universität wien

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

„Konstruktion und Optimierung eines auf Graphen basierenden Feld Effekt Transistor Devices “

Verfasser

Ciril Rozman

angestrebter akademischer Grad

Magister (Mag.)

Wien, 2013

Studienkennzahl lt. Studienblatt:	A0504192
Studienrichtung lt. Studienblatt:	Dipl. Physik (411)
Betreuerin / Betreuer:	Prof. Dr. Wolfgang Knoll

Die vorliegende Arbeit wurde am Austrian Institute of Technology – AIT in Wien im Zeitraum zwischen Dezember 2011 und August 2012 angefertigt.

Vorwort

In dieser Diplomarbeit wird ein neuartiger Biosensor auf Graphen Basis entwickelt und auf Funktionalität überprüft. Hierzu werden eine Reihe von elektrischen Detektionsmessungen durchgeführt, bei denen der hergestellte Feldeffekttransistor (FET) in der liquid-gate Konfiguration betrieben wird. Zur sensitiven Detektion von unterschiedlichen Salzkonzentrationen und pH-Wert Schwankungen in Elektrolyten, als auch zur konzentrationsabhängigen Detektion von Biomolekülen in Flüssigkeiten steht des weiteren die Konstruktion einer geeigneten Durchflusszelle im Vordergrund der Aufgabenstellung. Durch die angefertigte Durchflusszelle wird nicht nur eine Reproduzierbarkeit der FET-Messungen (u.a. Detektionsvolumen, Durchflussrate) sichergestellt, sondern auch eine Abschirmung nach außen gewährleistet.

Im Einzelnen wurde zunächst Graphen hergestellt und charakterisiert, ein geeignetes Substrat zur Herstellung des FET gewählt und eine Auftragsmethode für das Graphen gewählt. Zur Kontaktierung des Graphens auf dem Substrat mittels Goldelektroden wurde eine Schablonenmaske für zur Goldbedampfung entwickelt. Für die zu konstruierende Durchflusszelle wurden schrittweise 3 Prototypen hergestellt und jeweils leicht modifiziert. Sie mussten entsprechend geplant und dimensioniert werden, laminaren Fluss und reproduzierbare Messungen gewährleisten. Mit einem hochsensitiven Multimeter von Keithley wurden Versuchsmessungen der Ionenstärken eines Elektrolyts, pH-Bestimmnung sowie die Detektion von Proteinen (BSA) durchgeführt und reproduziert. Damit soll ein grundlegender Messaufbau für die Detektion von Biomolekülen auf Graphen reproduzierbar gestaltet werden.

Übersicht

1. Grundlagen

1.1. Graphen ….....1
- **1.1.1.** Struktur ….....1
- **1.1.2.** Elektrische Eigenschaften ….....2
- **1.1.3.** Herstellungsmethoden ….....5
  - **1.1.3.1.** Nasschemische Verfahren
  - **1.1.3.2.** Chemical Vapor Deposition
  - **1.1.3.3.** Scotch Tape Method

1.2. Feld Effekt Transistoren ….....7
- **1.2.1.** Aufbau ….....7
- **1.2.2.** Charakterisierung ….....8
- **1.2.3.** FET-Typen ….....9
  - **1.2.3.1.** JFET
  - **1.2.3.2.** MOSFET
  - **1.2.3.3.** OFET
  - **1.2.3.4.** NanoFETs

1.3. Biosensing ….....12
- **1.3.1.** Grundlagen ….....12
- **1.3.2.** Anbindungsanalyse auf Oberflächen (Graphen)….....12

1.4. Graphene-FET als Biosensor.....15
- **1.4.1.** Bauformen Graphen-FET ….....15
  - **1.4.1.1.** top-gated
  - **1.4.1.2.** back-gated
  - **1.4.1.3.** liquid-gated

1.5. Flusszellen ….....18
- **1.5.1.** Makro/Mikrofluidic ….....18
- **1.5.2.** Materialien ….....19

2. Material und Methoden

2.1. Übersicht der verwendeten Materialien ….....21
- **2.1.1.** Materialien und Geräte ….....21
- **2.1.2.** Verwendete Software ….....22
- **2.1.3.** Verwendete Chemikalien ….....22

2.1.4. Lösungen ….....23

2.2. Synthese von Graphen-Oxid Lösung ….....25

2.3. Herstellung der FFT's ….....26
2.3.1. Vorbehandlung der Silicium-Wafer ….....26
2.3.2. Funktionalisierung der Oberfläche ….....26
2.3.3. Auftrag der Graphen-Oxid Lösung ….....26
2.3.4. Reduktion von Graphen-Oxid ….....27
2.3.5. Charakterisierung von Graphen ….....27

2.4. Kontaktierung des FET ….....28
2.4.1. Betrachtung als Kondensator ….....28
2.4.2. Wahl der Abmessungen ….....29
2.4.3. Auftretende Schatteneffekten ….....30
2.4.4. Bedampfung

2.5. Konstruktion der Durchflusszelle ….....30
2.5.1. Design und FET Einbau ….....30
2.5.2. Durchflusskanal ….....31
2.5.3. Gate-Elektrode ….....32
2.5.4. Kontaktierung ….....32
2.5.5. Materialien für die Zellfertigung ….....32

2.6. Durchführung der Messungen 33
2.6.1. Messinstrumente und Software ….....33
2.6.2. Pump- und Schlauchsystem ….....33
2.6.3. Isolation ….....33

2.7. Charakterisierung der Graphen FET ….....34
2.7.1. I_DV_D und I_DV_G Kennlinien ….....34
2.7.1.1. I_DV_D
2.7.1.2. I_DV_G
2.7.1.3. I_DT (Kinetik)

2.8. Ionenstärke und pH-Messungen ….....35

2.9. Detektion von Biomolekülen ….....35
2.9.1. Detektionsprinzip ….....36
2.9.2. Durchführung der Messungen ….....36

3. Messergebnisse

3.1. Untersuchungen der Graphen-Oxid Lösung ….....37

3.1.1. Konzentration in hergestellter Lösung ….....37

3.2. Hydrazinreduktion ….....38

3.2.1. Photoelektronenspektroskopie (XPS) ….....38

3.2.2. Auswirkungen der Positionierung ….....38

3.3. Charakterisierung des Graphens ….....40

3.3.1. Bestimmung der Schichtdicke mittels AFM ….....40

3.3.2. Untersuchung mittels SEM ….....41

3.3.3. Auftragsmethoden des GO ….....42

3.4. Bedampfung der Goldelektroden ….....42

3.4.1. Schablonenhalterung ….....42

3.4.2. Bedampfungsmaske ….....43

3.4.3. Überprüfung der Spaltbreite ….....44

3.5. Durchflusszelle ….....45

3.5.1. Version 1 ….....45

3.5.2. Version 2 ….....46

3.5.3. Version 3 ….....47

3.6. Überprüfung der Kennlinien der hergestellten FET …..48

3.6.1. I_DV_D ….....48

3.6.2. I_DV_G 48

3.7. Detektion der Ionenstärke einer Pufferlösung ….....49

3.7.1. Hohe Ionenstärken ….....49

3.7.2. Niedrige Ionenstärken ….....50

3.7.3. Variation der Gate-Spannung ….....52

3.8. pH-Wert Analyse ….....54

3.8.1. Intervall pH4-pH8 (0.5 Schritte) ….....54

3.8.2. Intervall pH6-pH7 (0.1 Schritte) ….....57

3.9. Detektion von bovine serum albumin ….....60

3.9.1. Abhängigkeit von der Ionenstärke ….....60

3.9.2. Messung der Sättigung (Langmuir-Modell) ….....62

3.9.3. Bestimmung des Detektionslimits ….....64

4. Diskussion

4.1. Untersuchung der hergestellten GO-Lösung ….....65
4.1.1. GO Konzentration ….....65
4.1.2. Charakterisierung der Schichtdicke ….....65

4.2. Reduktion des GO mittels Hydrazin ….....67
4.2.1. XPS ….....67
4.2.2. Auswirkungen der Positionierung ….....67
4.2.3. Wahl der Herstellungsmethode ….....….....67

4.3. Verteilung des Graphen auf den Wafern ….....68
4.3.1. Untersuchung mittels SEM ….....68
4.3.2. Wahl der GO-Auftragsmethode ….....68

4.4. Bedampfung der Goldelektroden ….....69
4.4.1. Bedampfungsmaterialien ….....70

4.5. Durchflusszelle ….....71

4.6. Diskussion der Kennlinien ….....73
4.6.1. I_DV_D ….....73
4.6.2. I_DV_G ….....73

4.7. Ionenstärke ….....74
4.7.1. Hohe Ionenstärken ….....74
4.7.2. Niedrige Ionenstärken ….....74
4.7.3. Detektion bei verschiedenen Gate-Spannungen ….....….....74

4.8. pH-Detektion ….....75
4.8.1. Intervall pH4-pH8 (0.5 Schritte) ….....75
4.8.2. Intervall pH6-pH7 (0.1 Schritte) ….....75

4.9. Detektion von BSA ….....76
4.9.1. Abhängigkeit von der Ionenstärke 76
4.9.1.1. Kinetik
4.9.1.2. I_DV_G
4.9.2. Bestimmung des Detektionslimits ….....78
4.9.3. Titrationsmessung ….....78

5. Zusammenfassung ….....80

6. Ausblick ….....81
6.1. Weiter Anwendungsmöglichkeiten ….....81
6.2. Ziel ….....82

A Abkürzungen ….....….....83

B Curriculum Vitae ….....….....84

C Literaturverzeichnis ….....….....85

1. Grundlagen

1.1. Graphen

Graphen ist ein Allotrop des Kohlenstoffs. Die vier Valenzelektronen besetzen bei Kohlenstoff im elementaren Zustand die 2s und 2p Orbitale.

1.1.1. Struktur

Bei idealem Graphen kann von einer einzelnen Graphitlage ausgegangen werden, über seine Stabilität wurde allerdings bis 2004 kontrovers diskutiert [6,7]. Erst seit 2004, durch die grundlegenden Arbeiten von Geim, Novoselov und Mitarbeitern wurde Graphen genauer beschrieben [6,8-10]. Hierbei handelt es sich um ein Nanomaterial mit monoatomarer Schichtdicke, das aus hexagonal angeordneten, sp2-hybridisierten Kohlenstoffatomen besteht. (Abb.1)

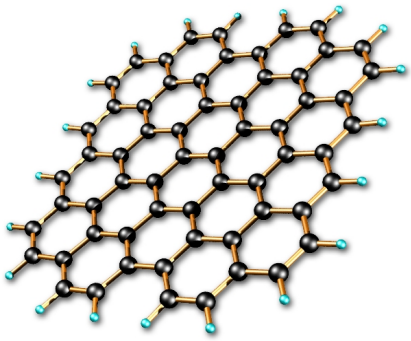


Abb.1) *Graphen-Gitter:hexagonale Struktur [87]*

Kristallographisch wird es als Bravaisgitter mit zwei Atomen in der Basis und hexagonaler Wigner-Seitz Zelle beschrieben [11]. Die erste Brillouin hat ebenfalls diese Form, ist allerdings um 90 Grad dazu gedreht. (Abb.1)

Dass die Struktur nicht durch thermische Fluktuationen aufgelöst werden kann [12,13] ist auf die starken kovalenten σ - Bindungen zwischen dem 2s und den $2p_x$ und $2p_y$ Orbitalen und ein leichtes Knittern oder Wellen des Graphens zurückzuführen, da so ein thermodynamisch stabilerer Zustand erreicht wird (Abb.2) [8, 9]. Graphen bildet ein sehr steifes Gitter [14], deshalb können Elektronen nur schwer Phononen anregen, da diese so hochenergetisch sind. Daraus resultiert die höchste Wärmeleitfähigkeit aller Nanomaterialien [15,16] und die Entkopplung der Temperatur der Elektronen von der des Gitters auch bei Raumtemperatur, weshalb man beim Anlegen eines Wärmegradienten am Graphen ein elektrisches Feld beobachten oder bei Lichteinfall einen elektrischen Strom messen kann [17].

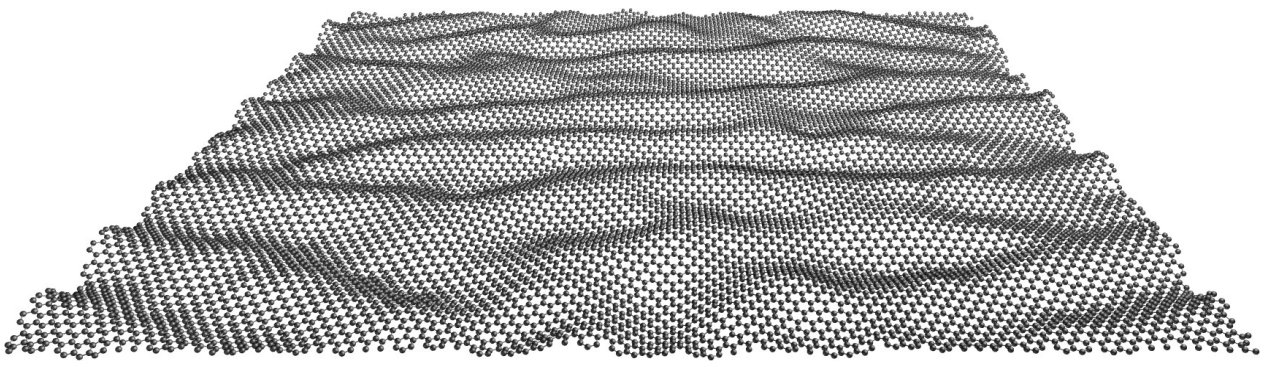


Abb.2) *schematische Darstellung der Unebenheiten von Graphen, copyright by* [1]

Die Struktur von realen Graphen ist aber komplexer, zumeist sind Multilagen, Bruchstellen, Verunreinigungen, Falten, eingerollte Ränder oder andere Strukturfehler zu finden [9,18].

1.1.2. elektrische Eigenschaften

Da die $2p_z$ -Elektronen in Graphen schwach gebunden sind ($\pi-$Bindung), haben sie sehr hohe Beweglichkeiten [19] und stehen für den Ladungsträgertransport zur Verfügung [6]. Um ein Verständniss der elektrischen Eigenschaften -der Bandstruktur- zu ermöglichen, ist zunächst die Betrachtung des Problems in einer Dimension nötig [11].

Die Schrödingergleichung $H\psi(k,x)=E(k)\psi(k,x)$ für ein Elektron im periodischen 1D-Gitter führt zur Disperionsrelation

$$\cos ka=\cos \gamma a+D\frac{\sin \gamma a}{\gamma a} \quad , \qquad \text{mit} \quad D=(ma\frac{C}{\hbar^2}) \;;\; \gamma=\frac{\sqrt{2mE}}{\hbar^2} \quad . \text{(Gl.1)}$$

Die Randbedingung (Rbd.) des periodischen Gitters in 1D werden Kronig-Renney Modell genannt und mathematisch durch gewichtete Deltafunktionen $(C\delta)$ im Atomabstand *a* wiedergegeben. Zu allen Energien, die eine Lösung dieser Dipersionsrelation zulassen ($\cos ka \leqslant \pm 1$), gibt es ein Menge von Wellenzahlen, die mit der Periodizität der Cosinusfunktion $(2n\pi)$ entsprechend der n-ten (n=1,2,3...) Brillouin Zone zugeteilt werden. Da die rechte Seite der Dispersionsrelation i.A. größer als 1 werden kann, enstehen Energiebereiche in denen sich das Elektron nicht aufhalten kann – die sogenannten Bandlücken [11].

Die Elektronen werden so den jeweiligen Bändern zugeteilt, die durch Lücken von einander getrennt sind (Abb.3). Dies wird durch das Bändermodell anschaulich beschrieben.

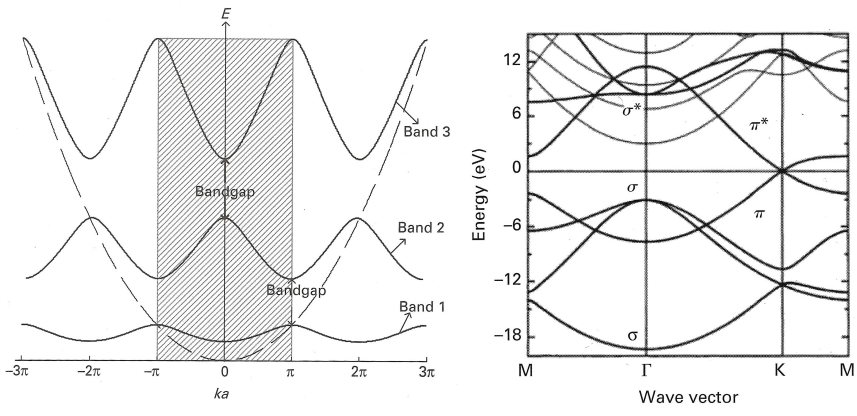


Abb.3) *a) Bandstruktur des Kronig-Renney Modells; grauer Bereich markiert 1.Brillouin Zone [copyright Wong et. al.* [11]*] b) ab initio Berechnung der Bandstruktur von Graphen. Wellenvektoren beziehen sich auf die 1.Brillouin Zone: Γ...Zentrum, K...Eckpunkt, M...Mittelpunkt einer Seite, die K beinhaltet. [copyright by Machón et al.* [20]*]*

Graphen ist allerdings ein zweidimensionales Material, welches als Kristall angesehen werden kann. Dadurch sind nur jene Wellenfunktionen als Lösung der Schrödingergleichung zulässig die das Bloch-Theorem $\psi(r+R)=e^{ik\cdot R}\psi(r)$ (R=Bravaisgittervektor) sowie geeignete periodische Randbedingungen erfüllen. Für diese gibt es verschiedene Ansätze, die genaue Berechnung der Wellenfunktionen kann der entsprechenden Literatur entnommen werden [6]. Die daraus folgende Bandstruktur ist in Abb.4b zu erkennen. Graphen erweist sich als bandlückenfreier Halbleiter (Zero-Gap-Semiconductor), mit richtungsabhängigem Verhalten, so kann Graphen in manche Richtungen metallische, in andere dagegen halbleitende Eigenschaften aufweisen [126]. Ladungsträger können so im Graphen streuungsfrei Distanzen von mehreren tausend Atomabständen zurücklegen und Geschwindigkeiten von bis zu 10^6 m s^{-1} erreichen [6,21,22] .

Eine genauere quantenmechanische Beschreibung für die Transportprozesse in Graphen fanden Geim und Novoselov 2004 [6,8-10] mit der relativistische Diracgleichung unter Verwendung des Modells eines zweidimensionalen Dirac-Fermionen Gases. Im Magnetischen Feld ist eine Quantelung der Energie der Landungsträger zu beobachten. Die dadurch beobachteten verschiedenen Energielevel werden Landauniveaus genannt. Die Lösungen der Diracgleichung zum Index *n* ergeben die Energieeigenwerte des Systems, die zum *n*-ten Landauband gehören. Die Landauniveaus hängen bei Graphen nicht von *n* sondern *n+1/2* ab. Daraus folgt, dass die Leitfähigkeit von Graphen niemals unter einen Minimalwert sinken kann, selbst dann nicht wenn die Ladungsträgerdichte gegen Null geht, am so genannten Dirac-Punkt, wo der Wechsel der Ladungsträger von Elektronen zu Elektronenlöchern stattfindet. Es zeigt sich auch, dass die Masse, der für den Ladungstransport verantwortlichen Teilchen, in idealem Graphen gegen null geht (Geim und Novoselov sprechen von masselosen Elektronen oder mit *e* geladenen Neutrinos). Auffällig ist auch, dass der Quanten Hall-Effekt (QHE) selbst bei Raumtemperatur zu beobachten ist, da dieser bei anderen Materialien nur bei $T\to 0$ in Erscheinung tritt. Dadurch kann man die Landauniveaus von Graphene experimentell recht einfach durch anlegen eines Magnetfeldes (realisiert durch Gate-Spannung – siehe Kapitel 1.2. FET) ermitteln [23].

Wärend die Elektronenbeweglichkeit einer Monoschicht in der Nähe des absoluten Nullpunkts mit Beweglichkeiten von bis zu 230000$cm^2V^{-1}s^{-1}$ und bei Raumtemperatur mit 10000$cm^2V^{-1}s^{-1}$ als Zero-Gap Halbleiter in Erscheinung tritt [6,10], ist der Übergang zu mehrschichtigen Graphen eher fließend. Zwei Schichten verhalten sich auch bandlückenfrei bis eine Gate-Spannung angelegt wird[24], allerdings haben die Ladungsträger hier schon eine Masse von $\approx 0.05\, m_e$. Im Falle von bis zu drei Schichten wurde eine Beweglichkeit von 15000$cm^2V^{-1}s^{-1}$ und halbmetallische Eigenschaften beobachtet [25,26]. Zwischen 5 und 10 Lagen beginnen sich die elektrischen

Eigenschaften signifikant zu ändern, ab 10-12 Schichten nähert sich das Verhalten dann schon dem von Graphit (Isolator) an [27].

Reales Graphen ist immer ein extrinstischer Halbleiter, da es fast immer Verunreinigungen aufweist. Dies geschieht wegen der Oxidation an Luft oder auch wegen eingebundenen Fremdatomen, die abhängig vom verwendeten Herstellungsprozess über bleiben können. Es gibt verschiedene Modelle den Ladungsträgertransport in solchen realen organischen Medien zu beschreiben, zB. Multiple Trapping & Release (MTR), wobei hier die Annahme gilt, dass die Ladungträger im Medium lokal in Potentialsenken gefangen sind, jedoch durch Energiezufuhr befreit werden können. Solche inhomogenen Potentiale können durch Materialfehler oder Fremdatome entstehen [28,29]. In Tabelle 1 ist eine Auflistung der physikalischen Eigenschaften realen Graphens zu finden.

Tabelle 1) Physikalische Eigenschaften von Graphen (monolayer) :

Wärmeleitfähigkeit	~ 600	$\frac{W}{m\ K}$	[15]
Elastizitätsmodul[2D]	E ~ 340 D ~ -690	$\frac{N}{m}$	*Isotrope Annahme [14] $\sigma = E\,\epsilon + D\,\epsilon^2$
Zugfestigkeit	R_m ~ 125	GPa	[14]
Spezifische Kapazität	C ~ 205	$\frac{F}{g}$	[30]
Elektronenbeweglichkeit (23°C)	σ bis 15000	$\frac{cm^2}{V^1 s^1}$	[6]
Dichte	ρ ~ 7,57 ×10^{-7}	$\frac{g}{cm^2}$	[31]
Schichtdicke	~ 3,35 ×10^{-10}	m	[31]
el. Permitivität	2,4	-	[32]

1.1.3. Herstellung von Graphen

Seitdem Graphen durch Geim und Novoselov charakterisiert und reproduzierbar hergestellt wurde und dem damit einhergegangenen Erfolg gibt es eine immer weiter steigende Anzahl von Wissenschaftlern, die sich der Herstellung widmen und damit auch immer mehr Variationen und neue Techniken entwickeln [33]. Dazu ein Überblick über die wichtigsten Methoden:

1.1.3.1. Wet Chemical Method

Ausgehend von Graphit wird bei dieser Methode durch Oxidation Graphit-Oxid hergestellt, welches die Grundlage zur Herstellung von Graphen ist. Hergestellt wurde. Allerdings liegt erst seit Hummer's Methode [34] (1957) die erste nasschemische Methode zur schnellen und ungefährlichen Herstellung von Graphit-Oxid vor. Als Oxidationsmittel dienen hierbei Schwefelsäure und Kaliumpermanganat.

Zur nasschemischen Herstellung von Graphen wird Graphit-Oxid durch Energiezufuhr (zumeist mittels Ultraschall und Rühren) behandelt, damit werden dann die deutlich schwächeren van-der Waals Bindungen zwischen den einzelnen Schichten gelöst. Daraus resultieren eine Vielzahl von verschieden großen Graphenoxid-Flocken (auch flakes), welche sp3-hybridisiert sind. Diese werden anschließend durch geeignete Reduktionsmittel wie z.B. durch Hydrazin [35], Ascorbinsäure [36,37], Pyrogallol [37] oder sogar Teelösung [38] reduziert um die Oxidverbindungen der sauerstoffhaltigen Gruppen (zB. Hydroxy und Epoxy-Gruppen) wieder zu entfernen. Aufgrund dieser Gruppen verhält sich das Graphenoxid hydrophil, was eine Disperison mit Wasser ermöglicht. Dies kann als Vorteil angesehen werden, da der Auftrag auf ein Substrat so erleichtert wird. Durch die Reduktion werden die sauerstoffhaltigen Gruppen entfernt und so die Struktur einer einzelnen Lage Graphit wiederhergestellt. Allerdings weist das nasschemisch hergestellte Graphen selbst nach der Reduktion meist noch immer Überreste der sauerstoffhaltigen Gruppen auf [39,40] , so verfügt es über leicht abweichende Eigenschaften im Vergleich zu reinem Graphen, da Graphenoxid ein elektrischer Isolator ist. Allerdings kommen die elektrischen Eigenschaften von nasschemisch hergstellten Graphen, bei guter Reduktion, denen von idealem sehr nahe. Das so gewonnene Graphen ist dadurch für viele Anwendungen geeignet [41].

1.1.3.2. Chemical Vapor Disposition (CVD)

Die chemische Wasserdampfemulsion beruht auf der Ablagerung von Kohlenstoff aus einer Gasphase (Methangas) auf einer bis auf 1000°C erhitzten Oberfläche (meist Kupfer oder Nickelfolie) im Vakuum [42]. Als Kohlenstoffquelle wird dabei Methangas verwendet.
So kann auf einem Substrat eine Schicht reinen Graphens "aufgewachsen" werden, allerdings sind dafür hohe Temperaturen, also ein spezieller Hochvakuumofen erforderlich. Zusätzlich erweist sich bei den meisten dafür verwendeten Substraten der Übertrag des Graphens auf einen gewünschten Untergrund als schwierig. Untersuchungen des so hergestellten Graphens zeigten, dass dieser Prozess oft zu eingerollten Rändern oder inhomogener Verteilung, so genannten „Graphen-Inseln“ und „-Tälern“, führen kann [43]. Das so gewonnene Graphen unterscheidet sich deshalb in seinen Eigenschaften signifikant von z.B. nasschemisch hergestelltem.

1.1.3.3. Scotch Tape Method

Die Scotch Tape Methode ist eine rein mechanische Methode, bei der mittels einer Adhäsionsschicht auf einem Substrat versucht wird einzelne Lagen von hochwertigem Graphit abzuziehen [9]. Der Name bezieht sich auf den Versuch mittels eines Klebebandes Monolayer zu gewinnen. Mit dieser Methode wurden die bisher größten Graphenflakes gemessen, allerdings ist es, auf grund der diffizilen Arbeitsschritte, nicht möglich größere Mengen herzustellen. Das so gewonnene Graphen ist aber meist mit Fremdatomen vermischt, weist oft Multilayer auf. Zudem erfordert das Übertragen der abgezogenen Schichten auf ein geeignetes Substrat weitere spezielle Techniken, was die Produktion vieler Bauteile erschwert. Dadurch ist diese Methode nicht geeignet um größere Mengen Graphens (schon gar nicht in einem industriellen Maßstab) herzustellen.

1.2. Feld Effekt Transistor (FET)

Grundsätzlich unterscheidet man zwischen Bipolar- und Feldeffekt-Transistoren, wobei im Zusammenhang mit dieser Arbeit, nur FETs beschrieben werden. Feldeffekttransistoren basieren auf den Eigenschaften von Halbleitern und den Kirchhoff'schen Regeln. Das sie über die Spannung angesteuert werden, unterscheidet sie von Bipolartransistoren, welche über den Strom justiert werden. In den 1940er Jahren [44] wurde der FET entdeckt, ersetzte die Vakuumröhren und wurde auch mit dem Nobelpreis 1956 geehrt.

1.1.2. Aufbau

Für die Realisierung eines FETs wird ein Halbleiter als Kontaktelement (Kanal / Channel) in einen elektrischen Schaltkreis eingebaut (Abb.4). Zusätzlich wird eine Spannung an den Halbleiter angelegt (Gate), mit welcher man die Ladungsträgerdichte und somit den Widerstand im Kanal bzw. die Bandlücken regulieren kann. Im Betrieb wird eine Spannungsquelle zwischen den Source und Drain Kontakten angeschlossen.

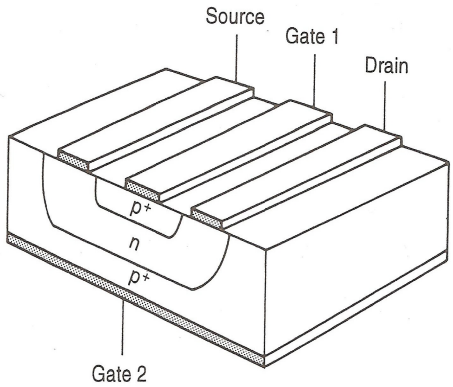


Abb.4) *Aufbau eines JFET,* [2]

Im einfachsten Beispiel wird ein FET als Schaltelement verwendet, um bei konstant angelegter Source-Drain Spannung den Strom im Kanal durch geringe Variation der Gate-Spannung zu regulieren .

Abhängig vom Halbleiter wird zwischen n-Kanal -wo Elektronen- bzw. p-Kanal -wo Elektronenlöcher- für den Ladungstransport verantwortlich sind, unterschieden. Beim p-Typ erreicht man erst durch Anlegen einer Spannung am Gate einen Stromfluss zwischen Source und Drain. Der n-Typ hingegen ist selbstleitend, d.h Strom kann auch ohne Gate Spannung durch den Kanal fließen [45].

1.2.2. Charakterisierung

Eine vollständige Beschreibung eines FET wird durch die entsprechenden Kennlinien ($I_{DS}V_{DS}$ & $I_{DS}V_{GS}$ [bezogen auf Source; kurz: IDVD / IDVG]) gegeben. (Abb.5 und 6)

Eine I_DV_G-Kennlinie gibt das Verhältnis des Stroms im Kanal zur angelegten Spannung am Gate an. Aus diesen Kennlinien sind die elektrischen Eigenschaften des verwendeten Halbleiters, insbesondere die Dotierung, ablesbar. Allerdings beeinflussen auch das als Gateisolator verwendete Medium, sowie molekularen Änderungen am Halbleiter (zB. Anbingungen oder Reaktionen mit Fremdsubstanzen) die Form dieser Kurven.

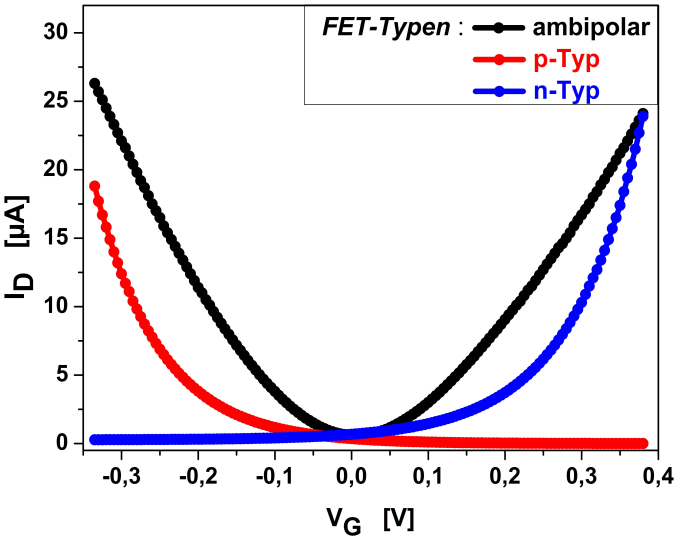


Abb.5) *IDVG Kennlinien der 3 Dotierungstypen*

Halbleiter bei denen der Kanal-Typ nur davon abhängt ob die angelegte Gate-Spannung positiv oder negativ ist, nennt man ambipolar. Sie erfüllen die Charakteristika von n-Kanal und p-Kanal Typ, welche jeweils nur bei positiver bzw. negativer V_G leitend sind. (Abb.5) Dabei wird die Gate-Spannung bei der ein Übergang der Ladungsträger von Elektronen zu Löchern erfolgt, Schwellspannung genannt.

Eine IDVD - Transistorlinie ist im Allgemeinen nicht vollständig linear, da sich beim Anlgegen einer hoher Spannung (V_{DS}) der Kanal graduell mit Elektronen sättigt. Bei niedrigen Spannungen, fernab von diesem Sättigungsbereich, kann man allerdings einen lineren IDVD - Verlauf erwarten. (Abb.6)

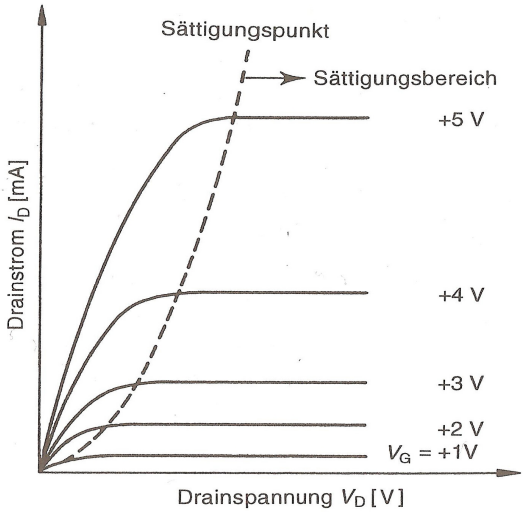


Abb. 6) *I_DV_D Kennlinien eines JFET, copyright by* [2]

Wünscht man hohe Sensitivität, ist es von Vorteil die Halbleiterkanalbreite eines FET zu minimieren, da damit die Leitfähigkeit der Anordnung und somit die Steilheit der Kennlinien erhöht werden kann, was zu stärkerem Signal führt. Als Halbleiter werden u.a. Germanium (Gr), Galliumarsenid (GaAs), Zinkoxid (ZnO) verwendet. Am weitesten verbreitet ist jedoch Silicium (Si), welches man in fast jedem elektronischen Produkt finden kann.

