

ALMA MATER STUDIORUM · UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

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

**Sviluppo e caratterizzazione di sensori
elettronici a base di polimeri conduttori per
ossigeno e dopamina in soluzione**

Relatore:
Prof. Beatrice Fraboni

Presentata da:
Chiara Baldoni

Correlatore:
Dott. Francesco Decataldo

Anno Accademico 2018/2019

Indice

Abstract	4
Introduzione	6
Capitolo 1 BIOELETTRONICA ORGANICA, PEDOT e OECT	8
1.1 Bioelettronica	8
1.1.1 Sviluppo bioelettronica e bioelettronica organica.....	8
1.1.2 Proprietà dei materiali organici	9
1.1.3 Differenze fra esperimenti <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>	10
1.1.4 Applicazioni bioelettronica organica	11
1.1.4.1 Elettrodi	11
1.1.4.2 Biosensori	12
1.1.4.3 Dispositivi per crescite cellulari	13
1.2 Polimeri conduttivi e PEDOT.....	14
1.2.1 Polimeri conduttivi	14
1.2.2 PEDOT e PEDOT:PSS	16
1.2.2.1 Struttura e proprietà	16
1.2.2.2 Metodi di deposizione	18
1.3 OECT	19
1.3.1 Struttura e funzionamento	20
1.3.2 Comportamento stazionario.....	22
1.3.3 Comportamento dinamico	24
1.3.4 OECT in PEDOT:PSS.....	25
1.3.4.1 Funzionamento.....	25
1.3.4.2 Applicazione come sensore di ossigeno in soluzione.....	25
1.3.4.3 Applicazione come sensore di dopamina in soluzione.....	26
Capitolo 2 MATERIALI E METODI DI FABBRICAZIONE DEGLI OECT	27
2.1 Fabbricazione OECT	27
2.1.1 Deposizione Cromo e Oro	27
2.1.2 Deposizione PEDOT:PSS.....	28
2.1.3 Caratteristiche fisiche e geometriche degli OECT	29
2.2 Apparato sperimentale.....	30
2.3 Misure di caratterizzazione	31
2.3.1 Transcaratteristiche	31
2.3.2 Output	32
2.3.3 $I_D(t)$	33

Capitolo 3 SENSORE DI DOPAMINA.....	35
3.1 Analisi curve $I_D(t)$	35
3.1.1 Ripetibilità del sensore	35
3.1.2 Confronto per diversi volumi di soluzione elettrolitica.....	36
3.2 Analisi delle resistenze dei sensori	38
Capitolo 4 SENSORE DI OSSIGENO.....	40
4.1 Analisi e caratterizzazione in soluzione di KCl 0.1M	40
4.1.1 Transcaratteristiche e output	40
4.1.2 Transconduttanze	44
4.1.3 $I_D(t)$	46
4.1.3.1 Isteresi del sensore	48
4.2 Analisi e caratterizzazione in mezzo biologico (DMEM)	49
4.2.1 Transcaratteristiche e output	49
4.2.2 Transconduttanze	51
4.3 Analisi delle resistenze dei sensori	53
Conclusioni	55
Bibliografia	57

Abstract

Questa tesi si inserisce nell'ambito della bioelettronica organica, disciplina che studia l'interazione fra dispositivi realizzati, parzialmente o interamente, con materiali organici e il mondo biologico, con lo scopo di indagare le loro applicazioni, specie volte alla risoluzione di problemi medici. In particolare, questa tesi si propone di studiare transistor elettrochimici organici (OECT), con canale e gate realizzati con il polimero PEDOT:PSS, poli(3,4-etilenediossiofene) drogato con polistirene sulfonato. I dispositivi sono impiegati come sensori di due diverse tipologie di analiti in soluzione: dopamina (agente riducente) e ossigeno (agente ossidante). Le analisi per il sensore di dopamina sono state realizzate per quattro concentrazioni di analita (10, 50, 100, 200 μM) disciolto in una soluzione salina di PBS in diversi volumi (10, 25, 100 ml); ciò ha consentito di osservare una buona attendibilità del sensore e di verificare che il suo comportamento dipende unicamente dalle concentrazioni di analita e non dai volumi della soluzione. Le analisi per il sensore di ossigeno sono state effettuate invece in soluzione di KCl 0.1 M e in liquido cellulare, DMEM, principalmente per concentrazioni di gas fino al 5%. E' emerso che il dispositivo è un ottimo sensore in grado di rilevare concentrazioni di ossigeno in soluzione fino a $(0.24 \pm 0.07)\%$, ha ottime capacità amplificatorie e una bassa isteresi, che rende ogni risposta valida e indipendente dalla 'storia' precedente del sensore.

