDMS e era formado por dois canais microfluídicos de $400\mu\text{m}$ de largura e 6,5 mm de comprimento, com a parte sensora distribuída ao longo dos dois canais. Os microtubos de $\text{InN}/\text{SiN}_x/\text{SiO}_x$ tinham $350\mu\text{m}$ de comprimento e $20\mu\text{m}$ de diâmetro e foram distribuídos em espaçamento de $650\mu\text{m}$. Isso permitiu colocar 12 microtubos ao longo dos canais de fluxo. Na condição experimental, um único eletrodo de porta foi utilizado para realizar as medidas.

Para a fabricação dos dispositivos foram realizadas diferentes técnicas de deposição das camadas, incluindo pulverização reativa em corrente contínua (DC) para o filme de InN e deposição química de vapor intensificada por plasma (PECVD) para as camadas de $\text{SiN}_x/\text{SiO}_x$. A estrutura 3D dos microtubos formou naturalmente dutos microfluídicos por onde as amostras poderiam fluir e foi disposta em dois canais no chip, com seis FETs responsáveis por cada canal. Usando a tecnologia 3D, foi possível fabricar sensores em lotes. Este é um dos diferenciais importantes desta

pesquisa, além da utilização do mesmo eletrodo de porta compartilhado para todos os microtubos.

No estudo os autores determinaram teoricamente as geometrias do chip a partir da superfície côncava do InN para obter a redução de possíveis interferências experimentais, como blindagem eletrostática. Eles exploraram a alta densidade de elétrons na superfície do InN para avaliar sua influência na sensibilidade aos anticorpos gp41 do HIV-1 diluídos em solução salina tamponada com fosfato (PBS). Os anticorpos ligados ao APTES imobilizaram-se na superfície do InN. A resposta do sensor veio da mudança de carga na superfície dos microtubos InN/SiN_x/SiO_x quando houve a presença da espécie de interesse. Dessa forma, a detecção foi realizada e um LOD de 1 ng.L⁻¹ foi alcançado.

Com o advento da pandemia de SARS-CoV-2 foram desenvolvidas diferentes estratégias para a detecção desse vírus e, entre elas, também foi registrada a exploração do potencial de sistemas integrados com o uso de FETs. Na pesquisa de Gao et al. [122], os autores fabricaram uma estrutura *in situ* para a detecção do vírus SARS-CoV-2 a partir do empilhamento π - π de óxido de grafeno e grafeno, no qual os anticorpos antigênicos modulavam o potencial do portão e forneciam a resposta do sensor. Este foi o primeiro trabalho a desenvolver um biossensor FET de heteroestrutura de alótropo de carbono para a detecção de SARS-CoV-2.

No estudo, o chip microfluídico foi projetado em PDMS nos quais o óxido de grafeno e depois o grafeno foram inseridos até interagirem e formarem a heteroestrutura. Uma vez formados dentro do canal microfluídico os anticorpos de captura foram adicionados e interagiram com a heteroestrutura preparando a membrana sensível do sensor. A heteroestrutura teve sua condutividade melhorada devido à abertura do *band gap* pela variação na hibridização do material. Isso permitiu uma melhor mobilidade da carga útil e maior sensibilidade do sensor.

O biossensor integrado desenvolvido foi testado em solução tampão de albumina sérica bovina enriquecida com o vírus e realizou detecção em unidade de 1 μ L da amostra com LOD de até 8 fg.mL⁻¹ de proteína SARS-CoV-2 em um tempo de resposta de apenas 20 minutos. Os autores compararam os resultados obtidos com os previstos pelo uso do grafeno FET (Gr-FET) e perceberam que o dispositivo projetado tinha uma sensibilidade três vezes maior o que atribuíram ao empilhamento do grafeno. Quanto à estabilidade, também foi melhorada pela heterojunção devido aos defeitos de rede dos materiais serem compensados. A pesquisa permitiu detectar

a presença do vírus de forma rápida e precoce, o que pode ajudar no tratamento mais oportuno e no melhor controle dessa infecção viral.

Apesar dos bons resultados relatados na pesquisa, a fabricação de sensores de grafeno não é compatível com os processos convencionais de microfabricação de transistores de película fina, o que confere sua principal desvantagem. Seu uso, entretanto, supera a desvantagem da não transparência dos substratos de silício, o que possibilita a obtenção de melhores imagens celulares [123].

A pesquisa de Mandal et al. [124] propôs o desenvolvimento de um protótipo para a detecção de antígeno prostático específico (PSA), um marcador de câncer de próstata. O estudo procurou superar os limites de detecção insatisfatórios obtidos com POCs marcados. A diferença era que o sensor era baseado em dieletroforese e acessíveis em uma plataforma microfluídica de disco.

O sistema exigia o uso de eletrodos de porta coplanares e o FET era formado a partir de grafeno. Este foi o primeiro sistema *label-free* a detectar PSA e os resultados foram totalmente satisfatórios com um limite de detecção de 1pg.mL^{-1} quando o alvo foi colocado em soro humano. Normalmente, a ordem dos nanogramas determina a triagem dos pacientes, então, na faixa adquirida com o sensor, foi possível identificar a formação da doença em estágio inicial [124].

A última pesquisa relatada aqui usou transistores de grafeno. Este material tem transparência de 98% e é ultrafino e ultraleve, com módulo de Young de 1,0 TPa, resistência intrínseca de 130 GPa, densidade planar de $0,77\text{ mg.m}^{-2}$, potência térmica de condutividade de $8000\text{ Wm}^{-1}.\text{K}^{-1}$, uma condutividade de $1,42 \times 10^6\text{ S.m}^{-1}$, resistência de $125\text{ }\Omega.\text{sq}^{-1}$ e mobilidade eletrônica de $2 \times 10^5\text{ cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}$, entre outras propriedades que tornam seu uso atrativo, principalmente por ser o material com maior capacidade condutiva em temperatura ambiente [125].

Apesar de apresentar boas propriedades, um fato que deve ser considerado no uso de plataformas de grafeno corresponde a imobilização de sondas, como o DNA, devido a instabilidades relatadas na literatura que demonstraram que esta imobilização pode afetar a condutividade do grafeno [125, 126].

Devido à possibilidade da degradação do desempenho de dispositivos de grafeno dado à deriva indeterminada do ponto Dirac, algumas pesquisas têm aderido ao uso de dissulfeto de molibdênio (MoS_2) projetadas em diferentes geometrias. Este material, é de fácil fabricação, baixo custo e apresenta menor corrente de fuga em

relação ao grafeno. Também possui bom LOD e sensibilidade, além de baixa taxa de transferência, e sofre menos com problemas de integridade [127].

Song et al. [128] prepararam nanocamadas de MoS₂ alinhadas verticalmente (VAMNs), como estruturas para explorar suas contribuições em transições de gap dado o número de camadas. O grande desafio desse tipo de estrutura é a imobilização das sondas de captura no plano basal do MoS₂ e a reprodutibilidade desses planos. A espessura do canal criado e a separação gerada entre moléculas e alvos são pontos importantes a serem considerados quando se trabalha com MoS₂ 2D. Para contornar o problema da imobilização, os autores utilizaram nanocamadas de material alinhadas verticalmente.

O dispositivo detectou Antígeno Prostático específico sem rótulo e obteve um LOD de 800 fg.mL⁻¹, que foi comparado com 8 pg.mL⁻¹ obtidos em ensaios ELISA. Fabricado em lotes em substrato de Si, o método sputtering foi usado para revestir o substrato de Si oxidado com o filme de molibdênio. A imobilização das biomoléculas ocorreu por forças de Van der Waals nas camadas moleculares 2D pelo uso de reagentes de superfície. A degradação da mobilidade do portador (on/off) e a diminuição da condutância do canal FET foram explicadas pela fina camada dielétrica que induziu diretamente o potencial VAMN e degradou a mobilidade e a condutância do canal. Este efeito também ocorreu devido à deformação geométrica local. Dependendo do pH, a carga do PSA poderia mudar e isso levava à presença de uma carga indesejada na medição devido a possíveis efeitos de bloqueio.

A vantagem relatada no estudo estava ligada à facilidade de padronização dos canais. O sensor relatado foi o único que obteve tal configuração de sensor com resultados de aplicação melhores do que os padrões de ensaio ELISA. O estudo foi um grande avanço para a pesquisa de imunossensores livres de rótulos.

2.2.3 Transistores de óxido de Índio-Gálio-Zinco integrados em chips microfluídicos

EGFETs baseados em outros materiais além do silício também estão sendo usados na fabricação de sensores integrados. Estes atribuem novas propriedades condutivas ao sensor, o que pode auxiliar em medições mais eficientes.

Um material que tem se destacado entre as pesquisas em sensores são os transistores de óxido de índio-gálio-zinco (IGZO) [129, 130]. Este material possui propriedades condutivas superiores aos substratos de silício, apresentando baixa temperatura de processamento, alta mobilidade elétrica e atoxicidade, além da simplicidade de funcionalização em superfícies [131]. Adicionalmente, este material não requer processo de dopagem, pois as vacâncias de oxigênio nele existentes, inerentes à sua estrutura, podem atuar como espécies doadoras de elétrons. A principal vantagem quando pensamos em IGZO é seu baixo consumo de energia e melhor transparência óptica que o silício, mas pode ter como desvantagem altos defeitos durante a fabricação, o que causa problemas na estabilidade dos filmes.

Chou et al. [78] fabricou transistores de película fina (TFT) integrados de IGZO em um chip microfluídico feito em PDMS com canal de 1 mm de largura, 14 mm de comprimento e 1 mm de altura formando um biossensor que foi usado em estudos em tempo real da cinética de ligação de proteínas. A abordagem utilizada pelos autores não requereu marcação ou imobilização de proteínas-alvo na superfície de detecção, ao invés disso, uma análise de fluxo dinâmico foi realizada. Usando uma configuração de dispositivo onde a porta FET foi dividida em duas estruturas que eram encaixadas livremente, eles foram capazes de extrair informações sobre as variações na corrente de dreno e, conseqüentemente, calcular as taxas de associação e dissociação envolvidas na interação de lisozima com seu ligante tri-N-acetil-D-glucosamina (NAG 3).

No canal microfluídico as proteínas sofreram difusão e o filme do transistor de película fina de porta dupla transduziu o sinal biológico em uma variação da corrente de dreno devido à corrente transiente induzida na solução. Isso foi possível porque enquanto a porta inferior agia como uma espécie de eletrodo de referência, as cargas eram induzidas na porta superior do sensor. No estudo, as constantes de dissociação (K_d) foram monitoradas em proporções de mistura de proteínas de 1:2,5; 2,5:2,5 e 2,5:1, resultando em K_d de 44,02, 50,84 e 83,35 $\mu\text{mol.L}^{-1}$ para cada proporção, respectivamente.

Dados obtidos de estudos de interação proteica, como o desenvolvido pelos autores, são de suma importância para auxiliar no desenvolvimento de fármacos, principalmente porque permitem um melhor entendimento da cinética envolvida no processo de identificação do fármaco pelo receptor.

Um estudo semelhante foi desenvolvido por Chen et al. [79], que também usaram um transistor IGZO, mas estudaram a análise transiente do complexo estreptavidina-biotina. Os canais foram desenhados em um substrato de vidro externo ao sensor, evitando assim a contaminação e permitindo múltiplos usos do aparelho. O sistema integrado era formado por um chip microfluídico de vidro com três canais de 200 e 4000 μm de largura e comprimento, respectivamente, e um circuito integrado contendo três MOSFETs do tipo n.

O mecanismo de resposta baseou-se na modulação da corrente da fonte dreno (I_{DS}) causada pela formação do complexo entre estreptavidina e biotina, que alterou o potencial de porta. Por meio desse método, os autores obtiveram informações sobre as diferentes propriedades elétricas e de difusão das proteínas e também do complexo, fazendo com que a estreptavidina, por seu maior raio molecular, apresentasse um tempo de difusão maior que a biotina independentemente das faixas de concentração. Quando o complexo foi formado, devido ao seu tamanho maior, seu coeficiente de difusão foi menor o que o fez circular em menor velocidade pelo canal microfluídico. Para validar os dados obtidos pelas medidas elétricas, os autores também realizaram testes ópticos em microscópio de fluorescência.

No estudo de Chae et al. [97], os autores desenvolveram um EGFET baseado em IGZO e avaliaram a viabilidade do sensor projetado em sensoriamento biológico. Para tanto, os autores depositaram filmes IGZO via sputtering de radiofrequência que foram utilizados como canal elétrico e interface biológica do sensor. Os autores prepararam a estrutura da membrana a partir de modificações de superfície de IGZO com APTES que receberam anticorpo monoclonal SPM451 para ligação a proteínas α -sinucleína, um marcador da doença de Parkinson.

No estudo os autores prepararam eletrodos com modificação pelo reagente e outro sem a modificação para fins comparativos. Eles também miniaturizaram o canal ativo do dispositivo para que o sensor operasse em baixa potência e fabricaram o sistema em lotes para comparar seus parâmetros e verificar possíveis divergências nos valores de eficiência. O filme fino de IGZO atuou como uma camada elétrica ativa e tinha 80 μm^2 de largura e 10 μm^2 de comprimento. Com essas medidas, os autores obtiveram 32 aparelhos utilizando 4 polegadas de substrato com cada aparelho possuindo cinco canais ativos individuais.

Na fabricação em lote, os dispositivos apresentaram coeficiente de variação de 11,4%, o que estava dentro da faixa aceitável. Quando o sensor atuou no

reconhecimento de pH, a sensibilidade do modificado foi duas vezes maior do que o não modificado. Na detecção de proteínas, o sensor trabalhou em uma faixa de concentração de 10 fg.mL^{-1} a 1 ng.mL^{-1} com uma sensibilidade de $9,35 \text{ mV.década}^{-1}$, provando ser um bom exemplo de fabricação tanto de um sensor *in situ* quanto de um candidato promissor em análises clínicas envolvendo a proteína α -sinucleína.

2.2.4 FETs flexíveis/vestíveis integrados

Recentemente, o desenvolvimento de sensores flexíveis com possibilidade de adaptações para dispositivos vestíveis que sejam eficientes ao monitoramento de espécies em fluidos corporais que não o sangue tem recebido importante atenção. Nesse sentido, biossensores não invasivos que utilizam saliva, suor e lágrimas estão ampliando nosso entendimento sobre a distribuição de espécies relevantes em fluidos biológicos e suas vantagens são, entre outras, seu baixo peso e baixa voltagem operacional.

No trabalho de Laliberte et al. [76], os autores relataram o desenvolvimento de um chip vestível que acoplou transistores de efeito de campo de grafeno, GFETs, em uma estrutura microfluídica feita de PDMS em proporções de $600\mu\text{m}$ por $100\mu\text{m}^2$ para detecção de interleucina-6 (IL-6), proteína que atua na resposta inflamatória aguda do corpo humano. Os GFETs, devido a sua formação em grafeno, possuíam geometria bidimensional com propriedades mecânicas maleáveis. No estudo dos autores essas propriedades foram exploradas na construção do sensor com a superfície do grafeno modificada por aptâmeros. Os aptâmeros promoveram a formação de interações do tipo antígeno-anticorpo que modularam o potencial de porta e, conseqüentemente, a condutância do FET.

O dispositivo fabricado possuía um circuito alimentado por bateria que era utilizado para controle de sensores e registro de dados. Este sistema permitiu explorar a autonomia das aplicações de biossensor e POC. Com o aparelho, eles obtiveram uma faixa de detecção de 10 pmol.L^{-1} a 100 nmol.L^{-1} , compatível com outros estudos já publicados. Além disso, o dispositivo apresentou boa funcionalidade mesmo com modificações mecânicas na estrutura, pelo menos entre um raio de curvatura de $1,5 \text{ cm}$ a $4,25 \text{ cm}$. Projetar dispositivos autônomos reduz a possibilidade de interferência humana nas medições e permitem uma manipulação mais fácil do sensor.

Dispositivos baseados em grafeno têm sido amplamente utilizados em pesquisas de detecção de proteínas como base para camadas ativas, principalmente aquelas formadas por sondas de DNA [132]. No entanto, os dispositivos baseados em grafeno sofrem com a escolha do método de transferência do grafeno que pode afetar as características elétricas do material, causando alterações no ponto de Dirac. Os processos de transferência envolvem condições e tempos diferentes, dependendo do procedimento, e podem ocasionar danos ou efeitos de dopagem na superfície do grafeno, fatores que podem alterar as propriedades do material.

A voltagem do ponto de Dirac dada a bipolaridade do grafeno foi usada para a detecção do analito alvo. O mecanismo de reconhecimento ocorreu quando os íons se acumularam na camada ativa da superfície do grafeno, alterando a condutância do canal. Essa condutância era associada à concentração alvo na amostra e assim foi possível realizar detecções em diferentes faixas de concentração [133].

2.2.5 FETs Orgânicos

Dispositivos FET que possuem filmes orgânicos são chamados de transistores orgânicos e sua integração em chips microfluídicos também é relatada na literatura. No estudo de Koklu et al. [68], foi desenvolvido um sistema de detecção de glicose utilizando um transistor eletroquímico orgânico (OECT). Eles usaram polímeros para o desenvolvimento da estrutura e funcionalizaram o eletrodo de porta com enzimas de glicose oxidase que ajudaram no reconhecimento da glicose. O trabalho foi o primeiro a integrar um sistema microfluídico a um OECT operando em modo de acumulação para detecção por enzimas e em tempo real.

O OECT foi desenvolvido em um substrato de vidro por meio de um processo de fotolitografia formando canais de 1 mm x 1 mm de largura e altura e apresentou alta sensibilidade e estabilidade, parâmetros essenciais para dispositivos portáteis e autônomos. A concentração do eletrólito controlava a tensão de alimentação do OECT e o canal existente entre a fonte e o dreno foi estruturado a partir do condutor orgânico. O sensor foi o primeiro relatado na literatura que permitiu a detecção de glicose sem a necessidade de um detector amperométrico adicional para monitoramento de peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Em comparação com os resultados de detecção de outros chips, como os feitos em PEDOT:PSS, o sensor fabricado apresentou uma

sensibilidade maior. Apesar dos bons resultados, quando integrados aos canais de um chip microfluídico, a estabilidade e a sensibilidade obtidas não aumentaram, apenas a relação sinal/ruído melhorou.

Ricci et al. [134] usaram um EGOFET para detectar a proteína α -Sinucleína, indicativa de doenças degenerativas como Parkinson e Alzheimer. O objetivo do estudo foi a detecção de Parkinson e um LOD de $0,25 \text{ pmol.L}^{-1}$ foi alcançado. O sensor foi livre de rótulos explorando o canal semicondutor orgânico para transdução de sinal com diferentes estratégias para funcionalização de superfície com anti(α -Sinucleína).

A diferença entre OECTs e um EGOFET está no modo de operação. Enquanto os OECTs exploram tanto a difusão quanto a dopagem eletroquímica do filme detector, os EGOFETs dependem da capacitância entre o eletrodo de porta e o material ativo [134]. No geral, a vantagem de usar FETs orgânicos é que eles são ultrasensíveis e altamente específicos para ensaios bioanalíticos. Possuem também maior proximidade com o meio aquoso e possibilidade de interface ou integração à matrizes com sistemas vivos. Suas desvantagens correspondem aos materiais. Existem poucos materiais orgânicos estáveis e com alta mobilidade eletrônica, o que restringe o desenvolvimento desse tipo de sensor [134, 135].

2.2.6 Dispositivos com contrapartes não elétricas

Para reduzir a interferência de espécies inconvenientes à sensibilidade do sensor, na pesquisa de Kim et al. [136] os autores desenvolveram um biossensor baseado em EGFETs com a porta estendida do dispositivo formada na área inferior do canal microfluídico. O canal era feito em silício com profundidade de $15 \mu\text{m}$ e largura de $400 \mu\text{m}$. Essa configuração superou a planaridade desse tipo de transistor e foi utilizada na detecção do complexo estreptavidina-biotina. Os autores usaram um eletrodo de ouro como terminal de porta com uma monocamada automontada rica em grupos tiol. Os autores também realizaram testes com um biossensor de Ressonância de Superfície de Plasma (SPR) para comparar os resultados e validar a estratégia utilizada na pesquisa.

O princípio de detecção utilizado no estudo acima foi semelhante ao do estudo de Cheng et al. [118], em que a formação do complexo modificou a carga proveniente dos grupos funcionais das moléculas e modulou a corrente do sensor.

Outro estudo sobre sistemas integrados que merece destaque foi o desenvolvido por Liu et al. [137], que realizaram uma análise estática e dinâmica. O sensor possuía, além do EGFET, ressonadores solidamente montados (SMRs) e permitia uma análise multiplexada para detectar interações moleculares e obter diferentes parâmetros físico-químicos envolvidos nas interações. No sistema, as medições eram independentes, os FETs eram responsáveis pela análise estática e os ressonadores obtiveram dados da análise dinâmica da interação entre o antígeno monoclonal de camundongo específico da próstata humana (anti-PSA) e o antígeno prostático humano nativo (PSA) com seus respectivos pares de anticorpos.

No estudo, os autores utilizaram uma matriz contendo quatro pares de portas estendidas feitas de ouro e o princípio envolvido na detecção via ressonadores ocorreu devido à exposição do sensor a um campo elétrico que foi responsável por gerar energia acústica dentro da camada piezoelétrica do SMR. Quando a espécie de interesse estava presente na amostra, o fluxo da solução modificou a vibração mecânica da camada piezoelétrica de acordo com a concentração presente.

No estudo de Park et al. [138], estruturas de FET de silício foram fabricadas para detecção eletroquímica e de fluorescência. Como os autores visavam a detecção elétrica e óptica, o dispositivo exigia um bom nível de transparência para melhor resolução da imagem. Para isso, era preciso que a vedação do líquido no canal fosse fina e era preciso um design específico de um sensor para o alcance desse objetivo. Nomeado de FET de trincheira, o dispositivo contendo quatro FETs em um substrato tipo p permitiu monitorar o movimento de materiais carregados, incluindo DNA, em um canal microfluídico híbrido PDMS/vidro que era cônico até uma largura de $2\mu\text{m}$. A grande inovação do estudo foi que não havia contato de porta metálica, pois o alvo carregado era o responsável pela modulação do potencial.

Os autores também fabricaram um sensor com porta metálica para fins comparativos. A fluorescência para detecção óptica veio de microesferas fluorescentes modificadas por carboxilato. Embora o sensor tivesse obtido resultados interessantes, ele exigiu pré-amplificadores para aplicar tensão de dreno e detectar a corrente I_{DS} . A medição bimodal também não foi efetiva para o uso simultâneo do sensor, pois a corrente fotoelétrica causava ruído na medição elétrica.

Outros modelos que também surgiram são aqueles com janelas de detecção sequencial, conforme relatado por Kuo et al. [139]. No estudo do autor, um dispositivo foi composto por seis estruturas metálicas de alumínio para evitar que uma medição

com apenas uma estrutura de reconhecimento colapsasse a porta da sonda e danificasse o sensor.

Os autores realizaram medidas estáticas e dinâmicas nas quais o último metal de acesso transmitiu o sinal de resposta da porta de um MOSFET comercial através de pads de contato (Pad). A detecção ocorreu devido ao potencial de superfície do óxido binário (RuO_2) variar com a concentração de ácido láctico. Com uma tensão de porta de 1,8 V a sensibilidade e a linearidade sob condições estáticas foram 61,62 mV.mM^{-1} e 0,991, respectivamente. Os valores desses mesmos parâmetros quando em condições dinâmicas foram 81,31 mV.mM^{-1} de sensibilidade e 0,995 de linearidade para uma vazão de 30 $\mu\text{L.min}^{-1}$.

2.2.7 Dispositivos de Detecção de íons cloreto

Na pesquisa de Chou et al. [140], foi utilizado um novo formato de dispositivo EGFET, em que uma porta estendida foi integrada a um chip microfluídico em PDMS de canal de 50 mm de comprimento, 500 μm de largura, e raio de 0,2 mm projetado para a detecção de íons cloreto. A plataforma foi projetada por tecnologia de fotolitografia e corrosão e o EGFET tinha duas portas, uma superior composta por uma membrana de íons cloreto e uma inferior formada por um filme de dióxido de rutênio RuO_2 ligado a íons cloreto. O dispositivo foi testado em soluções de cloreto de sódio (NaCl) em concentrações de 1 mol. L^{-1} a $10^{-5} \text{ mol. L}^{-1}$ em condições estáticas e dinâmicas.

Como resultado, verificou-se que o sensor apresentou melhor sensibilidade e linearidade para concentrações de NaCl na faixa de $10^{-1} \text{ mol. L}^{-1}$ e $10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$. Em condições dinâmicas a sensibilidade e a linearidade do sensor foram melhores do que em condições estáticas. Isso mudou quando taxas de fluxo superiores a 15 $\mu\text{L.min}^{-1}$ foram aplicadas. O sistema tinha um limite de detecção de $10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$, faixa de linearidade de 0,1 a $10^{-4} \text{ mol. L}^{-1}$, melhor taxa de fluxo em 15 $\mu\text{L.min}^{-1}$, sensibilidade média de 33,73 mV.década^{-1} e linearidade de 0,996.

Em outro estudo do mesmo grupo, Tseng et al. [141] novamente usaram filmes finos feitos de RuO_2 para investigar as características de detecção dinâmica com vazões entre 5 $\mu\text{L.min}^{-1}$ e 40 $\mu\text{L.min}^{-1}$ para reconhecimento de íons cloreto, mas neste caso, o filme de RuO_2 foi enriquecido com óxido de grafeno (GO) em diferentes

proporções. Os autores testaram duas configurações de EGFET, uma estruturada como PET/RuO₂/GO/íon cloreto e outra sem GO, e os resultados obtidos comprovaram que o uso de GO aumentou a superfície de detecção e, conseqüentemente, aumentou a sensibilidade do sensor para íons cloreto.

Os melhores resultados foram obtidos com uma vazão de 30 $\mu\text{L} \cdot \text{min}^{-1}$ com sensibilidade do sensor igual a 66,673 mV.década⁻¹, linearidade de 0,998 e proporção RuO₂/GO de 0,010%. Os dados obtidos neste novo estudo foram novamente superiores às medições estáticas, demonstrando o potencial de uma medição microfluídica dinâmica.

Vimos anteriormente que o método de detecção em EGFETs em muitas pesquisas é baseado no modelo de ligação de sítio e na teoria elétrica de dupla camada. Considerando esses modelos para uma configuração de medição de pH, seu funcionamento pode ser explicado por uma reação de protonação/desprotonação que ocorre na membrana do sensor, responsável por controlar o potencial de superfície e fornecer uma carga líquida. Este é um importante princípio de detecção utilizado em sensores EGFETs que ocorre não apenas na identificação de prótons, mas se expande para outras espécies e, devido a isso, pode ser utilizado em diferentes detecções. Essa possibilidade fez com que esses sensores fossem projetados para outras detecções, como as mencionadas acima.

2.2.8 Outras aplicações

Com o surgimento de novas aplicações de materiais para dispositivos FETs, os processos de obtenção do silício foram modificados para identificar se esse material também poderia ter propriedades ópticas. Os dispositivos de silício poroso parecem ter funcionalidades elétricas e ópticas [142, 143].

Na pesquisa de Ahmed et al. [144], foram utilizados EGFETs à base de silício poroso fabricados em uma folha de silício tipo n de orientação cristalográfica 111. O dispositivo foi usado para monitorar o potencial de hidrogênio do meio.

Ma et al. [145] desenvolveu um chip integrado para a detecção de bactérias envolvidas na manifestação da tuberculose. Para isso, os autores construíram uma estrutura microfluídica multicanal na qual foram integrados 360 transistores de nanofios ultrasensíveis à base de silício, que serviram como um filme sensor para a

sonda de captura e o reconhecimento eletroquímico ocorreu pela interação antígeno-anticorpo.

Neste capítulo, fizemos um apanhado das teorias envolvidas em cada área que a pesquisa aqui relatada se insere e revisamos os principais avanços em sensores integrados, concentrando-nos nas potencialidades do emprego de transistores de efeito de campo no desenvolvimento de dispositivos que permitem a realização de análises químicas e bioquímicas. A partir dos resultados das pesquisas apresentadas aqui vimos que dispositivos com interface elétrica como os EGFETs parecem ser uma boa alternativa à construção de plataformas de reconhecimento molecular e quando integrados a chips microfluídicos permitem medições em baixos volumes de amostra, diminuição no sinal de fundo, além de automação dos sistemas.

Sensores que utilizaram FETs do tipo EGFET mostraram alcançar menores limites de detecção, o que pode ser atrelado a estrutura desse tipo de transistor com um melhor encapsulamento e flexibilidade do terminal de porta para integração a plataformas microfluídicas complexas. De modo geral, aplicações clínicas parecem ser o tema mais pesquisado e as pesquisas podem ser cada vez mais aperfeiçoadas com o uso desses sensores e com o desenvolvimento de novos o que abre um leque de possibilidades em pesquisas nessa área que tem sido um campo fértil a novas descobertas.

CAPÍTULO 3: PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Reagentes

Todos os reagentes eram de grau analítico e foram usados como recebidos, exceto quando indicado o contrário. Foram utilizados Cloreto de potássio (KCl), Ferricianeto de potássio ($K_3[Fe(CN)_6]$), Ferrocianeto de potássio ($K_4[Fe(CN)_6]$), Hidróxido de sódio (NaOH), Nitrato de sódio ($NaNO_3$), Cloreto de sódio (NaCl), Metanol e Ácido clorídrico (HCl) adquiridos na Synth (Diadema, SP, Brasil). Tiocianato de Potássio (KSCN), L-Histidina (L-His, > 99%), Ácido 2-(N-morfolino)etanossulfônico (MES, >99%), Potássio tetrakis[3,5- bis(trifluorometil)fenil] borato ($C_{32}H_{12}BF_{24}K$, >95%), Creatinina anidra cristalizada (98%), Clorofórmio deuterado ($CDCl_3$), Clorofórmio, Pirrol, Acetona pura e Grafite em pó foram obtidos da Sigma-Aldrich (Darmstadt, Alemanha). Resina Anycubic Clear (Anycubic, Hong Kong, China) e resina Clear V4 acrylic da FormLabs (Somerville, MA, EUA) também foram utilizadas.

3.1.1 Soluções de teste

As soluções foram preparadas em água deionizada (DI) 18,2 M Ω .cm a 25 °C, em urina, saliva e em suor sintético comercial. Ferricianeto de Potássio e Ferrocianeto de Potássio foram preparadas em água DI para soluções com concentrações de 10 mmol L⁻¹, 1 mmol L⁻¹, 10⁻¹ mmol L⁻¹ até 10⁻⁶ mmol L⁻¹, o que formou oito amostras. As soluções de NaCl foram preparadas em água (DI), $NaNO_3$ (0,5 M) e em urina sintética e tinham concentrações 1 mol. L⁻¹ a 10⁻⁶ mol. L⁻¹ formando sete padrões para cada teste o que totalizou 21 soluções de NaCl testadas. Uma última amostra de NaCl testada foi a diluição em água DI da urina sintética comercial, totalizando seis diluições para a formação de seis amostras. As soluções padrões de KSCN também tinham concentrações de 1 mol. L⁻¹ a 10⁻⁶ mol. L⁻¹ e foram preparadas em água DI, saliva, suor e urina sintética comercial (pH 5,8). As amostras de creatinina foram preparadas em água DI, em solução tampão com pH 4 e em urina sintética 10 vezes diluída em água DI. As concentrações de creatinina nas matrizes eram de 3, 5, 9, 12, 15, 17, 21, 24 e 27 mmol L⁻¹.

