

ALMA MATER STUDIORUM · UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Scuola di Scienze
Dipartimento di Fisica e Astronomia
Corso di Laurea in Fisica

**STUDIO E CARATTERIZZAZIONE DI
SENSORI DI OSSIGENO A BASE DI
PEDOT:PSS PER APPLICAZIONI IN
COLTURA CELLULARE**

Relatore:
Prof. Beatrice Fraboni

Presentata da:
Filippo Bonafè

Correlatore:
Dott. Marta Tassarolo

Anno Accademico 2017/2018

*Ai miei nonni,
i miei eroi di tutti i giorni*

Abstract

Questa tesi si inserisce nell'ambito dell'elettronica organica e ha lo scopo di studiare nuovi sensori di ossigeno per valutare il livello di ipossia in cui crescono culture cellulari. Per farlo sono stati realizzati dei transistor elettrochimici organici (OECT) basati sul poli(3,4-etilendioossitiofene) drogato con polistirene sulfonato (PEDOT:PSS). Le misure sono state effettuate in una soluzione 0.1 M di KCl e in un mezzo di coltura cellulare, con concentrazioni di O₂ comprese tra lo 0% e il 5% .

Si è studiata la risposta dei dispositivi in soluzione 0.1 M di KCl al variare delle tre aree di gate disponibili (0.2, 0.7, 1.9 cm²), fornendone una caratterizzazione tramite l'analisi delle transcaratteristiche e delle curve di output in tre ambienti (aria, azoto, O₂ al 5%). Si è poi analizzato l'incremento della corrente di drain nel tempo al seguito di incrementi periodici della concentrazione di ossigeno in soluzione. Gli esperimenti mostrano una correlazione lineare tra incremento relativo di corrente ed aumento di concentrazione di O₂ , ma eseguendo fit lineari si ottengono pendenze delle rette molto disomogenee tra loro e apparentemente non correlate con i parametri geometrici dei campioni. Si è quindi ipotizzato che le anomalie ottenute siano legate alla degradazione di campioni a causa della loro sovraossidazione durante l'esecuzione delle misure e suggerito nuovi esperimenti per valutare tali effetti. Si sono infine analizzati i risultati ottenuti nel medium cellulare al variare delle due aree di gate che hanno fornito le risposte migliori nelle misure precedenti (0.2 e 1.9 cm²). In questo caso il gate con area minore si è rivelato più sensibile, ma si sono ottenuti andamenti anomali della corrente di drain in funzione del tempo, probabilmente dovuti alla natura elettrochimica del mezzo di coltura cellulare.

Indice

Abstract.....	1
Introduzione.....	4
1. BIOELETTRONICA ORGANICA.....	6
1.1 Bioelettronica.....	6
1.2 Materiali semiconduttori organici.....	6
1.2.1 Polimeri coniugati.....	6
1.2.2 Proprietà dei semiconduttori organici.....	8
1.3 Applicazioni della bioelettronica organica.....	9
1.3.1 Elettrodi.....	9
1.3.2 Attuatori.....	10
1.3.3 Dispositivi per il trasporto di farmaci.....	10
1.3.4 Biosensori.....	10
1.3.5 Dispositivi per il controllo dell'integrità dei tessuti.....	11
2. TRANSISTOR ELETTROCHIMICI ORGANICI E POLIMERI CONDUTTIVI.....	12
2.1 Struttura a funzionamento di un OECT.....	12
2.2 Un modello fisico per gli OECT.....	13
2.2.1 Circuito elettronico.....	13
2.2.2 Circuito ionico.....	14
2.2.3 Comportamento statico.....	14
2.2.4 Comportamento dinamico.....	16
2.3 Materiali per gli OECT.....	17
2.3.1 PEDOT: struttura e principali caratteristiche.....	17
2.3.2 Il PEDOT:PSS e la sua deposizione.....	18
2.3.3 PEDOT:PSS come semiconduttore organico negli OECT.....	20
2.3.4 Applicazioni del PEDOT:PSS in sensori di ossigeno in soluzione.....	20

3. MATERIALI E METODI.....	22
3.1 Fabbricazione degli OECT.....	22
3.1.1 Deposizione di cromo e oro.....	22
3.1.2 Deposizione del PEDOT:PSS.....	23
3.2 Apparato sperimentale.....	25
3.3 Misure.....	26
3.3.1 Curve transcaratteristiche.....	26
3.3.2 Curve di output.....	26
3.3.3 Curve $I_d(t)$	27
3.3.4 Proprietà fisiche e geometriche dei dispositivi utilizzati nelle misure.....	28
4. ANALISI E CARATTERIZZAZIONE DEI SENSORI.....	29
4.1 Performance dei dispositivi in soluzione 0.1 M di KCl.....	29
4.1.1 Caratterizzazione degli OECT.....	29
4.1.2 Analisi delle curve $I_d(t)$	31
4.1.3 Analisi quantitativa delle prestazioni dei sensori.....	33
4.1 Performance dei dispositivi nel mezzo di coltura cellulare.....	36
4.1.1 Caratterizzazione degli OECT.....	36
4.1.2 Analisi delle curve $I_d(t)$	37
Conclusioni.....	39
Bibliografia.....	40

Introduzione

Questa tesi si inserisce nell'ambito della bioelettronica organica, una moderna branca della scienza applicata che si occupa dello studio e dello sviluppo di dispositivi elettronici basati su semiconduttori organici, in grado di trasdurre le correnti ioniche presenti nei campioni biologici in segnali elettronici e viceversa.

Lo scopo di questa tesi è quello di studiare innovativi sensori di ossigeno in grado di valutare il livello di ipossia dell'ambiente in cui avviene la crescita cellulare. Per fare questo, si sono fabbricati, analizzati e caratterizzati transistor elettrochimici organici (OECT) basati su poli(3,4-etilenediossitiotofene) drogato con acido polistirene sulfonato, o PEDOT:PSS. I dispositivi realizzati sono stati studiati come sensori di ossigeno all'interno di una soluzione 0.1 M di KCl e di un mezzo di coltura cellulare.

L'elaborato è suddiviso in quattro capitoli.

Nel primo capitolo, viene introdotta la bioelettronica e come, grazie alla scoperta dei semiconduttori organici, si studia oggi la bioelettronica organica. Si presentano quindi le principali proprietà chimico-fisiche dei polimeri coniugati e le caratteristiche per cui questi materiali hanno suscitato un forte interesse negli ultimi vent'anni, come la facile processabilità, il basso costo di produzione e la grande stabilità nello stato conduttivo. In particolare, ci si sofferma sulla maggiore biocompatibilità che hanno i semiconduttori organici rispetto ai materiali storicamente impiegati per l'elettronica come il silicio. Si fornisce infine una breve panoramica sulle principali applicazioni della bioelettronica organica, come biosensori, attuatori e dispositivi per il trasporto di farmaci.

Nel secondo capitolo, si trattano invece nel dettaglio le principali caratteristiche del dispositivo bioelettronico organico oggetto di studio di questa tesi: il transistor elettrochimico organico (OECT). Inizialmente, si descrivono la struttura del dispositivo e il suo principio di funzionamento, per poi elaborare un modello fisico in grado di interpretare il suo comportamento statico e dinamico. Successivamente, si presentano i principali materiali semiconduttori organici utilizzati per la realizzazione degli OECT. Tra i polimeri conduttivi di maggior interesse prevale il PEDOT, dal quale è possibile ottenere un composto idrofilo disperdendo il polimero con acido polistirene sulfonato (PSS). Le proprietà del PEDOT:PSS sono molto promettenti e ancora oggi oggetto di studio. Si ripotano poi alcuni processi per la deposizione del PEDOT in film sottili, ed in particolare si soffermerà l'attenzione sulla tecnica di spin-coating, utilizzata per realizzare il canale di conduzione dei dispositivi in questo lavoro di tesi. Infine, si discute la possibilità di impiegare OECT basati su PEDOT:PSS come sensori per l'ossigeno in soluzione, analizzando l'interazione elettrochimica tra l'O₂ e il polimero. La possibilità di misurare ridotte concentrazioni di ossigeno (da 0% a 5%) all'interno di un mezzo di coltura cellulare ha notevoli implicazioni biologiche, perché permette lo studio della crescita cellulare in condizioni di ipossia.

Nel terzo capitolo, vengono riportate le procedure attuate per fabbricare i transistor che sono stati utilizzati per le misure sperimentali. Inizialmente, si presenta il processo di deposizione dei terminali di source e drain dei transistor, ottenuti tramite l'evaporazione di cromo e oro in camera da vuoto. Successivamente, si tratta la deposizione dei canali di conduzione degli OECT in PEDOT:PSS con la tecnica dello spin coating. Si descrive poi l'apparato sperimentale con il quale si sono effettuate le misure, si illustrano i tipi di misurazioni svolte e si fornisce una panoramica complessiva delle principali proprietà fisiche e geometriche dei sensori utilizzati.

Nel quarto capitolo, si analizzano e si discutono criticamente i risultati ottenuti dalle misurazioni. Inizialmente, si studia il comportamento dei sensori all'interno della soluzione 0.1 M di KCl. Vengono riportate le transcaratteristiche degli OECT in tre diversi ambienti (aria, azoto al 100% e ossigeno al 5%) e si studiano le diverse risposte dei dispositivi al variare dell'area di gate utilizzato. In seguito, si effettua un'analisi simile per quanto riguarda le caratteristiche di uscita dei transistor. Si presenta poi l'andamento della corrente di drain dei dispositivi in funzione del tempo al seguito di periodici aumenti del quantitativo di ossigeno flussato in soluzione. Le prestazioni dei sensori sono

in seguito analizzate quantitativamente tramite fit lineari dell'incremento relativo di corrente in funzione della concentrazione di O_2 . Anche in questo caso, si confronteranno gli andamenti ottenuti al variare dell'area di gate utilizzata e delle proprietà fisiche e geometriche dei canali. Si ripeterà infine la medesima analisi per le misurazioni effettuate nel mezzo di coltura cellulare, soffermandosi sulle analogie e sulle differenze di comportamento dei sensori rispetto a quanto ottenuto nella prima soluzione utilizzata.

Capitolo 1

BIOELETRONICA ORGANICA

1.1 Bioelettronica

La bioelettronica studia l'applicazione di tecniche e dispositivi elettronici in ambito biomedico. L'utilizzo di impulsi elettrici per lo studio della trasmissione dei segnali nei sistemi biologici ha origine con gli esperimenti di L. Galvani, eseguiti alla fine del XVIII secolo all'Università di Bologna, con l'intento di indagare il meccanismo di trasmissione degli impulsi nervosi negli esseri viventi. In un famoso esperimento il fisico italiano riuscì ad indurre la contrazione muscolare in una zampa di rana applicando una piccola differenza di potenziale, scoprendo quella da lui definita come "elettricità animale" e attualmente nota come bioelettrogenesi [1].

Al giorno d'oggi la bioelettronica è una disciplina in costante sviluppo e i grandi progressi nel campo dell'elettronica hanno permesso la realizzazione di molteplici dispositivi di notevole interesse in ambito medico e diagnostico. Tra questi possiamo trovare biosensori di glucosio per i diabetici, pacemaker, defibrillatori, impianti cocleari capaci di ristabilire funzioni fisiologiche compromesse e in generale dispositivi di varia natura in grado di monitorare l'attività cellulare [2].

Tutti i sistemi biologici sono caratterizzati dalla presenza e dalla trasmissione di molteplici segnali, prevalentemente di natura ionica, i quali regolano sia il ciclo vitale della singola cellula che la fisiologia di strutture multicellulari estremamente complesse come tessuti e organi. L'obiettivo dei dispositivi bioelettronici è quello di trasdurre le correnti ioniche presenti nei campioni biologici di interesse in correnti elettroniche che scorrono nel dispositivo stesso, e viceversa. Risultano pertanto essere di fondamentale importanza le proprietà sia elettroniche sia chimico-biologiche del materiale impiegato come interfaccia tra biotico e abiotico, che non solo deve essere un buon trasduttore, ma deve presentare un'elevata biocompatibilità. Ad oggi, la maggior parte di questi dispositivi si basa su materiali semiconduttori inorganici, prevalentemente a base di silicio. Essi garantiscono ottime prestazioni ed un'elevata affidabilità, ma hanno come principale limite la rigidità, che viene compensata solo parzialmente dalla miniaturizzazione. Con la scoperta dei semiconduttori organici, avvenuta nel 1976 grazie ai lavori di MacDiarmid, Shirakawa e Heeger, e il conseguente sviluppo dell'elettronica organica, si è aperto un nuovo mondo: quello della bioelettronica basata su materiali "soffici" e quindi in grado di adattarsi alle interfacce biologiche.

1.2 Materiali semiconduttori organici

1.2.1 Polimeri coniugati

La IUPAC definisce un polimero come "una molecola con massa molecolare relativamente alta, la cui struttura è essenzialmente data da una ripetizione multipla di unità che derivano da composti di massa molecolare relativamente bassa" [3]. Le unità ripetitive che costituiscono il polimero sono dette monomeri e si legano tra loro tramite legami covalenti, fino a costituire la "backbone" (spina dorsale) polimerica. Se i monomeri che costituiscono la backbone sono molecole organiche, che quindi contengono atomi di carbonio, il polimero è detto organico.

Le proprietà elettroniche del polimero organico dipendono dall'ibridizzazione degli atomi di carbonio che costituiscono i monomeri. Nei polimeri definiti saturi, il carbonio è ibridato sp^3 , questo significa che il suo orbitale $2s$ si mescola con tutti gli orbitali $2p$ fino a formare quattro orbitali ibridi, ognuno dei quali capace di formare un legame di tipo σ . I legami σ sono caratterizzati dall'aver un ampio gap energetico tra l'orbitale molecolare di energia più elevata occupato (HOMO) e l'orbitale molecolare a più bassa energia non occupato (LUMO) (che possono essere visti come la banda di valenza e quella di conduzione per un semiconduttore inorganico) e quindi i polimeri saturi hanno

proprietà isolanti. Se invece il carbonio è ibridato sp^2 o sp , si formano molecole con una configurazione elettronica totalmente differente. Consideriamo a titolo esemplificativo l'ibridazione sp^2 . In questo caso l'orbitale di tipo $2s$ si sovrappone solamente con due orbitali di tipo $2p$, formando due orbitali ibridi e lasciando un orbitale di tipo $2p$ libero. Quando due atomi di carbonio ibridati sp^2 si legano, si forma un legame σ dovuto alla sovrapposizione degli orbitali ibridi sul piano contenente i nuclei ed un legame π dato dalla sovrapposizione laterale degli orbitali $2p$ non coinvolti dall'ibridizzazione. La sovrapposizione di più orbitali π lungo la catena polimerica porta alla delocalizzazione elettronica, come rappresentato in *figura 2.1*, e quindi ad una riduzione dell'energia di gap. I polimeri coniugati presentano in modo alternato un legame doppio ed uno singolo tra due atomi di carbonio adiacenti. A seconda della struttura molecolare e della composizione chimica dei monomeri che li compongono, alcuni polimeri coniugati hanno proprietà elettroniche simili a quelle dei semiconduttori e, talvolta, a quelle dei metalli.

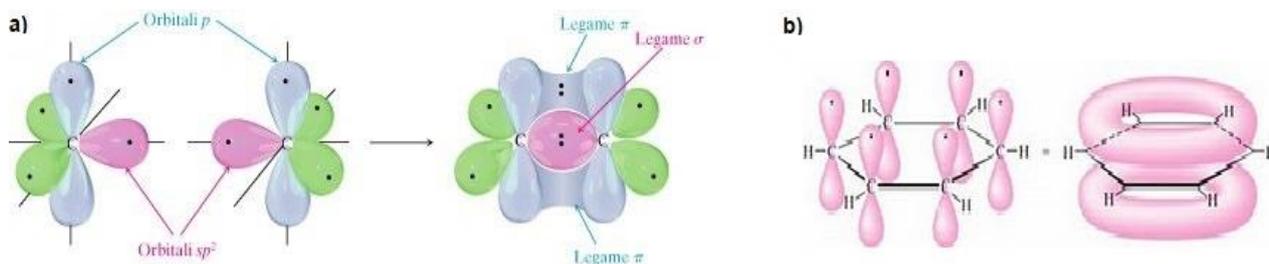


Figura 2.1: a) Formazione di un legame σ e di un legame π tra due atomi di carbonio. b) Struttura elettronica della molecola del benzene (C_6H_6): la sovrapposizione di più orbitali π genera una forma risonante nella quale gli elettroni sono delocalizzati su tutta la molecola.

La scoperta dell'esistenza dei materiali semiconduttori organici risale al 1976, quando MacDiarmid, Hideki, Shirakawa e Heeger iniziarono a studiare le proprietà elettroniche del poliacetilene ($(CH)_n$, *figura 2.2*) [4]. Drogando la molecola con vapori di iodio e bromo riuscirono ad ottenere in modo controllato conduttività tipiche di isolanti, semiconduttori e metalli. Da quel momento furono sintetizzati numerosi polimeri conduttivi, che oggi possiamo suddividere in due categorie, ovvero quelli intrinseci, che si ottengono introducendo chimicamente cariche elettriche nella struttura del polimero coniugato e quelli estrinseci, che invece si ottengono miscelando additivi elettricamente conduttivi con polimeri isolanti.

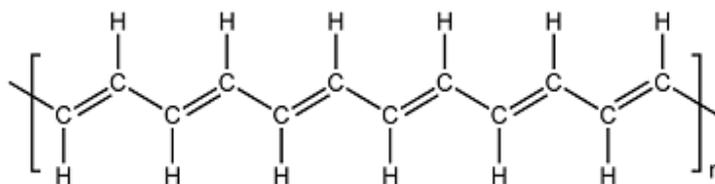


Figura 2.2: struttura chimica del poliacetilene

I semiconduttori organici possono essere drogati con diverse metodologie [4]:

Drogaggio chimico: il trasferimento di carica avviene tramite reazioni di ossidoriduzione tra una specie drogante e il polimero da drogare. In caso di ossidazione del polimero il drogaggio è di tipo p, mentre in caso di riduzione è di tipo n.

Drogaggio elettrochimico: si immerge un elettrodo in un elettrolita (ovvero in una soluzione contenente ioni disciolti) ed applicando una differenza di potenziale si induce un flusso di ioni che diffondono all'interno del polimero da drogare. È un processo più facile da controllare rispetto a quello precedente perché il livello del drogaggio è determinato dall'intensità della tensione applicata.