Introduzione

Questa tesi si occupa dell'analisi di transistor elettrochimici organici basati sul poli(3,4-etilenediossiofene) drogato con polistirene sulfonato (PEDOT:PSS), impiegati come sensori di ossigeno e dopamina in soluzione. Lo studio di questi dispositivi si concentra, oltre che sull'analisi delle misure ottenute, anche sul processo di fabbricazione che ha portato a realizzarli a basso costo in laboratorio.

L'elaborato si suddivide in quattro capitoli.

Il primo è un capitolo introduttivo, suddiviso ulteriormente in tre sottocapitoli in cui si sviluppano gli argomenti teorici chiave di questa tesi e l'attuale stato dell'arte: bioelettronica organica, polimeri conduttivi e PEDOT, e OECT. In questa prima sezione, pertanto, si introduce la bioelettronica e in particolare ci si concentra sulla nascita e sviluppo della bioelettronica organica, a fine del XX secolo. Questa disciplina si occupa di realizzare dispositivi elettronici con materiali organici che siano così in grado di trasdurre efficacemente segnali ionici (biologici) in elettronici e viceversa. Tali dispositivi possono così essere applicati con successo come interfaccia verso sistemi biologici e dunque in applicazioni mediche-sanitarie. Ciò ha incentivato la ricerca di materiali con ottime capacità conduttive, di biocompatibilità e di trasduzione che ha portato alla recente scoperta dei polimeri coniugati, materiali molto interessanti per la loro ecletticità. In particolare, in questo elaborato ci si focalizza su un polimero coniugato, molto interessante per le sue uniche proprietà, il PEDOT:PSS. Di questo polimero viene descritta la struttura chimica che lo rende un buon conduttore, altamente stabile nel suo stato drogato, un buon trasduttore e facilmente utilizzabile in un vasto range di pH e a bassi voltaggi. Nell'ultimo sottocapitolo si descrive, infine, uno dei dispositivi più diffusi nell'ambito della bioelettronica organica, ovvero il transistor elettrochimico organico (OECT). Oltre a descrivere in dettaglio il suo funzionamento generale, ci si concentra anche sul funzionamento di OECT realizzati interamente in PEDOT:PSS e le loro applicazioni come sensori di ossigeno e dopamina in soluzione, di principale interesse per questa tesi.

Nel secondo capitolo si descrivono i metodi di fabbricazione degli OECT analizzati, che sono stati effettivamente costruiti in laboratorio, e i materiali utilizzati. Si riportano inoltre le tipologie di misure effettuate per caratterizzarli, ovvero: transfer, curve di output e di corrente. Segue anche una breve descrizione dell'apparato sperimentale impiegato.

Negli ultimi due capitoli si affronta infine l'elaborazione dei dati ottenuti dalle misure per i due sensori.

Nel terzo capitolo si discutono i risultati ricavati dall'analisi dell'andamento di corrente nel sensore di dopamina. Si confrontano le curve ottenute per varie concentrazioni e vari volumi con lo scopo di verificare l'idea che il funzionamento del dispositivo dipenda esclusivamente dalla quantità di analita disciolta in soluzione e non dal volume della soluzione elettrolitica. Si effettuano anche analisi ripetute sugli stessi volumi, per indagare l'eventuale ripetibilità del sensore.

Nel quarto ed ultimo capitolo si analizzano invece le molteplici misure ottenute per i sensori di ossigeno, disciolto in varie concentrazioni in soluzione. Anche in questo caso si verifica che gli andamenti della corrente siano quelli previsti dalle considerazioni teoriche e si analizzano principalmente le curve di output e le transfer, dalle quali si ottiene un parametro significativo riguardo le capacità amplificatorie del sensore, la transconduttanza. Queste ultime analisi sono state effettuate sia in ambiente salino sia in mezzo cellulare, per avvicinare l'esperimento a condizioni più realistiche in cui il sensore troverà maggiori applicazioni. Infine per entrambi i sensori è stata condotta un'analisi sull'andamento delle resistenze dei canali nel tempo in modo da avere un indice della degradazione polimerica del PEDOT:PSS in due diverse tipologie di sensori.