3.2 Design do microchip e fabricação

Inicialmente foram fabricados chips microfluídicos em PDMS por processo de litografia suave conforme especificado no Apêndice A.

Devido a vazamentos de líquido e pela possibilidade de fabricar em uma única etapa tanto o chip microfluídico como o eletrodo indicador já integrado, decidimos dar sequência a pesquisa com dispositivos microfluídicos fabricados com o uso de uma impressora 3D Phrozen Sonic Mini 8 K (Phrozen Technology, Taiwan, China). O software usado para criação do objeto 3D foi o Fusion 360 Autodesk (San Rafael, EUA). O software para o controle da impressão 3D e fatiamento do objeto foi o Chitubox versão 1.8 e a resina utilizada para a impressão foi a Anycubic Clear (405 nm). O modelo de dispositivo fabricado tinha uma estrutura de canal único com entrada e saída de amostra, como é apresentado na Figura 5, a seguir, isso permitia entrega eficiente de líquido aos eletrodos que formavam as paredes laterais do canal.

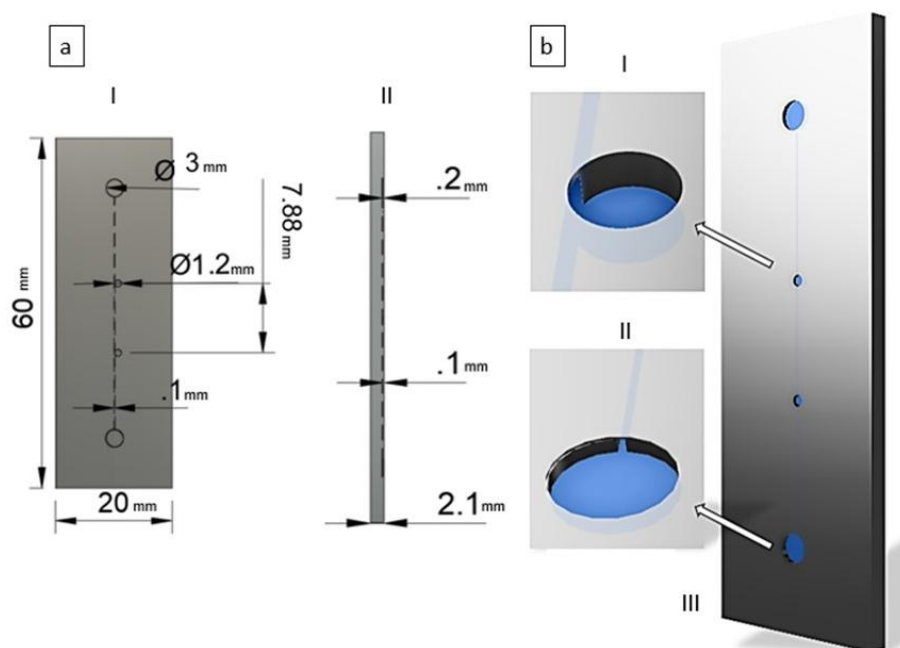


Figura 5: Desenho CAD do dispositivo microfluídico fabricado por processamento digital de luz. (a) Desenho CAD do dispositivo usando o Fusion 360, mostrando as medidas projetadas dos reservatórios, canal de fluxo, entrada dos eletrodos largura e comprimento do dispositivo nas vistas frontal (I) e lateral (II). (b) Modelo do dispositivo depois de finalizado, destacando o desenho do orifício do eletrodo (I) e do reservatório de saída (II) mostrando o seu perfil na projeção do fluxo com o caminho percorrido pela amostra (III).

O dispositivo de medida em fluxo da Figura 5 tinha 60 mm de comprimento, 20 mm de largura e 2,1 mm de altura. Havia apenas um canal de fluxo projetado no chip que tinha projeção computadorizada de 50 mm de comprimento, 0,200 mm de profundidade e 0,100 mm de largura. Havia reservatórios circulares em cada

extremidade do canal com diâmetro de 3 mm e a profundidade era de 0,200 mm. Ao longo do canal fluídico havia dois círculos de 1,20 mm de diâmetro e 0,200 mm de profundidade. Eles foram utilizados como entrada para o eletrodo de trabalho e de referência tendo eles 7,88 mm de separação. Uma camada de 0,1 mm fazia a vedação do canal. O processo de impressão do dispositivo na máquina 3D durou 24 minutos.

Um microscópio invertido Axio Observer A1 (Zeiss, Alemanha) equipado com uma fonte de luz HAL 100 para análise óptica foi utilizado para verificar as dimensões do canal do chip microfluídico após impresso na máquina 3D.

Depois da caracterização da impressão o chip foi finalizado conectando tubos de Tygon® aos reservatórios de entrada e saída. Cada tubo tinha 4 mm de diâmetro total, 2 mm de diâmetro interno e 170 mm de comprimento. Em um dos tubos foi conectada uma agulha de injeção com 60mm de diâmetro e 25 mm de comprimento. Por fim, os eletrodos de referência e de trabalho foram cuidadosamente fixados ao dispositivo com resina fotocurável e levados a máquina de projeção UV (405 nm).

3.3 Eletrodos

O eletrodo de referência utilizado para todos os testes era de Ag/AgCl em solução de KCl 3,0 mol. L⁻¹. Como eletrodo indicador foram utilizados fios de platina, Ag/AgCl e pasta condutora a base de grafite com OMCP em fios de cobre. Esses eletrodos foram usados na detecção de complexo $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$, Cl^- , SCN^- e creatinina, respectivamente.

3.4 Transistor

Fabricamos um transistor, conforme procedimentos especificados no Anexo 1. Frente a algumas intercorrências também procuramos por modelos MOSFETs comerciais.

O modelo comercial 2N4351 (Motorola, Chicago, IL, EUA), que é um dispositivo com os quatro terminais (corpo, dreno, fonte e porta) totalmente isolados, foi o dispositivo MOSFET comercial escolhido para esta pesquisa. Os quatro terminais separados possibilitavam uma melhor polaridade de dreno, fonte e porta. Além disso,

a configuração elétrica interna desse modelo de MOSFET não continha diodo em paralelo com os terminais. Devido a esses fatores, esse foi o modelo comercial escolhido para a nossa pesquisa. As características elétricas do dispositivo podem ser examinadas no Anexo 2.

O desempenho elétrico dos MOSFETs candidatos foi avaliado. Apenas MOSFETs comerciais que passaram nos testes e mostraram desempenho semelhante nas características de corrente fonte-dreno e tensão de limiar foram considerados para os experimentos.

3.5 Medidas experimentais

Equipamentos como fontes de tensão Minipa MPL 3303M (Xangai, China), multímetro digital Minipa ET-2517 true RMS (Xangai, China), bomba de seringa Harvard Apparatus (Holliston, MA, EUA), Interface elétrica analógica – digital National Instruments USB 6002 (Budapeste, Hungria), um Sistema Caracterizador de Semicondutores KI 4200 MPSMU (Keithley, Cleveland, OH, EUA), modulador de fluxo, gaiola de Faraday, placa de circuito impresso de fenolite, fios de cobre, interconectores elétricos e baterias de 3,7 Volts foram utilizados para a realização das medidas.

A Figura 6 a seguir apresenta o primeiro sistema de medida utilizado.

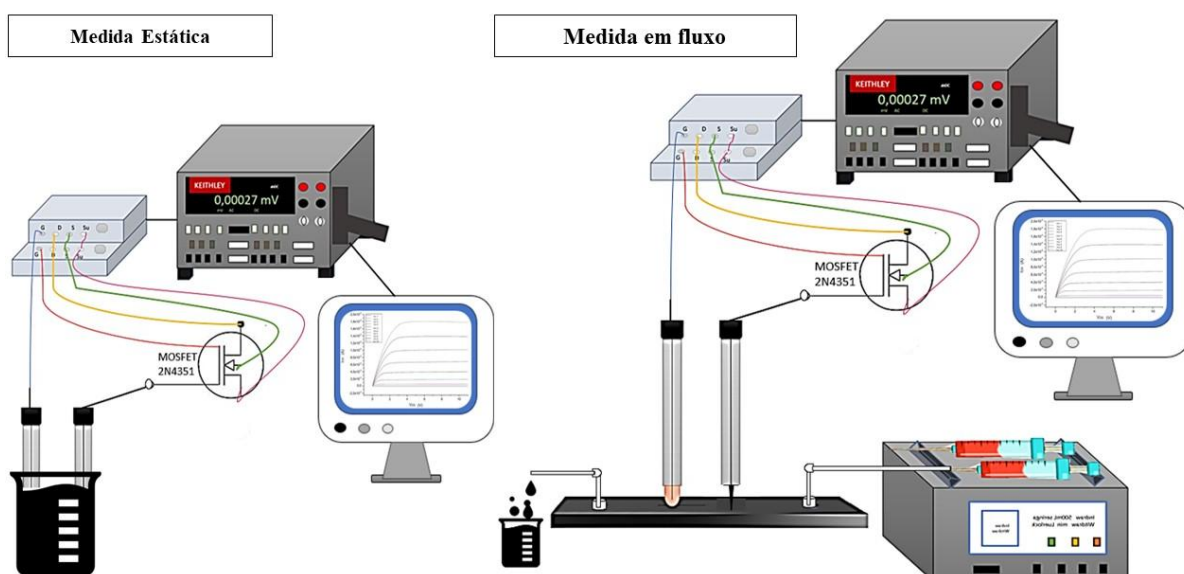


Figura 6: Sistema de medida estático e dinâmico.

O sistema de medida estática, expresso na Figura 6, consistiu em um eletrodo de referência e um eletrodo indicador posicionados dentro de um bquer de 10 mL

com a solução de análise. Para as medidas em fluxo, os eletrodos de referência e indicador foram posicionados em orifícios pré-concebidos no chip microfluídico. Foi utilizada uma bomba de seringa para introduzir as amostras no canal do chip. Em ambos os sistemas o eletrodo de referência foi ligado diretamente a uma unidade elétrica (SMU) para receber os sinais do Analisador de parâmetros semicondutor. O eletrodo indicador foi conectado ao terminal de porta do MOSFET comercial 2N4351 e também ligado a unidade elétrica para contato com o Analisador de parâmetros semicondutor. Um monitor de computador integrado ao analisador projetava e permitia acessar os dados gerados durante as medidas.

As estações de sonda e os analisadores de parâmetros semicondutores foram calibrados regularmente para garantir a precisão do registro e análise de dados. A porta estendida que compunha os EGFETs foi conectada externamente aos MOSFETs comerciais através do SMU. A plataforma de detecção em fluxo, conforme mostrado na Figura 6 acima, entregou continuamente a amostra aos canais de detecção onde estava a extensão de porta dos FETs por meio de uma bomba de seringa. Realizamos dois tipos de medidas em solução para respostas na região de saturação do MOS. Foram elas:

- 1- Variação na voltagem entre a porta e a fonte (V_{GS}) e entre fonte e dreno (V_{DS}) com os eletrodos de trabalho e referência imersos em soluções contidas em um béquer. Aos dados dessa medida denominamos ao longo do texto como medidas estáticas (SM). O V_{GS} citado nas medidas experimentais referem-se ao potencial aplicado ao eletrodo de referência em relação ao eletrodo indicador.
- 2- Mesmo procedimento da medida 1 com os eletrodos no canal do microchip fabricado e injeção de fluxo 500 $\mu\text{L}/\text{min}$ por bomba de seringa. Aos dados dessa medida denominamos ao longo do texto como medida em fluxo (FM).

Além da análise de perturbação à corrente fonte-dreno advinda das diferentes concentrações das soluções, curvas características de transferência (I_{DS} - V_{GS}) na região de triodo foram usadas como outro método de investigação da resposta aos analitos, analisando a voltagem de limiar ocasionada por cada concentração das amostras.

Após as medidas acima mencionadas, realizamos a construção de um novo sistema para o que denominamos como medidas com alíquotas no fluxo. O sistema montado é exposto na Figura 7, a seguir.

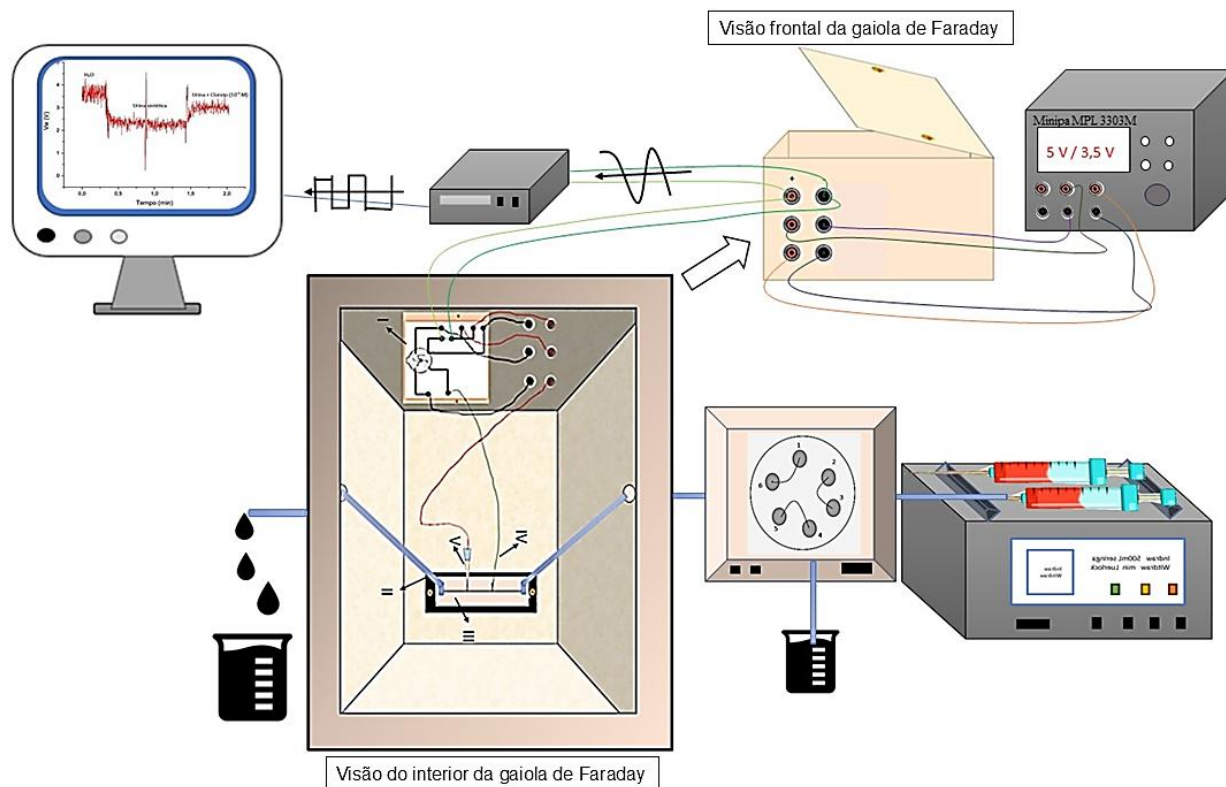


Figura 7: Sistema de medida com injeção de alíquotas de amostra.

No sistema de injeção de alíquotas havia uma bomba de seringa que injetava solvente enquanto um o modulador de fluxo acoplado a ela era ativado para injetar uma pequena quantidade de amostra. Os eletrodos foram soldados a uma placa de fenolite com um circuito de medida elétrica (Figura 7I) em que na saída do terminal de dreno havia um resistor de 8,2 KΩ. A amostra entrava numa gaiola de Faraday através de tubos posicionados nos extremos da gaiola (Figura 7II) e percorria o chip microfluídico (Figura 7III) no seu interior, passando pelos eletrodos indicador (Figura 7IV) e referência (Figura 7V). Através de interligações no exterior da gaiola de Faraday o circuito recebia as aplicações de tensão e uma interface analógico-digital era responsável pela recepção dos sinais. Quando a amostra foi injetada, o monitor de computador ligado à interface analógico-digital apresentou picos de tensão característicos de cada concentração das soluções.

O desenho do circuito elétrico utilizado pode ser observado abaixo, na Figura 8.

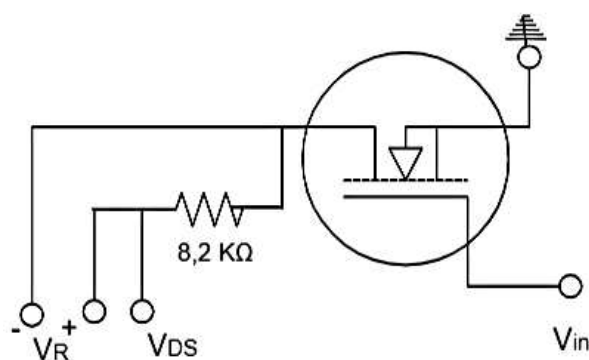


Figura 8: Circuito elétrico projetado para as medidas com alíquotas no fluxo.

No circuito o terminal de corpo do MOSFET foi aterrado para a polarização deste em relação à porta do dispositivo. Havia um resistor em paralelo com o dreno pois medimos a variação de corrente nesse terminal ao longo da mudança no valor de V_{GS} . A ideia era que o resistor em paralelo ao terminal de dreno nos fornecesse informações quanto a corrente de saída neste terminal. Uma vez obtida a corrente, dada a equação de Ohm, calculávamos a voltagem utilizando o *software* Labview com interface adaptada apropriadamente para esta medida. A corrente que circulava, consequentemente estava atrelada a indução das cargas na porta do MOSFET e por isso poderíamos fazer esta aproximação [146].

A ponta de prova utilizada estava interligada a uma interface analógica-digital conectada ao programa de computador e então foi possível detectar os incrementos, restringindo-os somente aqueles com valores acima de 5 V que era o limite de medida da interface analógica-digital.

O procedimento utilizando o sistema da Figura 7 e 8 foi semelhante ao da medida 2 descrita anteriormente. Mas a bomba de seringa injetou ininterruptamente o branco (matrizes em que as soluções foram preparadas) enquanto diferentes concentrações do analito foram injetadas pelo modulador de fluxo entre alguns intervalos. Aos dados dessa medida denominamos ao longo do texto como PIn.

3.6 Membrana sensora à creatinina: Confeção e Caracterização

Para encontrar uma melhor proporção entre OMCP e pasta condutora, inicialmente produzimos a pasta por uma mistura de resina Clear V4 acrylic e grafite

na proporção de 8/9 (p/p), respectivamente do peso em grama dos componentes, conforme descrito em um trabalho anterior do grupo [115] e em sequência adicionamos 10 mg de mesooctametilcalix[4]pirrol (OMCP) sintetizado e caracterizado conforme procedimentos descritos no Apêndice C.

Utilizamos uma proporção fixa de OMCP (10 mg) para variações (p/p) de pasta condutora (50, 100, 200, 300 e 400 mg) utilizamos um fio de cobre como contato elétrico. A mistura foi deixada para cura na máquina de projeção UV (340-405 nm) durante 7 horas para endurecer a membrana. Esta configuração é referida ao longo do texto como Mg1:5, Mg1:10, Mg1:20, Mg1:30 e Mg1:40.

Medidas de superfície da membrana sensora foram realizadas para averiguar suas propriedades estruturais de modo a identificar como a composição poderia afetar seu funcionamento. Para isso, realizamos Espectroscopia Vibracional de Infravermelho com Transformada de Fourier de Reflexão Total Atenuada (ATR-FTIR) a qual auxiliava na obtenção de informações quanto a configuração molecular e estrutura interativa da membrana.

Após obter informações quanto a melhor proporção entre pasta condutora e espécie de reconhecimento, adicionamos Tetraquis[3,5-bis(trifluorometil)fenil] borato de potássio (KTPB) como trocador iônico em uma quantidade referente a 1/3 (em miligramas) de OMCP. Após pesadas, as quantidades equivalentes foram misturadas. Em cada junção fazíamos a mistura manual dos componentes até que visualmente esses estivessem bem integrados. Em sequência, revestimos fios de cobre com a mistura preparada e levamos para a máquina de cura com projeção UV de 340-405 nm, durante 9 horas. Este foi o nosso eletrodo indicador de creatinina. Realizamos Microscopia Eletrônica de Varredura para obter informações quanto a morfologia da membrana com a adição de cada componente.

O tamanho da membrana utilizada nas medidas estáticas foi de 1 cm recoberta em um fio de cobre de 0,51 mm. Para as medidas dinâmicas, a membrana preencheu uma área de 0,0726 mm.

3.7 Parâmetros de avaliação do sensor

3.7.1 Sensibilidade

Curvas de corrente de fonte-dreno (I_{DS}) e voltagem de limiar (V_T) em função da concentração das soluções foram construídas a partir do valor médio de triplicatas das medidas para cada concentração da solução. A sensibilidade em corrente de fonte-dreno foi descrita como a variação da curva linear ao traçar a raiz quadrada de I_{DS} na região de saturação versus a concentração das amostras. A sensibilidade em tensão foi calculada como a variação da curva linear ao traçar V_T versus a concentração das soluções. Utilizamos o Origin 8.1 para plotar os gráficos e obter informações das curvas.

O limite de detecção e o limite de quantificação foram ambos obtidos com base no ajuste linear dos gráficos das medidas.

3.7.2 Linearidade

O ajuste linear das curvas de corrente e voltagem versus a concentração nos forneceu a linearidade da medida.

$$L = R^2 \quad (\text{Equação 8}).$$

em que R^2 é o coeficiente de determinação.

Valores de R^2 mais próximos de 1 indicaram que a medida era mais linear. Construímos a curva de dados das medidas e calculamos a linearidade para as diferentes soluções usando o Origin 8.1.

3.7.3 Histerese

A histerese do sensor foi medida pela variação de I_{DS} quando o sensor foi testado na sequência de concentração inicial 15 mmol L^{-1} e após nos valores de 3, 5, 9, 12, 17, 21, 24 e 27 mmol L^{-1} de creatinina, em que, nos intervalos das concentrações eram novamente realizados testes na solução de 15 mmol L^{-1} . O cálculo de histerese considerou a Equação 9 a seguir,

$$h = \frac{Vx(1) - Vx(n)}{Vx(1)} 100 \quad (\text{Equação 9}).$$

em que $Vx(1)$ é o valor da corrente medida na primeira concentração de 15 mmol.L^{-1} , ou seja, no início da sequência e $Vx(n)$ é o valor medido ao final da sequência. Multiplicando o valor por 100, obtém-se a porcentagem de histerese.

3.7.4 Estabilidade

A estabilidade do sensor foi avaliada ao longo de 90 dias, com armazenamento a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, sendo realizados testes periódicos nos dias 1, 3, 7, 75 e 90 após sua fabricação. As medições foram feitas para concentrações de creatinina variando entre 3 mmol L^{-1} e 27 mmol L^{-1} . Esses intervalos foram escolhidos para avaliar a degradação inicial e a durabilidade do sensor a longo prazo.

3.8 Teste em Eletroforese Capilar com detector C⁴D

O teste foi uma adaptação de uma pesquisa anterior a este trabalho [27]. Um capilar de sílica fundida de $50\text{ }\mu\text{m}$ d.i. e $375\text{ }\mu\text{m}$ d.o. obtido da Agilent (Brasil) de comprimento total de 53 cm e comprimento efetivo, desde a entrada até o detector, de 45 cm foi inicialmente condicionado: 15 minutos com solução de NaOH 1 mol. L^{-1} ; 15 minutos com água deionizada; 6 minutos com HCl concentrado e 30 minutos com eletrólito. O eletrólito foi formado por 40 mmol L^{-1} de MES e 20 mmol L^{-1} de L-His. A temperatura do capilar foi controlada a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. A aquisição de dados foi realizada utilizando o *software* LabView versão 20.0.1. A tensão de separação foi de +20 kV e a injeção hidrodinâmica da amostra foi programada para seis segundos (a 11 kPa).

As amostras foram preparadas com concentrações de creatinina entre 3 mmol L^{-1} e 27 mmol L^{-1} , seguindo os parâmetros de calibração estabelecidos pela Anvisa.

Esses valores refletem a faixa de creatinina encontrada em fluidos biológicos de pacientes com diferentes estágios de função renal, permitindo avaliar a sensibilidade e aplicabilidade do sensor [147]. As matrizes foram água deionizada e urina sintética adquirida comercialmente. Para uso da urina sintética, primordialmente, fizemos testes com diluições desta em 5, 10, 20 até 100 vezes diluídas e então preparamos as amostras nas urinas diluídas 10 e 100 vezes.

Os resultados quanto às aplicações das metodologias descritas nesta seção são apresentados e discutidos na seção seguinte.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização elétrica do transistor de efeito de campo e dos sistemas

O desenvolvimento do transistor nesta pesquisa visou aprimorar a aplicação dos MOSFETs nos EGFETs para detecção de analitos. Como desafios, identificamos a necessidade de otimizar a estabilidade elétrica do dispositivo e melhorar sua resposta frente a variações na composição da amostra. Para isso, exploramos diferentes parâmetros de fabricação, incluindo variações no dopante e ajustes na geometria do canal de condução.

Seguindo os procedimentos de fabricação (Anexo 1), desenvolvemos o chip em 57 etapas e fizemos a caracterização ao longo desse processo. Em cada lâmina de silício foram projetados MOSFETs com largura de canal de 50x100 μm e de 200x200 μm . O valor de V_T esperado para o dispositivo era de -1,5 V sendo uma voltagem negativa. No entanto, durante as medidas o V_T foi de 11,5 V para o transistor de 50x100 μm e 10,3 V para o de 200x200 μm , que era um valor de voltagem inicial extremamente alta para a aplicação nesta pesquisa.

A variação do valor de V_T ocorreu, principalmente, na etapa de difusão térmica em que não foi possível controlar eficientemente a taxa de infiltração de dopantes. Observamos que por se tratar de um processo longo que requer a confecção ou compra de moldes de fabricação de novos modelos de MOSFETs, específicos para cada pesquisa, isso geraria um custo adicional muito alto. Além disso, essa atividade ocuparia uma parcela significativa do período para desenvolvimento da pesquisa. Sendo assim, decidimos por não refazer as etapas de confecção ou desenvolver um novo MOSFET, mas utilizar algum modelo comercialmente disponível, uma vez que, a literatura abordava também esta possibilidade [21, 75, 80, 83, 90-92].

Através da caracterização elétrica de vários modelos MOSFETs comerciais escolhemos para o desenvolvimento da pesquisa o MOSFET modelo 2N4351. O comportamento elétrico do dispositivo no Analisador de Parâmetros de Semicondutores Keithley (APS) é representado na Figura 9 abaixo.

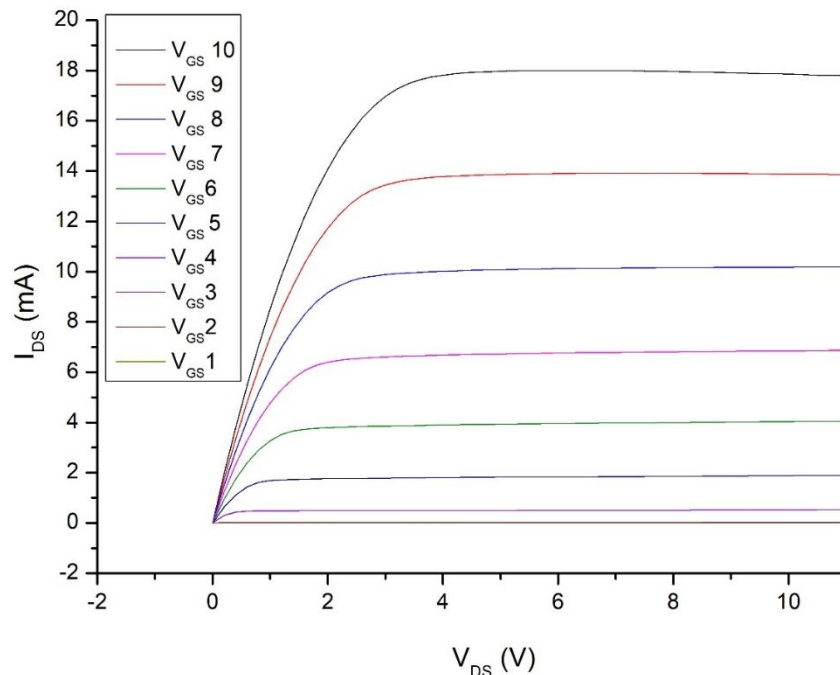


Figura 9: Curvas I_{DS} versus V_{DS} características de um MOSFET tipo enriquecimento. Em cada valor de V_{GS} o V_{DS} variou de 1 a 10 V com passo de 200 mV

Como o MOSFET 2N4351 é um dispositivo comercial, ele deve ser estável por natureza e devido a isso observasse apenas uma curva suave na relação I_{DS} - V_{DS} , representada na Figura 9.

As curvas I_{DS} - V_{DS} nos possibilitam a aquisição de outras informações relevantes. Uma delas é que em uma tensão de porta abaixo de aproximadamente 3,0 V o dispositivo estava no modo de corte. Acima desse valor era sua tensão de limiar, momento em que era formado um canal condutivo entre os terminais de fonte e dreno do MOSFET. E entre um V_{DS} 4 e 10 V, para qualquer aplicação de voltagem na porta, o dispositivo estava na região de saturação, onde a contribuição da corrente no canal fonte-dreno era máximo. Essa última região de funcionamento era onde queríamos que o nosso dispositivo operasse durante a medida de I_{DS} , para obter informações da máxima variação de corrente de fonte e dreno operacionalizada por perturbações no terminal de porta do EGFET [64, 146].

A curva representada na Figura 9 também era útil para identificar se a porta do nosso MOSFET comercial também receberia contribuições de um efeito denominado Efeito Early. Na Figura 9 as bandas da caracterização V_{GS} por V_{DS} são aproximadamente lineares. Bandas lineares nos concedem informações quanto a resistência de saída na saturação do MOSFET, já que o gráfico relaciona tensão versus corrente.

Traçando retas a partir dos picos máximos de cada curva, em algum momento elas tocarão o eixo da abscissa em um mesmo ponto. Quando isso ocorre, dizemos que este ponto é a tensão Early. Essa tensão é dependente da tecnologia de fabricação do MOSFET e causará um defeito no funcionamento ideal do transistor devido a resistência de saída da fonte de corrente. Isso atribuirá maior corrente de saída ao dispositivo e maiores inclinações de corrente, com o aumento de V_{DS} , pela influência tanto da modulação do canal pelas perturbações na porta do MOSFET quanto pelo efeito Early [148].