Fotodrogaggio: il polimero viene ossidato oppure ridotto tramite fotoassorbimento. La radiazione incidente separa le cariche producendo coppie elettrone-lacuna e quindi un aumento dei portatori liberi.

Iniezione di carica: gli elettroni o le lacune possono essere iniettati nel polimero tramite un contatto metallico, ottenendo uno stato di ossidazione o di riduzione del polimero. A differenza del drogaggio chimico, non è necessario l'impiego di alcun contro-ione ossidante.

1.2.2 Proprietà dei semiconduttori organici

I vantaggi che hanno i semiconduttori organici rispetto al silicio (sul quale è basata l'elettronica "tradizionale") nell'ambito della bioelettronica sono principalmente dovuti alla diversa disposizione dei legami chimici. Una porzione di silicio è infatti costituita da una struttura cristallina di atomi identici tra loro, ognuno dei quali forma 4 legami covalenti con gli atomi circostanti. Se invece consideriamo un polimero organico, esso è formato da molteplici monomeri che interagiscono tra loro con deboli forze di van der Waals. La presenza di interazioni molecolari deboli rende di conseguenza il polimero "tenero" rispetto al "duro" silicio e gli conferisce importanti proprietà.

1) Interazione con l'ambiente biologico:

L'intero volume del materiale elettronico organico interagisce con l'ambiente biologico, perché gli ioni sono in grado di penetrare tra gli spazi intermolecolari del polimero a causa della debolezza dei legami di van der Waals. Questo permette la realizzazione di importanti dispositivi elettronici organici come biosensori e bioattuatori, nei quali l'attività di trasduzione ioni-elettroni avviene all'interno del polimero stesso. Al contrario, come rappresentato in *figura 1.1*, l'interazione del sistema biologico con un semiconduttore inorganico è solamente superficiale. Inoltre, a causa della presenza di legami covalenti spezzati, negli strati di silicio a contatto con una soluzione acquosa si formano indesiderati strati di ossido, che invece sono totalmente assenti nei film polimerici [2].

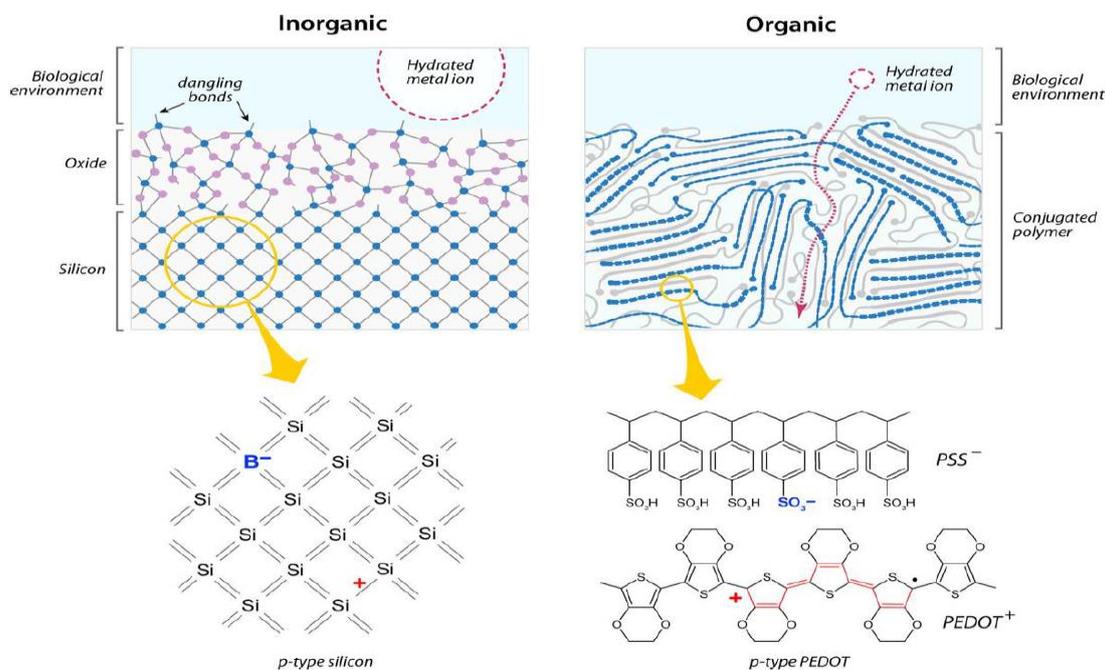


Figura 1.1: interazione con uno ione tra un semiconduttore inorganico (il silicio) ed un semiconduttore organico (PEDOT) immersi in soluzione. Notiamo come nel secondo caso gli ioni (rappresentati in scala relativa) riescano ad interagire con l'intero volume del film polimerico.

2) Proprietà elettroniche:

L'elevata mobilità ionica tipica dei polimeri conduttivi permette loro la conduzione sia di elettroni (o di lacune) sia di ioni. Possono pertanto essere funzionalizzati in modo tale che la trasduzione tra biosegnali e segnali elettronici avvenga all'interno del materiale stesso tramite processi di drogaggio elettrochimico [2].

3) Semplicità di lavorazione:

I materiali polimerici possono essere lavorati a basse temperature e sono facilmente modificabili per via chimica con processi a basso costo. È pertanto possibile depositare sottili strati di materiale organico direttamente su qualsiasi tipo di substrato, adattandosi alla sua struttura [2].

4) Proprietà ottiche e meccaniche:

I materiali elettronici organici possono essere depositati su substrati flessibili (plastici o tessuti), migliorando l'interazione con il campione biologico. Al contrario, i semiconduttori inorganici hanno moduli elastici molto diversi dalle morbide interfacce biologiche e di conseguenza un'elevata incompatibilità meccanica. Inoltre, i sottili film polimerici utilizzati in elettronica organica sono spesso trasparenti, permettendo la trasmissione di immagini e l'utilizzo di varie tecniche di microscopia. [1]

È infine di fondamentale importanza che il polimero utilizzato per scopi bioelettronici sia biocompatibile. L'adeguatezza del materiale scelto non dipende unicamente dalle sue caratteristiche chimiche (come la composizione, le cariche superficiali, l'acidità), ma anche dal processo con cui viene fabbricato e successivamente depositato.

1.3 Applicazioni della bioelettronica organica

L'impiego di semiconduttori organici ha permesso la realizzazione di molteplici dispositivi con numerose applicazioni in ambito biomedico, come quelli schematizzati in *figura 1.2*.

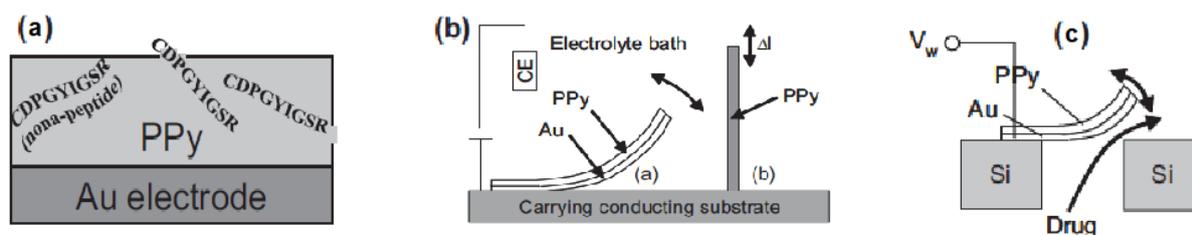


Figura 1.2: esempi di applicazione della bioelettronica organica, tra cui un elettrodo (a), un attuatore (b) e un dispositivo per il trasporto e la somministrazione dei farmaci (c) [1].

1.3.1 Elettrodi

Il primo dispositivo bioelettronico ad essere stato realizzato è un elettrodo che può essere posto in prossimità o in diretto contatto con il substrato biologico da analizzare o stimolare. Elettrodi costituiti da materiali polimerici coniugati hanno numerosi vantaggi rispetto agli analoghi metallici, come maggiori selettività e sensibilità e l'assenza di reazioni infiammatorie [5].

Già nel 1986 si pensò di rivestire elettrodi metallici impiegati come protesi neurali con il polipirrolo (PPy), e i dispositivi così realizzati presentarono una maggior capacità di carica-scarica rispetto ai fili di platino scoperti, e quindi una risposta più rapida al variare degli stimoli ricevuti [5]. Oltre a permettere la trasmissione del segnale alla frequenza biologica di circa 1 kHz, gli elettrodi devono essere biocompatibili. Esperimenti di stimolazione e registrazione di attività neurale eseguiti in vitro

hanno evidenziato la presenza di reazioni infiammatorie e di inspessimenti indesiderati dei tessuti i quali interrompono la trasmissione e la ricezione dei segnali. In uno studio del 2004, è stato co-depositato PPy con nona-peptidi (CPDGYIGSR) su elettrodi d'oro per rilevare l'attività neurale di alcune cellule cerebrali di una cavia. Il rivestimento organico così realizzato ha favorito l'adesione neuronale, riducendo (ma non completamente eliminando) risposte biologiche indesiderate come la gliosi. [6]. Ad oggi, esistono elettrodi in grado di rilevare l'attività neurale costituiti da film sottili di poli(*p*-xililene) che hanno dimensioni estremamente ridotte (circa 50 μm^2) e che possono essere impiantati per lunghi periodi (anche mesi) grazie alla loro elevata biocompatibilità [7].

1.3.2 Attuatori

Molti dispositivi elettronici organici basano il proprio funzionamento su fenomeni di natura elettrochimica. Solitamente essi sono costituiti da un elettrodo formato da un sottile film polimerico, da un contro-elettrodo e da un elettrodo di riferimento, in contatto galvanico tramite un elettrolita. Il cambiamento dello stato di ossidazione del polimero solitamente ha come conseguenza un trasporto di ioni e di molecole al suo interno e pertanto una variazione del suo volume. Nella maggior parte dei dispositivi attuatori, il film polimerico è depositato su un sottile foglio metallico che funge sia da elettrodo che da supporto elettrochimicamente inerte. Fornendo una differenza di potenziale opportuna rispetto all'elettrodo di riferimento, il cambiamento di volume del polimero induce un piegamento della struttura simile ad un movimento. Già nel 1996, De Rossi e collaboratori utilizzarono un film spesso 32 μm di PPy drogato con benzene sulfonato per costruire un attuttore in grado di simulare l'attività muscolare. Il dispositivo si rivelò particolarmente performante grazie alla sua risposta lineare e alla sua capacità di contrarsi/allungarsi in seguito alle variazioni di tensione applicata [8].

1.3.3 Dispositivi per il trasporto di farmaci

Per massimizzare l'efficacia di un trattamento farmacologico, è fondamentale che i medicinali siano assunti con la corretta frequenza e talvolta in uno specifico punto del corpo. Per questo motivo sono stati sviluppati vari dispositivi in grado di trasportare e rilasciare i farmaci in modo controllato. A partire dal 1980, il gruppo di ricerca di Miller iniziò a costruire dispositivi per il trasporto di farmaci basati su film polimerici e controllati per via elettrochimica. Il loro funzionamento si basa sul fatto che la variazione dello stato di ossidazione del film permette la fuoriuscita del medicinale intrappolato al suo interno tramite la rottura di legami ionici. Sono inoltre stati sviluppati dispositivi micromeccanici nei quali si sfruttano attuatori di poli-alanina (Pani) come valvole che regolano l'apertura di micro-container nei quali è posto il farmaco da somministrare. Il loro potenziale è molto ampio perché rispetto ai dispositivi precedenti permettono una maggiore frequenza di somministrazione e possono trasportare molecole di grandi dimensioni [9].

1.3.4 Biosensori

Elettrodi costituiti da biomateriali possono essere utilizzati per riconoscere e trasdurre segnali emessi dalle cellule in particolari situazioni fisiologiche. Esistono infatti in natura numerose molecole capaci di riconoscimento chimico di composti ad essi affini, che possono essere accoppiate con dispositivi elettrici per costruire biosensori. In questo caso il biomateriale si occupa del riconoscimento, mentre il dispositivo elettrico produce un segnale misurabile ogni volta che il riconoscimento avviene. Per esempio, sono stati realizzati transistor elettrochimici organici (OECT, il cui funzionamento sarà discusso nel dettaglio nel capitolo seguente) in grado di misurare la concentrazione di glucosio nel sangue dei diabetici [10]. Essi sfruttano l'azione dell'enzima glucosio ossidasi (Gox), che compie una reazione di ossidoriduzione con il glucosio e libera elettroni che possono essere raccolti in un elettrodo metallico (il gate del transistor), come brevemente illustrato in

figura 1.3 [10]. L'accumulo di elettroni in prossimità del gate del transistor modifica il potenziale elettrico su di esso applicato e, di conseguenza, la corrente che scorre nel dispositivo [11].

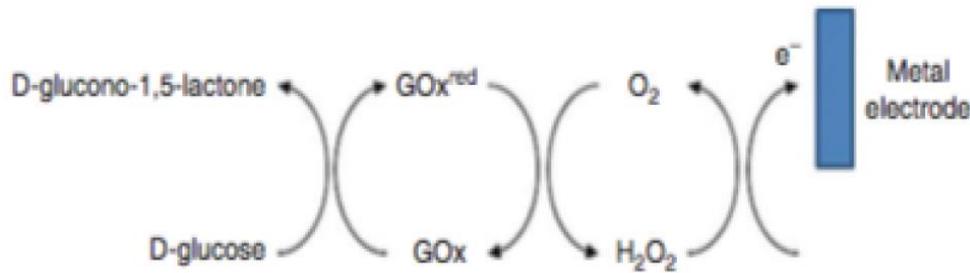


Figura 1.3: meccanismo di reazione per la misurazione della concentrazione di glucosio [10]. La glucosio ossidasi ossida il glucosio riducendosi e ritorna allo stato non ridotto producendo perossido di idrogeno. Quest'ultimo può ossidarsi liberando un elettrone che viene raccolto da un elettrodo metallico.

1.3.5 Dispositivi per il controllo dell'integrità dei tessuti

Negli organismi multicellulari esistono barriere costituite da tessuti epiteliali ed endoteliali che fungono da importanti interfacce funzionali, regolando lo scambio di fluidi tra cellule, l'assorbimento dei nutrienti e limitando la diffusione degli ioni [12]. In particolare, il trasporto ionico intracellulare è controllato da complessi proteici chiamati giunzioni cellulari ("tight junction"), che si aprono e si chiudono in risposta ad opportuni segnali all'interno e all'esterno della cellula. L'abilità di monitorare l'attività delle giunzioni cellulari fornisce indicazioni sull'integrità delle barriere tissutali, che possono essere danneggiate da alcuni tipi di patologie [13]. In un lavoro del 2015, M. Ramuz [13] ha proposto l'utilizzo di un transistor elettrochimico organico per effettuare misure elettroniche in vitro sull'integrità di barriere epiteliali gastrointestinali. Un OEET è un dispositivo composto da tre terminali (source, gate, drain) e da un canale di conduzione costituito da un materiale semiconduttore organico che collega source e drain. Tramite processi elettrochimici, il dispositivo è in grado di convertire le correnti ioniche presenti in una soluzione nella quale il canale e il gate sono immersi in correnti elettroniche nel canale stesso. Il biosensore realizzato da Ramuz per effettuare l'esperimento è riportato in figura 1.4. Esso è costituito da un vetrino, sul quale sono depositati i

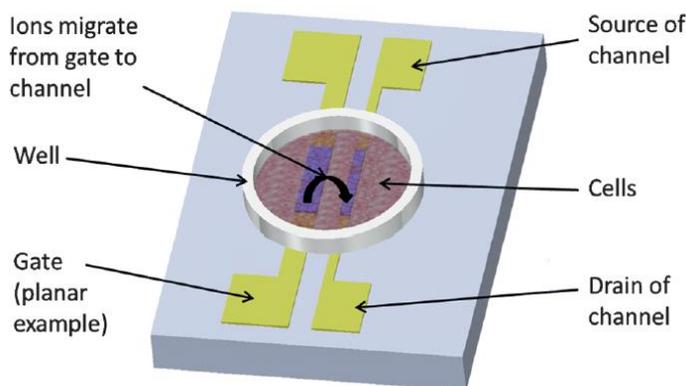


Figura 1.4: OEET con struttura planare per il controllo dell'integrità dei tessuti [13].

terminali del transistor. Al centro del vetrino è presente un pozzo riempito con un'opportuna soluzione, nel quale sono immersi il gate e il canale dell'OEET. Un sottile strato di cellule epiteliali viene fatto crescere all'interno del pozzo, dove viene indotta una corrente di ioni tramite l'applicazione di una differenza di potenziale. Lo strato cellulare agisce come barriera parziale per il flusso di cariche, e il transistor trasduce la dinamica del processo in un segnale misurabile: maggiore è l'integrità della barriera tissutale, minore sarà l'entità della risposta dell'OEET.

Capitolo 2

TRANSISTOR ELETTROCHIMICI ORGANICI E POLIMERI CONDUTTIVI

Il transistor è il dispositivo che ha maggiormente influenzato lo sviluppo tecnologico del XX secolo, sin dalla sua invenzione nel 1947. Costituito da semiconduttori, dielettrici e metalli, trova ampie applicazioni in elettronica analogica come amplificatore; la sua miniaturizzazione ha successivamente portato alla costruzione dei circuiti integrati alla base dell'elettronica digitale [8]. I transistor sono collegati ad un circuito esterno tramite tre terminali. L'applicazione di una differenza di potenziale o di una corrente elettrica tra due terminali permette di regolare il flusso di cariche che scorrono al suo interno e di amplificare il segnale in ingresso. Il materiale semiconduttore storicamente impiegato nella costruzione di un transistor è il silicio, ma la nascita e lo sviluppo dei semiconduttori organici hanno permesso la realizzazione di transistor basati su di essi, dando origine all'elettronica organica. In particolare, nel campo della bioelettronica organica, una struttura che negli ultimi anni ha riscontrato un forte interesse è il transistor elettrochimico organico.