Sehr wichtig bei der Realisierung eines FET sind die Kontaktstellen zwischen den Materialien. Führt man zwei unterschiedliche Materialien nahtlos aneinander, so gleichen sich deren Fermienergien aus und nehmen den gleichen Wert an. Abhängig von den Austrittsarbeiten um ein Elektron aus dem entsprechenden Material zu lösen und der Anordnung der Energiebänder können so an den Kontaktstellen Potential -senken oder -höhen (bei pos. oder neg. angelegter Spannung) entstehen, so genannte Verarmungsschichten, was für Ladungsträger ein Hinderniss darstellen kann. Beim Übergang von Metallen zu Halbleitern kann man zwischen einem Ohmschen Kontakt, bei welchem die Ladungsträger ungehindert den Materialübergang passieren können, und einem gleichrichtenden Kontakt (Schottky-Kontakt), welcher im Fall der Potentialminima bzw. Maxima am Übergang vorliegt, unterscheiden. Durch einfache Subtraktion der Austrittsarbeiten (ϕ_{MET}, ϕ_{HL}), kann man die Kontaktspannung $V_C = (\phi_{MET} - \phi_{HL})/e$ berechnen und mit ihr eine Vorhersage treffen. Ist dabei $V_C < 0$ handelt es sich um einen Ohmschen, sonst um einen gleichrichtenden Kontakt. [2]

Des weiteren sind an den Materialübergängen der Thomson-, Seebeck- und Peltier- Effekt zu beachten, vor allem da sie sich bei Stromfluss selbst verstärken. Der Peltier Effekt führt zu einem Temperaturgradienten bei Stromfluss durch Grenzschichten, was einen Seebeckeffekt induziert. Dadurch bildet sich eine Potentialdifferenz im Leiter aus. Der Thomsoneffekt besagt, dass im homogenen stromdurchflossenen Leiter Erwärmung oder Kühlung auftritt, solange längs ein Temperaturgefälle herrscht, welches ja durch den Peltiereffekt erzeugt wird [2].

1.2.3. FET-Typen

Wenn das im FET verbaute Halbleitermaterial rein, ohne Fremdatome vorliegt, spricht man von einem intristischen Halbleiter. Extristische Halbleiter werden nach bedarf mit Fremdatomen versetzt (dotiert), die als Donatoren für Leitungselektronen dienen. Bei Silizium z.B. bewirkt das versetzen mit einem 3-wertiges Element eine p-Dotierung, mit einem 5-wertigen eine n-Dotierung.
Die meist verwendeten Typen des FET sind Junction-FET (JFET) und Metal-Oxide-Semiconductor-FET (MOSFET), allerdings gibt es darüber hinaus noch eine Vielzahl sehr spezieller Abwandlungen (Abb.7) [46-48] .

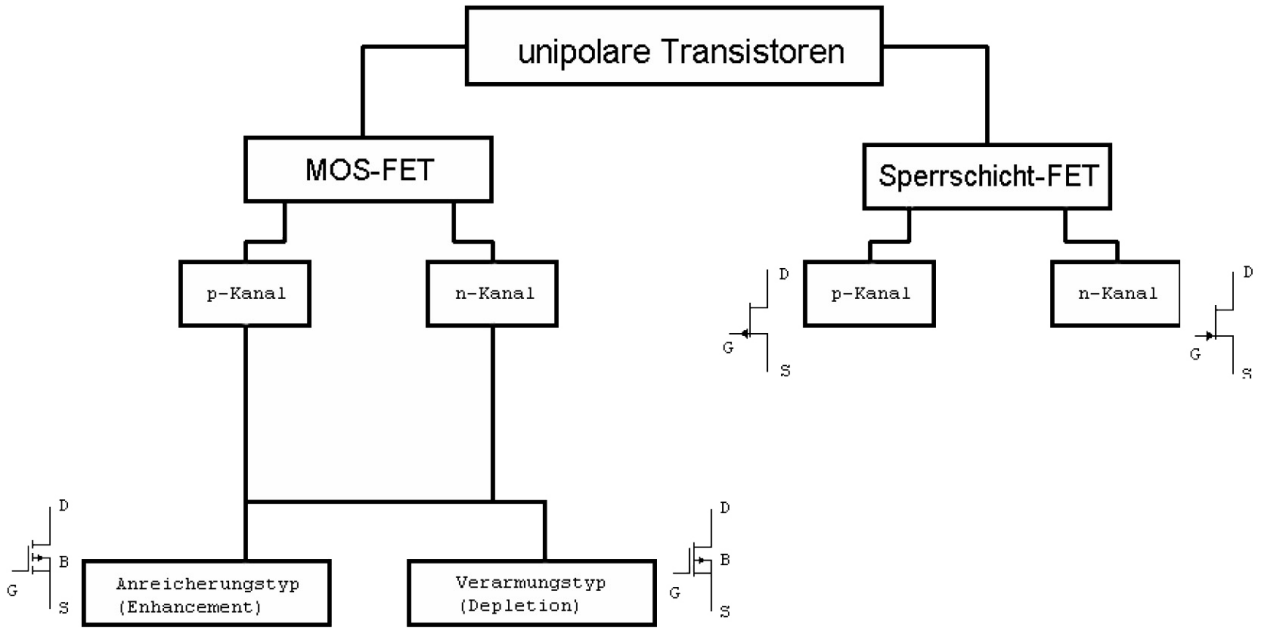


Abb.7) *Aufteilung der FET-Typen. (modifiziert nach* [49])

1.2.3.1. JFET (junction gate FET / Sperrschicht-FET)

Der JFET ist die einfachste Bauart eines FET (Abb.4). Es handelt sich dabei um einen FET mit nicht isolierter Steuerelektrode (NIGFET) und üblicherweise stark dotiertem Halbleitermaterial. Der JFET wird über die Gate-Spannung angesteuert. Dabei wird der Feldeffekt ausgenutzt, um die Bandlücke des verwendeten Halbleiters zu regulieren, welcher in direktem Kontakt mit einem entgegengesetzt dotiertem Halbleiter - dem Kanal, steht. Die resultierende Verarmungsschichten erstrecken sich fast nur über den schwächer dotierten Bereich und sind Keilförmig, was zur Verengung des Kanals führt und diesen, falls V_G groß genug ist, sperrt [2]. So kann der JFET als Schalter oder Steuerelement verwendet werden. Als Halbleiter kann auch ein Metall (Metall-Halbleiter-FET, kurz MESFET) eingesetzt werden. JFET sind selbstleitend.

1.2.3.2. MOSFET (metal oxide semiconductor FET)

Im Gegensatz zum JFET wird der MOSFET mit isoliertem Gate betrieben (IGFET), häufig wird eine Siliciumdioxid-Schicht als Isolator verwendet. Source und Drain sind hier nur über eine entgegengesetzt dotierte Schicht verbunden. Fließt ohne angelegter V_G kein Strom, liegt ein Anreicherungstyp vor, da einer der pn-Übergänge sperrt [2]. Legt man nun V_G an, leitet dieser Typ

des JFET, da genügend Ladungsträger abgezogen wurden. Allerdings bildet sich auch hier bei ausreichend großer Gate Spannung ein Sättigungsbereich aus. Beim Verarmungstyp dreht sich dieses Verhalten um, er ist selbstleitend [50].
MOSFETs können sehr schnell zwischen leitend/nichtleidend umschalten (on/off) und werden deswegen häufig für digitale Schaltungen verwendet.

1.2.3.3. OFET (organische FET)

Auch organische Materialien können als Halbleiter verwendet werden. 1976 ist es erstmals gelungen leitfähige Polymere herzustellen [51], was diese sehr schnell auch beim Transistor zum Einsatz brachte [52]. Da organische Moleküle oft durch schwache van der Waals Kräfte gebunden sind, lassen sie sich mit geringem Energieaufwand bearbeiten, verfügen über Halbleitereigenschaften und können zusätzlich dotiert werden. Im Allgemeinen haben organische Materialien eine Bandlücke, dies folgt aus Pierel's Theorem, welches besagt das eindimensionale Strukturen instabil sind, da sie immer ein energetisch günstigeren Zustand einnehmen können [53, 54] und zweidimensionale Materialien, mit Ausnahme von Graphen, nicht bandlückenfrei sind. Solche Materialien sind auch anfällig für Oxidation oder Reduktionsreaktionen, müssen daher entsprechend modifiziert werden um im Luftkontakt stabil zu bleiben [55]. Kleine organische Moleküle (z.B. die Acene-Reihe), bilden beim Auftrag polykristalline Beschichtungen, diese Anordnung kann eine bessere Überlappung der p-Orbitale zur Folge haben und die Leistung im FET verbessern. Weit verbreitete organische Halbleiter im OFET sind Pentacene [56] oder Polypyrollte [54].

1.2.3.4. NanoFETs

Seit Ende der 1990er Jahre werden auch Nanostrukturen wie z.B. Graphen, Kohlenstoffnanoröhrchen oder Poylmere in FETs eingesetzt. Der Vorteil des NanoFET ist, dass der gesamte Aufbau nur einige Nanometer groß sein muss. Die ersten erfolgreichen NanoFETs wurden mit Silizium und einer selbstorganisierten Monoschicht von Silanen erstellt [57]. Bald folgten die ersten „Silicon-nanowire-FETs“ (Silizium-Nanodraht-FET) welche ein breites Anwendungsspektrum fanden [88,102]. Schlussendlich werden auch FETs basierend auf Karbonnanoröhrchen oder Graphen [58] als NanoFETs bezeichnet .

1.3. Biosensing

1.3.1. Grundlagen

Als Biosensor wird allgemein jeder Aufbau genannt, der mit biologischen Proben wechselwirkt oder von ihnen beeinflusst wird – ein biologisch aktives System. Die menschliche Zunge, Nase oder auch ein pH-Meter sind Beispiele für bekannte Biosensoren. Um aus einer solchen Wechselwirkung ein qualitatives Signal zu erhalten ist ein Transduktor notwendig. Diese können elektrochemisch, feldeffektbasierend, optisch, piezoelektrisch, thermisch, über Oberflächenwellen oder mechanisch funktionieren. Im Beispiel der Zunge oder Nase wäre das Nervensystem der Transduktor, beim pH-Meter der elektrische Schaltkreis der zum ablesbaren Signal führt [59]. Jede der aufgelisteten Methoden bringt Vor- und Nachteile mit sich, so ist zum Beispiel die Sensitivität bei optischen Methoden immer durch die Genauigkeit der Lichtquelle beschränkt.

Biosensoren werden zumeist verwendet um einen bestimmten Stoff, den so genannten Analyt aus einer Probe zu detektieren. Um gute Messergebnisse zu liefern muss ein Biosensor möglichst selektiv, sensitiv und genau sein. Bei den meisten Anwendungen ist auch eine kurze Antwortzeit und Regenerationszeit des Biosensors ausschlaggebend.

Es gibt eine Vielzahl von Biosensoren, die auf verschiedenen technischen Anordnungen basieren. Dazu zählen die Enzym-Elektroden [60], Urea-Biosensoren [46] oder die Bananatrode [59].

1.3.2. Anbindungsanalyse auf Oberflächen (Graphen)

Mithilfe des Langmuir-Modells kann man die Absorption eines Stoffes A in einer Flüssigkeit, auf einer freien absorbierenden Oberfläche B beschreiben. Dafür muss das System nur eine Monolage des Stoffs A aufnehmen können, in direktem Kontakt mit einer Flüssigkeit (welche A beinhaltet und von einem unendlichen Reservoir gespeist wird) sein und die Anzahl der Anbindugsstellen auf der Oberfläche B muss bekannt sein. Die Wechselwirkung zwischen A und B, also die Anbindung des Stoffes, kann mit

$$A + B \Leftrightarrow AB \quad \text{(Gl. 2)}$$

beschrieben werden. Dabei ist AB die Anzahl der an B gebundenen Stoffe von A. Der Stoff A bindet und löst sich ständig an/von der Oberfläche und ein Gleichgewicht wird erreicht sobald sich diese

beiden Effekte genau ausgleichen. Man kann den Gleichgewichtszustand also als :

$$K_{AdB} = \frac{[AB]}{[A][B]} \quad \text{(Gl. 3)}$$

schreiben. Die eckigen Klammer in Gl.3 bezeichnen die Konzentrationen der Stoffe (mol/cm2) .

Beschreibt man mit θ die Zahl der mit A belegten Stellen von B (demnach ist $1-\theta$ die Zahl der unbelegten Stellen) folgt:

$$\frac{[AB]}{[B]} = \frac{\theta}{1-\theta} \quad \text{(Gl. 4)},$$

setzt man [A] nun als Konstante c $\quad \Rightarrow \quad K_{AdB} = \frac{\theta}{c(1-\theta)}$ (Gl. 5)

Umgeformt führt dies zur Langmuir-Isothermen Gleichung [61, 62] :

$$\theta = \frac{c\ K_{AdB}}{1 + c\ K_{AdB}} \quad \text{(Gl. 6)}$$

Da die Gleichgewichtskonzentration experimentell gut ermittelbar ist, erweist sich das Verfahren der Langmuir Isotherme meist am besten geeignet um die Anbindung an einer Oberfläche zu beschreiben [63].

Eine Änderung der Anzahl der aneinander gebundenen Stoffe AB muss entweder auf Ablösen von A (Dissoziation) oder Anbinden weiterer Teile von A an B (Assoziation) zurückgeführt werden, weshalb folgt:

$$\frac{d[AB]}{dt} = k_{on}[A][B] - k_{off}[AB] \quad \text{(Gl.7)}$$

Die Koeffizienten k_{on} und k_{off} werden Anbindungskoeffizienten genannt und geben ein Maß für die Assoziation und Dissoziation des betrachteten Systems an. Da die Flüssigkeit mit A laut Forderung einem unendlichen Reservoir entspringt und die Anzahl der belegten Stellen von B auch durch die Differenz der Gesamtanzahl und der Anzahl der freien Stellen ausgedrückt werden kann folgen die Bedingungen:

$$[A] = [A_0] = const. \quad ; \quad [AB] = [B_0] - [B] \quad \text{(Gl. 8) und (Gl. 9)}$$

Aus Gl. 7 folgt damit:

$$\frac{d[AB]}{dt} = [B]\,(k_{on}[A_0] + k_{off}) \quad \text{(Gl.10)}$$

Wobei für Gl.10 zusätzlich die Annahme $k_{on} >> k_{off}$ verwendet wurde. Um den zeitlichen Verlauf

der Anbindung zu beschreiben, schreibt sich das Integral über die Zeit bis zur vollständigen Anbindung (t_0), wegen Gl.9 und der Vereinfachung

$$k = k_{on} \cdot [A_0] - k_{off} \quad \text{(Gl.11)},$$

wie folgt:

$$\int_t^{t_0} \left(\frac{d[AB]}{dt}\right) dt = \int_t^{t_0} \left(-\frac{d[B]}{dt}\right) dt = \int_t^{t_0} ([B]k)\, dt \quad \text{(Gl.12)}$$

Da beide Seiten von Gl.12 gleich sein müssen, folgt für [B] :

$$[B] = [B_0] e^{-kt} \quad \text{(Gl.13)}$$

Damit lässt sich der zeitliche Verlauf der Anbindung eines Stoffes A aus einer Flüssigkeit mit dem Stoff B an der Oberfläche ausdrücken.

$$[AB] = [B_0] - [B] \quad \Rightarrow \quad [AB] = [B_0] \cdot (1 - e^{-kt}) \quad \text{(Gl.14)}$$

Gleichung 14 gibt den für Messungen zu erwartenden Verlauf der Kinetik an. Dabei ist zu beachten, dass der exponentielle Faktor *k*, bei Steigerung der Konzentration, selbst eine Gerade mit den Anbindungskoeffizienten k_{on} als Steigung und k_{off} x-Achsenschnittpunkt darstellt (Gl.11).

1.4. Graphen-FET als Biosensor

Graphen wurde bereits erfolgreich als Biosensor eingesetzt. Es diente zum Beispiel zur Analyse von pH-Werten eines Elektrolyten [58,64,65], zur Detektion von Proteinen [58,66], zur Beobachtung von Zellproliferation [67] oder anderen Anwendungen [6,7,68-73].
Zur Konstruktion solcher, auf Graphen basierender Biosensoren, gibt es verschiedene Ansätze, wie die Anwendung in Nanoporen [13], mit Hilfe von Flurescenz [14,15] oder im FET [3,16-18].
Gerade bei der Verwendung von Graphen im FET als Biosensor, könnte man von einem völlig neuem Konzept sprechen, da hier, nicht wie beim klassischen FET, die Halbleitereigenschaften ausgenutzt werden um einen Strom zu regulieren, sondern vielmehr das Graphen den Transduktor für die dynamischen Änderung der Oberfläche darstellt. Dies ermöglicht es, Reaktionen von Atmonen und Molekülen des Halbleiters durch die Kennlinienänderungen (Kinetik) meßbar zu machen.
Graphen eignet sich gut um es als Halbleiter im FET zu verwenden [74], da es über regulierbare Bandlücken, sehr hohe maximale Leitfähigkeit, eine leicht zu berechnende Oberfläche und die Möglichkeit einfachen Aktivierens der Oberläche mittels auf Pyrene basierenden Linkern verfügt.
Vor allem die Wechselwirkung eines Immunkomplexes kann so an das Graphen gebunden und so direkt über die Kennlinien ausgelesen werden, da die Elektronen im π-Leitungsband des Graphens an der Oberfläche direkt vom Anbinden eines Moleküles beeinflusst werden. Graphen kann also gut mit einem Rezeptor versetzt werden [74].

1.4.1. Bauformen Graphen-FET

Im Allgemeinen wird zur Kontaktierung von Graphen zwischen Source und Drain ein gut leitendes Metall mit einem Spalt aufgetragen, wobei der Spalt gleichmäßig mit Graphen unterlegt sein und daher der Größenordnung der Graphen-flakes entsprechen muss. Um einen gleichmäßigen Kontakt von Gateelektrode und Halbleiter zu gewähleisten, muss ein Kontaktmedium gefunden werden. Dafür gibt es verschiedene Möglichkeiten. Bei der Verwendung von Graphen als Halbleiter in einem FET weist es i.A. ambipolares Verhalten auf [6,10] . Man kann dieses durch entsprechende n- oder p- Dotierung fürAnwendungen passend modifizieren [76]. Die Hallkoeffizienten des Graphen sind linaer anhängig von der angelegeten Gate-Spannung.

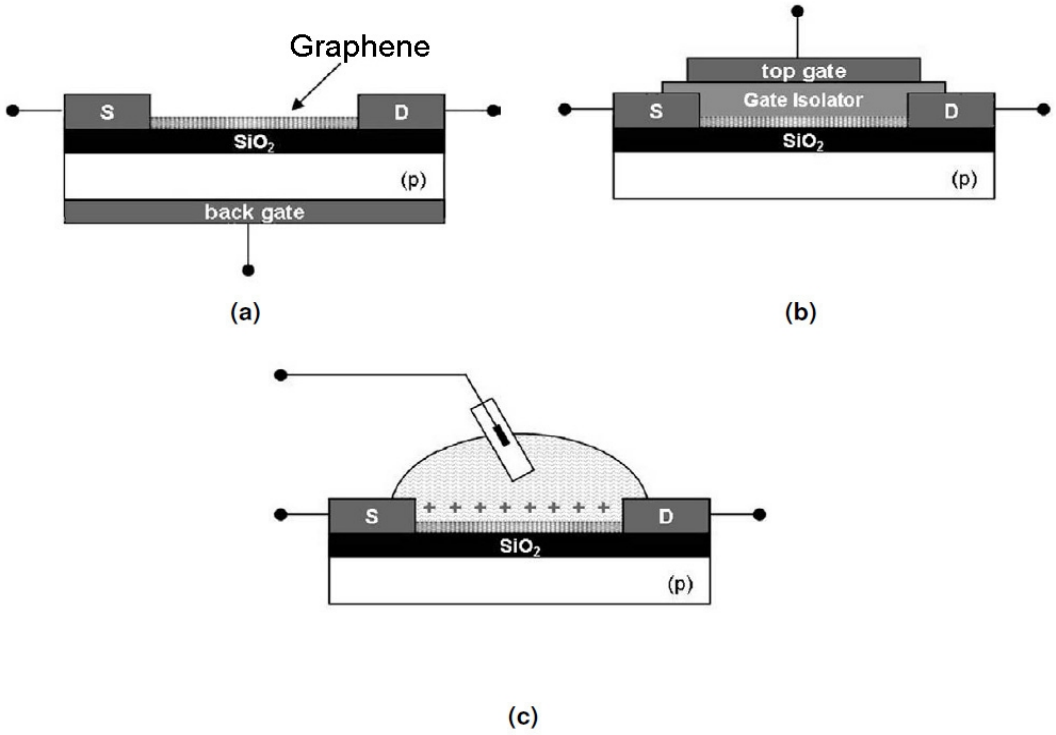


Abb.8) *Graphen-FET Bauformen. a)back gate, b)top gate, c) liquid gate. Modifiziert nach [3]*

1.4.1.1. back gate (a)

Bei der back gate Konfiguration wird über das Substrat, auf dem der FET angebracht ist, selbst die Kontaktierung zum Halbleiter hergestellt. Als Isolatorschicht wird zum Beispiel im Fall von hoch dotierten Silicium meist eine Oxidschicht verwendet.

1.4.1.2. top gate (b)

Beim Top Gate Aufbau wird der Halbleiter über eine Isolatorschicht mit der Gate-Elektrode kontaktiert. Anders als beim back gate wird das Substrat nicht als Kontaktmedium verwendet, daher wird hier eine Oxidschicht zur Isolation des Siliziumsubstrats verwendet.

1.4.1.3. liquid gate (c)

Im Unterscheid zum top-gated FET wird beim liquid-gated FET ein Elektrolyt als Kontaktmedium verwendet um einen elektrischen Fluss zur Gate-Elektrode zu ermöglichen. So wird zumeist eine wässrige Pufferlösung als Electrolyt verwendet. Solche Lösungen können Leitfähigkeiten bis zu 0,1 S/cm aufweisen.

Der Ionentransport in der Lösung findet durch Diffusion (aufgrund von lokalen Konzentrationsunterschieden) und "Elektromigration" (bei angelegtem elektromagnetischem Feld (el.mag.)) statt. Bei der der Verwendung einer homogen gelösten Flüssigkeit, erweist sich nur die Migration durch el.mag. Felder als relevanter Ionentransport. In Wasser ist allerdings zu beachten, dass Protonen durch Kettenreaktionen in den Wasserstoffbindungen - den Grotthus-Effekt - transportiert werden. Dadurch können Flüssigkeiten mit positiven als auch negativen Ionen geeignete Leitfähigkeit aufweisen und in einem FET als Kontaktmedium zwischen Halbleiter und Gate-Elektrode verwendet werden.

An den Grenzschichten zwischen Gateelektrode/Elektrolyt sowie zwischen Electrolyt/Halbleiter bilden sich elektrochemische Doppelschichten (EDL – electrochemical double layer), die Helmholtz-Schicht aus. Diese führt dazu, dass sich bei angelegter Spannung das größte Potential an der Grenzschicht aufbaut, da sich hier Schichten von entgegengesetzt geladenen Ladungsträgern gegenüber stehen. Die so aus dem Halbleiter an die Grenzfläche diffundierenden Ionen, bewirken einen enstsprechenden Potentialunterschied im Kanal und beeinflussen so die Leifähigkeit. Eine solche Schicht führt auch zu Oberflächeneffekten wie Oxidation, die nicht jedes Material für die Verwendung als Gateelektrode qualifizieren.

Üblicherweise wird als Gate Elektrode eine Silber-Elektrode vs. Silber Chlorid (Ag/AgCl) mit Oxidschicht verwendet. Diese können durch Galavisierung wieder regeneriert werden um gegen ein definiertes Potential zu messen und Reproduzierbarkeit zu ermöglichen. Allgemein wird das Potential gegen eine universelle Wasserstoffelektrode geeicht um Vergleichspräzision gegenüber anderen Bezugssystemen zu erlangen und so Messungen mit unterschiedlichen Elektroden vergleichbar zu machen. Ag/AgCl Elektroden eignen sich dadurch gut als Gateelektroden für Flüssigmessungen im FET.

1.5. Flusszellen

Zur Inbetriebnahme eines graphene-basierten FET in eienr liquid-gate Konfiguration mit electrolytschen Kontaktmedium wird eine Durchflusszelle benötigt, um Abschirmung gegenüber Fremdmaterialien sowie elektrischen und mechanischen Störungen und Reproduzierbarkeit der Messungen (u.a. Detektionsvolumen, Durchflussrate) zu gewährleisten.
Bei Flusszellen wird zunächst zwischen makro- und mikrofluidischen Typen unterschieden.

1.5.1. Makro- / Mikrofluidische Fluszellen

Bei makroskopischen Volumina sind die Gesetze und Nährungen der Hydrodynamik und Mechanik einsetzbar, insbesondere die Bernoulli und Navier-Stokes Gleichungen. Dabei kann man, bei guter Isolierung, stets Energieerhaltung annehmen, da Diffusion in Relation nur einen kleinen Beitrag leistet und vernachlässigt werden kann. Flusszellen mit makroskopischen Volumina sind auch ohne viel Spezialwerkzeug herzustellen, damit günstiger und schneller zu Bearbeiten.

Im mikrofluidischen Bereich (<1mm) hingegen, sind die Reibung, Oberflächenspannung, Polarisierung des Wassers und Diffusion an Materialübergängen die ausschlaggebenden Kräfte und müssen deshalb berücksichtigt werden, da sie andernfalls die mit der Durchflusszelle durchgeführten Messungen verfälschen können [77,78]. Mikrofluidische Effekte sind für viele Materialien nur sehr schwer zu berechnen, es gibt allerdings gute numerische Näherungsverfahren. Im Vergleich zu Messungen mit makroskopischen Volumina, müssen hier viel geringere Mengen Puffer, damit auch Analyt verwendet werden was die Kosten der Messung stark reduzieren kann.

Die Raynoldszahl bildet ein Bindeglied zwischen beiden Bereichen, da Strömungsgleichungen in geometrisch ähnlichen Systemen durch sie beliebig skaliert werden können und damit makro-/mikroskopische Volumina vergleichbar sind. Bei niedrigen Reynoldszahlen (<2000) spricht man von laminaren und bei hohen von turbulente Strömugen.

$$Re = \frac{\bar{v} \cdot d}{\nu} \quad \text{(Gl. 15)}$$

ν ... *Viskosität des Fluids*, $\bar{v}$ ... *gemittelte Flussgeschwindigkeit*, d ... *Innendurchmesser*

Um Messungen in Echtzeit zu ermöglichen muss der Fluss möglichst gleichmäßig bei konstanter Geschwindigkeit, also pulsfrei verlaufen. Die Anlaufzeit der Flüssigkeit bleibt dann konstant und kann einfach zum Zeitpunkt der Injektion addiert werden um den Signalzeitpunkt zu bestimmen. (Allerdings wird der Signalzeitpunkt durch einem konstantem Puls nicht verändert und man kann diese Methode ebenfalls verwenden.)

Um einen laminaren und pulsfreien Fluss zu gewährleisten ist es nötig den Druck durch die Zelle sowie das Zellvolumen konstant zu halten und die Rauhigkeit des verwendeten Materials möglichst zu reduzieren, da sonst Wirbel auftreten können.
Peristaltikpumpen, Spritzenpumpen, Kolbenpumpen oder auch Schlauchpumpen sind mögliche Pumpsysteme die käuflich erworben werden können, allerdings hat auch hier jedes Pumpsystem seine Vor und Nachteile.

1.5.2. Materialien

Flusszellen werden üblicherweise aus Polymeren wie Polyoxymethylen(POM), Polymethylmethacrylat (PMMA) oder Polydimethylsiloxan (PDMS) hergestellt. Die Vorteile gegenüber siliziumhaltigen Materialien wie Glas sind leichtere und genauere Verarbeitung, größere Stabilität und Resistenz, geringere Kosten sowie ein breites Spektrum an physikalischen Eigenschaften, die sie qualifizieren. Allerdings sind nicht alle Polymere für den Kontakt mit physiologischen Puffer geeignet [79].

Für elektrochemische Flusszellen gibt es Parameter, welche die Effizienz und Wirkungsweise der Zelle charakterisieren. Die Zellkonstante und der Zellwiderstand geben den Proportionalitätsfaktor für die Leitfähigkeit an, der durch die Abmessungen der Zelle bestimmt und in elektrolytischer Lösung gültig ist.
Für den Leitungskoeffizienten gilt die Zellkonstante als Proportionalitätsfaktor:

$$\sigma = \sigma_s \frac{A}{l} \quad C = \frac{l}{A} \quad \text{(Gl. 16)},$$

wobei C die Zellkonstante, l der Abstand zwischen Elektroden und A die Fläche der Elektroden sind.

2. Material und Methoden

2.1. Übersicht der verwendeten Materialien

2.1.1. Materialien & Geräte

- Autoklav (UNIEQUIP).
- Bodenplatte für die Bedmapfung (Lindeberg – *individuelle Anfertigung**).
- Chrom (Stücke: 2 - 4,7 mm; 99,9%) (MaTecK).
- Gold-Federkontaktstifte (TEKON PRÜFTECHNIK).
- Durchflusszelle (Lindeberg – *individuelle Anfertigung**).
- Glas-Chip Halter (Carl Roth/Lindeberg - – *individuelle Anfertigung**)
- Gold-Elektroden-Kontaktstifte mit Federn (Tekkon).
- Gelötete Goldelektroden mit blauen Draht (Lindeberg – *individuelle Anfertigung**)
- Gold-Bedampfer (HHV FL400 AUTO 306).
- Gold 99,99% Au Granular 10g (MaTecK).
- Graphit-Flocken (Größe-2-5mm) (NGS Naturgraphit GmbH).
- Hartmaske/Bedampfungsmaske (0,6mm, AlMg)(Lindeberg – *individuelle Anfertigung**).
- Magnetrüher Plates (Heidolph MR Hei Tec).
- Multimeter (Fluke).
- Peristaltikpumpe (ISMATEC)
- IPC High Precision Multichannel Dispenser – ISMATEC.
- Keithley 4200 SCS (Semiconductor Characteristzation System).
- Molybdän Bedampfungsschiffchen (HHV Ltd)

- Heizofen (Thermo Scientific Heraeus Ofen).
- Omni-LOK Typen (Druck bis 500 psi (34bar)) (OMNIFIT).
- Pipettenspitzen (alle Größen) (STAR LABS).
- 1/16 Armaturen blau (OMNIFIT).
- Schläuche (ID = 0,64 mm, L = 300mm, aus) (ISMATEC Labortoriumstechnik GmbH).
- Silizium-Wafer (20x20mm2, Widerstand = 1-30 Ohm-cm) (Siegert Consulting eK).
- Ultraschallbad ELMA S180H (Elmasonic).
- Triaxial Tip Holder Screw Kit (Keithley).
- Analysewaage (KERN).
- Gateelektrode (Dri-Ref™ (Gentaur))
- Optisches Mikroskop HR800 des Raman Systems (Horiba)
- Kieselgel (Merck Chemicals)

2.1.2. Verwendete Software

- „Kite“ (Keithley)
- Individuelle Software in „Lua Script“ (Keithley)

2.1.3. Verwendete Chemikalien:

- Essigsäure 100% (VWR)
- Amoniak 32% (MERCK KGaA)
- 3-Aminopropyltriethoxysilane 97% (ABCR GmbH & Co. KG)

- Citronensäure C6H8O7
- Disodium hydrogen phosphate Na_2HPO_4 99% (Sigma Aldrich)
- DI Water 18.2MΩ cm c (Sartorius Stedium Biotech machine)
- Ethanol 99% (AUSTRALCO Österreichische Agar-Alkohol Handelsges m.b.H.)
- Hydrogen Peroxide H_2O_2 (30% solution) (Sigma Aldrich)
- Hydrazine Monohydrate $NH_2NH_2.H_2O$ 80% solution (Sigma Aldrich)
- Potassium Chloride KCl 99.5% (Carl Roth GmbH)
- Potassium dihydrogen phosphate KH_2PO_4 99% (Aldrich)
- Pyrene butanoic acid succinimidyl ester (Molecular Probes, Invitrogen)
- Sodium Chloride NaCl 99% (Riedel-de-Haen)
- Sulfuric Acid 98% (Sigma Aldrich)
- Tetrahydrofuran 99% (MERCK KgaA)
- Anti-BSA monoclonal (Sigma Aldrich)
- Tris C4H11NO3 (Sigma Aldrich)

2.1.4. Lösungen

- **<u>RCA-Lösung:</u>**

- 20mL NH_3 Ammonia solution 32% (MERCK KGaA)
- 20mL H_2O_2 Hydrogen peroxide (30%) (Sigma Aldrich)
- 100mL Di-H_2O

- **APTES-Lösung:**

  - 2mL APTES 3-Aminopropyltriethoxysilane 97% (ABCR GmbH & Co. KG)
  - 98mL Ethanol Ethanol 99% (AUSTRALCO Österr. Handelsges m.b.H.)

- **1x PBS-Puffer:**

  - 8g NaCl
  - 0,2g KCl
  - 1,44g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$
  - 0,24g KH_2PO_4
  - 500mL Di-H_2O
  - Titriert mit NaOH auf pH 7,4

- **TRIS-PBS-Puffer**

  - 1,2g $C_4H_{11}NO_3$
  - 3,56g $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$
  - $C_6H_8O_7$

- **PBSE-Linker:**

  - 1,93mg PBSE/ Pyrene butanoic acid succinimidyl ester (Invitrogen)
  - 1mL DMF/ Dimethylformamid buw. Tetrahydrofuran 99% (MERCK KgaA)

- **Anti-Körper:**

  - 5µL Anti-BSA
  - 95µL PBS-Puffer pH 7,4

Alle folgenden Arbeitsschritte wurden bei 24°C, % Luftfeuchtigkeit im gut ventiliertem Labor bzw. Abzugsschacht durchgeführt.

2.2. Synthese von Graphene-Oxid Lösung (GO)

Die Graphene-Oxid-Synthese erfolgte nach einer von Dr. Melanie Larisika et.al. [96] modifizierten Methode des nasschemischen Prozesses nach Hummers [34] :

Im Einzelnen wurden 2g Graphitflocken eingewogen und zur Voroxidation in einen Dreihalskolben mit 12 mL konzentrierter Schwefelsäure - H_2SO_4 (95-98%) - gefüllt. Der Kolben wurde verschlossen und bei 80°C für 4,5 Stunden unter ständigem Rühren im Wasserbad erhitzt. Danach wurde die resultierende Mischung auf RT gekühlt und im Ultraschallbad für eine Stunde bei 3000 Watt behandelt um erste Schcihten vom Gaphit-Oxid abzulösen. Nach der Behandlung wurde der Inhalt mit 0,5 Liter Di-H_2O gemischt und abgedeckt über Nacht abstehen gelassen. Die Lösung wurde am nächsten Tag durch einen 0,2µm-Porenfilter filtriert und die GO Flocken gründlich mit Di-H_2O gewaschen. Zur Bestimmung des Nassgewichts wurde der verbleibender Feststoff abgewogen und bis zur Gewichtskonstanz im Exikator über Kieselgel getrocknet. Das getrocknete Produkt wurde langsam in 120mL konzentrierter Schwefelsäure H_2SO_4 eingerührt. Zur Hauptoxidation wurden 15g Kaliumpermanganat ($KMnO_4$) stetig hinzugefügt und für 120 Minuten bei 220rpm gerührt. Im Folgenden wurde die Lösung in einem Eisbad mit 250mL Di-H_2O verdünnt und für weitere 2 Stunden gerührt.