Como as bandas de caracterização do MOSFET mostraram-se bem planas (Figura 9), isso quer dizer que o efeito Early é muito negativo o que faz com que o incremento de corrente em altos V_{DS} por influência dele seja, para este caso, desprezível [146, 148]. Isso é reafirmado pelo valor de transcondutância obtido. Esse parâmetro corresponde a medida da derivada de I_{DS} versus V_{GS} para o MOSFET de canal n utilizado.

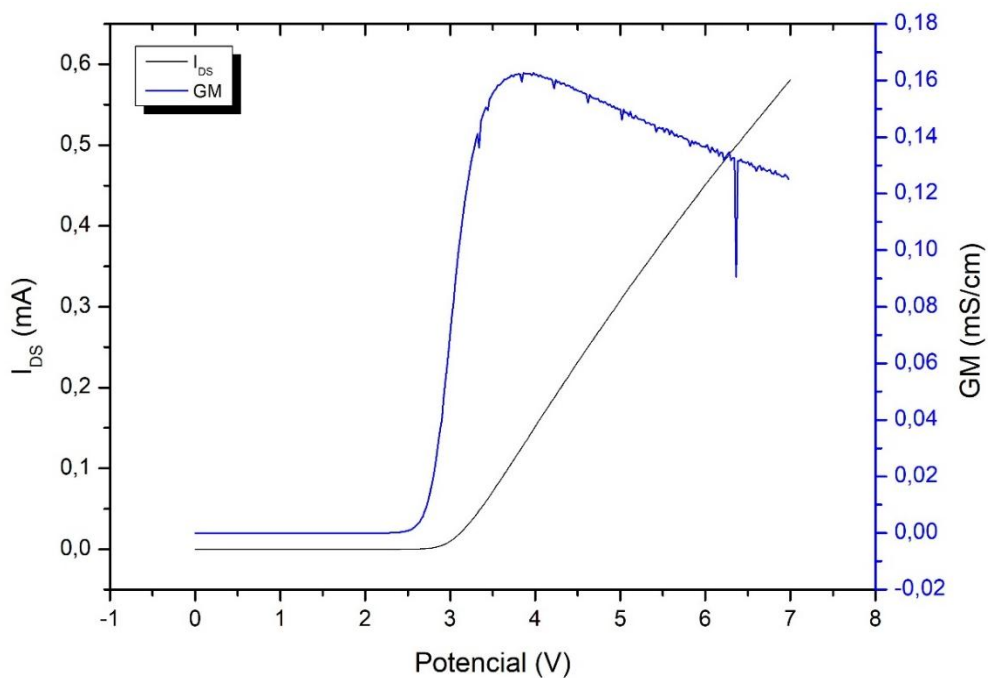


Figura 10: Medida de transcondutância (GM) do dispositivo MOSFET comercial

A transcondutância (GM) nos concede informações quanto à amplificação de sinal do dispositivo. Quanto maior o valor do GM, maior será a amplificação do sinal no dispositivo, isso permite que tenhamos uma maior sensibilidade do sensor em um menor limite de detecção. Esse parâmetro é inversamente proporcional a largura do canal no transistor, que para a tensão Early é diretamente proporcional. Como a

medida é para o mesmo transistor, podemos então fazer a aproximação de que a tensão Early é inversamente proporcional ao valor de GM obtido. Desta forma um Efeito Early desprezível nos proporciona menor valor de GM [148]. Apesar disso, nesta pesquisa a amplificação de sinal ainda foi adequada para a função de amplificação do transistor. O MOSFET que escolhemos para a pesquisa possuía transcondutância igual a 0,162 mS/cm.

A curva de I_{DS} por V_{GS} (linha preta) presente na Figura 10 nos concede o valor da tensão de limiar do MOSFET, que foi de aproximadamente 3 Volts. Reafirmando os dados gerados com a medida I_{DS} - V_{DS} . Neste valor o incremento de corrente é muito baixo e na Figura 9 não está nítida devido aos incrementos dos demais valores de V_{GS} serem superiores e restringi-lo pela escala do eixo y.

Os dados das caracterizações elétricas mostraram-se bem estáveis, o que já era esperado para um dispositivo comercial. Tais dados possibilitaram que fatores de instabilidade do dispositivo fossem minimizados e apenas problemas no eletrodo, que poderiam ser otimizados mais facilmente, devessem ser considerados no estudo.

4.2 Caracterização do chip microfluídico após a impressão 3D

Para as análises em fluxo, a Figura 11, a seguir, mostra a caracterização do chip microfluídico quando este foi marcado com azul de metileno para melhor visualização dos limites de borda dos canais.

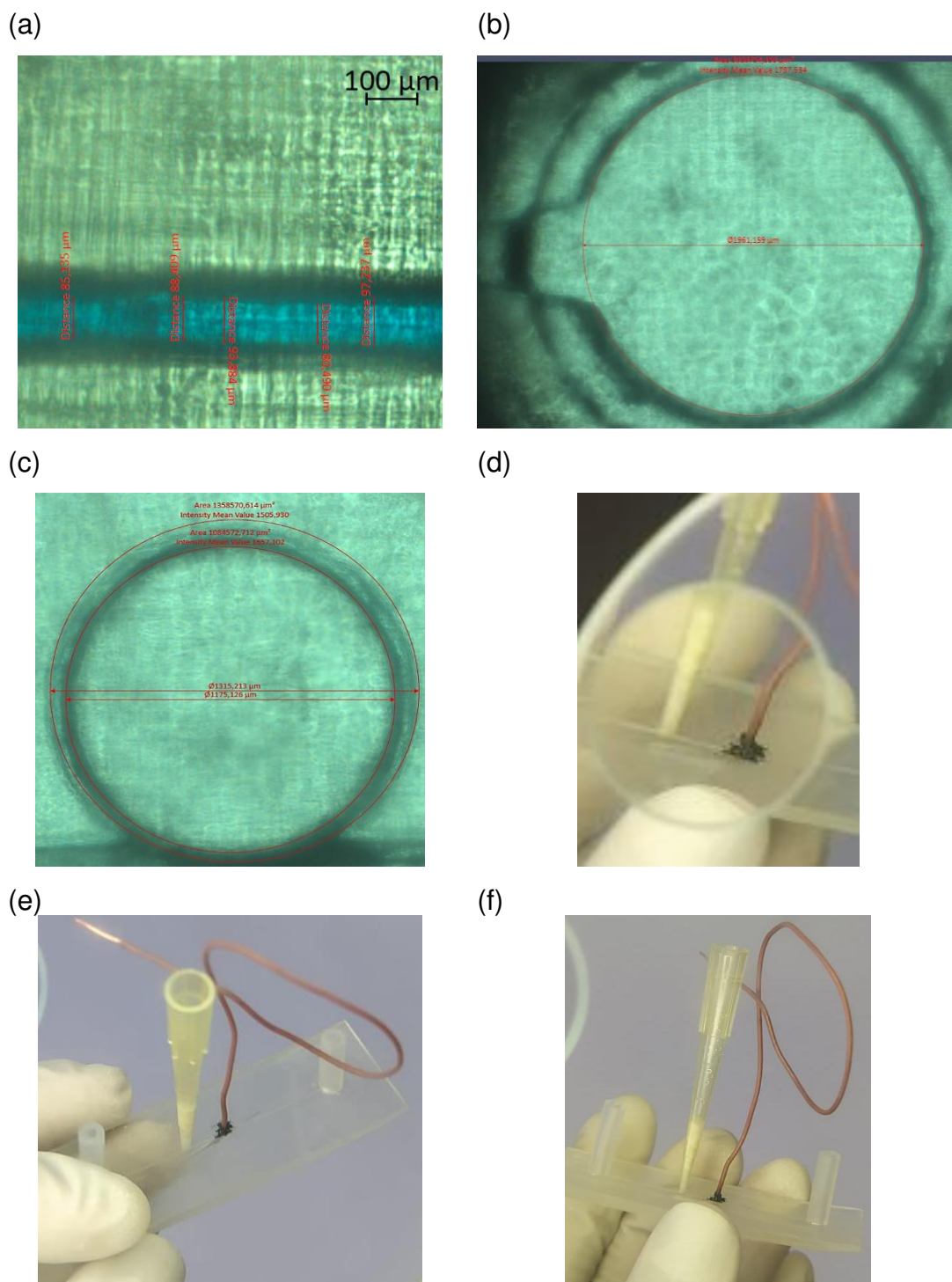


Figura 11: Chip microfluídico impresso por processamento digital de luz. (a) medidas do canal do chip. (b) dimensões dos reservatórios. (c) entrada dos eletrodos. (d) zoom da área de interação dos eletrodos indicador e referência com o canal. (e) superfície do dispositivo microfluídico. (f) lateral do dispositivo microfluídico.

Quando caracterizado, o chip tinha dimensões de canal de $99,66 \times 176,34 \mu\text{m}$; com $131,52 \text{ mm}$ para entrada dos eletrodos e $196,11 \text{ mm}$ internos nos reservatórios.

Como estávamos interessados em assegurar que a interação com o eletrodo pudesse ser realizada sem outras contribuições, como turbulências no escoamento, o chip de canal único e reto era o mais adequado.

4.3 Primeiros testes em solução: caracterização do comportamento do sistema em solução

Em configurações de medida utilizando FETs, o eletrodo de referência não atua como costumamos conhecer para os eletrodos de referência utilizados em eletroquímica. Devido a isso o denominaremos, a partir desse parágrafo, como eletrodo de controle, assim como outros estudos já optaram por fazer [149]. A voltagem aplicada ao eletrodo de controle é capacitivamente comunicada através de duplas camadas elétricas ao eletrodo indicador e do indicador a porta do MOSFET através de conexões metálicas. Isso faz com que o MOSFET tenha carga suficiente para sair do estado de inércia. Uma unidade elétrica da fonte de tensão (SMU) é responsável pela aplicação de potencial no terminal de fonte do MOSFET. Isso faz com que exista uma diferença de potencial entre os terminais de porta e fonte e de fonte e dreno e devido a isso é possível medir as variações dadas pelas diferentes cargas que controlam a formação de corrente entre os terminais fonte e dreno [150,151].

Nessas medidas e nas que apresentaremos em sequência os V_{GS} s referem-se a tensão aplicada ao eletrodo de controle em relação ao indicador. Nas medidas do complexo $[Fe(CN)_6]^{3-}/[Fe(CN)_6]^{4-}$ o eletrodo indicador foi um fio de platina conectado à porta do MOSFET comercial 2n4351. Como nas medidas elétricas verificamos que o dispositivo formava o canal entre a fonte e o dreno em um V_T de pelo menos 3 V os testes iniciaram com um V_{GS} de 3 V.

Extraímos curvas de I_{DS} - V_{DS} em função da concentração do complexo para valores de V_{GS} 3 a 10 V e V_{DS} 1 a 10 V, traçamos a reta e extraímos os coeficientes angulares e o erro para verificar a melhor região de trabalho no sistema.

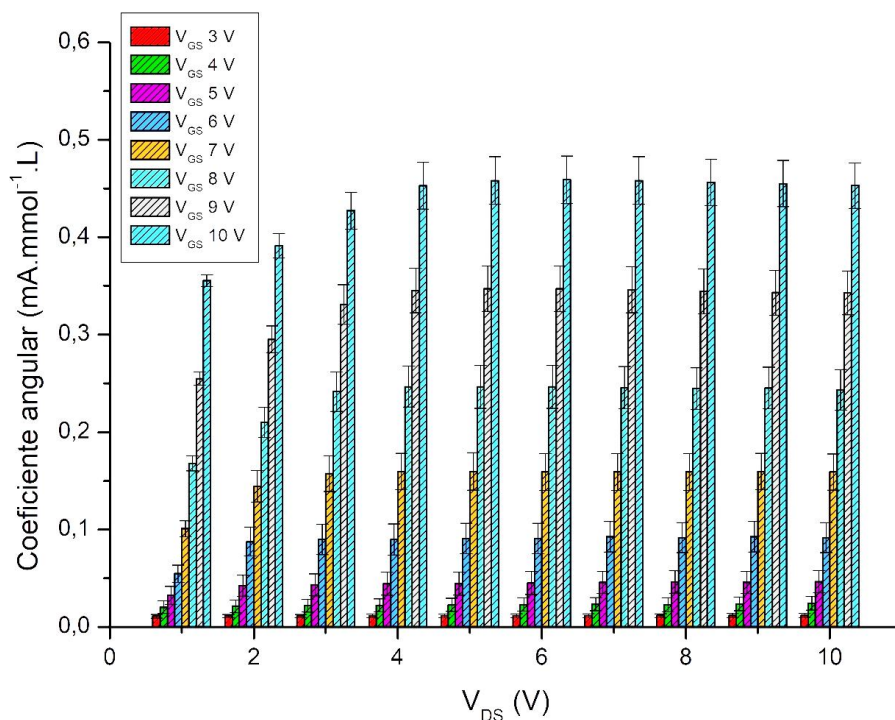


Figura 12: Coeficientes angulares das medidas em $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ 10 mmol.L^{-1} até $10^{-6} \text{ mmol.L}^{-1}$.

Na Figura 12 acima, ao observarmos o comportamento dos coeficientes angulares para cada valor. Verificamos que em $V_{GS} 3,0 \text{ V}$ temos o menor valor de coeficiente angular e também de erro para as medidas em qualquer valor de V_{DS} . O que não se repete nos V_{GS} seguintes, nas medidas há variação nos valores de coeficientes angulares sendo eles mais altos com o aumento de V_{GS} e em V_{DS} entre 5, 6 e 7 volts. A proporção de erro para valores mais altos de V_{GS} também foi percebidamente maior.

Além dos valores de coeficientes angulares e proporção de erro, consideramos para a escolha da região de trabalho um valor de V_{GS} e V_{DS} que satisfizesse a equação para a região de saturação e valores em que a vida útil do dispositivo fosse maior. Para isso a melhor região seria em $V_{GS} 3$ e $V_{DS} 5$ ou 6 V .

Como durante as medidas algumas mudanças de MOSFETs eram necessárias e o valor médio de V_T dos dispositivos comercialmente adquiridos eram de pelo menos 3 volts decidimos realizar as medidas em $V_{GS} 3,5 \text{ V}$ e $V_{DS} 5 \text{ V}$. O gráfico da Figura 13 apresenta o comportamento da corrente I_{DS} nas várias concentrações das amostras de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ nesses valores de V_{GS} e V_{DS} fixados.

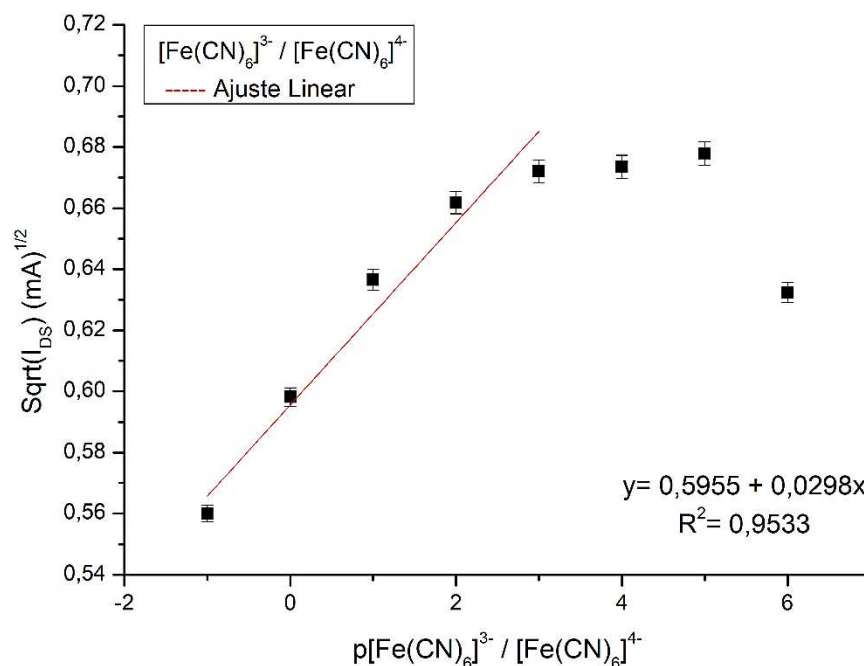


Figura 13: Medida estática de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ utilizando 4,5 mL de solução em cada medida. V_{GS} fixado em 3,5 V e V_{DS} 5 V, concentrações variadas em $10 - 10^{-6}$ mmol de solução do complexo.

Quanto maior era a concentração de analito na amostra menor foi a corrente I_{DS} e conforme a concentração diminuía, o comportamento da corrente se aproximava daquele do branco da amostra ($0,73 (I_{\text{DS}})(\text{mA})^{1/2}$). Isso não era verdade para a menor concentração testada (10^{-6} mmol. L^{-1}). O sistema projetado era capaz de responder linearmente apenas até uma concentração de 10^{-3} mmol. L^{-1} de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-} / [\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ na amostra. A sensibilidade da corrente I_{DS} deste analito foi de $0,0298 (\text{mA})^{1/2}/\text{p}$ para cada variação da concentração do complexo e a linearidade foi de $R^2=0,9533$.

O mecanismo de resposta ocorrente na detecção do complexo é o acionamento da porta do MOS mediante a voltagem aplicada ao eletrodo de controle que é comum a área de teste. As cargas negativas da solução são atraídas à superfície do eletrodo indicador. As cargas negativas modificam a corrente do canal fonte-dreno do MOSFET e sua intensidade de modulação é característica de cada concentração das amostras [152].

Fizemos novos testes de caracterização de área, dessa vez para as soluções de NaCl. A detecção de cloreto foi utilizada como uma das provas de conceito pois já é bem conhecido na literatura o uso de eletrodos de Ag/AgCl para a resposta desse analito. Observa-se que o comportamento dos coeficientes angulares da Figura 13 se repetiam de maneira a padronizar a área de teste. Utilizamos um eletrodo indicador

de Ag/AgCl para responder à concentração de íons cloreto em solução. Os coeficientes angulares para essa amostra foram os da Figura 14, seguinte.

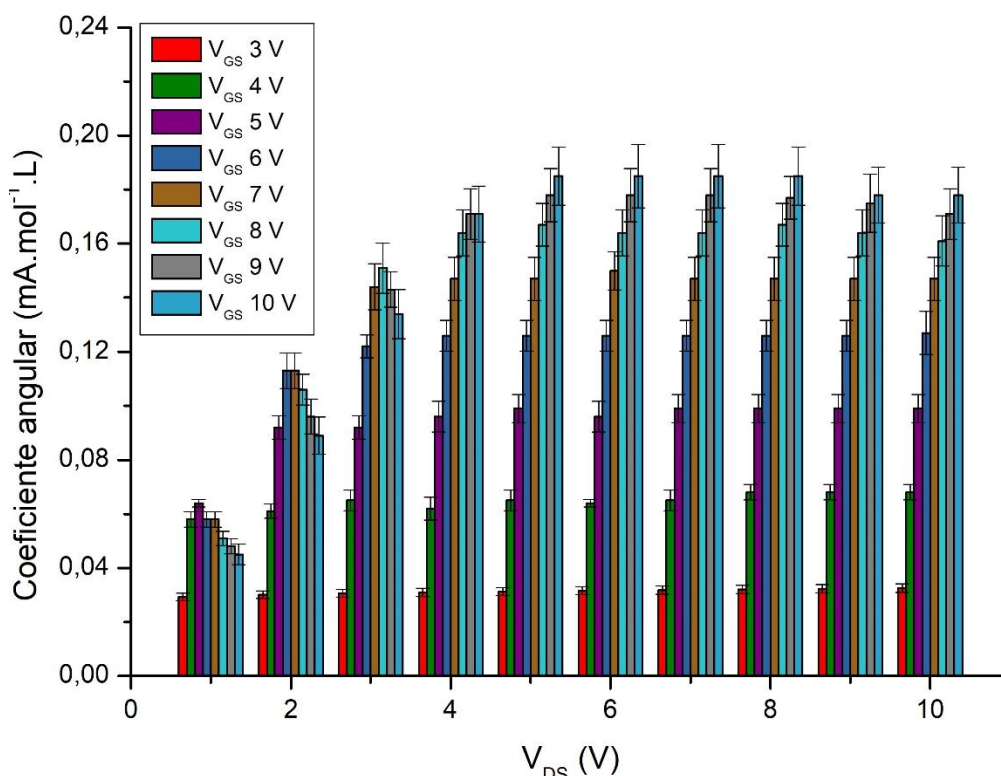


Figura 14: Coeficientes angulares das medidas em cloreto preparado em água usando 5,5 mL de amostra no teste estático com variação da tensão entre 2 a 10 V.

Observando o comportamento dos coeficientes angulares, verificou-se que em um V_{GS} 3 V tínhamos os menores valores de coeficientes angulares e também de erro das medidas para qualquer que fosse o valor de V_{DS} . Isso não era verdade para os V_{GS} seguintes, em que existiam variações nos valores de coeficientes angulares à medida que o V_{GS} aumentava e eles eram mais acentuados em V_{DS} entre 5, 6 e 7 volts. O erro para valores mais elevados também foi evidente, como mostrou a Figura 14.

Além dos valores dos coeficientes angulares e de erro, na escolha dos valores de V_{GS} e V_{DS} , consideramos também a área que satisfazia a equação do MOSFET para a região de saturação, em que a tensão entre os terminais de fonte e dreno deve ser superior à diferença de potencial entre a fonte, a porta e a tensão de ligação do dispositivo. Além disso, também consideramos valores que aumentassem a vida útil do dispositivo.

Consideramos a equação para a saturação, pois quando a corrente de dreno passa a ser relativamente independente da variação da tensão fonte-dreno e é

controlada apenas pela tensão de porta significa que, para valores de V_{DS} superiores à saturação, a corrente não varia e é possível distinguir claramente a diferença entre as correntes geradas por cada potencial aplicado apenas à porta [64]. Como observado na Figura 14, a melhor região para isso seria V_{GS} 3 V e V_{DS} 5 ou 6 volts. Assim, decidimos realizar as medidas em V_{GS} 3,5 V e V_{DS} 5 V. Com estes resultados foi possível atribuir um valor padrão de V_{GS} e V_{DS} para todas as medidas seguintes.

As curvas características I_{DS} - V_{DS} medidas nas várias concentrações de cloreto em água, nas condições estáticas e utilizando o chip microfluídico, são mostradas na Figura 15, abaixo.

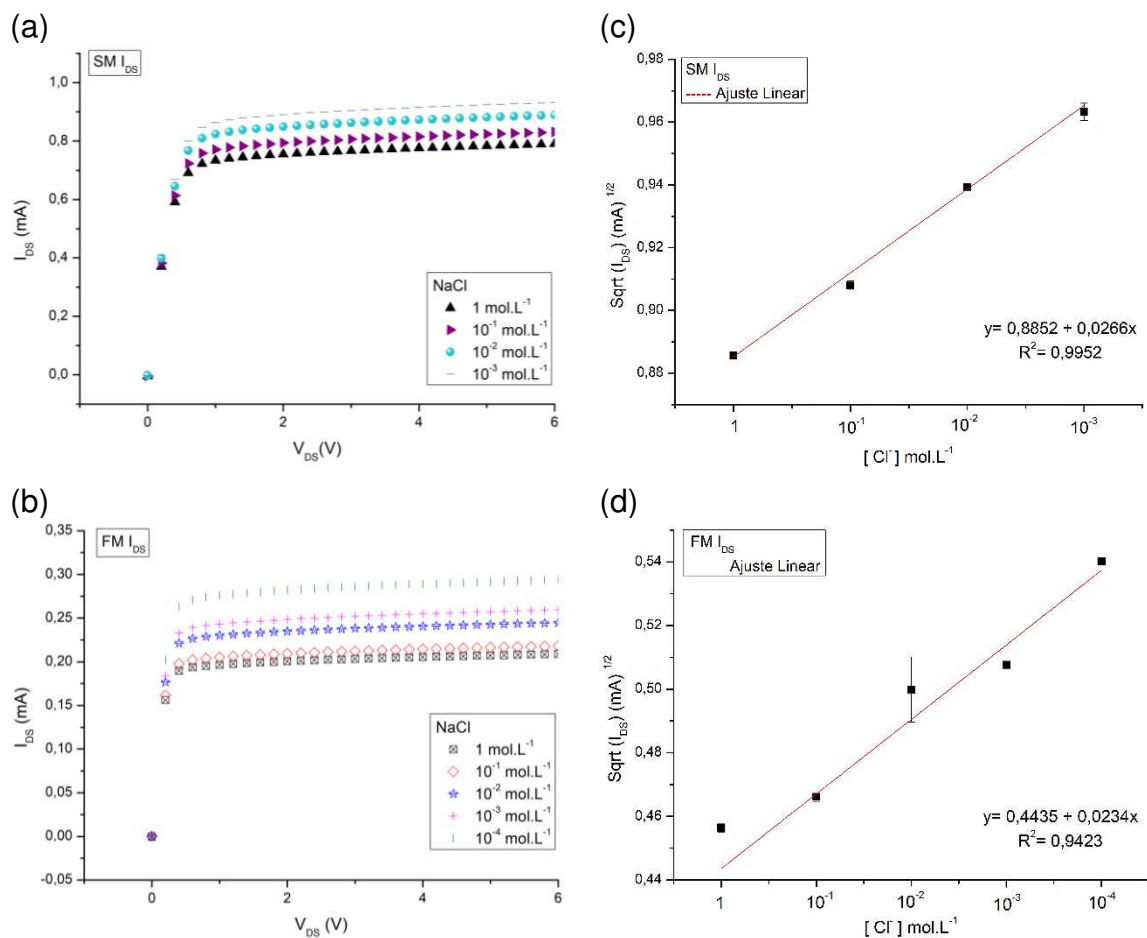


Figura 15: Curvas I_{DS} - V_{DS} em diferentes concentrações de solução de cloreto em água. Curvas I_{DS} - V_{DS} para teste estático (a) e dinâmico (b). Sensibilidade em corrente para as soluções de cloreto preparado em água no SM (c) e na condição FM (d).

Nas Figuras 15a e 15b, enquanto mantivemos V_{GS} em 3,5 V, variamos V_{DS} de 0 a 6 V. Assim, obtivemos uma clara relação linear entre a corrente fonte-dreno e a tensão entre estes terminais. Isto sugere um excelente contato ôhmico entre os terminais do FET e os eletrodos, o que facilitava a transferência de carga. As curvas características de transferência sob diferentes V_{DS} mostraram que a tensão fonte-dreno

também pode modular eficazmente o desempenho do sensor e é por isso que é tão importante escolher uma área de medida na saturação, onde é possível ignorar estas contribuições e observar apenas a contribuição das cargas na porta do EGFET.

Nas Figuras 15a e 15b é claro que na região de saturação (V_{DS} 1-6 V), a concentração da solução é o que modula a condução da corrente fonte-dreno devido as espécies químicas estarem carregando a porta do FET. Isto deve-se ao fato de uma mudança na concentração da solução alterar o estado de equilíbrio entre o metal e o óxido da estrutura do MOSFET, o que resulta em uma mudança das propriedades elétricas e do potencial de superfície [149, 153].

Nas Figuras 15c e 15d, o declive da curva linear a um V_{GS} de 3,5 V e V_{DS} de 5 V foi utilizado para obter a sensibilidade na corrente fonte-dreno nas diferentes concentrações. Independentemente de a medição ser estática ou em fluxo, observamos que quanto maior a concentração de cloreto (carga negativa) na solução, maior a redução do I_{DS} . Este fato já era esperado para a medida. Nestas condições, a I_{DS} aumenta com o aumento da influência da tensão de porta, indicando que o EGFET apresenta um excelente desempenho no controle da porta [151,154-156]. Nas mesmas figuras, é demonstrada a relação linear entre a taxa de variação da corrente e a concentração de cloreto. A sensibilidade da resposta em condição estática foi de $0,0266 \text{ (mA)}^{1/2} / \text{mol.L}^{-1}$ enquanto que em condição dinâmica foi de $0,0234 \text{ (mA)}^{1/2} / \text{mol.L}^{-1}$. As linearidades das medidas foram de 0,9952 e 0,9423, respectivamente, com limites de detecção e quantificação de $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ e 1 mol.L^{-1} para o teste estático e de $10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$ e 1 mol.L^{-1} para o teste em fluxo, respectivamente.

O teste em fluxo conseguiu expandir a janela de detecção. Isto deve-se ao fato de, na configuração de fluxo, o eletrodo indicador ser menos influenciado por fatores externos o que pode aumentar sua sensibilidade e expandir a faixa de detecção [157].

As curvas características de transferência (I_{DS} - V_{GS}) são geralmente utilizadas para investigar a resposta do EGFET aos analitos [151, 158]. Estas curvas são realizadas porque o V_T não pode ser medido diretamente, mas pode ser obtido pela medida de outros parâmetros, como o V_{GS} . O V_T é utilizado para controlar o estado ligado/desligado dos FET, mas também pode ser utilizado para determinar a contribuição das diferentes cargas da amostra. As curvas características I_{DS} - V_{GS} medidas para várias concentrações de cloreto são apresentadas na Figura 16 abaixo.

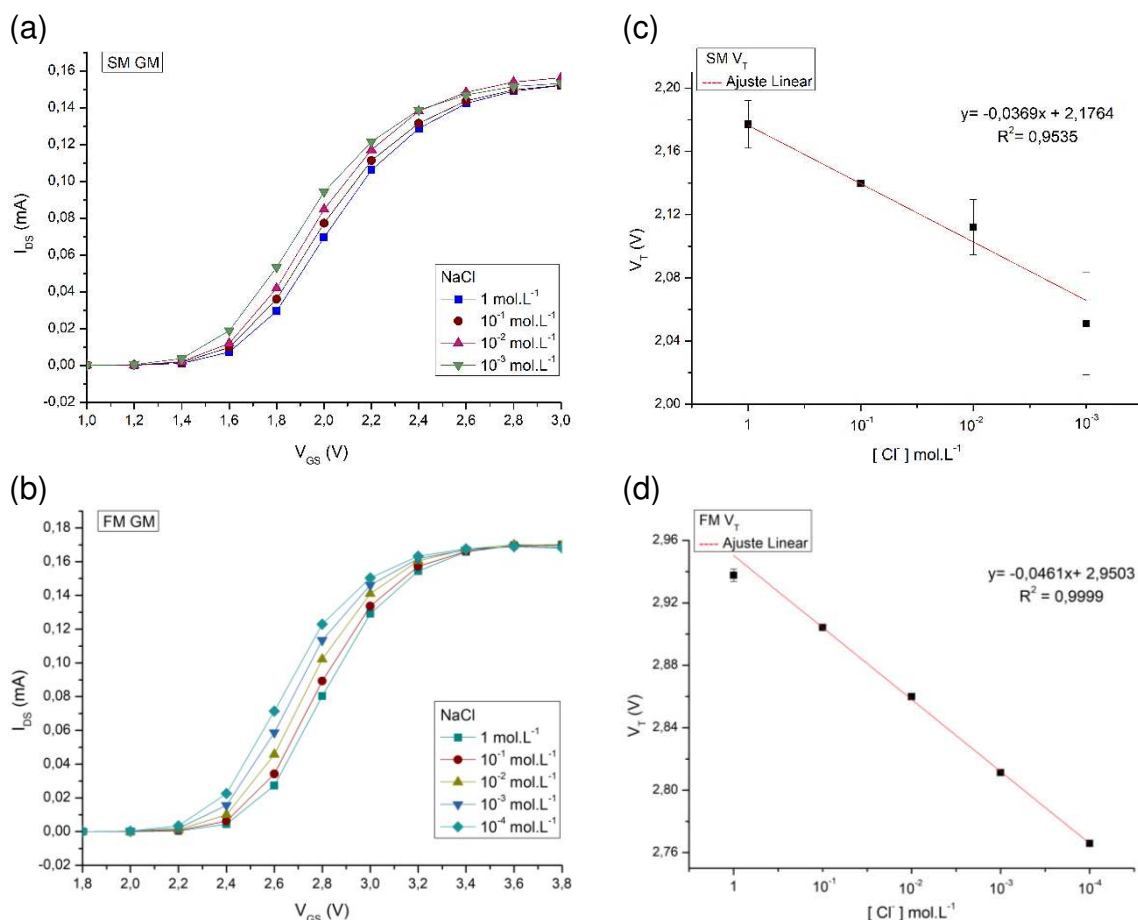


Figure 16: Curvas I_{DS} - V_{GS} para diferentes concentrações de cloreto em água. Transcondutância no teste SM (a) e FM (b). Sensibilidade em tensão para as amostras em SM (c) e FM (d).