2.1 Struttura e funzionamento di un OECT

Un transistor elettrochimico organico (OECT) è costituito da tre elettrodi, chiamati source, drain e gate. Una schematica rappresentazione della sua struttura è riportata in *figura 2.1*. I terminali di source e drain sono connessi con uno strato di materiale semiconduttore organico, che costituisce il canale di conduzione del dispositivo. Il canale viene mantenuto in contatto con una soluzione, nella quale è immerso anche il gate del transistor, che può essere

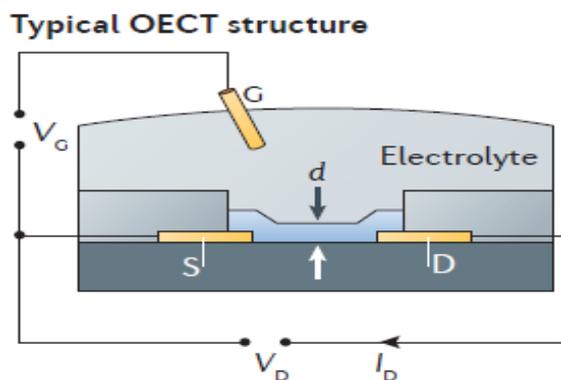


Figura 2.1: tipica struttura di un OECT. I terminali di source (S) e drain (D) sono collegati tramite un film polimerico di spessore d , mentre il gate è immerso nell'elettrolita [14].

metallico o composto da uno strato di materiale organico. Il funzionamento degli OECT si basa sul fatto che gli ioni iniettati dalla soluzione nel canale cambiano il drogaggio del semiconduttore organico e di conseguenza la sua conduttività [14]. Il processo è controllato da due differenze di potenziale, ovvero la tensione di gate (V_g) e la tensione di drain (V_d), mentre il terminale di source è per convenienza collegato a terra. La tensione di gate regola l'iniezione degli ioni all'interno del film polimerico e pertanto il drogaggio del semiconduttore organico, mentre la tensione di drain induce una corrente (la corrente di drain I_d) la cui intensità dipende dalla

quantità di portatori di carica liberi nel semiconduttore. Come in un transistor, la tensione di gate (input) controlla la corrente di drain (output) [14].

Gli OECT lavorano prevalentemente a svuotamento, come riportato in *figura 2.2*. In assenza di tensione di gate applicata, nel canale scorre una corrente (di lacune o elettroni a seconda del drogaggio del semiconduttore organico) e il transistor è acceso. Consideriamo un semiconduttore organico drogato p, nel quale le lacune presenti nel canale di conduzione sono compensate dalla presenza di anioni fissi nella backbone polimerica. Fornendo una tensione di gate positiva, i cationi contenuti nell'elettrolita penetrano nel canale e compensano gli anioni accettori. Di conseguenza il

numero di lacune nel canale diminuisce (e quindi diminuisce anche il drogaggio del semiconduttore) e il transistor si spegne [14].

Depletion-mode OEET

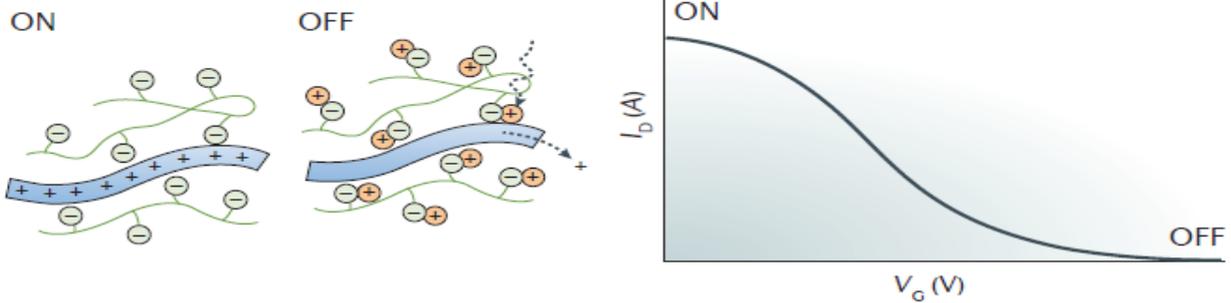


Figura 2.2: OEET a svuotamento. Se si applica una tensione di gate positiva, i cationi contenuti nell'elettrolita entrano nel polimero e si legano agli anioni fissi presenti nella sua backbone. In questo modo diminuiscono gli ioni accettori e di conseguenza le cariche positive libere: il transistor si spegne (processo di de-doping). La caratteristica di trasferimento dell'OEET (corrente di drain in funzione della tensione di gate) avrà quindi un andamento simile a quello raffigurato a destra [14].

2.2 Un modello fisico per gli OEET

Un transistor trasduce piccoli cambiamenti di tensione di gate in ampie variazioni di corrente di drain; la relazione funzionale tra le due grandezze è detta caratteristica di trasferimento del transistor (transfer). L'efficienza del processo di trasduzione è quantificata dalla derivata prima della curva di transfer $g = \partial I_d / \partial V_g$, detta transconduttanza. Gli OEET sono caratterizzati dall'aver transconduttanza elevata, perché il processo di de-doping elettrochimico coinvolge l'intero volume del materiale semiconduttore organico. È inoltre di fondamentale importanza scegliere un elettrolita con una buona mobilità ionica, in modo tale da massimizzare la risposta del dispositivo.

Una descrizione quantitativa della fisica di un OEET è data dal modello sviluppato da Bernards e Malliaras nel 2007 [15]. Esso suddivide il dispositivo in due distinti circuiti (figura 2.3), uno ionico, che descrive il flusso di ioni nell'elettrolita ed uno elettronico, che rappresenta il moto delle lacune nel canale. Il circuito elettronico può essere modellizzato come una resistenza variabile, il cui valore dipende dalla tensione di gate applicata, mentre il circuito ionico può essere visto come un resistore (che descrive il moto degli ioni nell'elettrolita) in serie con due condensatori (utilizzati per descrivere le cariche accumulate nel polimero organico e nel gate).

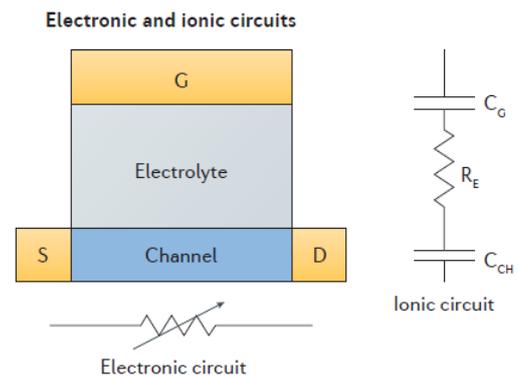


Figura 2.3: modello conduttivo di un OEET [14].

2.2.1 Circuito elettronico

Il moto delle lacune nel canale può essere descritto applicando la legge di Ohm

$$J = qup(x) \frac{dV(x)}{dx} \quad (3.1)$$

dove J è la densità di corrente, q la carica elementare, μ la mobilità delle lacune, $p(x)$ la loro densità e dV/dx il campo elettrico nel canale. Supponiamo per semplicità che la mobilità μ resti costante, indipendentemente dalla concentrazione delle lacune e dall'intensità del campo elettrico. Applicando una tensione di gate positiva si attiva il processo di de-doping, che conserva la neutralità della carica elettrica. Per ogni catione che entra nel film polimerico una lacuna che fluisce dal drain non è più rimpiazzata per iniezione dal source e di conseguenza diminuisce il numero di portatori di carica. Assumendo trascurabile la conduttività del polimero non drogato e considerando una porzione di canale con volume v , la densità di lacune in funzione della carica cationica iniettata Q vale

$$p = p_0 \left(1 - \frac{Q}{qp_0v} \right) \quad (3.2)$$

con p_0 concentrazione delle lacune prima dell'applicazione della tensione di gate. In questo semplice modello si considera trascurabile l'effetto degli anioni accettori presenti nel semiconduttore organico e si suppone uniforme la densità di lacune in tutto il volume del canale.

2.2.2 Circuito ionico

Il flusso di ioni nell'elettrolita può essere modellizzato con un circuito RC, dove la resistenza R dipende dalla forza ionica dell'elettrolita e dalla sua conduttività, mentre la capacità del condensatore dipende dalla polarizzazione delle superfici di contatto tra canale ed elettrolita e gate ed elettrolita. Poiché i semiconduttori organici come il PEDOT:PSS possono essere considerati supercondensatori, la loro capacità sarà generalmente molto maggiore di quella del gate metallico e pertanto la capacità complessiva C del circuito tenderà ad essere quella di quest'ultimo. Questo significa che le proprietà del gate (dimensioni, materiale, ...) sono cruciali per le caratteristiche e per le performance del dispositivo. La carica ionica che scorre nel circuito al tempo t vale

$$Q = Q_S (1 - e^{-\frac{t}{\tau}}) \quad (3.3)$$

dove $Q_S = C\Delta V$ è la carica complessiva del circuito (con ΔV tensione ai capi dell'elettrolita) e $\tau=RC$ la costante di tempo.

2.2.3 Comportamento statico

Supponiamo che il circuito ionico sia in condizione stazionaria ed analizziamo l'andamento della corrente di drain I_d in funzione della tensione di drain V_d una volta fissata la tensione di gate V_g . In questa configurazione il de-doping avviene in maniera uniforme su tutto il film organico, perché il semiconduttore è interamente immerso nell'elettrolita e la densità di carica è elevata. Consideriamo una porzione di canale di larghezza W e altezza T (vedasi *figura 2.4*). La quantità di carica che dall'elettrolita fluisce in una sezione di spessore dx del canale è data dall'equazione 3.3 e vale

$$Q(x) = c_d W (V_g - V(x)) dx \quad (3.4)$$

avendo posto c_d la capacità complessiva per unità di area del circuito ionico. Sostituendo il risultato ottenuto dell'equazione 3.2 ed applicando la legge di Ohm, l'equazione 3.1 diventa

$$J(x) = q\mu p_0 \left(1 - \frac{V_g - V(x)}{V_p} \right) \frac{dV(x)}{dx} \quad (3.5)$$

dove $V_p = qp_0T/c_d$ è la tensione di pinch-off.

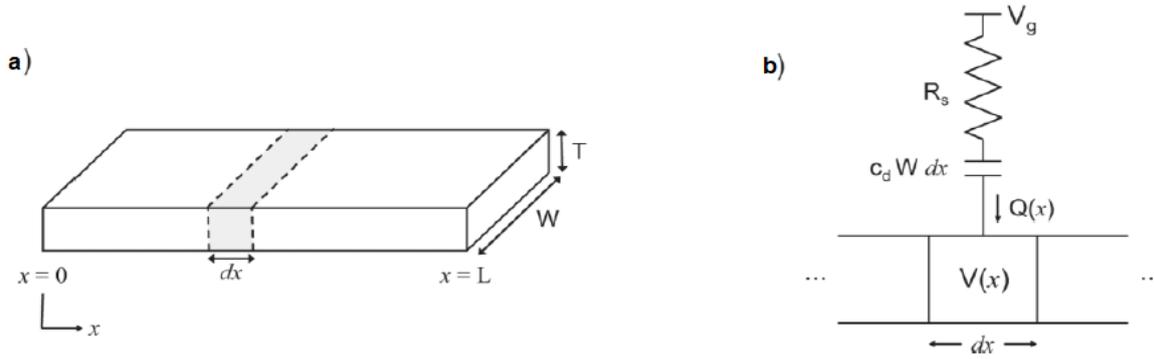


Figura 2.4: geometria del dispositivo usato nel modello. a) Schematica del canale di conduzione, dove il source è posto in $x=0$ e il drain in $x=L$. b) Carica che dal circuito ionico entra nel canale secondo l'equazione 3.4. [15]

L'equazione 3.5 può essere riscritta in termini di corrente e risolta per tre diversi regimi di tensione:

$V_d > 0$; $V_d < V_g$: il processo di de-doping avviene in maniera uniforme su tutto il canale, ovvero da $x=0$ (posizione del source) a $x=L$ (posizione del drain). Ponendo $V(0)=0$ perché il source è connesso a terra, si ottiene

$$I = G \left(1 - \frac{V_g - V_d/2}{V_p} \right) V_d \quad (3.6)$$

con $G = q\mu p_0 WT/L$ conduttanza del film polimerico.

$V_d > 0$; $V_g < V_d$: il processo di de-doping può avvenire solo nei punti nei quali $V(x) < V_g$. Si ottiene una dipendenza lineare tra corrente e tensione di drain, espressa da

$$I = G \left(V_d - \frac{V_g^2}{2V_p} \right) \quad (3.7)$$

$V_d < 0$: applicando tensioni di drain negative è possibile svuotare intere porzioni del canale di conduzione nei punti in cui la densità locale di cationi iniettati eguaglia la concentrazione di droganti nel polimero. L'OECT entra quindi in regime di saturazione. Il semiconduttore sarà svuotato nelle regioni più vicine al terminale di drain, ma il transistor non sarà ancora completamente spento, perché le lacune iniettate saranno comunque trasportate fino al source. La tensione critica di saturazione vale $V_d^{sat} = V_g - V_p$. Se la tensione di drain assume valori inferiori a V_d^{sat} , la depletion region nel semiconduttore si estende su tutto il canale, ma per film organici sufficientemente lunghi lo svuotamento nelle regioni più vicine al source non cambia in modo apprezzabile al variare di V_d . In tali condizioni, si ottiene l'equazione

$$I = -G \frac{V_d^{sat^2}}{2V_p} \quad (3.8)$$

La curva che rappresenta il comportamento statico di un transistor è detta curva caratteristica (oppure output) del dispositivo (figura 2.5).

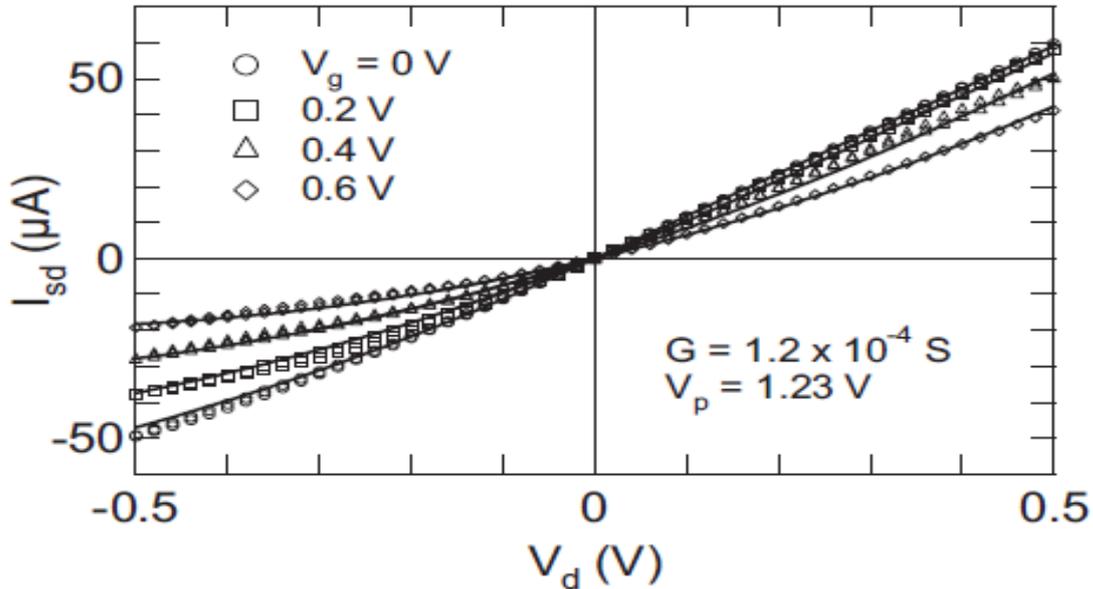


Figura 2.5: curve caratteristiche sperimentali di un OEET per diversi valori di V_g . È stato eseguito un fit non lineare sui punti ottenuti nelle misurazioni utilizzando le equazioni precedentemente introdotte [15].

2.2.4 Comportamento dinamico

Il comportamento transitorio di un OEET è dominato da due effetti: l'iniezione dei cationi all'interno del film organico e l'estrazione delle lacune dall'elettrodo di source. Se assumiamo uniforme la distribuzione di densità delle lacune e consideriamo trascurabile la variazione spaziale del potenziale elettrico nel canale, applicando la legge di Ohm otteniamo

$$I = G \left(1 - \frac{Q(t)}{qp_0v} \right) V_d - f \frac{dQ(t)}{dt} \quad (3.9)$$

dove si è utilizzata l'equazione 3.2 per la densità delle lacune. Il coefficiente f è una costante di proporzionalità che tiene conto della non uniformità spaziale del processo di svuotamento.

Fissiamo ora la tensione di gate V_g ed ipotizziamo che tra l'elettrodo di gate e il film polimerico vi sia una caduta di potenziale $\Delta V = V_g - V_d/2$, tale da rendere il comportamento dinamico del transistor consistente con la sua caratteristica statica. Se $I_{ss}(V_g)$ è la corrente di drain alla tensione V_g in condizioni stazionarie e ponendo $\Delta I_{ss} = I_{ss}(V_g=0) - I_{ss}(V_g)$, l'equazione che descrive il comportamento dinamico del transistor è

$$I(t, V_g) = I_{ss}(V_g) + \Delta I_{ss} \left(1 - f \frac{\tau_e}{\tau_i} \right) \exp\left(-\frac{t}{\tau_i}\right) \quad (3.10)$$

con τ_i e τ_e costanti di tempo del circuito rispettivamente nell'elettrolita e nel canale.

A seconda del valore che assume τ_i , $I(t)$ presenta due diversi andamenti, ovvero un decadimento monotono se $\tau_i > f \tau_e$ ed un andamento spike-and-recovery se $\tau_i < f \tau_e$. Nel primo caso, tipico dei dispositivi con un'elevata tensione di drain o con canali di lunghezza ridotta, la frequenza con cui vengono estratte le lacune dal source è maggiore di quella con cui sono iniettati i cationi. La risposta del transistor sarà quindi dominata dal secondo processo, ovvero il più lento tra i due. Un andamento

spike-and-recovery è invece caratteristico della situazione opposta, nella quale gli ioni sono iniettati più frequentemente di quanto siano estratte le lacune (figura 2.6).