Capitolo 1 BIOELETRONICA ORGANICA, PEDOT e OECT

1.1 Bioelettronica

La bioelettronica, secondo la definizione data dal dizionario delle scienze di Treccani, è ‘L’applicazione di tecniche e dispositivi elettronici a problemi biologici, soprattutto medici’. La connessione fra sistemi elettronici e biologici è resa complicata dal fatto che i segnali che controllano dal ciclo vitale della singola cellula alle funzioni più complesse dei sistemi multicellulari (come tessuti e organi) [1] sono principalmente di natura ionica, mentre i dispositivi elettronici di lettura si basano sulla conduzione di elettroni. Pertanto, lo scopo principale della bioelettronica è quello di studiare il modo più efficiente di trasdurre questi segnali ionico-biologici in segnali elettronici e viceversa, in modo da mettere in contatto queste due realtà. Oggigiorno, grazie al rapido e proficuo sviluppo di questa disciplina, si dispone di una grande varietà di dispositivi bioelettronici, quali biosensori di rilevamento di glucosio per diabetici, pacemakers e defibrillatori o impianti cocleari, per il recupero di funzioni fisiologiche perse o danneggiate, che permettono di migliorare l’assistenza sanitaria e accelerare la velocità del progresso scientifico [2].

1.1.1 Sviluppo bioelettronica e bioelettronica organica

La bioelettronica si sviluppa a partire dagli anni ottanta del XVIII secolo, grazie ai pionieristici esperimenti del fisico Luigi Galvani volti ad indagare la possibile interazione fra segnali elettrici e sistemi biologici. Il più famoso e rappresentativo fra questi, fu il test in cui Galvani riuscì ad indurre la contrazione muscolare di una zampa di una rana applicando una piccola differenza di potenziale. In questo modo segnò la scoperta della capacità degli esseri viventi di produrre elettricità, da lui definita come ‘elettricità animale’ e oggi nota con il termine più scientifico di bioelettricità [1]. Con il passare del tempo la bioelettronica ha continuamente cercato di perfezionare i dispositivi trasduttori in modo da diminuirne l’impedenza e migliorare la connessione fra le correnti ioniche negli elettroliti e quelle elettroniche negli elettrodi. Per fare ciò è stato importante porre l’attenzione sulla forma dell’interfaccia fra circuito e sistema cellulare, in modo da preservare le funzioni biologiche originali delle cellule stesse e ricercare dei materiali biocompatibili e biostabili con cui realizzare tali dispositivi [1]. Proprio la ricerca dei materiali più adatti alla realizzazione dell’interfaccia fra ambiente abiotico e biotico ha costituito il fattore più complesso e limitante per lo sviluppo della bioelettronica. Un esempio si può trovare nel funzionamento dei sensori di glucosio, i quali si basano su un enzima (glucosio ossidasi) che, interagendo con il glucosio stesso, acquisisce gli elettroni che devono poi essere portati sull’elettrodo. Quest’ultimo processo risulta essere molto delicato e problematico perché si traduce nella scelta e uso di materiali che migliorino il trasporto elettronico massimizzando il passaggio di informazioni. Nel sensore di glucosio, viene utilizzato un cavo molecolare in grado di trasportare efficacemente gli elettroni dall’enzima all’elettrodo [2]. Recentemente, una soluzione ottimale e all’avanguardia nella scelta delle interfacce tra mondo biologico ed elettronica inorganica è stata trovata nei materiali organici, in particolare nei polimeri conduttivi di cui si parlerà nel paragrafo 1.2, che vengono impiegati nei ricoprimenti per i dispositivi elettronici o come materia prima per costruirli. Le ottime proprietà conduttive e di biocompatibilità che caratterizzano questi materiali organici hanno portato, a partire dagli anni novanta del XX secolo, ad un veloce e florido sviluppo di questa nuova branca della bioelettronica, la bioelettronica organica, che ha permesso la creazione di efficienti dispositivi quali OLED (organic light emitting diodes), OTFT (organic thin film transistors) e OPV (organic photovoltaics) [3] (Fig. 1.1).