As curvas das Figuras 16a e 16b decrescem com o incremento das concentrações. Este deslocamento da curva é explicado pela interação do cloreto com carga negativa à superfície da porta estendida. Isto resulta numa mudança de potencial na superfície da porta e, por conseguinte, provoca uma variação na tensão de limiar do MOSFET [150]. Quando há uma acumulação de carga negativa na superfície de detecção, esta atrai cargas positivas na estrutura do semiconductor, que reduz a presença dos elétrons em direção a interface, pelo que também se observa uma variação na corrente [159].

As Figuras 16a e 16b mostram que, à medida que a concentração da substância analisada diminui, há uma alteração da transcondutância para um valor mais positivo que provoca uma alteração gradual das curvas I_{DS} - V_{GS} . A sensibilidade da tensão de limiar pode ser obtida observando a alteração da tensão de abertura da porta à medida que a concentração de cloreto diminui.

As figuras 16c e 16d mostram que a elevada concentração de cloreto na solução significa que podem ser adsorvidos mais íons na porta do EGFET. Por

consequente, a resposta potencial na faixa de detecção é maior em concentrações elevadas do que em concentrações baixas. Para os testes discutidos nestas figuras, atingimos um limite de detecção e quantificação de 10^{-3} mol. L⁻¹ a 1 mol. L⁻¹ para o ensaio estático e de 10^{-4} mol. L⁻¹ a 1 mol. L⁻¹ para o teste dinâmico, respectivamente, mesmas faixas abrangidas no teste de corrente. A sensibilidade da tensão foi de 36,91 mV dec⁻¹ para a medida estática e de 46,11 mV dec⁻¹ para a medida dinâmica, com uma linearidade de 0,9535 e 0,9999, respectivamente.

O que acontece se continuamos a diminuir a concentração da solução é uma resposta permanente até um ponto, independentemente da concentração, e após pode ocorrer o que chamamos de inversão, que é devido às cargas positivas mais efetivas na superfície modularem o comportamento do sensor, fazendo com que a tensão se comporte de forma oposta à mostrada no gráfico das figuras 16c e 16d [160]. A Tabela 3 abaixo, sumariza os resultados de todas as medidas de cloreto em diferentes matrizes.

Tabela 3: Sensibilidade em corrente e em voltagem de limiar para as amostras de cloreto.

Matriz e tipo de medida		Sensibilidade em corrente (mA) ^{1/2} /mol. L ⁻¹	Sensibilidade em voltagem (mV/déc)	Linearidade (R ²)	Faixa de detecção (mol. L ⁻¹)
H ₂ O	SM	0,0266	36,91	0,9952 ¥ 0,9535	1-10 ⁻³
	FM	0,0234	46,11	0,9423 ¥ 0,9999	1-10 ⁻⁴
NaNO ₃	SM	0,0250	52,96	0,9908 ¥ 0,9998	1-10 ⁻⁵ ¥ 1-10 ⁻³
	FM	0,0181	29,87	0,8742 ¥ 0,7074	1-10 ⁻²
Urina	SM	0,0048	15,58	0,7855 ¥ 0,9364	1-10 ⁻³ ¥ 1-10 ⁻²
	FM	0,0330	7,13	0,8247 ¥ 0,7581	1-10 ⁻⁵
Urina Diluída*	SM	0,0275	38	0,9487 ¥ 0,8895	1-4
	FM	0,4759	47,4	0,8611 ¥ 1	1-3 1-2

*a faixa de detecção corresponde a diluições da urina comercial e não a quantidade de mol.L⁻¹. ¥ Linearidade e faixa de detecção para a sensibilidade em voltagem.

Com exceção das matrizes de urina, os nossos valores de sensibilidade à tensão foram superiores ou similares aos de outros estudos já descritos na literatura, com uma linearidade de medida muito superior para a faixa de detecção investigada [140]. Isto deve-se à excelente ação do eletrodo indicador na interação com as

espécies presentes na solução e também ao chip microfluídico com a estratégia de detecção por parede lateral.

Os resultados experimentais provaram que a sensibilidade à corrente I_{DS} do sensor para amostras em água eram praticamente equivalentes em condições estáticas e em fluxo. Para NaNO_3 o valor da corrente no fluxo era 27% inferior a obtida na medida estática. Na matriz de urina, os valores de sensibilidade em corrente no fluxo eram bastante diferentes sendo a medida em fluxo quase sete vezes o valor da corrente da medida estática. A faixa de concentração de cloreto considerada no conjunto de dados do fluxo também foi duas ordens de grandeza maior. A medida estática considerou concentrações mais altas. Em baixas concentrações as espécies capazes de interagir com a área do eletrodo em fluxo para modular eficazmente a superfície sensora estavam em menor quantidade, de modo que as conexões não conseguiam receber as variações de cargas e enviá-la até ao MOSFET [80-84]. No geral, nos testes com valores correspondentes faz-se melhor o uso do sistema em fluxo, já que ele pode automatizar a medida e reduzir a possibilidade de falhas humanas.

A sensibilidade em tensão mostrou que para as amostras em água e urina diluída a sensibilidade em voltagem era aproximadamente 10mV dec^{-1} superiores entre as diferentes configurações de teste. Enquanto que, para a matriz de NaNO_3 e urina a sensibilidade era metade do valor nas condições dinâmicas quando comparados com as estáticas. Na literatura, é mais comum as pesquisas escolherem fazer a medida da variação por V_T ao invés de I_{DS} já que ele nos permite identificar a ação das partículas na superfície sensora [80-89]. No entanto, os dados advindos de I_{DS} são mais consistentes, recebendo poucas contribuições de fatores externos.

Após o teste com cloreto, realizamos também testes de detecção de tiocianato (SCN^-) preparados em matrizes biológicas sintéticas, de forma a comparar os resultados do sistema nestes tipos de amostras e na detecção deste íon. A escolha desse íon para o teste foi pensada, pois para esta amostra era possível utilizar também o eletrodo de Ag/AgCl como indicador. Desta forma, variações nos valores poderiam ser relacionadas ao tipo de matriz utilizada.

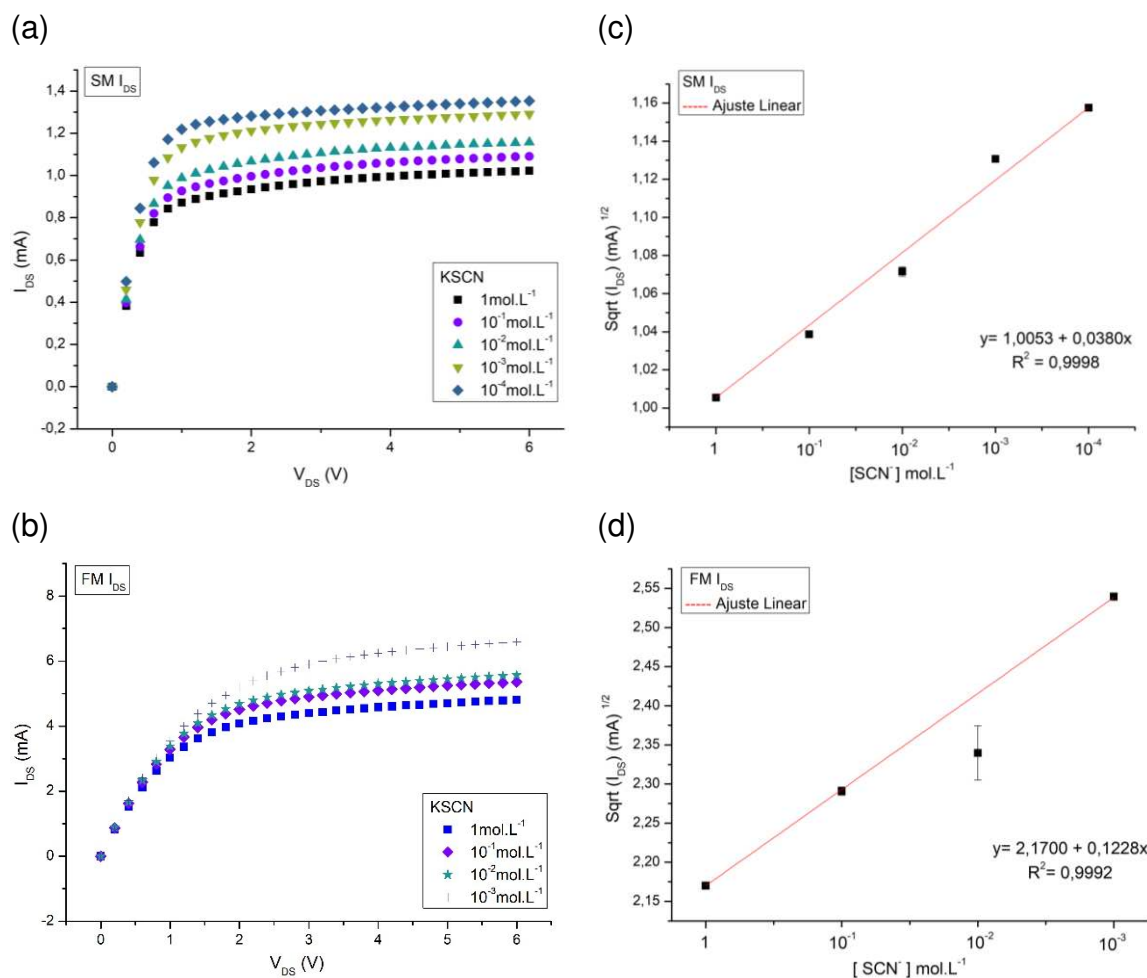


Figura 17: Curvas I_{DS} - V_{DS} para diferentes concentrações de solução de tiocianato em água. Curvas I_{DS} - V_{DS} para SM (a) e FM (b). Sensibilidade em corrente para tiocianato preparado em água no SM (c) e no FM (d).

Assim como na detecção de cloreto, para essa nova solução, existia uma relação linear entre as correntes I_{DS} para todas as concentrações da amostra. Nos testes de detecção de tiocianato, a sensibilidade em condição estática foi de 0,0380 (mA)^{1/2}/ mol. L⁻¹, enquanto que em condição dinâmica foi de 0,1228 (mA)^{1/2}/ mol. L⁻¹. As linearidades das medidas foram de 0,9998 e 0,9992, respectivamente, com um limite de detecção e de quantificação, respectivamente, de 1 mol. L⁻¹ a 10⁻⁴ mol. L⁻¹ para o ensaio estático e 1 mol. L⁻¹ a 10⁻³ mol. L⁻¹ para o em fluxo.

Foram também efetuadas curvas características de transferência (I_{DS} - V_{GS}) para investigar a resposta do EGFET ao SCN⁻.

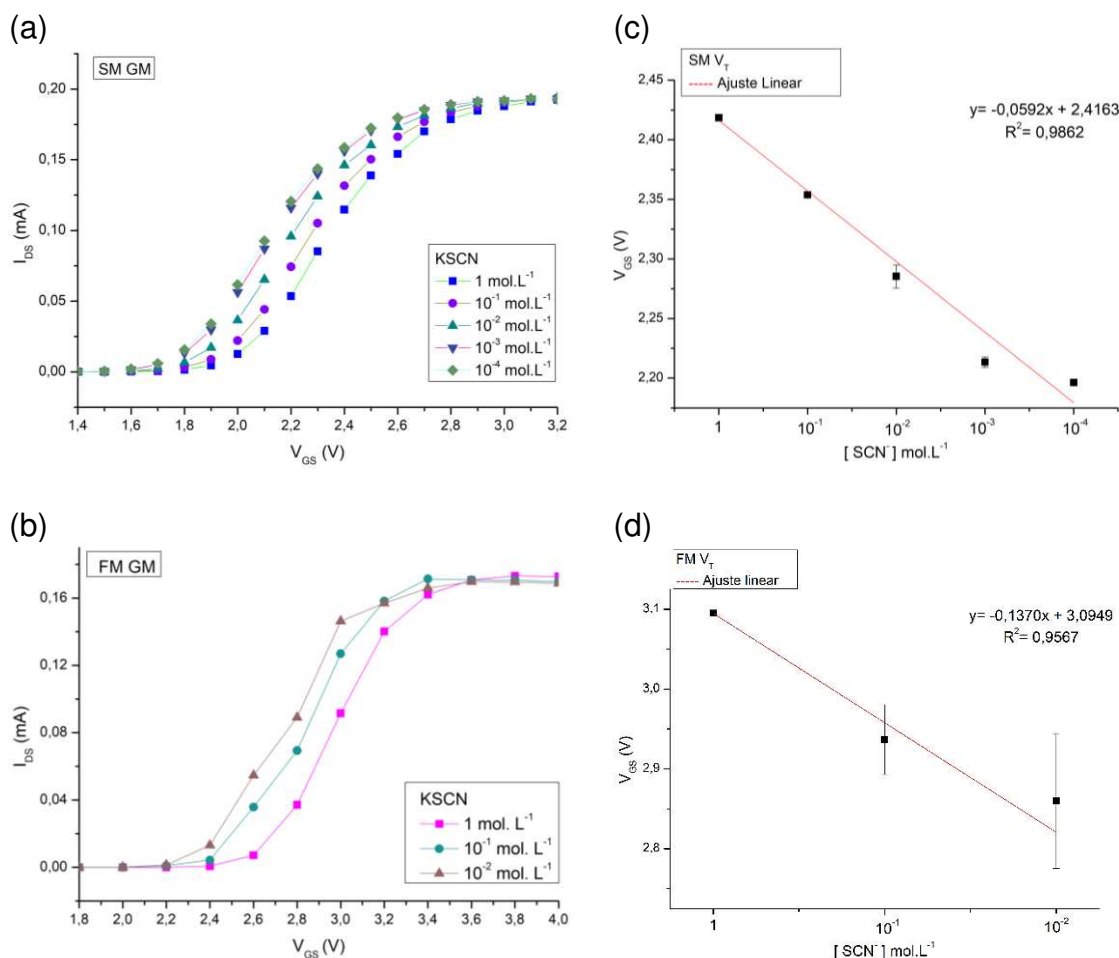


Figura 18: Curvas I_{DS} - V_{GS} para diferentes concentrações de tiocianato em água. Transcondutância do SM (a) e FM (b). Sensibilidade em corrente para amostras SM (c) e FM (d).

Tal como nos ensaios com cloreto, as curvas das figuras 18a e 18b descresem à medida que as concentrações aumentam. Como o íon tiocianato também tem carga negativa ocorre a mesma situação que com o cloreto.

Para o ensaio com estas amostras, obtivemos um limite de detecção e quantificação de, respectivamente, 10⁻⁴ mol. L⁻¹ a 1 mol. L⁻¹ para o ensaio estático, como mostra a Figura 18c e 10⁻² mol. L⁻¹ a 1 mol. L⁻¹ para o ensaio dinâmico, como mostra a Figura 18d. A sensibilidade da tensão foi de 59,24 mV dec⁻¹ para a medição estática e de 137,06 mV dec⁻¹ para a medição dinâmica, com uma linearidade de 0,9862 e 0,9567, respectivamente.

O teste I_{DS} - V_{GS} mostrou que, poderia existir também contribuições de outros fatores na perturbação do potencial de entrada que não apenas os relacionados com a alteração da concentração da solução. Por isso, foi importante efetuar ambos os modos de medição para eliminar possíveis problemas. A medida da corrente, no entanto, apresenta ser mais livre de erros causados por mau contato ôhmico e queima

de MOSFET, uma vez que os dados mostram falhas como estas mais claramente. Na medida de transcondutância, mesmo que o analisador de parâmetros esteja configurado para extrair diretamente o V_T , é muito importante traçar um gráfico com os valores de GM obtidos, observando se algum outro evento pode ter influenciado minimamente a resposta final do sensor nas medidas.

No teste com o KSCN preparado em outras matrizes, o comportamento da corrente I_{DS} e de V_T é mostrado na Tabela 4 abaixo.

Tabela 4. Sensibilidade em corrente e em voltagem de limiar para amostras de tiocianato em todas as matrizes testadas

Matriz e tipo de medida		Sensibilidade em corrente (mA) ^{1/2} /mol.L ⁻¹	Sensibilidade em voltagem (mV déc ⁻¹)	Linearidade (R ²)	Faixa de detecção (mol.L ⁻¹)
H ₂ O	SM	0,0380	59,24	0,9998 ¥ 0,9862	1-10 ⁻⁴
	FM	0,1228	137,06	0,9992 ¥ 0,9567	1-10 ⁻³ ¥ 1-10 ⁻²
Saliva	SM	0,1762	33,14	0,8281 ¥ 0,7522	1-10 ⁻² ¥ 1-10 ⁻⁴
	FM	0,0258	83,33	0,9125 ¥ 0,8604	1-10 ⁻³
Suor	SM	0,0355	33,03	0,8930 ¥ 0,9211	1-10 ⁻⁵ ¥ 1-10 ⁻³
	FM	0,0345	76,20	0,7532 ¥ 0,8527	1-10 ⁻⁵ ¥ 1-10 ⁻³
Urina	SM	0,0351	50,19	0,7042 ¥ 0,8759	1-10 ⁻³
	FM	0,0582	58,88	0,9454 ¥ 0,8481	1-10 ⁻³

¥ Linearidade e faixa de detecção para a sensibilidade em voltagem.

O resultado experimental provou que a sensibilidade à corrente I_{DS} foi superior para as amostras de água e saliva submetidas aos ensaios de fluxo e estático, respectivamente. Foi próximo dos valores para as amostras em suor. E em urina foi quase metade do valor na medida estática. A sensibilidade em tensão foi maior nas amostras em fluxo para todas as amostras testadas, embora a faixa linear de detecção tenha sido reduzida em duas ordens de grandeza em alguns casos.

Com estas medidas, identificamos que o sistema apresentava, na maioria dos casos, respostas na faixa nernstiana e supernstiana para valores no fluxo do que para os ensaios estáticos. Os valores de sensibilidade à corrente aqui obtidos são também muito superiores aos considerados na literatura como ruído, independente da matriz [157].

No teste com o sistema de injeção de alíquotas, o terminal de corpo do MOSFET foi aterrado para polarizá-lo em relação à porta do dispositivo. Havia um resistor em paralelo com o dreno porque estávamos medindo a variação da corrente nesse terminal conforme mudávamos a concentração das soluções. A ideia era que a resistência em paralelo com o terminal de dreno nos daria informações sobre a corrente de saída neste terminal. Uma vez obtida a corrente, dada a equação de Ohm, calculámos a tensão utilizando o software *Labview* com uma interface devidamente adaptada. A corrente que circula estava consequentemente ligada à indução de cargas na porta do MOSFET, razão pela qual pudemos fazer esta aproximação [146].

O circuito utilizado estava ligado a uma interface analógico-digital conectada a um programa de computador e assim foi possível detectar os incrementos, restringindo-os apenas àqueles com valores acima de 5 V, que era o limite de medida da interface analógico-digital. No caso da medida com alíquotas, cada concentração de cloreto na amostra foi responsável por um pulso de resposta no sistema *LabView*, uma vez que as alíquotas da solução eram injetadas a cada minuto. Concentrações maiores eram responsáveis por pulsos mais longos.

O procedimento realizado, utilizando o sistema descrito na Figura 7, foi semelhante ao da medida 2 descrita anteriormente na seção de metodologia. No entanto, a bomba de seringa injetou ininterruptamente a matriz em que foram preparadas as soluções, enquanto o modulador de fluxo injetou diferentes concentrações da solução de análise em determinados intervalos. A Figura 19, abaixo, aborda os resultados das medidas P_{in} realizadas nesse sistema.

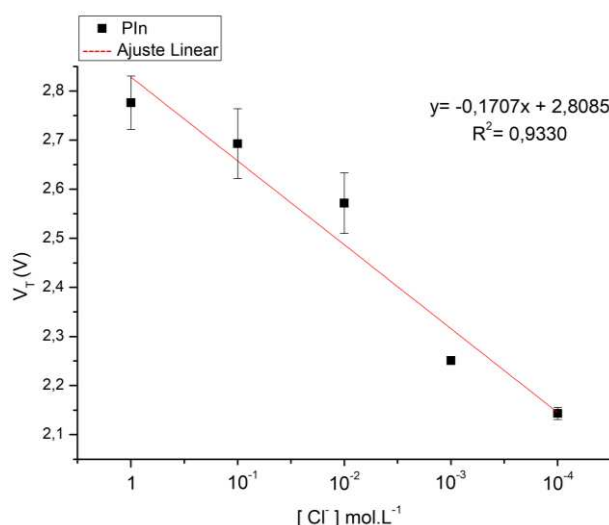


Figura 19: Sensibilidade em corrente para amostras de cloreto submetidas ao teste de fluxo de alíquotas.

Para estas medidas, a sensibilidade de tensão foi de 170,78 mV/dec em um limite de detecção e quantificação de 10^{-4} mol.L⁻¹ e 1 mol.L⁻¹, com uma linearidade de 0,9330 para as amostras em água. Para as amostras preparadas em NaNO₃ 0,5 mol.L⁻¹ e urina, obtivemos os dados da Tabela 5, abaixo.

Tabela 5. Resultado da medida no teste ininterrupto de cloreto para diferentes matrizes

Matriz	Sensibilidade em tensão (mV/déc)	Linearidade (R²)	Faixa de detecção (mol. L⁻¹)
H₂O	170,78	0,9330	1-10 ⁻⁴
NaNO₃	83,49	0,8720	1-10 ⁻³
Urina	105	0,9436	1-10 ⁻³

Os dados de sensibilidade em voltagem, obtidos com o sistema de injeção de alíquotas, não podem ser diretamente comparados com os valores dos sistemas anteriores para confirmar o sucesso das medidas, pois existem diferenças entre os resistores utilizados no analisador de parâmetros e na configuração de teste que elaboramos. No entanto, o sucesso do sistema pode ser visualizado pela boa linearidade de resposta, que está acima de R² 0,87 para todas as medidas. Em adição, a faixa linear descrita na Tabela 5 acima mostrou valores equivalentes para o mesmo solvente em ambas as configurações.

Tendo em conta que este sistema pode receber mais contribuições de ruído, fuga de potencial aplicado, etc., os valores obtidos com a utilização dele estão ainda em um intervalo muito aceitável podendo ser considerado funcional.

4.4 Teste com solução de creatinina sérica

Inicialmente, para fazer a membrana de reconhecimento de creatinina, definimos uma quantidade fixa de OMCP e variamos a proporção de pasta condutora em 1:40, 1:30, 1:20, 1:10 e 1:5. A Figura 20, a seguir, mostra o comportamento das membranas nas soluções do analito quando as concentrações variaram logaritmicamente (p[Creatinina]).

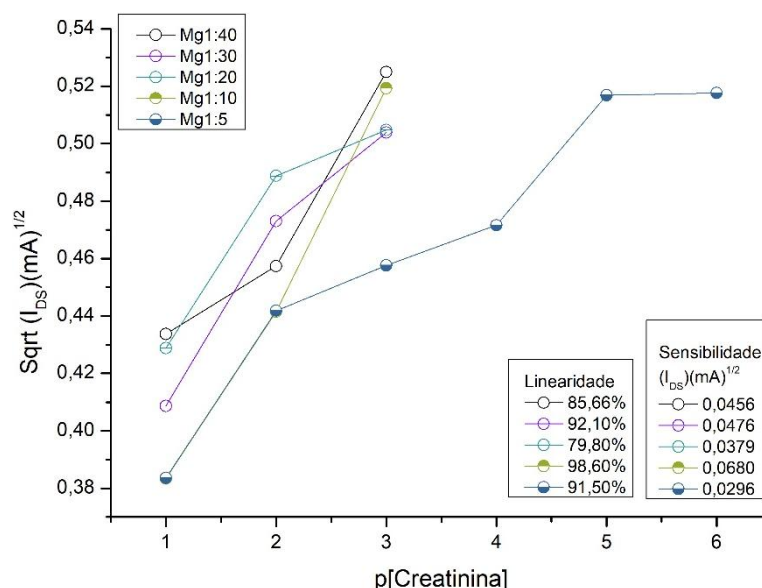


Figura 20: Gráfico dos sinais de I_{DS} para diferentes concentrações de creatinina quando a razão entre a pasta condutora à base de grafite e o OMCP foi variada. V_{GS} fixado em 3,5 V e V_{DS} 5 V. Medida efetuada para 4 mL de amostra. Valores de linearidade até 10^{-5} mol. L $^{-1}$ para Mg1:5 e 10^{-3} mol.L $^{-1}$ para as demais proporções.

Os grupos NH da estrutura do OMCP atraem os átomos de oxigênio da creatinina para a cavidade da molécula de reconhecimento. Os grupos de superfície carregados formam uma estrutura elétrica na interface membrana-solução. Uma mudança na concentração da solução altera o estado de equilíbrio na membrana, resultando em uma mudança nas propriedades elétricas e no potencial de superfície [38].

As proporções de 1:40 até 1:10 mostraram uma faixa linear até pelo menos uma concentração de 10^{-3} mol.L $^{-1}$ de creatinina. A mistura Mg.1:5 mostrou extensão significativa da resposta linear até 10^{-5} mol. L $^{-1}$ sendo a maior entre todas as proporções testadas. Nos testes após a concentração de 10^{-5} mol.L $^{-1}$, não houve variação significativa de corrente I_{DS} na resposta do sensor, como pode ser visualizado na Figura 20. A membrana com a menor quantidade de pasta condutora por quantidade fixa de OMCP tem mais pontos de interação (NH) com a espécie-alvo do que as outras proporções (1:40, 1:30, 1:20, 1:10), o que amplia a janela de detecção. Os resultados indicaram que a razão entre as espécies de reconhecimento e a pasta condutora à base de grafite influenciou a resposta analítica.

Com base nesses dados, decidimos observar o Espectro de Reflexão Total Atenuada no Infravermelho com Transformada de Fourier (ATR-FTIR) para todas as membranas. Também realizamos esse teste para a amostra apenas de pasta

condutora à base de grafite e apenas com o OMCP sintetizado. Os espectros são mostrados nas Figuras 21a e 21b, a seguir.

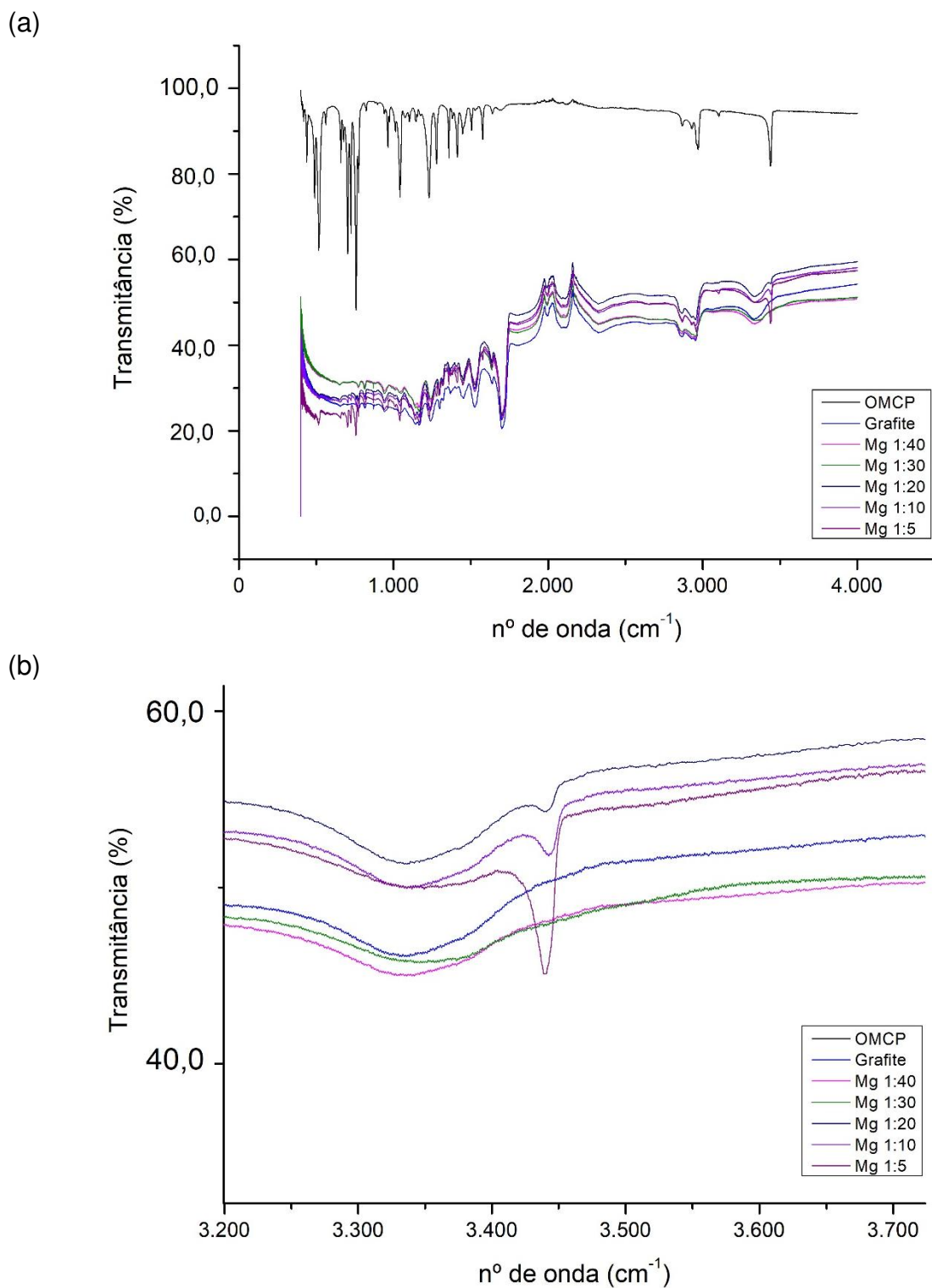


Figura 21: Espectros de infravermelho (ATR-FTIR). (a) Proporções de OMCP + pasta condutora a base de grafite. (b) Destaque para a região do estiramento de N-H do espectro.