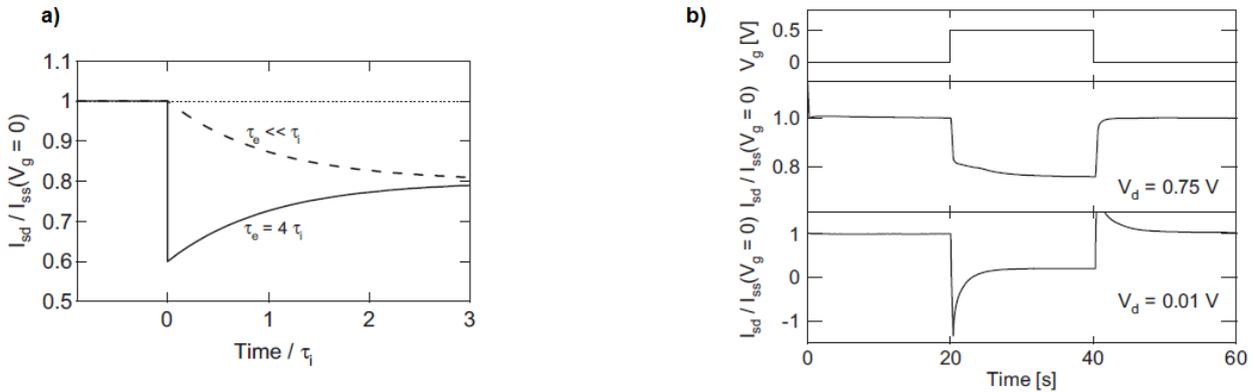


Figura 2.6: comportamento dinamico di un OEET [15]. a) I due possibili andamenti per le risposte transitorie del dispositivo a seconda delle sue costanti di tempo caratteristiche. b) Differenti risposte transitorie di un OEET al variare della tensione di drain

Poiché la risposta transitoria di un OEET dipende prevalentemente dal rapporto tra τ_i e τ_e , è interessante notare che $\tau_i/\tau_e \sim L^2 l/\mu V_d$, con l distanza tra gate e canale. La caratteristica dinamica del transistor quindi può essere modificata variando i suoi parametri geometrici e costruttivi.

2.3 Materiali per gli OEET

Il canale di conduzione degli OEET è solitamente composto da polimeri conduttivi, più comunemente da PEDOT o polipirrolo (PPy) drogati p mediante anioni o polianioni. Vista la sua importanza nell'ambito di questa tesi, si descriveranno nello specifico le proprietà del PEDOT:PSS, alcuni metodi per la sua deposizione e le sue applicazioni nell'ambito degli OEET, focalizzandosi sul suo possibile utilizzo in sensori per l'ossigeno in soluzione.

2.3.1 PEDOT: struttura e principali caratteristiche

Il poli(3,4-etilenediossitiufene), chiamato brevemente PEDOT, è un derivato del politiofene sintetizzato nella seconda metà del 1980 dagli scienziati dei laboratori di ricerca Bayer AG in Germania. Il PEDOT è un polimero coniugato intrinsecamente conduttivo, ottenuto dalla polimerizzazione di molecole di 3,4-etilenediossitiufene (EDOT) [16]. Teoricamente, sono permesse due possibili configurazioni molecolari per il PEDOT, ovvero una chinoide (figura 2.9 c) ed una aromatica (figura 2.9 b). Sulla base di osservazioni spettroscopiche, Lapkowski e Pron [17] ipotizzarono inizialmente una struttura chinoide, ma successivi calcoli teorici che riprodussero accuratamente lo spettro rotazionale della molecola confermarono una configurazione aromatica. La molecola appare quindi come in figura 2.7 a.

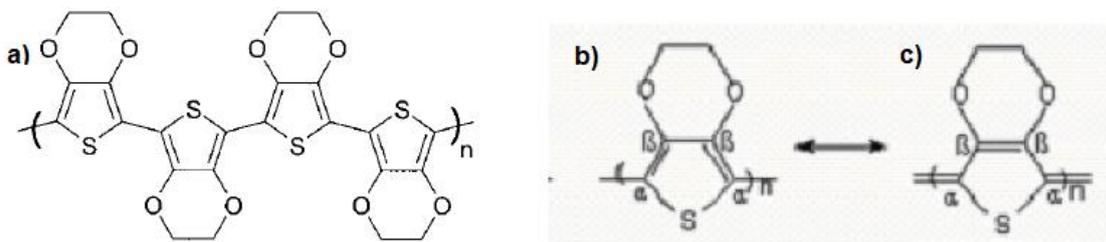


Figura 2.7: a) Struttura chimica del PEDOT. b) e c) Configurazioni aromatica e chinoide per la molecola [18]

Il PEDOT è uno dei polimeri conduttivi più interessanti per le applicazioni tecnologiche grazie alle seguenti proprietà [18]:

Reversibilità dello stato di drogaggio: il PEDOT può essere reiteratamente drogato (ossidato) e riportato allo stato neutro senza causare modifiche permanenti alla sua struttura. Normalmente il polimero appare blu scuro ed opaco, ma quando è nello stato ossidato diventa blu chiaro e trasparente. Il cambiamento di tonalità cromatica in seguito al drogaggio lo rende adatto a potenziali applicazioni ottiche.

Eccellente stabilità termica ed elettrochimica: il PEDOT si degrada termicamente al di sopra dei 150 °C e si decompone completamente sopra i 390 °C. Le sue proprietà elettroniche rimangono pressoché invariate con lo scorrere del tempo a temperatura ambiente. Inoltre, film di PEDOT sintetizzati per via elettrochimica presentano bassi potenziali di ossidazione e riduzione e grande stabilità nello stato drogato.

Alta conduttività: il PEDOT ha un gap energetico tra la banda di valenza e quella di conduzione di circa 1.5-1.6 eV, che si riduce a meno di un eV dopo il drogaggio. Questo implica una grande conduttività elettrica nello stato ossidato, superiore a 550 S/cm.

Struttura regolare: Grazie alla sua peculiare struttura chimica, la molecola presenta meno difetti nella sua backbone polimerica rispetto agli altri derivati del tiofene.

2.3.2 Il PEDOT: PSS e la sua deposizione

Una delle principali ragioni dell'ampia diffusione del PEDOT come polimero conduttivo è la sua disponibilità sotto forma di dispersione polimerica, che lo rende facilmente impiegabile per la deposizione di film sottili utili nelle applicazioni pratiche [19]. Il PEDOT è una molecola idrofoba, ma il problema della sua insolubilità in acqua è stato risolto utilizzando l'acido polistirene sulfonato (PSS) come elemento drogante e bilanciante di cariche durante la polimerizzazione [16]. Il polielettrolita complesso risultante, chiamato PEDOT:PSS e riportato in *figura 2.8*, è utilizzabile per preparare una dispersione polimerica stabile e producibile su scala industriale [19].

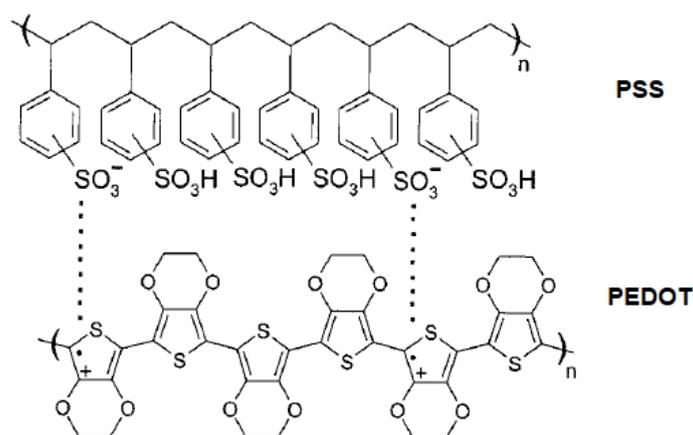


Figura 2.8: PEDOT:PSS. Il polielettrolita è costituito dalle interazioni elettrostatiche tra le lacune contenute nel PEDOT e le cariche negative presenti nel PSS, che fungono da accettori[16].

Il PSS è un poli-anione solubile in acqua che viene impiegato come drogante chimico: le cariche negative contenute negli ioni sulfonati del PSS vanno infatti a compensare le lacune presenti nella backbone polimerica del PEDOT. In questo modo, le due molecole formano un polielettrolita complesso tramite interazioni elettrostatiche e le due molecole si allineano, con la conseguente

formazione di una catena cationica nella quale può scorrere corrente mediante il trasporto di lacune. Il PEDOT:PSS può essere sintetizzato in un vasto range di conduttività, con valori che genericamente variano da 10^{-5} S/cm fino a 1000 S/cm [19]. Il composto è inoltre facilmente depositabile in film sottili e possiede un'ottima stabilità termica.

La metodologia utilizzata per la deposizione di un film sottile di PEDOT:PSS è particolarmente rilevante perché determina in modo diretto le sue proprietà. Inoltre, una volta scelto il processo da utilizzare, diversi parametri possono cambiare il risultato finale, come la viscosità della soluzione e la velocità di deposizione. Esistono per la deposizione numerose tecniche di printing, come per esempio il pad printing, lo screen printing e il flexographic printing e molteplici processi di coating, come lo spin coating, il doctor blading e lo spray coating [20]. La deposizione può avvenire anche tramite processi elettricamente attivi come l'elettrodeposizione, nel quale si deposita uno strato polimerico non preformato secondo una forma ben definita accelerando con un campo elettrico goccioline di soluzione elettricamente cariche.

La tecnica di spin coating è stata utilizzata nella preparazione dei campioni utilizzati in questo lavoro di tesi e merita quindi un approfondimento specifico. In tale processo, brevemente schematizzato in *figura 2.9*, la soluzione polimerica di interesse viene depositata su un substrato che viene fatto ruotare ad una velocità angolare predefinita. Lo spessore, la morfologia e la topografia superficiale del film polimerico ottenuto dipendono dalla velocità di rotazione, dalla viscosità, dalla volatilità, dal peso specifico e dalla massa molecolare dei soluti depositi. In particolare, lo spessore del film d e la velocità angolare del substrato ω soddisfano la relazione semi-empirica $d=k\omega^\alpha$, dove k dipende tipicamente dalla viscosità del solvente utilizzato e α assume un valore attorno a -0.5. Poiché d dipende da parametri controllabili sperimentalmente, lo spin coating permette la deposizione di film omogenei su piccole aree (cm^2) con un'elevata riproducibilità.

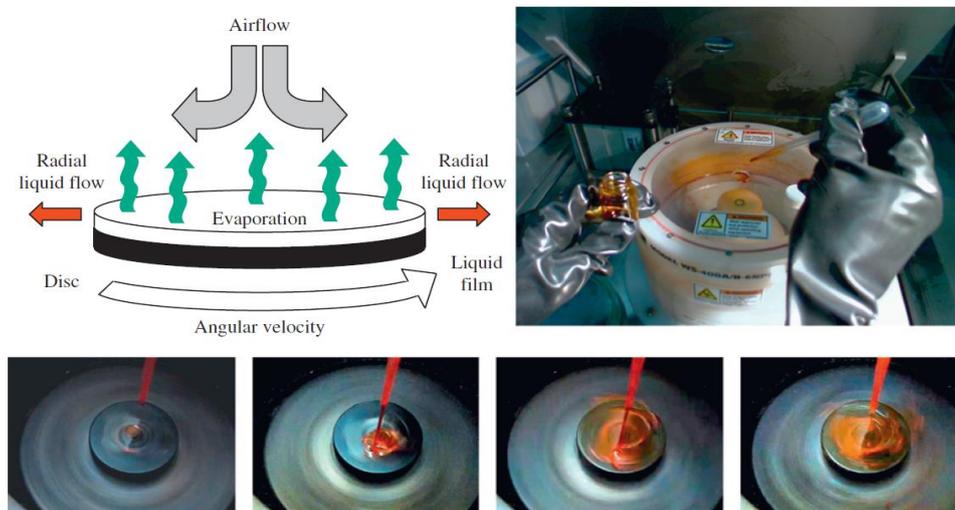


Figura 2.9: Spin coating. Schematica del processo di spin coating e sequenza di immagini relative ad un processo di deposizione. Le immagini sono state scattate ad una frequenza di 300 immagini/s [20].

2.3.3 PEDOT:PSS come semiconduttore organico negli OECT

Grazie alle proprietà precedentemente elencate e all'elevata reperibilità commerciale, il PEDOT:PSS trova largo utilizzo come semiconduttore organico negli OECT, nei quali viene impiegato per la realizzazione del canale e talvolta del gate dei dispositivi. Poiché il PEDOT:PSS è un semiconduttore di tipo p, il trasporto di carica al suo interno avviene tramite le lacune contenute nel PEDOT, che sono compensate dagli anioni sulfonati del PSS. Consideriamo ora un OECT nel quale il canale di conduzione è costituito da un sottile film di PEDOT:PSS. Se la tensione di gate applicata è nulla (rispetto a massa), il transistor risulta essere nello stato acceso ("on") e all'interno del canale scorre una corrente (I_d) la cui intensità dipende dalla differenza di potenziale elettrico tra source e drain ($V_d > 0$, ricordando che il source è per convenienza connesso a terra). Applicando una tensione di gate positiva, i cationi contenuti nell'elettrolita sono iniettati all'interno del canale e schermano la carica negativa degli anioni accettori: di conseguenza, il drogaggio del PEDOT diminuisce e l'intensità della corrente nel canale si riduce. Il processo di de-doping è descritto dalla seguente reazione elettrochimica [21]:



dove M^+ è il catione proveniente dall'elettrolita ed e^- è un elettrone proveniente dall'elettrodo di source. La migrazione del catione all'interno del canale causa la riduzione del film di PEDOT:PSS disaccoppiando i due polimeri. Gli anioni sulfonati infatti, sebbene siano attratti dalla tensione positiva applicata sul gate, sono troppo grandi per poter uscire dalla matrice polimerica e si legano con il catione iniettato. A quel punto il PEDOT^+ si riduce assorbendo un elettrone proveniente dal source e passa allo stato neutro PEDOT^0 , riducendo il numero di cariche libere (lacune). Il processo di de-doping non è uniforme lungo tutto il canale: le zone più vicine al source sono infatti più ridotte rispetto a quelle vicine al terminale di drain, perché su quest'ultimo è applicata una tensione positiva che respinge i cationi. La reazione 3.11 è reversibile: diminuendo la tensione di gate, gli anioni diffondono dal canale alla soluzione nella quale erano precedentemente contenuti e la conduttività del film polimerico aumenta. La transizione tra lo stato ossidato e lo stato neutro del PEDOT diminuisce la sua conduttività anche di diversi ordini di grandezza [21]. Questo implica che un dispositivo basato su questo polimero abbia un'elevata sensibilità nel controllo della corrente in uscita.

2.3.4 Applicazione del PEDOT:PSS in sensori di ossigeno in soluzione

L'interazione tra ossigeno e PEDOT ha un ruolo di particolare rilievo nell'ambito di questa tesi perché può essere sfruttata per la realizzazione di sensori elettrochimici. Il meccanismo di reazione tra il polimero e l'ossigeno è stato studiato sperimentalmente da E. Mitraka [22], il quale ha misurato le proprietà spettroscopiche, elettriche e strutturali di un film di PEDOT:Cl in assenza e in presenza di O_2 . Lo studio ha evidenziato che le reazioni di riduzione dell'ossigeno sono disaccoppiate da quelle elettrochimiche: questo significa che un elettrodo di PEDOT elettrochimicamente ridotto (e quindi nello stato neutro PEDOT^0) mantiene comunque una buona conduttività grazie all'interazione con l'ossigeno. Applicando la teoria del funzionale della densità (DFT), S. Singh ha dimostrato che la reazione di ossidoriduzione tra ossigeno e PEDOT è esoergonica e che tra due possibili meccanismi di reazione il più conveniente energeticamente è il seguente [23]:



Questo significa che il PEDOT è sensibile alla presenza di ossigeno e che quindi è possibile utilizzare gli OECT basati su PEDOT:PSS come sensori per l'ossigeno in soluzione. Notiamo infatti come la reazione 3.12 sia equivalente ad un drogaggio di tipo p: aumentando la concentrazione dell'ossigeno

in soluzione, aumenterà il numero di lacune presenti nel canale e di conseguenza l'intensità della corrente di drain. Inoltre, il fatto che l'ossigeno reagisca con il PEDOT allo stato neutro è di particolare interesse dal punto di vista sperimentale, perché è possibile prima svuotare completamente il canale applicando una tensione di gate positiva e poi misurare l'incremento della corrente di drain dovuto all'aumento della concentrazione di O₂. In questo modo, il dispositivo lavora in accensione con canale spento e le misure effettuate avranno un miglior rapporto segnale/rumore.

La possibilità di utilizzare biosensori per misurare ridotte concentrazioni di ossigeno all'interno di soluzioni organiche è particolarmente importante in ambito biomedico e clinico. Uno studio di R. Humar [24] ha infatti dimostrato che la condizione di ipossia (dove le concentrazioni di O₂ disponibile sono inferiori al 5%) è un importante stimolo per la proliferazione delle cellule muscolari lisce e di quelle endoteliali ed è stata rilevata in presenza di lesioni aterosclerotiche e di tumori in rapida crescita. L'ipossia prolungata induce l'espressione di geni che codificano enzimi e fattori di crescita atti a compiere modifiche istologiche per ridurre il fabbisogno di ossigeno della cellula, come riportato in *figura 2.10*. Livelli di ipossia moderati (3-5% di O₂) hanno conseguenze facilmente reversibili e generano risposte fisiologiche adattive come l'angiogenesi, mentre condizioni di ipossia elevata (0-0.5% di O₂) causano l'apoptosi oppure contribuiscono allo sviluppo tumorale. L'obiettivo di questo lavoro di tesi è quello realizzare un OECT in grado di rilevare concentrazioni di ossigeno in soluzione comprese tra lo 0 e il 5% e capace di funzionare all'interno di un mezzo di coltura cellulare. Il sensore potrebbe quindi essere utilizzato per monitorare i livelli di ossigeno durante esperimenti in vitro sulla crescita cellulare in condizioni di ipossia.

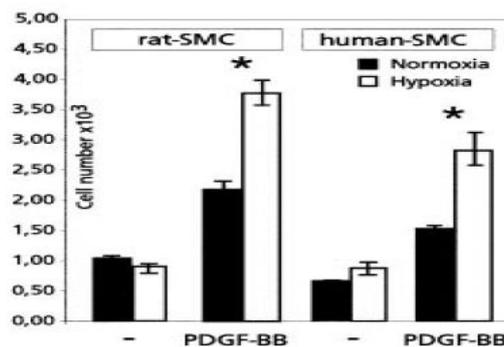


Figura 2.10: Crescita cellulare di un campione di cellule muscolari lisce aortiche in un periodo di 96 ore. Sono state utilizzate cellule umane e di topo utilizzando o meno un fattore di crescita (PDGF-BB). Possiamo notare come in condizioni di ipossia la proliferazione cellulare in presenza del fattore di crescita sia più rapida [24].