Im Anschluss erfolgte eine weitere Verdünnung mit 700mL Di-H_2O und kurz danach wurden 20mL 30% H_2O_2 der Mischung beigesetzt, was zu einer Farbänderung der Mischung führte. Die resultierende Suspension (Abb.9) wurde wieder über Nacht abgedeckt abstehen gelassen. Die schwimmenden Flocken der erzeugten Graphenoxidlösung wurden am nachfolgenden Tag mit einem Löffel in eine sterile Flasche übergeführt und mit 500mL Di-H_2O aufgegossen. Diese Lösung wurde bei 200rpm für 72 Stunden gerührt um eine vollständige Abblätterung der äußeren Graphen-Oxid Schichten zu bewirken.

Abb. 9) *Graphit-Oxid*

Zur Bestimmung der GO-Konzentration in der Lösung wurde die Mischung kurz gerührt, 5 Minuten abstehen gelassen und danach 10 Stichproben à 500µL entnommen, welche bis zur Gewichtskonstanz in Exikator über Kieselgel getrocknet wurden.

2.3. Herstellung der FETs

Als Substrate für die FET wurden Silizium-Wafer mit einer 300nm ± 5% thermalen Oxid-Schicht verwendet. Diese wurden, unter Berücksichtigung der Abmaße der Durchflusszelle in 20x20mm (+0/-0.1mm) große Stücke industriell vorgeschnitten. Die Wafer wurden bei allen folgenden Schritten nur mit Teflonpinzetten berührt, um die Oberfläche nicht zu beschädigen.

2.3.1. Vorbehandlung der Silizium-Wafer

Die RCA Reinigung ist eine Standardmethode zur chemischen Säuberung von Oberflächen. Dabei werden die Wafer in einer RCA-Lösung (siehe Kapitel Lösungen) bei 80°C für 10 Minuten erhitzt. Danach wird die Lösung gegen frische ausgetauscht und noch einmal 10 Minuten bei 80°C behandelt. Um dies möglichst effizient für viele Wafer gleichzeitig zu realisieren, wurde eine Haltevorrichtung für bis zu 30 Substrate verwendet. Nach der Reinigung wurden die Chips zunächst mit Di-H_2O abgespült und mit Druckluft getrocken.

2.3.2. Funktionalisierung der Oberfläche

Graphen-Oxid lässt sich mit dem 3-aminopropyltriethoxysilane Linker (APTES), welches auf SiO2/Si eine selbstorganisierende Monoschicht (SAM) bildet, einfach auf Silizium-Oberflächen dauerhaft binden.

Dazu wurden die Wafer in Plastikpetrischalen lichtundurchlässig in einer 2% APTES-Lösung in Ethanol (siehe Kapitel Lösungen) gleichmäßig für eine Stunde inkubiert. Durch diese Inkubationszeit wird eine Selbstassemblierung von APTES auf dem Substrat zu einer Monolage sichergestellt. Die Wafer wurden danach kurz in Di-H_2O getaucht, sofort danach mit Ethanol abgespült und mit geringer Druckluft trocken geblasen. Im vorgeheizten Ofen wurden die Wafer in ⌀26cm Glaspetrischalen bei 120°C für zwei Stunden erhitzt, um die Silanschicht zu härten.

2.3.3. Auftrag der Graphenoxidlösung

Um das Graphenoxid auf die Siliziumwafer aufzutragen stehen mehrere Methoden zur Verfügung.

Bei der Spin-Coating Methode wird die Lösung durch die Zentrifugalkraft gleichmäßig auf dem Substrat verteilt. Dabei kann man durch Variation der Rotationsgeschwindigkeit die Verteilung des

GO auf dem Wafer beeinflussen.

Die Dip-Coating Methode beruht auf der Oberflächenspannung des flüssigen Graphenoxids. Die Wafer werden dabei vertikal in die Lösung getaucht und vorsichtig herausgezogen. Die Oberflächenspannung erzeugt dabei einen dünnen Film, der auf der Oberfläche haften bleibt. Durch mehrmaliges Eintauchen kann die Schichtdicke des GO auf dem Wafer beeinflusst werden.

Bei der Drop-Cast-Methode wurden jeweils 500-1000mL der GO-Lösung mit einer Pipette aufgetragen. Um ein Abrinnen der Flüssigkeit vom Wafer zu vermeiden, wurde hierbei die Oberflächenspannung der GO-Lösung ausgenützt. Es wurde dabei auf einer ebenen und vibrationsfreien Laborarbeitsfläche gearbeitet und darauf geachtet, dass Substrat mit den Pipettenspitzen nicht beschädigt wurde. Die Lösung wurde auf den Wafern für eine Stunde inkubiert, um eine ausreichende Adhäsion des GO auf der Oberfläche zu ermöglichen. Danach wurden die Wafer mit Wasser abgewaschen und trocken geblasen.

Um eine gleichmäßige Verteilung des Graphens auf den Wafern zu erlangen, wurden die Verteilung des Graphens auf dem Wafer, beim Auftrag mit diesen drei Auftragsmethoden sowie mit Di-H2O verdünnten Lösungen verglichen.

2.3.4. Reduktion von Graphenoxid

Die Reduktion der Wafer erfolgte mittels Hydrazin bei 70°C für 16 Stunden. Dazu wurden die Chips gleichmäßig in eine gläserne ⊘26cm Petrischale gelegt. Hiebei wurden die Wafer nur in die eine Hälfte der Petrischale angeordnet, wobei in die andere Hälfte 1mL Hydrazin tropfenweise verteilt wurde. Die Petrischale wurde anschließend luftdicht verschlossen. Nach der Reduktion wurden die Chips mit Wasser abgespült, trocken geblasen und danach bis Bedampfung im Exikator unter Vakuum gelagert. Zur Charakterisierung des Reduktionserfolges wurde Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS), sowie eine Studie zur Positionierung der Wafer und des Hydrazins während der Reduktion durchgeführt.

2.3.5. Charakterisierung von Graphen

Zur Charakterisierung von Graphen werden verbreitet Raman-Spektroskopie [19,20], Rasterelektronenmikroskopie (SEM), Rasterkraftmikroskopie (AFM) oder ähnlichen Methoden [21,22] verwendet.

Um die Verteilung des Graphens auf dem Substrat zu beurteilen wurden die Proben mittels SEM untersucht. Die Aufnahmen wurden an einem Raster-Elektronenmikroskop des Typs Supra 40 von der Carl Zeiss Microscopy GmbH am Techgate, 1220 Wien aufgenommen. Zur Bestimmung der

Schichtdicke wurden AFM Messungen im „tapping mode“ durchgeführt. Die Aufnahmen wurden in Singapur am „Asylum Research AFP-3D“ und mittels „WsxM Develop 3.3“ Software ausgewertet.

2.4. Kontaktierung des FET

Zur Herstellung des FETs war eine Methode notwendig um den Kanal und die Elektroden reproduzierbar anzubringen (Kapitel 3.4.). Dafür wurde die Methode der Goldbedampfung mit einer Adhäsionsschicht Chrom gewählt, um die Stabilität der Kontakte zu gewährleisten.

2.4.1. Betrachtung als Kondensator

Die Anordnung der Source und Drain Kontakte kann auch als Kondensator betrachtet werden. Die Kapazität gibt das Verhältniss zwischen angelegter Spannung und der Ladung:

$$Q = C \cdot U \qquad \text{(Gl. 17)}$$

und ergibt sich für einen Plattenkondensator zu

$$C = \epsilon_0 \epsilon_r \cdot \frac{A}{d} \quad \text{(Gl. 18)},$$

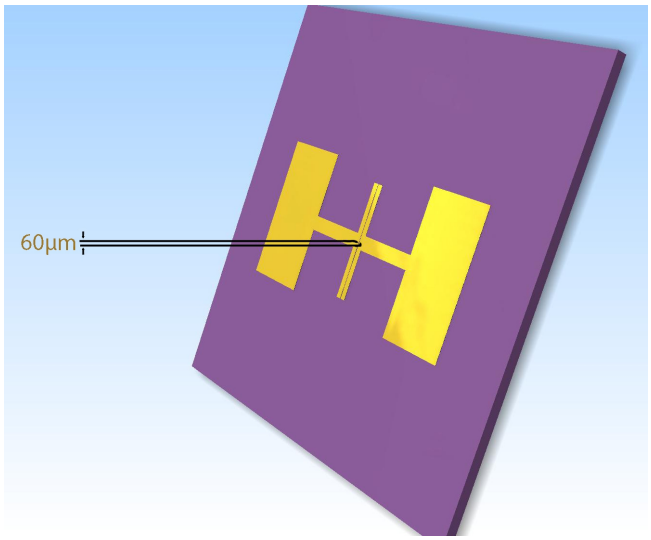


Abb.10) *schematische Darstellung des Spalts auf einem Silizium-Wafer*

wobei ϵ_0 die elektrische Feldkonstante, ϵ_r die relative Permittivität des Graphens (Tabelle 1) und A die Fläche der Elektroden sind.

Die Aufladung eines solchen Kondensators erfolgt dann nach: $I(t) = I_0 \cdot e^{-\frac{t}{R \cdot C}}$ (Gl. 19).

R ist der Widerstand des Schaltkreises zum Kondensator und I_0 die Anfangsbedingung der Stromstärke. Um eine möglichst schnelle Aufladung eines Kondensators zu ermöglichen und die Einschwingeffekte damit zu minimieren, ist es wünschenswert, die Kapazität möglichst hoch zu wählen.

2.4.2. Wahl der Abmessungen

Da die Elektroden bei dem gewählten Aufbau nicht, wie beim klassischen Kondensator, mit den Flächen parallel zueinander sondern nebeneinander angebracht sind und es sich um ein zweidimensionales Problem handelt, können die für den klassischen Kondensator betrachteten Gleichungen nur als Richtwert gesehen werden. Die Breite des Kanals wurde demnach möglichst groß (4mm) gewählt, um die Wahrscheinlichkeit einer guten Kontaktierung des Graphens und die Kapazität zu erhöhen. Da die Graphenflakes Längen von bis zu 100µm erreichen [96] und ein stetiger Kontakt zwischen Source und Drain über das Graphen gegeben sein muss, wurde der Leitungskanal übers Graphen mit einer Länge von d=60µm bemessen. Um einen solchen Spalt zu gewährleisten, wurde eine Maske konstruiert, welche 25 dieser Aussparungen (insbesondere den Steg zum Abdecken des Kanals) hat und in einen Chiphalter befestigt werden kann, der die Zentrierung der aufgedampften Flächen auf den 25 Chips gewährleistet.

Die zweidimensionale Kapazität berechnet sich demnach auf:

$$C = 8{,}85 \cdot 10^{-12} [\frac{A^2 s^4}{kg\, m^3}] \cdot 2{,}4 \cdot 66{,}67 = 1{,}42 [\frac{nF}{m}] \quad \text{(Gl. 20).}$$

Dieser Wert liegt in der Größenordnung von Literaturstellen mit ähnlichem Aufbau [81].

2.4.3. Auftretende Schatteneffekte

Da beim verwendeten Bedampfer das Gold nicht zentral unterm Chiphalter verdampft werden kann, müssen auch Schatteneffekte berücksichtigt werden. Beim verwendeten Bedampfer ist die Goldquelle zum Zentrum des Chiphalters um 2cm versetzt, die Höhe der Proben liegt bei 28cm. Dabei entsteht ein Winkel von ~ 4° zum Zentrum der Proben. Durch Rotation der Proben über der Quelle wird der effektive Winkel, (Minimalwinkel zur Quelle den eine Probe während der Rotation einnimmt) auf die Hälfte reduziert. Die Dicke der Maske ist dadurch primärer Einflussfaktor für die Ausbildung von Schatteneffekten. Die dafür konstruierte Maske hat eine Dicke von d=0.5mm, was die Breite der Schatten auf: $d \cdot \tan \alpha_{eff} = 0{,}0021\, mm$ berechnet. Die berechneten 2µm tiefen Schatteneffekte beidseitig lassen, bei einer gewünschten Kanalbreite von 60µm, eine Maske mit 60-4=56µm breitem Steg geeignet erscheinen. Da die Kanalbreite an keiner Stelle zu klein werden darf und da beim Steg mit der Zeit Abnützungen auftreten, wurde eine Maske mit 60µm breitem Steg angefertigt.

2.4.4. Bedampfung

Für die Bedampfung wurden die Proben in den Chiphalter gelegt, mit der Bedampfungsmaske bedeckt und gut verschraubt. Der Chiphalter wurde in die Kammer des Goldbedampfers (HHV) gehängt und ein Vakuum von 10^{-7} bar angelegt wurde. Die Proben wurden Rotierend zunächst mit 5nm Chrom bei einer Rate von 0.2 Å/s bedampft. Im Anschluss wurden 100nm Gold mit einer Rate von 1 Å/s aufgedampft. Nach Abschluss des Bedampfungsprozesses wurde die Kammer des Bedampfers gelüftet und die Proben erst nach dem Abkühlen entnommen. Die Proben wurden vorsichtig aus der Haltevorrichtung genommen und mittels einer Zweipunktmessung wurden die einzelnen Widerstände der FETs vermessen. Die Transistoren wurden anschließend im Exikator unter Vakuum bis zur Verwendung gelagert.

2.5. Konstruktion der Durchflusszelle

Die Durchflusszelle für den Graphen FET wurde unter Beachtung folgender Punkte konstruiert:

- Vermeidung von:
    - parasitäre Überlagerung der Source & Drain Elektroden im Elektrolyt,
    - Luftblasen,
    - Diffusion der Materialien in die Lösung
- Gewährleistung von:
    - laminarem Fluss (Kanalabmessungen),
    - Wasserfestigkeit,
    - guter und stabiler Kontaktierung,
    - gutem Abflussverhalten von Luftblasen,
    - reproduzierbarer Positionierung,
    - Isolation von außen (abgeschlossenes System),
- Resistenz der Matrialien gegenüber womöglich verwendeter Chemikalien,
- Finanzierbarkeit & handliche Größe.

2.5.1. Design & FET-Einbau

Für die Durchflusszelle erschien ein rundes Design und Abstände zwischen den Anschlüssen von rund 1cm als praktisch am Besten handhabbar und damit für die Verwendung am Ehesten geeignet. Um einen möglichst einfachen Ein- und Ausbau der Transistoren zwischen den Messungen zu

ermöglichen, wurde die Zelle aus einem Oberteil und einem Unterteil konstruiert, welche mittels M4-Schrauben miteinander wasserundurchlässig (O-Ring) verschlossen werden können. Für die exakte und reproduzierbare Positionierung wurden seitlich zwei Passstifte eingebaut, die möglichst passgenau hergestellt wurden. Zwischen beiden Teilen wurde der für die Messung vorbereitete Transistor eingelegt und über Bohrungen im Oberteil der Durchflusszelle mit dem Elektrolyt bzw. Analyt in Kontakt gebracht. Die Aussparung für den FET wurde mit den Toleranzen vom Zuschnitt der Wafer abgeglichen (+10,-0µm bzw. +0,-10µm), um eine mikrometer-genaue Positionierung sicherzustellen.

2.5.2. Durchflusskanal

Der Durchflusskanal soll eine Echtzeitmessung ermöglichen, bei der das zu analysierende Medium mit einer Flussrate von 300µL/min. laminar über den FET gespült wird.

Die Größe des Kanals musste auf die Kontaktierung eines liquid-gated FET abgestimmt werden. Da ein Electrolyt als Kontaktmedium verwendet wird und die Gatespannung über einen elektrostatischen Effekt auf die Graphenoberfläche induziert wird, kann der Abstand der Gate Elektrode auch im Milimeterbereich liegen, um einen funktionierenden FET herzustellen. Dieser elektrostatitische Effekt bewirkt eine negative Oberflächenladung am Übergang Graphen-Electrolyt und zieht so positive Ladungsträger aus dem Graphen an die elektrische Doppelschicht. So kann das Graphen mittels der Gatespannung entsprechend dotiert werden, bzw. kann das Ferminiveu des Graphens eingestellt werden. Da dies nahezu unabhängig von der Distanz der Gateelektrode gilt, wurde die Höhe des Kanals mit 2mm bemessen. Durch diese Kanalhöhe minimiert man gleichzeitig auch mikrofluidische Effekte. Um eine möglichst kleine Fläche der Elektroden direkt mit dem Electrolyt in Kontakt zu bringen, wurde der Kanal eng genug gewählt, um so die Außenflächen der Elektroden nicht zu kontaktieren und parasitäre Überlagerungseffekte zu minimieren. Die Länge des Kanals sollte sich über die ganze Länge der FET-Elektroden (4mm) strecken. Um die Dichtung zu gewährleisten, sollte der Kanal die Länge der Siliciumwafer mit 20mm nicht überschreiten. Es wurde angenommen, dass sich bei einer späteren Messung, Luftblasen vermehrt in den Randbereichen des Kanals ansammeln. Deshalb wurde eine Kanallänge von 17mm gewählt, da so am Rand noch zusätzliches Volumen für Luftblasen zur Verfügung steht. Da sich Luftblasen vermehrt am Kanalende ansammeln, beeinflussen sie die Messung im FET-Kanal nicht. Die Gesamtabmessungen des Kanals wurden folglich mit 2x2x17mm bemessen (68µL).

Damit eventuelle Luftblasen leicht wieder aus dem Kanal entweichen können, wurden Einfluss und Ausfluss um 30° gekippt. Der Ausfluss wurde mit einem Durchmesser von 2mm gegenüber dem

Einfluss mit einem Durchmesser von 1mm breiter konstruiert.

Um a priori auch laminares Flussverhalten erwarten zu können wurde die Reynoldszahl dieser Abmessungen betrachtet:

$$Re = \frac{\rho \cdot \bar{v} \cdot d}{\nu} \qquad \text{(Gl.21)}$$

$$\text{mit} \quad \nu = 0.006 \frac{kg}{s\,m}, \quad \bar{v} = 300 \frac{\mu L}{min} = 5 \cdot 10^{-9} \frac{m^3}{s}, \quad d = 0{,}002\,m, \quad \rho = 1 \cdot 10^3 \frac{kg}{m^3} \qquad \text{(Gl. 22)}$$

(Viskosität nach [83])

ergibt Re << 1 und damit laminaren Fluss.

Rings um den Durchflusskanal wurde eine Aussparung für einen passenden O-Ring ausgefräst, welcher ein Ausrinnen der Flüssigkeit verhindern soll.

2.5.3. Gate-Elektrode

Als Elektrode wurde eine kommerziell erhältliche Ag/AgCl Electrode mit Nut und definierter Chloridschicht verwendet. Folglich wurde eine Bohrung für die Gate-Elektrode mit den genauen Bemaßungen dieses Modells angebracht. Die Bohrung für die Gate-Elektrode wurde mittels einer Schicht Teflonbandes luftdicht verschlossen.

2.5.4. Kontaktierung

Die Kontaktierung der Source und Drain Elektroden auf dem FET wurde über Goldkontaktstifte mit eingebauten Federn realisiert. Durch ihre Form lassen sie sich in passenden Ausfräsungen gut fixieren und die eingebaute Feder garantiert den Kontakt auch bei leicht veränderter Distanz zum Wafer.

2.5.5. Materialien für die Zellfertigung

Als Material für das Oberteil, welches als einziges in Kontakt mit dem FET und der Pufferlösung mit Analyt steht, wurde Plexiglas gewählt. Des weiteren lässt es sich mit entsprechender Genauigkeit bearbeiten, ist beständig gegenüber den verwendeten Chemikalien, kostengünstig und lässt sich für die gewünschten Abmaße bearbeiten. Das Unterteil wurde zunächst aus Polyoxymethylen hergestellt, da dieses weicher ist und sich Deformationen anpasst. Dieser Effekt ist sehr gering, dadurch wurde für spätere Versionen ebenfalls Plexiglas verwendet.

2.6. Durchführung der Messungen in Liquid-Gate Konfiguration

2.6.1. Messinstrument und Software

Zur Messung und Stromversorgnung wurde ein fertiges Multifunktionsmessgerät s4200 mit eingebautem CPU von Keithley verwendet. Source sowie Drain wurden von zwei eigenen Signalgeneratoren versorgt. Zur Bedienung wurde eine entsprechend vorprogrammierte Software „Kite“ (Keithley) verwendet. Zur gleichzeitigen Aufnahme der Kinetik bei verschiedenen Gate-Spannungen wurde VG mit einer Treppenfunktion angelegt und mit einer individuellen Sofware von „Lua“ ausgelesen. Die „Lua“-Software wurde ebenfalls von Keithley programmiert.

Die Messungen der I_DV_G und I_DV_D Kennlinien wurde bei allen Messungen separat von der Kinetik aufgenommen. Insbesondere bei der Aufnahme der Kurven von unterschiedlichen Lösungen (pH, Ionenstärke, Proteinen) wurden die I_DV_G und I_DV_D Kennlinien immer direkt nacheinander, im Takt von exakt 5 Minuten nach dem Einspritzen der jeweiligen Lösung gemessen.

2.6.2. Pump- und Schlauchsystem

Die Lösungen wurden mittels einer Peristaltikpumpe, bei einer Flussrate von 300µL/min, über Omnifit-Schläuche in den Detektionskanal transportiert. Die Wechsel von und zu den jeweiligen Lösungen (in 50mL Falcon-Tubes aufbewahrt) wurde manuell durchgeführt.
Zufluss Innendurchmesser: 0,76mm; Abfluss Innendurchmesser: 1,5mm

Als Electrolyt wurde, falls nicht anders aufgelistet, für alle Messungen PBS-Puffer mit pH 7,4 (Kapitel Lösungen) verwendet.

2.6.3. Isolation

Zur Isolierung gegen äußere elektromagnetische Felder wurden alle Messungen in einem Faradaykäfig (Maße 20x40x20cm) durchgeführt.

Alle Messungen wurden bei Raumtemperatur von 24°C in einem ventiliertem Labor durchgeführt.

2.7. Charakterisierung der Graphen-FETs

2.7.1. I_DV_D und I_DV_G Kennlinien

Um die hergestellten Feldeffekt-Transistoren auf ihre Funktionalität zu überprüfen, wurden Versuchsmessungen durchgeführt und die entsprechenden Kennlinien betrachtet.

2.7.1.1. I_DV_D

Die I_DV_D Kennlinien wurden durch lineares Anwachsen der Drainspannung in Schritten von 10mV bei $V_G = 0$ V aufgenommen. Um die Graphen-FETs nicht zu beschädigen wurde die Drainspannung nur bis maximal 500mV angelegt.

2.7.1.2. I_DV_G

Für die Messung der I_DV_G-Kurven wurde die Gatespannung V_G linear in Schritten von 5mV gesteigert und dabei der Drainstrom gemessen. Hierbei wurde das Interval der Gatespannung entsprechend für den jeweiligen FET ausgewählt. Dabei wurde darauf geachtet, dass das Stromminimum (Diracpunkt) gut erkennbar ist. Daher und um das Graphen nicht unnötig zu belasten, wurden alle Folgemessungen der I_DV_G Kennlinie mit linear anwachsender Gatespannung von -0.5 bis 0.5 Volt gemessen. Aus den so erhaltenen I_DV_G Kurven wurde eine geeignete Gatespannung gefunden und für eine nachfolgende Messung der I_DT -Kennlinie (Kinetik) konstant angelegt.

2.7.1.3. I_DT (Kinetik)

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde V_{SD} bei Messungen der Kinetik immer konstant auf 0.2 Volt gehalten, die Source Elektrode dabei über das Keithley-Messgerät geerdet. Die Spannung am Gate wurde durch Vormessung der I_DV_G Kurven gefunden und abhängig vom vorliegenden Transistor vor Aufnahmen der Kinetik (I_DT) manuell justiert.

Bei klar erkentlichen Drift der Baseline wurde diese durch eine Exponentialfunktion angenähert und zur Auswertung von der tatsächlich gemessenen Kurve abgezogen (Basislinienkorrektur).

2.8. Ionenstärke und pH – Messungen

Für die Detektion verschiedener Salzkonzentrationen aus einem Elektrolyten wurden ausgehend von einfachem PBS-Puffer (Kapitel 2.1.4.) entsprechende Konzentrationen hergestellt.

Zur Detektion verschiedener pH Werte in einem Elektrolyten wurde ein Tris-Puffer angesetzt und entsprechend mit NaOH bzw. HCl die pH-Bereiche 4-6 bzw. 6-8 mit dem pH-Meter eingestellt. Dabei ist zu beachten, dass die Genauigkeit des pH-Meters auf ±0.01pH beschränkt ist. Des weiteren wurde der pH-Wert nach der Messung noch einmal kontrolliert.
Zur Ermittlung der Linearität aus den gemessenen I_DT-Kennlinien wurde die, bei der jeweiligen Konzentration gemessene, Stromstärke gegen diese aufgetragen. Die hierfür verwendete Stromstärke wurde durch den Mittelwert über den stabilen Bereich bei der entsprechenden Konzentration berechnet.

2.9. Detektions von Biomolekülen

Das Detektionsprinzip für die elektrische Detektion von speziellen Biomolekülen in einer Lösung ist in Abb.11 schematisch dargestellt.

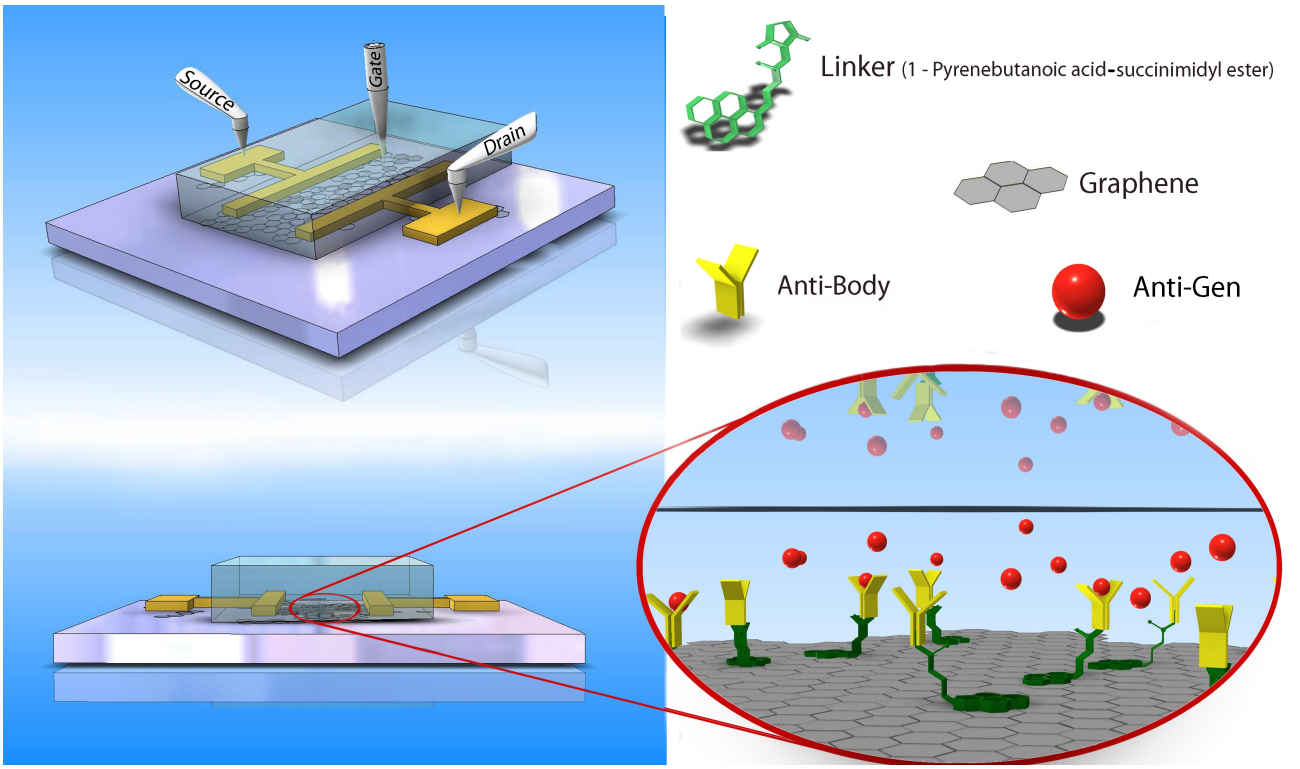


Abb.11) *Detektionspronzip des Graphen-FET*

2.9.1. Detektionsprinzip

Zur sensitiven und selektiven Detektion eines Antigens/Analyt aus einer Lösung, muss zunächst der korrespondierende Antikörper an dar Graphenoberfläche gebunden sein. Für diese Fixierung der Antikörper auf dem Graphene wurde PBSE verwendet, welcher in organischen Lösungsmitteln wie Dimethyl Formamid, über eine stabile $\pi-\pi$ – Bindung an hydrophobe Oberflächen wie Graphen irreversibel bindet. Dies erweist sich als großer Vorteil bei der Biodetektion, da der Succinimidyl ester auf der Graphenoberfläche sehr reaktiv gegenüber nukleophilen Substitutionen von primären oder sekundären Aminen, welche auf der Oberfläche von Antikörpern vorhanden sind, ist.[84] So kann der gewünschte Antikörper, über eine Anbindung am Linker, dauerhaft am Graphen angebracht werden.

Durch die Bindung von Antikörpern über einen Linker an das Graphen induzieren sich darin lokale Potentialunterschiede bei der Wechselwirkung des angebundennen Antikörpers mit einem Analyt/Antigen aufgrund der veränderten Gesamtladung der Struktur. Dies kann, abhängig von den elektrischen Eigenschaften des verwendeten Immunokomplex, zu einer Ladungsträgerverarmung oder Anreicherung auf der Graphenoberfläche führen. Dabei kommt es während der Inbetriebnahme des FET bei konstant angelegter V_{SD} und V_G zu einer Änderung des Stromes I_{SD}, welcher als Detektionssignal verwendet wird und sich beim Anbinden des Analyten folglich ändert.

2.9.2. Durchführung der Messungen

Es wurde eine 5mM Lösung des PBSE in DMF angesetzt (Kapitel 2.1.4.). Diese wurde auf den bereit fertig gestellten FET zentral aufgetragen und zugedeckt für 60 min. inkubiert. Danach wurde die Oberfläche zunächst mit DMF und danach mit PBS-Puffer abgewaschen, um ungebundene Linker zu entfernen.
Die Antikörperlösung (Kapitel 2.1.4.) wurde im Anschluss ebenfalls für 60 Minuten inkubiert, danach mit Puffer abgewaschen und der Chip anschließend für die Messung verwendet.
Für die Bestimmung der Sättigung wurde ein 1mM PBS Puffer mit pH Wert 7,4 verwendet. Der Isoelektrische Punkt von BSA liegt bei pH5,6, daher sind negative Ausschläge zu erwarten.

3. Messergebnisse

3.1. Untersuchungen der GO-Lösung

3.1.1. GO-Konzentration in hergestellter GO-Lösung

Tabelle 2) Bestimmung des Trockengewichts der GO-Lösung durch 10 Stichproben:

Probe	Leergewicht Behältnis [g]	Nassgewicht (0,5mL) [g]	Trockengewicht [g]	GO-Gewicht [g]
1	0,99356	1,49277	0,99470	0,00114
2	0,98803	1,48780	0,98918	0,00115
3	0,99211	1,49178	0,99320	0,00109
4	0,98848	1,48750	0,98964	0,00116
5	0,99530	1,49514	0,99645	0,00115
6	0,99025	1,49106	0,99179	0,00154
7	0,99337	1,49380	0,99468	0,00131
8	0.99081	1,48983	0,99205	0,00124
9	0,99443	1,49558	0,99536	0,00093
10	0,99352	1,49397	0,99472	0,00120
Mittelwert				0,00119 g

$\Rightarrow$ GO-Konzentration: $2{,}38 \pm 0{,}16 \frac{g}{L}$

Da die Abweichung der Konzentration in den 10 Proben aus der obersten Schicht frisch hergestellter Graphen-Oxid Lösung rund 10% betrug (Tabelle 2), konnte man eine annähernd homogene Verteilung des Graphen-Oxid annehmen.

3.2. Hydrazinreduktion

3.2.1. Photoelektronenspektroskopie (XPS)

In wie weit die Reduktion erfolgreich war, kann man mittels Photoelektronenspektroskopie untersuchen. Die Untersuchungen im Vorfeld dieser Diplomarbeit zeigten [96], dass diese Reduktionsmethode rund 90% der C-O und C=O Bindungen reduziert (Abb.12). Wie erwartet zeigte sich durch Messung des Flächenwiderstandes, dass bei stärkerer Reduktion der Widerstand des Graphens sank.

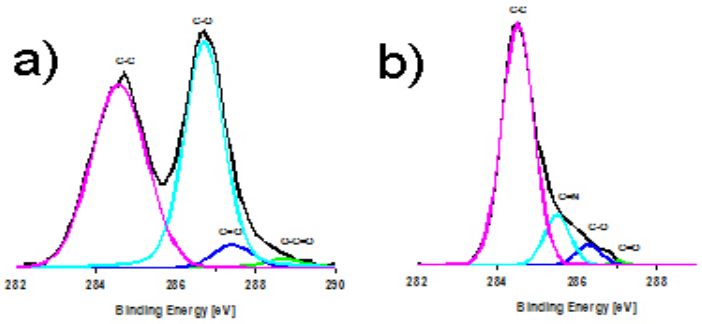


Abb.12) *XPS-Spektrum von GO/Graphen*
a) *Graphen-Oxid*
b) *nach Reduktion mit Hydrazin*

Der Rückgang der C-O (hellblaue Kurve), C=O (dunkelblau) und O-C-O (grün) -Bindungen nach der Reduktion ist klar erkennbar [96].

Aufgrund der Ergebnisse war ein Rückgang der sauerstoffhaltigen Gruppen, insbesondere der C-O, C=O und O-C-O, erkennbar. Der Anstieg des C-C Peaks bestätigt die erfolgreiche sp2-Hybridisierung des zuvor sp3-hybridisierten Graphen-Oxids und man konnte annehmen, dass die Struktur von Graphen wiederhergestellt wurde.

3.2.2. Auswirkungen der Positionierung des Hydrazins bei der Reduktion

Zur Überprüfung des Erfolges der Reduktion wurde der Widerstand des Transistors gemessen und so die am besten geeignete Positionierung des Hydrazins gefunden. Bei der Reduktion des GO mittels Hydrazin, zeigten sich Unterschiede bei verschiedenen Positionierungen des Hydrazins in der Schale (Auftrag auf Schalenboden, in eigenem Behältnis, zentriert, am Rand usw.).Wie anhand der Tabellen 3 und 4 erkennbar ist, hängt die Reduktionsrate von der Positionierung des Hydrazins in der Pertrischale ab.