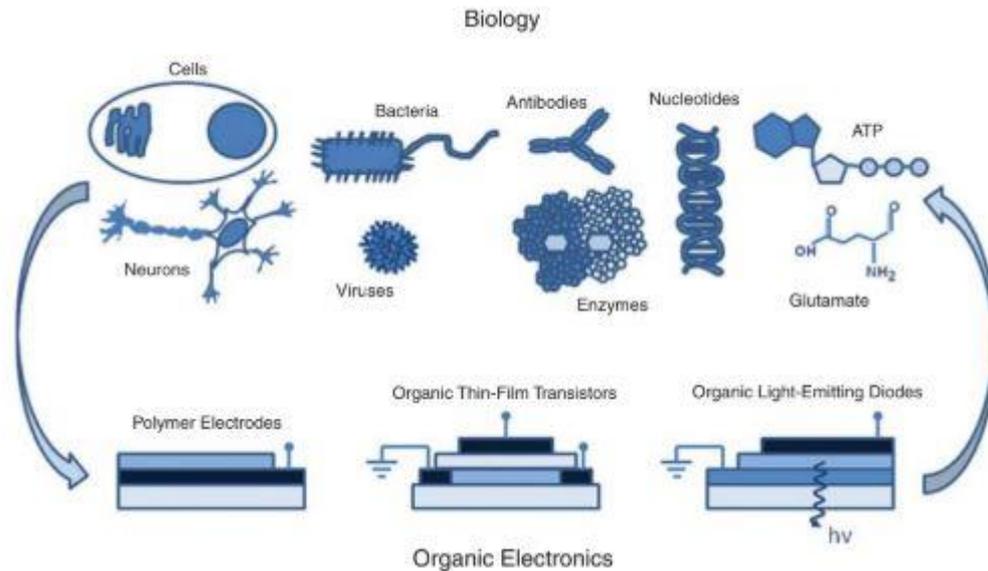


Fig.1.1 Schema raffigurante lo scopo della bioelettronica organica. Costituenti biologici, quali cellule, micro-organismi, proteine, oligonucleotidi, piccole molecole, possono essere messe in contatto con dispositivi elettronici organici per realizzare biosensori, strumenti per ricerche mediche e impianti bioelettronici che abbiano applicazioni pratiche nell'assistenza sanitaria [3].

1.1.2 Proprietà dei materiali organici

I grandi vantaggi offerti dai materiali organici rispetto a quelli inorganici risiedono principalmente nella loro natura 'soffice' dovuta alla disposizione e tipologia dei legami chimici che li costituiscono e che li contraddistinguono dai materiali inorganici, definiti al contrario 'duri', come ad esempio il silicio, materiale estremamente diffuso nell'elettronica. Infatti, mentre il silicio presenta una struttura cristallina rigida, in cui ogni atomo condivide i suoi elettroni di valenza con gli atomi vicini instaurando dei solidi legami covalenti, i materiali organici sono costituiti da atomi tenuti insieme da deboli forze di Van der Waals o interazioni elettrostatiche nel caso in cui siano drogati[2]. Questa configurazione conferisce ai materiali organici svariate proprietà uniche e promettenti, riportate nel seguente elenco:

- Interazione ambiente biologico e assenza di strato di ossido sull'interfaccia

I materiali organici interagiscono completamente con l'ambiente biologico in cui sono immersi e non soltanto con lo strato superficiale, come accade nel caso dei materiali inorganici. Infatti, mentre nei materiali organici le deboli forze di Van der Waals consentono agli ioni/elettroni di penetrare facilmente all'interno del materiale, coinvolgendo l'intero volume nell'interazione con l'ambiente biologico, in quelli inorganici la rigida struttura cristallina permette solo allo strato più superficiale di interagire con l'esterno. Inoltre, nei materiali organici, a causa dell'assenza di legami covalenti spezzati nelle catene molecolari, non si forma alcuno strato di ossido sulla superficie dell'interfaccia; al contrario, questo accade nei materiali inorganici e costituisce una barriera fisica che ostacola il passaggio di cariche [2] (Fig. 1.2).