Capitolo 3

MATERIALI E METODI

In questo capitolo vengono riportate le metodologie e i materiali impiegati per la realizzazione degli OECT e per l'esecuzione degli esperimenti. Nella prima parte del capitolo si presenterà il processo di fabbricazione dei transistor, nella seconda si descriverà l'apparato sperimentale realizzato per l'esecuzione delle misure ed infine nella terza si discuteranno nel dettaglio le diverse tipologie di misurazioni effettuate.

3.1 Fabbricazione degli OECT

I canali di conduzione in PEDOT:PSS dei dispositivi e i terminali di source e drain sono stati depositati su vetri di dimensioni opportune. I processi con cui sono state effettuate le deposizioni sono riportati secondo l'ordine di esecuzione nei paragrafi seguenti.

3.1.1 Deposizione di cromo e oro

I terminali di source e drain sono stati realizzati depositando sul vetrino delle piste di oro e cromo, utilizzate come contatti per rilevare il segnale presente nel canale polimerico degli OECT. La deposizione è avvenuta tramite l'evaporazione termica dei contatti in camera da vuoto (*figura 3.1*). Preliminarmente alle procedure di deposizione, è stato necessario pulire accuratamente i vetri utilizzati come supporto. Il lavaggio è stato eseguito in 4 step: inizialmente i vetri sono stati immersi in bagno ultrasonico con acqua e sapone (in rapporto 10/1 volume-volume) per 15 minuti e in seguito lasciati asciugare per circa 5 minuti. Successivamente, si è ripetuta la medesima procedura immergendo i vetri prima in acetone e poi in isopropanolo. Infine, si è utilizzato un flusso di azoto per asciugarli e per evitare la formazione di aloni sulla superficie lavata. Prima di procedere con l'evaporazione, si sono poste sui vetri delle opportune maschere ritagliate da fogli di carta da lucido, in modo tale da lasciare scoperte solo le parti in cui deve avvenire la deposizione tramite evaporazione. Le maschere da lucido sono state fissate sui vetri tramite del nastro adesivo di carta e i campioni così formati sono stati posti sull'apposito supporto nella camera da vuoto.

Per l'evaporazione, sono stati impiegati (27 ± 4) mg di cromo e (203 ± 4) mg di oro puri al 99.9%. I filamenti metallici sono stati accuratamente lavati utilizzando la procedura precedentemente adottata per i vetri e successivamente posti su due diversi filamenti di tungsteno all'interno della camera per l'evaporazione. La doppia sorgente di calore dell'evaporatore permette la deposizione sequenziale dei due metalli. Il cromo infatti viene fatto depositare prima dell'oro perché ha una migliore adesione sul vetrino e viene quindi utilizzato come precursore. Mediamente, si deposita su tutti i vetri uno strato di cromo di circa 10 nm di spessore e al di sopra di esso uno strato d'oro di circa 60 nm di spessore. Attivando una pompa rotativa ed una pompa molecolare, la pressione all'interno della camera è stata abbassata fino a circa 10^{-6} torr. In seguito, si è aumentata gradualmente la potenza termica dell'evaporatore incrementando l'intensità di corrente all'interno dei filamenti di tungsteno. In particolare, si è aumentata l'erogazione di potenza del 5% ogni 30-40 secondi per evitare la rottura dei filamenti. Poiché le impurità evaporano a temperature inferiori rispetto a quelle di cromo ed oro, per evitare contaminazioni i vetri sono stati coperti da un'opportuna protezione (chiamata shutter) fino a quando l'apparato non ha raggiunto temperature elevate. A quel punto lo shutter è stato rimosso ed è avvenuta la deposizione sequenziale dei metalli fino alla loro completa evaporazione. Successivamente, la potenza erogata dall'evaporatore è stata gradualmente ridotta come in fase di accensione fino allo spegnimento dell'apparato.

Una volta terminato il processo, è stato possibile rimuovere le maschere di carta da lucido dai vetri e procedere con la deposizione del canale in PEDOT:PSS tramite spin-coating.



Figura 3.1: Fotografia della camera di evaporazione, con il supporto per i campioni in basso

3.1.1 Deposizione del PEDOT:PSS

Il canale di conduzione degli OECT è stato realizzato depositando sui vetri precedentemente preparati una soluzione composta da

- Base soluzione: PEDOT:PSS Clevis PH1000
- 20% Glicole Etilenico (EG)
- 1% Glicidossipropil-trimetossilano (GOPS)
- 0.25% Acido dodecilbenzene-solfonico (DBSA)

dove sono state riportate le percentuali in volume dei soluti rispetto al volume totale della soluzione. L'EG è un additivo secondario che si utilizza per rendere il PEDOT:PSS più conduttivo. Il GOPS è un reticolante che migliora la formazione dei legami covalenti tra le catene del polimero, aumentando la stabilità dei film in soluzione acquosa. Il DBSA invece è un tensioattivo che si impiega per abbassare la tensione superficiale della soluzione, permettendo al PEDOT:PSS di distendersi con più facilità sul substrato di vetro migliorandone l'adesione.

È stata preparata una soluzione di 5 ml aggiungendo con una pipetta l'EG, il GOPS e il DBSA nel PEDOT:PSS PH1000 secondo l'ordine citato. Una volta composta, la soluzione è stata posta dieci minuti in bagno ultrasonico per renderla più omogenea, miscelarla ed evitare che ci fossero particelle che si depositavano nel fondo del contenitore. Inoltre, è consigliabile depositare le soluzioni sul substrato subito dopo la miscelazione, in quanto la presenza degli additivi (in particolare l'agente reticolante GOPS) tende a far aggregare le catene polimeriche, formando grumi e depositi sui bordi del contenitore. La soluzione a base di PEDOT:PSS è stata depositata sui vetri utilizzando la tecnica dello spin-coating. Questa tecnica prevede, in seguito al posizionamento del vetrino nello spin-coater (*figura 3.2*), l'applicazione della soluzione preparata in precedenza su tutta la superficie in cui vogliamo depositare il polimero. Per evitare la presenza di grumi e fare in modo che la soluzione sia più omogenea, questa è stata filtrata con un filtro di acetato di cellulosa, dotato di pori del diametro di $1.2\mu\text{m}$. Le parti del campione che non dovevano essere ricoperte sono state protette con uno strato

di teflon. I parametri dello spin-coater sono stati impostati in maniera tale da far ruotare il vetrino ad una velocità angolare di 700rpm, da raggiungere in un secondo e mantenere per altri nove. Durante lo spinning la soluzione in eccesso viene eliminata. Una volta concluso il processo di deposizione, i vetrini sono stati lasciati asciugare in aria per 15 minuti ed è stato rimosso il teflon; infine, i campioni sono stati posizionati su una piastra riscaldante a 120°C per circa 30 minuti. Lo spessore dei canali depositati è di circa 500 nm.

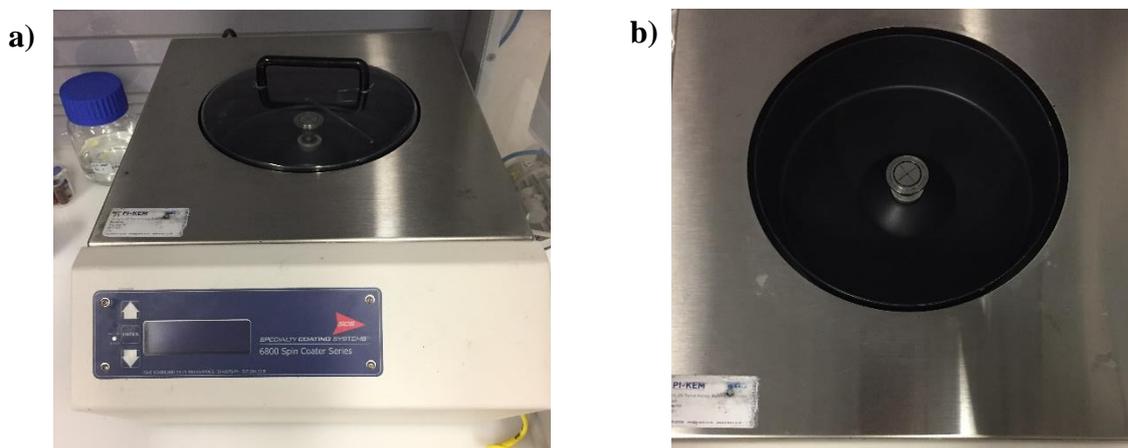


Figura 3.2: a) Spin-coater utilizzato per la deposizione del PEDOT:PSS. b) Dettaglio sul vano portavetrino dello spin-coater

Utilizzando una punta diamantata, si può tagliare il vetrino per ottenere più dispositivi delle dimensioni desiderate, nello specifico, nello specifico di dimensioni 13mm di larghezza per 17 mm di lunghezza (figura 3.3). Infine, si è applicata della pasta d'argento nei punti del dispositivo in cui si sono voluti realizzare i terminali di source e drain. In questo modo, si migliora l'acquisizione del segnale e si proteggono le piste di cromo e oro dalle morse dei coccodrilli che saranno utilizzati nelle misure. Attraverso i contatti d'argento, è stata misurata la resistenza dei dispositivi realizzati con un multimetro digitale per testarne la conduttività. Inoltre, essendo il PEDOT:PSS un materiale organico, si deteriora nel tempo: l'effetto dell'umidità e della luce (in particolare dei raggi UV) è quello di rompere i legami tra le catene polimeriche, rendendo per le cariche più difficoltoso il passaggio da una catena all'altra. Di conseguenza, la resistenza dei campioni aumenta con il tempo ed è opportuno per ogni canale ripetere la misura di tale parametro prima del suo utilizzo. Tali valori sono riportati in tabella 3.1 (paragrafo 3.3.4).

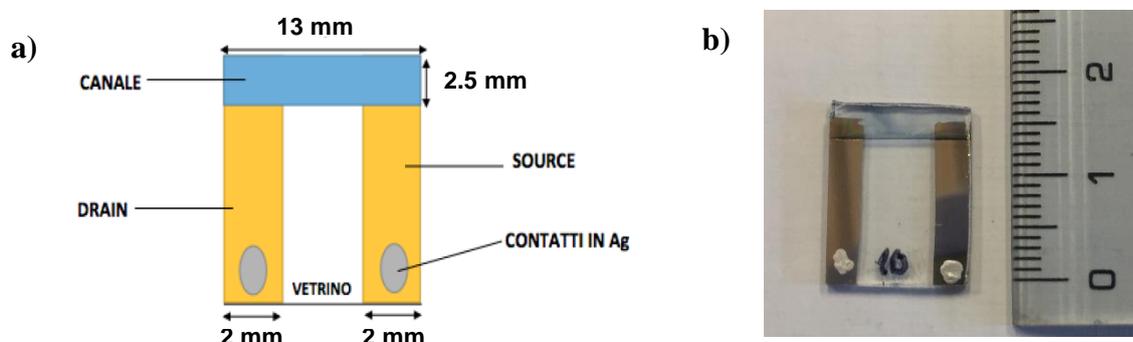


Figura 3.3: a) schematica dei campioni realizzati seguendo la procedura elencata nei paragrafi precedenti. b) fotografia di uno dei campioni fabbricati

3.2 Apparato sperimentale

L'apparato sperimentale realizzato per eseguire le misure è mostrato in *figura 3.4*. L'OECT è immerso in soluzione all'interno di una cella elettrolitica. Le misure sono state inizialmente svolte utilizzando una soluzione 0.1 M di KCl e poi ripetute in un mezzo di coltura cellulare. La cella è fissata su un supporto verticale regolabile in altezza. I terminali di source e drain dei transistor sono collegati alla Source Measure Unit (SMU) Keysight B2912A applicando due coccodrilli sui contatti di argento dei campioni realizzati. È importante regolare la posizione del vetrino in modo tale che il canale sia completamente immerso in soluzione e che i contatti elettrici non si bagnino. Per l'esecuzione delle misure, sono stati utilizzati tre gate in PEDOT:PSS con aree diverse (rispettivamente 0.2, 0.7 e 1.9 cm²). Il gate è posto all'interno della cella e della soluzione tramite un elettrodo metallico che ha il compito di tenerlo fisso e di connetterlo alla SMU.

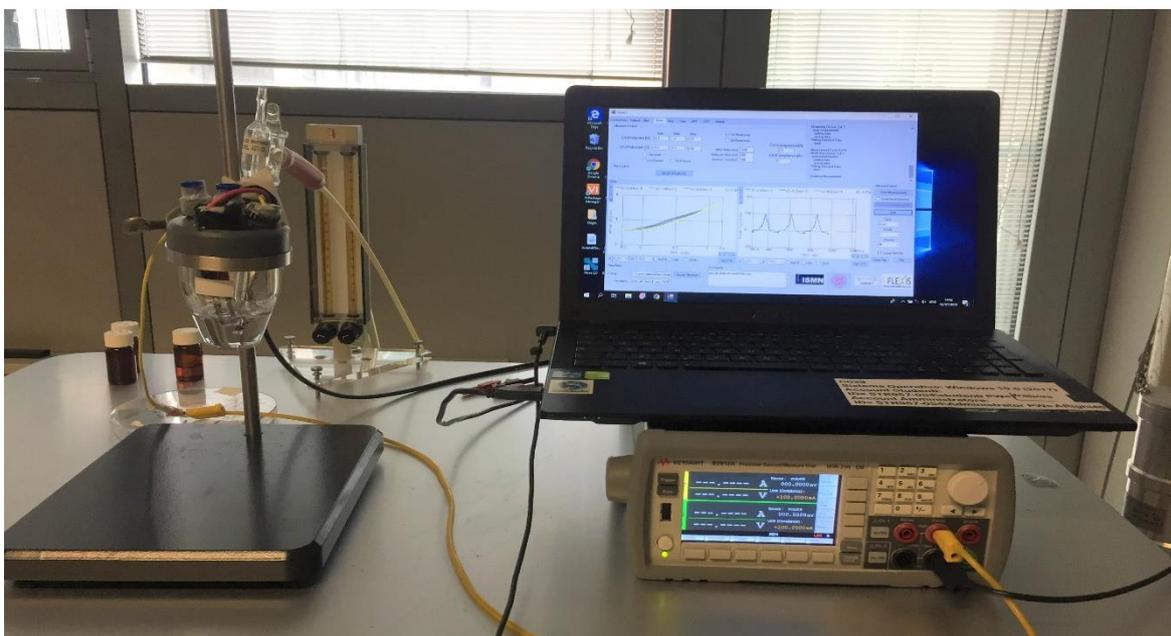


Figura 3.3: apparato sperimentale. Nella parte sinistra della fotografia è possibile vedere l'ampolla contenente l'OECT e il flussimetro, posto in secondo piano. A destra troviamo invece la SMU sulla quale è posizionato un computer con un software per l'acquisizione.

All'interno della cella, in contatto diretto con la soluzione, è stato posto un gorgogliatore di vetro, in entrata del quale è presente una piccola valvola per aprire o chiudere il passaggio di gas. Questo è poi connesso ad un flussimetro a due ingressi e due uscite, a sua volta collegato a due bombole, una di azoto e una di ossigeno al 5%. Il flussimetro è in grado di regolare i flussi dei due gas provenienti dalle bombole e miscelarli nelle quantità desiderate per poi inviarli, tramite un raccordo a tre vie, all'ingresso del gorgogliatore. In questo modo, è possibile avere all'interno della soluzione una miscela di gas con proporzioni ben definite ed è quindi possibile studiare la risposta dei transistor al variare della concentrazione di ossigeno presente. Come discusso infatti nel paragrafo 2.3.5, una variazione della concentrazione di O₂ in soluzione modifica la conducibilità del PEDOT:PSS e di conseguenza la corrente di drain I_d , la quale viene misurata dalla SMU.

3.3 Misure

Per caratterizzare i transistor fabbricati e per valutare le loro performance come sensori per l'ossigeno sia nella soluzione 0.1 M di KCl che nel mezzo di coltura cellulare, sono stati effettuati tre tipi di misure.

3.3.1 Curve transcaratteristiche

Le curve transcaratteristiche mostrano l'andamento della corrente di drain I_d in funzione della tensione di gate V_g per valori fissati della tensione di drain V_d . Nelle misurazioni effettuate si è mantenuta V_d costante a -0.3 V, mentre il valore di V_g è stato fatto variare da -0.3 V fino a 1.2 V con step di 0.01 V. Lo scopo di queste misure è quello di valutare le diverse transcaratteristiche che si ottengono con diverse percentuali di ossigeno presente in soluzione. In particolare, sono state effettuate misure di transfer in aria, in azoto puro e in ossigeno al 5%. Prima di ogni misura, i gas sono stati flussati in soluzione secondo le concentrazioni desiderate per almeno quindici minuti circa. Un esempio di curve di transfer ottenute è riportato in *figura 3.4*.

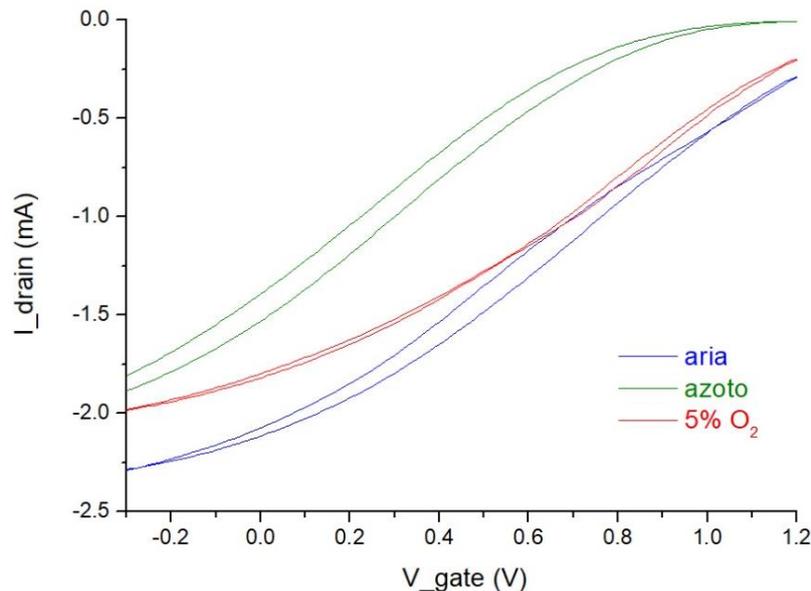


Figura 3.4: esempio di curva transcaratteristica di un OEET realizzato. Gli andamenti ottenuti in ambienti diversi sono contraddistinti da colori diversi

3.3.2 Curve di output

Le curve di output mostrano l'andamento della corrente di drain I_d in funzione della tensione di drain V_d per valori fissati di V_g . Nelle misurazioni effettuate, per ogni acquisizione si è fatto variare il valore di V_d da -0.5 V a 0.5 V e le acquisizioni sono state ripetute per valori di V_g compresi tra -0.3 V e 1.2 V, con step di 0.1 V. Un esempio di curva di output così ottenuta è riportato in *figura 3.5*. Anche in questo caso, è di notevole interesse valutare le diverse caratteristiche di uscita dei dispositivi al variare dell'ambiente in cui essi operano. Sono quindi state misurate curve di output sia in azoto puro che in ossigeno al 5%.

