

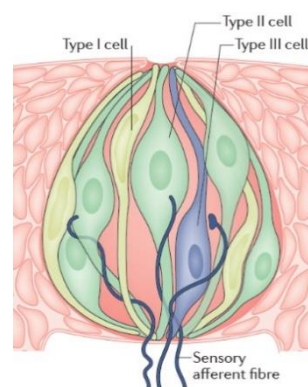
# Una lengua electrónica

Una lengua electrónica es una matriz de sensores que detectan moléculas (denominadas *ligandos* en este contexto) causantes de los estímulos gustativos (es decir, los *sabores*). La construcción y desarrollo de dichos sensores se estudia activamente por su relevancia y amplia aplicabilidad en análisis de alimentos, industria farmacéutica, investigación biomédica y seguridad, entre otros. Ver por ejemplo Marx et al. <sup>1</sup> y Podrazka et al. <sup>2</sup> para numerosas aplicaciones de la lengua electrónica.

En este trabajo, principalmente basado en la publicación *Duplex Bioelectronic Tongue for Sensing Umami and Sweet Tastes Based on Human Taste Receptor Nanovesicles* (Ahn et al., 2016 <sup>3</sup>), reviso algo de literatura relacionada, explico el funcionamiento de la lengua electrónica construida por Ahn et al. <sup>3</sup> y comento las etapas de fabricación, los procesos de caracterización y los resultados de testeo obtenidos.

## Introducción

El sentido del gusto en los mamíferos viene determinado por la presencia y actividad de unas células sensoriales situadas en diferentes partes del epitelio oral, principalmente en el epitelio de la lengua <sup>4,5</sup> (las papilas fungiformes, foliadas y circunvaladas de la lengua reúnen estas células sensoriales, por lo que se les denomina “papilas gustativas” <sup>4</sup> ). Cada papila gustativa está conformada por 50-100 células sensoriales <sup>4,5</sup>. A su vez, se diferencian cinco tipos de células sensoriales (células tipo I, II, III, IV y V) <sup>4</sup>, presentes en diversas proporciones según la papila <sup>4,5</sup>, y responsables directas de la percepción del sabor [Figura 1] <sup>5</sup>. Los sabores dulce, umami y amargo son detectados por las células de tipo II, y el sabor agrio por las células de tipo III <sup>5</sup>. En cuanto al sabor salado, en los humanos se desconoce qué tipo celular es el responsable de su recepción <sup>5,6</sup>, aunque las investigaciones apuntan a las células de tipo II y III <sup>4</sup>.



**Figura 1.**<sup>5</sup> Estructura de una papila gustativa.

A continuación, se detallan los mecanismos biológicos que nos permiten detectar e identificar los diferentes sabores, para después establecer una analogía con el mecanismo llevado a cabo en la lengua electrónica.

#### - Sabores dulce, umami y amargo

Los sabores dulce, umami y amargo son detectados por las células de tipo II <sup>5</sup> [Figura 2] <sup>6</sup>, las cuales poseen las siguientes proteínas receptoras transmembrana: T1R2-T1R3 para la detección de ligandos dulces, T1R1-T1R3 para la detección de ligandos umami y T2Rs para la detección de ligandos amargos <sup>5</sup>. Cuando estas células se encuentran en estado de reposo, existe una diferencia de potencial eléctrico entre el interior y el exterior celular, conocido como potencial de reposo de la membrana celular <sup>7,8</sup>. Este potencial de reposo se debe a la diferente concentración iónica entre el interior y el exterior celular, y es un potencial constante y estable a pequeñas perturbaciones <sup>7</sup>. Cuando el ligando se une a su proteína receptora transmembrana correspondiente, se origina una cascada de señales químicas que hace variar el equilibrio iónico entre ambos lados de la membrana, lo que provoca la despolarización transitoria del potencial de la membrana celular <sup>7</sup> (ya no está en reposo). Estas diferencias de voltaje transitorias se conocen como potenciales de acción <sup>7</sup>, y en las células de tipo II provocan la apertura de los canales dependientes del voltaje CALHM1/CALHM3 <sup>9</sup>, a través de los cuales se libera el neurotransmisor ATP. El ATP liberado es detectado en las fibras nerviosas aferentes por unas proteínas receptoras que forman canales iónicos que se activan (se abren y así varían el equilibrio iónico) cuando se produce la recepción del ATP. Una suficiente concentración de ATP es capaz de generar potenciales de acción en las fibras nerviosas, haciendo llegar la señal eléctrica hasta el cerebro <sup>4,6</sup>.