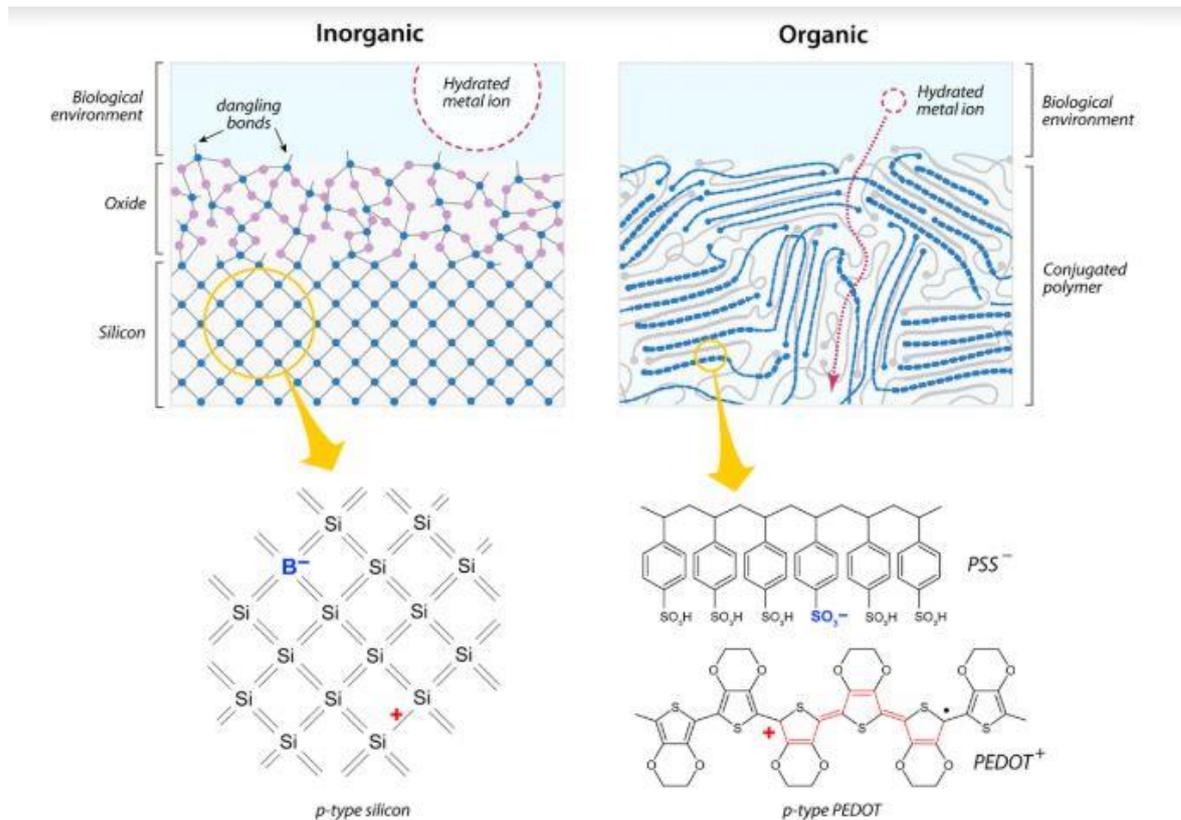


Fig.1.2 Schema di come lo stesso ione di un dato elettrolita interagisce con un semiconduttore inorganico, silicio, e uno organico, PEDOT. In particolare, si nota come lo ione riesca ad interfacciarsi con l'intero volume del materiale organico mentre interagisca solo con lo strato superficiale di quello inorganico a causa dello strato di ossido che si forma all'interfaccia tra il materiale e l'ambiente biologico acquoso [2].

- **Trasportabilità di ioni**
Le deboli interazioni di Van der Waals che tengono assieme le molecole organiche permettono, oltre ad una migliore mobilità elettronica, un'efficace conduzione di ioni, di fondamentale importanza per la trasduzione di segnali ionici in elettronici e viceversa, che avviene pertanto all'interno del materiale organico stesso [3].
- **Facilità di lavorazione e deposizione**
La natura 'soffice' dei materiali organici consente loro di essere lavorati a basse temperature. Infatti, la loro debole struttura interna può essere modificata facilmente con basse quantità di calore o particolari solventi. Ciò permette anche la deposizione di strati di materiale organico su una grande varietà di substrati differenti, ai quali si adattano facilmente [2].
- **Proprietà ottiche**
La maggior parte dei materiali elettronici organici nella configurazione di strato sottile risulta essere trasparente e ciò permette la trasmissione ottica di immagini e l'uso di varie tecniche di microscopia [2].

1.1.3 Differenze fra esperimenti *in vitro* e *in vivo*

Le proprietà della bioelettronica e dei suoi dispositivi sono state scoperte, oltre che con studi teorici, anche attraverso diversi esperimenti che hanno permesso di testarne i limiti e i vantaggi. Gli esperimenti volti a studiare le prestazioni di un qualsiasi impianto bioelettronico, realizzato con materiali organici o inorganici, possono essere condotti principalmente in due modi: *in vivo* o *in vitro*. La maggior parte degli esperimenti vengono realizzati *in vitro*, in ambienti riprodotti artificialmente, poiché permettono di risparmiare sui costi,