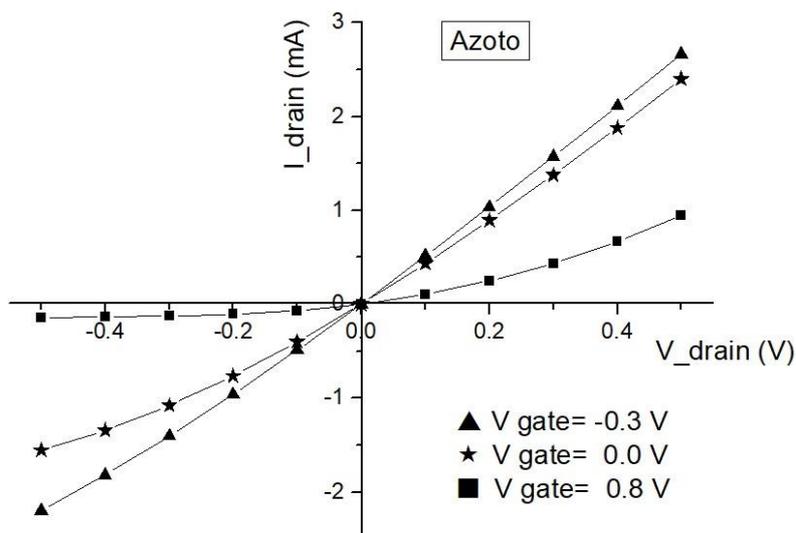


Figura 3.5: esempio di curve di output di un OECT in azoto. Sono stati rappresentati gli andamenti ottenuti per 3 diverse tensioni di gate.

3.3.3 Curve $I_d(t)$

Le curve $I_d(t)$ rappresentano l'andamento della corrente di drain in funzione del tempo. Le tensioni di drain e di gate sono mantenute fisse rispettivamente a $V_d = -0.3$ V e $V_g = 1.2$ V. All'inizio di ogni acquisizione, i campioni si trovano immersi in un'atmosfera composta da azoto al 100%. Dopo 300 s (5 minuti), si inizia a flussare in soluzione una miscela di azoto ed ossigeno con concentrazione di ossigeno costante e si mantiene il flusso per 800 s (circa 13 minuti). Successivamente, si ripete la stessa procedura aumentando la concentrazione di ossigeno immessa ad ogni nuova aggiunta. In questo modo è possibile osservare sia l'incremento di corrente dovuto all'aumento del quantitativo di O_2 immesso in soluzione sia la stabilizzazione del segnale quando la concentrazione di O_2 flussato non varia. Un esempio di curva $I_d(t)$ ottenuta è riportato in figura 3.6. È doveroso sottolineare come in tali grafici sia riportato l'andamento della corrente di drain normalizzata, ovvero divisa per il valor medio delle misurazioni effettuate in azoto puro (ovvero nei primi 300 s).

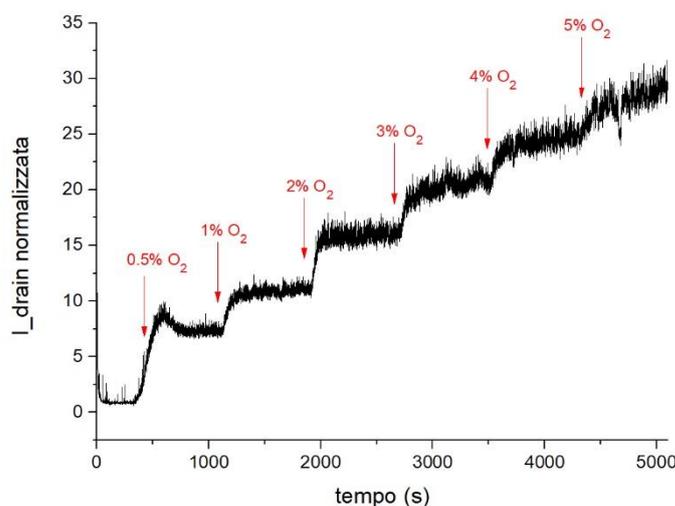


Figura 3.6: esempio di curva $I_d(t)$. Sono stati indicati sulle curve gli istanti in cui è cambiato il quantitativo di ossigeno flussato in soluzione.

3.3.4 Proprietà fisiche e geometriche dei dispositivi utilizzati nelle misure

Vengono in seguito riportate le principali caratteristiche fisiche e geometriche degli OECT con i quali sono state effettuate le misure. Le prestazioni dei sensori sono state analizzate al variare dell'area del gate impiegato. Sono stati utilizzati tre diversi gate, con area di 0.2, 0.7 e 1.9 cm². Le misure effettuate all'interno della soluzione 0.1 M di KCl sono state ripetute due volte per ognuna delle aree di gate a disposizione. Le principali proprietà dei dispositivi utilizzati per le misurazioni sono riportate in *tabella 3.1*, dove con primo esperimento ci si riferisce alla prima serie di misure effettuate e con secondo esperimento alla loro ripetizione. La disposizione della tabella segue l'ordine cronologico con cui sono state svolte le misurazioni. I valori di resistenza sono stati misurati in aria con i campioni immersi in soluzione.

Esperimento	Area gate (cm ²)	Area canale (cm ²)	A _{gate} /A _{canale}	Resistenza (Ω)
1	1.9	0.416±0.017	4.60	240±2
1	0.2	0.416±0.017	0.48	240±2
1	0.7	0.416±0.017	1.68	240±2
2	0.7	0.256±0.010	2.72	400±2
2	0.2	0.256±0.010	0.78	400±2
2	1.9	0.314±0.012	7.38	180±1

Tabella 3.1: principali proprietà dei dispositivi utilizzati per le misure in soluzione 0.1 M di KCl. Gli elementi riportati in tabella seguono l'ordine cronologico delle misurazioni.

Le aree dei canali sono state calcolate fotografando dettagliatamente i vetrini con un microscopio ottico (*figura 3.7*). Dalle fotografie è stato possibile risalire alle dimensioni reali dei campioni utilizzando la scheda di calibrazione dello strumento.



Figura 3.7: microscopio ottico utilizzato per il calcolo dell'area dei canali degli OECT

Capitolo 4

ANALISI E CARATTERIZZAZIONE DEI SENSORI

In questo capitolo si analizzeranno le performance dei dispositivi realizzati. Inizialmente, si esaminerà il comportamento degli OECT all'interno della soluzione salina di KCl 0.1M, fornendone una caratterizzazione tramite lo studio delle caratteristiche di trasferimento (transfer) e di uscita (output) al variare della geometria dei dispositivi e delle condizioni di misura. In particolare, saranno presentate e commentate le curve caratteristiche dei dispositivi in tre diversi ambienti (aria, azoto e ossigeno al 5%) e con tre diverse aree di gate. Successivamente, si studierà la variazione della corrente di drain I_d in funzione del tempo al seguito di periodiche aggiunte di ossigeno all'interno della soluzione. Le prestazioni degli OECT come sensori di ossigeno saranno infine valutate quantitativamente tramite fit lineari dell'incremento relativo di corrente di drain in funzione della concentrazione dell'ossigeno.

Si esamineranno poi le performance degli OECT all'interno di un mezzo di coltura cellulare. L'analisi delle misure effettuate sarà presentata in modo analogo utilizzando i migliori dispositivi individuati nel lavoro iniziale.

4.1 Performance dei dispositivi in soluzione 0.1 M di KCl

4.1.1 Caratterizzazione degli OECT

Le caratteristiche di trasferimento degli OECT sono state ottenute fissando la tensione di drain ad un valore $V_d = -0.3$ V e facendo variare la tensione di gate da -0.3 V fino a 1.2 V. Le misurazioni sono state effettuate in tre diversi ambienti (aria, azoto ed ossigeno al 5%) e sono state ripetute due volte per ognuna delle seguenti aree di gate, ovvero 0.2 cm², 0.7 cm² e 1.9 cm². Le curve di transfer risultanti sono riportate in *figura 4.1*. Gli esperimenti sono stati ripetuti due volte con dispositivi diversi per validare i risultati ottenuti.

Possiamo preliminarmente notare come le transcaratteristiche ottenute confermino il fatto che gli OECT realizzati lavorano a svuotamento: all'aumentare della tensione di gate infatti l'intensità della corrente di drain (che è negativa perché il PEDOT è un semiconduttore di tipo p) diminuisce in modulo.

I dispositivi hanno fornito risposte diverse a seconda degli ambienti in cui sono state effettuate le misure: osserviamo infatti che gli OECT tendono a spegnersi prima all'interno dell'atmosfera composta da azoto al 100% e che in generale la corrente di drain I_d assume valori inferiori in modulo rispetto a quelli ottenuti in aria e in ossigeno al 5%. Il fenomeno è perfettamente in accordo con il fatto che l'ossigeno interagisce con il PEDOT ossidandolo e quindi aumentando il numero di portatori di carica all'interno del polimero. Sulla base di quest'ultima osservazione, ci si dovrebbe aspettare che la risposta del dispositivo sia più pronunciata in aria (dove la concentrazione di ossigeno è circa il 21%) rispetto all'atmosfera composta da ossigeno al 5%. In realtà, le misurazioni effettuate confermano solo parzialmente questa ipotesi. Nella prima serie di misure effettuate infatti le transfer ottenute nei due ambienti sono ben separate soltanto nel dispositivo con area di gate maggiore, mentre negli altri due casi sono in parte sovrapposte. Al contrario, nel secondo ciclo di misure la capacità degli OECT di "distinguere" i diversi ambienti sembra diminuire all'aumentare dell'area di gate e la separazione tra le transcaratteristiche è generalmente più netta. Una possibile interpretazione delle anomalie osservate potrebbe risiedere nel fatto che sono stati impiegati canali diversi per effettuare le misurazioni. Nella prima serie di misure è infatti sempre stato utilizzato lo stesso canale, caratterizzato da una resistenza di (240 ± 2) Ω e un'area di canale di (0.416 ± 0.017) cm², mentre nella seconda ne sono stati utilizzati due diversi a causa della degradazione del primo dei due. In

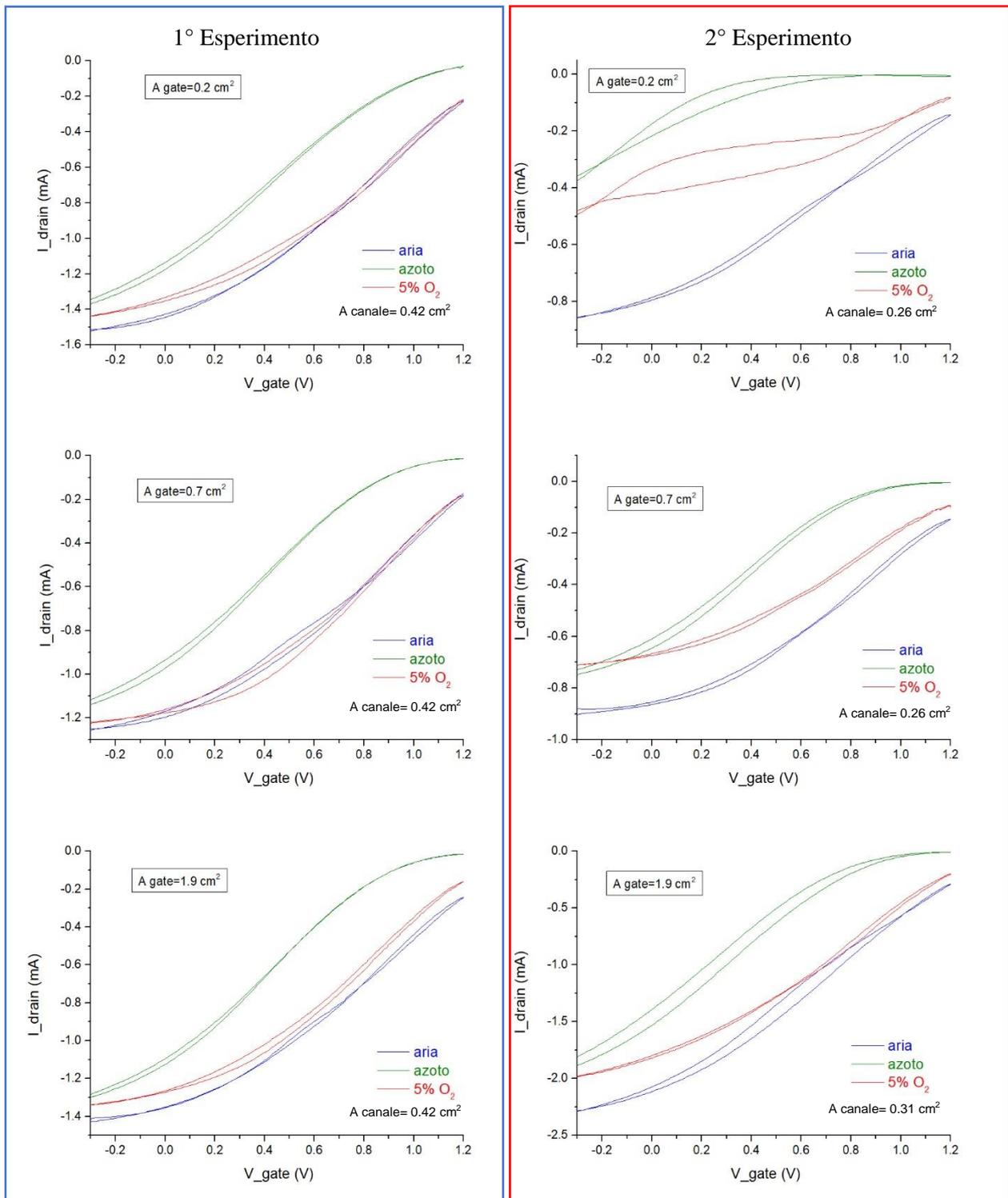


Figura 4.1: transcaratteristiche degli OECT al variare dell'area del gate utilizzato. Gli andamenti ottenuti nei diversi ambienti sono contraddistinti con colori diversi.

particolare, le misure eseguite con l'area di gate pari a 0.2 cm^2 e 0.7 cm^2 sono state effettuate con un campione con resistenza $R_1 = (400 \pm 2) \Omega$ e area $(0.256 \pm 0.010) \text{ cm}^2$, per l'area di gate di 1.9 cm^2 è stato utilizzato un canale con $R_2 = (180 \pm 1) \Omega$ e area $(0.314 \pm 0.012) \text{ cm}^2$ (per maggiori dettagli si faccia riferimento alla *tabella 3.1*). Non è stato possibile effettuare tutte e 6 le misurazioni con lo stesso campione perché il canale impiegato nel primo ciclo di misure si era visibilmente degradato e le sue

proprietà elettriche ed elettrochimiche era di conseguenza compromesse. È probabile supporre che il dispositivo abbia subito una sovraossidazione che è risultata non reversibile.

Le curve di output ($I_d - V_d$) dei transistor mostrano l'andamento di I_d in funzione di V_d per valori di tensione di gate fissati. Durante ogni acquisizione la tensione di drain è stata fatta variare da -0.5 V a $+0.5$ V; la procedura è stata ripetuta per tensioni di gate comprese tra -0.3 V e 1.2 V, partendo da $V_g = -0.3$ V ed incrementando ad ogni acquisizione il suo valore di 0.1 V. I risultati ottenuti per tre diverse tensioni di gate (-0.3 V, 0 V, 0.8 V) e in due diversi ambienti (azoto ed ossigeno al 5%) sono riportati in *figura 4.2*.

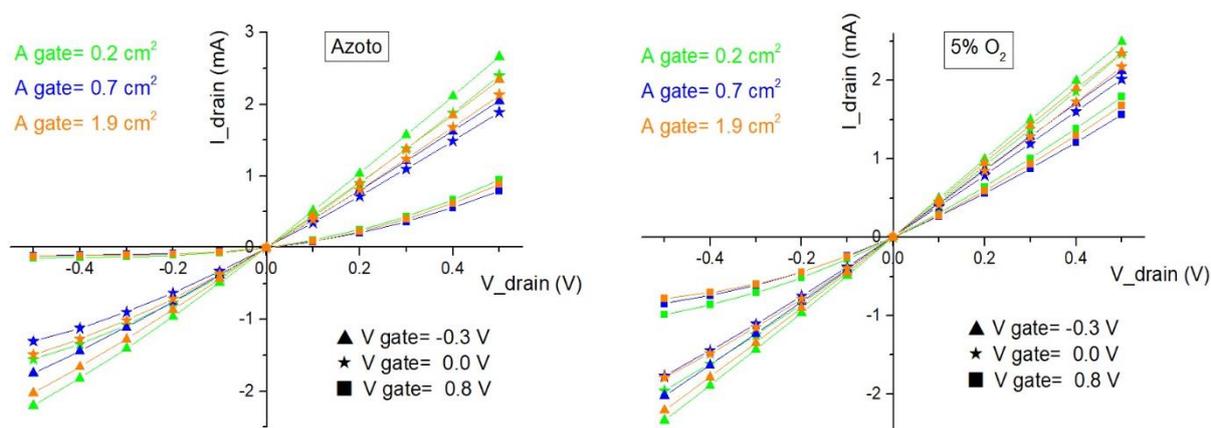


Figura 4.2: output degli OECT in due diversi ambienti al variare della tensione di gate applicata e dell'area di gate dei dispositivi. Ad ogni area di gate è stato assegnato uno specifico colore, mentre le curve ottenute con tensioni di gate diverse sono state contrassegnate da punti con simboli diversi.

In generale, osserviamo che a parità di V_g i dispositivi con corrente di drain maggiore in modulo sono quelli con area di gate minore. Inoltre, notiamo come l'output dei dispositivi caratterizzati in azoto risenta maggiormente dell'aumento della tensione di gate, perché i valori assunti da I_d in funzione di V_d tendono a diminuire più rapidamente di quanto facciano in O_2 al 5% ad ogni incremento di V_g . L'effetto è comune a tutte le aree di gate ed è perfettamente consistente con gli andamenti delle transcaratteristiche precedentemente analizzati.