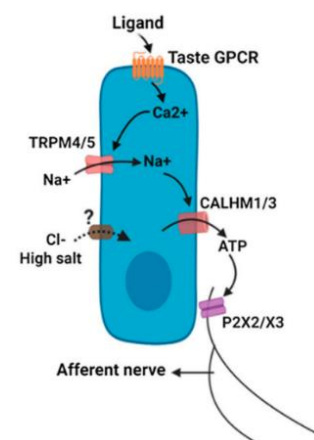


Figura 2.<sup>6</sup> Célula de tipo II. Se muestra la cascada de procesos originados por la recepción de un ligando dulce, umami o amargo.

#### - Sabor agrio

El sabor agrio es detectado por las células de tipo III <sup>5</sup> [Figura 3] <sup>6</sup>, las cuales poseen canales selectivos de protones OTO1 (Otopetrin-1). El sabor agrio está asociado a la

entrada de protones en la célula. Cuando esto sucede, se origina una cascada de señales químicas que hace variar el equilibrio iónico entre ambos lados de la membrana, lo que provoca la despolarización transitoria del potencial de la membrana celular <sup>7</sup>. Estos potenciales de acción provocan la liberación de los neurotransmisores serotonina (5-HT), GABA y, posiblemente, norepinefrina <sup>10</sup>. Los resultados de Larson et al. <sup>11</sup> sugieren que la 5-HT liberada es detectada en las fibras nerviosas aferentes por unas proteínas receptoras que forman canales iónicos que se activan cuando se produce la recepción de la 5-HT <sup>11</sup>. Una suficiente concentración de 5-HT será capaz de generar potenciales de acción en las fibras nerviosas, haciendo llegar la señal eléctrica hasta el cerebro. De acuerdo a lo que he podido explorar, la detección de GABA por las fibras nerviosas y el cometido de la noradrenalina en el sentido del gusto, aún no están resueltos <sup>5</sup>.

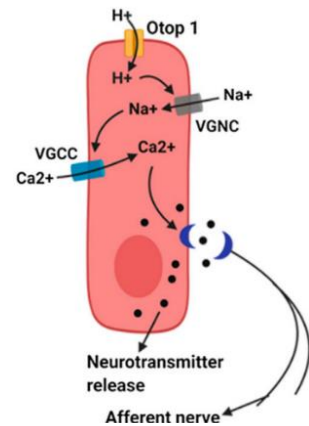


Figura 3.<sup>6</sup> Célula de tipo III. Se muestra la cascada de procesos originados por la recepción de un ligando agrio.

## - Sabor salado

Como se comentó anteriormente, en los humanos se desconoce qué células sensoriales son las responsables de la recepción y transducción de la señal <sup>5,6</sup>.

Tras esta descripción general de los mecanismos que se llevan a cabo en las células del epitelio lingual para la recepción de los sabores dulce, umami, amargo y agrio, a continuación se explica cómo funciona una lengua electrónica para simular el sentido del gusto.

## Lengua electrónica

Una lengua electrónica es un instrumento analítico que comprende una matriz de sensores, los cuales actúan selectivamente sobre diferentes ligandos <sup>2,12</sup>. Se denomina *técnica de detección selectiva* al proceso por el cual cada sensor de la matriz, detecta selectivamente un solo ligando; mientras que se denomina *técnica de detección de matriz de reactividad cruzada* al proceso por el cual cada sensor de la matriz, detecta selectivamente una amplia variedad de ligandos <sup>12</sup>. La *técnica de detección de matriz de reactividad cruzada*

constituye un enfoque bioinspirado que aumenta en gran medida el grado de heterogeneidad de ligandos detectables por los sensores <sup>12</sup>, aproximando sus capacidades a las desarrolladas por el sentido biológico del gusto. Además, esta técnica permite generar una “huella dactilar” para cada ligando detectado. Después de tratar los datos, se pueden reconocer nuevas muestras desconocidas comparándolas con las huellas dactilares aprendidas <sup>12</sup> [Figura 4] <sup>12</sup>.