Para a pasta condutora sem OMCP, o espectro da Figura 21 não mostra uma banda na região de $3440\text{--}3450\text{ cm}^{-1}$, que é característica do estiramento de N-H do OMCP. Isso também ocorre na proporção 1:40 e 1:30 em que não é possível observar bandas nesta região [161]. Em Mg.1:20, há uma pequena banda de N-H que aumenta drasticamente até Mg.1:5. Esta pode ser a causa da melhor resposta linear nas medidas.

Para obter imagens de alta resolução para a avaliação das características microestruturais da membrana, utilizamos a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) como técnica base.

A imagem MEV a seguir, Figura 22, mostra a superfície da membrana de detecção ao longo de sua fabricação, demonstrando as diferentes contribuições de cada componente para a morfologia final da membrana.

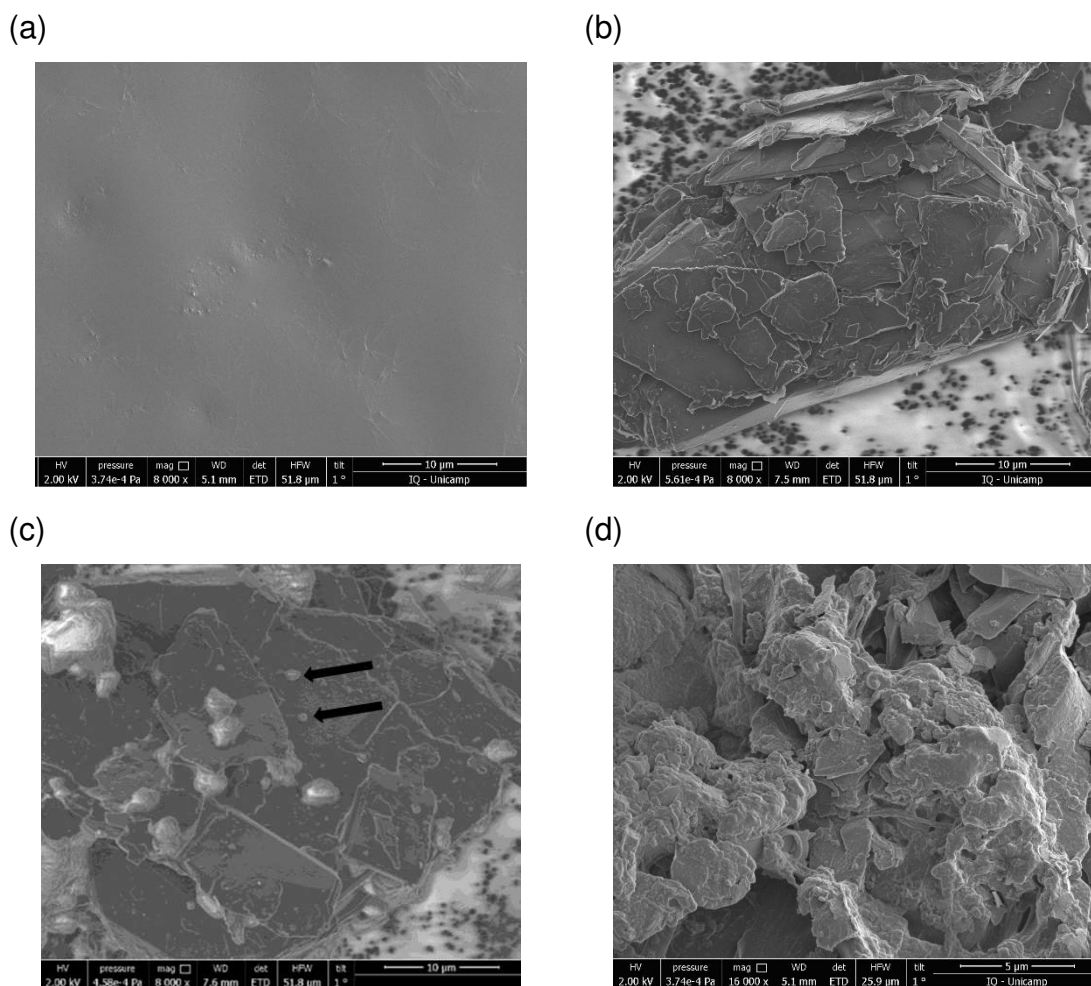


Figura 22: Imagens MEV da superfície dos materiais. (a) Resina Clear V4 acrylic. (b) Pasta condutora. (c) Pasta condutora com OMCP. (d) Membrana finalizada.

A resina fotocurável, na Figura 22a, exibiu uma superfície homogênea, lisa, sem irregularidades, com uma estrutura mais compacta, como é esperado para resinas utilizadas na confecção de objetos por impressão 3D. Quando unida com grafite em pó, Figura 22b, a estrutura começa a apresentar uma diferença estrutural com uma morfologia de flocos de grafite empilhados. A morfologia em flocos é esperada quando a proporção de grafite em uma mistura é alta. Na Figura 22c, a adição de OMCP mostrou coloração branca significativa, demonstrando que o esqueleto de grafite que permanece visível agora tem partículas da espécie de reconhecimento. A agregação entre as partes, no entanto, não parece ter sido distribuída uniformemente na superfície da membrana, com aglomerados em alguns pontos. Na Figura 22d, a resina com as partículas de OMCP e KTPB é curada cobrindo o esqueleto de grafite e os flocos de grafite tornam-se significativamente menores. A agregação entre todas as partes agora é mais visível e a membrana passa a apresentar uma superfície altamente irregular, com rachaduras e vazios [162-167].

O desnível da membrana mostra que os componentes estão bem misturados e que a cura da resina não fez com que a superfície tivesse características apenas de resina, como mostra a Figura 22a. No entanto, algumas áreas da membrana, que não são relatadas na Figura 22d, apresentam características mais lisas. Essas áreas lisas podem diminuir a sensibilidade da membrana.

Usando concentrações de creatinina dentro da faixa de 3 mmol.L^{-1} a 27 mmol.L^{-1} com variação entre 21% e 31% nesses valores, verificou-se como a corrente I_{DS} variou para as amostras em tampão pH 4, água e urina sintética utilizando a membrana mostrada na Figura 22d. A Figura 23 abaixo, é um compilado do comportamento obtido para os testes nas diferentes matrizes testadas.

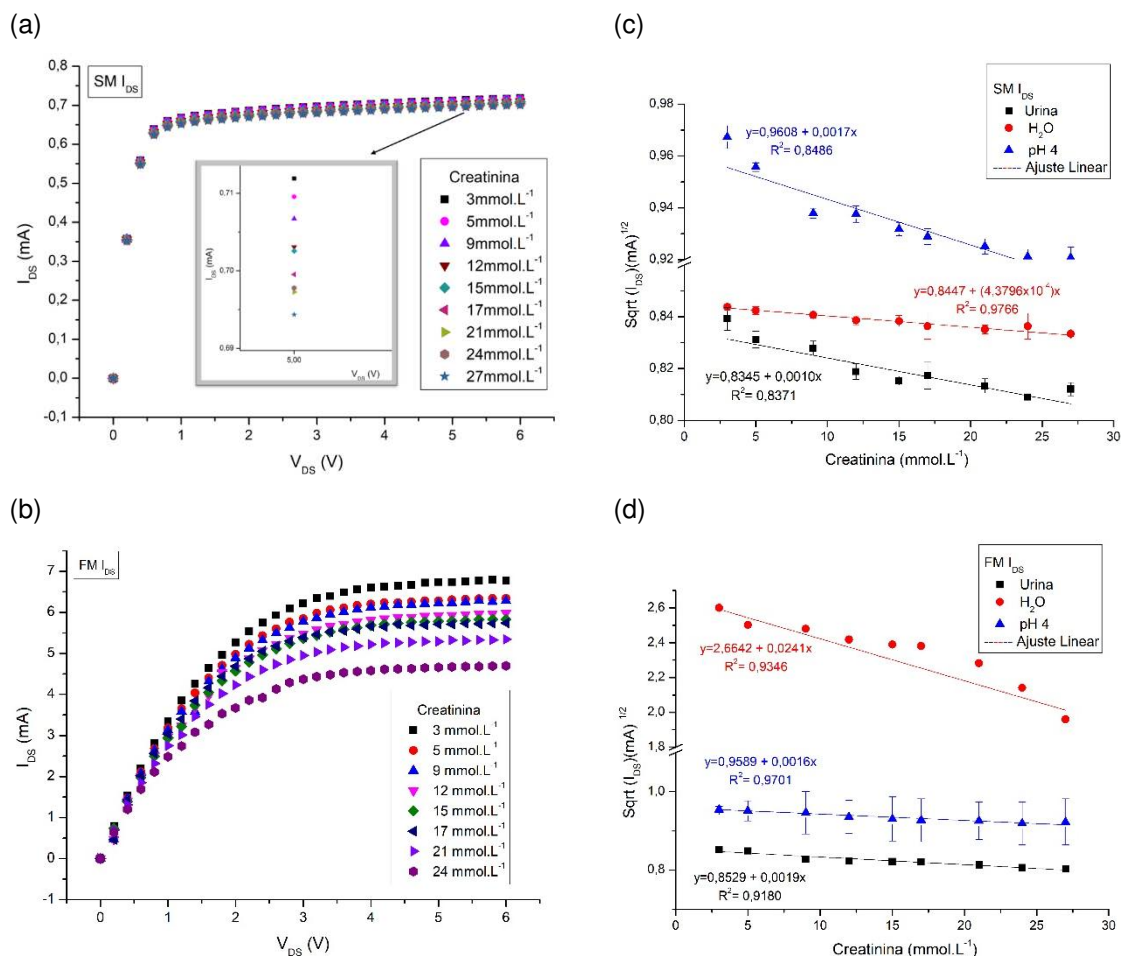


Figura 23: Curvas I_{DS} - V_{DS} . SM de creatinina em água (a) e FM de creatinina em água (b). Sensibilidade a corrente para SM (c) e Sensibilidade a corrente para FM para amostras em água, urina e tampão (d).

Para funcionar como EGFET, o OMCP deve se ligar a forma protonada ou neutra de creatinina nas soluções, o que leva à separação de carga através da interface da membrana, culminando em uma variação de corrente e voltagem [168,169].

Espécies de calix (4) pirróis, como OMCP, são bem conhecidas na química supramolecular e são usadas em vários tipos de sensores. Eles são capazes de reconhecer espécies com diferentes propriedades de carga e apresentam um grande número de hospedeiros para atuar como receptores supramoleculares. Modificações na estrutura do calix (4) pirrol, incluindo a funcionalização com novos grupos de reconhecimento, aumentam sua bioatividade e estabilidade e abrem um leque de possibilidade de uso dessa espécie [170-172]. Além disso, o OMCP possui uma cavidade bem definida que exhibe complementaridade de carga com a creatinina carregada positivamente. Sua cavidade endofuncional garante maior seletividade

para a espécie. Devido à natureza mais deslocada da carga positiva na molécula alvo, a sua interação com o OMCP ocorre por meio de forças de ligação de hidrogênio e os efeitos cooperativos das interações CH- π [38, 173].

A interação química que ocorre entre a creatinina em solução e o OMCP da membrana pode ser brevemente explicada pelo estabelecimento de ligações de hidrogênio entre o oxigênio da creatinina e os NH presentes na cavidade do OMCP, que podem atuar como um receptor heterotópico [38]. Uma vez aprisionada, a molécula causa uma variação no potencial de superfície do eletrodo de trabalho que é detectada pelo MOSFET, a variação de I_{DS} no dispositivo é proporcional a concentração de creatinina na amostra.

Na atração entre o OMCP e os prótons de oxigênio para a cavidade da molécula de reconhecimento, os grupos de superfície carregados formam uma estrutura elétrica na interface eletrodo-solução. Uma mudança na concentração altera o estado de equilíbrio na membrana, resultando em uma mudança nas propriedades elétricas e no potencial de superfície [173].

Nas medições estáticas, a sensibilidade da corrente para as medidas foi de $0,0004 \text{ mA}^{1/2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$ com uma linearidade de 0,9766 para soluções em água e $0,0010 \text{ mA}^{1/2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$ com 0,8371 de linearidade para soluções de urina. No tampão, a sensibilidade da corrente foi de $0,0017 \text{ mA}^{1/2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$ com uma linearidade de 0,8486. Nestas medições, o sensor conseguiu detectar a concentração mínima testada, que foi de 3 mmol L^{-1} conforme mostrado na Figura 23c e d. Para o sistema de fluxo, a sensibilidade da corrente foi de $0,0241 \text{ mA}^{1/2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$ com uma linearidade de 0,9346 para as soluções de água e de $0,0019 \text{ mA}^{1/2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$ com uma linearidade de 0,9180 para as soluções de urina sintética. Para o tampão de pH 4, o sensor atingiu $0,0016 \text{ mA}^{1/2} \text{ mmol}^{-1} \text{ L}$ com uma linearidade de 0,9701 e detecção mínima de 3 mmol L^{-1} em todos os casos.

Na Figura 23c, o comportamento dos valores de sensibilidade em corrente pode ser explicado pelo fato de na água (pH 7) ter mais estado neutro da molécula do que o cátion, fazendo com que a resposta seja menor nessa matriz do que no tampão (pH 4). Nas soluções de urina, a resposta diminui porque, neste caso, a molécula de creatinina não está sozinha na solução e pode ser influenciada por outras espécies presentes na matriz comercial que podem estar interagindo com a superfície de detecção [38, 173].

No teste no fluxo, Figura 23d, o comportamento da corrente varia, com a creatinina em água tendo a maior sensibilidade de todas as amostras. Isso não era esperado, pois no tampão de pH 4, devido à molécula estar em um ambiente ácido abaixo do seu pK_a (4,8,) deveria haver o estado mais protonado da creatinina e a distribuição das espécies seria responsável pela modulação da carga. O que pode ter ocorrido é um alargamento do canal fonte-dreno do MOSFET comercial para medições em água devido a vazão em que o líquido passava pelo detector, o que influenciou a resposta analítica. Além disso, pode ter acontecido saturações da membrana já no primeiro teste na matriz de água DI, o que pode ter alterado os valores das medidas subsequentes [168, 169, 171-173]. Como a membrana confeccionada não foi testada quanto a sua possibilidade de regeneração após cada teste, consideramos que a saturação irreversível do eletrodo indicador pode ter sido a causa principal das divergências nas medidas.

O LOD calculado com base no ajuste linear das medidas para todas as amostras no SM e no FM foi de 3 mmol L^{-1} para as medições I_{DS} . Os LOQs foram 27 mmol L^{-1} no SM para urina e para água, já na matriz de pH ele foi de 24 mmol L^{-1} . No FM todas as soluções atingiram um LOQ de 27 mmol L^{-1} .

Comparando as respostas, vemos que a maior linearidade ocorreu para a medição da corrente da solução em água no teste estático. Mas a maior sensibilidade ocorreu no teste de água do FM. Os valores de sensibilidade para a urina nos testes de fluxo foi praticamente o dobro do valor obtido no teste estático, enquanto para o teste de água a sensibilidade variou drasticamente quando as condições experimentais foram variadas. Esta variação pode ter sido causada pela possível saturação da membrana de reconhecimento ou pelo estrangulamento do canal fonte-dreno do MOSFET devido ao fluxo de solução em contato com a membrana.

Nos valores de sensibilidade à tensão, destacados a partir deste ponto, devemos considerar que eles foram muito menores aos determinados pela equação de Nernst, uma vez que, a variação das concentrações das amostras foram muito próximas.

A Figura 24 mostra o comportamento de detecção dado pela relação $I_{DS}-V_T$.

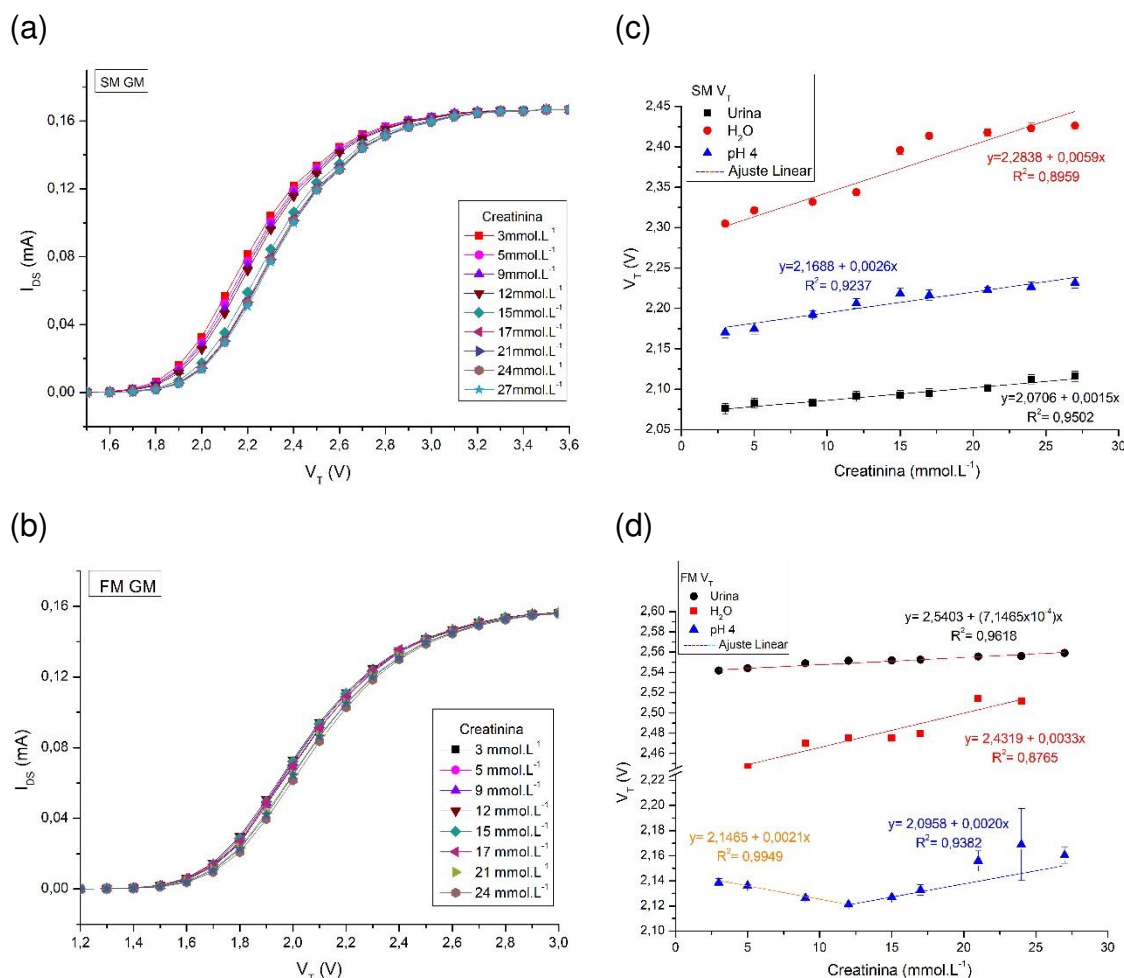


Figura 24: Curvas I_{DS} - V_{GS} . SM para creatinina em água (a) e FM para creatinina na urina (b). Sensibilidade em tensão para SM (c) e Sensibilidade em tensão para FM (d).

A sensibilidade da tensão no SM para estas medidas foi de 5,93 mV mmol⁻¹ L para as soluções em água com uma linearidade de 0,8959. Para as soluções em urina, foi de 1,55 mV mmol⁻¹ L com uma linearidade de 0,9502. Para soluções em tampão, foi de 2,60 mV mmol⁻¹ L com uma linearidade de 0,9237. A sensibilidade de tensão para as medidas de fluxo foi de 3,39 mV mmol⁻¹ L para soluções em água, com uma linearidade de 0,8765. Para soluções de urina, foi de 0,71 mV mmol⁻¹ L com uma linearidade de 0,9618. Em tampão, os valores foram de 2,09 mV mmol⁻¹ L com uma linearidade de 0,9382. No fluxo, apenas as amostras preparadas em urina foram capazes de cobrir linearmente toda a faixa de concentração do teste. Para as amostras de água, a sensibilidade no fluxo cobriu apenas concentrações de 5 a 24 mmol L⁻¹ e para o tampão este valor foi de 12 a 27 mmol L⁻¹. No tampão, foi possível verificar o fenômeno de inversão, quando a superfície inverte o tipo de carga que modula o carregamento do sinal de entrada do MOSFET [49].

Com base no ajuste linear para as amostras, o LOD para as medidas no SM foi de 3 mmol L⁻¹ em todos os testes, independente das matrizes. No FM apenas a amostra em urina permaneceu com o mesmo valor de LOD. A amostra em água apresentou um LOD de 5 mmol L⁻¹ e a amostra em tampão teve LOD de 12 mmol L⁻¹. Os LOQs foram de 27 mmol L⁻¹ em todas as medidas do SM. No FM as amostras em urina e em pH 4 tiveram LOQ de 27 mmol L⁻¹, enquanto que a água teve um LOQ de 24 mmol L⁻¹.

Nas medidas SM e FM, a sensibilidade a tensão foi mais elevada para as amostras preparadas em água. Para estas amostras, a variação no tipo de teste (SM ou FM) levou a uma redução na sensibilidade de cerca de 50 %. Para a amostra de urina esse valor é ainda maior. Apenas os testes realizados em pH 4 conseguiram manter os valores de sensibilidade em tensão em uma mesma faixa, independente do tipo de teste. Isso, pode ser, um indicativo de que a matriz em que as soluções foram preparadas pode ser a causa na divergência nos dados e não a variação dos sistemas de medidas. Como inicialmente pensávamos. Isso porque, no tampão a solução está em um ambiente mais estável a sua forma protonada. Na água e na urina, devido ao aumento do comportamento alcalino do meio pode haver a possibilidade de interação da creatinina entre si e também com outras espécies presentes nas amostras, como é o caso do analito em urina.

Outra possível razão, para a divergência no valor de medida em condição estática e em fluxo poderia está relacionado a espessura real da membrana utilizada no teste estático, mas isso não foi avaliado por nenhum método experimental. No entanto, a sensibilidade à tensão para o tampão foi equivalente para os ensaios estáticos e dinâmicos, o que já afasta a possibilidade de variação no resultado dada a divergência na espessura da membrana.

Uma tabela comparativa dos valores de sensibilidade e de outros parâmetros pode ser consultada abaixo, na Tabela 6, em que é possível comparar os dados com outros estudos de detecção de creatinina.

Tabela 6: Dados publicados relativos à detecção de creatinina

Nº	Método/Material	LOD ($\mu\text{mol L}^{-1}$)		Matriz	Faixa de detecção ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	Ref.
1	Potenciometria / PVC-o-NPOE-OMCP	0,95		Urina humana	1,0 – 10000	173
2	Colorimetria/ PDMS-PMMA-Urease	(teste em fluxo) 0,8842		Sangue humano	3,5368 – 707,36	174
3	SSNE1 / PET-PEI-CD-PEI	(teste em fluxo) 0,005		Urina humana	0,05-100	175
4	Colorimetria / AuNPs+APT	870		Urina sintética	2000-20000	176
5	Voltametria / CuNWs-SPE	10		Tampão	50 – 500	177
6	SERS / Ag NCs-C-CNF	0,5-5		Urina humana	0,5-5	178
7	Colorimetria / EDTA-AuNPs	125		Urina sintética	2500 - 10000	179
8	Voltametria / ePADs	5		Sangue e urina	30 – 45000	180
9	Colorimetria / Ag NPs	0,00690		Saliva artificial	0,01–0,06	181
10	Fluorescência / PSS-CuNCs	0,00248		Água	2,0-24,0	182
11	Colorimetria / AuNPs	0,084		Urina sintética	1–50	183
12	Voltametria/ GCE- SPCE	6,6		Urina sintética	50 – 650	184
13	Colorimetria / C-AuNPs	26,5		Urina sintética	26,5–70,7	185
14	Colorimetria / GNPs@N-CDs	0,1768		Urina humana	0,0009 – 0,09	186
15	Colorimetria / UiO-66 estrutura metal-orgânica	17,684		Água	----	187
16	Fluorescência / UE^{3+} :PQDs SrV	0,016		Urina humana	0,5–100	188
17	Eletroquimiluminescência / N-CQDs	0,0087		Urina humana	0,01 - 10	189
18	Colorimetria / μ PADs	(teste em fluxo) 5428,988		Urina sintética	442,1 – 44210	190
19	Voltametria / ITO	28		Sangue humano	50 – 2000	191
20	Potenciometria / Res-OMCP-KTPB-Grafite	Estático	Fluxo	Água	3000 - 24000	Este trabalho
		3000	5000			
		3000	3000	Urina sintética		
		3000	9000	Tampão		

Na tabela 6, acima, é possível comparar os dados de limite de detecção entre diferentes pesquisas que fizeram uso de diferentes métodos de detecção. Poderíamos fazer uma comparação direta entre os nossos resultados e os dados dos testes potenciométricos abordados na linha 1 da Tabela 6, já que corresponde ao trabalho relatado na literatura que mais se aproxima da nossa proposta. Neste caso, os autores tiveram um resultado bem melhor que os obtidos no nosso estudo. Acreditamos, no

entanto, que essa divergência pode ser devido ao *setup* potenciométrico convencional utilizado pelos autores. Além disso, a variação de concentração por eles testadas não teve o mesmo valor de variação de concentração, sendo a nossa faixa bem inferior.

Ainda sobre a Tabela 6, é inviável comparar diretamente os dados com os de pesquisa que utilizaram sangue como matriz biológica, já que a concentração neste fluido é consideravelmente menor do que a faixa aceitável para a urina. No entanto, comparando nossos dados diretamente com a pesquisa número 18, percebemos que os nossos resultados de LOD, independentemente do tipo de teste, foram melhores do que os obtidos pelos autores, o mesmo ocorre para os valores de LOQ.

Os dados de estabilidade do sensor mostraram variações de resposta ao longo do tempo, sendo mais significativa nas medições em urina (39,8% para V_T e 31,0% para I_{DS}) em comparação com água (28,2% para V_T e 5,4% para I_{DS}). Esses resultados sugerem que a composição da matriz da amostra influencia diretamente a estabilidade da detecção. Isso pode estar relacionado à presença de íons e compostos interferentes na urina, demandando possíveis estratégias de mitigação, como a modificação da membrana sensora ou ajustes no protocolo de armazenamento. Do sétimo aos setenta e cinco dias, o sensor foi armazenado a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$, sem uso e, nessas condições, mostrou uma variação nas respostas de apenas 3,3 %. Estes dados indicaram que as maiores perdas nas respostas do sensor estavam relacionadas ao seu uso nas medições.

As taxas de desvio para o sensor usado nas medições de fluxo foram de 85,8 % para água, 43,7 % para urina e 49,8 % para tampão no I_{DS} e 39,7 %, 92,2 % e 69,1 % nas respostas V_T , respectivamente, entre o primeiro e o terceiro dia de análise. Devido às altas taxas de variação mesmo com o armazenamento em baixas temperaturas, a configuração de medição de fluxo foi utilizada apenas nos testes do primeiro e terceiro dia e foi descartada para as demais medições nos dias subsequentes.

Quanto à histerese, esta foi testada apenas para o dispositivo de medição estática mostrando variação de 8,6 % nas soluções aquosas, 1,1 % para os testes de urina e 3,2 % para a solução tampão de pH 4. A Figura 25, abaixo, mostra o comportamento da histerese nas diferentes matrizes.

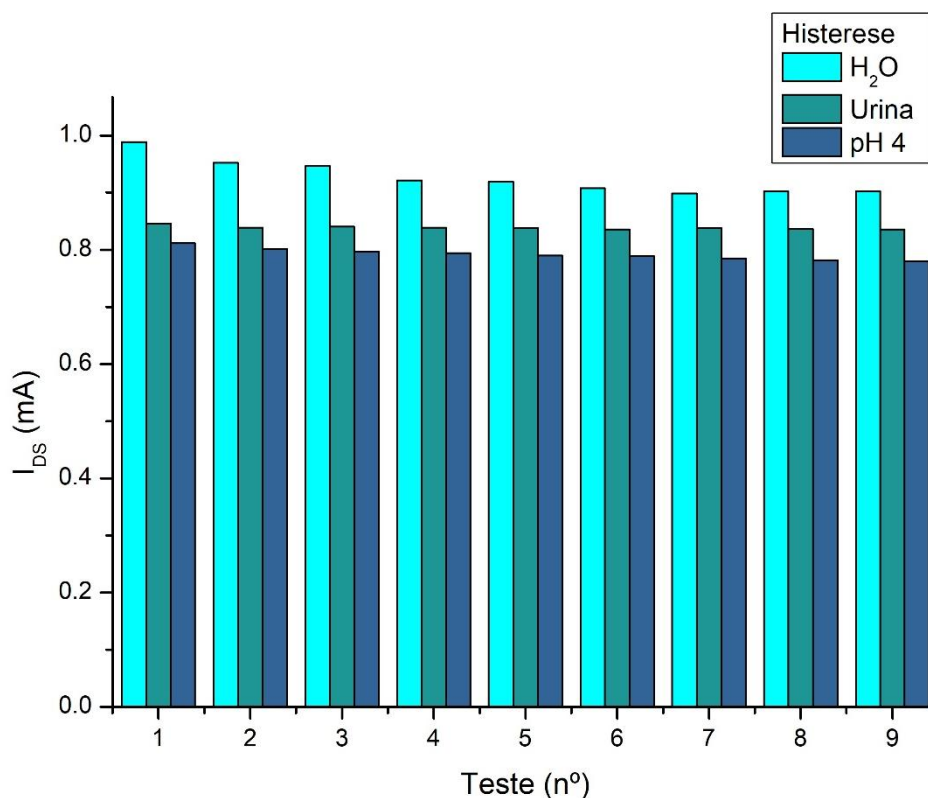


Figura 25: Histerese para amostras em água, urina e tampão pH 4.

Como pode ser visualizado na Figura 25, acima, a histerese para as concentrações mais altas foi menor do que nos intervalos para concentrações abaixo de 15 mmol.L^{-1} (até o teste nº5). Isso se deve a estabilidade das medidas para valores acima do escolhido (15 mmol.L^{-1}) como $V_{x(1)}$ [38, 173].

A seletividade do sensor foi testada com concentrações de ureia, $[\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}]$, uma vez que é uma das espécies predominantes na urina humana. De acordo com a literatura, a urina pode conter de 28 mmol.L^{-1} a 79 mmol.L^{-1} de ureia, portanto, foram utilizados seis pontos entre esses valores iniciais e finais. No teste, a Figura 26 abaixo mostra o comportamento de corrente e da voltagem de limiar da membrana em relação as diferentes concentrações de ureia.