4.1.2 Analisi delle curve $I_d(t)$

Le curve $I_d(t)$ sono state ottenute fissando $V_g = 1.2$ V e $V_d = -0.3$ V e misurando l'andamento della corrente di drain in funzione del tempo al seguito dell'aumento periodico della concentrazione di ossigeno in soluzione (maggiori dettagli nel capitolo 3). Il range di concentrazioni nel quale sono state compiute le misure va dallo 0% al 5% di O_2 . Anche in questo caso le misurazioni sono state ripetute due volte per ognuna delle aree di gate a disposizione, utilizzando i campioni precedentemente caratterizzati nell'ordine riportato in *tabella 3.1*. I risultati ottenuti sono riportati in *figura 4.3*, dove in tutti i grafici si è rappresentata la corrente di drain normalizzata rispetto al valore medio ottenuto per lo 0% di ossigeno in soluzione (I_0). Come in *figura 4.1*, i grafici ottenuti nella prima serie di misure sono presentati nella colonna di sinistra, mentre gli andamenti ottenuti dalla loro ripetizione sono riportati nella colonna di destra. È doveroso sottolineare che la curva $I_d(t)$ riportata in basso a destra contiene molti meno punti rispetto alle altre a causa di un errore tecnico avvenuto durante l'acquisizione e pertanto deve essere considerata soltanto come puramente indicativa.

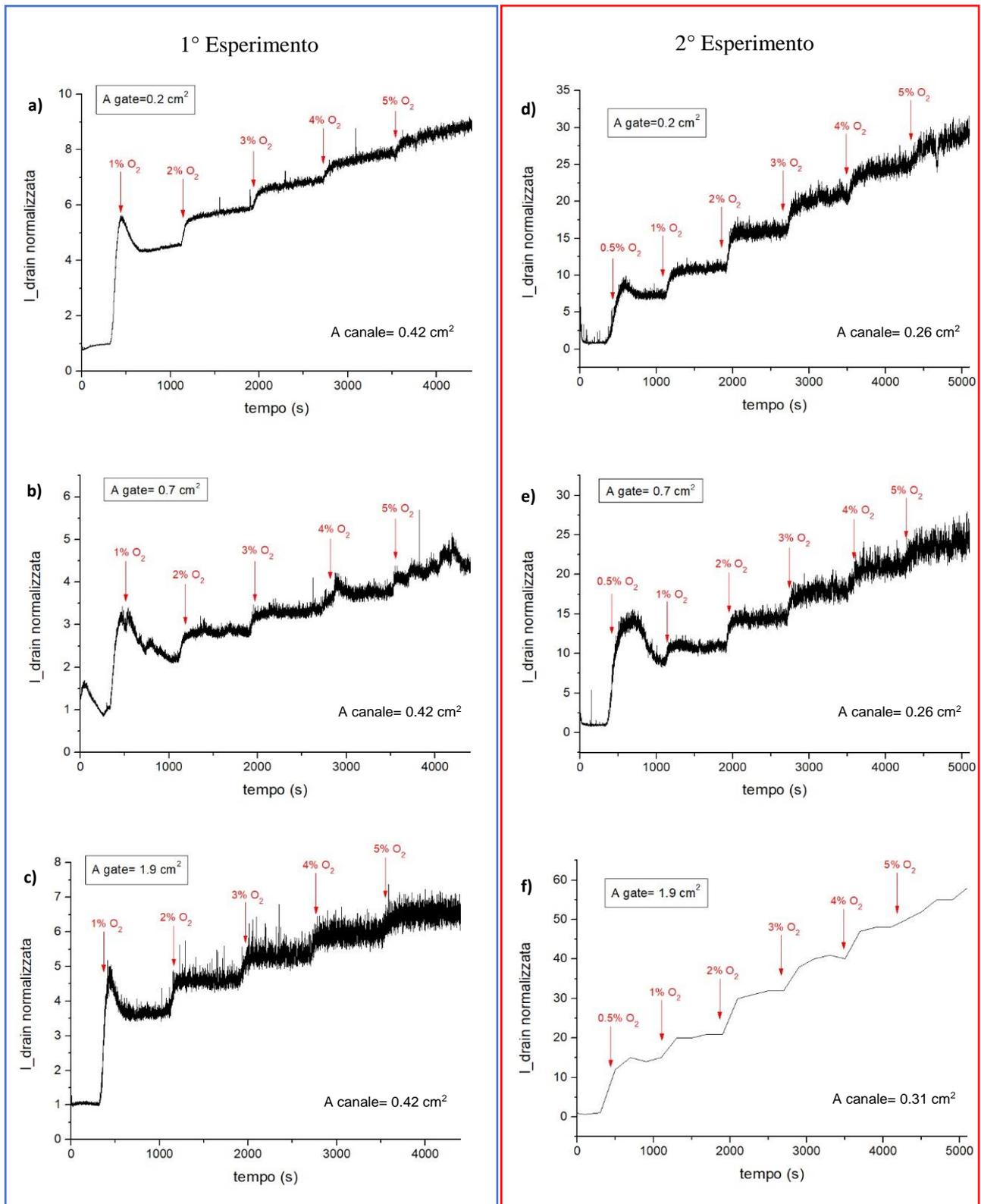


Figura 4.3: andamento della corrente di drain normalizzata in funzione del tempo al variare dell'area del gate utilizzato. Sono stati indicati sulle curve gli istanti in cui è cambiato il quantitativo di ossigeno flussato in soluzione.

Le curve $I_d(t)$ di un sensore ideale hanno un andamento a gradini, perché la corrente di drain ha un'intensità costante se la concentrazione di ossigeno non varia nel tempo e cambia molto rapidamente in seguito ad una sua variazione. Possiamo notare come i risultati ottenuti nelle

misurazioni rispecchino generalmente quanto atteso, anche se presentano alcune caratteristiche che meritano di essere discusse nel dettaglio.

Innanzitutto, notiamo come in tutti i grafici riportati sia presente un picco inatteso di corrente negli istanti immediatamente successivi alla prima immissione, seguito da una successiva stabilizzazione del segnale. Possiamo interpretare questa anomalia ipotizzando che all'interno dei tubi utilizzati per flussare l'ossigeno fosse presente dell'aria, che veniva immessa in soluzione non appena aperta la bombola contenente il gas: poiché l'aria contiene circa il 21% di O₂, ne basta un piccolo quantitativo in soluzione per accentuare in maniera indesiderata la risposta dell'OECT. Svuotando per quanto possibile i tubi prima di iniziare le misure, si sono ottenuti grafici con picchi meno pronunciati (*figura 4.3 d,f*). Indipendentemente da questo effetto, notiamo che nei primi tre dispositivi analizzati (*figura 4.3 a,b,c*) l'incremento relativo di corrente tra due concentrazioni consecutive di O₂ risulta essere maggiore dopo la prima aggiunta (da 0% a 1% di O₂) rispetto a quanto avviene per le aggiunte successive. Per questo motivo, nella seconda serie di esperimenti, si è scelto di introdurre una concentrazione intermedia (0.5% di O₂) ottenendo incrementi relativi di corrente più omogenei (*figura 4.3 d, e, f*). Osserviamo inoltre che dopo pochi minuti dalle aggiunte di ossigeno la corrente di drain tende a stabilizzarsi attorno ad un valore medio, ma le misure risultano essere molto rumorose. La principale causa del fenomeno è probabilmente legata al fatto che, per garantire la completa dissoluzione dell'ossigeno nella soluzione, durante l'immissione della miscela di gas è necessario farlo gorgogliare generando quindi delle bolle che aumentano il rumore della misura.

4.1.3 Analisi quantitativa delle prestazioni dei sensori

Le prestazioni fornite dai sensori sono quantitativamente diverse tra loro. È stato eseguito un fit lineare dell'incremento relativo di corrente $(I_d - I_0)/I_0$ in funzione della concentrazione di O₂ per ognuno dei sei andamenti riportati in *figura 4.3*. I risultati ottenuti per la prima e per la seconda serie di misurazioni sono stati rappresentati in *figura 4.4* e in *figura 4.5*, mentre i parametri dei fit sono riportati in *tabella 4.1* e in *tabella 4.2*. La risposta del PEDOT:PSS al variare dell'ambiente in cui si trova il dispositivo dipende dal suo volume. Poiché per tutti i campioni il PEDOT:PSS è stato depositato con la tecnica dello spin coating e con gli stessi parametri di deposizione, possiamo ipotizzare che lo spessore dei canali sia approssimativamente uguale per tutti gli OECT realizzati. Questo discorso non è altrettanto vero per la definizione dell'area del canale, che dipende anche da altri fattori, con il risultato che spesso l'area del canale stesso può risultare differente tra una canale e l'altro. Se, come riportato nella teoria dell'OECT descritta nel capitolo 2, le proprietà del PEDOT:PSS interessano l'intero volume, questo significa che la differenza tra i volumi di PEDOT presenti in due campioni diversi dipende unicamente dalle loro diverse aree di canale.

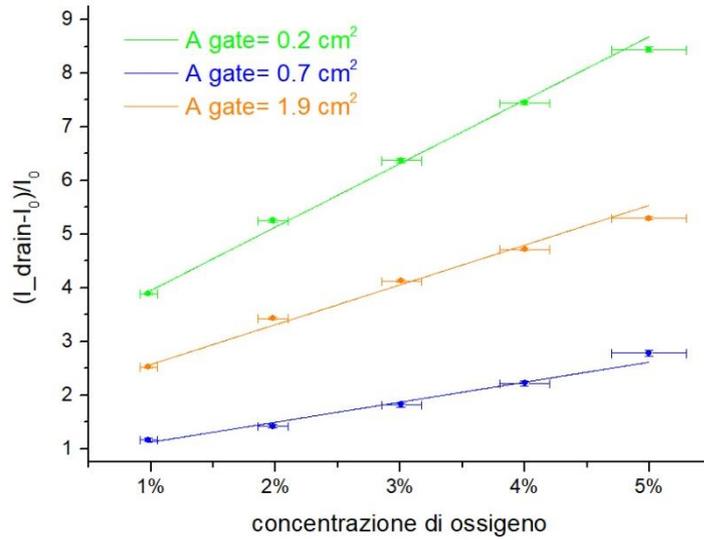


Figura 4.4: fit lineari dell'incremento relativo di corrente in funzione della concentrazione di ossigeno per la prima serie di misure effettuate.

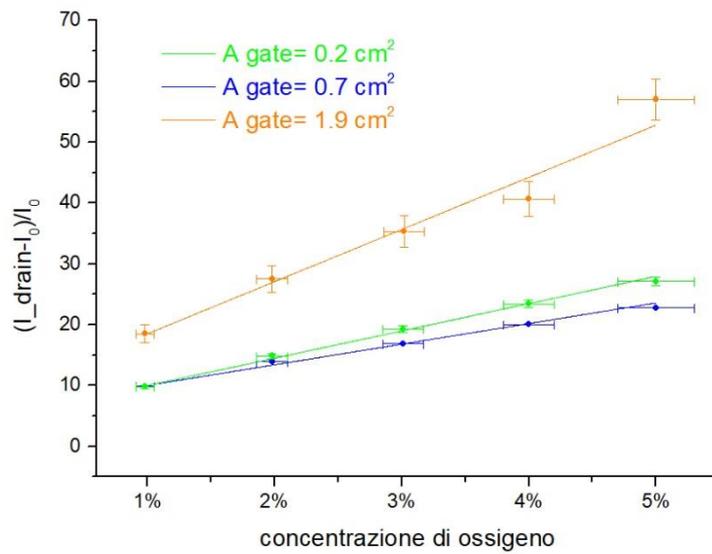


Figura 4.5: fit lineari dell'incremento relativo di corrente in funzione della concentrazione di ossigeno per la seconda serie di misure effettuate.

Area gate	Area canale (cm ²)	I ₀ (μA)	Pendenza	Intercetta	A _{gate} /A _{canale}
0.2 cm ²	0.416±0.017	-16.67±0.02	1.18±0.06	2.77±0.12	0.48
0.7 cm ²	0.416±0.017	-38.4±0.2	0.37±0.02	0.75±0.06	1.68
1.9 cm ²	0.416±0.017	-18.83±0.02	0.74±0.04	1.83±0.08	4.57

Tabella 4.1: caratteristiche dei sensori e parametri del fit in figura 4.4

Area gate	Area canale (cm ²)	I ₀ (μA)	Pendenza	Intercetta	A _{gate} /A _{canale}
0.2 cm ²	0.256±0.010	-1.932±0.015	4.5±0.3	5.5±0.6	0.78
0.7 cm ²	0.256±0.010	-2.507±0.014	3.38±0.16	6.6±0.3	2.72
1.9 cm ²	0.314±0.012	-2.01±0.05	8.57±0.54	10±2	6.05

Tabella 4.2: caratteristiche dei sensori e parametri del fit in figura 4.5

I fit eseguiti evidenziano una correlazione lineare tra l'incremento relativo di corrente e la concentrazione di ossigeno in soluzione, anche se vi sono notevoli differenze tra i risultati ottenuti nei due cicli di misurazioni. Innanzitutto, le pendenze delle rette di fit relative alla prima serie di misure sono decisamente inferiori a quelle ottenute nella seconda. Una possibile spiegazione a questa osservazione risiede nel fatto che l'intensità delle I_d tipiche del campione utilizzato per effettuare la prima serie di misure fossero superiori a quelle dei campioni impiegati nella seconda serie di circa un ordine di grandezza, come si può vedere per i valori di I₀ riportati in *tabella 4.1* e *4.2*. Questo significa che nel secondo caso a piccoli aumenti in valore assoluto dell'intensità di corrente corrispondono grandi variazioni relative. Tuttavia, questo aspetto rimane ancora un punto da indagare, perché come riportato nel capitolo 3 in *tabella 3.1*, le resistenze dei dispositivi in aria sono paragonabili tra loro e a priori non giustificano questa variazione di corrente in condizione di atmosfera di azoto. Probabilmente la degradazione del canale nel tempo gioca un ruolo rilevante in atmosfera priva di ossigeno e diventa trascurabile in aria. Un'altra differenza è che nella prima serie di misurazioni il dispositivo più prestante è stato quello con l'area di gate più piccola (0.2 cm²), mentre nella seconda le performance migliori sono state fornite dal gate con area maggiore. L'analisi del rapporto tra l'area di gate e quella di canale non ha invece fornito risposte univoche, anche se possiamo notare che a parità di area di gate i dispositivi analizzati nella seconda serie di misure, caratterizzati da un rapporto A_g/A_{ch} maggiore, si sono rivelati più prestanti nella rilevazione della concentrazione di O₂ in soluzione e più sensibili ai diversi ambienti nelle curve di transfer. Le spiegazioni che possono giustificare questo fenomeno sono molteplici. Innanzitutto, per quanto riguarda la prima serie di misurazioni effettuate, l'utilizzo ripetuto dello stesso canale per più misure consecutive può essere forviante perché, come già evidenziato prima, questo può sovraossidarsi in modo irreversibile. Inoltre, si era precedentemente assunto che lo spessore di tutti i canali fosse uguale, ma questo potrebbe non essere vero. Non è però stato possibile misurare direttamente tale grandezza né prima né dopo gli esperimenti, perché nel primo caso sarebbe stato necessario tagliare fisicamente il canale (danneggiando il dispositivo), mentre nel secondo caso la degradazione dei campioni ha portato ad uno sbradolamento non uniforme del film polimerico sul vetrino impedendo la misurazione. Infine, un'ulteriore spiegazione può risiedere nel fatto che i canali nel primo esperimento erano stati fabbricati pochi giorni prima degli esperimenti, mentre per il secondo era passato più di un mese. Forse il PEDOT:PSS in questo arco di tempo si è degradato, cambiando le sue proprietà elettrochimiche. Questo trova conferma nella più bassa I₀ misurata per i canali utilizzati nella seconda serie di misure.

In entrambi gli esperimenti è evidente che il dispositivo che presenta le peggiori performance è quello con area di gate intermedia, pertanto per le misure successive in coltura cellulare si è scelto di analizzare solo le performance degli OECT con area di gate 0.2 cm² e 1.9cm².

4.2 Performance dei dispositivi nel mezzo di coltura cellulare

4.2.1 Caratterizzazione degli OECT

Le caratteristiche di trasferimento degli OECT sono state ottenute in modo assolutamente analogo a quanto descritto per i dispositivi in soluzione salina. In questo caso però sono state impiegate soltanto due aree di gate diverse (0.2 cm^2 e 1.9 cm^2), ovvero quelle che hanno fornito le risposte migliori nelle misurazioni precedenti, e le misure non sono state ripetute. Le curve di transfer ottenute in aria, azoto al 100% ed ossigeno al 5% sono riportate in *figura 4.6*.

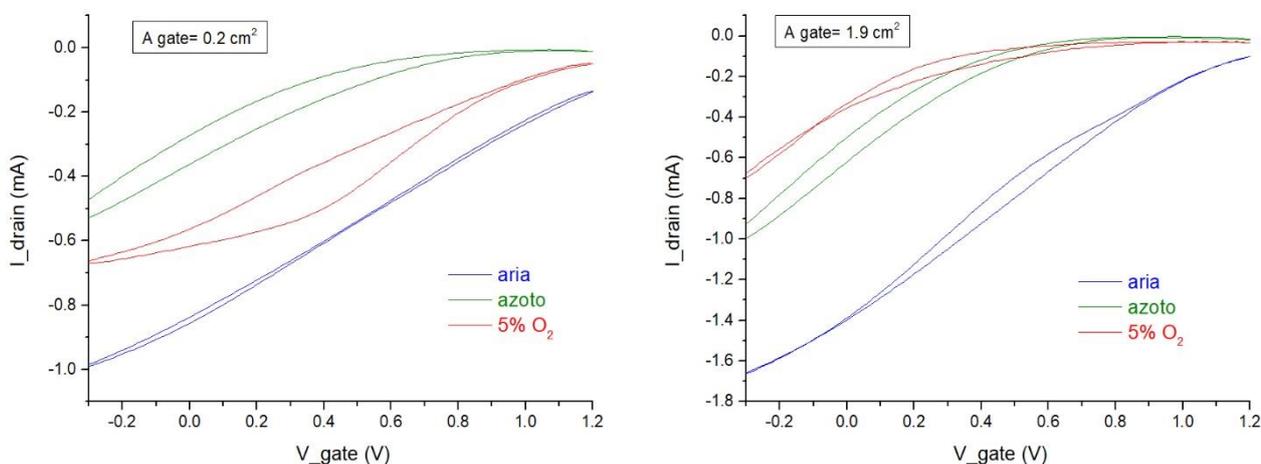


Figura 4.6: transcaratteristiche degli OECT nel medium di coltura cellulare al variare dell'area di gate utilizzata. Gli andamenti ottenuti in ambienti diversi sono contraddistinti da colori diversi.