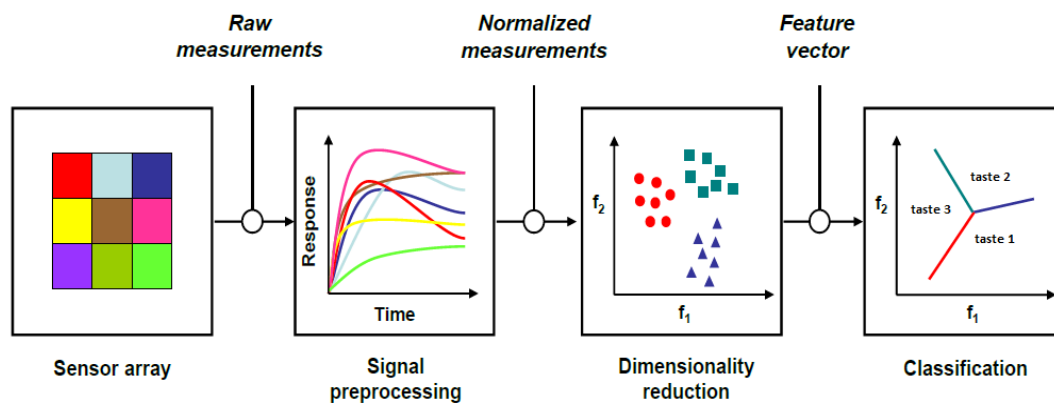


Figura 4. <sup>12</sup> Tratamiento de datos y clasificación de las señales obtenidas por una matriz de sensores de reactividad cruzada.

En este trabajo se describe una lengua electrónica con una matriz con dos sensores de reactividad cruzada: un sensor detecta selectivamente varios ligandos dulces, y otro sensor detecta selectivamente varios ligandos umami. Además, cada sensor está constituido por dos componentes fundamentales: un biomaterial que actúa como receptor del ligando, y un (nano)material que actúa como transductor de la señal recibida (es decir, transforma una señal química en una señal eléctrica). El biomaterial se encuentra inmovilizado sobre el nanomaterial <sup>13</sup> [Figura 5] <sup>13</sup>. Aquí, el biomaterial receptor del ligando lo conforman nanovesículas construidas a partir de células embrionarias humanas de riñón 293 (HEK-293), las cuales expresan receptores de los sabores dulce y umami en humanos; y el material que actúa como transductor de la señal recibida es el grafeno.

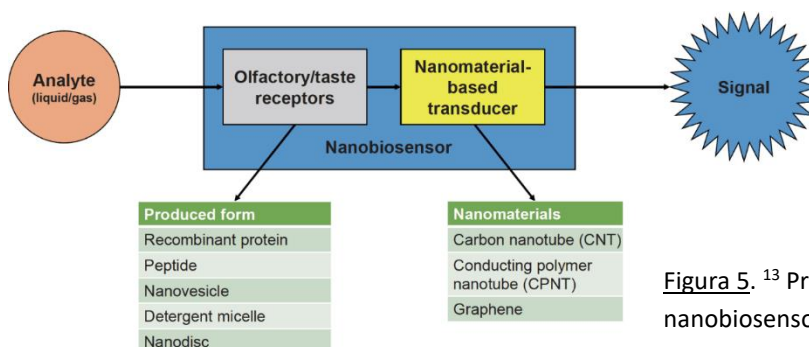


Figura 5. <sup>13</sup> Principales componentes de un nanobiosensor.

- Funcionamiento de la lengua electrónica

El objetivo de la lengua electrónica es detectar una señal química y transformarla en una señal eléctrica. Para lograrlo, Ahn et al. <sup>3</sup> utilizaron transistores de efecto campo de grafeno (GFETs, *Graphene Field-Effect Transistors*), sobre los que inmovilizaron las nanovesículas.

Un FET es un dispositivo electrónico semiconductor con tres terminales: puerta (G, *Gate*), fuente (S, *Source*) y drenaje (D, *Drain*). La corriente eléctrica fluye entre S y D, mientras que G sirve como modulador, ya que aplicar un voltaje a través de G, permite controlar la conductividad entre S y D en base al campo eléctrico creado. Una cualidad que convierte a los dispositivos FET en instrumentos muy prometedores en el ámbito de los nanobiosensores es su capacidad de amplificación, pues con la aplicación de voltajes muy pequeños a través de G, se pueden lograr y modular señales eléctricas muy intensas.

En cuanto al grafeno, se trata de un material semiconductor de estructura bidimensional con unas propiedades eléctricas excepcionales. La banda prohibida del grafeno prístino, es decir, la energía necesaria para promocionar un electrón desde la banda de valencia hasta la banda de conducción, es cero <sup>14</sup>. Esto hace que el grafeno prístino presente un gran efecto de campo ambipolar cuando es sometido a un voltaje de puerta (proceso denominado dopaje eléctrico) <sup>14</sup> [Figura 6] <sup>14</sup>. De esta forma es posible obtener un semiconductor tipo p (los portadores de carga mayoritarios son los huecos) o un semiconductor de tipo n (los portadores de carga mayoritarios son los electrones) en función del voltaje de puerta aplicado.