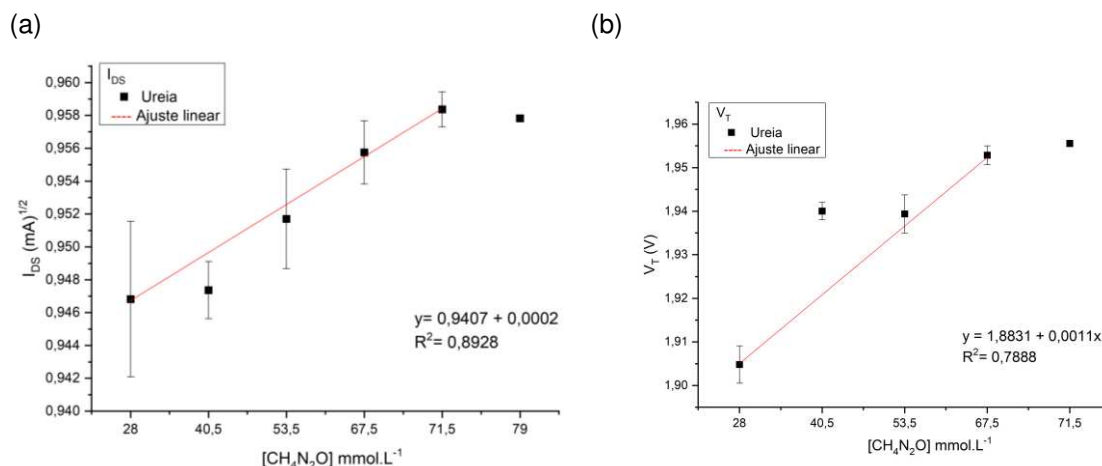


Figura 26: Seletividade de SM para solução de ureia (CH₄N₂O) na água. (a) Sensibilidade à corrente. (b) Sensibilidade à tensão.

A membrana também respondeu à presença de ureia, porém com um comportamento distinto em relação à creatinina. Enquanto a resposta da corrente aumentou com a concentração de ureia, a resposta à creatinina seguiu um comportamento oposto. Além disso, o valor de sensibilidade em corrente para a ureia foi de 0,0002 mA^{1/2} mmol⁻¹ L, um número de sensibilidade extremamente inferior a qualquer valor obtido neste parâmetro para as amostras de creatinina nos dois diferentes testes realizados. A sensibilidade em tensão, no entanto, foi de 1,1 mV mmol⁻¹ L. Esse valor de sensibilidade em tensão foi próximo ao obtido para a detecção de creatinina em urina no teste estático. Isso demonstrou que a seletividade da membrana ainda não era ideal para a detecção exclusiva de creatinina, o que pode ser aprimorado por modificações na química da superfície sensora.

Em testes com interferentes que respondem na mesma janela de variação de corrente e potencial, um eletrodo adicional com seletividade para a espécie coexistindo com a creatinina pode ser uma ferramenta interessante.

Os resultados do teste de Eletroforese Capilar usando o detector C⁴D para as amostras de creatinina preparadas em água, urina e tampão são discutidos na seção seguinte.

4.5 Teste usando Eletroforese Capilar com C⁴D

Os resultados provenientes do teste em Eletroforese Capilar utilizando o detector C⁴D para amostras de creatinina preparadas em água, urina e tampão podem ser verificados na Figura 27, abaixo.

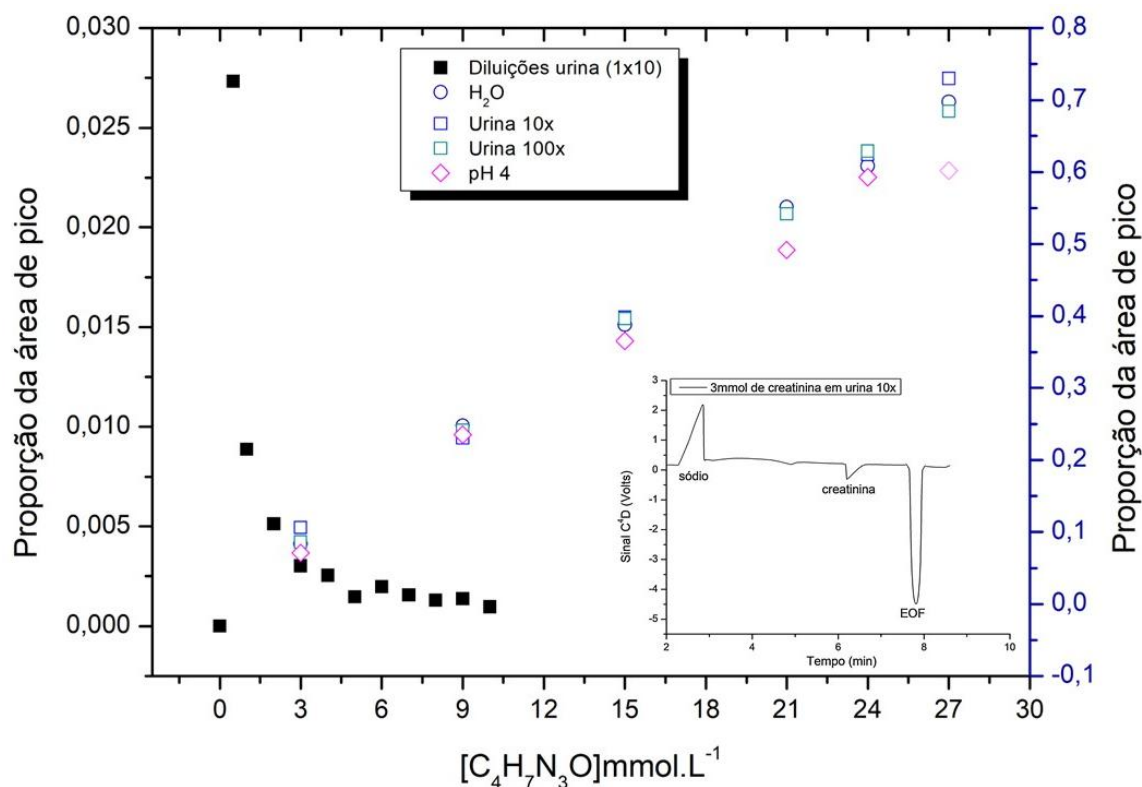


Figura 27: Gráfico da integração das áreas de pico de creatinina para urina sintética diluída 5 a 100 vezes e concentrações 3, 9, 15, 21, 24 e 27 mmol.L⁻¹ de creatinina em água, tampão pH 4, urina sintética 10x e 100x diluída utilizadas como matrizes. O eletroferograma da amostra de creatinina sérica preparada em urina diluída 10x com concentração de 3 mmol.L⁻¹ é indicado ao lado inferior direito, com o primeiro pico sendo de sódio, o segundo de creatinina e o maior deles o do fluxo eletrosmótico.

Como verificado, na Figura 27, a urina sintética poderia ser utilizada nas amostras testadas no sensor sem a necessidade de diluição já que, no testes acima, já na quinta diluição ela apresentou área de pico três vezes menor que a menor concentração (3 mmol.L⁻¹) testada para todas as matrizes utilizadas nesta pesquisa.

Isso pode ser reafirmado pelo comportamento das linhas de concentrações das soluções nas matrizes. A qual apresentam comportamento apenas das concentrações de creatinina adicionadas as matrizes de água, urina e tampão. Matematicamente, comparando os *slopes* das medidas, percebemos que esses valores eram realmente equivalentes. Ainda assim, de maneira a diminuir a influência da concentração de outras espécies presentes na urina, tais como a presença de sódio, nós decidimos por

utilizar urina dez vezes diluídas nos testes com os nossos sensores. Como mencionamos nas seções anteriores.

Para os testes utilizando a eletroforese capilar, calculando o LOD ($\text{LOD} = 3 \times \text{Erro padrão de } y - \text{interceptação/inclinação}$) e LOQ ($\text{LOQ} = 10 \times \text{Erro padrão de } y - \text{interceptação/inclinação}$) a partir do sinal-ruído triplo tivemos que o LOD da medição em água, urina e tampão foram de $1,13 \text{ mmol.L}^{-1}$, $0,89 \text{ mmol.L}^{-1}$ e $1,8 \text{ mmol.L}^{-1}$. Os LOQs foram de $3,76 \text{ mmol.L}^{-1}$, $2,96 \text{ mmol.L}^{-1}$ e $6,0 \text{ mmol.L}^{-1}$, respectivamente.

Os LODs e LOQs obtidos na eletroforese capilar foram inferiores aos do sensor desenvolvido, o que indica que a técnica convencional ainda é mais sensível para a detecção de creatinina em níveis muito baixos. Entretanto, o sensor apresenta vantagens em relação à praticidade, baixo custo e possibilidade de integração em dispositivos portáteis *point-of-care*. Para torná-lo competitivo em termos de sensibilidade, futuras otimizações na composição da membrana e no sistema de leitura eletrônica devem ser exploradas.

CAPÍTULO 5: CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Nesta pesquisa, buscamos desenvolver um dispositivo que pudesse medir a variação de creatinina em água, urina e tampão a partir de medidas estáticas e dinâmicas e investigamos o comportamento de um transistor de efeito de campo com porta estendida na detecção deste analito a partir das respostas de variações na corrente I_{DS} e na voltagem de porta de um MOSFET comercial.

Inicialmente, fizemos diferentes testes de configurações dos sistemas de medida. Isso incluiu caracterizações elétricas e em solução de complexo de ferricianeto e ferrocianeto de potássio. A partir disso, conseguimos entender as regiões de funcionamento do MOSFET comercial adquirido e conseguimos encontrar uma melhor área de teste para as medidas subsequentes. Esta área foi em um V_{GS} de 3,5 V e V_{DS} de 5V. Observamos se poderíamos padronizar essa área, a partir, de testes em solução de cloreto de potássio e tiocianato.

Como resultados desses primeiros experimentos, entendemos que era possível padronizar a área de teste e em nossas medidas subsequentes e fixamos os valores de voltagem aplicados aos terminais de dreno, fonte e porta do MOSFET comercial utilizado em nossa pesquisa.

Nos testes em cloreto, os resultados experimentais provaram que a sensibilidade à corrente I_{DS} do sensor para amostras em água eram praticamente equivalentes em condições estáticas e em fluxo. Para NaNO_3 o valor da corrente no fluxo era 27% inferior a obtida na medida estática. Na matriz de urina, os valores de sensibilidade em corrente no fluxo eram bastante diferentes sendo a medida em fluxo quase sete vezes o valor da corrente da medida estática. A faixa de concentração de cloreto considerada no conjunto de dados do fluxo também foram duas ordens de grandeza maior. A sensibilidade em tensão deste analito mostrou que para as amostras em água e urina diluída a sensibilidade em voltagem era aproximadamente 10mV dec^{-1} superiores entre as diferentes configurações de teste. Enquanto que, para a matriz de NaNO_3 e urina a sensibilidade era metade do valor nas condições dinâmicas quando comparados com as estáticas.

No teste com solução de tiocianato, o resultado experimental provou que a sensibilidade à corrente I_{DS} foi superior para as amostras de água e saliva submetidas aos ensaios de fluxo e estático, respectivamente. Foi próximo dos valores para as

amostras em suor. E em urina foi quase metade do valor na medida estática. A sensibilidade em tensão foi maior nas amostras em fluxo para todas as amostras de tiocianato testadas, embora a faixa linear de detecção tenha sido reduzida em duas ordens de grandeza em alguns casos.

O teste com o sistema de injeção de alíquotas, mostrou também bons resultados, considerando sua boa linearidade, mesmo ele sendo mais propício a receber maiores contribuições de ruído, fuga de potencial aplicado, etc.. Teste futuros, com modificação da fonte de alimentação por sistema de bateria foi pensado como perspectiva futura.

Com estes primeiros testes, conseguimos entender melhor os sistemas e adaptá-los conforme necessário. Identificamos que os sistemas apresentavam, na maioria dos casos, respostas na faixa nernstiana e supernstiana para valores no fluxo do que para os ensaios estáticos.

Para o teste com creatinina, elaboramos uma membrana fotocurável disposta na superfície de fios de cobre, o qual compunha a extensão da porta do nosso EGFET. O sensor usado nas medidas estáticas de creatinina apresentou resposta acima de 70% até pelo menos 90 dias após sua fabricação, mesmo tendo sido usado em três medidas diferentes durante a primeira semana. Esta resposta é ainda maior quando consideramos armazenar do dispositivo a baixas temperaturas.

Embora o sensor em fluxo tenha apresentado boa resposta inicial, observou-se uma queda significativa na sensibilidade após três dias de uso, comprometendo sua reprodutibilidade. Esse comportamento pode estar associado à degradação da membrana de reconhecimento, acúmulo de biofilme no eletrodo ou alterações físico-químicas no material da superfície sensora. Testes adicionais com diferentes materiais de membrana, revestimentos protetores ou ajustes no design do microchip para minimizar esses efeitos são recomendados para aumentar a estabilidade do sensor em aplicações contínuas.

Como forma de mitigar a rápida perda de resposta da membrana do canal de fluxo, propomos armazenar o chip em uma temperatura menor do que a testada (-18°C), pois a variação neste parâmetro provou ser uma possibilidade para a melhor resposta analítica. Otimizações na configuração de medida para uso futuro também podem levar a melhores valores de LOD para as medições estáticas.

Uma das limitações do uso do sistema de teste de fluxo desenvolvido em nosso estudo é a necessidade de um volume de amostra de pelo menos 2 mL para preencher toda a estrutura de fluxo e o tempo de execução do teste.

Embora o sensor apresente um bom comportamento nas medidas para os primeiros dias de uso, ainda consideramos o valor de LOD obtido alto, o que restringe o uso do sensor para algumas concentrações mínimas de creatinina que estão dentro da faixa esperada de medida do analito. Otimizações na configuração de medição para uso futuro também podem acarretar em melhores valores de LOD.

A comparação com a técnica de eletroforese capilar revelou que, embora o sensor apresente um limite de detecção superior ao método convencional, sua viabilidade para aplicações *point-of-care* é reforçada pela possibilidade de miniaturização e portabilidade. Essa característica o torna uma alternativa promissora para ambientes clínicos, apesar da necessidade de otimizações futuras.

No geral, o uso de EGFETs para detecção de creatinina provou ser uma ferramenta versátil, simples e barata que pode ser adaptada a um sensor portátil. No presente estudo, também apresentamos uma nova maneira de fabricar a membrana para reconhecimento desse analito usando propriedades UV, o que torna etapas como a imobilização das espécies de reconhecimento na superfície de transdução rapidamente alcançáveis.

Este estudo avança o estado da arte ao configurar uma nova forma de desenvolver e compor uma membrana seletiva à creatinina sérica. A fabricação da membrana também pode ser facilitada pelo uso de uma impressora 3D multimaterial, uma vez que a membrana é desenvolvida usando de um processo UV, o que também facilita a fabricação do chip microfluídico e da membrana seletiva em um único processo.

Os sensores EGFET poderiam ser melhor discutidos quanto ao uso de sua função de amplificador de sinal de entrada para a determinação de moléculas como a que usamos em nosso estudo. Nosso sensor também avança na avaliação da concentração de creatinina sem a necessidade de análise adicional de outros marcadores, como a ureia, que coexistem em soluções reais como a urina. A interferência da concentração desse sal inorgânico apresentou variação na janela de detecção mesmo com o uso de um potencial de trabalho positivo. Isso é extremamente importante, pois a identificação direta da concentração de creatinina em fluidos

biológicos representa uma nova necessidade de pesquisa. São avanços que podem auxiliar no desenvolvimento de testes em amostras biológicas reais.

REFERÊNCIAS

- [1] Pereira, H., Santana, H. & Silva, J. Continuous synthesis of 4-(2-fluoro-4-nitrophenyl)morpholine in microreactors: Optimization of process conditions and scale-up to millidevices. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*. **161**, 108316, (2021).
- [2] Santana, H. S., Silva, J. L. J., Silva, A. G. P., Rodrigues, A. C., Amaral, R. d. L. Noriler, D. & Taranto, O. P. Development of a new micromixer “elis” for fluid mixing and organic reactions in millidevices. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. **60**, 25, 9216–9230, (2021).
- [3] Santana, H. S., Rodrigues, A. C., Lopes, M. G., Russo, F. N., Silva, J. L. & Taranto, O. P. 3d printed millireactors for process intensification,” *Chinese Journal of Chemical Engineering*. **28**, 1, 180–190, (2020).
- [4] Burklund, A., Tadimety, A., Nie, Y., Hao, N., & Zhang, J. X.. Chapter one - advances in diagnostic microfluidics,” ser. *Advances in Clinical Chemistry*, G. S. Makowski, Ed. Elsevier. **95**, 1–72, (2020).
- [5] Tarn, M. & Pamme, N. *Microfluidics in Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier, (2013).
- [6] Santana, H. S., Haddad, V. A., Calvo, P. V. C., Palma, M. S. A., Silva, A. G. P., Noriler, D., Taranto, O. P., & Silva, J. L.. Design, optimization and scale-up of a new micromixer design based on plate column for organic synthesis. *Chemical Engineering Journal*, **446**, 137159, (2022).
- [7] Mashouf, H., Talebjedi, B., Tasnim, N., Tan, M., Alousi, S., Pakpour, S., & Hoorfar, M. Development of a disposable and easy-to-fabricate microfluidic pcr device for dna amplification. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*. **189**, 109394, (2023).
- [8] Bressan, L. P., Adamo, C. B., Quero, R. F., Jesus, D. P. & Silva, J. A. F. A simple procedure to produce fdm-based 3d-printed microfluidic devices with an integrated pmma optical window. *Anal. Methods*, **11**, 1014–1020, (2019).
- [9] Costa, B. M. Development of microfluidic devices with integrated electrochemical detectors using 3d printing technology. Tese de Doutorado, Instituto de Química – Universidade Estadual de Campinas, (2022).
- [10] Quero, R. F., Domingos da Silveira, G., Silva, J. A. F. & Jesus, D. P. Understanding and improving fdm 3d printing to fabricate high-resolution and optically transparent microfluidic devices. *Lab Chip*, **21**, 3715–3729, (2021).
- [11] Cardoso, R. M. Development, fabrication and application of electrochemical devices using 3d-printing. Tese de Doutorado, Instituto de Química – Universidade Federal de Uberlândia. (2020).

- [12] Duarte, L. C. Impressão 3d: uma alternativa para fabricação de dispositivos analíticos miniaturizados. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química – Universidade Federal de Goiânia (2016).
- [13] Costa, B. M. C., Coelho, A. G., Beauchamp, M. J., Nielsen, J. B., Nordin, G. P., Woolley, A. T. & Silva, J. A. F. 3d-printed microchip electrophoresis device containing spiral electrodes for integrated capacitively coupled contactless conductivity detection. *Anal Bioanal Chem*, **414**, 545–550, (2022).
- [14] Santana, H. S., Palma, M. S. A., Lopes, M. G. M., Souza, J., Lima, G. A. S., Taranto, O. P. & Silva, J. L. J. Microfluidic devices and 3d printing for synthesis and screening of drugs and tissue engineering. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, **59**, 9, 3794–3810, (2020).
- [15] Skoog, D., West, D., Holler, J. & Crouch, S. Fundamentos de Química Analítica. Cengage Learning, (2014).
- [16] Swaminathan, R., Devi, M. C., Rajendran, L. & Venugopal, K. Sensitivity and resistance of amperometric biosensors in substrate inhibition processes. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **895**, 115527, (2021).
- [17] Ballantine, D., Martin, S., Ricco, A., Frye, G., Wohltjen, H., White, R. & Zellers, E. Chapter 5 - chemical and biological sensors in Acoustic Wave Sensors, ser. Applications of Modern Acoustics. Burlington: Academic Press, 222–330 (1997).
- [18] Han, J., Cui, D., Li, Y., Zhang, H., Huang, Y., Zheng, Z., Zhu, Y. & Li, X. A gastroesophageal tract pH sensor based on the H^+ -ISFET and the monitoring system for 24 h,” *Sensors and Actuators B: Chemical*, **66**, 1, 203–204, (2000).
- [19] Manjakkal, L., Szwagierczak, D. & Dahiya, R. Metal oxides based electrochemical pH sensors: Current progress and future perspectives. *Progress in Materials Science*, **109**, 100635, (2020).
- [20] Mello, H. J. N. P. D., Bueno, P. R. & Mulato, M. Comparing glucose and urea enzymatic electrochemical and optical biosensors based on polyaniline thin films. *Anal. Methods*, **12**, 4199–4210, (2020).
- [21] Chiang, J.-L., Shang, Y.-G., B. K. Yadlapalli, F.-P. Yu, and D.-S. Wu, “Ga₂O₃ nanorod-based extended-gate field-effect transistors for pH sensing,” *Materials Science and Engineering: B*, **276**, 115542, (2022).
- [22] Pundir, C., Kumar, P. & Jaiwal, R. Biosensing methods for determination of creatinine: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, **126**, 707–724, (2019).
- [23] Dong, Y., Luo, X., Liu, Y., Yan, C., Li, H., Lv, J., Yang, L. & Cui, Y. A disposable printed amperometric biosensor for clinical evaluation of creatinine in renal function detection. *Talanta*, **248**, 123592, (2022).

- [24] Humphries, T. L., Vesey, D. A., Galloway, G. J., Gobe, G. C. & Francis, R. S. Identifying disease progression in chronic kidney disease using proton magnetic resonance spectroscopy. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, **134-135**, 52–64, (2023).
- [25] Mak, R. H. & Abitbol, C. L. Standardized urine biomarkers in assessing neonatal kidney function: are we there yet?. *Jornal de Pediatria*, **97**, 5, 476–477, (2021).
- [26] Balhara, N., Devi, M., Balda, A., Phour, M. & Giri, A. Urine; a new promising biological fluid to act as a non-invasive biomarker for different human diseases. *URINE*, **5**, 40–52, (2023).
- [27] Lorente, D. G., Lorente, J. G. & Usach, T. S. Repetición de la medición de creatinina sérica en atención primaria: no todos tienen insuficiencia renal crónica. *Nefrología*, **35**, 4, 395–402, (2015).
- [28] Chen, C.-C., Chu, C.-H., Lin, Y.-C. & Huang, C.-C. Neurodevelopment after neonatal acute kidney injury in very preterm-birth children. *Kidney International Reports*, **8**, 9, 1784–1791 (2023).
- [29] Nkuipou-Kenfack, E., Latosinska, A., Yang, W.Y., Fournier M.C., Blet, A., Mujaj, B., Thijs, L., Feliot, E., Gayat, E., Mischak, H., Staessen, J.A., Mebazaa, A., Zhang, Z.Y., French & European Outcome Registry in Intensive Care Unit Investigators. A novel urinary biomarker predicts 1-year mortality after discharge from intensive care. *Crit Care*, **24**, 1, 10, (2020).
- [30] Askenazi, D. J. No matter the hemisphere or language, neonatal acute kidney injury is common and is associated with poor outcomes. *Jornal de Pediatria*, **99**, 3, 203–204, (2023).
- [31] Stasyuk, N., Zakalskiy, A., Nogala, W., Gawinkowski, S., Ratajczyk, T., Bonarowska, M., Demkiv, O., Zakalska, O., & Gonchar, M. A reagentless amperometric biosensor for creatinine assay based on recombinant creatinine deiminase and n-methylhydantoin-sensitive cocu nanocomposite. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **393**, 134276, (2023).
- [32] Rumpel, J., Spray, B. J., Chock, V. Y., Kirkley, M. J., Slagle, C. L., Frymoyer, A., Cho, S.-H., Gist, K. M., Blaszk, R., Poindexter, B. & Courtney, S. E. Urine biomarkers for the assessment of acute kidney injury in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy receiving therapeutic hypothermia. *The Journal of Pediatrics*, **241**, 133–140.e3, (2022).
- [33] Moraes, L. H. A., Krebs, V. L. J., Koch, V. H. K., Magalhaes, N. A. M. & Carvalho, W. B. Risk factors of acute kidney injury in very low birth weight infants in a tertiary neonatal intensive care unit. *Jornal de Pediatria*, **99**, 3, 235–240, (2023).
- [34] Barrio, R. C., Agustin, J. A., Manzano, M. C., Garcia-Rubira, J. C., Fernandez-Ortiz, A., Vilacosta, I. & Macaya, C. In-hospital prognostic value of glomerular filtration rate in

patients with acute coronary syndrome and a normal creatinine level. *Revista Espanola de Cardiologia (English Edition)*, **60**, 7, 714–719, (2007).

[35] Ashakirin, S. N., Zaid, M. H. M., Haniff, M. A. S. M., Masood, A. & Wee., M.F. M. R. Sensitive electrochemical detection of creatinine based on electrodeposited molecular imprinting polymer modified screen printed carbon electrode. *Measurement*, **210**, 112502, (2023).

[36] Gonzalez-Gallardo, C. L., Arjona, N., Álvarez-Contreras, L., & Guerra-Balcázar, M. Electrochemical creatinine detection for advanced point-of-care sensing devices: a review. *RSC Advances*, **12**, 47, 30785-30802, (2022).

[37] Jadhav, R. B., Patil, T. & Tiwari, A. P. Trends in sensing of creatinine by electrochemical and optical biosensors. *Applied Surface Science Advances*, **19**, 100567, (2024).

[38] Guinovart, T., Hernandez-Alonso, D., Adriaenssens, L., Blondeau, P., Rius, F. X., Ballester, P. & Andrade, F. J. Characterization of a new ionophore-based ion-selective electrode for the potentiometric determination of creatinine in urine. *Biosensors and Bioelectronics*, **87**, 587–592, (2017).

[39] Kukkar, D., Zhang, D., Jeon, B. & Kim, K.-H. Recent advances in wearable biosensors for non-invasive monitoring of specific metabolites and electrolytes associated with chronic kidney disease: Performance evaluation and future challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **150**, 116570, (2022).

[40] N.-J. M. M. Gohiya, P. Study of neonatal acute kidney injury based on kdigo criteria. *Pediatrics and Neonatology*, **63**, 66–70, (2022).

[41] Ng, D. K., Matheson, M. B., Schwartz, G. J., Wang, F. M., Mendley, S. R., Furth, S. L., et al. Development of an adaptive clinical web-based prediction tool for kidney replacement therapy in children with chronic kidney disease. *Kidney International*, **104**(5), 985-994, (2023).

[42] Chien,Y.-H., Chen, Y.-L., Tsai, L.-Y. & Mu, S.-C. Impact of urine osmolality/urine sodium on the timing of diuretic phase and noninvasive ventilation support: Differences from late preterm to term neonates. *Crit Care*, **61**(1), 25-30, (2020).

[43] Kavanaugh, K. J., Jetton, J. G. & Kent, A. L. Neonatal acute kidney injury: Understanding of the impact on the smallest patients. *Critical Care Clinics*, **37**, 2, 349–363, (2021).

[44] Yang, H., Lin, C., Zhuang, C., Chen, J., Jia, Y., Shi, H. & Zhuang, C. Serum cystatin c as a predictor of acute kidney injury in neonates: a meta-analysis. *Jornal de Pediatria*, **98**, 3, 230–240, (2022).

[45] ElSadek, A. E., El gafar, E. A., Behiry, E. G., Nazem, S. A. & Abdel haie, O. M. Kidney injury molecule-1/creatinine as a urinary biomarker of acute kidney injury in critically ill neonates. *Journal of Pediatric Urology*, **16**, 5, 688.e1–688.e9, (2020).

- [46] Nada, A., Bonachea, E. M. & Askenazi, D. J. Acute kidney injury in the fetus and neonate. *Perinatal Nephrology*, **22**, 2, 90–97, (2017).
- [47] Peixoto, E. M. A. Elemento químico silício. *Química nova na escola*, **14**, 1, (2001).
- [48] Fernandes, S. H. Desenvolvimento de transistores de efeito de campo com porta estendida (EGFET) para quantificação da massa de fosforo removida de pacientes renais crônicos nas sessões de hemodiálise. Master's thesis, Universidade Estadual de Campinas, (2021).
- [49] Sedra A. S. & Smith, K. C. *Microelectronic Circuits*, 5th ed. Oxford University Press, (2004).
- [50] Alexandre, K. Preparação de transistores de efeito de campo nanoestruturados na análise de processos neuroquímicos. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas (2012).
- [51] Seidel, K. F. Efeitos do preenchimento de armadilhas de portadores de cargas em transistores orgânicos de efeito de campo. Dissertação de Mestrado, Setor de Ciencias Exatas, Universidade Federal do Paraná (2008).
- [52] Lilienfeld, J. E. Amplifier for electric currents. *EUA*, **324**, 794, (1928).
- [53] Seidel, K. F. Analise do transporte de portadores de carga em transistores de efeito de campo em arquitetura planar e desenvolvimento de transistores em arquitetura vertical. Tese de Doutorado, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná (2011).
- [54] Meruvia, M. S. Transistor de base metálica e transistor de válvula de spin híbridos orgânico/inorgânico. Tese de Doutorado, Instituto de Física, Universidade Federal do Paraná, (2004).
- [55] Silva, S. F. C. Aplicação de novos materiais em transistores de efeito de campo ferroelétricos. Dissertação de Mestrado, Instituto de Física, Universidade Federal de Uberlândia, (2012).
- [56] Possagno, R. Transistores de efeito de campo e dispositivos de memória baseados em polímeros e compósitos de polímeros e nanotubos de carbono. Dissertação de Mestrado, Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná (2005).
- [57] Fu Y. & Willander, M. Carrier transport characteristics of small-size field effect transistors. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, **4**, 2, 149–155, (1999).
- [58] Pullano, S. A., Critello, C. D., Mahbub, I., Tasneem, N. T., Shamsir, S., Islam, S., Greco, K. M. & Fiorillo, A. S. Egfet-based sensors for bioanalytical applications: A review," *Sensors*, **18**, 11, (2018).

- [59] Mello H. J. N. P. D. Sensores quimicos com transdução microeletrônica e ótica utilizando polianilina nanoestruturada Dissertação de Mestrado, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, (2014).
- [60] Bhattacharyya, I. M., Cohen, S., Shalabny, A., Bashouti, M., Akabayov, B. & Shalev, G. Specific and label-free immunosensing of protein-protein interactions with silicon-based immunofets. *Biosensors and Bioelectronics*, **132**, 143–161, (2019).
- [61] Jung, G., Hong, Y., Hong, S., Jang, D., Jeong, Y., Shin, W., Park, J., Kim, D., Jeong, C. B., Kim, D. U., Chang, K. S. & Lee, J.-H. A low-power embedded poly-si micro-heater for gas sensor platform based on a fet transducer and its application for no₂ sensing. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **334**, 129642, (2021).
- [62] Shin, W., Jung, G., Hong, S., Jeong, Y., Park, J., Kim, D., Park, B.-G. & Lee, J.-H. Optimization of channel structure and bias condition for signal-to-noise ratio improvement in si-based fet-type gas sensor with horizontal floating-gate. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **357**, 131398, (2022).
- [63] Sadighbayan, D., Hasanzadeh, M. & Ghafar-Zadeh, E. Biosensing based on field-effect transistors (fet): Recent progress and challenges. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **133**, 116067, (2020).
- [64] Swart, J. W. *Semicondutores: Fundamentos Técnicos, Técnicas e Aplicações*, 1st ed. Unicamp, (2008).
- [65] Hess, K., Register, L., McMahon, W., Tuttle, B., Aktas, O., Ravaioli, U., Lyding, J. & Kizilyalli, I. "Theory of channel hot-carrier degradation in mosfets. *Physica B: Condensed Matter*, **272**, 1, 527–531, (1999).
- [66] Pan, T.-M., Huang, Y.-S. & Her, J.-L. Super-ernstian ph sensitivity of tbtao₄ sensing film for a solid-state ph sensor. *Materials Chemistry and Physics*, **275**, 125284, (2022).
- [67] Chou, J.-C. & Liao, L. P. Study on pH at the point of zero charge of TiO₂ pH ion-sensitive field effect transistor made by the sputtering method. *Thin Solid Films*, **476**, 1, 157–161, (2005).
- [68] Koklu, A., Ohayon, D., Wustoni, S., Hama, A., Chen, X., McCulloch, I. & Inal, S. Microfluidics integrated n-type organic electrochemical transistor for metabolite sensing. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **329**, 129251, (2021).
- [69] Wang, C.-W. & Pan, T.-M. Structural properties and sensing performances of conxoy ceramic films for egfet ph sensors. *Ceramics International*, **47**, 18, 25 440–25 448, (2021).
- [70] Spiegel, J., Lauks, I., Chan, P. & Babic, D. The extended gate chemically sensitive field effect transistor as multi-species microprobe. *Sensors and Actuators*, **4**, 291–298, (1983).