I risultati ottenuti per le due aree di gate sono notevolmente diversi tra loro. Le transcaratteristiche del dispositivo con area di gate minore sono ben separate al variare dell'atmosfera in cui l'OECT agisce e le curve sono disposte nel grafico secondo l'ordine atteso al variare della concentrazione di ossigeno dell'ambiente in cui operano i dispositivi. Al contrario, le transfer ottenute con l'area di gate più grande hanno una disposizione reciproca anomala, perché per valori di V_g minori di circa 0.5 V le I_d misurate in ossigeno sono inferiori in modulo a quelle ottenute in azoto e per valori di V_g superiori le due curve sono praticamente sovrapposte. Questo significa che il dispositivo non è in grado di distinguere i due diversi ambienti (tra i quali la differenza di concentrazione di ossigeno è del 5%), anche se è in grado di separarli nettamente dall'aria (dove la concentrazione di ossigeno supera il 20%).

Le caratteristiche di output degli OECT nel mezzo di coltura cellulare sono riportate in *figura 4.7*. Possiamo chiaramente notare come all'aumentare della tensione di gate applicata le curve di output tendano ad essere sempre meno pronunciate, ed in particolare come la corrente nel dispositivo caratterizzato in azoto tenda a diminuire più rapidamente rispetto a quanto avviene in ossigeno. Anche in questo caso però, le differenze di comportamento dei dispositivi nei due diversi ambienti sono meno accentuate rispetto a quelle ottenute in soluzione salina.

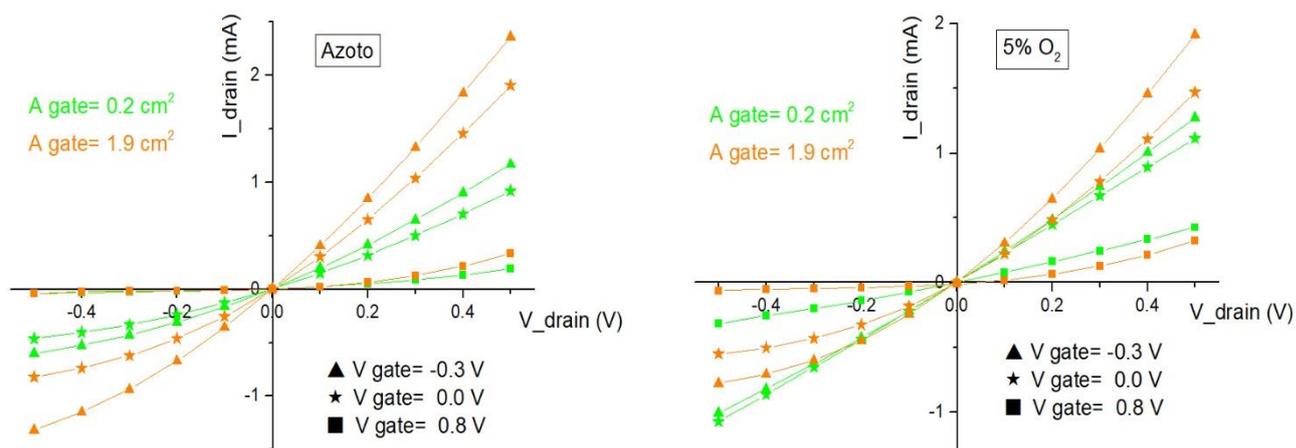


Figura 4.7: output degli OECD nel medium cellulare in due diversi ambienti al variare della tensione di gate applicata e dell'area di gate dei dispositivi. Ad ogni area di gate è stato assegnato uno specifico colore, mentre le curve ottenute con tensioni di gate diverse sono state contrassegnate da punti con simboli diversi.

4.2.2 Analisi delle curve $I_d(t)$

Le curve $I_d(t)$ ottenute nel mezzo di coltura cellulare sono presentate in figura 4.8. Anche in questo caso, si è ripetuta la stessa procedura sperimentale utilizzata per le misure in soluzione salina, esaminando le prestazioni dei dispositivi con le due aree di gate con le quali sono stati caratterizzati.

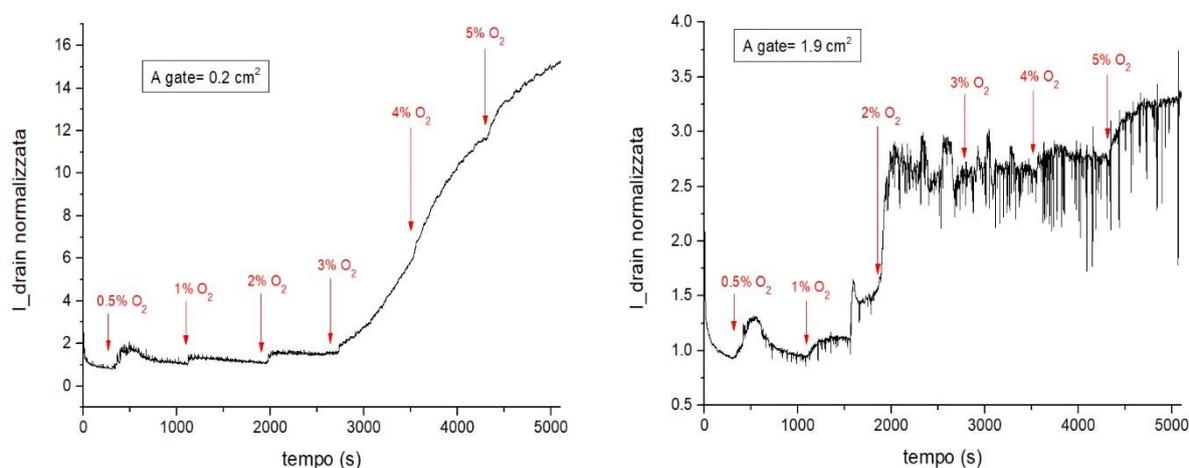


Figura 4.8: curve $I_d(t)$ nel mezzo di coltura cellulare al variare dell'area di gate utilizzata. Sono stati indicati sui grafici gli istanti in cui è cambiato il quantitativo di ossigeno flussato in soluzione.

Gli andamenti ottenuti sono profondamente diversi tra loro e da quelli risultanti dalle misure effettuate nella soluzione salina. Notiamo innanzitutto come entrambe le curve abbiano profili distanti da quello a gradini del sensore ideale. In particolare, il dispositivo con l'area di gate minore fornisce una risposta apprezzabile soltanto dopo l'aggiunta del 3% di ossigeno e da quell'istante in poi la sua corrente di drain aumenta quasi linearmente con il tempo. L'OECD con area di gate maggiore invece si attiva per concentrazioni di ossigeno comprese tra 1% e 2% , si stabilizza tra il 2.5% e il 5% di O_2 ed accentua leggermente la sua risposta negli ultimi istanti di acquisizione. È importante osservare che i valori raggiunti dalla corrente di drain normalizzata per il dispositivo con area di gate minore sono molto superiori rispetto a quelli ottenuti nel secondo caso (14 contro 3.5 circa). Per esempio, al

5% di ossigeno la risposta fornita dal primo dispositivo è circa 4 volte quella dell'OECT con area di gate pari a 1.9 cm^2

Dalla *figura 4.8* emerge chiaramente che per i campioni analizzati nel mezzo di coltura cellulare non vi è alcuna correlazione lineare tra concentrazione di ossigeno e corrente di drain normalizzata. A differenza di quanto fatto in sezione 4.1.3, non si è quindi ritenuto opportuno effettuare alcun fit lineare tra le due grandezze. Le misure effettuate si sono rivelate irregolari e rumorose anche a causa dell'abbondante formazione di bolle durante l'immissione dei gas in soluzione, come riportato in *figura 4.9*. Il tasso di formazione di bolle nel medium cellulare infatti è maggiore rispetto a quanto avviene in soluzione salina a causa della sua maggiore viscosità. Inoltre, nel medium cellulare sono presenti ioni di diversa natura e in diverse concentrazioni rispetto alla soluzione di KCl. Questo può alterare la risposta elettrochimica all'ossigeno inducendo fenomeni di ossidoriduzione che portano ad un errore nella misura.



Figura 4.9: abbondante formazione di bolle nell'ampolla durante l'immissione dei gas nel mezzo di coltura cellulare. Gli elettrodi metallici sono stati protetti utilizzando del teflon.

Conclusioni

Questa tesi ha lo scopo di studiare nuovi sensori di ossigeno in grado di valutare il livello di ipossia nei mezzi di coltura in cui crescono le cellule. Per fare questo, sono stati fabbricati transistor elettrochimici organici (OEET) basati su PEDOT:PSS ed è stata analizzata la loro possibile applicazione come sensori di ossigeno in soluzione.

Sono state effettuate misure per range di concentrazioni di ossigeno comprese tra 0% e 5%.

Inizialmente sono state studiate le prestazioni dei sensori in una soluzione 0.1 M di KCl. Per valutare ed ottimizzare la risposta in corrente dei dispositivi, le misure sono state eseguite al variare dell'area di gate impiegato e sono state ripetute due volte per ognuna delle aree di gate a disposizione. Tutte le misure effettuate hanno evidenziato una correlazione lineare tra incremento relativo di corrente ed aumento di concentrazione di ossigeno percentuale in soluzione. I risultati ottenuti nelle due serie di misurazioni non sono però perfettamente coerenti tra loro, e non emerge quale area di gate tra le disponibili sia la più sensibile nel range di concentrazioni nel quale si sono effettuate le misure. Inoltre, le risposte fornite dai dispositivi della seconda serie di misure effettuate sono più accentuate di quelle ottenute nella prima, le quali sono state eseguite utilizzando sempre lo stesso campione: si è quindi osservato come la sovraossidazione ripetuta abbia influito negativamente sulle prestazioni dell'OEET e come, con il passare del tempo, sia diminuita l'intensità di corrente di drain media misurata in azoto puro, sebbene le resistenze dei dispositivi in aria siano paragonabili tra loro e a priori non giustifichino questa variazione di corrente in condizione di atmosfera di azoto. Si è quindi ipotizzato che probabilmente la degradazione del canale nel tempo giochi un ruolo rilevante in atmosfera priva di ossigeno e diventi trascurabile in aria.

Per stabilire quale area di gate sia effettivamente più sensibile, si potrebbero quindi eseguire nuovamente gli esperimenti utilizzando un canale diverso per ogni misurazione (possibilmente scegliendo tra campioni con resistenza ed area di gate simili) e in un arco di tempo breve. In questo modo, è anche possibile procedere con la misura dello spessore del canale subito dopo l'esecuzione della misura, perché la degradazione del PEDOT:PSS dovrebbe essere minima e il campione non deve più essere riutilizzato. Inoltre, per confermare ulteriormente che la sovraossidazione inficia negativamente sulle prestazioni dei sensori, si potrebbero ripetere le misure un certo numero di volte con lo stesso campione e la stessa area di gate, confrontando le risposte fornite dal dispositivo con l'aumentare del numero di misurazioni con esso effettuate.

Le misure svolte nel mezzo di coltura cellulare sono state eseguite al variare delle due aree di gate che hanno fornito le prestazioni migliori nella soluzione 0.1 M di KCl, ovvero 0.2 cm² e 1.9 cm². In questo caso il dispositivo con area di gate più piccola si è rivelato molto più sensibile, ma in generale gli andamenti delle curve $I_d(t)$ ottenuti sono risultati molto distanti dal profilo a gradini di un sensore ideale. Possiamo ipotizzare due principali cause per spiegare le anomalie osservate. Innanzitutto, nel medium cellulare sono presenti ioni di diversa natura e in diverse concentrazioni rispetto alla soluzione di KCl. Questo può alterare la risposta elettrochimica all'ossigeno inducendo fenomeni di ossidoriduzione che portano ad un errore nella misura: per verificare questa ipotesi però, sono necessari ulteriori esperimenti mirati. In secondo luogo, l'immissione dei gas in soluzione ha portato inevitabilmente alla formazione di un abbondante quantitativo di bolle, che contengono ossigeno al loro interno e lo rilasciano in modo incontrollato quando scoppiano: le misure effettuate sono conseguentemente risultate estremamente rumorose. In realtà, il secondo fenomeno non è un problema per le applicazioni pratiche del sensore, perché per monitorare la concentrazione di ossigeno in una coltura cellulare in condizioni di ipossia i gas non vengono flussati direttamente all'interno del mezzo nel quale le cellule crescono, ma dipendono dalle condizioni atmosferiche impostate nell'incubatore.

Bibliografia

- [1] M. Berggren and A. Richter-Dahlfors. Organic bioelectronics. *Advanced Materials*, 19:3201-3213, 2007.
- [2] J. Rivnay, R.M. Owens, G.G. Malliaras. The Rise of Organic Bioelectronics. *Chemistry of Materials*, 26:680, 2014.
- [3] A. D. Jenkins, P. Kratochvil, R. F. T. Stepto, U. W. Suter. Glossary of basic terms in polymer science (IUPAC Recommendations 1996). *Pure and Applied Chemistry*, 68:2287- 2311, 1996.
- [4] A. J. Heeger. Nobel Lecture: Semiconducting and metallic polymers: The fourth generation of polymeric materials. *Reviews of Modern Physics*, Volume 73, July 2001.
- [5] P. Cooreman, R. Thoelen, J. Manca, M. VandeVen, V. Vermeeren, L. Michiels, M. Ameloot, P. Wagner, Impedimetric immunosensors based on the conjugated polymer PPV, *Biosensor and Bioelectronics*, 20:2151, 2005
- [6] Y. Xiao, X. Cui, J. M. Hancock, M. Bouguettaya, J. R. Reynolds, D. C. Martin, Electrochemical deposition and characterization of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) on neural microelectrode arrays, *Sensor and Actuators B*, 99:437, 2004
- [7] Kozai TD, Langhals NB, Patel PR, Deng X, Zhang H, Smith KL, Lahann J, Kotov NA, Kipke DR, Ultrasmall implantable composite microelectrodes with bioactive surfaces for chronic neural interfaces, *Nature Materials* volume11, pages 1065–1073, 2012
- [8] Daniel T. Simon, Erik O. Gabrielsson, Klas Tybrandt, and Magnus Berggren, *Organic Bioelectronics: Bridging the Signaling Gap between Biology and Technology*, *Chemical Reviews*, 116 (21) 13009-13041, 2016
- [9] Abidian, M. R.; Kim, D.-H.; Martin, D. C, Conducting-polymer nanotubes for controlled drug release. *Advanced Materials*, 18 (4), 405– 409, 2006
- [10] R.M. Owens, G.G. Malliaras. Organic electronics at the interface with biology. *MRS Bulletin*, 35:449-456, 2010.
- [11] Caizhi Liao, Meng Zhang, Liyong Niu, Zijian Zheng and Feng Yan, Highly selective and sensitive glucose sensors based on organic electrochemical transistors with graphene-modified gate electrodes, *Journal of Materials. Chemistry B*, 1, 3820-3829, 2013
- [12] Leslie H Jimison, Scherrine A. Tria , Dion Khodagholy , Moshe Gurfi nkel , Erica Lanzarini , Adel Hama , George G. Malliaras , and Róisín M. Owens, Measurement of Barrier Tissue Integrity with an Organic Electrochemical Transistor, *Advanced Materials*, vol 22, issue 44, 2007
- [13] Marc Ramuz, Kaleigh Margita, Adel Hama, Pierre Leleux, Jonathan Rivnay, Ingrid Bazin, and Róisín M. Owens, Optimization of a Planar All-Polymer Transistor for Characterization of Barrier Tissue, *ChemPhysChem*, n. 16, pagg. 1210-1216, 2015

- [14] J. Rivnay, S. Inal, A. Salleo, R.M: Owens, M. Berggren, G. Malliaras. Organic electrochemical transistors, *Nature Reviews Materials*, volume 3, Article number: 17086, 2018
- [15] D.A. Bernards, G.G. Malliaras. Steady-state and transient behavior of organic electrochemical transistors. *Advanced Functional Materials*, 17:3538-3544, 2007.
- [16] L. Groenedaal, F. Jonas, D. Freitag, H. Pielartzik, J.R. Reynolds, Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and its derivatives: past, present and future, *Advanced Materials*, 12(7):481-494, 2000.
- [17] Lapkowski M and Pron A, Electrochemical oxidation of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) - “in situ” conductivity and spectroscopic investigations, *Synthetic Metals*, 110 79, 2000
- [18] J. Ouyang, Q. Xu, C. Chu, Y. Yang, G. Li, J. Shinar. On the mechanism of conductivity enhancement in poly(3,4-ethylenedioxythiophene): poly(styrene sulfonate) film through solvent treatment. *Polymer*, 45:8443-8450, 2004.
- [19] A. Elschner, S. Kirchmeyer, W. Loevenich, U. Merker, K Reuter. PEDOT:principles and application of intrinsically conductive polymer. CRC Press, 2011.
- [20] F.C. Krebs. Fabrication and processing of polymer solar cells: A review of printing and coating techniques, *Solar Energy Materials and Solar Cells*, 93:394–412, 2009.
- [21] M. Nikolou, G.G. Malliaras. Applications of poly(3,4-ethylenedioxythiophene) doped with poly(styrene sulfonic acid) transistors in chemical and biological sensors, *The Chemical Record*, 8:13-22, 2008.
- [22] E. Mitraka, M. J. Jafari, M. Vagin, X. Liu, M. Fahlman, T. Ederth, M. Berggren, M. P. Jonsson and X. Crispin, Oxygen-induced doping on reduced PEDOT, *Journal of Material Chemistry A*, 5, 4404-4412, 2015
- [23] Sandeep Kumar Singh, Xavier Crispin, and Igor V. Zozoulenko. Oxygen Reduction Reaction in Conducting Polymer PEDOT: Density Functional Theory Study, *The Journal of Physical Chemistry*, 121 (22), pp 12270–12277, 2017
- [24] R. Humar, Fabrice N. Kiefer, Hartmut Berns, The´re`se j. Resink and Edouard J. Battégay. Hypoxia enhances vascular cell proliferation and angiogenesis in vitro via rapamycin (mTOR) - dependent signaling, *The FASEB Journal* Vol 16, No. 8, June 2002