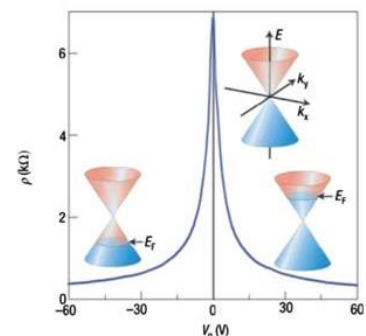


Figura 6. <sup>14</sup> Efecto de campo eléctrico ambipolar sobre grafeno prístino.

Ahn et al. <sup>3</sup> fabricaron un GFET con dos canales con la finalidad de detectar ligandos dulces a través de uno de ellos, y ligandos umami a través del otro. El dispositivo consta de dos pares de terminales S/D ( $S_1/D_1$  para un canal y  $S_2/D_2$  para el otro canal), y una única terminal G multicanal, a través de la cual se aplicarán voltajes de puerta [Figura 7A] <sup>3</sup>. Las nanovesículas construidas poseen proteínas receptoras (de ligando dulce o umami según corresponda) y canales iónicos en sus membranas [Figura 7B] <sup>3</sup>. Las nanovesículas receptoras de ligandos dulces se inmovilizan sobre uno de los canales de grafeno entre las terminales  $D_x$

y  $S_x$ , y las nanovesículas receptoras de ligandos umami se inmovilizan sobre el otro canal de grafeno entre las terminales  $D_y$  y  $S_y$ .

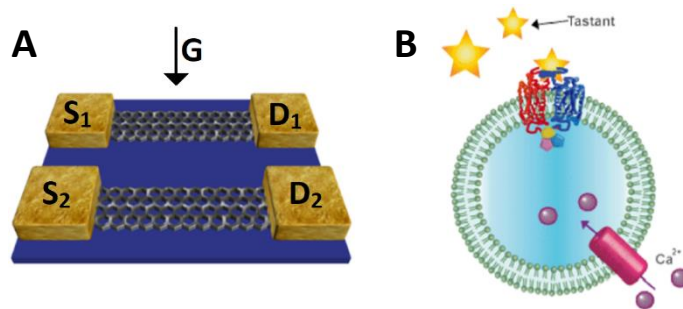


Figura 7. <sup>3</sup> (A) GFET diseñado por Ahn et al.; <sup>3</sup> (B) nanovesículas construidas por Ahn et al. <sup>3</sup>.

Estableciendo una analogía con los procesos descritos anteriormente para la recepción de ligandos por las células de tipo II y III en humanos, y las subsecuentes etapas de los mismos, y en base a los experimentos y observaciones de Ahn et al. <sup>3</sup>, el funcionamiento de esta lengua electrónica se puede describir como sigue: cuando el ligando (dulce o umami) se une a su proteína receptora transmembrana correspondiente en la nanovesícula, se origina un proceso de señalización intravesicular que abre los canales iónicos, permitiendo así la entrada de cationes  $Ca^{2+}$  al interior de la vesículas\*. Esto hace variar el equilibrio iónico entre ambos lados de la membrana, lo que provoca diferencias de voltaje. Como se comentó anteriormente, aplicar un voltaje a través de G permite controlar la conductividad entre S y D en base al campo eléctrico creado, por lo que la lengua electrónica permite establecer una relación entre la concentración de ligando detectado por las vesículas y la señal eléctrica medida.

Para el testeo de la lengua electrónica, Ahn et al. <sup>3</sup> solubilizaron saborizantes dulces y saborizantes umami en solución salina DPBS (*Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline*) que contenía  $CaCl_2$ , como fuente de iones. Esto se hizo para diferentes concentraciones.

A continuación, se presentan las etapas de fabricación de una lengua electrónica de cinco canales (en representación de los cinco sabores básicos), de acuerdo al proceso llevado a cabo por Ahn et al. <sup>3</sup>. Posteriormente, se muestran las caracterizaciones y los resultados finales tras el testeo de la lengua electrónica (Ahn et al., 2016 <sup>3</sup>).

\* "El cambio de señal se debe al influjo calcio desde el exterior de la célula o nanovesícula" (Ahn et al., 2016 <sup>3</sup>).

- Fabricación de la lengua electrónica (etapas llevadas a cabo por Ahn et al. <sup>3)</sup>)

En primer lugar, una monocapa de grafeno cultivada por deposición química de vapor <sup>15</sup> (CVD, *Chemical vapor deposition*) se deposita, mediante transferencia en seco, sobre un sustrato de óxido de silicio [Figura 8, etapa 1]. A continuación, mediante fotolitografía, se consigue el patronaje deseado sobre el grafeno [Figura 8, etapa 2]. Después, mediante una segunda fotolitografía se definen las posiciones de los electrodos de contacto (S y D) [Figura 8, etapa 3]. Los electrodos (S y D) se depositan mediante evaporación térmica de los metales Cr/Au [Figura 8, etapa 4], seguida del proceso de *lift-off* <sup>16,17</sup> [Figura 8, etapa 5]. Por último, el dispositivo se somete a un proceso de pasivación <sup>18</sup> [Figura 8, etapa 6].