- [71] Son, H. W., Park, J. H., Kim, M.-S., B.-H. & Kim, T. G. Bilayer indium gallium zinc oxide electrolyte-gated field-effect transistor for biosensor platform with high reliability. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **312**, 127955, (2020).
- [72] Evans, A. Potentiometry and ion selective electrodes. London, England, (1987).
- [73] Tiwari, N., Chatterjee, S., Kaswan, K., Chung, J.-H., Fan, K.-P. & Lin, Z.-H. Recent advancements in sampling, power management strategies and development in applications for non-invasive wearable electrochemical sensors. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, **907**, 116064, (2022).
- [74] Niu, P., Jiang, J., Liu, K., Wang, S., Jing, J., Xu, T., Wang, T., Liu, Y. & Liu, T. Fiber-integrated wgm optofluidic chip enhanced by microwave photonic analyzer for cardiac biomarker detection with ultra-high resolution. *Biosensors and Bioelectronics*, **208**, 114238, (2022).
- [75] Sinha, A., Tai, T.-Y., Li, K.-H., Gopinathan, P., Chung, Y.-D., Sarangadharan, I., Ma, H.-P., Huang, P.-C., Shiesh, S.-C., Wang, Y.-L. & Lee, G.-B. An integrated microfluidic system with field-effect-transistor sensor arrays for detecting multiple cardiovascular biomarkers from clinical samples. *Biosensors and Bioelectronics*, **129**, 155–163, (2019).
- [76] Laliberte, K., Scott, P., Khan, N. I., Mahmud, M. S. & Song, E. A wearable graphene transistor-based biosensor for monitoring il-6 biomarker. *Microelectronic Engineering*, **262**, 111835, (2022).
- [77] Song, P., Fu, H., Wang, Y., Chen, C., Ou, P. Rashid, R. T. Duan, S. Song, J. Mi, Z. & Liu, X. A microfluidic field-effect transistor biosensor with rolled-up indium nitride microtubes. *Biosensors and Bioelectronics*, **190**, 113264, (2021).
- [78] Chou, C.-H., Lim, J.-C., Lai, Y.-H., Chen, Y.-T., Lo, Y.-H. & Huang, J.-J. Characterizations of protein-ligand reaction kinetics by transistor-microfluidic integrated sensors. *Analytica Chimica Acta*, **1110**, 1–10, (2020).
- [79] Chen, T.-Y., Yang, T.-H., Wu, N.-T., Chen, Y.-T. & Huang, J.-J. Transient analysis of streptavidin-biotin complex detection using an igzo thin film transistor-based biosensor integrated with a microfluidic channel. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **244**, 642–648 (2017).
- [80] Khizir H. A. & Abbas, T. A.-H. Hydrothermal synthesis of tio2 nanorods as sensing membrane for extended-gate field-effect transistor (egfet) pH sensing applications. *Sensors and Actuators A: Physical*, **333**, 113231, (2022).
- [81] Manjakkal, L., Sakthivel, B., Gopalakrishnan, N. & Dahiya, R. Printed flexible electrochemical pH sensors based on cuo nanorods. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **263**, 50–58, (2018).
- [82] Casimero, C., McConville, A., Fearon, J.-J., Lawrence, C. L. C., Taylor, M., Smith, R. B. & Davis, J. Sensor systems for bacterial reactors: A new

flavin-phenol composite film for the in situ voltammetric measurement of pH. *Analytica Chimica Acta*, **1027**, 1–8, (2018).

[83] Cho W.-J. & Lim, C.-M. Sensing properties of separative paper-based extended-gate ion-sensitive field-effect transistor for cost effective pH sensor applications,” *Solid-State Electronics*, **140**, 96–99, (2018).

[84] Rasheed, H. S., Ahmed, N. M. & Matjafri, M. Ag metal mid layer based on new sensing multilayers structure extended gate field effect transistor (eg-fet) for pH sensor. *Materials Science in Semiconductor Processing*, **74**, 51–56, (2018).

[85] Slewa, L. H., Abbas, T. A. & Ahmed, N. M. Synthesis of quantum dot porous silicon as extended gate field effect transistor (egfet) for a pH sensor application,” *Materials Science in Semiconductor Processing*, **100**, 167–174, (2019).

[86] Kang, J.-W. & Cho, W.-J. Achieving enhanced pH sensitivity using capacitive coupling in extended gate fet sensors with various high-k sensing films. *Solid-State Electronics*, **152**, 29–32, (2019).

[87] Bazilah, A., Awang, Z., Shariffudin, S. S., Hamid, N. H. & Herman, S. H. Sensing and physical properties of ZnO nanostructures membrane. *Materials Today: Proceedings*, **16**, 1864–1870, (2019).

[88] Ahmed, N. M., Sabah, F. A., Kabaa, E. & Myint, M. T. Z. Single- and double-thread activated carbon fibers for pH sensing. *Materials Chemistry and Physics*, **221**, 288–294, (2019).

[89] Chung, W.-Y., Silverio, A. A., Tsai, V. F., Cheng, C., Chang, S.-Y., Ming-Ying, Z., Kao, C.-Y., Chen, S.-Y., Pijanowska, D. G., Rustia, D. & Lo, Y.-W. An implementation of an electronic tongue system based on a multi-sensor potentiometric readout circuit with embedded calibration and temperature compensation. *Microelectronics Journal*, **57**, 1–12, (2016).

[90] Pan, T.-M., Lin, C.-H. & Pang, S.-T. Structural properties and sensing performance of TaOx/Ta stacked sensing films for extended-gate field-effect transistor pH sensors. *Journal of Alloys and Compounds*, **903**, 163955, (2022).

[91] Slewa, L. H., Abbas, T. A. & Ahmed, N. M. Effect of Sn doping and annealing on the morphology, structural, optical, and electrical properties of 3d (micro/nano) V₂O₅ sphere for high sensitivity pH-egfet sensor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **305**, 127515, (2020).

[92] Sharma, P., Gupta, S., Singh, R., Ray, K., Kothari, S.L., Sinha, S., Sharma, R., Mukhiya, R., Awasthi, K. & Kumar, M. Hydrogen ion sensing characteristics of na₃bio₄–bi₂o₃ mixed oxide nanostructures based egfet pH sensor. *International Journal of Hydrogen Energy*, **45**, 37, 18 743–18 751, (2020).

[93] Pan, T.-M., Wang, C.-W., Weng, W.-C., Lai, C.-C., Lu, Y.-Y., Wang, C.-Y., Hsieh, I.-C. & Wen, M.-S. Rapid and label-free detection of the troponin

in human serum by a tin-based extended-gate field-effect transistor biosensor. *Biosensors and Bioelectronics*, **201**, 113977, (2022).

[94] M. Das, T. Chakraborty, C. Y. Lin, R.-M. Lin, and C. H. Kao, "Screen-printed Ga_2O_3 thin film derived from liquid metal employed in highly sensitive pH and non-enzymatic glucose recognition," *Materials Chemistry and Physics*, **278**, 125652, (2022).

[95] Pan, T.-M., Garu, P. & Her, J.-L. Influence of Ti content on sensing performance of LaTi_xO_y sensing membrane based electrolyte-insulator-semiconductor pH sensor. *Materials Chemistry and Physics*, **269**, 124774, (2021).

[96] Pyo, J.-Y. & Cho, W.-J. In-plane-gate a-IGZO thin-film transistor for high-sensitivity pH sensor applications. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **276**, 101–106, (2018).

[97] Chae, M.-S., Park, J. H., Son, H. W., Hwang, K. S. & Kim, T. G. IGZO-based electrolyte-gated field-effect transistor for in situ biological sensing platform. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **262**, 876–883, (2018).

[98] Pan, T.-M., Huang, Y.-H., Her, J.-L., Lou, B.-S. & Pang, S.-T. Solution processed ZnIn_xO_y sensing membranes on flexible PET for extended-gate field-effect transistor pH sensors. *Journal of Alloys and Compounds*, **822**, 153630, (2020).

[99] Palit, S., Singh, K., Lou, B.-S., Her, J.-L., Pang, S.-T. & Pan, T.-M. Ultrasensitive dopamine detection of indium-zinc oxide on PET flexible based extended-gate field-effect transistor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **310**, 127850, (2020).

[100] Khalifa, A. M., Abdulateef, S., Kabaa, E., Ahmed, N. M. & Sabah, F. A. Study of acidosis, neutral and alkalosis media effects on the behaviour of activated carbon threads decorated by zinc oxide using extended gate FET for glucose sensor application. *Materials Science in Semiconductor Processing*, **108**, 104911, (2020).

[101] Singh, K., Lou, B.-S., Her, J.-L. & Pan, T.-M. Impact of yttrium concentration on structural characteristics and pH sensing properties of sol-gel derived Y_2O_3 based electrolyte-insulator-semiconductor sensor. *Materials Science in Semiconductor Processing*, **105**, 104741, (2020).

[102] Singh, K., Lou, B.-S., Her, J.-L., Pang, S.-T. & Pan, T.-M. Super Nernstian pH response and enzyme-free detection of glucose using sol-gel derived RuO_x on PET flexible-based extended-gate field-effect transistor. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **298**, 126837, (2019).

[103] Khalifa, A. M., Abdulateef, S., Sabah, F. A., Kabaa, E. & Ahmed, N. M. Characterization of nickel/indium tin oxide based extended gate-field effect transistor as glucose sensor in acidosis, normal and alkalosis media. *Materials Science in Semiconductor Processing*, **103**, 104626, (2019).

[104] Ali, A. M. A., Ahmed, N. M., Kabir, N. A. & Almessiere, M. A. Multilayer $\text{ZnO}/\text{Pb}/\text{G}$ thin film based extended gate field effect transistor for low dose gamma irradiation

detection. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, **987**, 164833, (2021).

[105] Wang, F. & Wu, J. Modern Ion Plating Technology. Eds. Elsevier, (2023).

[106] Behera, A., Aich, S. & T. Theivasanthi. Design, Fabrication, and Characterization of Multifunctional Nanomaterials, ser. Micro and Nano Technologies, Thomas, S., Kalarikkal, N. & Abraham, A. R. Eds. Elsevier, (2022).

[107] Tudose, I. V., Comanescu, F., Pascariu, P., Bucur, S., Rusen, L., Iacomi, F., Koudoumas, E. & Sucheai, M. P. Chemical and physical methods for multifunctional nanostructured interface fabrication. in Functional Nanostructured Interfaces for Environmental and Biomedical Applications, ser. Micro and Nano Technologies, V. Dinca and M. P. Sucheai, Eds. Elsevier, (2019).

[108] Zhang, B., Guo, Q., Dai, B., Wang, N., Dai, Y. & Qi, Y. Quality optimization of bi2212 films prepared by aqueous solvent sol-gel method with nonionic surfactants. Ceramics International, **48**, 24, 36 845–36 852, (2022).

[109] Martin, P. M. Handbook of Deposition Technologies for Films and Coatings. Third edition ed., Ed. Boston: William Andrew Publishing, (2010).

[110] Choudhury, S., Paul, S., Goswami, S. & Deb, K. Chapter 2 - methods for nanoparticle synthesis and drug delivery. in Advances in Nanotechnology-Based Drug Delivery Systems, ser. Nanotechnology in Biomedicine. Talukdar, A. D., Sarker, S. D. & Patra, J. K. Eds. Elsevier, (2022).

[111] Mittal, M., Sardar, S. & Jana, A. Chapter 7 - nanofabrication techniques for semiconductor chemical sensors. in Handbook of Nanomaterials for Sensing Applications, ser. Micro and Nano Technologies, C. M. Hussain and S. K. Kailasa, Eds. Elsevier, (2021).

[112] Kumar N. & Kumar, R. Chapter 1 – introduction. in Nanotechnology and Nanomaterials in the Treatment of Life-threatening Diseases, Kumar N. & Kumar, R. Eds. Oxford: William Andrew Publishing, (2014).

[113] Tsao K.-C. & Yang, H. Oxygen reduction catalysts on nanoparticle electrodes. Encyclopedia of Interfacial Chemistry. Wandelt, K. Ed. Oxford: Elsevier, (2018).

[114] Majd, S. M. & Salimi, A. Microfluidic electrolyte-gated TiS₃ nanoribbons-based field-effect transistor as ultrasensitive label-free immunosensor for prostate cancer marker analysis. Sensing and Bio-Sensing Research, **43**, 100627, (2024).

[115] Costa, B. M. de C., Griveau, S., Bedioui, F., Orlye, F. d', Silva, J. A. F. & Varenne, A. Stereolithography based 3d-printed microfluidic device with integrated electrochemical detection. Electrochimica Acta, **407**, 139888, (2022).

- [116] I. ASTM52910-18. Additive manufacturing – desing - requirements, guidelines and recommendations, (2018).
- [117] Costa, B., Coelho, A., Beauchamp, M., Nielsen, J. B., Nordin, G. P., Woolley, A. T. & Silva, J. A. F. 3d-printed microchip electrophoresis device containing spiral electrodes for integrated capacitively coupled contactless conductivity detection,” *Anal Bioanal Chem.*, **346**, 113839, (2022).
- [118] Cheng, Y., Chen, K.-S., Meyer, N. L., Yuan, J., Hirst, L. S., Chase, P. B. & Xiong, P. Functionalized SnO₂ nanobelt field-effect transistor sensors for label-free detection of cardiac troponin. *Biosensors and Bioelectronics*, **26**, 11, 4538–4544, (2011).
- [119] Jiang, J., Pendse, S., Zhang, L. & Shi, J. Strain related new sciences and devices in low-dimensional binary oxides. *Nano Energy*, **104**, 107917, (2022).
- [120] Han, Z., Lu, J., Yin, C., Lai, P., Zhuang, W., Li, L., Wang, J., Zhang, L. & Guo, X. Composition, microstructure, and phase evolution of 17-4 pH stainless steel with a work-hardened layer in the low-temperature plasma nitriding process. *Surface and Coatings Technology*, **451**, 128950, (2022).
- [121] Mingolo, N., Tschiptschin, A. & Pinedo, C. On the formation of expanded austenite during plasma nitriding of an aisi 316l austenitic stainless steel. *Surface and Coatings Technology*, **201**, 7, 4215–4218, (2006).
- [122] Gao, J., Wang, C., Chu, Y., Han, Y., Gao, Y., Wang, Y., Wang, C., Liu, H., Han, L. & Zhang, Y. Graphene oxide-graphene van der waals heterostructure transistor biosensor for sars-cov-2 protein detection. *Talanta*, **240**, 123197, (2022).
- [123] Hwang, Y., Lee, J., Heo, S. J., Hong, N., Lee, J., Jang, J. E. & Kang, H. a-igzo thin-film transistors with transparent ultrathin al/ag bilayer source and drain for active neural interfaces. *Materials Science in Semiconductor Processing*, **154**, 107188, (2023).
- [124] Mandal, N., Pakira, V., Samanta, N., Das, N., Chakraborty, S., Pramanick, B. & C. RoyChaudhuri. Psa detection using label free graphene fet with coplanar electrodes based microfluidic point of care diagnostic device. *Talanta*, **222**, 121581, (2021).
- [125] Purwidyantri, A., Ipatov, A., Domingues, T., Borme, J., Martins, M., Alpuim, P. & Prado, M. Programmable graphene-based microfluidic sensor for dna detection. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **367**, 132044, (2022).
- [126] Seo, G., Lee, G., Kim, M. J., Baek, S.-H., Choi, M., Ku, K. B., Lee, C.-S., Jun, S., Park, D., Kim, H. G., Kim, S.-J., Lee, J.-O., Kim, B. T., Park, E. C. & Kim, S. I. Rapid detection of covid-19 causative virus (sars-cov-2) in human nasopharyngeal swab specimens using field-effect transistor-based biosensor. *ACS Nano*, **14**, 4, 5135–5142, (2020).

- [127] Wei, J., Zhao, Z., Lan, K., Wang, Z., Qin, G. & Chen, R. Highly sensitive detection of multiple proteins from single cells by mos2-fet biosensors. *Talanta*, **236**, 122839, (2022).
- [128] Song, P., Ou, P., Wang, Y., Yuan, H., Duan, S., Chen, L., Fu, H., Song, J. & Liu, X. An ultrasensitive fet biosensor based on vertically aligned mos2 nanolayers with abundant surface active sites," *Analytica Chimica Acta*, **1252**, 341036, (2023).
- [129] Jain, N., Sharma, S. K., Kumawat, R., Jain, A. & Lakhawat, S. Influence of high-k dielectric material on the electrical performance of a-igzo thin film transistor. *Materials Today: Proceedings*, **66**, 8, 3553-3558 (2022).
- [130] Yoo, J., Hong, J.-H., Kim, H., Kim, D., Lee, C. K., Kim M., Byun, C. & Choi, B. High-pressure H₂O post-annealing for improving reliability of ltps and a-igzo thin-film transistors within a coplanar structure. *Materials Science in Semiconductor Processing*, **157**, 107299, (2023).
- [131] Zehra, N., Adil, L. R., Tanwar, A. S., Mondal, S. & Iyer P. K. Chapter 11 - thin-film devices for chemical, biological, and diagnostic applications. *Chemical Solution Synthesis for Materials Design and Thin Film Device Applications*, Eds. Elsevier, 369–405, (2021).
- [132] Kumar, N., Wang, W., Ortiz-Marquez, J. C., Catalano, M., Gray, M., Biglari, N., Hikari, K., Ling, X., Gao, J., Opijnen, T. & Burch, K. S. Dielectrophoresis assisted rapid, selective and single cell detection of antibiotic resistant bacteria with g-fets. *Biosensors and Bioelectronics*, **156**, 112123, (2020).
- [133] Kim, H. E., Schuck, A., Oh, J., Jung, K.-M. & Kim, Y.-S. Improving the neutrality point uniformity for sg-fet-based dna sensor. *Solid-State Electronics*, **167**, 107750 (2020).
- [134] Ricci, S., Casalini, S., Parkula, V., Selvaraj, M., Saygin, G. D., Greco, P., Biscarini, F. & Mas-Torrent, M. Label-free immunodetection of -synuclein by using a microfluidics coplanar electrolyte-gated organic field-effect transistor. *Biosensors and Bioelectronics*, **167**, 112433, (2020).
- [135] Haque, A., Khan, M. S., Lau, M.-T., Li, Z., Raithby, P. R. & Wong, W.-Y. 14.03 - conjugated poly(metalla-ynes). *Comprehensive Organometallic Chemistry IV*, Eds. Oxford: Elsevier, **14**, 23–70, (2022).
- [136] Kim, D.-S., Park, J.-E., Shin, J.-K., Kim, P. K., Lim, G. & Shoji, S. An extended gate fet-based biosensor integrated with a Si microfluidic channel for detection of protein complexes. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **117**, 2, 488–494, (2006).
- [137] Liu, W., Zhang, H., Zhao, H., Tang, Z., Wang, Y., Sun, C., Pang, W. & Duan, X. Comparative analysis of static and non-static assays for biochemical sensing using on-chip integrated field effect transistors and solidly mounted resonators. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **243**, 775–783, (2017).

- [138] Park, D.-W., Tsvd, G., Hernandez-Ortiz, J. P., Schwartz, D. C. & Ma, Z. Trench field-effect transistors integrated in a microfluidic channel and design considerations for charge detection. *Applied Physics Letters*, **120**, 19, 192102, (2022).
- [139] Kuo, P.-Y., Chang, C.-H., Lai, W.-H. & Wang, T.-H. The characteristics analysis of a microfluid-based egfet biosensor with on-chip sensing film for lactic acid detection. *Sensors*, **22**, 15, (2022).
- [140] Chou, J.-C., Ye, G.-C., Wu, D.-G. & Chen, C.-C. Fabrication of the array chlorine ion sensor based on microfluidic device framework. *Solid-State Electronics*, **77**, 87–92, (2012).
- [141] Tseng, S.-C., Wu, T.-Y., Chou, J.-C., Liao, Y.-H., Lai, C.-H., Chen, J.-S., Yan, S.-J., Huang, M.-S., Tseng, T.-W. & Nien, Y.-H. Research of sensing characteristic and dynamic measurement of graphene oxides modified flexible arrayed RuO₂ chlorine ion sensor. *Materials Research Bulletin*, **101**, 155–161 (2018).
- [142] Rodriguez, C., Dietrich, P., Torres-Costa, V., Cebrian, V., Gomez-Abad, C., Diaz, A., Ahumada, O. & Silvan, M. M. Near ambient pressure x-ray photoelectron spectroscopy monitoring of the surface immobilization cascade on a porous silicon-gold nanoparticle fet biosensor. *Applied Surface Science*, **492**, 362–368, (2019).
- [143] Ertop, O., Sonmez, B. & Mutlu, S. Realization of a planar water-gated field effect transistor (wg-fet) using 16-nm-thick single crystalline si film. *Procedia Engineering*, **87**, 76–79, (2014)
- [144] Ahmed, N. M., Kabaa, E. A., Jaafar, M. S. & Omar, A. F. Characteristics of extended-gate field-effect transistor (egfet) based on porous n-type (111) silicon for use in ph sensors. *Journal of Electronic Materials*, **46**, 5804–5813, (2017).
- [145] Ma, J., Jiang, G., Ma, Q., Wang, H., Du, M., Wang, C., Xie, X., Li, T. & Chen, S. Rapid detection of airborne protein from mycobacterium tuberculosis using a biosensor detection system,” *Analyst*, **147**, 614–624, (2022).
- [146] A. S. Sedra and K. C. Smith, **Microeletronica**. Pearson Prentice Hall, 2007.
- [147] ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. RESOLUÇÃO-RE Nº 899, DE 29 DE MAIO DE 2003. Disponível em:< https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html > Acessado em: 13 nov. 2024.
- [148] Saslow, W. M. Chapter 7 - ohm’s law: Electric current is driven by emf, and limited by electrical resistance. **Electricity, Magnetism, and Light**, Ed. San Diego: Academic Press, 281–335. (2002).
- [149] AlQahtani, H. R., Al-Odayni A-B. M., Zeama, M., Shekhah, O., Eddaoudi, M., Grell, M. Metal-organic frameworks as sensitizers for potentiometric sensors. *Microchemical Journal*, **201**, 110547, (2024).

- [150] Hatada, M., Pavlidis, S., Sode, K. Development of a glycated albumin sensor employing dual aptamer-based extended gate field effect transistors. *Biosensors and Bioelectronics*, **251**, 116118, (2024).
- [151] Pan, T-M., Lin, L-A., Ding, H-Y., Her, J-L., Pang, S-T. A simple and highly sensitive flexible sensor with extended-gate field-effect transistor for epinephrine detection utilizing InZnSnO sensing films. *Talanta*, **275**, 126178, (2024).
- [152] Richardson, H., Barahona, J., Medwig, G., Johns, A., Pérez, L. M. A., Sode, K., Daniele, M., Miller, F. J. Lobaton, E. & Pavlidis, S. Towards monitoring of critical illness via the detection of histones with extended gate field-effect transistor sensors. *Biosensors and Bioelectronics*: X, **19**, 100501, (2024)
- [153] Yadlapalli, B. K., Chou, H-Y., Chiang, J-L., Wu, D-S. Morphological investigation and pH sensing properties of β -Ga₂O₃ EGFET-pH sensor. *Materials Science and Engineering: B*, **300**, 117113, (2024).
- [154] Al-Diabat, A. M., Algadri, N. A., Alzoubi, T., Ahmed, N. M., Noqta, O. A., Makhadmeh, G. N., Abuelsamen, A., Abdelgalil, A., Ali, A. M. A. Synthesis of Al quantum dots on porous silicon as an effective radiation detector using extended gate technique. *Results in Engineering*, **21**, 101973, (2024).
- [155] AL-Diabat, A. M., Algadri, N. A., AlZoubi, T., Ahmed, N. M., Noqta, O. A., Makhadmeh, G. N., Abuelsamen, A., Ali, A. M. A. Advancement in embedding Pb quantum dots into a Porous-Si matrix for superior X-ray radiation detection: An extended gate approach. *Radiation Measurements*, **176**, 2024, 107183, (2024).
- [156] Yu, S., Pan, Y., Tang, L., Wu, S., Liang, C., Zhang, G-J., Li, Y-T. Integrated Microfluidic-Transistor Sensing System for Multiplexed Detection of Traumatic Brain Injury Biomarkers. *ACS Sensors*, **9**, 3017-3026, (2024).
- [157] Siebel, O. F., Schneider, M. C., Galup-Montoro, C. MOSFET threshold voltage: Definition, extraction, and some applications. *Microelectronics Journal*, **43**, 5, 329-336, (2012).
- [158] Pan, T-M., Shih, C-Y., Lin, L-A. Engineering Ta-doped MoSex sensitive films in extended-gate field-effect transistors for ultrahigh sensitivity detection of epinephrine at fM levels. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, In Press (2024).
- [159] Yang, C-M., Wei, C-H., Ughi, F., Chang, J-Y., Pijanowska, D. G., Lai, C-S. High pH stability and detection of α -synuclein using an EGFET biosensor with an HfO₂ gate deposited by high-power pulsed magnetron sputtering. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **416**, 136006, (2024).
- [160] Cao, S., Sun, P., Xiao, G., Tang, Q., Sun, X., Zhao, H., Zhao, S., Lu, H., Yue, Z. ISFET-based sensors for (bio)chemical applications: A review. *Electrochem. Sci. Adv.* **4**, e2100207, (2022).

- [161] Practical fourier transform infrared spectroscopy: industrial and laboratory chemical analysis. Coautoria de John R. Ferraro, K Krishnan. San Diego, CA: Academic Press, c1990. 534p., il. ISBN 0122541251 (enc.).
- [162] Yörük, Ö., Uysal, D., Doğan, Ö. M. Carbon-assisted hydrogen production via electrolysis at intermediate temperatures: Impact of mineral composition, functional groups, and membrane effects on current density. *Fuel*, **380**, 133268, (2025).
- [163] Sacko, A., Nure, J. F., Motsa, M. M., Nyoni, H., Mamba, B., Nkambule, T., Msagati, T. A.M. Graphitic carbon nitride embedded in polymeric membrane from polyethylene terephthalate microplastic for water treatment. *Journal of Water Process Engineering*, **68**, 106458, (2024)
- [164] Wu, F., Li, X., Jiao, Y., Pan, C., Fan, G., Long, Y., Yang, H. Multifunctional flexible composite membrane based on nanocellulose-modified expanded graphite/electrostatically spun fiber network structure for solar thermal energy conversion. *Energy Reports*, **11**, 4564-4571, (2024)
- [165] Liu, H. Duan, P., Wu, Z., Liu, Y., Yan, Z., Zhong, Y., Wang, Y., Wang, X. Silicon/graphite/amorphous carbon composites as anode materials for lithium-ion battery with enhanced electrochemical performances. *Materials Research Bulletin*, **181**, 113082, (2025).
- [166] Hao, Y., Chen, D., Yang, G., Hu, S., Wang, S., Pei, P., Hao, J., Xu, X. N-doped porous graphite with multilevel pore defects and ultra-high conductivity anchoring Pt nanoparticles for proton exchange membrane water electrolyzers. *Journal of Energy Chemistry*, In press (2024).
- [167] Song, C., Liu, M., Du, L., Chen, J., Meng, L., Li, H. Hu, J. Effect of grain size of graphite powder in carbon paper on the performance of proton exchange membrane fuel cell. *Journal of Power Sources*, **548**, 232012, (2022).
- [168] Corba, A., Sierra, A. F., Blondeau, P., Giussani, B., Riu, J., Ballester, P., Andrade, F. J. Potentiometric detection of creatinine in the presence of nicotine: Molecular recognition, sensing and quantification through multivariate regression. *Talanta*, **246**, 123473, (2022).
- [169] Guinovart, T., Hernández-Alonso, D., Adriaenssens, L., Blondeau, P., Martínez-Belmonte, M., Rius, F. X., Andrade, F. J., Ballester, P. Recognition and Sensing of Creatinine. *Angewandte Chemie International Edition*, **55**, 7, 2435-2440. (2016).
- [170] Parmar, N.; Bhatt, K.; Parikh, J.; Patel, N. Calix multifuncional[4]Derivados de pirrol: síntese otimizada e um estudo de dupla ação visando tuberculose e estresse oxidativo. *Políciclo. Aromat. Compd.* 2024, 1–11.
- [171] Dhumale, B.; Bhatt, K.D.; Patel, N.; Modi, K. Reconhecendo a dinâmica-calix[4]pirrol: Alturas em pesquisa e tecnologia. *Resultados Chem.* 2023, 5, 100881.
- [172] Zhang, S.; Bie, W.; Duan, X.; Wu, Z.; Zhang, L.; Li, H.; Wang, Z.; Wei, M.; Kong, F.; Wang, W. Polímeros porosos à base de cálice [4] pirrol com alta área de superfície

para remoção eficiente de micropoluentes orgânicos polares da água. *Quimiosfera* 2024, 366, 143548.

[173] Lu, Y., Wang, S., He, S., Huang, Q., Zhao, C., Yu, S., Jiang, W., Yao, H., Wang, L., & Yang, L. An endo-functionalized molecular cage for selective potentiometric determination of creatinine. *Chem. Sci.* **15**, 36, 14791-14797, (2024).

[174] Ko, C., Tseng, C., Lu, S., Lee, C., Kim, S., & Fu, L. Handheld microfluidic multiple detection device for concurrent blood urea nitrogen and creatinine ratio determination using colorimetric approach. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **422**, 136585, (2025).

[175] Parra, L. M. H., Laucirica, G., Toimil-Molares, M. E., Marmisollé, W., & Azzaroni, O. Sensing creatinine in urine via the iontronic response of enzymatic single solid-state nanochannels, *Biosensors and Bioelectronics*, **268**, 116893, (2025).