avere un numero alto di campioni (di conseguenza una buona significatività statistica) e di evitare problemi etici. Nonostante ciò, l'applicazione *in vivo* risulta necessaria, in particolare per dispositivi impiegati in ambito medico-sanitario, per poterne verificare l'effettivo funzionamento. Infatti, alcune proprietà dei materiali possono dare risposte differenti a seconda della tipologia di esperimento con cui vengono studiate. Un esempio lo si può trovare nell'analisi della biocompatibilità di un dispositivo bioelettronico, che include una serie di test su tossicità, infiammazioni, degradabilità ect, definiti dall'ISO (International Organization of Standardization), e che nel caso di dispositivi al silicio ha prodotto risultati discordanti: infatti, nonostante gli esperimenti *in vitro* risultassero piuttosto favorevoli ed efficienti, quelli realizzati *in vivo* dimostrarono che, con il trascorrere del tempo, l'impedenza sull'interfaccia elettrodo-tessuto aumentava, portando infine il dispositivo ad un completo isolamento dal tessuto in esame [4]. Un'ulteriore caratteristica che differenzia le due tipologie di esperimento è relativa alla lunghezza dei tempi di effettuazione dei test. Mentre gli esperimenti *in vitro* vengono condotti al massimo per una decina di giorni, quelli *in vivo*, richiedendo processi più difficoltosi e costosi, vengono effettuati per periodi più lunghi, in un range che va da qualche settimana a qualche anno. Questo fatto risulta molto importante perché rende gli esperimenti *in vivo* un ottimo modo per creare delle condizioni molto più vicine a quelle reali della futura applicazione del dispositivo, avendo però come controparte il fatto di essere di esperimenti più complessi e delicati da affrontare. Un'ultima considerazione da fare riguarda il fatto che per alcuni processi, come quello di crescita cellulare, è molto importante la struttura in cui vengono studiati. Alcuni esperimenti *in vitro* infatti analizzano la crescita cellulare su strati bidimensionali di materiale organico, ad esempio inducendo crescite di strati cellulari su film sottili di materiali polimerici per poi studiarne gli sviluppi con tecniche ottiche e misure elettriche [5] [6][7]. Molto interessanti e di recente sviluppo sono le crescite in strutture/template tridimensionali per imitare tessuti biologici reali, utilizzando ad esempio "impalcature" polimeriche[8] o di idrogel [9]. Ciononostante, anche questi esperimenti devono sempre essere considerati dei precursori ai test *in vivo* che più si avvicinano alle condizioni reali di eventuali applicazioni in ambito bioelettronico (apparecchi diagnostici o terapeutici o biosensori)[4]. Per quanto detto tutti i materiali vengono dunque inizialmente studiati prevalentemente tramite esperimenti *in vitro*, ma è utile citare anche qualche famoso esperimento che ha permesso di testarli direttamente *in vivo*. In particolare si riportano alcuni esempi di dispositivi basati sul polimero coniugato PEDOT:PSS, di cui si parlerà in seguito, come: un transistor impiantato sulla corteccia somato-sensoriale di un ratto per studiarne l'attività epilettiforme, che ha mostrato ottima biocompatibilità e alta trasduzione di segnali [10]; un dispositivo impiantato sotto la retina di un ratto cieco con lo scopo di sopperire al problema ottico e ridonare proprietà visive all'animale, ottenendo ottimi risultati [11]; una pompa ionica, inserita nella coclea di un porcellino d'India, che è stata in grado di indurre, per circa un'ora, il trasporto localizzato del neurotrasmettitore glutammato[12].

1.1.4 Applicazioni bioelettronica organica

La bioelettronica organica, sfruttando le molteplici vantaggiose proprietà dei materiali organici, ha recentemente sviluppato numerose applicazioni, principalmente in ambito medico-sanitario, delle quali in seguito si riportano alcune tra le più utili ed innovative.

1.1.4.1 Elettrodi

Uno dei dispositivi elettronici più semplici consiste in un elettrodo in diretto contatto o in prossimità di un mezzo che viene misurato o stimolato. Per la realizzazione dell'elettrodo è vantaggioso utilizzare polimeri coniugati in sostituzione o come ricoprimento di materiali metallici, in quanto garantiscono migliore selettività e sensibilità. Inoltre, impiegando tali polimeri, si possono evitare reazioni parassite dell'interfaccia e immobilizzare lungo la superficie o all'interno del volume del polimero una grande varietà di indicatori molecolari. Un primo elettrodo realizzato con polimeri coniugati risale al 1986 quando il PPy (polipirrolo)

venne utilizzato come rivestimento esterno di un elettrodo in platino per protesi neurali (Fig.1.3a)[13]. Questa configurazione, rispetto a quella con elettrodi di platino scoperti, migliora la capacità di lettura e la rapidità di risposta dei segnali ricevuti. Successivamente, per ottimizzare ulteriormente le caratteristiche dell'elettrodo, D.C.Martin e i suoi collaboratori utilizzarono spessi rivestimenti di PPy per aumentare l'area dell'elettrodo e pertanto la sua capacità, migliorando così la trasmissione del segnale [14]. Un ulteriore recente studio di questi scienziati ha anche permesso di individuare nella co-deposizione di nona-peptidi (CDPGYIGSR) e PPy su elettrodi d'oro un modo per aumentare la biocompatibilità dell'elettrodo, evitando in parte reazioni infiammatorie indesiderate fra tessuto ed elettrodo stesso (Fig.1.3c) [15]. In ultimo, è risultato molto utile sviluppare elettrodi aventi un'impalcatura tridimensionale flessibile in modo da essere strutture porose che ben si adattano alle superfici non planari di tessuti e organi. Un elettrodo con queste caratteristiche è stato realizzato da P. Åsberg e O. Inganäs [16], presso l'università svedese di Linköping, mediante l'utilizzo di elettrodi di idrogel di PEDOT:PSS con poli(4-vinilpiridina) coordinato e reticolato dall'osmio [1] (Fig.1.3d).