Una vez construido el dispositivo GFET, y como se explicó anteriormente, es momento de inmovilizar las vesículas (biomaterial que actúa como receptor del ligando) sobre el grafeno (material que actúa como transductor de la señal recibida). Para ello, los grabados de grafeno se funcionalizan con moléculas de éster de *N*-hidroxisuccinimida de ácido pireno butírico (PSE, *Pyrenebutyric acid N-hydroxysuccinimide ester*), que actúan como enlazadoras entre el grafeno y las vesículas <sup>3</sup>.

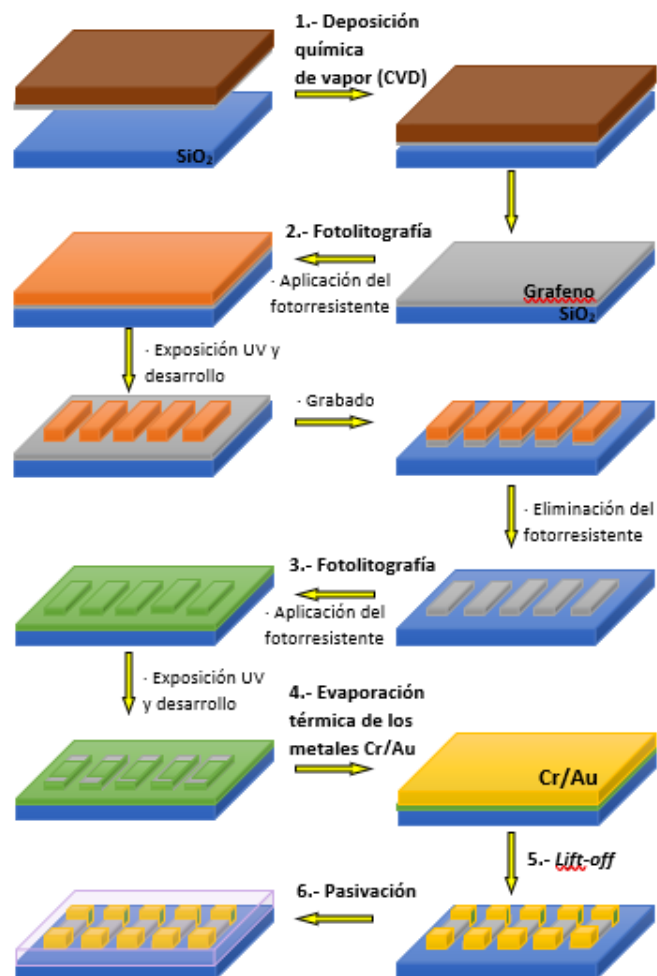


Figura 8. Etapas de fabricación del dispositivo GFET.



- Caracterización (procesos llevados a cabo por Ahn et al. <sup>3</sup>)

Mediante espectroscopía Raman <sup>19</sup> identificaron y caracterizaron la monocapa de grafeno [Figura 9A] <sup>3</sup>, la cual visualizaron mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM, *High-resolution transmission electron microscopy*) [Figura 9B] <sup>3</sup>. Mediante microscopía electrónica de barrido por emisión de campo (FE-SEM, *Field-emission scanning electron microscopy*) visualizaron las nanovesículas inmovilizadas sobre el grafeno [Figura 9C] <sup>3</sup>.

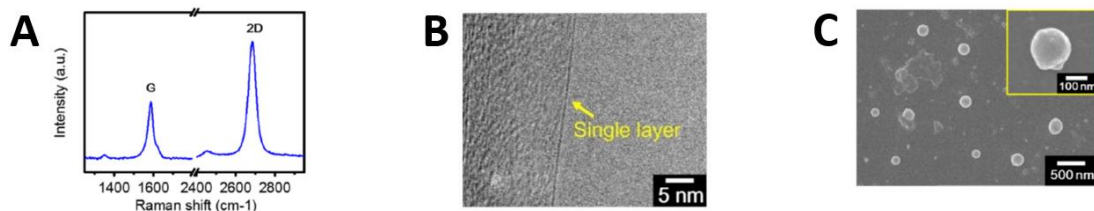


Figura 9. <sup>3</sup> (A) Espectro Raman característico de una monocapa de grafeno; <sup>3</sup> (B) Imagen HR-TEM de la monocapa de grafeno; <sup>3</sup> (C) Imagen FE-SEM de las nanovesículas inmovilizadas sobre el grafeno.