Vergleich der Positionierungsmethoden:

Tabelle 3) Widerstände mit 1mL Hydrazin/12 Chips verteilt im selben Gefäß (in $k\Omega$) :

1,7	0,35	4,6	1	0,17	0,1
0,23	0,32	0,36	0,6	0,1	0,46
0,35	1,5	0,38	0,55	0,35	0,69
0,28	0,29	0,75	0,2	0,29	0,4

Tabelle 4) Widerstände mit 1mL Hydrazin/12 Chips in eigener Schale (in $k\Omega$) :

25,11	6,74	11,88	16,67	21,6	0,15
7,53	12,29	17,44	22,1	0,14	8,25
13,28	18,25	23,21	4,77	9,18	14,46
19,16	24,46	1,34	10,33	15,18	20,38

Da man eine Änderung der anderen Parameter der Herstellungsmethode ausschließen konnte, erschien im Vergleich der tropfenweise Auftrag von 1mL Hydrazin, verteilt in die eine Hälfte einer Petrischale, GO auf zwölf bis dreizehn Siliciumwafern gut zu reduzieren (Tab.3). Bei den 24 Proben bewirkte die Reduktion einen Rückgang des gemittelten Widerstandes der FET auf 0,67 $k\Omega$, wohingegen die Positionierung des Hydrazins in einem eigenen Gefäß den Widerstand der FET im Mittel nur bis auf 13,49 $k\Omega$ reduzierte (Tab.4).
Daher wurde die Reduktion im selbem Gefäß (Tab.3) für die Herstellung aller weiteren FETs für Messungen als Standardmethode verwendet.

3.3. Charakterisierung des Graphens

3.3.1. Bestimmung der Schichtdicke mittels AFM

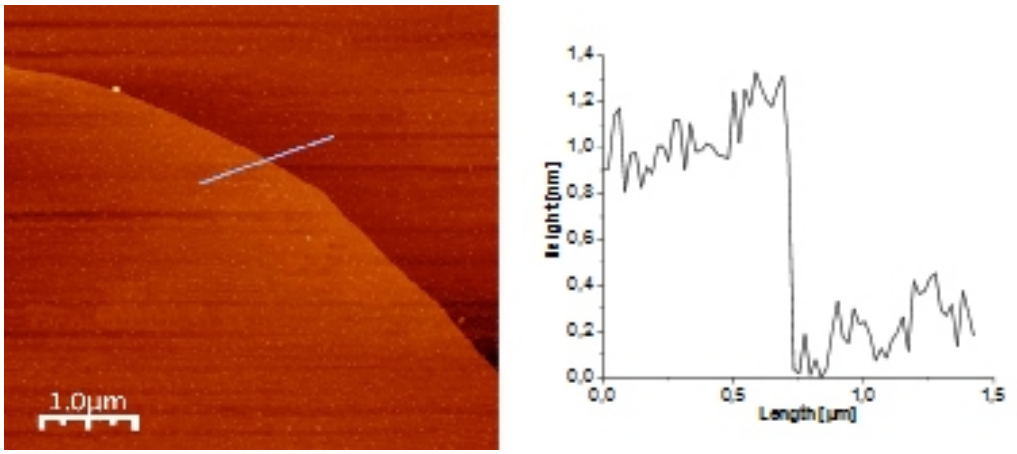


Abb.13) *AFM Aufnahme von Graphen [96]. Die weiße Linie in der linken Abbildung zeigt den Verlauf des Höhenprofils (rechts)*

Mit dem AFM wurde die Schichtdicke bestimmt. Das Höhenprofil über 1,5µm zeigte eine Dicke um 1,0nm und eine etwas größere Dicke am Rand (Abb.13). Laut Literaturwerten weisen Monolagen Dicken zwischen 0,7 und 1nm auf [25,40]. In der Atmosphäre kondensiert eine Schicht Wasserstoffs auf Graphen, weshalb auch Monolagen in der Aufnahme eines AFM eine Höhe von Rund einem Nanometer haben.

Es zeigte sich, dass beim von uns hergestellten Graphen größtenteils Monolagen zu finden sind. Allerdings ist aufgrund der Abblätterungsprozesses des Graphit-Oxides während der von uns gewählten nasschemischen Herstellungsmethode auch von Multilagen im GO auszugehen.

3.3.2. Untersuchung der Graphenverteilung mittels SEM

Die mittels Drop-Cast Methode mit 1mL GO bedeckten Wafer wurden zunächst mittels SEM untersucht. Abb.14 zeigt einen Ausschnitt eines so hergestellten Wafer und zeigt einen Flake mit 3000 µm^2. Die dunkleren Stellern sind auf Überlappungen mit kleineren Flakes zurückzuführen und stellen ein Multilayer dar. Wie am Rand von Abb.14 (rechts oben) zu erkennen ist, konnten stellenweise auch graphitähnliche Strukturen mit einer undefiniert hohen Anzahl an Lagen gefunden werden. Im Allgemeinen war zwar keine gleichmäßige Bedeckung der Oberfläche zu erkennen, trotzdem konnten auf dem Großteil der Oberfläche ausgedehnte Gebiete mit Monolagen gefunden werden.

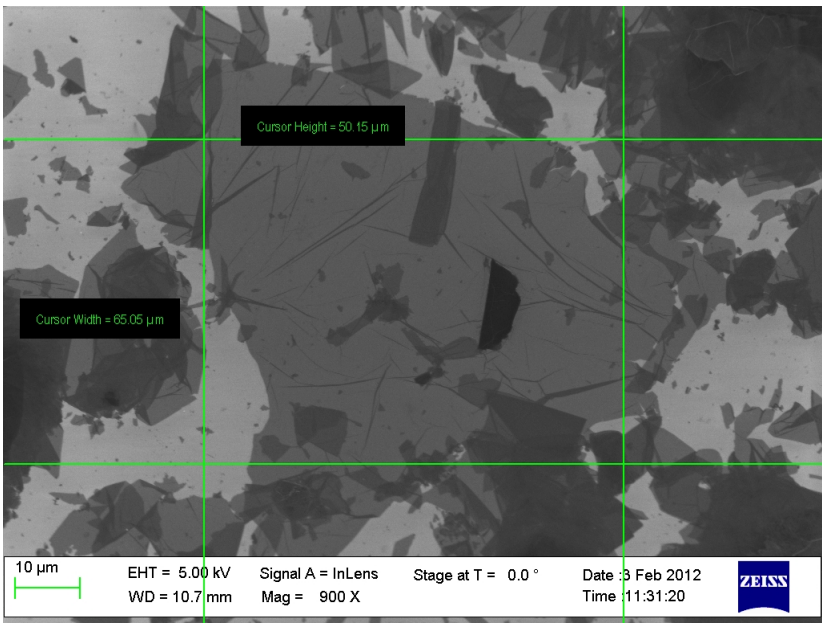


Abb.14) *SEM Aufnahme der Verteilung mittels Drop-Casting Methode einer unverdünnten Lösung mit Inkubationszeit 1h. Der gewählte Ausschnitt zeigt einen Graphen-Flake mit 50µm x 65µm.*

3.3.3. Auftragsmethoden des GO

Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurde die Drop-Cast Methode gewählt. Ein detailierter Vegleich der Auftragsmethoden wurde nicht durchgeführt. Bei einführenden Untersuchungen wiesen die mittels Drop-Casting Methode bedeckten Wafer stets eine gleichmäßigere Graphenverteilung als die mittels Dip-Coating und Spin-Coating Methode beschichteten Oberflächen auf.

Vergleich von der Widerstände der FET mit Drop-Casting und Dip-Coating:

In den Tabellen 5 und 6 werden die Widerstände der Chips, die durch zwei unterschiedliche Auftragsmethoden hergestellt wurden (Drop-Casting und Dip-Coating) verglichen. Alle anderen Herstellungsparameter wurden hierfür konstant gehalten. Es wurde eine 1:1 mit Di-H2O verdünnte GO-Lösung verwendet, die Reduktion wurde mit 1µL Hydrazin in der gleichen Schale durchgeführt und die Chips wurden im Bedampfung so verteilt, dass beide Proben von möglichen Schatteneffekten gleich beeinflusst wurden. Ein etwas größere Widerstand bei den mittels Dip-Coating hergestellten Proben ist erkenntlich.

Tabelle 5) Drop-Cast [kΩ] :

8,1	11,2	8	7,8	8,3	8	7,8
8,3	8,6	17,9	8	8,2	7,9	

Tabelle 6) Dip-Coating [kΩ] :

7,5	7,1	193	16,6	7,9	7,4	7,9
847	10,4	63,5	17,6			

3.4. Bedampfung mit Goldelektroden

3.4.1. Schablonenhalterung

Um gleichzeitig 25 Chips mit Goldelektroden bedampfen zu können. Wurde eine Schablonenhalterung konstruiert (Abb.15).

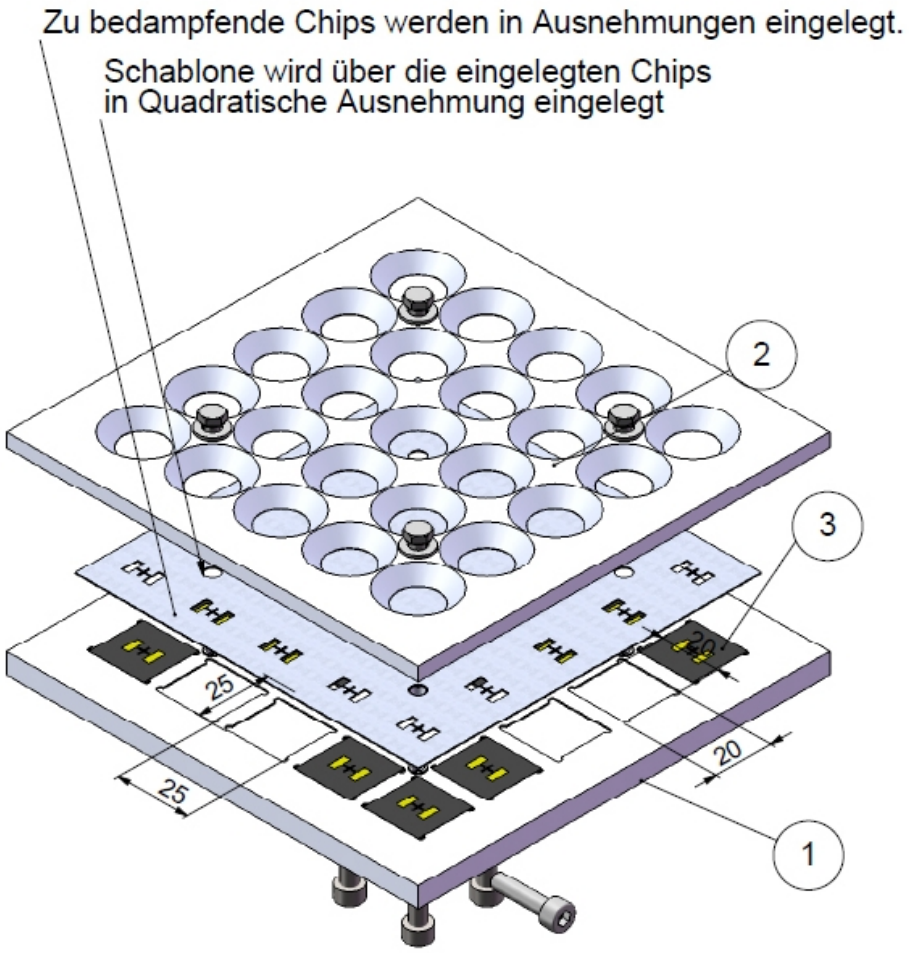


Abb. 15) *Chiphalter zur Bedampfung von 25 Chips bestehend aus drei Einzelteilen: Halterung(1) mit Aushebungen(3) und Deckplatte (2).*

- **1)** Halterung mit an den Bedampfer angepasster Verschraubung rückseitig. Aus DIN 1.4310 rostfreiem Edelstahl.
- **2)** Deckplatte zur ebenen Anpressung der Bedampfungsmaske (reduziert Schatteneffekte). Aus DIN 1.4310 rostfreiem Edelstahl.
- **3)** Aushebungen für Silicium Wafer mit entsprechenden Toleranzen (-0/+20µm)

Durch die Variation der Spaltbreite auf den Chips und der klar erkenntlichen Symmetrie, konnte man deutliche Schatteneffekte bei der verwendeten Aufdampfmaske und Aufdampfmethode erkennen. Allerdings lagen die Schwankungen immer noch in einem akzeptablen Bereich, da die Kontaktierung mittels Graphen auch bei größeren Spaltbreiten gegeben ist und diese zumeist auch einen Widerstand von unter $5k\Omega$ aufwiesen.

3.4.2. Bedampfungsmaske

Die Bedampfungsmsaske wurde aus einer speziellen Aluminium-Magnesium Legierung (AlMg4,5Mn) mit einer Stärke von 0.4mm gefertigt. Um zu Überprüfen ob die der 60µm breiten Stege zwischen den Ausfräsungen für die Goldkontakte unbeschädigt und geradlinig sind, wurden optische Kontorollmessungen der Bedampfungsmaske durchgeführt und aufgenommen.

Abb.16 zeigt eine optische Aufnahme (10x Vergrößerung) einer neuen und unverbrauchten Bedampfungsmaske. Nach Vermessung des Stegs (Spalt) konnte eine Breite von 60 ± 3 µm über die gesamte Länge des Stegs bei allen 25 Ausfräsungen bestätigt werden. In Abb.17 ist ein Bruch eines Stegs bei einer häufig verwendeten Bedampfungsmaske zu sehen. Die Breite beträgt hier nur mehr um 20µm.

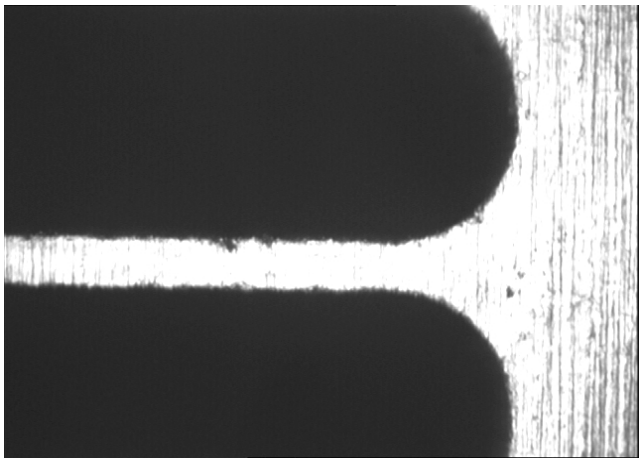


Abb 16) *optische Aufnahme einer unverwendeten Bedampfungsmaske. Die Breite des Stegs beträgt 60µm.*

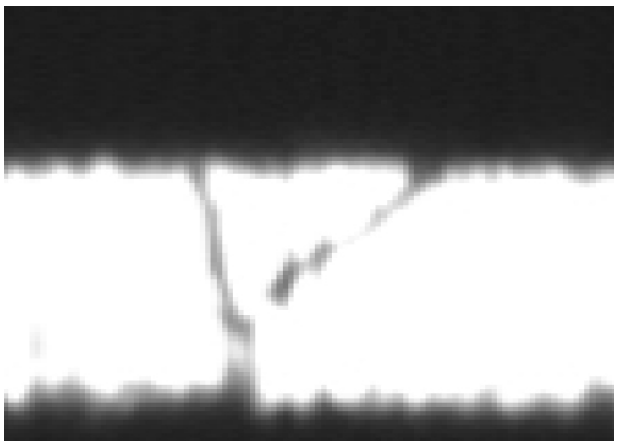


Abb 17) *optische Aufnahme einer häufig verwendeten Bedampfungsmaske. Die Breite des Stegs beträgt 20 ± 5µm.*

Es konnte eine Erosion der Bedampfungsmaske festgestellt werden. Die Anfangs mit 60µm bemessenen Stege, wiesen nach häufigem Gebrauch und Kontrollmessungen mit dem optischen Mikroskop eine Verminderung der Stegbreiten von bis zu 15µm auf (Abb.16,17). Dies konnte auf die Reinigung im Ultraschallbad zurückgeführt werden.

3.4.3. Überprüfung der Spaltbreite auf Silizium-Wafer

Um den Erfolg der Bedampfung zu verifizieren wurden die fertigestellten FETs optisch untersucht und die Spaltbreite vermessen. Dabei zeigt sich eine symmetrische Variation der Spaltbreiten der FETs in Abhängigheit von der Position am Bedampfungsteller. Die Variation wurde durch auftretenden Schatteneffekte erklärt (Kapitel 2.4.3).

Tabelle 7 zeigt die optisch Vermessenen und über die gesamte Länge gemittelte Spaltbreite von mit einer neuen Schablonenmaske bedampften FETs in Abhängigkeit von ihrer Positionierung. Die fünf Spalten und Zeilen der Tabelle entsprechen den 25 Positionen im Bedampfungshalter, wobei der Chip in Position links oben beschädigt wurde und nicht aufgelistet ist. Die Variation aufgrund der Schatteneffekte mit größeren Spaltbreiten näher am Rand ist gut erkenntlich.

Tabelle 7) Spaltbreite der FET nach Bedampfung mit neuer Schablonenmaske (60µm Stege) :

	96,7	100,7	100,7	96,7
63	63,7	62,7	65,7	61,3
59,7	58,7	58,3	60,3	61,7
61	61,3	61	62	59
90,3	88	91,3	93,7	98,7

Auch die Spaltbreite der mit häufig verwendeter Schablonenmaske (Stege auf bis zu 20µm beschädigt) bedampften FET wurde optisch vermessen. Dabei zeigen sich gekrümmte Ränder des aufgedampften Goldes, ein Rückgang der Spaltbreite (Abb.18) sowie eine kleinerer Einfluss der Schatteneffekte auf Spaltbreite.

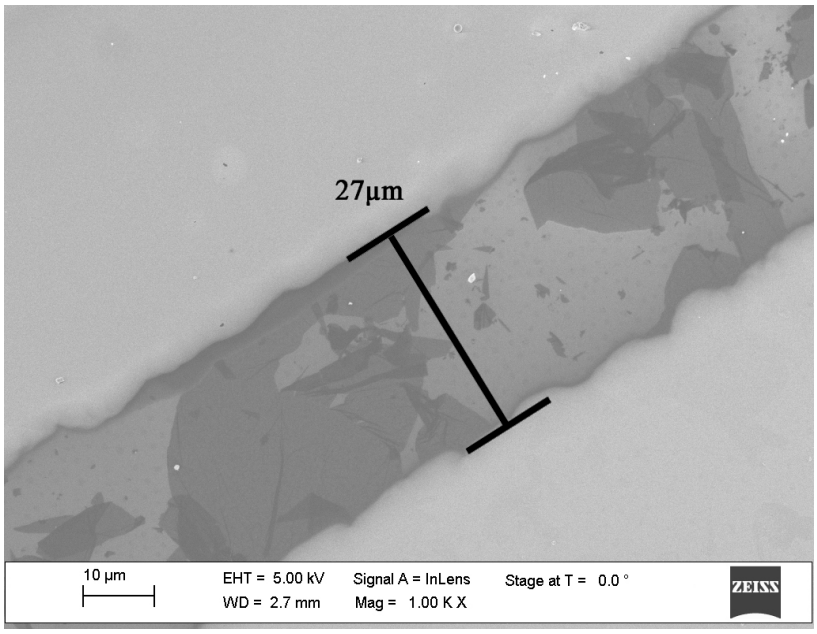


Abb 18) *27µm breiter Spalt eines mit Graphen bedeckten und mit Goldelektroden bedampften Silizium-Wafers (FET)*

3.5. Durchflusszelle

Es wurden schrittweise drei Protoypen der Durchlfusszelle hergestellt. Dabei wurden jeweils, aufgrund der praktischen Erfahrungen mit dem Vorgängermodel, Modifizierungen ausgearbeitet.

3.5.1. Version 1:

Abb 19) *Erster Prototyp der Durchflusszelle (Radius 2cm). links: Unterteil; rechts: Oberteil*

Unterteil:

Das Unterteil (Abb.19 links) wurde aus Polyoxymethylen mit Durchmesser von 40mm gefertigt. Die Aussparung für die FETs ermöglicht die problemlose und reproduzierbare Positionierung der Chips, welches bei den Testmessungen bestätigt werden. Die Verschraubung von Ober und Unterteil durch M4 Schrauben zeigte bei langer Beanspruchung des Materials Probleme des Gewindes im POM auf.

Oberteil:

Ein- und Ausfluss wurden im Oberteil (Abb.19 rechts) passend auf Omnifit ¾ Schlauchanschlüsse dimensioniert. Zur sicheren Dichtung des Gewindes wurden jeweils ein passender O-Ring in den Ausfräsungen positioniert. Mit der Verwendung dieser O-Ringe konnte ein Auslaufen der Lösung an Omnifit-Schlauchanschluss vermieden werden.

Der Durchflusskanal wurde mit 12µm Länge vermessen. Bei den Testmessungen wurde ein Ansammeln von Luftblasen an den Rändern beobachtet. Trotz starkem Anpressdruck von Ober- und Unterteil verlor die Dichtung entlang des Durchflusskanals die anfängliche Wasserfestigkeit bei lang anhaltender Beanspruchung des Materials (nach rund einhundert Messungen).

3.5.2. Version 2:

Zur leichteren Handhabung wurde bei der zweite Version der Durchmesser der Radius auf 3 cm vergrößert.

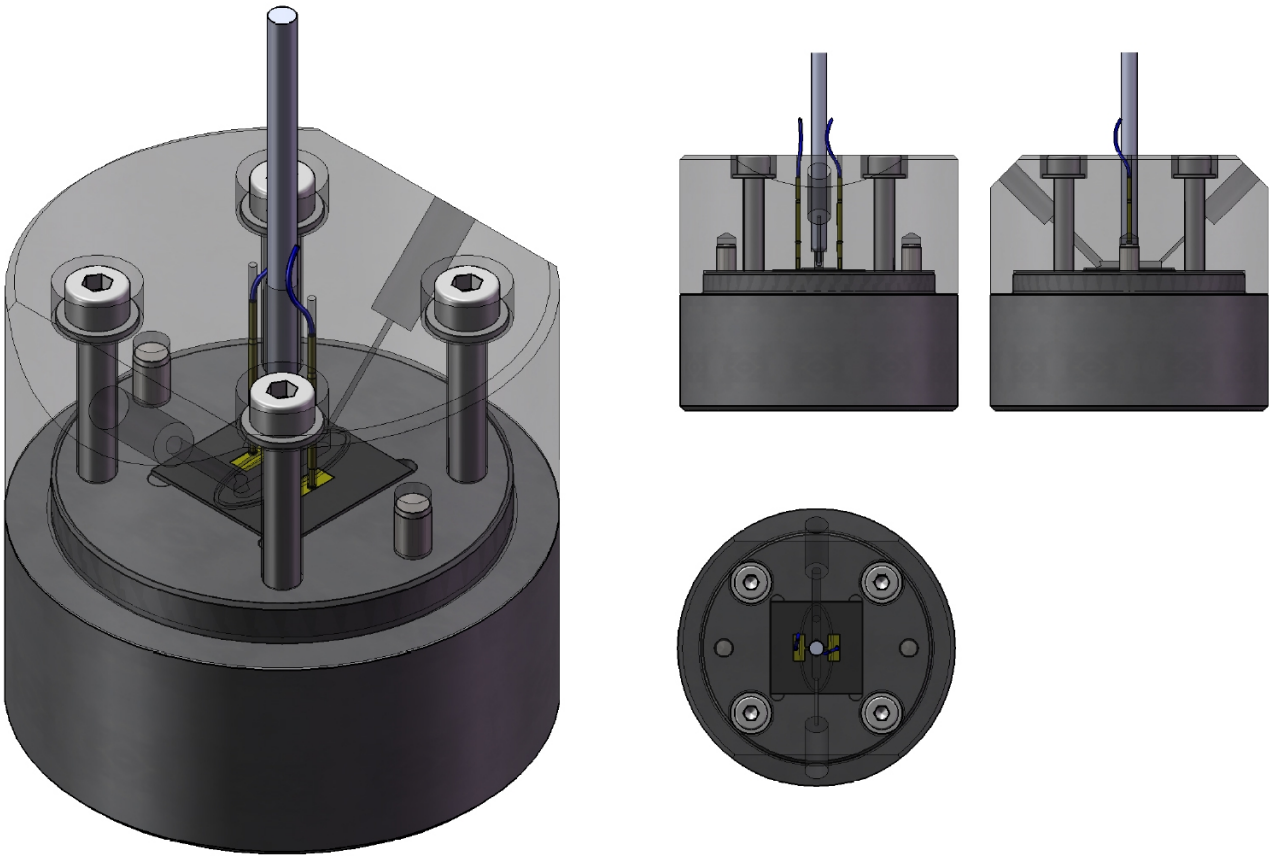


Abb. 20) *Prototyp 2 der Durchflusszelle. Der Radius beträgt hier 3 cm.*

Unterteil:

Es wurden Helicoil-Gewindeeinsätze in das Unterteil aus POM eingesetzt (Abb.20) um die Verschraubung von Ober- und Unterteil zu ermöglichen und eine Abnutzung des Gewindes selbst nach sehr vielen Messungen zu verhindern.

Oberteil:

Der Durchflusskanal wurde gegenüber Version 1 verlängert und mit 18mm Länge bemessen, wohingegen der Durchmesser des Ausflusskanals verdoppelt wurde. Des weiteren wurden Ein- und Ausfluss um 45° zur vertikalen Achse gekippt (Abb.20), um dadurch das Ansammeln von Luftblasen zu verhindern. Bei den Testmessungen mit dieser Durchflusszelle konnten keine Störsignale durch Luftblasen festgestellt werden.

Um zwischen Ober- und Unterteil auf Dauer eine Dichtung zu gewährleisten, wurde um den Durchflusskanal eine Aussparung für einen O-Ring gefertigt. Mithilfe des verwendeten O-Rings konnte auch nach langer Beanspruchung des Materials keine Wasserdurchlässigkeit festgestellt werden.

3.5.3. Version 3:

Beim dritten Prototypen wurde sowohl Ober- als auch Unterteil aus PMMA gefertigt.

Abb.21) *Prototyp 3 der Durchflusszelle mit Radius 3 cm.*

Unterteil:

Zusätzlich zu den Modifikationen von Version 2 wurde die zuvor rund gefräste Kante am Unterteil nun mit einer passgenauen Form gefertigt (geradlinig an den Rändern) um so reproduzierbare Positionierung und Stabilität zu sichern. Dadurch wurde bei der dritten Version der Durchflusszelle auf den Einsatz eines Passstifts verzichtet.

Oberteil:

Die Kante des Oberteils wurde passend zu der des Unterteils modifiziert. Da durch diese passgenaue Fräsung der Ränder von Ober- und Unterteil nun zusätzliche Stabilität erreicht wurde, wurden nur 2 M4-Verschraubungen zwischen Ober- und Unterteil symmetrisch angebracht um den Ein- und Ausbau der FET zu beschleunigen.

3.6. Überprüfung der Kennlinien der hergestellten FETs

3.6.1. I_DV_D (Abb.22)

Die FET zeigen in den gemessenen IDVD Kurven im Bereich bis zu 500mV Source-Drain - Spannung lineares Verhalten. Der Sättigungsbereich konnte trotz Anlegens von hohen Spannungen (150V) nicht erreicht werden, da dieser bei den von uns hergestellten Graphen-FET selbst bei über einem Milliampere nicht eintritt.

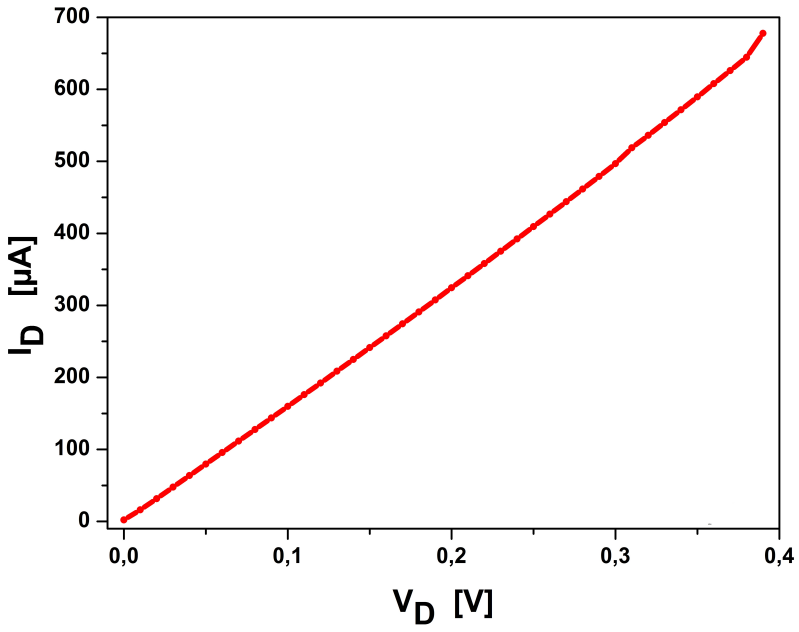


Abb. 22)
I_DV_D-Kennlinie eines Graphen-FET mit 638 Ω Widerstand, gemessen in 1xPBS Puffer (2.1.3))

3.6.2. I_DV_G (Abb.23)

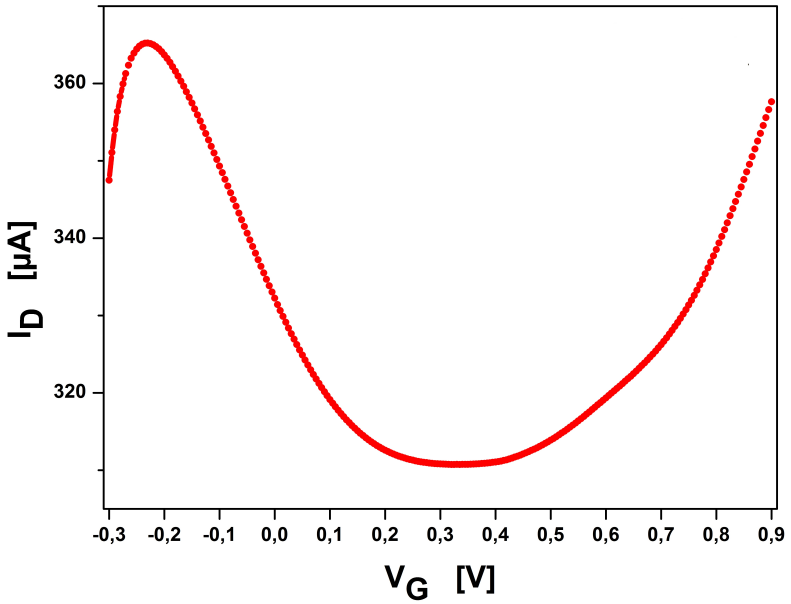


Abb. 23)
Typische I_DV_G-Kennlinie eines Graphen-FET (638 Ω,1xPBS) .
Der Dirac-Punkt befindet sich um 0,3V V_G.

Die I_DV_G-Kennlinien wurden für die Charakterisierung im V_G [V] - Intervall von -0.3 bis 0,9 V gemessen und zeigen typische Halbleitercharakteristika und ambipolares Verhalten. Der Punkt des Minimums des Drainstroms bei variierender Gatespannung wird Dirac-Punkt genannt, die entsprechende Spannung Dirac-Spannung und wurde beim Großteil der FETs um V_G=0,3 gefunden.

3.7. Detektion der Ionenstärke einer Pufferlösung

Für die Ionenstärken-Detektion wurden PBS-Lösungen mit einem pH von 7,4 verwendet.

3.7.1. Verhalten bei hohen Ionenstärken

Zur Messung des Verhaltens bei höheren Ionenstärken wurden die Kennlinien der Graphen-FET (Abb.24,25) zunächst schrittweise bei, von 17 bis 425mM, steigender Gesamtionenstärke aufgenommen. Zur Überprüfung der Reversibilität und Stabilität wurde auch eine Titration mit zunächst aufsteigenden und im Anschluss fallenden Ionenstärken über 35 Minuten durchgeführt und mittels der Kinetik (Abb.26) verfolgt. Die Messdaten (Abb.24-26) zeigen die Messdaten eines Graphen-FET mit 3kΩ Widerstand.

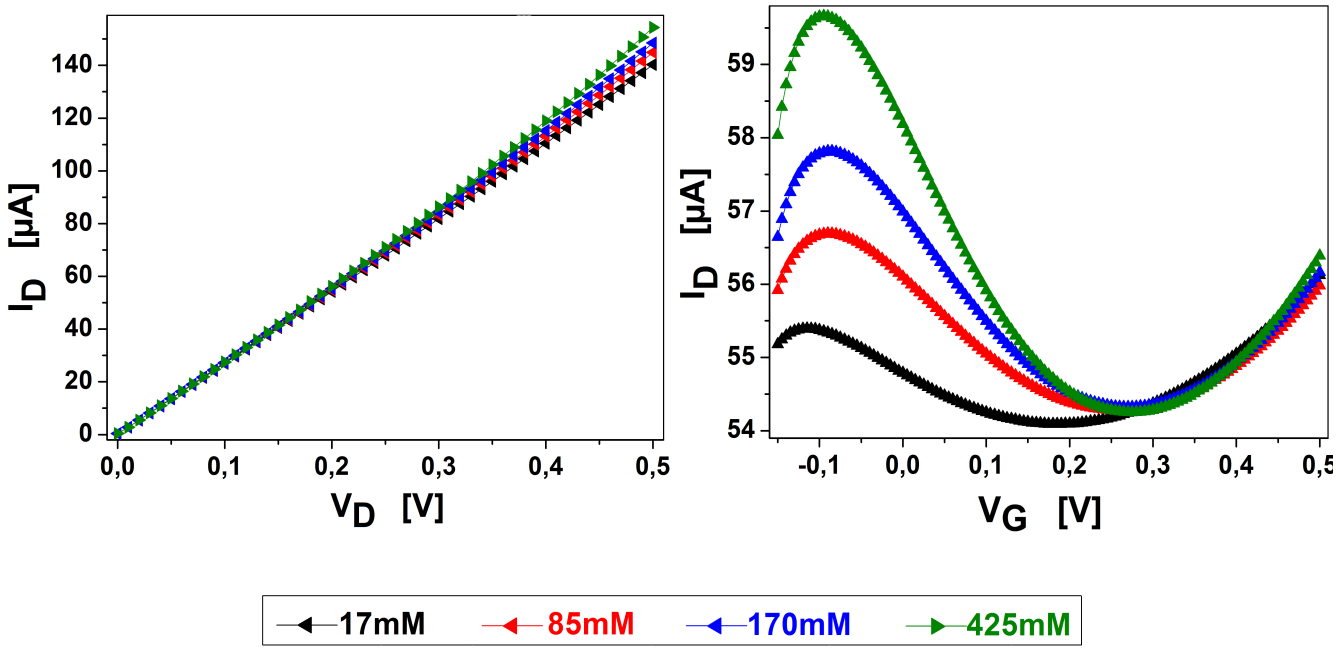


Abb. 24) *I_DV_D -Kennlinien verschiedener Ionenstärken (links)*

Abb. 25) *I_DV_G -Kennlinien verschiedener Ionenstärken (rechts)*

In der I_DV_D Kennline ist ein stärkerer Strom (sinkender Widerstand) bei ansteigender Ionenstärke zu erkennen (Abb.24). Dieses Verhalten wird in der der I_DV_G-Kennlinie (Abb.25) bei V_G=0V bestätigt. Es zeigt sich, dass bei ansteigender Ionenstärke der verwendeten Pufferlösung, der negative Ast der I_DV_G-Kennlinie anwächst, der FET durch höhere Ionenstäke also n-dotiert wird. Dies führt eine leichte Verschiebung des Dirac-Punktes mit sich. Diese wird allerdings erst ab Ionenstärken von 170mM erkenntlich, da der Dirac-Punkt der Kennlinien von 17, 85 und 170mM noch bei annähernd gleicher V_G liegt.