[176] Das, C., Raveendran, J., Bayry, J. & Rasheed, P. A. Selective and naked eye colorimetric detection of creatinine through aptamer-based target-induced passivation of gold nanoparticles. *RSC Adv.*, **14**, 46, 33784-33793 (2024).

[177] Chandhana J.P., Roshith M., Vasu, S. P., Kumar, D. V. R., Satheesh B. T.G., High aspect ratio copper nanowires modified screen-printed carbon electrode for interference-free non-enzymatic detection of serum creatinine in neutral médium. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. **971**, 118605, (2024).

[178] Peng, S., Yan, L., You, R., Lu, Y., Liu, Y. & Li, L. Cationic cellulose dispersed Ag NCs/C-CNF paper-based SERS substrate with high homogeneity for creatinine and uric acid detection. *International Journal of Biological Macromolecules*, **282**, 136724, (2024).

[179] Saputra, E. A colorimetric detection of creatinine based-on EDTA capped-gold nanoparticles (EDTA-AuNPs): Digital image colorimetry. *Sensors International*, in press, **100286**, (2024).

[180] Manikandan, R., Yoon, J., Lee, J. & Chang, S. Non-enzymatic disposable paper sensor for electrochemical detection of creatinine. *Microchemical Journal*, **204**, 111114, (2024).

[181] Huang, J., Sokolikova, M., Ruiz-Gonzalez, A., Kong, Y., Wang, Y., Liu, Y., Xu, L., Wang, M., & Mattevi, C., Davenport, A., Lee, T. & Li, B. Ultrasensitive colorimetric detection of creatinine via its dual binding affinity for silver nanoparticles and silver ions. *RSC Adv.*, **14**, 13, 9114-9121 (2024).

[182] Sasikumar, T., Shanmugaraj, K., Nandhini, K., Kim, J. T., & Ilanchelian, M. Red-emitting copper nanoclusters for ultrasensitive and selective detection of creatinine and its application in portable smartphone-based paper strips and polymer thin film. *Surfaces and Interfaces*, **53**, 105014, (2024).

[183] Zhang, Q., Yang, R., Liu, G., Jiang, S., Wang, J., Lin, J., Wang, T., Wang, J., Huang, Z. Smartphone-based low-cost and rapid quantitative detection of urinary creatinine with the Tyndall effect, *Methods*, **221**, 12-17, (2024).

- [184] Bajpai, S., Akien, G. R., & Toghil, K. E. An alkaline ferrocyanide non-enzymatic electrochemical sensor for creatinine detection. *Electrochemistry Communications*, **158**, 107624, (2024).
- [185] Tirkey, A. & Babu, P. J. Synthesis and characterization of citrate-capped gold nanoparticles and their application in selective detection of creatinine (A kidney biomarker), *Sensors International*, **5**, 100252, (2024).
- [186] Chhillar, M., Kukkar, D., Yadav, A. K. & Kim, K. Nitrogen doped carbon dots and gold nanoparticles mediated FRET for the detection of creatinine in human urine samples. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **321**, 124752, (2024).
- [187] Nazar, H. R. S., Ahmadi, V. & Nazar, A. R. S. Mach-Zehnder interferometer fiber optic sensor coated with UiO-66 metal organic framework for creatinine detection. *Measurement*, **225**, 114015, (2024).
- [188] Patel, M. R., Park, T. J., & Kailasa, S. K. Eu³⁺ ion-doped strontium vanadate perovskite quantum dots-based novel fluorescent nanosensor for selective detection of creatinine in biological samples. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **449**, 115376, (2024).
- [189] Afshary, Hosein & Amiri, Mandana. A fast and highly selective ECL creatinine sensor for diagnosis of chronic kidney disease. *Sens. Diagn.* **3**, 9, 1562-1570 (2024).
- [190] Mishra, P., Gupta, P., Singh, B. P., Kedia, R., Shrivastava, S., Patra, A., Hwang, S., & Agrawal, V. V. Advancing paper microfluidics: A strategic approach for rapid fabrication of microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs) enabling in-vitro sensing of creatinine. *Journal of Molecular Liquids*, **411**, 125707, (2024).
- [191] Das, M., Chakraborty, T. & Kao, C. H. Sol-gel synthesized $\text{RexBi}_{1-x}\text{O}$ thin films for electrochemical creatinine sensing: A facile fabrication approach. *Materials Chemistry and Physics*, **315**, 128889, (2024).

APÊNDICE A- FABRICAÇÃO DO MICROCHIP EM PDMS

Foram fabricados chips microfluídicos em PDMS por processo de litografia suave. O procedimento consistiu em reproduzir um desenho de chip já existente para posterior adaptação. Esta atividade contou com a colaboração do Instituto Biosense (Sérvia) e foi realizada durante o período de estágio de três meses em razão de projeto de colaboração técnico-científico no local.

Para o procedimento lâminas de vidro de 75x25x2mm foram usadas como suporte para a camada de PDMS. Após lavadas com solução de H_2SO_4 e H_2O_2 , proporção 1:1, e enxaguadas em água deionizada elas foram deixadas para secar em chapa aquecedora a 100 °C durante 10 minutos. Em seguida, elas foram retiradas e deixadas para esfriar à temperatura ambiente. Foi depositado fotoresiste nas lâminas pelo processo de *spin coater* (Laurell WS-65 OMZ-23NPP, EUA) durante 20 segundos a 5000 rpm. Esperamos 1 minuto para o relaxamento da resina.

Para a projeção dos canais de fluxo utilizamos uma máquina de escrita direta (Microtech LW405D, Itália). A fonte de laser tinha 405nm com objetiva de 0,45 e resolução litográfica de 0,8 μm . Os canais projetados tinham 50 μm de largura e 60 μm de profundidade. Os canais foram revelados na lâmina com solução reveladora proporção 1:4 de revelador e água, respectivamente, e agitação manual durante 1 minuto. A lâmina foi posteriormente lavada com água deionizada e seca com jato de nitrogênio.

Proporções de pré-polímero e agente de cura 10:0,7, respectivamente, foram misturadas manualmente com a ajuda de uma espátula de metal. Em sequência a mistura foi colocada em uma centrífuga a 4000-rpm para a retirada de bolhas formadas durante a etapa de mistura. A mistura foi colocada em uma placa Petri e aquecida em forno a 80 °C por 2 horas. Após, as peças solidificadas de PDMS foram cortadas no tamanho das lâminas de vidro e fizemos tratamento por plasma de oxigênio por 30 segundos na superfície tanto do PDMS como das lâminas de vidro, por duas repetições. Os chips foram montados por pressão entre as partes até que ambos estivessem bem aderidos. Por fim, o PDMS foi perfurado nos locais preparados aos reservatórios de entrada e saída de fluxo com o uso de uma punção de biópsia (Miltex Biopsy Punch 1.0 mm, 15110–10, Tedpella, Canadá). A Figura A1, a seguir, mostra o design dos chips microfluídicos fabricados em PDMS.

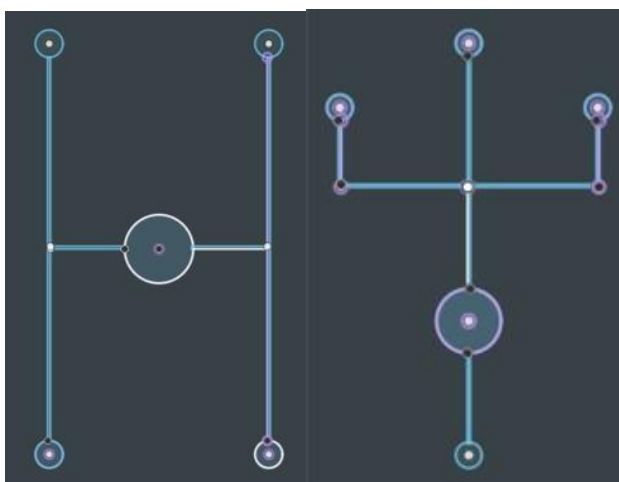


Figura A1: Design no Fusion 360 do chip microfluídico fabricado em PDMS

Infelizmente todos os dispositivos confeccionados neste formado apresentaram vazamento de fluido quando utilizamos a bomba de seringa.

APENDICE B - SÍNTESE DE MESOOCTAMETILCALIX[4]PIRROL

Nesta etapa o método de síntese realizado consistiu em uma mistura de 5 mL (7,20 mmol) de pirrol e 5,30 mL (7,19 mmol) de acetona pura em 100mL de água deionizada. A mistura foi deixada sobre um agitador magnético a 200-rpm por 10 minutos enquanto 8 mL de HCl foram lentamente adicionados. Após a adição do ácido a mistura continuou a ser agitada em mesma velocidade durante 30 minutos. Em seguida a solução foi deixada para descansar à temperatura ambiente (25 °C). Esse procedimento foi realizado três vezes variando o tempo de descanso das amostras em 4 horas, 18 horas e 72 horas.

Após o tempo de descanso, verificou-se que a síntese de 72 horas havia a formação de uma maior quantidade de suspensão levemente rosada. Esta suspensão foi coletada do béquer e lavada com 50 mL de água e depois com 50 mL de metanol e em seguida cristalizada em uma mistura de 20mL de clorofórmio com 20mL de metanol. A mistura foi filtrada em papel de filtro e um sólido levemente rosa foi coletado.

Em seguida, os papéis de filtro com os sólidos obtidos foram colocados em uma placa Petri e levados a uma estufa pré-aquecida a 50 °C durante 20 minutos.

O produto obtido foi submetido à técnica de Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C para soluções. As amostras submetidas aos testes foram preparadas pela adição de 30 mg do produto obtido na síntese a 600 μL de clorofórmio deuterado.

A Figura B1, a seguir é a elucidação estrutural do composto sintetizado obtido por meio da técnica de RMN ^1H que já conseguia validar a identidade do produto obtido.

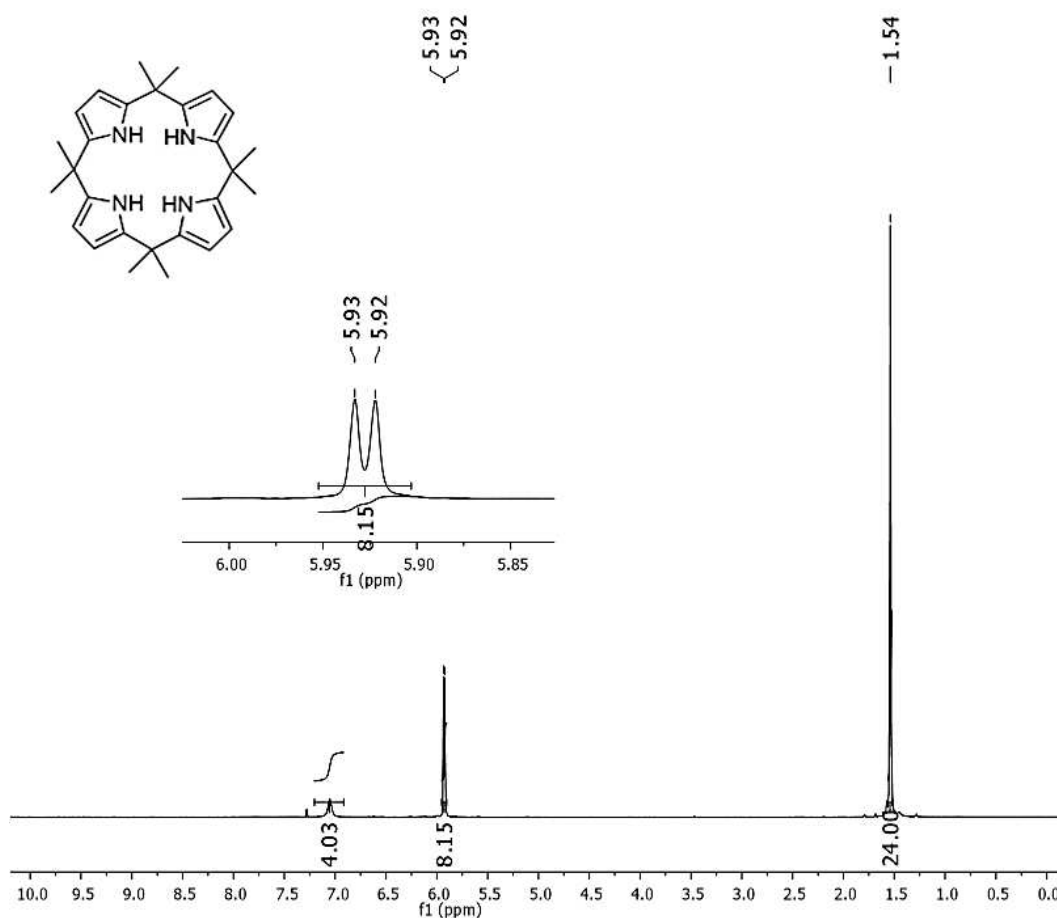


Figura B1: Espectro RMN de ^1H do produto da síntese (CDCl_3)

O espectro de RMN de ^1H do composto da Figura 1 apresentou um sinal em forma de singleto a δ 1,54 ppm que corresponde à ressonância dos H^+ dos grupos CH_3 , um sinal em forma de duplete δ entre 5,90 ppm e 5,95 referentes a esses prótons nos grupos β -pirrólicos da estrutura do OMCP e um sinal largo a δ 7,03 ppm dos prótons dos grupos $\text{NH}^{[1]}$.

A Figura B2 a seguir é o espectro obtido por meio da técnica de RMN de ^{13}C para a mesma amostra.

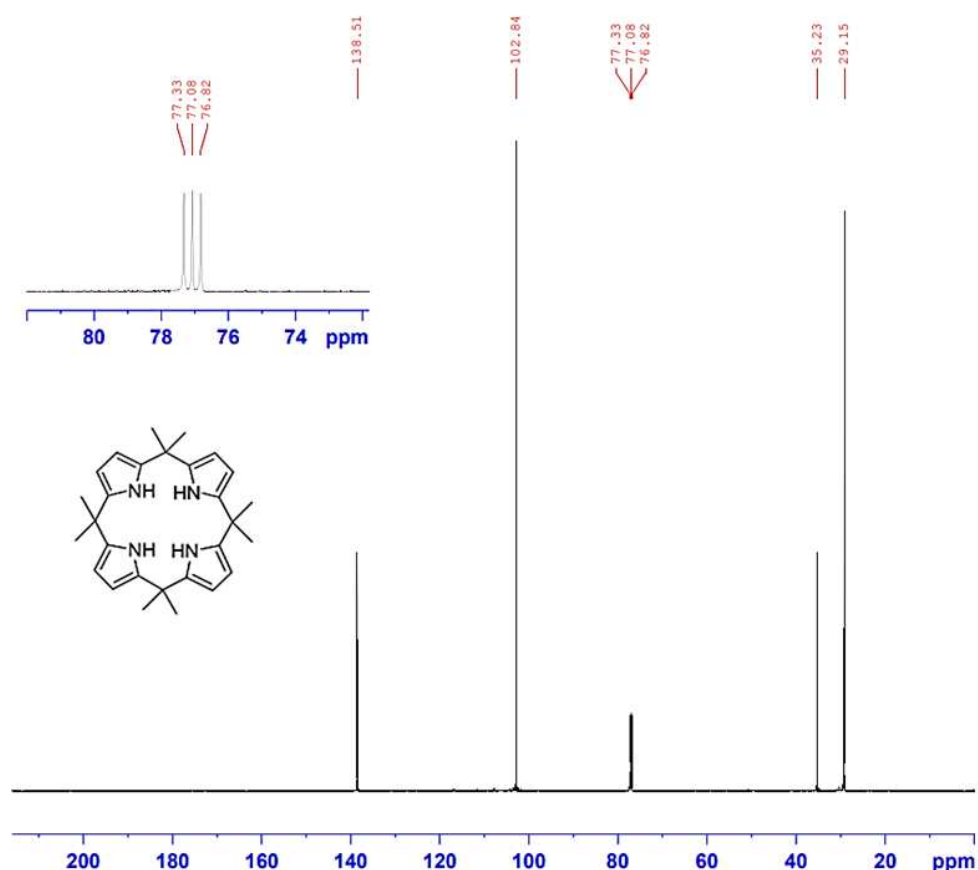


Figura B2: Espectro RMN de ^{13}C do produto da síntese (CDCl_3 , 150Mz)

O espectro de RMN de ^{13}C do composto da Figura B2 apresentou um sinal em forma de singleto a δ 29,15 ppm e 35,23 ppm que correspondem aos grupos CH_3 e metilênicos CH_2 , respectivamente. Um sinal em forma de tripleto entre δ 76,82 a 77,33 ppm que corresponde ao solvente utilizado (CDCl_3), um singleto a δ 102,84 dos carbonos nos grupos β -pirrólicos e outro singleto a δ 138,51 dos carbonos alfas do pirrol na molécula de OMCP ^{[1].1}

Os dados de RMN indicavam, portanto, que o produto obtido na síntese era o meso-octametilcalix[4]pirrol e assim era viável de utilizá-lo em nossa pesquisa para testar sua atividade de interação com nossa espécie de interesse analítico.

¹ Silverstein, R. M [et al]. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 8. Ed. Rio de Janeiro, RJ: LTC, 2019. ISBN 978-85-216-3637-3

ANEXO 1 - FABRICAÇÃO DO TRANSISTOR

Para a fabricação do sistema MOS foram utilizadas lâminas de silício tipo P de 2 polegadas. As lâminas tinham 0,308 mm de espessura, 10^{17} átomos/cm³ de concentração de dopante, orientação cristalográfica 100, resistência de 1,36 Ω .cm, resistência de folha de 6,16 Ω e resistividade de 0,18 Ω .cm. Para a certificação dos tipos de condutividade utilizamos medida de ponta quente. Nesta pesquisa o óxido utilizado foi o oriundo de silício (SiO_2) e o metal de formação dos eletrodos foi de alumínio formando uma estrutura $\text{Al}_2\text{O}_3/\text{SiO}_2/\text{Si}$.

Todas as etapas de fabricação do capacitor MOS são resumidas na Figura AX1 a seguir.

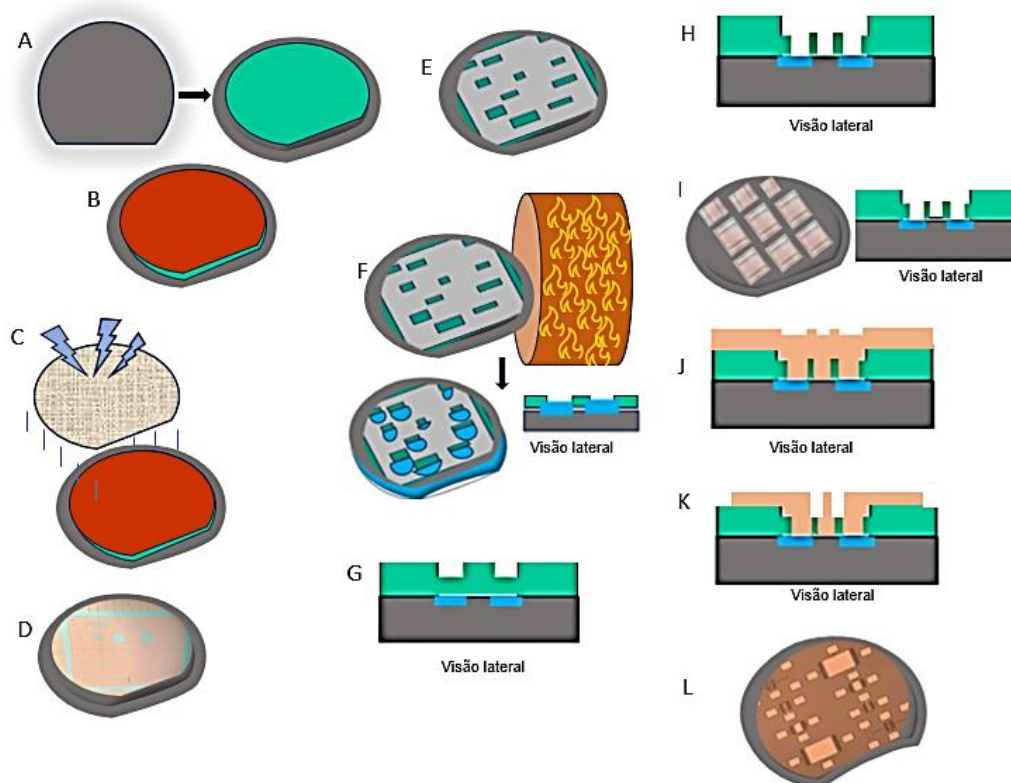


Figura X1: Etapas de microfabricação do capacitor MOS. A= crescimento de óxido na superfície da lâmina; B= aplicação de fotoresiste; C= exposição a luz ultravioleta; D= *etch* do óxido em solução $\text{HF}/\text{NH}_4\text{F}$; E= remoção do fotoresiste; F= difusão de dopante; G= oxidação úmida; H= fotogravação de canais e contatos; I= Fotogravação de contatos; J= Evaporação de alumínio; K= Fotogravação de interconexões e L= capacitor MOS finalizado

Etapa A:

Após caracterização da lâmina foi realizada limpeza padrão completa seguindo a sequência:

- 1- Limpeza piranha: A lâmina foi deixada submergida em uma solução de H_2SO_4 e H_2O_2 na proporção 4:1, respectivamente, a 80°C por 10 minutos;
- 2- A lâmina foi submetida a enxágue com água deionizada $18\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, por 3 minutos e após isso seca por jato de nitrogênio;
- 3- A lâmina foi submergida em solução $\text{HF}/\text{H}_2\text{O}$ proporção 1:10 em temperatura ambiente por 10 segundos;
- 4- Repetiu-se o processo 2;
- 5- Limpeza RCA: A lâmina foi submergida em solução $\text{NH}_4\text{OH}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ proporção 1:1:5 a 80°C por 10 minutos;
- 6- Repetiu-se o processo 2;
- 7- Limpeza RCA: A lâmina foi submergida em solução $\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ proporção 1:1:5 a 80°C por 10 minutos.

Após os procedimentos de limpeza a lâmina passou por processo de oxidação para formação de uma fina camada de óxido de silício para isolamento. Para isso a lâmina foi colocada em forno convencional à temperatura de 1000°C . E os seguintes ambientes de oxidação foram usados.

Tabela 1: Procedimentos de oxidação da lâmina

Ambiente	Tempo (min)	Objetivo
N_2	> 3	Lâmina deixada próxima a saída do forno para evitar choque térmico
O_2	10	Lâmina introduzida ao forno em ambiente de O_2 (Oxidação seca), fluxo de $1\text{L}/\text{min}$
$\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}$	180	Oxidação úmida
O_2	10	Secagem do forno
N_2	10	Recozimento do óxido crescido, retirada de H_2 ;
N_2	> 3	Evitar choque térmico durante a retirada da lâmina do forno

8- Com o uso de um interferômetro foi medida a espessura do óxido formado através da oxidação.

Etapa B:

Aplicou-se sobre a lâmina fotoresiste AZ 1518 por método de *spin coating* a 6000 rpm por 30 segundos. A lâmina foi deixada em chapa aquecedora a 90°C durante 1 minuto.

Etapa C:

Exposição ao UV durante 20 segundos, potência de 9 mW,cm^{-2} com uso de máscara de formação de fonte e dreno. Após foi feita a retirada do resiste não polimerizado utilizando um revelador AZ MIF 300.

Etapa D:

Condicionamento do óxido em solução de $\text{HF/NH}_4\text{F}$

Etapa E:

Limpeza com acetona para a retirada do resiste.

Etapa F:

Etapa de difusão de dopante para a formação das regiões n^+ do sistema MOS. A lâmina foi submetida a um forno de oxidação a 900°C em que o dopante fósforo penetrou para dentro do silício interagindo com este durante 30 min. O dopante foi proveniente de gases de POCl_3 .

Etapa G:

Realizou-se um novo processo de recozimento para aumentar a profundidade da junção do dopante. Posteriormente houve procedimento de oxidação úmida para a formação de óxidos acima da área dopada na etapa anterior. Esse óxido era necessário para a isolamento da trilha metálica da fonte e do dreno.

Etapa H:

Foi realizado um novo processo litográfico utilizando máscara para abrir a área de canal e contatos de fonte e dreno. Para este procedimento os mesmos passos da etapa B, C, D e E são novamente realizados. As etapas de limpeza da lâmina também foram refeitas.

Etapa I:

Um procedimento de oxidação seca foi realizado para o crescimento de uma fina camada de óxido na região de porta do dispositivo MOS e fotogração de

contatos. No forno de oxidação foi colocado tricloroetileno 1% seguindo os mesmos passos da tabela 1, mudando o tempo de oxidação de 180 minutos para 30 minutos. Repetiu-se as etapas de A – E.

Etapa J:

Deposição de Al 1 μm . Inicialmente foi realizada limpeza RCA e em seguida processo de *Sputtering* DC para deposição de alumínio sobre a lâmina. O fluxo de gás argônio foi de 60 sccm, pressão de 10 m Torr, potência de 1000 W e corrente magnetron de 2,7 A por 350 segundos. Isso resultou na formação do eletrodo de porta.

Etapa K:

Formação de interconexões metálicas do dispositivo.

Etapa L:

Sputtering DC de Al 0,5 μm , formação de contato nas costas da lâmina e sinterização de contatos. Foram utilizados os mesmos parâmetros da etapa J com modificação apenas no tempo do processo que foi de 70 segundos.

Cumprida todas as etapas citadas o dispositivo foi submetido a teste de caracterização como medida da tensão de limiar e transcondutância, além de outros parâmetros necessários ao bom uso do sistema.

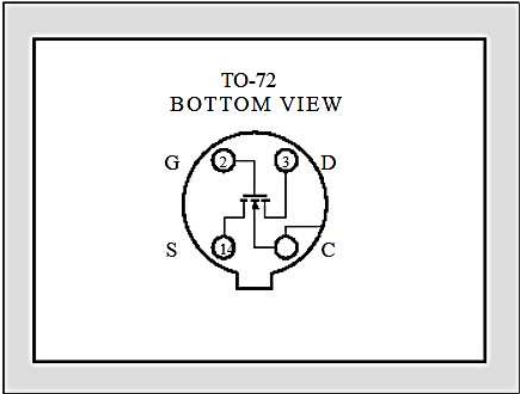
Através da curva capacitância versus tensão foi possível calcular alguns parâmetros gerais e individuais importantes sobre o dispositivo fabricado. Ele possuía espessura de óxido (t_{ox}) de $9,07 \cdot 10^{-6}$ cm; largura de camada de depleção (W_t) igual a $5,06 \cdot 10^{-6}$ cm; concentração de portadores ($N_{A,D}$) $4,59 \cdot 10^{17} \text{cm}^{-3}$; capacitância de “flat-band” (C_{FB}) 93,2 F e cargas efetivas de interface ($Q_{ef/q}$) iguais a $1,97 \cdot 10^{11} \text{cm}^{-2}$.

Cada unidade (DAE) do dispositivo era formado de capacitores MOS com largura de canal de 50 μm por 100 μm de comprimento e de 200 x 200 μm . A transcondutância de cada um desses tamanhos de capacitores foi de $5 \cdot 10^{-6} \text{mS/cm}$ e $2,3 \cdot 10^{-6} \text{mS/cm}$, respectivamente, o que era um valor que contribuía para que o dispositivo tivesse sensibilidade alta mesmo para pequenas variações na voltagem de entrada.

A voltagem de limiar dos capacitores MOS, no entanto, mostraram-se muito altas as aplicações desta pesquisa e devido a isso desconsideramos seu uso ou adaptação para aplicação futura neste estudo e então decidimos utilizar um MOS comercialmente disponível.

ANEXO 2- DATASHEET DO MOSFET COMERCIAL

FEATURES	
DIRECT REPLACEMENT FOR INTERSIL 2N4351	
HIGH DRAIN CURRENT	$I_D = 100\text{mA}$
HIGH GAIN	$g_s = 1000\mu\text{S}$
ABSOLUTE MAXIMUM RATINGS ¹	
@ 25 °C (unless otherwise stated)	
Maximum Temperatures	
Storage Temperature	-65 to +200 °C
Operating Junction Temperature	-55 to +150 °C
Maximum Power Dissipation	
Continuous Power Dissipation	375mW
Maximum Current	
Drain to Source	100mA
Maximum Voltages	
Drain to Body	25V
Drain to Source	25V
Peak Gate to Source ²	±125V



* Body tied to Case.

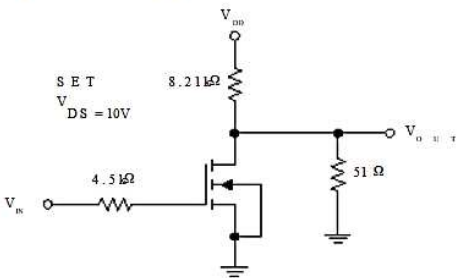
ELECTRICAL CHARACTERISTICS @ 25 °C (unless otherwise stated) ($V_{SB} = 0\text{V}$ unless otherwise stated)

SYMBOL	CHARACTERISTIC	MIN	TYP	MAX	UNITS	CONDITIONS
$B V_{DSS}$	Drain to Source Breakdown Voltage	25			V	$I_D = 10\mu\text{A}, V_{GS} = 0\text{V}$
$V_{DS(on)}$	Drain to Source "On" Voltage			1		$I_D = 2\text{mA}, V_{GS} = 10\text{V}$
$V_{GS(th)}$	Gate to Source Threshold Voltage	1		5		$V_{DS} = 10\text{V}, I_D = 10\mu\text{A}$
I_{GSS}	Gate Leakage Current			10	pA	$V_{GS} = \pm 30\text{V}, V_{DS} = 0\text{V}$
I_{DSS}	Drain Leakage Current "Off"			10	nA	$V_{DS} = 10\text{V}, V_{GS} = 0\text{V}$
$I_{D(on)}$	Drain Current "On"	3			mA	$V_{GS} = 10\text{V}, V_{DS} = 10\text{V}$
g_s	Forward Transconductance	1000			μS	$V_{DS} = 10\text{V}, I_D = 2\text{mA}, f = 1\text{MHz}$
$r_{DS(on)}$	Drain to Source "On" Resistance			300	Ω	$V_{GS} = 10\text{V}, I_D = 0\text{A}, f = 1\text{kHz}$
C_{iss}	Reverse Transfer Capacitance			1.3	pF	$V_{DS} = 0\text{V}, V_{GS} = 0\text{V}, f = 140\text{kHz}$
C_{iss}	Input Capacitance			5.0		$V_{DS} = 10\text{V}, V_{GS} = 0\text{V}, f = 140\text{kHz}$
C_{db}	Drain to Body Capacitance			5.0		$V_{DS} = 10\text{V}, f = 140\text{kHz}$

SWITCHING CHARACTERISTICS

SYMBOL	CHARACTERISTIC	MAX	UNITS
$t_{d(on)}$	Turn On Delay Time	45	ns
t_r	Turn On Rise Time	65	
$t_{d(off)}$	Turn Off Delay Time	60	
t_f	Turn Off Fall Time	100	

SWITCHING TEST CIRCUIT



TIMING WAVEFORMS