En cuanto al análisis de las propiedades eléctricas del dispositivo, primero estudiaron la relación entre el voltaje fuente-drenaje ( $V_{sd}$ ) y la corriente fuente-drenaje ( $I_{sd}$ ), antes y después de la inmovilización de las nanovesículas sobre el grafeno [Figura 10A] <sup>3</sup>. Como se puede observar, la relación  $I_{sd}/V_{sd}$  es lineal, experimentando una disminución sustancial en el momento en el que las nanovesículas se encuentran inmovilizadas sobre el grafeno. Esta disminución probablemente se deba a la resistencia que ejercen las nanovesículas al paso de corriente entre S y D. Una vez inmovilizadas las nanovesículas sobre el grafeno, estudiaron el comportamiento del dispositivo midiendo las curvas de salida <sup>20</sup>, en las que  $I_{sd}$  es función de  $V_{sd}$  para un voltaje de puerta ( $V_g$ ) fijo [Figura 10B] <sup>3</sup>. Como electrolito utilizaron solución salina DPBS que contenía  $\text{CaCl}_2$ . Como se puede observar, a medida que el voltaje de puerta aplicado aumenta negativamente, la  $I_{sd}$  también aumenta negativamente. Este comportamiento se corresponde al de un semiconductor tipo p <sup>3,21</sup>, por lo que los portadores de carga mayoritarios son los huecos.

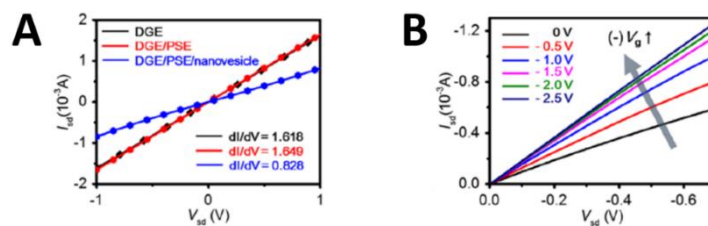
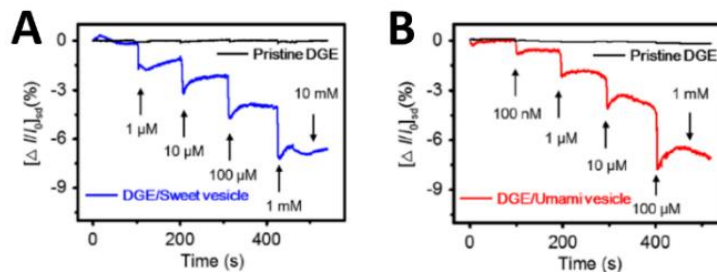


Figura 10. <sup>3</sup> (A) Relación I-V antes y después de la inmovilización de las nanovesículas sobre el grafeno; <sup>3</sup> (B) Relación I-V dados diferentes voltajes de entrada a través de G.



- **Resultados** (resultados obtenidos por Ahn et al. <sup>3</sup>)

Las respuestas obtenidas por la lengua electrónica tras la adición de diferentes concentraciones de sacarosa (ligando dulce), y glutamato monosódico (MSG, *Monosodium glutamate*) (ligando umami), se muestran en [Figura11] <sup>3</sup>.



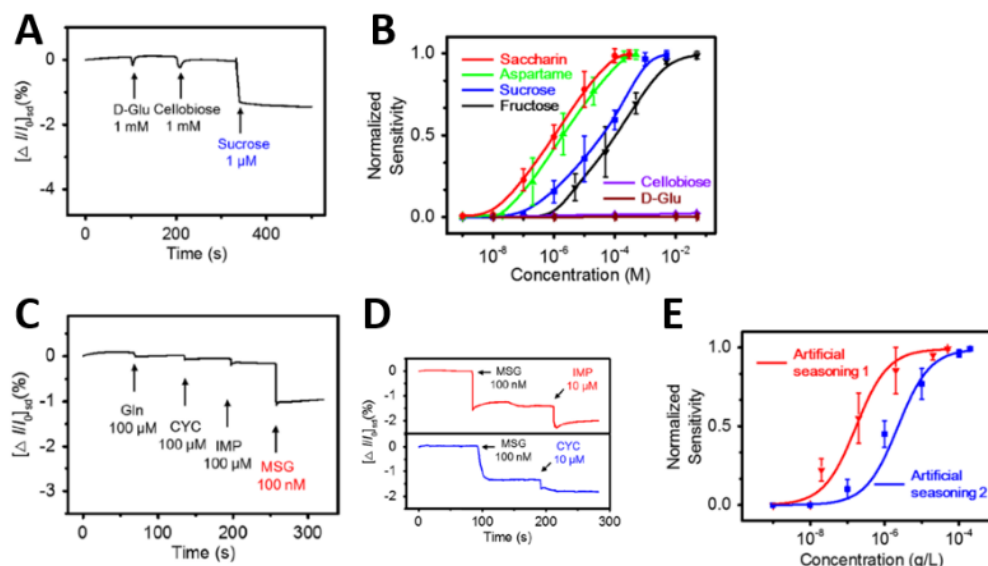
**Figura 11.** Respuestas tras la adición de diferentes concentraciones de <sup>3</sup> (A) sacarosa (saborizante dulce) y <sup>3</sup> (B) MSG (saborizante umami).