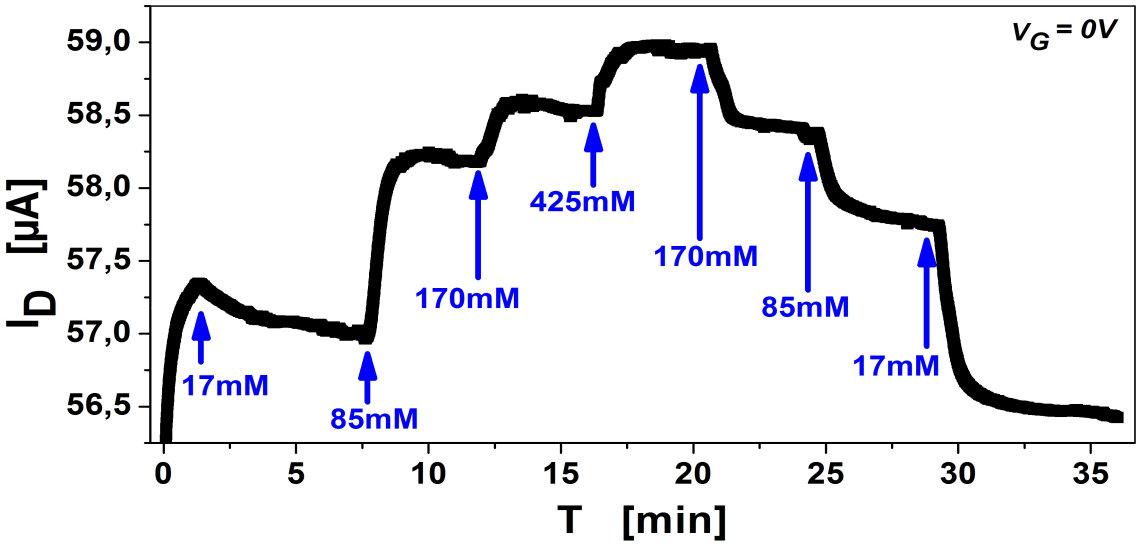


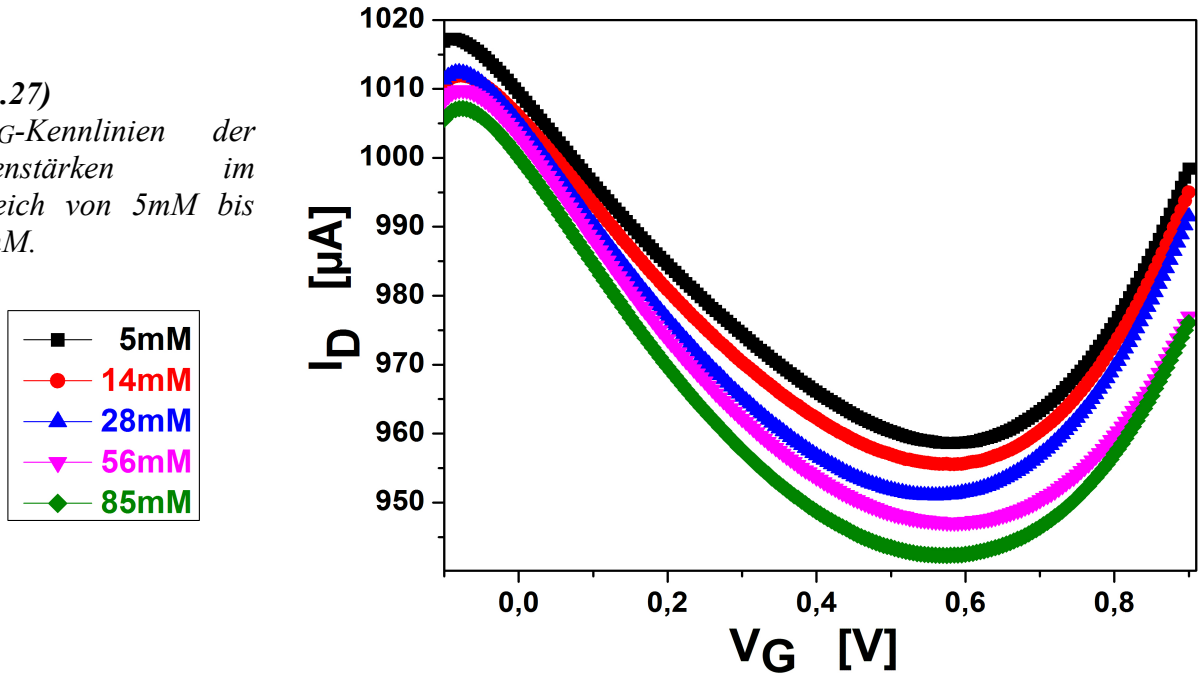
Abb. 26) *IDT - Kennlinie (Kinetik). Die blauen Pfeile markieren das Einspritzen des Puffers mit der jeweiligen Ionenstärke.*

In der Kinetik (Abb.26) zeigt sich mit ansteigender Zeit ein konstanter Abfall der Stromstärke der Basislinie. Bei Annahme eines linearen Abfalls der Basislinie mit 22nA/sek zeigt sich für jede der Ionenstärken vollständige Reversibilität mit einer Abweichung von rund 1%.

3.7.2. Verhalten bei niedrigen Ionenstärken

Zur Überprüfung des Verhaltens der FET bei niedrigen Ionenstärken wurden die IDVG-Kennlinien im Intervall von 5 – 85mM Gesamtionenstärke aufgenommen (Abb.27). Anschließend wurde eine Titration mit den selben Konzentration durchgeführt (Abb.28). Die abgebildeten Messdaten wurden mit einem Graphen-FET mit 204 Ω Widerstand aufgenommen.

Abb.27) *IDVG-Kennlinien der Ionenstärken im Bereich von 5mM bis 85mM.*



Bei Änderung der Ionenstärke im niedrigen millimolaren Bereich, zeigt die I_DV_G-Kennlinie (Abb.27) eine Verschiebung des Dirac-Punktes bei annähernd konstanter Dirac-Spannung. Die Dirac Spannung wurde bei diesem FET um $V_G \approx 0{,}55V$ gefunden. Im Gegensatz zur Detektion von höheren Ionenstärken ist hier keine Dotierung des Graphens zu beobachten, das Verhalten bleibt bei allen Konzentrationen ambipolar.

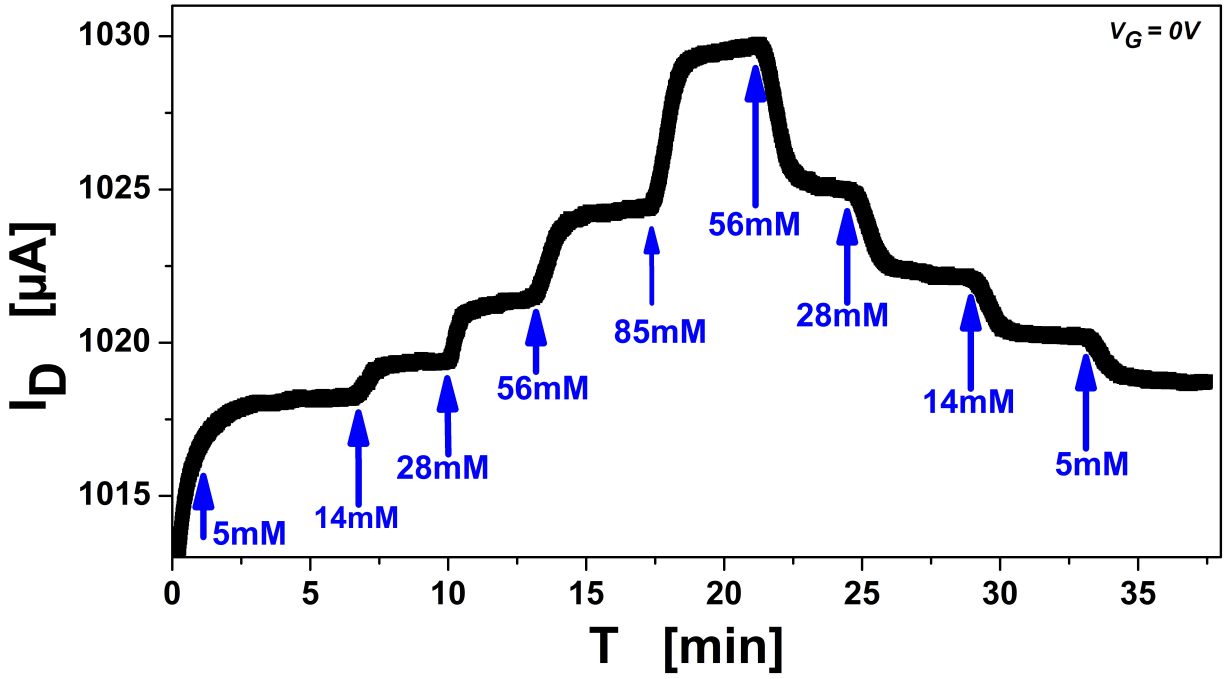


Abb. 28) *Titration von niedrigeren Ionenstärken. Die blauen Pfeile markieren das Einspritzen des Puffers mit der jeweiligen Ionenstärke.*

Bei der Messung der Kinetik zeigte der FET gute Stabilität über 35 Minuten (Abb.28). Bei der Titration zu höheren Ionenkonzentrationen (Min. 0 bis 21, aufsteigender Ast) zeigte sich ein leichter Anstieg der Basislinie. Dieser Anstieg der Stromstärke scheint mit höheren Ionenstärken (85mM) verstärkt zu werden. Bei absteigenden Konzentrationen war dieser Effekt nicht zu beobachten, was auf eine Stabilisierung der Basislinie während der Messung zurückgeführt wurde.

Aufgrund des Anstieges der Basislinie konnte eine Reversibilität der Messung nur bedingt festgestellt werden. Bei allen vier Konzentrationen (5, 14, 28, 56mM) wurde eine Abweichung von $\approx 1\mu A$ zwischen aufsteigendem und absteigendem Ast gemessen.

Um Variationen der, Anfangs auf pH7,4 eingestellten, Puffer als Grund für die beschriebenen Schwankungen auszuschließen, wurden die pH-Werte der Lösungen nach der Messung der Kennlinien kontrolliert (Tabelle 8).

Tabelle 8) Variationen der pH-Werte :

Ionenstärke	5mM	14mM	28mM	56mM	85mM
pH-Wert	7,47	7,48	7,47	7,51	7,54

3.7.3. Verhalten bei Variation der Gate-Spannung

Um die Abhängigkeit des Detektionssignals von der Gate-Spannung während der Kinetik zu überprüfen, wurde V_G in Form einer Treppenfunktion (periodisch mit 1Hz) im Intervall von -0.4V bis 0.4V über 60 Minuten angelegt. Dabei wurde I_D in Schritten von 0.1V V_G gemessen und die Messpunkte zu den jeweils entsprechenden Gate-Spannungen zugeordnet. Im Anschluss wurde die Basislinie von allen Messkurven abgezogen. Es wurde ein FET mit R=78 Ω für die Messung verwendet.

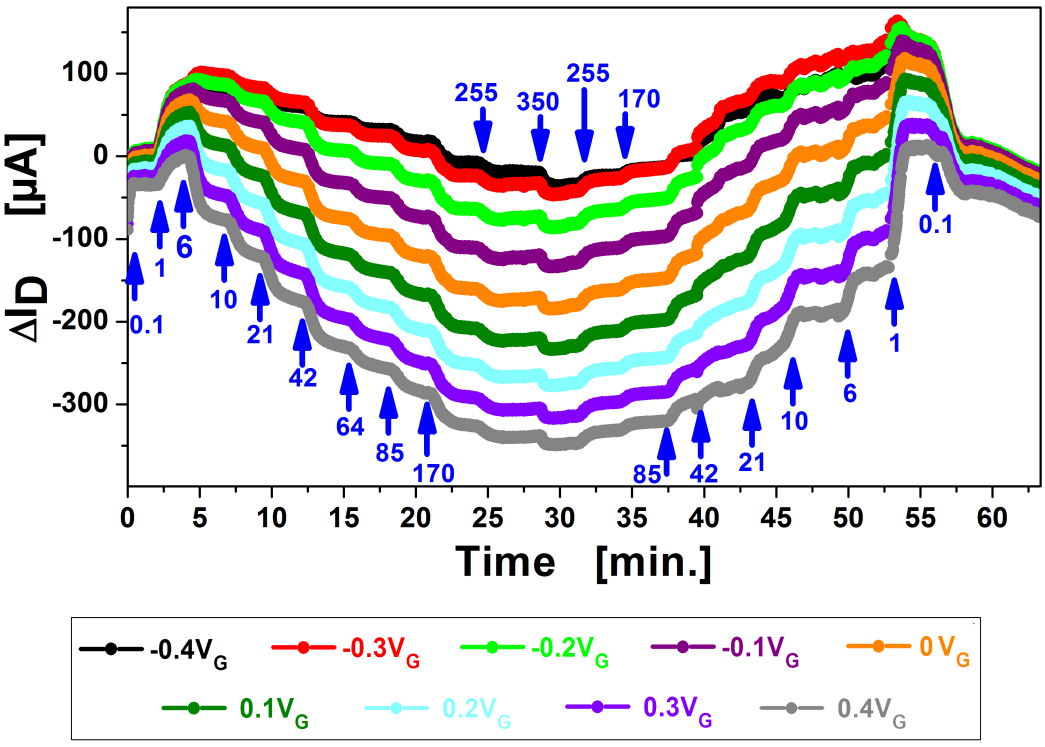


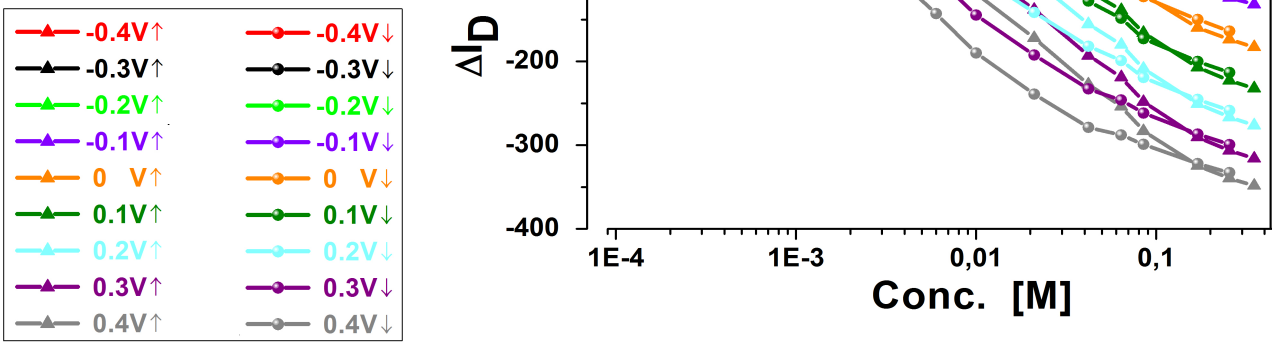
Abb. 29) *Kinetik verschiedener V_G. Die Ionenstärken wurden von 0,1 bis 355mM gewählt. Die blauen Pfeile stellen das Einspritzen der jeweiligen Konzentration (in mM) dar. Das stärkere Detektionssignal hin zu höheren V_G (grau) ist gut erkennbar.*

Durch die gleichzeitige Messung der Kinetik bei verschiedenen Gate Spannungen zeigt sich das durch die Messungen in Kapitel 3.6.3. erwartete Verhalten, allerdings mit p-Dotierung. Bei geringern Ionenstärken ist die I_DV_G-Kennlinie flacher (Abb.25,27). Dadurch liegen für niedrigere Ionenstärken auch die Stromstärken bei verschiedenen V_G in einem engeren Intervall (näher aneinander, Minute 0 bis 5).

Das Detektionssignal, also der Stromunterschied zwischen den Konzentrationen, sinkt mit der angelegten Gate-Spannung. Zwischen den Konzentrationen von 1mM und 355mM Gesamtionenstärke beträgt das Detektionssignal bei V_G= 0,4 V rund 350µA und bei V_G= -0,4 V beträgt diese Differenz nur mehr rund 80µA.

Der Auftrag der Stromstärke gegen die Ionenstärke der jeweiligen Konzentrationen zeigt bei allen V_G ab 6mM annähernd lineares Verhalten (Abb.30). Bei 1mM ist ein Vorzeichenwechsel des Detektionssignals aufgrund des Anwachsens der Ionenstärke des Puffers und der damit verbundenen Dotierung duch Ionen zu erkennen.

Abb. 30) *Regression von Stromstärke und Ionenstärke der Messung aus Abb. 29. Die Pfeile in der Legende bezeichnen den aufsteigenden(↑, Min.0-30) bzw. absteigenden(↓, Min.30-60) Ast.*



Die Linearität zeigt einerseits die Äquivalenz der Messung mehrerer V_G gleichzeitig durch eine angelegte Treppenfunktion zur Messung nur einer konstanten V_G, andererseits wird das aus den I_DV_G-Kennlinien (Abb.25 und Abb.27) erkenntliche Verhalten (Dotierung) durch größere Signalstärken bei höherer V_G während der Kinetik bestätigt.

3.8. pH-Wert Analyse

Um die Sensitivität der FETs zu testen, wurden Versuchsmessungen mit auf unterschiedliche pH-Werte eingestellten Puffern (Tris, Kapitel 2.1.4.) durchgeführt.

3.8.1. Detektion von pH-Werten im Intervall pH4 bis pH8.

Zur Detektion der pH-Werte in einem breiten Intervall wurde ein Tris-Puffer verwendet. Die dargestellten Daten (Abb.31-33) wurden mit einem FET mit 880Ω gemessen.

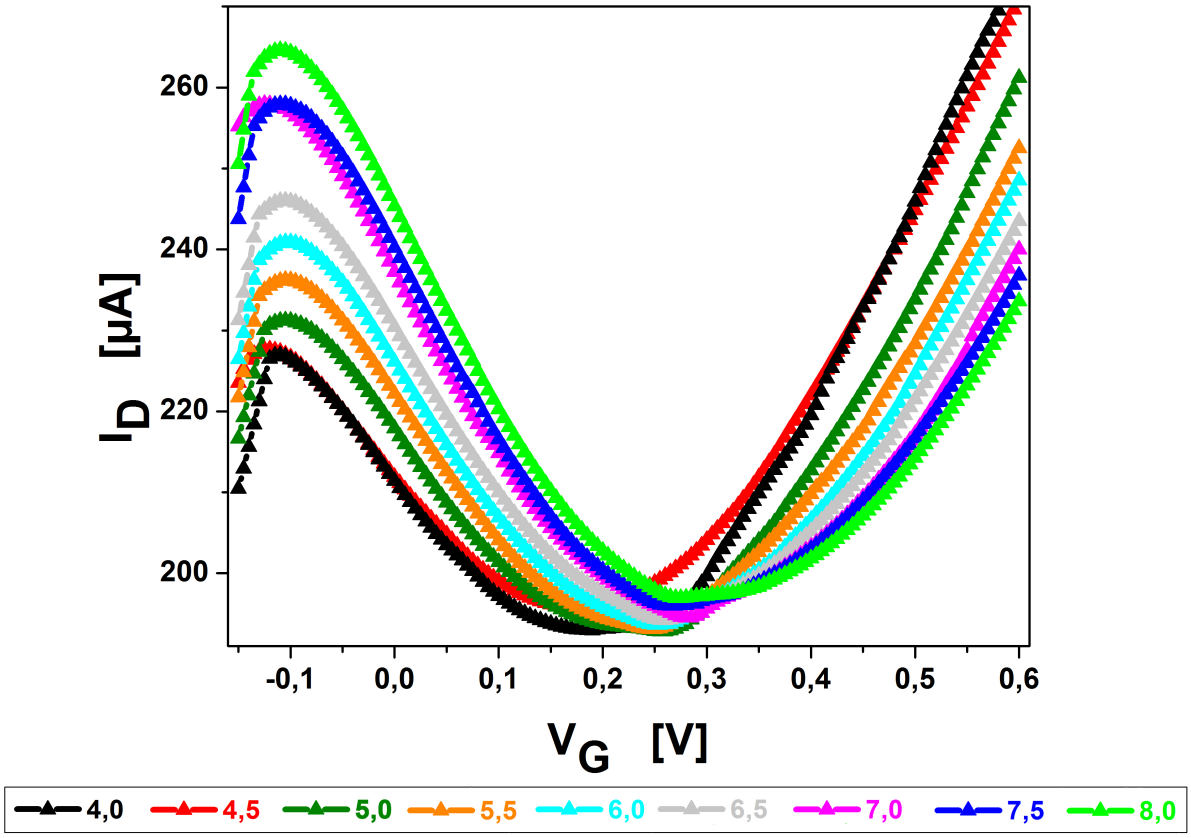


Abb.31) *I_DV_G-Kennlinie der Lösungen im Bereich von pH4-pH8.*

Mit der I_DV_G Kurve (Abb.31) konnte eine Verschiebung des Dirac-Punktes bei unterschiedlichen pH-Werten beobachtet werden. Dabei verschiebt sich die Dirac-Spannung bei steigendem pH-Wert beginnend bei pH4, von V_G=0,2V hin zu V_G=0,3V bei pH8. Des weiteren zeigt Abb.30 zunehmende n-Dotierung des FET bei steigendem pH-Wert der Lösung. Dabei ist das Graphen bei pH4 p-dotiert, weist symmetrisch ambipolares Verhalten bei pH6,5 auf und ist bei pH8 n-dotiert.

Die zunehmende Dotierung bei steigendem pH-Wert bewirkt auch die größere Leitfähigkeit bei steigendem pH-Wert in der I_DV_D-Kennlinie (Abb.32), da die dabei angelegte Gate-Spannung (V_G=0V) stets kleiner als die Dirac-Spannung ist.

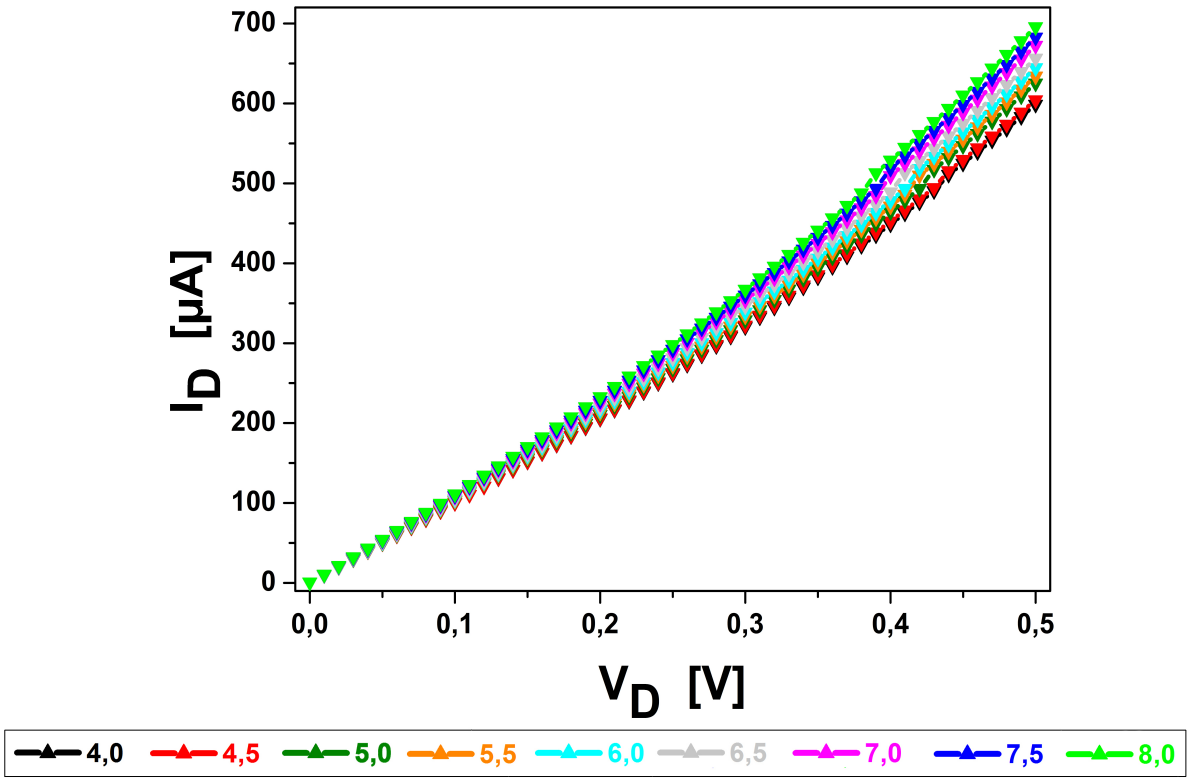


Abb.32) *I_DV_D - Kennlinie der Lösungen im Bereich von pH4 bis pH8.*

Zur Überprüfung der Linearität der Detektion von pH-Werten in einem breiten Intervall wurde eine Titration mittels I_DT-Kennlinien über 75 Minuten aufgenommen (Abb.33). Der FET zeigte, abgesehen von einem leichten linearen Basisliniendrift (in Abb.33 wurde Basislinie korrigiert), Stabilität über den gesamten Messzeitraum.

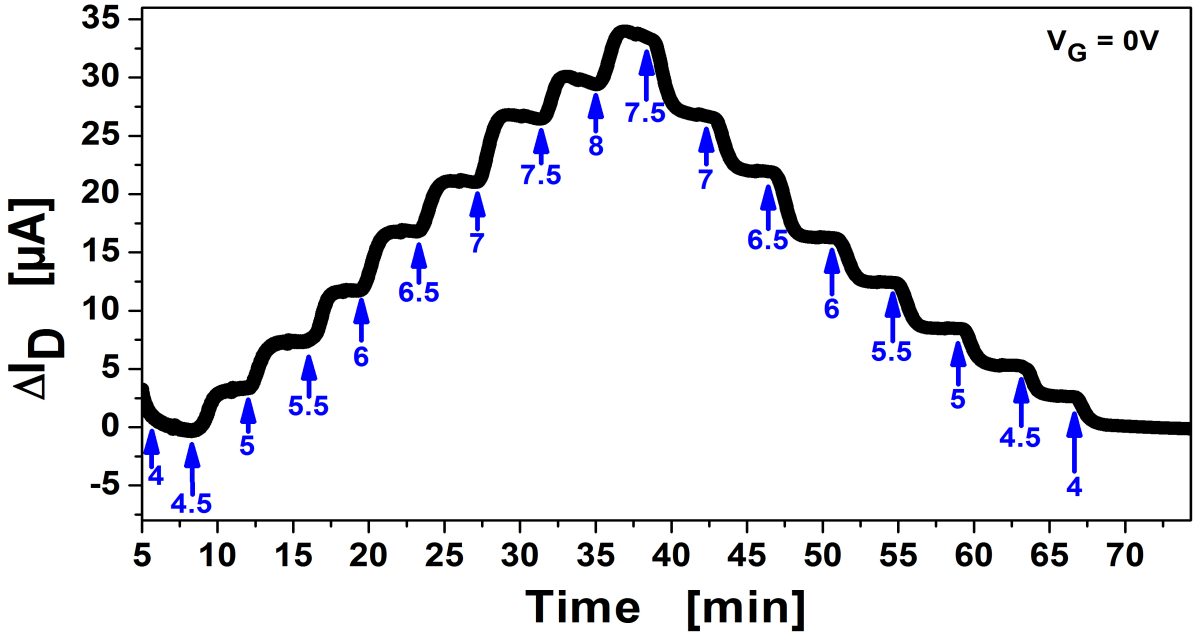


Abb.33) *Kinetik: Blaue Pfeile markieren das Einspritzen der Lösung mit jeweiligem pH-Wert.*

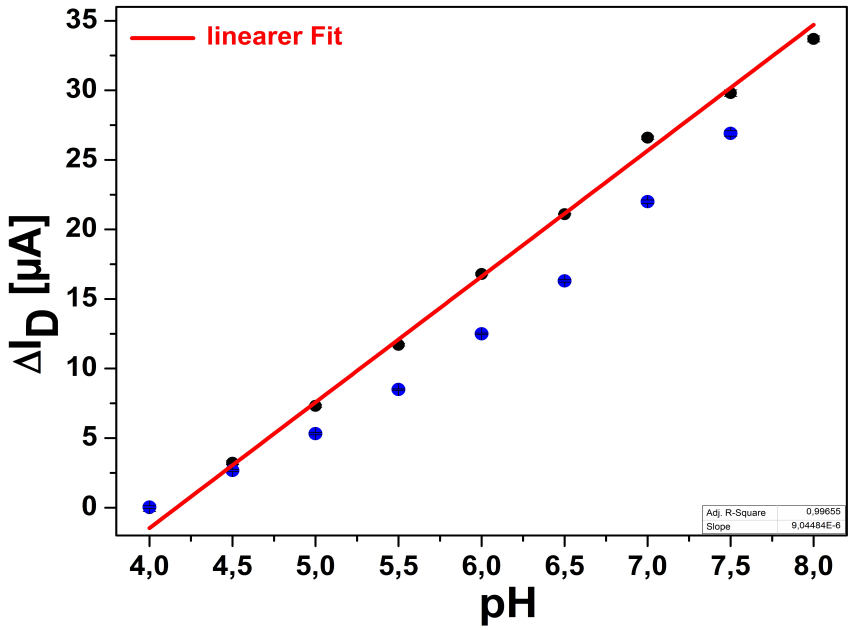


Abb.34) *Auftrag der pH-Werte der eingespritzten Lösungen gegen die jeweilige Stromstärke. Die schwarzen Punkte entsprechen der Detektion bei anwachsenden pH-Werten (Min.5-37) und die blauen Punkte der Detektion bei sinkenden pH-Werten (Min.37-70).*

Um die Linearität der gemessenen Kinetik (Abb.33) zu bestimmen, wurde der bei einem pH-Wert gemessenen Strom gegen diesen aufgetragen und anschließend ein linearer Fit an die Messpunkte bei ansteigendem pH-Wert angepasst (Abb.34).

Die Regression zwischen Konzentration und Stromstärke (Abb. 34) zeigt für den aufsteigenden Ast (Min.5-37) lineares Verhalten mit einer Übereinstimmung von 99% $(\chi 2)$ und eine Sensitivität (Steigung) von 9,0µA/pH. Ein linearer Fit konnte für den absteigenden Ast nur mit einer Genauigkeit von 90% angefertigt werden. Die schlechte Reversibilität ist auf einen stärkeren Basisliniendrift ab pH7 zurückzuführen. Die hier verwendete exponentielle Basislinienkorrektur verschiebt die Stromstärken des absteigenden Astes zu geringeren Drain-Strömen, weshalb sie die Linearität der Messung ab Minute 35 nicht korrigieren kann.

Um eine Abschätzung des Fehlers aufgrund von Verunreinigung der Lösungen durch Übertragung von anderen Lösungen unterschiedlicher pH-Werte durch das Schlauchsystem zu ermöglichen, wurden die pH-Werte der einzelnen Puffer nach der Messung kontroliert (Tabelle 9).

Tabelle 9) Variation der pH-Werte der verwendeten Lösungen, vor und nach der Messung:

pH vor Messung	3,99	4,53	4,99	5,48	5,99	6,5	7,02	7,5	8,03
pH nach Messung	3,86	4,73	4,97	5,47	6,09	6,47	6,89	7,68	7,96

3.8.2. Detektion von pH-Werten im Intervall pH6 bis pH7.

Für die Detektion in einem engen Intervall wurde ein 1xPBS-Puffer verwendet (Kapitel 2.1.3). Für die Messungen (Abb. 35 und 36) wurde ein Graphen-FET mit 980 Ω Widerstand verwendet.

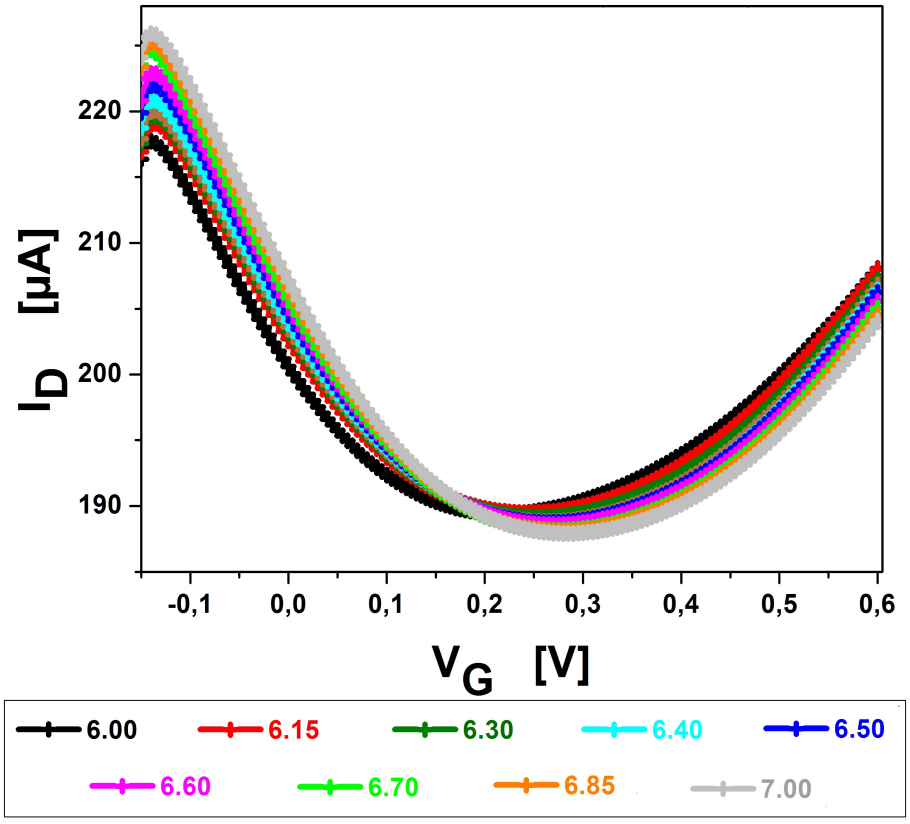


Abb.35) *I_DV_G - Kennlinie der Lösungen mit pH-Werten im Bereich von pH6 bis pH7*

Auch bei der der I_DV_G Kurve der pH-Werte in einem engen Intervall (Abb.35) konnte, wie bei der Messung der pH-Werte in einem breiten Intervall (Abb.31), eine Verschiebung des Dirac-Punktes zu höheren Gate-Spannungen bei steigendem pH-Wert beobachtet werden. Der Dirac-Punkt verschiebt sich hier von $V_G \approx 0{,}22V$ bei pH6 zu $V_G \approx 0{,}29V$ bei pH7.