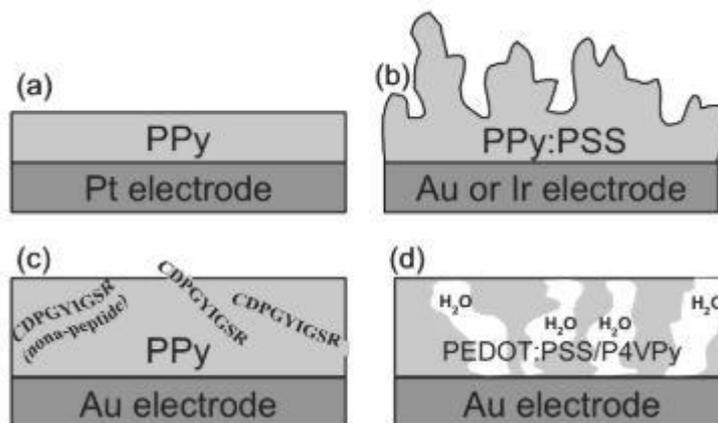


Fig.1.3 Esempi di elettrodi per la stimolazione di tessuti e altri sistemi cellulari. a) Filo di Pt ricoperto di PPy, b) elettrodo metallico ricoperto con strato di PPy:PSS via elettropolimerizzazione, c) miglioramento della biocompatibilità dell'elettrodo grazie all'aggiunta di molecole di nona-peptide CDPGYIGSR in una matrice di PPy, d) elettrodo di idrogel di PEDOT:PSS mescolato con poli(4-vinilpiridina)[1].

1.1.4.2 Biosensori

I biosensori sono dispositivi molto diffusi, costituiti da un biomateriale, come un enzima, oligonucleotide, antigene ect, in grado di riconoscere segnali biologici, accoppiato ad un dispositivo elettronico che si occupa di tradurre questo segnale in uno di tipo misurabile. L'accoppiamento fra questi due costituenti deve essere fatto in modo da massimizzare il passaggio di informazioni e ottimizzare la traduzione del segnale. Un esempio di biosensore alquanto diffuso è il moderno rilevatore di glucosio. Questo dispositivo sfrutta l'azione dell'enzima glucosio ossidasi (GOx), il quale catalizza una reazione di ossidoriduzione del glucosio liberando degli elettroni che vengono poi accumulati su un elettrodo metallico, producendo una corrente dipendente dalla concentrazione di glucosio stesso (Fig. 1.4). Negli anni ottanta del secolo scorso si è inoltre scoperto che il ferrocene agisce da ottimo mediatore per gli elettroni trasferiti dal GOx all'elettrodo, migliorando notevolmente le prestazioni del sensore [3]. Fanno parte della famiglia dei biosensori anche i già citati OFET e OECT basati sull'utilizzo di semiconduttori organici, dei quali si parlerà più largamente nel paragrafo 1.3.

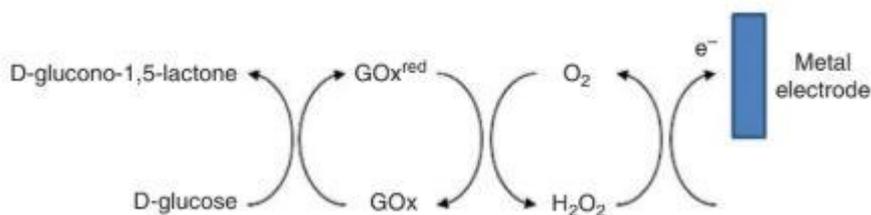


Fig.1.4 Reazione coinvolta nel riconoscimento del livello di glucosio. Il glucosio viene ossidato dall'enzima glucosio ossidasi (GOx) che, a sua volta si riduce e ritorna allo stato neutro producendo perossido di idrogeno (H₂O₂). Quest'ultimo può ossidarsi depositando sulla superficie metallica di un elettrodo un elettrone. La corrente che scorre sull'elettrodo riflette pertanto la concentrazione di glucosio stessa[3].