Como se observa en [Figura 11] <sup>3</sup>, el aumento de la cantidad de enlaces ligando-receptor hace que la  $I_{sd}$  disminuya. Esto sugiere que la unión ligando-receptor genera un efecto de puerta positiva sobre el grafeno, reduciendo así el número de huecos <sup>3</sup>. Dado que el grafeno se está comportando como un semiconductor tipo p, en el que los portadores de carga mayoritarios son los huecos, una reducción en el número de huecos (mediante un efecto de puerta positiva) conlleva a la disminución de  $I_{sd}$ .

Para el sabor dulce, se estudiaron la selectividad [Figura 12A] <sup>3</sup> y sensibilidad [Figura 12B] <sup>3</sup> del sensor correspondiente utilizando ligandos dulces naturales (sacarosa y fructosa), ligandos dulces artificiales (aspartamo y sacarina) y ligandos no dulces (celobiosa y ácido D-glucurónico). Destaca en [Figura 12B] <sup>3</sup> que el sensor mostró mayor sensibilidad frente a ligandos dulces artificiales, que frente a ligandos dulces naturales (al igual que ocurre en humanos). Para el sabor umami, se estudiaron la selectividad [Figura 12C] <sup>3</sup> y sensibilidad [Figura 12E] <sup>3</sup> del sensor correspondiente utilizando ligandos umami (MSG), ligandos no umami (L-glutamina), ligandos potenciadores del sabor umami (ciclamato e inosina-5'-monofosfato (IMP, *Inosine-5'-monophosphate*)) y condimentos artificiales (consultar Ahn et al. <sup>3</sup>, *Preparation of Tastants*). Como se observa en [Figura 12C y 12D] <sup>3</sup>, los ligandos potenciadores del sabor umami tienen efecto en la respuesta del sensor sólo en presencia de ligandos umami.

Consultar (Ahn et al., 2016 <sup>3</sup>) para un análisis más completo de los resultados obtenidos para cada sensor: nivel mínimo detectable (MDL, *Minimum detectable level*), relación señal-

ruido, nivel de saturación, límite de detección (LOD, *Limit of detection*) y tiempos de respuesta. También se muestran los resultados de la respuesta dual de la lengua electrónica frente a saborizantes dulces y umami, los cuales sugieren que la lengua electrónica estudiada discrimina de manera efectiva saborizantes objetivo en muestras de alimentos reales <sup>3</sup>.



**Figura 12.** Respuestas tras la adición de diferentes concentraciones de <sup>3</sup> (A) celobiosa, ácido D-glucurónico, <sup>3</sup> (B) sacarosa, fructosa, aspartamo, sacarina <sup>3</sup> (C, D) L-glutamina, ciclamato, IMP, MSG y <sup>3</sup> (E) condimentos artificiales (consultar Ahn et al.<sup>3</sup>, *Preparation of Tastants*).

En resumen, la respuesta obtenida por la lengua electrónica construida por Ahn et al. <sup>3</sup> para la recepción de los sabores dulce y umami, se asemeja a la dinámica sensorial establecida en la recepción de los mismos sabores a través del sentido del gusto en humanos. Los sensores propuestos destacan por su alta sensibilidad y selectividad.