Zur Bestimmung der Sensitivität und des Detektionslimits der Graphen-FET wurde eine Titration der Lösungen mit pH-Werten im Intervall pH 6-7 über 90 Minuten durchgeführt (Abb.36). Der FET zeigte gute Stabilität über den gesamten Messzeitraum, um eine genauere Auswertung zu ermöglichen wurde an der gemessenen Kurve eine Basislinienkorrektur durchgeführt. Bei der Auswertung der Kinetik (Abb.37) wurde eine Sensitivität von 6,2µA/pH berechnet und eine Messgenauigkeit von ± 0,02pH aus den Abweichungen ermittelt. Um diese mit der Änderung des pH-Werts der Lösungen während der Messung zu vergleichen, wurden deren pH-Wert im Anschluss kontrolliert (Tabelle 10).

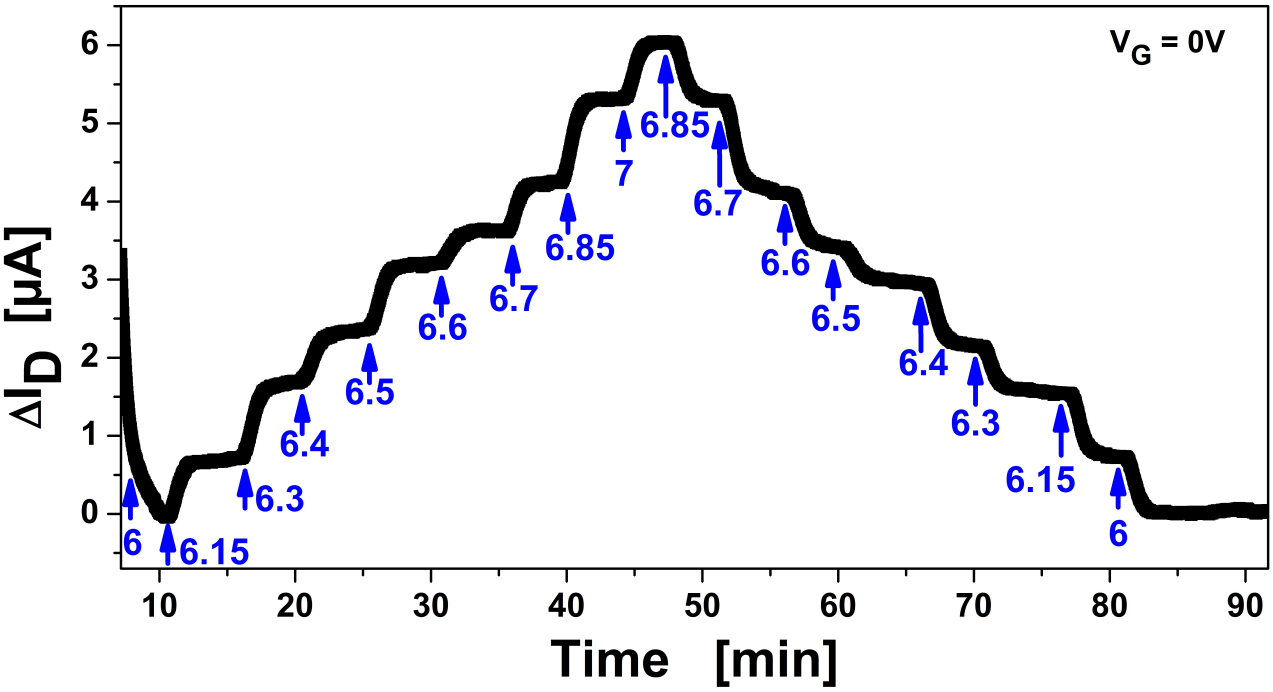


Abb.36) *Kinetik: Blaue Pfeile markieren das Einspritzen der Lösung mit jeweiligem pH-Wert.*

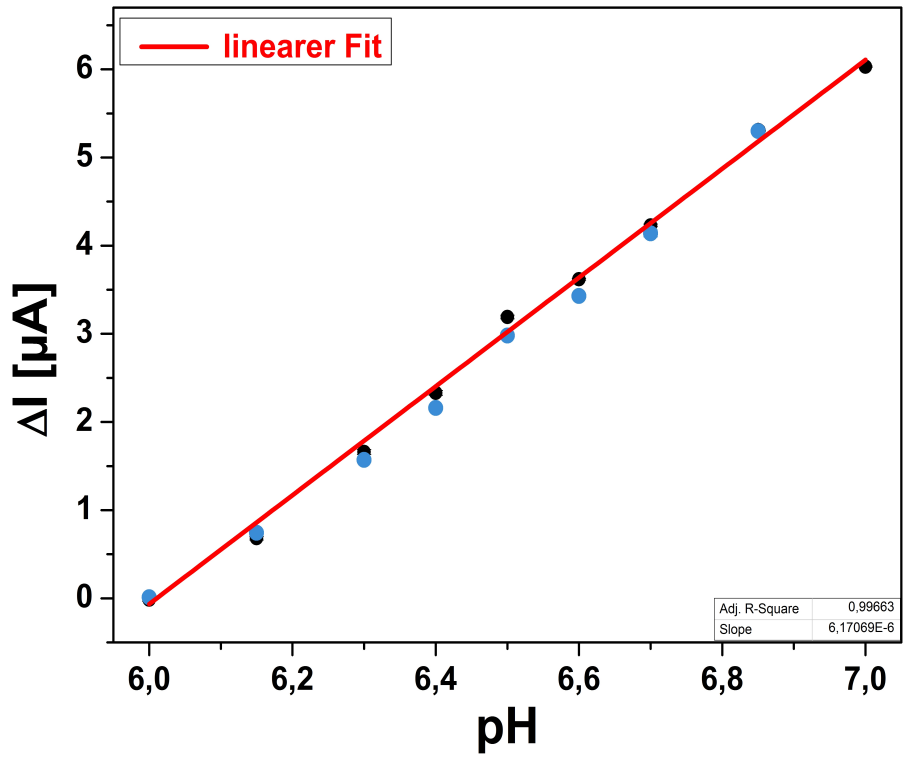


Abb.37) *Auftrag der pH-Werte der Lösungen gegen die jeweilige Stromstärke.*
Schwarze Punkte: pH aufsteigend (Min.10-46); Blaue Punkte: pH sinkend (Min.46-85).

Die Regression von Konzentration und Stromstärke (Abb.36) zeigt lineares Verhalten mit einer Übereinstimmung von 99% $(\chi 2)$ für den Bereich der aufsteigenden sowie absteigenden

pH-Werte. Die bei der Auswertung bestimmte Genauigkeit von pH ± 0.02, wurde auf Überreste anderer Lösungen, welche mit dem Pumpsystem ungewünscht übergeführt wurden, und auf Temperaturschwankungen der Lösungen nach der Lagerung im Kühlraum zurückgeführt. Die, durch die Kontrolle der Lösungen nach der Messung, gefundenen pH-Werte wiesen eine Abweichung von bis zu pH ± 0.03 vom ursprünglich eingestellten pH-Wert auf (Tabelle 10).

Tabelle 10) Variation des pH-Wertes der verwendeten Lösungen:

pH vor Messung	6	6,15	6,3	6,4	6,5	6,6	6,7	6,85	7
pH nach Messung	5,99	6,15	6,28	6,4	6,5	6,6	6,71	6,85	6,97

3.9. Detektion von bovine serum albumin

Es wurde zunächst durch Variation der Ionenstärke der Pufferlösung eine geeignete Messumgebung für die Anbingungsanalyse von BSA auf den funktionalisierten FET gefunden (3.8.1.). Durch Titration wurden die Assoziations und Dissoziationskonstanten sowie das Detektionslimit nach Langmuir für BSA bestimmt (3.8.2.).

3.9.1. Detektion in Abhängigkeit der Ionenstärke der Pufferlösung

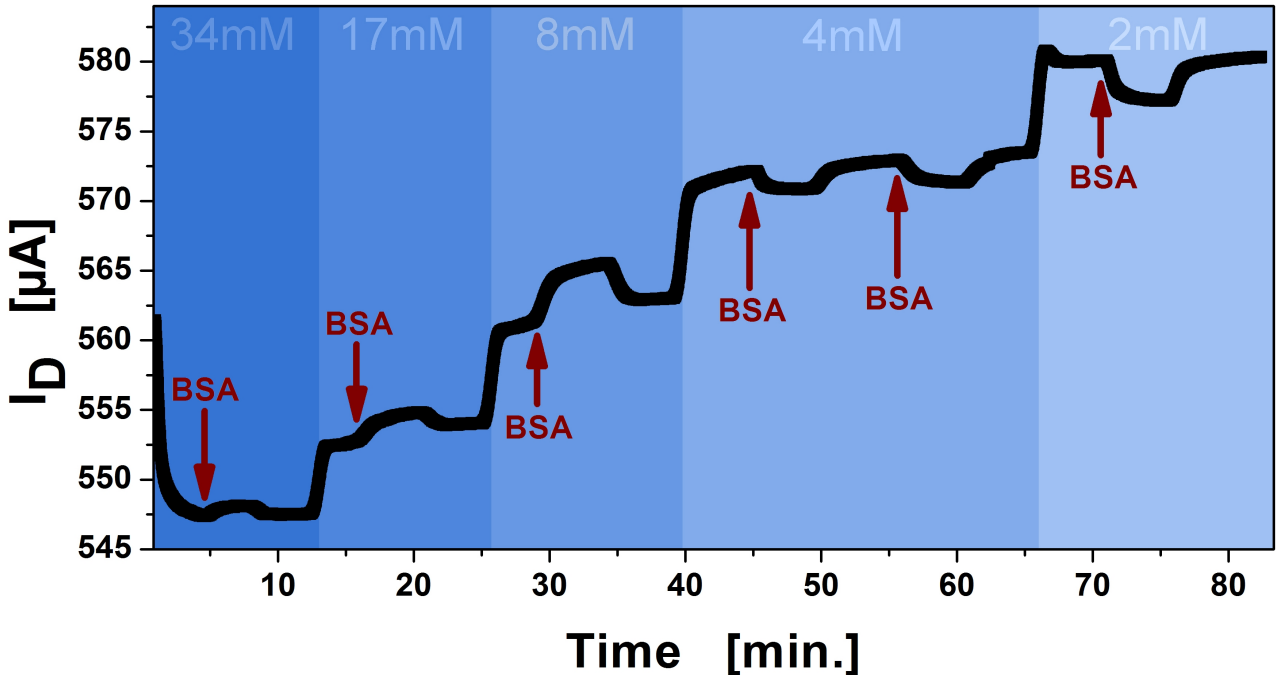


Abb.38) *Kinetik: Die roten Pfeile Kennzeichen das Einspritzen von 50nM BSA. Die Gesamtionenstärke der Pufferlösung wurde schrittweise von 34mM auf bis zu 2mM reduziert.*

Zur qualitativen Analyse der Anbindung von BSA an Anti-BSA (2.9.1) in Abhängigkeit von der Ionenstärke der verwendeten Pufferlösung wurde die Kinetik eines FET mit 360 Ω über 80 Minuten bei V_G=0V gemessen (Abb.38). Es konnte gute Stabilität über den gesamten Messzeitraum festgestellt werden, weshalb die Basislinie hier nicht korrigiert wurde.

Des weiteren wurde eine starke Abhängigkeit der Signalstärke von der Ionenstärke des Puffers gefunden. Dabei zeigte sich das ausgeprägteste Detektionssignal bei 8mM mit einem Unterschied von 3,5µA zwischen dem Signal des Puffers mit und dem ohne BSA. Zwischen 8mM und 4mM Ionenkonzentration der Pufferlösung wurde ein Vorzeichenwechsel des Detektionssignals beobachtet, dabei wechselte das Signal bei sinkender Ionenstärke vom positiven in den negativen

Bereich. Allerdings lässt der aus Abb.38 erkenntliche Trend ein Anwachsen des Detektionssignals bei geringeren Ionenstärken als 2mM erwarten, da dieses mit sinkender Ionenstärke des Puffers immer weiter anwächst (ausgenommen im Bereich des Vorzeichenwechsels) und bei 2mM bereits 3µA beträgt.

Dies konnte durch die, separat mit dem gleichen FET, gemessene I_DV_G-Kuve (Abb.39) bestätigt werden. Aus den I_DV_G Kennlinien (insbesondere Abb.40) ist klar ersichtlich, dass die Kennlinien der Pufferlösungen einer konstanten Ionenstärke, jeweils mit und ohne BSA, näher aneinander liegen wenn die Ionenstärke der Pufferlösung geringer wird. Bei geringerer Gesamtionenstärke des Elektrolyten steigt demnach das Detektionssignal.

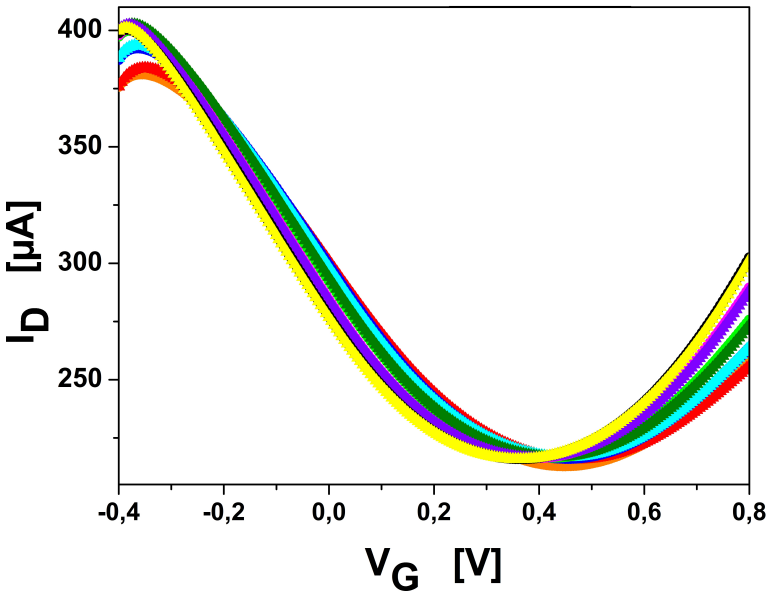
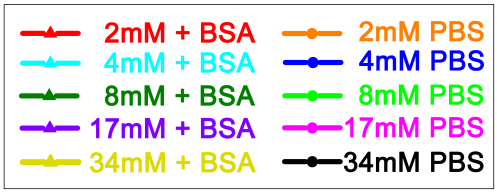


Abb.39) *I_DV_G Kennlinie verschiedener Ionenstärken des Puffers und der Detektion von BSA bei diesen Pufferlösungen. Die Angaben in mM in der Legende beziehen sich auf die Ionenstärke des verwendeten Puffers, BSA bezeichnet jeweils 50nM BSA-Konzentrationen im Puffer.*



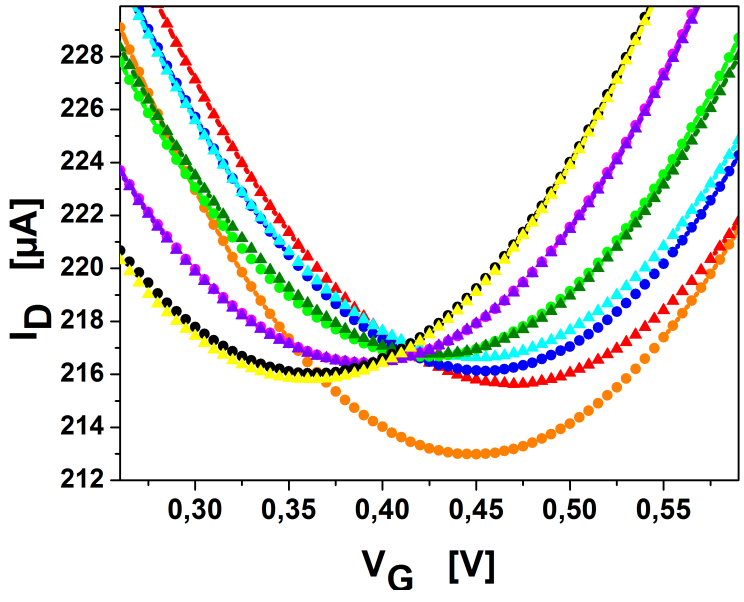


Abb.40) *Detailansicht von Abb.39 im Bereich um den Diracpunkt. Die Signalstärke (Differenz zweier Kurven gleicher Ionenstärke) ist bei 2mM PBS am stärksten ausgeprägt (orange/rot).*

3.9.2. Messung der Sättigung (Langmuir Modell)

Zur Bestimmung der Sättigung wurde die Konzentration des BSA inm Puffer (0.01xPBS, pH7,4) fortwährend gesteigert (Titration). Die Messungen in diesem Kapitel wurden mit einem FET mit 690 Ω uns 42µm Spaltbreite durchgeführt. Zur Berechnung der Anbindungskoeffizienten wurde die Ausschläge der Konzentrationen nach Langmuir exponentiell gefittet (Abb.41).

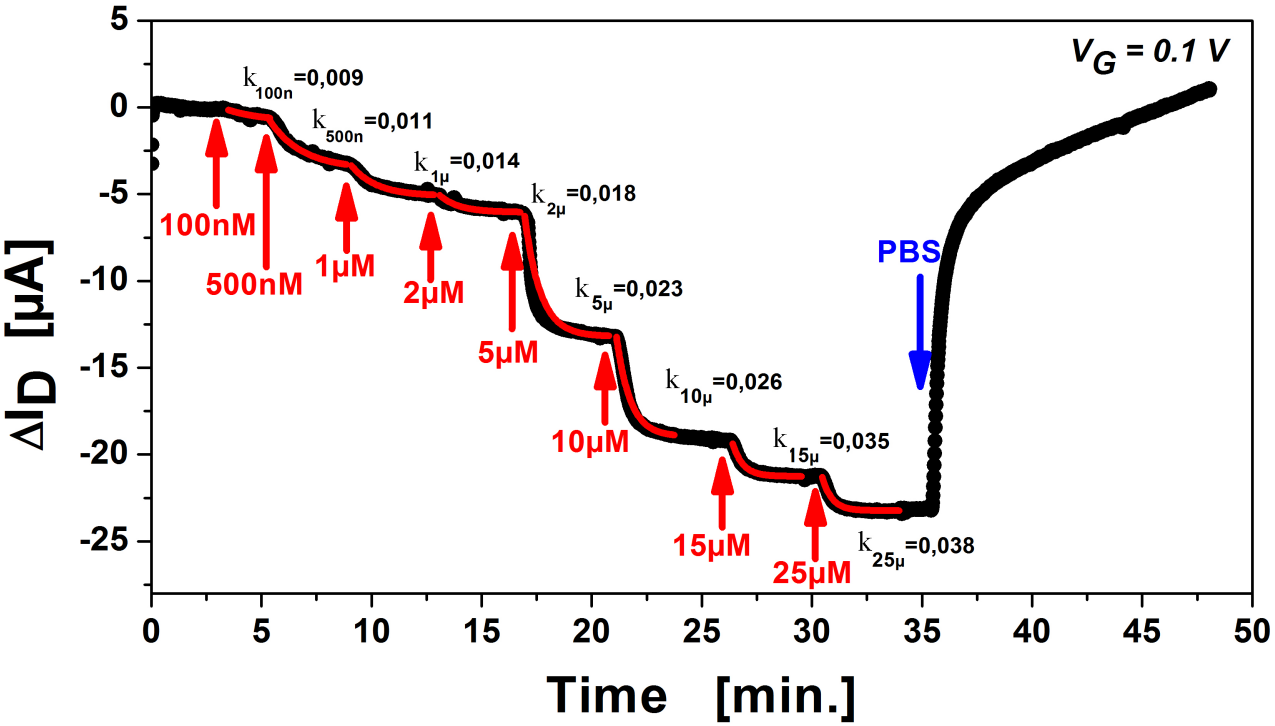
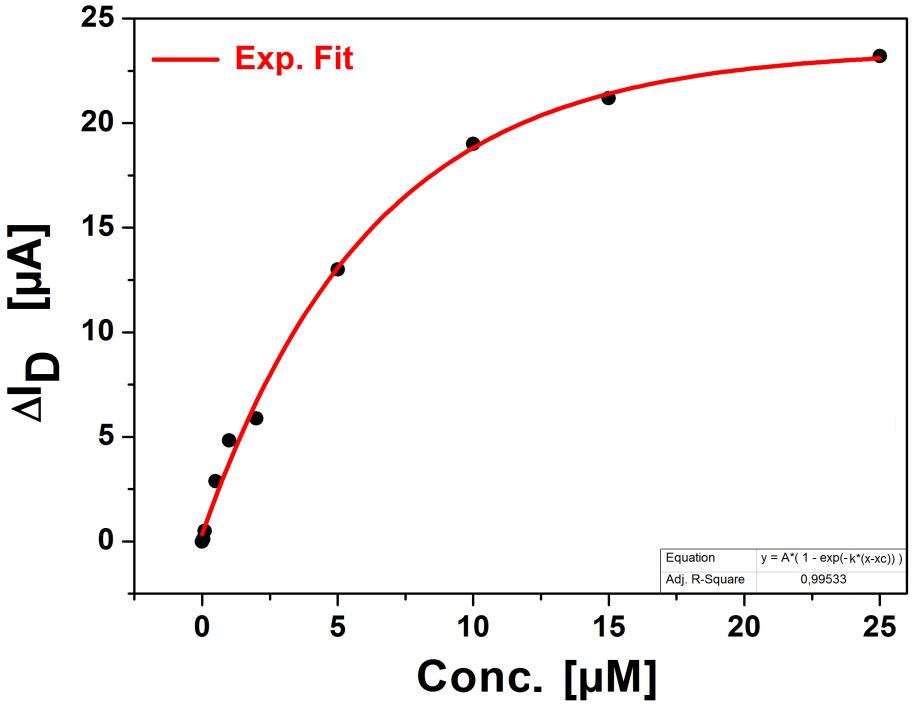


Abb.41)*Kinetik: Die Roten Pfeile kennzeichnen das Einspritzen der jeweiligen Konzentration BSA. Der blaue Pfeil zeigt das waschen mit Puffer.*

Der für die Messung verwendete FET zeigte Stabilität während der gesamten Messung der Kinetik über 45 Minuten. Die in der Kinetik gemessenen Detektionssignale wurden gegen die entsprechenden Konzentrationen der Puffer aufgetragen (Abb.42) um die Sättigungskonzentration zu bestimmen. Dieser Auftrag zeigt eine hohe Übereinstimmung mit einem exponentiellen Kurvenverlauf (99%, χ^2). Die schwächeren Detektionssignale bei 15 und 25µM BSA in der Kinetik wurden so, mit dem Modell der Sättigung nach Langmuir (Kapitel 1.3.2), erklärt. Allerdings ist in der Kinetik schon bei den BSA Konzentrationen mit 1µM und 2µM ein schwächerer Stromunterschied (~1µA) zu den vorhergehenden Konzentrationen (500nM zeigt Signalstärke von 4µA) erkenntlich.

Abb.42) *Auftrag der Stromstärke gegen die Konzentrationen. Die Sättigung bei steigender Konzentration ist aus dem exponentiellen Fit erkennbar.*



Zur Bestimmung der Anbindungskoeffizienten wurden die aus den Fits in der Kinetik erhaltenen Exponenten gegen die jeweiligen Konzentrationen geplottet (Abb.43). Der lineare Fit (rote Linie) entspricht nach Langmuir der Gleichung 11. (Kapitel 1.3.2.). Die daraus erhaltenen Koeffizienten sowie deren Abweichungen sind in Tabelle 11 aufgelistet.

Abb.43) *Auftrag der in der Kinetik erhaltenen Exponenten aus den Fits gegen die Konzentration. Der lineare Fit konnte mit 92% Genauigkeit angepasst werden.*

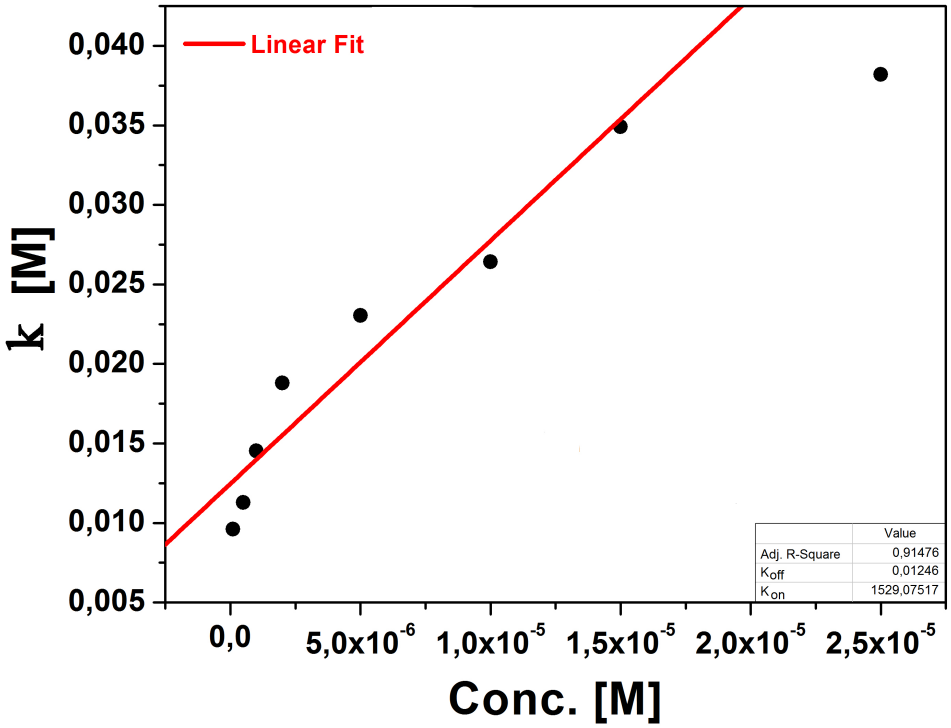


Tabelle11: berechneteAnbindungskoeffizienten nach Langmuir

K_d [M]	K_a [M^{-1}]	k_{on} [$M^{-1}s^{-1}$]	k_{off} [s^{-1}]
$(8{,}2\pm1{,}0)\cdot10^{-6}$	$(1{,}2\pm0{,}2)\cdot10^{5}$	$(1{,}5\pm0{,}2)\cdot10^{3}$	$(1{,}3\pm0{,}1)\cdot10^{-2}$

3.9.3. Bestimmung des Detektionslimits

Mit einem FET (130 Ω) wurde eine Titration mit BSA Konzentrationen im nanomolaren Bereich durchgeführt (Abb.44). Da die Verwendung eines beschädigten FET vor der Messung nicht immer ausgeschlossen werden konnte und die Abwesenheit eines Detektionssignals daher nicht bedeuten musste, dass das Detektionslimit schon unterschritten wurde, wurden BSA-Konzentrationen von 1nM bis zu 1µM gewählt, um so die Funktionstüchtigkeit des verwendeten FET durch die Detektion von höheren Konzentrationen zu bestätigen.

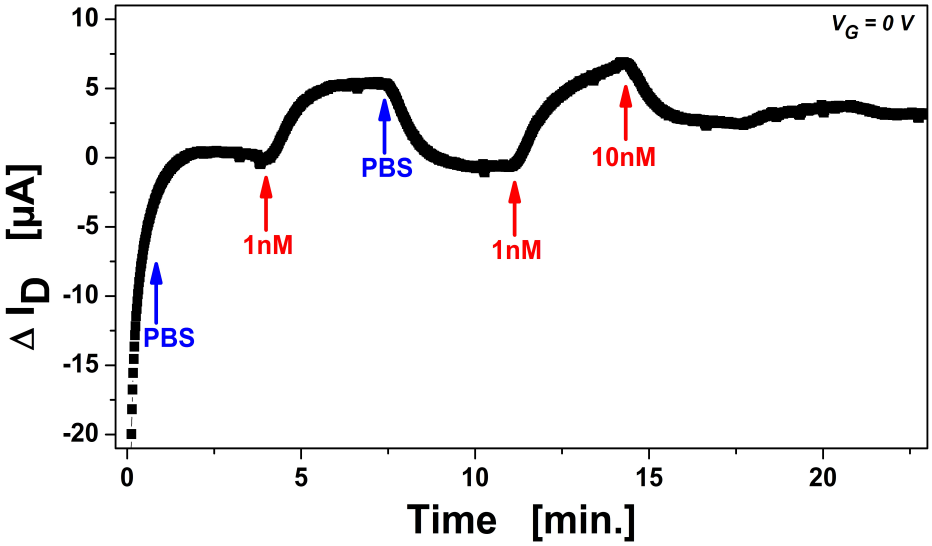


Abb.44) *Kinetik. Die blauen Pfeile markieren das Einspritzen von Puffer, die roten Pfeile das Einspritzen der jeweiligen BSA-Konzentration.*

Aufgrund der stark exponentiell steigenden Basislinie der Kinetik wurde diese mathematisch korrigiert. Abb.43 zeigt die ersten 24 Minuten der eigentlich 50 Minuten andauernden Titration, da die höheren Konzentrationen zur Bestimmung des Detektionslimits unerheblich sind.
Unerwarteterweise konnte schon bei der ersten Konzentration von 1nM ein Signal von rund 5µA gemessen werden. Die überraschte insofern, dass ein Vorzeichenwechsel des Detektionssignals (wie in 3.6.3) zwischen 1nM und 10nM BSA-Konzentration beobachtet werden konnte. Während die Lösung mit 1nM BSA noch ein positives ΔI messen lies, fiel die Stromstärke für alle BSA-Konzentrationen ab 10nM weiter ab.

Da bei 1nM noch ein Signal von 5µA gemessen wurde, kann man annehmen das die Detektion auch im pikomolaren Bereich möglich gewesen wäre, diese jedoch in einem geringen Zeitrahmen nicht bestätigt werden konnte.

4. Diskussion

4.1. Untersuchungen der hergestellten GO-Lösung

4.1.1. GO Konzentration in hergestellter Lösung

Die gefundene Konzentration von 2,83 g Graphen-Oxid pro Liter konnte durch Verdünnung mit Di-H2O gesenkt, oder durch Verringerung der hinzugefügten Wassermenge im letzten Schritt des Herstellungsprozesses (Kapitel 2.1.1.) weiter erhöht werden. Diese Flexibilität erwies sich als vorteilhaft um in weiterer Folge eine gleichmäßige Auftragung auf die Chips zu vereinfachen.

4.1.2. Charakterisierung der Schichtdicke

Die zur Charakterisierung der Schichtdicke des Graphens auf dem Wafer gefertigten AFM Aufnahmen (Kapitel 3.3.1.) wiesen eine Schichtdicke von rund 1nm auf. Diese können jedoch fehlinterpretiert werden. Um Aufzuzeigen ob es sich um ein Monolayer handelt, wären daher Transmissionselektronenmikroskop (TEM) Aufnahmen eine besserer Ansatz. So würden, bei einer vollständigen und gleichmäßigen Beschichtung des Wafers mit einer Graphen Monolage, zusätzliche Graphen-Flakes darauf in AFM-Aufnahmen wie Monolayer aussehen, obwohl sie eigentlich bereits die zweite Schicht auf dem Wafer wären. Deshalb wird zur Bestimmung der Schichtdicke häufig ein TEM verwendet. Hierbei wird die, mittels Nanostrahl angeregte, Elektronenbeugung unter verschiedenen Winkeln beobachtet und die Struktur des Graphens im reziproken Raum gemessen. Im reziproken Raum sind einlagiges Graphen und Multilagen klar unterscheidbar, da Monolagen nur die Laue-Zone der nullten Ordnung aufweisen und die Beugungsintesität winkelunabhängig ist. Bei höherdimensionalen Kristallen (wie zweilagiges Graphen) ist die Beugungsintesität hingegen winkelabhängig.[85]

Aus kostengründen war es uns nicht möglich TEM Aufnahmen anzufertigen, allerdings konnte ein anderer Ansatz zur Bestimmung von Monolagen entwickelt werden:

Da die Oberfläche der von uns verwendeten Silizium Wafer mit Oxid-Schicht auf SEM-Aufnahmen in gutem Kontrast zum Graphen stand und sich auch auf mit stark verdünnten GO beschichteten Wafern der selbe Kontrast zeigte (auch wenn die Abstände der Graphen-flakes zueinander das 100 fache ihrer Größe betrugen), wäre eine darunter befindliche homogene Graphen-Monolage die einzige Möglichkeit die mittels AFM bestimmte Schichtdicke zu verfälschen. Da beim AFM zusätzlich gegen ein Referenzniveau gemessen wurde (unbehandelter Wafer), wurde die Verfälschung des Resultats durch ein unterliegendes Monolayer über die gesamte Fläche der Wafer

ausgeschlossen. Bei der Betrachtung der Oberfläche mittels optischem Mikroskop zeigt sich ein klarer Farbunterschied in den Bereichen zwischen den Graphen-Flakes, welcher nur auf ein anderes Material zurückzuführen ist. Daher müssen die Bereiche zwischen den Flakes auch wirklich leer sein, da aus diesem Farbunterschied der Silizium-Wafer erkennbar ist. Da so die Aufnahmen mittels SEM mit denen eines definierten Monolayers verglichen werden konnten, wurden die Verteilungen des Graphens auf den Wafern zur Bestimmung der Auftragsmethode (Kapitel 4.3.1.) mit dem SEM charakterisiert. Ein ähnlicher Ansatz zur Bestimmung von einzelnen Flakes (Monolayer) wurde ebenfalls von N. Lei et al. verwendet, die allerdings optische Aufnahmen zum Vergleich heranzogen [98]. Die mit dem AFM gemessene Schichtdicke (Kapitel 3.3.1) von ~1nm der einzelnen Graphen Flakes stimmt mit denen von anderen Gruppen, die mit ähnlichen Methoden hergestelltes Graphen verwendeten, überein [91,119].

Graphen, welches mittels CVD hergestellt wurde, weist über weitere Teile Monolagen oder Doppellagen von Graphen auf [75, 99]. Allerdings zeigt sich bei Ni-CVD eine inakzeptable Ungleichmäßigkeit der Verteilung [100] und bei Cu-CVD eine Selbst-Limitierung der Formation von Monolagen [80], weshalb CVD – Graphen keinen breiten Einsatzbereich abdecken kann und dadurch für die Biosensorik als ungeeignet erscheint. Neueste Fortschritte bei der Graphenherstellung mittels CVD [101] versprechen die angeführten Probleme zu lösen und bilden vielversprechende Zukunftsausichten.

4.2. Reduktion des GO mittels Hydrazin

Hydrazin zeigt im Vergleich zu anderen Reduktionsmitteln (Ascorbinsäure, Pyrogallol, Natriumborhydrid) vollständigere Reduktion [37,82] und das in verschiedenen Quellen diskutierte Gesundheitsrisiko [36] ist durch die geringen Mengen sowie das Arbeiten und Erhitzen im Abzug gering. Daher wurde Hydrazin als Reduktionsmittel gewählt.

4.2.1. XPS

Der Rückgang der sauerstoffhaltigen Gruppen ist aus dem XPS Spektrum klar erkennbar (Abb.12) und der Vergleich des Spektrums vor und nach der Reduktion zeigt mit der Literatur vergleichbaren Reduktionserfolg [37,86]. Der erkennbare Rückgang von ca. 90% der C-O Bindungen und einem Großteil aller weiteren sauerstoffhaltigen Gruppen lässt auf eine weitgehend erfolgreiche Reduktion schließen, was mit den Ergebnissen von [37] übereinstimmt. Wie in [25] berichtet, beeinflussen die Übergebliebenen sauerstoffhaltigen Gruppen zwar die elektrischen Eigenschaften, das so hergestellte Graphen ist jedoch sehr gut als Biosensor verwendbar.

4.2.2. Auswirkungen der Positionierung des Hydrazins bei der Reduktion

Der klar erkenntliche Einfluss der Positionierung des Hydrazins auf den Reduktionserfolg (Tabelle 3,4) konnte bei vergleichbaren Verfahren in der Literatur nicht gefunden werden oder wurden nicht näher diskutiert. Die Abhängigkeit von der Positionierung des Hydrazins ist wohl darauf zurückzuführen, dass bei bestimmten Anordnungen des Hydrazins kein homogener Hydrazindampf in der Petrischale entsteht und die Wafer deshalb ungleichmäßig reduziert werden. Daher wurde die Methode der Reduktion mit dem Hydrazin in der selben Schale mit den FETs gewählt (Tabelle 4).

4.2.3. Allgemeine Diskussion zur Wahl der Herstellungsmethode

Die gefundenen Eigenschaften (Schichtdicke, Reduktion, el.Eigenschaften) des herstellten Graphen Oxids und die erfolgreiche Reduktion zu Graphen bestätigen die Wahl von Graphen als Halbleitermaterial für einen FET gegenüber anderen organischen Materialien wie Polymeren oder Kohlenstoffnanorörchen (CNT). Die aufwendige Produktion von CNT gegenüber der aufwandlosen und schnellen Herstellung [96] von Graphen sowie die gute Lösbarkeit von Graphene-Oxid in Wasser und der damit erleichterte homogene Auftrag auf Substrate hebt nasschemische Methoden und die Verwendung von Graphen für das Amwendungsgebiet der Biosensorik hervor und bietet die Möglichkeit aufwandsloser Lagerung und Herstellung.

4.3. Verteilung des Graphen auf den Wafern

Die Verteilung des Graphens auf dem Wafer kann durch Variation der GO-Konzentration, der Parameter der Auftragsmethode (Inkubationszeit, GO Menge, Rotationsgeschwindigkeit, Anzahl der Wiederholungen) und die Ausbildung der Adhäsivschicht aus APTES (Variation der Konzentration) beeinflusst werden.

4.3.1. Untersuchung mittels SEM

Die in der Literatur gemessenen Größen der Graphenflakes variieren je nach Methode im Bereich zwischen 1 und 4000 μm^2 [8, 80-82, 91]. Durch die in dieser Diplomarbeit verwendete nasschemische Herstellung von GO, mit Flakegrößen bis zu 4000μm^2, die mittels SEM gefunden wurden (wie in Abb.14 gezeigt), konnteneine gleichmäßige Verteilung der Flakes und Größen weit über dem Durchschnitt [96] gefunden werden. Wurde ein solcher Flake zwischen Source und Drain Elektrode getroffen, konnte von einer Kontaktierung über eine Graphenmonolage ausgegangen werden (Kapitel 2.2.6), weshalb die gefundenen Größen der Flakes den Maßen der zu fabrizierenden FET gut entsprachen und die Untersuchungen mittels SEM die nasschemische Herstellungsmethode zur Herstellung von geeigneten Graphen qualifizierte.

4.3.2. Wahl der GO-Auftragsmethode

Da nur einführende Vergleiche der Auftragsmethoden durchgeführt wurden, ist es nicht möglich die am besten geeignete Methoden anhand der einführenden Untersuchungen zu bestimmen.

Die Drop-casting Methode wurde als Standardmethode gewählt. Durch Variation der Inkubationszeit, Verdünnung der Lösung und wiederholtes Auftragen kann die Verteilung der GO-Flakes beeinflusst werden. Es wurde ein einmaliges Auftragen der GO-Lösung gewählt und so mit dem SEM eine gleichmäßige Verteilung gefunden (Abb.14 zeigt einen kleinen Ausschnitt des Wafers).

Die ersten Spin-Coating Versuche zeigten vielversprechende Verteilungen. Hierbei konnte festgestellt werden, dass bei hohen Rotationszahlen der Bedeckungsgrad niedrig ist, allerdings liegen die Flakes gleichmäßig weit voneinander verteilt. Bei niedrigeren Rotationsgeschwindigkeiten und Variation der GO-Menge könnten aber auch hier bessere Verteilungen erreicht werden. [40,92] Bei der Dip-Coating Methode wurde eine sehr ähnlicher Bedeckungsgrad wie bei der Drop-Casting Methode beobachtet. Allerdings ist hierfür eine Vorrichtung notwendig um mehrere Wafer gleichzeitig in die GO-Lösung eintauchen lassen zu können. Der Vergleich von Drop-Casting und Dip-Coating Methode (Kapitel 3.3.2) wurde durch

Vergleich der Widerstände der so hergestellten FET ausgeführt. Der gemittelte Widerstand der mittels Drop-Casting Methode hergestellten Chips (Tabelle 5) beträgt $9{,}1 \pm 2{,}8\,\Omega$ und ist damit geringer als der mittels Dip-Coating hergestellten, bei denen ein Widerstand von $38{,}5 \pm 57{,}6\,\Omega$ ermittelt wurde (Tabelle 6). Die hohe Standardabweichung von über 100% (Dip-Coat) wurde durch die schwierige Reproduzierbarkeit aufgrund des händischen Eintauchens des Wafer in die GO-Lösung erklärt. Durch die Handhabung bei diesem Schritt mittels Pinzette kam es auch leicht zu Beschädigungen der Oberfläche, weshalb diese Methode ohne weitere Optimierung als Standardmethode ausgeschlossen wurde.

4.4. Bedampfung der Goldelektroden

Die bei der Goldbedampfung beobachteten Schatteneffekte bewirken eine Variation der Spaltbreiten bei gemeinsam bedampften FETs (Tabelle 7). Dies erschwert die Vergleichbarkeit von Messungen aufgrund der möglichen Unterschiede der Spaltbreiten der verwendeten FET dar. Bei den untersuchten Chips konnte allerdings immer eine Zunahme der Spaltbreite, umso weiter entfernt der Chip vom Zentrum des Bedampfungshalters positioniert wurde. Die FET, welche knapp um das Zentrum positioniert waren, zeigten nur geringe Abweichungen in den Spaltbreiten und eine minimale Spaltbreite von 58µm wurde bei keinem der FET unterschritten. Gruppen, die ähnliche Methoden für den Auftrag der Elektroden verwendeten [109], fanden keinen Einfluss des Bedampfungsprozesses auf die elektrischen Eigenschaften der FET.

Mittels Lithographie der Goldelektroden können auch viel kleinere Spaltbreite aufgetragen werden, des weiteren lässt sich die Positionierung mikrometergenau einstellen und sichert die Reproduzierbarkeit[47,65,102-106]. Für den Großteil der in der Literatur gefundenen NanoFET stellt die Lithographie die Standardmethode dar. Allerdings wird durch den Auftrag der Goldelektroden mittels thermischer Bedampfung wird sichergestellt, dass keine Änderung der elektrischen Eigenschaften des Graphens durch Rückstände des, bei der Lithographie verwendeten, Photolacks auftreten [109].

Im Allgemeinen erscheinen Methoden wie Lithographie, als zur exakten Positionierung der Elektroden besser geeignet, allerdings ist die Produktion der FET mittels Lithographie viel diffiziler, zeitaufwendiger und teurer als durch Goldbedampfung und lässt deshalb keine FET-Produktion in großen Mengen zu. Andere Methoden wie Abziehtechniken, Polymerisation, Nano-Technologien oder Plasmapolymerisation haben Vor- und Nachteile wie maximale Stromstärken, Interaktionen mit Biomolekülen usw. [110] und bilden Alternativen für den Auftrag der Goldelektroden.

Der Einfluss der Spaltbreite auf die Detektion von pH-Werten und Ionenstärken wurde von

V.K. Khanna et.al [107] für ISFETs untersucht. Dabei wurde eine Verstärkung der Signalstärke in Abhängigkeit vom Verhältnis der Spaltbreite zu Spaltlänge gefunden. Für die Verwendung von Graphen im FET wurde ein stärkeres Rauschen des Detektionssignals bei kleineren Spaltbreiten (im Allgemeinen bei kleineren Graphen-Flakes) beobachtet [25,108].

4.4.1. Bedampfungsmaterialien

Die Schablonenhalterung erwies sich als robust, einfach handhabbar, zeitsparend und gewährleistet die exakte Positionierung der FETs. Selbst nach häufiger Verwendung sind an ihr kaum Gebrauchsspuren oder andere Defekte zu erkennen.
Die mit 0.6mm Dicke gewählte Bedampfungsmaske zeigt sich als guter Kompromiss um Schatteneffekten aufgrund von zu großer Dicke und dem Beugen der Maske durch den Anpressdruck zu vermeiden. Die in Kapitel 2.4.3. a priori berechneten und erwarteten Schatteneffekte von rund 4µm wurden in der Praxis überschritten (Tabelle 7). Dies wurde auf Produktionsgenauigkeiten von bis zu 1mm zurückgeführt, da durch nicht exakt aneinader sitzende Badampfungsmaske und Schablonenhalterung, die Distanz zwischen der Maske und den FET vergrößert wurde und die trigonometrische Berechnung aus 2.3.4. nicht mehr anwendbar ist.
Durch die diffizile Herstellung der 60µm breiten Stege zwischen den Ausfräsungen für die Goldelektroden war eine Verminderung der Spaltbreite auf weniger als 50µm, bei den von uns kontaktierten Unternehmen im Großraum Wien, nicht möglich.

Es konnte bei wiederholten Messungen der Spalts mit der Zeit ein Rückgang der Spaltbreite mit andauernder Materialkorrosion der Schablonenplatte beobachtet werden. Dies ist auf die Bedampfung mit Gold und der Reinigung im Ultraschallbad zurückzuführen. Die Schablonenplatte muss daher als Verbrauchsmaterial mit einer Lebensdauer von wenigen Monaten gewertet und fortwährend überprüft werden.

4.5. Durchflusszelle

Die Wahl der FET in Liquid-Gate Konfiguration stellt Ansprüche an die Durchflusszelle (Kapitel), welche mit der in dieser Diplomarbeit konstruierten Durchflusszelle alle erfüllt wurden. Die in Kapitel 2.3.2. beschriebenen FET-Typen eignen sich alle um das Graphen mit der Gate Elektrode zu kontaktieren, allerdings ist es, beim Einsatz als Biosensor, mit einem Liquid Gate gleichzeitig möglich die Proben in der Flüssigkeit in Kontakt mit dem Graphen zu bringen, weshalb sich diese Konfiguration als äußerst geeignet erwies.
Die Dichtung zwischen Ober und Unterteil rund um den Durchflusskanal durch Anpressdruck und ohne O-Ring verliert aufgrund der Beanspruchung des Materials schnell ihre Wirkung. Die Verwendung eines O-Rings rings um den Durchflusskanal bewirkt zwar vollständige Wasserfestigkeit und sehr lange Verwendbarkeit, allerdings entfernt der O-Ring durch den Druck auf die aufgedampften Golkontakte des FET das Gold und macht den FET für eine Wiederverwendung unbrauchbar. Trotzdem erscheint die Dichtung mittels O-Ring als sinnvoll, da bei der Detektion von Biomolekülen eine wiederholte Verwendung des FET auszuschließen ist.

Als Kriterien für die Wahl der Materialien für die Durchflusszelle wurden Widerstandsfähigkeit, Transparenz, Interaktion mit verwendeten Biomolekülen oder Chemikalien und Kosten berücksichtigt. Die Wechselwirkung von Materialien mit ihrer Umgebung, hängt überwiegend von ihren Oberflächeneigenschaften ab [111]. Daher gibt es viele Ansätze für Materialien von Durchflusszellen wie Gele[115] oder Polymere. Es wurde berichtet das viele Polymere mit Biomolekülen oder organischen Lösungsmitteln wechselwirken, insbesondere Polydimethylsiloxane (PDMS) [112,113], welches für eine Vielzahl von anderen Forschungsgruppen in der Biosensorik ein häufig verwendetes Material darstellt. Des weiteren deformiert sich PDMS unter Druck und lässt so kein konstantes Volumen zu [113]. Durch die Verwendung von Dimethylformamid (DMF) als Lösungsmittel für den Linker und der Voraussetzung eines konstanten Volumens schien PDMS trotz seiner Transparenz und einfachen Produktion als nicht geeignet. Unsere Wahl von PMMA als Material zeigte keine Interaktion mit Biomolekülen oder andere Einflüsse auf die Messungen, was auch in der Studie zur Kompatibilität von Materialien für die Biosensirk von Zhang et al. [110] bestätigt wurde.

Das beobachtete Ansammeln von Luftblasen (Kapitel 3.5.) an den Rändern des Durchflusskanals, welche bei lang andauernden Messungen bis hin zur Gate-Elektrode reichten und dadurch die Messung störten, konnte durch Ausschalten der Pumpe während des Wechsels zwischen Lösungen weitgehend verhindert werden. Die Größe des Durchflusskanals erwies sich als hilfreich und

verhinderte den Kontakt der Luftblasen mit dem Graphen, da diese am oberen Rand des Durchflusskanals abfließen konnten. Allersdings ist die Wahl von makroskopischen Abmessungen des Durchflusskanals (2x2mm) ist im Vergleich zu ähnlichen Biosensoren eher unüblich, da zumeist kleine Volumina verwendet werden. Yoon et al. verwendeten einen Durchflusskanal von nur 3x3µm in einem PDMS Reservoir für ihren pH-Sensor [97], welcher für die pH-Detektion vergleichbare Charakteristika wie der von uns entwickelte zeigte. Der Biosensor von Cui et. al. (ein CNT-FET [102]) wurde ebenfalls mit einem Durchflusskanal aus PDMS konstruiert, wobei hier die Maße, aufgrund des nicht konstanten Volumens, mit breiter Schwankung angegeben sind (100-200µm x 100-200µm). Die damit gemessenen Daten zeigten ein im Vergleich ein stärkeres Rauschen im Detektionssignal. Nur der von Ang et. al. Verwendete pH-Sensor basierend auf Graphen wies mit 0,5mmx0,5mm ähnliche Abmessungen des Durchflusskanals ([64]Supporting Information) auf, dieser wurde allerdings aus Epoxidharz aufgetragen und die Messung ohne eigens konstruierte Durchfluszelle durchgeführt. Trotzdem zeigte der pH-Sensor vergleichbares Verhalten wie auch mikrofluidische Sensoren oder der in dieser Diplomarbeit entwickelte Graphen-FET, allerdings mit größeren Störsignalen bei der Detektion. Auch bei Abe et al. [123] wurde ohne Durchflusszelle in einem Silikon-Reservoir gemessen. Eine zukünftige Minimierung unseres Durchflusskanals wäre mit einer kleineren Gate-Elektrode durch entsprechende Bearbeitung von PMMA einfach zu realisieren.

4.6. Kennlinien

4.6.1. I_DV_D

Für die gemessenen I_DV_D–Kennlinien (Abb.22) wurde lineares Verhalten im Bereich von 0 bis 500mV nachgewiesen. Das keine Sättigung gefunden werden konnte, kann auf die, anders als bei Halbleitern, abwesenden Bandlücken und die damit einhergehende metallischen Eigenschaften und die Linearität des Widerstand zurückgeführt werden. Dies wurde so auch in Literatur mit ähnlichem Messaufbau gefunden [19].

4.6.2. I_DV_G

Die I_DV_G Kennlinien zeigen typische Halbleitercharakteristika und ambipolares Verhalten.

Da beim GraphenFET, aufgrund der steilen ambipolaren Charakteristik, die Schwellspannungen des positiven und negativen Arms sehr eng am Dirac-Punkt liegen, kann man beim Betrachten des Verhaltens verschiedener FETs, welche gleich hergestellt wurden, im Allgemeinen von einem Zusammenfallen der Schwellspannungen und des Dirac-Punktes ausgehen.[29]

Der Dirac-Punkt wurde bei den von uns hergestellten FETs, bei einem Puffer von pH7,4, immer zwischen 0.2 und 0.5V_G gefunden. In der Literatur schwankt dieser Wert recht stark, abhängig vom verwendeten Herstellungsmethode des Graphens: -0.3V_G in [64] (epitaxisch gewachsenes Graphen) , 0.6V_G in [97] (Scotch-Tape), 0.05V_G in [58] (mechanische Ablätterung von Graphit), -0,2V_G in [114] (CVD Graphen) oder 0.4V_G in [65] (nasschemische Synthese). Die von uns gefundene Dirac-Spannung stimmt nicht mit den Werten von Sensoren mit nasschemisch hergestelltem Graphen überein, da die meisten so hergestellten FETs kein ambipolares sondern p-Typ-Verhalten aufweisen [40,116,117,118]. Der von uns hergestellte FET zeichnet sich im Vergleich zu ähnlichen dadurch aus, dass er durch das ambipolare Verhalten, trotz nasschemisch hergestelltem Graphen, die Wahl von positiven und negativen Ladungsträgern durch Anlegen einer Gate-Spannung von weniger als 1 Volt ermöglicht.

4.7. Ionenstärke

Die Verwendung verschiedener Ionenstärken bei der Messung beeinflusst die elektrische Ladung und Stabilität des Graphens direkt.[91] Daher sind Studien zur Bestimmung der für Messungen verwendeten Pufferlösung grundlegend.

4.7.1. Verhalten bei hohen Ionenstärken

Aus der I_DV_G Kennlinie (Abb.24) zeigt sich, dass das Graphen bei steigender Ionenstärke stärker n-dotiert wird was auch bei [91] so beobachtet wurde.

4.7.2. Verhalten bei niedrigeren Ionenstärken

Der Abfall der Stroms mit steigender Ionenstärke (Abb.27) bei Betrachtung eines engen Intervalls von Ionenstärken, könnte auf die Dotierung des Graphens zurückzuführen sein. Da die Differenz zwischen den Kennlinien bei stärkeren Gate Spannungen geringer wird, könnte die Verschiebung des Dirac-Punktes bei höheren Strömen durch eine Änderung der Bandstruktur des Graphens ausgelöst werden. Die Instabilität der Basislinie bei der Titration (Abb.28) konnte, mit entsprechender manueller Basislinienkorrektur, vermieden und die Reversibilität der Messung gut rekonstruiert werden.

4.7.3. Detektion der Ionenstärke bei verschiedenen Gate-Spannungen

Durch die simultane Detektion der Ionenstärken bei verschieden angelegten Gate-Spannungen konnte das in den IDVG Kurven gesehene Verhalten bestätigt werden. Die Stärke des Detektionssignals war abhängig von der gewählten V_G. Das Detektionssignal steigt bei der Messung in Abb.29 bei höheren Gate-Spannungen.

Es wurde ein Vorzeichenwechsel des Detektionssignals bei 1mM Gesamtionenstärke beobachtet (Abb.30). Dieser ist auf die Dotierung des Graphens durch Ionen zurückzuführen. Es ist erkenntlich, dass der Widerstand beim Anstieg der Ionenstärke steigt, Durch die Dotierung sinkt also die Leitfähigkeit bei positiv angelegter Source-Drain-Spannung.

Im Allgmeinen ist für jede Art von Messungen ein Umklappen des Detektionssignals zu vermeiden um möglichst lineares Verhalten zu gewährleisten. Daher sollte dieses Verhalten in Zukunft genauer studiert und die das in den hergestellten FETs verwendete Graphen dementsprechend angepasst werden.

4.8. PH-Werte

4.8.1. Intervall pH4 – pH8 (0.5 Schritte)

Die Verschiebung des Dirac Punktes (Abb.33) und so der Schwellenspannung bei ansteigendem pH-Wert der detektierten Lösung ist auf die elektrochemische Doppelschicht zwischen Graphen und Elektrolyt zurückzuführen. Diese ermöglicht die kapazitative Aufladung der Oberfläche durch Absorption von H_3O^+ (n-dotierung) oder OH^- (p-dotierung) Molekülen und die damit einhergehende Verschiebung der Kennlinien hin zu kleineren bzw. größeren Gate-Spannungen [64]. Die Verschiebung des Dirac-Punktes wurde so auch übereinstimmend mit der Literatur gefunden [58,64,71]. Die, aus der aus der I_DV_G-Kennlinien durch Verschiebung des Dirac-Punktes, ausgewertete Signalstärke von 23 ± 5 mV/pH ist bei dem in dieser Diplomarbeit herstellten FET erheblich größer als die von Fu et. al. [65] mit 6 ± 1 mV/pH mit ihrem Graphen-FET ermittelte.

4.8.2. Intervall pH6 – pH7 (0.1 Schritte)

Der aus der Kinetik (Abb.36) erkennbare Signalunterschied von ~5µS / 0.1pH ist gegen die von Ohno et.al. [58] gefundene Signalstärke von ~2µS/0.1pH etwas größer und ermöglicht damit feinere Detektion der pH-Werte einer Lösung, was mit unserer Abschätzung einer Genauigkeit von pH ±0.02 übereinstimmt. Die aus der Verschiebung des Dirac-Punktes in der I_DV_G-Kennlinie (Abb.37) durch linearen Fit berechnete Signalstärke betrug 56 ± 9 mV/pH, was mit den Beobachtungen aus der Kinetik übereinstimmt.
Da durch Überführung der Messpuffer ineinander der relative Fehler bei der Auswertung der Sensitivität steigt, kann durch weiter Optimierung des Messaufbaus, das Überführen der Messpuffer ineinander vermieden (Tabelle 10), und eine genauere Bestimmung der Eigenschaften des Sensors ermöglicht werden.

Bei dem in dieser Diplomarbeit entwickelten Graphen FET ist bei der Verwendung als pH-Sensor also eine Steigerung der Sensitivität um da vierfache gegenüber Fu et al. [65] und um das zweifache gegenüber Ohno et al. [58] zu bemerken. Es konnten keine Literaturstellen eines Graphen-FET zur pH-Detektion mit höherer Sensitivität als die von uns erreichten 56mV/pH gefunden werden.

4.9. Detektion von BSA

Um BSA aus einer Pufferlösung in Liquid Gate Konfiguration nach dem Detektionsprinzip aus Kapitel 2.7. zu detektieren, wurde der korrespondierende Antikörper mit einem passenden pyrene-basierenden Linker an das Graphen gebunden. Die Verwendung eines auf Pyrene basierenden Linkers ist von Vorteil, da dieses sehr stabil an Graphen anbindet, die gezielte Aktivierung dessen zulässt und somit als Anker für beliebige Moleküle, die eine Amidbindung zulassen, verwendet werden kann [41,125]. Mittels Antikörper – Antigen Wechselwirkung kann damit, beim Anbinden eines entsprechenden Antikörpers an das Graphen mittels Pyreneanker, sicher gestellt werden, dass aus einer Pufferlösung nur das spezifische Antigen anbindet. Bei der Anwendung dieses Aufbaus im FET bedeutet dies, unter konstanten Spannungen und Umweltbedingungen, dass Änderungen in den Kennlinien nur auf die Wechselwirkung mit dem gesuchten Antigen zurückzuführen sind. Um sicherzustellen, dass keine unspezifischen Bindungen dieses Messsignal stören, könnte man die Oberfläche passivieren und die noch freien Linker-Bindestellen blockieren. [69,95,120,121]

4.9.1. Detektionsverhalten in Abhängigkeit der Ionenstärke der verwendeten Pufferlösung

Bei der Detektion einer konstanten BSA-Konzentration bei verschiedenen Gesamtionenstärken der verwendeten Pufferlösung zeigte sich übereinstimmend mit der Literatur [71,88,89] eine starke Abhängigkeit des Detektionssignals von der Ionenstärke. Deshalb zeigte sich bei der Detektion von BSA der Aufbau des FET in liquid Gate Konfiguration als äußerst hilfreich. Die Möglichkeit hierbei ein Electrolyt als Trägermedium für den Analyt einzusetzen, ermöglicht es, die Messparameter (ph-Wert, Ionenstärke...) der verwendeten Flüssigkeiten in Echtzeit zu regulieren und somit das erwartete Detektionssignal zu verbessern. Im Allgemeinen kann man also durch richtige Wahl des Puffers das Messsystem für die gewünschte Messung optimieren.

4.9.1.1. Kinetik

Wie aus Abb.38 zu erkennen ist, zeigt sich ein stärkeres Detektionssignal bei der Verwendung von kleineren Salzkonzentrationen. Dies ist darauf zurückzuführen, dass sich bei geringerer Gesamtionenstärke die Debye-Länge der Moleküle im Elektrolyten vergrößert. Durch den daraus folgenden größeren Wirkungsradius des elektrischen Potentials, wird die Anziehung zu entgegengesetzt geladenen Molekülen in größeren Entfernungen verstärkt. [71,89]
Bei der Verwendung von Antikörpern mit höherem Anziehungsradius steigt also die

Anbindungswarscheinlichkeit und damit ist ein stärkeres Detektionssignal zu erwarten.
Auch der verstärkte parasitäre Strom zwischen Source und Drain über die Pufferlösung bei steigender Ionenstärke beeinflusst anscheinend das Detektionssignal, jedoch ist dieser Einfluss dieses Effekts auf das Detektionssignal wesentlich geringer als der, der Änderung der Debye-Länge bei verschiedenen Ionenstärken.

Der Wechsel des Vorzeichens des Detektionssignals zwischen 4mM und 8mM Gesamtionensträke des Elektrolyten (Abb.38) könnte darauf zurückgeführt werden, dass sich bei sinkender Ionenstärke die relative Ladung des Antikörpers zum Elektrolyt vergrößert, das im Elektrolyten gelöste Antigen also zu seiner Umgebung stärker geladen scheint. Durch die Anbindung am Antikörper induziert sich deshalb lokal ein Potentialunterschied, der der Summe der Ladungen des Immunkomplex entspricht. Das Vorzeichen dieser Summe scheint aufgrund der relativen Änderung der Ladung des Antigens bei veränderlicher Ionenstärke zwischen 4mM und 8mM zu wechseln, was den Vorzeichenwechsel des Detektionssignals herbeiführt.

4.9.1.2. IDVG

Als problematisch zeigt sich, dass bei höheren Gesamtionenstärken kaum ein Unterschied zwischen den Kennlinien des Elektrolyten mit und ohne BSA (Abb.39 & 40) zu erkennen ist. Dies ist auf die starke Debye - Abschirmung durch die Molekülgröße des Antigens und der Ionenstärke zurückzuführen. Um mit physiologischen Puffer arbeiten zu können, müssten also wesentlich kleiner Antikörperfragmente verglichen zum relativ großen Antikörper (150kD) zur Detektion des zu analysierenden Proteins verwendet werden um die Debye Länge auf diese Art zu vergrößern[89].

4.9.2. Bestimmung des Detektionslimits

Es zeigt sich ein ähnliches unteres Detektionslimit (Abb.44) von bis zu 1nM BSA wie bei Ohno et al. [58], dessen Graphen-FET die Detektion von 0,3nM BSA zwar noch ermöglichte, aber lediglich eine Änderung der Leitfähigkeit um 1,5µS verursachte. Bei der in Kapitel 3.8.3 durchgeführten Messung lässt sich der gemessene Strom auf eine Änderung des Widerstands zurückführen, was nach Umrechnung eine Änderung der Leitfähigkeit um 25µS beim Wechsel von reinem Puffer zur Konzentration von 1nM BSA festellen. Der direkte Vergleich zeigt im nanomolaren Bereich also mit 25µS/nM bei unserem Graphen-FET ein fünfmal größeres Detektionssignal als bei Ohno et al. (5µS/nM), und ein 100-fach größeres als bei Page et al. [122] (0,002µS/nM). Der von Yoon et al. [97] hergestellte Graphen Sensor, zeigt bei der Detektion von 10nM BSA eine Änderung der Leitfähigkeit um 10µS, also dem Verhältnis von 1µS/nM.

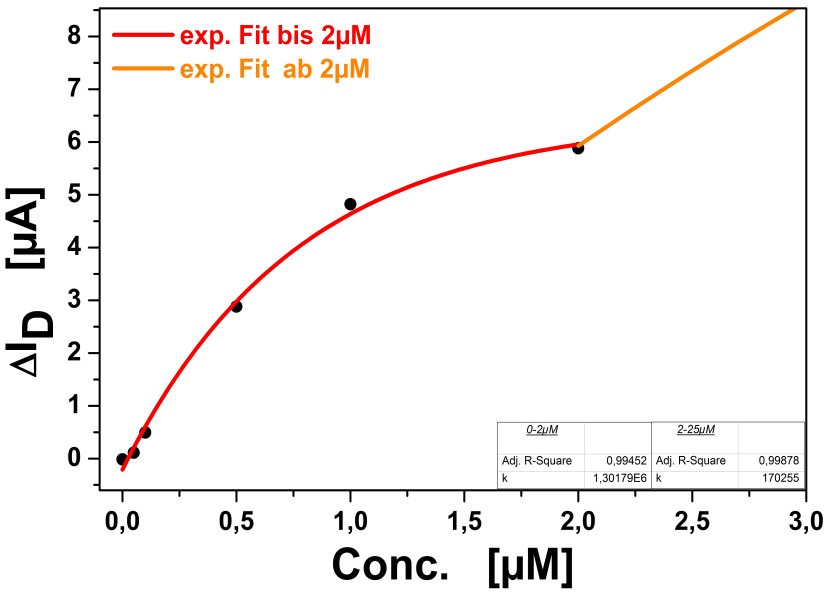
Eine ähnlich hohe Änderung der Leitfähigkeit des Graphens (25µS/nM) wie bei unserem FET, konnte bei der Detektion nanomolarer Konzentrationen von´BSA bei keinem anderen Graphen-FET gefunden werden. Allerdings konnte der, bei der Detektion von 1nM BSA, auftrendende Vorzeichenwechsel des Detektionssignals zwischen 1nM und 10nM (Abb.44, Minute 14), leider nicht mit Hilfe von Literatur interpretiert werden.

4.9.3. Titrationsmessung am Beispiel von BSA

Bei der Kinetikmessung lässt durch Anwendung des Langmuir-Modells eine klare Sättigung erkennen (Abb.42). Die erhaltenen Anbindugskoeffizienten (Tabelle 11) sind im Vergleich zu ähnlichen Messungen in Liquid-Gate Konfiguration auf Pentacene [66] in der selben Größenordnung mit K_d=0,9x10^{-7} M^{-1}. Jedoch sind die Koeffizienten etwas schlechter als beim vergleichbaren Graphen-FET von Ohno et.al. [58]. Hinzuzufügen ist allerdings, dass in [58] der K_d Wert von 1.5x10^{-8} M nur als Schätzwert angegeben ist und die dazugehörige Messung nur bis 300nM, ohne klar erkenntliche Sättigung, ausgeführt wurde, was einen niedrigeren K_d Wert impliziert und das Resultat bezweifeln lässt.

Der von Page et al. [122] verwendete Biosensor zeigte bei der Detektion eine Gleichgewichtskonstante von K=(3.6 ± 0.2)x10^6 M^{-1} (Supporting Information) und damit eine aus der Sättigung erkenntlichen K_d-Wert von ~2x10^{-7} M^{-1}, welcher zwar etwas kleiner, aber in der selben Größenordnung wie bei unserem Biosensor ist.

Beim Auftrag des Detektionssignals gegen die Konzentration des BSA nur bis zu 2µM lässt sich ebenfalls ein Sättigungsverhalten mit 99% Übereinstimmung fitten (Abb.45).



***A*bb.45)** *Detailansicht der Abb.41 mit separaten exponentiellen Fits für die BSA-Konzentrationen bis 2µM (rot) und von 2 bis 25µM (orange), (mit der Annahme von Protein-Stapelung.)*

Aufgrund dieser Beobachtung kann eine Sättigung schon bei 2µM nicht ausgeschlossen werden, da der zweistufige Kurvenverlauf mit zwei unterschiedlichen Sättigungsniveaus (Abb.42, orange) auch auf eine zweite Schicht von Proteinen, gebunden an den Antikörpern, zurückzuführen sein könnte (Protein-Stapelanordnung) [90].

Die Berechnung der Anbindugskoeffizienten für diese niedrigeren Konzentrationen führt mit $K_d \sim 2x10^{-6}$ [M] zu einem kleineren K_d-Wert als der Auftrag bis 25µM. Folglich berechnen sich die Anbindungkoeffizienten für die Auswertung bis 2µM zu:

$$K_d = 1{,}6\,x10^{-6}[M] \quad , \quad K_a = 6{,}3\,x10^{5}[M] \quad , \quad k_{on} = 5{,}1\,x10^{3}[M] \quad , \quad k_{off} = 8{,}5\,x10^{-3}[M] \quad .$$

Es kann allerdings auch nicht ausgeschlossen werden, dass das Langmuir-Modell für den in dieser Diplomarbeit entwickelten Biosensor nicht anwendbar ist. Eine der grundlegende Annahmen bei diesem Modell, ist die Forderung einer spezifischen Anzahl von äquivalenten Bindestellen auf einer homogenen Oberfläche (Kapitel 1.3.2.). Diese wird über die Fläche des Graphens definiert, welche wegen möglichen Multilagen (aufgrund von Ungleichmäßigkeiten durch die Auftragmethode) nicht homogen sein muss. Daher sollten künfig auch andere Adsorptionsmodelle (zB. Freundlich- oder BET-Modell) bei der Anbindungsanalyse bedacht werden.