## Bibliografía

- (1) Marx, Í. M. G.; Veloso, A. C. A.; Casal, S.; Pereira, J. A.; Peres, A. M. Sensory Analysis Using Electronic Tongues. *Innov. Food Anal.* **2021**, 323–343.
- (2) Podrazka, M.; Bączyńska, E.; Kundys, M.; Jeleń, P. S.; Nery, E. W. Electronic Tongue-A Tool for All Tastes? *Biosensors* **2017**, 8 (1), 1–24.
- (3) Ahn, S. R.; An, J. H.; Song, H. S.; Park, J. W.; Lee, S. H.; Kim, J. H.; Jang, J.; Park, T. H. Duplex Bioelectronic Tongue for Sensing Umami and Sweet Tastes Based on Human Taste Receptor Nanovesicles. *ACS Nano* **2016**, 10 (8), 7287–7296.
- (4) Zhang, N.; Wei, X.; Fan, Y.; Zhou, X.; Liu, Y. Recent Advances in Development of Biosensors for Taste-Related Analyses. *TrAC - Trends Anal. Chem.* **2020**, 129.
- (5) Roper, S. D.; Chaudhari, N. Taste Buds: Cells, Signals and Synapses. *Nat. Rev. Neurosci.* **2017**, 18 (8), 485–497.
- (6) Ahmad, R.; Dalziel, J. E. G Protein-Coupled Receptors in Taste Physiology and Pharmacology. *Front. Pharmacol.* **2020**, 11 (November).
- (7) Miura, R. M. Analysis of Excitable Cell Models. **2002**, 144, 29–47.

- (8) Vandenbeuch, A.; Kinnamon, S. C. Why Do Taste Cells Generate Action Potentials? **2009**, 2–6.
- (9) Kashio, M.; Wei-qi, G.; Ohsaki, Y.; Kido, M. A.; Taruno, A. CALHM1/CALHM3 Channel Is Intrinsically Sorted to the Basolateral Membrane of Epithelial Cells Including Taste Cells. *Sci. Rep.* **2019**, 9 (1), 1–13.
- (10) Roper, S. D. Taste Buds as Peripheral Chemosensory Processors. *Semin. Cell Dev. Biol.* **2013**, 24 (1), 71–79.
- (11) Larson, E. D.; Vandenbeuch, A.; Voigt, A.; Meyerhof, W.; Kinnamon, S. C.; Finger, T. E. The Role of 5-HT3 Receptors in Signaling from Taste Buds to Nerves. *J. Neurosci.* **2015**, 35 (48), 15984–15995.
- (12) Haick, H. Nanotechnology and Nanosensors. **2013**.
- (13) Moon, D.; Cha, Y. K.; Kim, S. ong; Cho, S.; Ko, H. J.; Park, T. H. FET-Based Nanobiosensors for the Detection of Smell and Taste. *Sci. China Life Sci.* **2020**, 63 (8), 1159–1167.
- (14) Liu, H.; Liu, Y.; Zhu, D. Chemical Doping of Graphene. *J. Mater. Chem.* **2011**, 21 (10), 3335–3345.
- (15) Fechine, G. J. M.; Martin-Fernandez, I.; Yiapanis, G.; Bentini, R.; Kulkarni, E. S.; Bof De Oliveira, R. V.; Hu, X.; Yarovsky, I.; Castro Neto, A. H.; Özyilmaz, B. Direct Dry Transfer of Chemical Vapor Deposition Graphene to Polymeric Substrates. *Carbon N. Y.* **2015**, 83, 224–231.
- (16) Venugopal, G.; Kim, S. J. Temperature Dependent Transfer Characteristics of Graphene Field Effect Transistors Fabricated Using Photolithography. *Curr. Appl. Phys.* **2011**, 11 (3 SUPPL.), S381–S384.
- (17) Selvarajan, R. S.; Majlis, B. Y.; Mohamed, M. A.; Hamzah, A. A. Optimization of Lift off Process in Electrode Patterning for Graphene Based Field Effect Transistor. *ASM Sci. J.* **2019**, 12 (SpecialIssue4), 76–82.
- (18) Kim, Y. J.; Lee, Y. G.; Jung, U.; Lee, S.; Lee, S. K.; Lee, B. H. A Facile Process to Achieve Hysteresis-Free and Fully Stabilized Graphene Field-Effect Transistors. *Nanoscale* **2015**, 7 (9), 4013–4019.
- (19) Marquina, J.; Power, C.; González, J. Espectroscopía Raman Del Grafeno Monocapa y El Grafito: Acoplamiento Electrón Fonón y Efectos No Adiabáticos Raman Spectroscopy in Monolayer Graphene and Graphite: *Rev. Tumbaga* **2010**, No. 5, 183–194.
- (20) Béraud, A.; Sauvage, M.; Bazán, C. M.; Tie, M.; Bencherif, A.; Bouilly, D. Graphene Field-Effect Transistors as Bioanalytical Sensors: Design, Operation and Performance. *Analyst* **2021**, 146 (2), 403–428.
- (21) Li, P.; Lei, N.; Xu, J.; Xue, W. High-Yield Fabrication of Graphene Chemiresistors with Dielectrophoresis. *IEEE Trans. Nanotechnol.* **2012**, 11 (4), 751–759.