5. Zusammenfassung

Zur Produktion eines Biosensors auf Graphen wurden FETs hergestellt sowie eine nasschemische Methode zur Synthese des Graphens gewählt. Die nasschemische Synthese von Graphen zeigte eine gute Verteilung und einen hohen Anteil an Graphen Monolagen mit Größen über 1000μm^2. Mittels XPS konnte auch der Reduktionserfolg bestätigt werden.
Die mit diesem Graphen, auf Silizium mit 300nm Oxidschicht als Substrat, hergestellten FETs zeigten typisches ambipolares Halbleiterverhalten, allerdings konnte bis zu 1mA I_{SD} keine Sättigung in den I_DV_D Kurven gefunden werden, was auf die Abwesenheit von Bandlücken deuten lässt und dadurch wenige Schichten des Graphens bestätigt.
Bei der Überprüfung der Funktionalität der für die Messungen konstruierten Durchflusszelle wurden zunächst Kontaktschwierigkeiten der Elektroden sowie undichte Stellen gefunden. Diese Schwierigkeiten konnten allerdings mit dem zweiten Prototyp und der Hinzugabe von O-Ringen bzw. langsameres Fräsen zur Vermeidung von Rissen in den Elektrodenbohrungen vollständig behoben werden.

Bei weiterführenden Messungen zeigte sich, dass der hergestellte Graphen-FET vergleichbar gute Leistung bei der Detektion von pH-Werten und Ionenstärken aufweist. Insbesondere die Detektion der pH-Werte von Lösungen konnte im Bereich von pH4 bis pH8 mit einer Genauigkeit bis zu pH ± 0.02 durchgeführt werden. Durch Regulierung des pH-Wertes kann der FET bei der Messung auch positiv oder negativ dotiert werden.

Bei der Detektion von Proteinen muss auf die Debye-Abschirmung geachtet werden. Bei der Verwendung von großen Antikörpern wie bei bovine serum albumin muss die Ionenstärke der verwendeten Pufferlösung deshalb auf weniger als 17mM Gesamtionenstärke eingestellt werden, wobei noch geringere Salzkonzentrationen ein weiteres Anwachsen des Detektionssignals zur Folge haben. Bei der Detektion von BSA mittels Titration zur Bestimmung der Sättigungskonzentration zeigten sich um eine Zehner-Potenz kleinere Assoziations und Dissoziationskonstanten (Tabelle 11) im Vergleich zu ähnlichen Systemen[66]. Allerdings zeigt sich ein vielversprechendes unteres Detektionslimit von bis zu 1nM BSA, wobei hier noch Unklarheiten durch das Umklappen des Detektionssignals offen bleiben.

6. Ausblick

Es gibt verschiedene Ansätze und Bestrebungen Graphen als Biosensor zu verwenden, z.B im FET, mittels Impendanzmessungen (EIS) [124], in elektrochemischen Sensoren oder mittels Flureszenzmessung. Bei der Anwendung im FET sind die Zukunftsaussichten sehr vielversprechend. Zum einen ist die Minimierung des Setups durchaus realisierbar, zum Anderen ist auch die Erweiterung durch das hintereinander- oder nebeneinander- schalten solcher Anordnungen mit unterschiedlichen Antikörpern zur Detektion mehrerer Analyten aus einer Lösung möglich (Multizelle). Im realen Medium liegen häufig Störstoffe vor, welche mit Graphen reagieren und so das Signal verfälschen können. Allerdings ist es möglich, wie in [75] gezeigt, mittels Passivierung der Oberfläche unspezifische Bindungen auszuschließen. und so die Detektion auch in komplexen Umweltproben zu ermöglichen.

6.1. Weitere Anwendungsmöglichkeiten

Dieses System kann auch eingesetzt werden um z.B. Liganden zu detektieren, da anstelle eines Antikörpers auch ein beliebiges Protein, wie odorant binding proteins (OBPs) verwendet werden können. Z.B. wird das OBP14 wird auch von Bienen als Geruchssensor verwendet, es ermöglicht durch seine Gestalt die Anbindung von unterschiedlichen Liganden wie z.B Eugenol (Nelkenduft). Durch die unterschiedliche Gestalt des Detektionssignals solcher Liganden könnte dann, analog zum Selektionsverhalten von Bienen, zwischen verschiedenen Liganden in der Lösung unterschieden werden. Durch Wechsel des Linkers kann der FET sogar mir einem sehr breiten Spektrum an unterschiedlichsten Molekülen funktionalisiert werden.
Durch die Wahl des Betriebs des FET in der back-gated Konfiguration könnte auch die Detektion von Gasen ermöglicht werden, da kein Elektolyt mehr verwendet werden müsste.

6.2. Ziel

Ein langfristiges Ziel dieser Arbeit ist es, ein serienmäßig herstellbares und portables Messgerät für verschiedene Bereiche der Biosensorik zu produzieren.Vor allem die Minimierung des Messetups ist relativ leicht realisierbar.

Ein solches Messgerät ist besonders deshalb sehr Anstrebenswert, da für die Bioanalyse zur Zeit meist optische Methoden wie die Infrarotspektroskopie (IR) [4] [5] (welche die Anregung von Molekülzuständen nützt um Bindungsspektren aufzuzeigen) oder die Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie (SPR (surface plasmon resonance)) [93,94] (wobei hier die Anregung von Plasmonen an der Oberfläche genutzt wird um durch Verfolgung eines Punktes in der Kennlinie Anbindungen sichtbar zu machen) verwendet werden. Diese sind zwar elementar und etabliert, deren Sensitivität ist allerdings beschränkt und die Minimierung des Messaufbaus (Laser, optische Apparaturen...) nicht möglich. Daher erscheint der Graphen-FET als realistischer Fortschritt gegenüber optischen Methoden. Ein solches portables und kostengünstiges Messgerät zur Detektion von Biomolekülen würde sich in der Wissenschaft außerhalb vom Labor sowie im Alltag als ungemein Hilfreich erweisen. Das Einsatzspektrum eines solchen Instruments wäre enorm: Analyse von Nahrungsmittelproben, Medizinische Untersuchungen, Analyse von Umweltproben, Chemische Kontrollen, Unterhaltungselektronik usw.

A Abkürzungen

Abb.	Abbildung
AFM	atomic force microscopy / Rasterkraftmikroskopie
APTES	(3-Aminopropyl)triethoxysilane
bzw.	beziehungsweise
BSA	bovine serum albumin
CNT	Carbon-nanotube / Kohlenstoffnanoröhre
CPU	central processing unit / Hauptprozessor
CVD	chemical vapor disposition / Chemische Gasphasenabscheidung
DiH2O	destilliertes Wasser
DIN	Norm nach Deutschem Institut für Normung
el. mag.	elektromagnetisch
FET	Feldeffekt-Transistor
GO	Graphen-Oxid
HHV	Hind High Vacuum (Firma)
IGFET	insulated-gate FET / FET mit isolierter Gateelektrode
IR	infrared / Infrarot
JFET	Junction FET / Sperrschicht-FET
Min.	Minuten
MOSFET	metal-oxide-semiconductor FET / Metaloxid-Halbleiter FET
MTR	Multiple Trapping & Release
NIGFET	non insulated-gate FET / FET mit nicht isolierter Gateelektrode
OBP	odorant biding protein / Odorant-bindendes Protein
PDMS	Polydimethylsiloxan
PMMA	Polymethylmethacrylat
POM	Polyoxymethylen
qHE	Quanten Hall Effekt
RCA	Reinungsverfahren für Wafer
rpm	rounds per minute / Umdrehngen pro Minute
SEM	scanning electron miscroscopy / Rasterelektronenmikroskopie
SPR	surface plasmon resonance / Oberflächenplasmonenresonanzspektroskopie
XPS	X-ray photoelectron spectroscopy / Photoelektronenspektroskopie
z.B.	zum Beispiel

B Curriculum Vitae

Ciril Rozman

Adresse: Machstraße 3, 1020 Wien, Österreich
Email: Rozman.Ciril.fl@ait.ac.at

Persönliche Daten:

Geboren am: 21.02.1987, Kranj, Slowenien

Nationalität: Slowenien

Akademische Ausbildung:

Nov. 2011 – Aug. 2012, Durchführung der Diplomarbeit am Austrian Institute of Technology – AIT, Wien, Österreich mit Dr. Melanie Lariskia

Okt. 2005 – Feb. 2013: Studium der Physik an der Universität Wien

C Literaurverzeichnis

1. Center for Nonlinear Dynamics©, U.o.T.a.A. *http://chaos.utexas.edu/people/faculty/michael-p-marder/rippling-of-graphene*. 2010.
2. M.N. Rudden, J.W., *Elementare Festkörperphysik und Halbleiterelektronik*, ed. A. Siemoneit1993, Heidelberg, Germany: Spektrum Akademischer Verlag.
3. Gspann, T.S., *Ein neues Konzept für die Anwendung von einwandigen Kohlenstoffnanoröhren für die pH-Sensorik*, in *Schriftenreihe des Instituts für Angewndte Informatik/Automatisierungstechnik, Band 36*2011, Karsruher Institut für Technologie: Karlsruhe, germany.
4. B.H. Stuart, D.J.A., *Biological Applications of Infrared Spectroscopy*1997: Wiley.
5. Smith, B.C., *Fundamentals of FourierTransform Infrared Spectroscopy, Second Edition*2009: Taylor & Francis.
6. K.S. Novoselov, A.K.G., S.V. Morozov, D. Jiang, M.I. Katsnelson, I.V. Grigorieva, S.V. Dubonos, and A.A. Firsov, *Two-dimensional gas of massless Dirac fermions in graphene.* Nature, 2005. **438**(10): p. 197-200.
7. P. Bladon, D.F., *Dislocation Unbinding in Dense Two-Dimensional Crystals.* Physical Review Letters, 1995. **74**(13): p. 2519-2522.
8. A.K. Geim, K.S.N., *The Rise of Graphene.* Nature Materials, 2007. **2077**(6): p. 183.
9. A.K. Geim, A.H.M., *Graphene: Exploring Carbon Flatland.* Phys. Today 2007. **60**(8): p. 35-40.
10. K.S. Novoselov, A.K.G., S.V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S.V. Dubonos, I.V.Grigorieva, A.A. Firsov, *Electric Field Effect in Atomically Thin Carbon Films.* Science, 2004. **306**(5696): p. 666-669.
11. H.-S.P. Wong, D.A., *Carbon Nanotube and Graphene Device Physics*2011, USA: Cambridge University PRess.
12. Landau, L.D., *Zur Theorie der phasenumwandlungen II.* Phy. Z. Sowjetunion, 1937. **11**: p. 26-35.
13. Peierls, R.E., *Quelques proprietes typiques des corpses solides.* Ann. I. H. Poincare, 1935. **5**: p. 177-222.
14. C. Lee, X.W., J.W. Kysar, J. Hone,, *Measurement of the Elastic Properties and Intrinsic Strength of Monolayer Graphene.* Science, 2008. **321**(5887): p. 385-388.
15. J.H. Seol, I.J., A.L. Moore, L. Lindsay, Z.H. Aitken, M.T. Pettes, X. Li, Z. Yao, R. Huang, D. Broido, N. Mingo, R.S. Ruoff, L. Shi,, *Two-Dimensional Phonon Transport in Supported Graphene.* Science, 2010. **328**(5975): p. 213-216.

16. Prasher, R., *Graphene Spreads the Heat.* Materials Science, 2010. **328**: p. 10085-10086.
17. N.M. Gabor, J.C.W.S., Q. Ma, N.L. Nair, T. Taychatanapat, K. Watanabe, T. Taniguchi, L.S. Levitov, P. Jarillo-Herrero, Pablo, *Hot Carrier–Assisted Intrinsic Photoresponse in Graphene.* Science, 2011. **334**(6056): p. 648-652.
18. C. Tan, J.R.-L., J.J. Parks, N.L. Ritzert, D.C. Ralph, H.D. Abruna, *Reactivity of Monolayer Chemical Vapor Deposited Graphene Imperfections Studied Using Scanning Electrochemical Microscopy.* ACSnano, 2012. **6**(4): p. 3070–3079.
19. Y.-M. Lin, C.D., K.A. Jenkins, D.B. Farmer, H.-Y. Chiu, A. Grill, Ph. Avouris, *100-GHz Transitors from Water-Scale Epitaxial Graphene.* Science, 2010. **327**: p. 662.
20. M. Machon, S.R., and C. Thomsen, *Ab initio calculations of the optical properties of 4-Å-diameter single-walled nanotubes.* Physical Review B, 2002. **66**: p. 155410.
21. B. Partoens, F.M.P., *From graphene to graphite: Electronic structure around the K point.* Physical Review B, 2006. **74**(7): p. 075404.
22. R.S. Deacon, K.C.C., R. J. Nicholas, K. S. Novoselov, A. K. Geim, , *Cyclotron resonance study of the electron and hole velocity in graphene monolayers.* Physical Review B, 2007. **76**(8): p. 081406.
23. Katsnelson, M.I., *Graphene: Carbon in two dimensions,* 2012: Cambridge University Press.
24. E.V. Castro, K.S.N., S.V. Morozov, N.M.R. Peres, J.M.B.L. dos Santos, J. Nilsson, F. Guinea, A.K. Geim, A.H.C. Neto,, *Biased Bilayer Graphene: Semiconductor with a Gap Tunable by the Electric Field Effect.* Physical Review Letters, 2007. **99**(21): p. 216802.
25. W. Yang, K.R.R., S.P. Ringer, P. Thordarson, *Kohlenstoffnanomaterialien für Biosensoren: Nanoröhren oder Graphen - was eignet sich besser?* Angew. Chem., 2010. **122**(12): p. 2160-2185.
26. M.F. Craciun, S.R., M. Yamamoto, J.B. Oostinga, A.F. Morpurgo, S. Tarucha,, *Trilayer graphene is a semimetal with a gate-tunable band overlap.* Nat Nano, 2009. **4**(6): p. 383-388.
27. A. Grüneis, C.A., L. Wirtz, H. Shiozawa, R. Saito, T. Pichler, A. Rubio,, *Tight-binding description of the quasiparticle dispersion of graphite and few-layer graphene.* Physical Review B, 2008. **78**(20): p. 205425.
28. A. Shaffique, E.H.H., S. Das Sarma,, *Scattering mechanisms and Boltzmann transport in graphene.* Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures, 2008. **40**(5): p. 1022-1025.
29. A. Shaffique, E.H.H., V. M. Galitski, S. Das Sarma,, *A self-consistent theory for graphene transport.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007. **104**(47): p. 18392-18397.

30. D.A.C. Brownson, D.K.K., C.E. Banks, , *An overview of graphene in energy production and storage applications.* Journal of Power Sources, 2011. **196**(11): p. 4873-4885.
31. H. Marsh, F.R.-R., *Sciences of carbon materials*2000: Universidad de Alicante.
32. M.C. Lemme, T.J.E., M. Baus, H. Kurz,, *A Graphene Field-Effect Device.* Electron Device Letters, IEEE, 2007. **28**(4): p. 282-284.
33. K.S. Subrahmanyam, S.R.C.V., A. Govindaraj, C.N.R. Rao, *A study of graphenes prepared by different methods: characterization, properties and solubilization.* J. Mater. Chem., 2008. **18**: p. 1517-1523.
34. W.S. Hummers Jr., R.E.O., *Preparation of Graphitic Oxide.* JACS, 1958. **80**(6): p. 1339.
35. S. Park, Y.H., J.O. Hwang, E.-S. Lee, L.B. Casabianca, W. Cai, J.R. Potts, H.-W. Ha, S. Chen, J. Oh, S.O. , Y.-H. Kim, Y. Ishii, R.S. Ruoff, *Chemical structures of hydrazine-treated graphene oxide and generation of aromatic nitrogen doping.* Nature communications, 2012. **3**: p. 638.
36. J. Zhang, H.Y., G. Shen, P. Cheng, J. Zhang, S. Guo *Reduction of graphene oxide via L-ascorbic acid.* Chem. Com., 2009. **46**: p. 1112-1114.
37. M.J. Fernandez-Merino, L.G., J.I. Paredes, S. Villar-Rodil, P. Solıs-Fernandez, A. Martınez-Alonso, J.M.D. Tascon, *Vitamin C Is an Ideal Substitute for Hydrazine in the Reduction of Graphene Oxide Suspensions.* Journal of Physical Chemical Society, 2010. **114**: p. 6426-6432.
38. Y. Wang, Z.S., J. Yin,, *Facile Synthesis of Soluble Graphene via a Green Reduction of Graphene Oxide in Tea Solution and Its Biocomposites.* ACS Applied Materials & Interfaces, 2011. **3**(4): p. 1127-1133.
39. Z.S. Wu, W.R., L. Gao, J. Zhao, Z. Chen, B. Liu, D. Tang, B. Yu, C. Jiang, H.-M. Cheng,, *Synthesis of Graphene Sheets with High Electrical Conductivity and Good Thermal Stability by Hydrogen Arc Discharge Exfoliation.* ACS Nano, 2009. **3**(2): p. 411-417.
40. V.C. Tung, M.J.A., Y. Yang, R.B. Kaner, *High-throughput solution processing of large-scale graphene.* Nat Nano, 2009. **4**(1): p. 25-29.
41. G.R. Dreyer, S.P., C.W. Bielawski, R.S. Ruoff, *The chemistry of graphene oxid.* Chemical Society Reviews, 2009. **39**: p. 228-240.
42. J.H. Park, T.S.S., *Chemical Vapor Deposition*2001: Asm International.
43. D.A.C. Brownson, C.E.B., *CVD graphene electrochemistry: the role of graphitic islands.* Phys. Chem. Chem. Phys. , 2011. **13**(34): p. 15825-15828.
44. J. Bardeen, W.H.B., *The Transistor, A Semi-Conductor Triode.* Physical Review, 1948. **74**(230): p. 230-231.
45. J.T. Wallmark, H.J., *Field-Effect Transistors: Physics, Technology and Applications*1966,

USA: Prentice-Hall Inc.

46. D.G. Pijanowska, W.T., *pH-ISFET based urea biosensor.* Sensors and Actuators B, 1997. **44**: p. 370-376.
47. Bergveld, P., *The operation of an ISFET as an electronic device* Sensors and Actuators, 1981. **1**: p. 17-29.
48. Maurer, K., *Entwicklung einer pH-sensitiven Durchflußzelle auf Halbleiterbasis für die Fließinjektonsanalyse*, in *Fakultät für Chemie*2001, Universität Wien: WIen. p. 109.
49. Tadych, D., *Der Transistor*, in *Nobelpreis-Experimente der letzten 50 Jahre*2005: Universität Duisburg-Essen.
50. J. Korec, *Low Voltage Power MOSFETs: Design, Performance and Applications*2011: Springer.
51. H. Shirakawa, E.J.L., A.G.MacDiarmid, C.K. Chiang, A.J. Heeger,, *Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene, (CH).* Journal of the Chemical Society, Chemical Communications, 1977(16): p. 578-580.
52. F. Ebisawa, T.K., S. Nara *Electrical properties of polyacetylene/polysiloxane interface* J. Appl. Phys., 1983. **54**(6): p. 3255-3259.
53. R. Saito, G.D., M:S. Dresselhaus,, *Physical Properties of Carbon Nanotubes*1998: Imperial College Press.
54. Kymissis, I., *Organic Field Effect Transistors: Theory, Fabrication and Characterization*2009: Springer Verlag.
55. D.M. de Leeuw, M.M.J.S., A.R. Brown, R.E.F. Einerhand,, *Stability of n-type doped conducting polymers and consequences for polymeric microelectronic devices.* Synthetic Metals, 1997. **87**(1): p. 53-59.
56. T. Minakata, M.O., H. Imai, *Conducting thin films of pentacene doped with alkaline metals.* J. Appl. Phys., 1993. **74**(2): p. 1079-1082.
57. J. Collet, *Nano-field effect transistor with an organic self-assembled monolayer as gate insulator.* Applied Physics Letters, 1998. **73**(18): p. 2681-2683.
58. Y. Ohno, K.M., Y. Yamashiro, K. Matsumoto, *Electrolyte-Gated Graphene Field-Effect Transistors for Detecting pH and Protein Adsorption.* Nano Letters, 2009. **9**(9): p. 3318-3322.
59. Eggins, B.R., *Biosensors: an introduction*1996: Wiley-Teubner.
60. G.G. Guilbault, A.L., W. Nebe, *Enzyme electrodes in analytical chemistry: Molecular fluorescence spectroscopy ; Photometric titrations ; Analytical applications of interferometry*1977: Elsevier Scientific Pub. Co.
61. Castellan, G.W., *Physical chemistry*1983: Addison-Wesley.

62. A.S. Negi, S.C.A., *A Textbook of Physical Chemistry*1985: Wiley Eastern.
63. D.G. Duff, S.M.C.R., D. Vaughan, *Adsorption form Solution: An Experiment to Illustrate the Langmuir Isotherm.* J. Chem. Ed, 1988. **85**: p. 815.
64. P.K. Ang, W.C., A.T.S. Wee, K.P. Loh, *Solution-Gated Epitaxial Graphene as pH Sensor.* JACS, 2008. **130**(44): p. 14392-14393.
65. W. Fu, C.N., O. Knopfmacher, A. Tarasov, M. Weiss, M. Calame, C. Schönenberger, *Graphene Transistors Are Insensitive to pH Changes in Solution.* Nano Letters, 2011. **11**: p. 1597-3600.
66. H.U. Khan, J.J., J.-J. Kim, W. Knoll, *In Situ Detection and Charge Discrimination Using Aqueos Stable Pentacene Transistor Biosensors.* JACS, 2010. **133**(7): p. 2170-2176.
67. R. Daly, S.K., G. Lukacs, K. Lee, A. Weidlich, M. Hegner, and G.S. Duesberg, *Cell Proliferation Tracking Using Graphene Sensor Arrays.* Journal of Sensors, 2011. **2012**(2012): p. 219485.
68. X. Kang, J.W., h. Wu, J. Liu, I.A. Aksay, Y. Lin, *A graphene-based electrochemical sensor for sensitive detection of paracetamol.* Elsevier Talanta, 2010. **81**: p. 754-759.
69. Y. Huang, X.D., Y. Liu, L.-J. Li, P. Chen, *Graphene-based biosensors for detection of bacteria and their metabolic activities.* Journal of Materials Chemistry, 2011. **21**: p. 12358-12362.
70. Y. Liu, D.Y., C, Zeng, Z. Miao, L. Dai, *Biocompatible Graphene Oxide-Based Glucose Biosensors.* Langmuir Letter, 2010. **26**(9): p. 6158-6160.
71. Z. Cheng, Q.L., Z. Li, Q. Zhou, Y. Fang, *Suspended Graphene Sensors with Improved Signal and Reduced Noise.* Nano Letters, 2010. **10**: p. 1864-1868.
72. M. Dankerl, M.V.H., A. Lippert, L.H. Hess, S. Birner, I.D. Sharp, A. Mahmood, P. Mallet, J.-Y. Veuillen, M. Stutzmann, J.A. Garrido, *Graphene Solution-Gated Field-Effect Transistor Array for Sensing Applications.* Adv. Funct. Mater., 2010. **20**(18): p. 3117–3124.
73. X. Sun, Z.L., K. Welsher, J.T. Robinson, A. Goodwin, S. Zaric, H. Dai, *Nano-Graphene Oxide for Cellular Imaging and Drug Delivery.* Nano Res., 2008. **1**(3): p. 203-2012.
74. Pumera, M., *Graphene in biosensing.* Materials Today, 2011. **14**(7-8): p. 308-315.
75. Y. Huang, X.D., Y. Shi, L.-J. Li, P. Chen,, *Nanoelectronic biosensors based on CVD grown graphene.* Nanoscale, 2010. **2**(8): p. 1485-1488.
76. X. Wang, X.L., L. Zhang, Y: Yoon, P.K. Weber, H. Wang, J. Guo, H. Dai, *N-Doping of Graphene Through Electrothermal Reactions with Ammonia.* Science, 2009. **324**: p. 768-771.
77. C.-M. Ho, Y.-C.T., *MICRO-ELECTRO-MECHANICAL-SYSTEMS (MEMS) AND FLUID FLOWS.* Annual Review of Fluid Mechanics, 1998. **30**(1): p. 579-612.

78. G. Karniadakis, A.B., N. Aluru,, *Microflows and Nanoflows: Fundamentals and Simulation*2005: Springer.
79. P.M. vanMidwoud, A.J., M.T. Merema, G.M.M. Groothuis, E. Verpoorte, *Comparison of Biocompatibility and Adsorption Properties of Different Plastics for Advanced Microfluidic Cell and Tissue Culture Models.* Analytical Chemistry, 2012. **84**(9): p. 3938-3944.
80. X. Li, W.C., J. An, S. Kim, J. Nah, D. Yang, R. Piner, A. Velamakanni, I. Jung, E. Tutuc, S.K. Banerjee, L. Colombo, R.S. Ruoff, *Large-Area Synthesis of High-Quality and Uniform Graphene Films on Copper Foils.* Science, 2009. **324**: p. 1312-1314.
81. S. Park, R.S.R., *Chemical methods for the production of graphenes.* Nature Technology, 2009. **4**: p. 217-224.
82. M.J. Allen, V.C.T., R.B. Kaner, *Honeycomb Carbon: A Review of Graphene.* Chem. Rev., 2010. **110**: p. 132-145.
83. J.M. Wood, D.N., *Formulation Effects on Opalescence of a high-concentration MAb.* BioProcess, 2010. **8**(9): p. 48-59.
84. J.V. Veetil, K.Y., *Development of Immunosensors Using Carbon Nanotubes.* Biotechnology Progress, 2007. **23**(3): p. 517-531.
85. J.C.Meyer, *The structure of suspended graphene sheets*, Nature,2001. **446**: p. 60-63
86. S. Stankovich, D.A. Dikin, *Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide,* Carbon, 2007. **7**: p.1558-1565
87. http://news.softpedia.com/newsImage/Creating-Mass-Inside-Graphene-2.jpg/
88. E.Stern, J.F.Klemic, *Label-free immunodetection with CMOS-compatible semiconducting nanowires,* Nature, 2007, **445**(7127): p.519-522
89. M.M.-C. Cheng, G. Cuda, *Nanotechnologies for biomolecular detection and medical diagnostics,* Curr. Opin. Chem. Biol., 2006, **10**: p.11-19
90. A.A.Denim, A.T.Melenevsky, *Bi-Langmuir Isotherms' Applicability for Description of I nteraction of Ion-Exchange Sorbents with Protein Mixtures,* Journal of Chromatographic Science, 2006, **44**: p.181-186
91. J.E.Kim, T.H. Han, *Graphene oxide liquid crystals,* Angew. Chemie Int. Ed., 2011, **50**: p.3043-3047
92. H.Yamaguchi, G.Eda, C.Mattevi, H.K.Kim, M.Chhowalla, *Highly Uniform 300 mm Wafer-Scale Deposition of Single and Multilayered Chemically Derived Graphene Thin Films,* ASCNano, 2010, **4**(1): p.524-528
93. N.J. de Mol, M.J.E.Fischer , S*urface Plasmon Resonance:Methods and Protocols* , 2010, Humana Press.
94. J.Homola, *Surface Plasmon Resonance Based Sensors,* 2006, Springer.

95. L.Y. Lu, R.Q. Wu et al. *Effects of edge passivation by hydrogen on electronic structure of armchair graphene nanoribbon and band gap engineering,* Applied Physics Letters, 2009, **94** (12): p.122111-122111-3

96. M. Larisika, J. Huang, A. Tok, W. Knoll, C. Nowak, *An improved synthesis route to grahene for molecular sensing applications,* Materials Chemistry and Physics , 2012, **136**(2-3): p.304-308

97. H.J. Yoon, Y. Zhang, S.S. Kim, M.M.-C. Cheng, *A Flexible Biocompatible Graphene Sensor for Real-time Monitoring of pH and Protein,* 6th IEEE International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, 2010, p.1104-1107

98. N. Lei, P. Li, W. Xue, J. Xu, *Simple graphene chemiresistors as pH sensors: fabrication and characterization,* Measurement Science and Technology, 2011, **22:** p.1-6

99. X. Dong, D. Fu, W. Fang, Y. Shi, P. Chen, L.-J. Li, *Doping Single-Layer Graphene with Aromatic Molecules,* Small, **5**(12): p.1422-1426

100. B. Dai, L. Fu, N. Liu, K. Yan, Y. Chen, Z. Liu, *High-Quality Single-Layer Graphene via Reparative Reduction of Graphene Oxide,* Nano Res. 2011, **4**(5): p.434–439

101. D.A.C. Brownson, C.E. Banks, *The electrochemistry of CVD graphene: progress and prospects,* Phys. Chem. Chem. Phys., 2012, **14:** p.8264–8281

102. Y. Cui, Q. Wei, H. Park, C.M. Lieber, *Nanowire Nanosensors for Highly Sensitive and Selective Detection of Biological and Chemical Species,* Science, 2001, **293**: p.1289-1292

103. Y. Xia, G.M. Whitesides, *Soft Lithography,* Annual Review of Materials Science, 1998, **28**: p.153-184

104 L.G. Studebaker, *Sub - 0.2 micron gate lithography using E-beam, X-ray and optical technologies - an overview,* (GaAs IC) Symposium, 1994, p.321-324

105. Z.Chen, Y.M. Lin, M.J. Rooks, P. Avouris, *Graphene nano-ribbon electronics,* Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures, 2007, **40**(2): p.228-232

106. F. Xia, D.B: Farmer, Y.-M. Lin, P- Avouris, *Graphene Field-Effect Transistors with High On/Off Current Ratio and Large Transport Band Gap at Room Temperature,* Nano Letters, 2010, **10**(2): p.715-718

107. V.K. Khanna, A. Kumara, Y.K. Jain, S. Ahmad, *Design and development of a novel high-transconductance pH-ISFET (ion-sensitive field-effect transistor)-based glucose biosensor,* Int. Journal of Electronics, 2009, **93**(2): p.81-96

108. F. Schedin, A.K. Geim, S.V. Morozov, E.W. Hill, P. Blake, M.I. Katsnelson, K.S. Novoselov, *Detection of individual gas molecules adsorbed on graphene,* Nature Materials, 2007, **6**: p.652-655

109. X. Dong, C.-Y. Su, W. Zhang, J. Zhao, Q. Ling, W. Huang, P. Chen, L.-J. Li, *Ultra-large*

single-layer graphene obtained from solution chemical reduction and its electrical propertie, Phys. Chem. Chem. Phys., 2009, **12**: p.2164-2169

110. S. Zhang, G. Wright, Y. Yang, *Materials and techniques for electrochemical biosensor design and construction,* Biosensors & Bioelectronics, 2000, **15**: p.273–282
111. Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE. Biomaterials science: *a multidisciplinary endeavor, an introduction to materials in medicine* Science & Technology; 2004. p. 1–9.
112. G.S. Fiorini, D.T. Chiu, *Disposable microfluidic devices: fabrication, function, and application,* BioTechniques, 2005, **38**(3): p.429-446
113. J.N. Lee, C. Park, G.M. Whitesides, *Solvent Compatibility of Poly(dimethylsiloxane)-Based Microfluidic Devices,* Anal. Chem., 2003, **75**: p.6544-6554
114. I. Heller, S. Chatoor, J. Männik, M.A.G. Zevenbergen, C. Dekker, S.G. Lemay, *Influence of Electrolyte Composition on Liquid-Gated Carbon Nanotube and Graphene Transistors,* J.Am.Chem.Soc., 2010, **132**: p.17149-17156
115. B.J. Kim, H. Jang, S.-K. Lee, B.H. Hong, J.-H. Ahn, J.H. Cho, *High-Performance Flexible Graphene Field Effect Transistors with Ion Gel Gate Dielectrics.,* Nano Lett., 2010, **10**: p.3464–3466
116. F. Shen, D. Wang, R. Liu, X. Pei, T. Zhang, J. Jin, *Edge-tailored graphene oxide nanosheet-based field effect transistors for fast and reversible electronic detection of sulfur dioxide,* Nanoscale, 2013, **5**: p.537–540
117. C.-Y. Su, Y. Xu, W. Zhang, J. Zhao, X. Tang, C.-H. Tsai, L.-J. Li, *Electrical and Spectroscopic Characterizations of Ultra-Large Reduced Graphene Oxide Monolayers,* Chem. Mater., 2009, **21**: p.5674–5680
118. D.C. Marcano et al., *Improved Synthesis of Graphene Oxide,* ASCNano, 2010, **4**(8): p.4806-4814
119. M. Zhou, Y. Zhai, S. Dong, *Electrochemical Sensing and Biosensing Platform Based on Chemically Reduced Graphene Oxide,* Anal. Chem., 2009, **81**: p.5603–5613
120. Y. Huang, X. Dong, Y. Shi, C.M. Li, L.-J. Li, P. Chen, *Nanoelectronic biosensors based on CVD grown graphene,* Nanoscale, 2010, **2**: p.1485–1488
121. J. Shen, Y. Zhu, X. Yang, C. Li, *Graphene quantum dots: emergent nanolights for bioimaging, sensors, catalysis and photovoltaic device,* Chem. Commun., 2012, **48**: p.3686–3699
122. T.R. Page, Y. Hayamizu, C.R. So, M. Sarikaya, *Electrical detection of biomolecular adsorption on sprayed graphene sheets,* Biosensors and Bioelectronics, 2012, **33**: p.304–308
123. M. Abe, K. Murata, T. Ataka, K. Matsumoto, *Calibration method for a carbon nanotube field-effect transistor biosensor,* Nanotechnology, 2008, **19**: 045505, p.1-4

124. M.E. Orazem, B. Tribollet, *Electrochemical Impedance Spectroscopy,* 2011*,* Wiley, ISBN-9781118209943

125. R.J. Chen, Y. Zhang, D. Wang, H. Dai, *Noncovalent Sidewall Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes for Protein Immobilization,* J.A.C.S., 2001, **123**: p.3838-3839

126. P.L. McEuen, M.S. Fuhrer, H. Park, *Single-Walled Carbon Nanotube Electronics*, IEEE Transactions on Nanotechnology, 2002, **1**(1): p78-85