1.1.4.3 Dispositivi per crescita cellulare

Un ulteriore settore in cui la bioelettronica organica ha riscontrato notevoli successi è quello che si occupa della realizzazione di dispositivi per il controllo di processi biologici, come le crescite cellulari, le quali coinvolgono la proliferazione e differenziazione delle cellule su substrati di coltura. In particolare, un modo per controllare questi processi è quello di sfruttare strutture basate su polimeri conduttivi. Una prima realizzazione di dispositivi di questo tipo avvenne nel 1994 con Langer e i suoi collaboratori [17], i quali scoprirono che le cellule endoteliali aortiche crescono diversamente su strati di PPy ridotto o ossidato. Inoltre, trovarono che cellule nervose seminate su strati di PPy stimolati elettricamente avevano neuriti in grado di estendersi il doppio di quanto facciano in assenza di stimolazione elettrica. Questo fatto porta a ipotizzare promettenti futuri sviluppi riguardo la possibilità di controllare le crescite cellulari con lo scopo di riparare nervi danneggiati o sfruttare la stimolazione elettrica anche per altri tipi di cellule, oltre a quelle nervose. I polimeri più utilizzati per questa tipologia di applicazioni sono stati il PPy e la polianilina, ma recentemente ha avuto notevoli riscontri positivi anche l'utilizzo di PEDOT dopato, grazie alla sua alta stabilità ossidativa e buona conduttività. Un esempio è il dispositivo realizzato da Wan e colleghi [18], costituito da una striscia di ossido di indio e stagno rivestita da un sottile strato di PEDOT:TOS immerso in un mezzo di coltura cellulare. Applicando un potenziale ai capi della striscia di materiale polimerico si genera un gradiente redox lineare su quest'ultimo, con una regione ossidata ed una ridotta alle estremità. Ciò comporta un conseguente gradiente di densità di crescita cellulare per cui nello strato polimerico si possono individuare zone in cui le cellule sono poche e ben separate le une dalle altre e zone in cui le cellule sono molto dense e tendono a formare un unico strato (Fig. 1.5). La possibilità di creare dei gradienti di densità cellulare controllabili semplicemente applicando un potenziale è un fatto molto importante in quanto tali gradienti controllano le funzioni dei tessuti normali e patologici mediante la regolazione della qualità e quantità delle interazioni cellulari [3]. Recenti esperimenti hanno inoltre approfondito gli studi in questo settore studiando l'importante correlazione fra lo stato ossidativo del polimero coniugato e il cambiamento nella densità e conformazione delle proteine di adesione. Infatti analizzando la crescita cellulare su quattro tipi differenti di substrati in PEDOT:PSS e utilizzando due tipologie di cellule: fibroblasti cutanei primari umani e glioblastomi multiformi, si è verificato che le interazioni cellule-substrato dipendono fortemente dalle proprietà del substrato stesso. Fra queste le più significative sono la bagnabilità, la porosità della superficie e la conduttività elettrica [6]. Un preciso controllo di queste condizioni comporta la capacità di controllo della crescita cellulare e la possibilità di riprodurre fedelmente i risultati ottenuti.

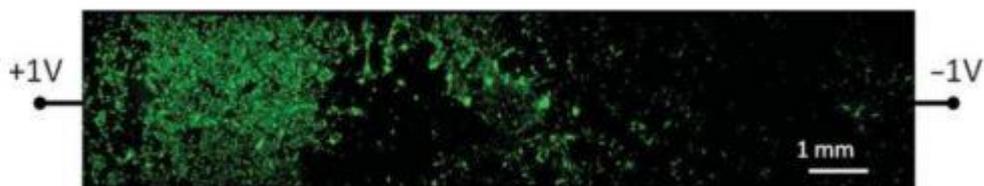


Fig.1.5 Microfotografia fluorescente di fibroblasti di ratto cresciuti su un dispositivo di polimero conduttivo nella quale si nota un gradiente di densità cellulare. La densità cresce gradualmente da sinistra verso destra. Il dispositivo in questione consiste in una striscia trasparente di conduttore ricoperta con un sottile strato del polimero conduttivo PEDOT:TOS ai cui capi viene applicata una differenza di potenziale responsabile della creazione di un gradiente redox lineare [3].

1.2 Polimeri conduttivi e PEDOT

Come già anticipato nel sotto paragrafo 1.1.1, fra i materiali organici di maggiore interesse per le applicazioni della bioelettronica organica ci sono i polimeri conduttivi, ovvero polimeri che, grazie alla loro configurazione elettronica e chimica, sono in grado di condurre corrente elettrica, caratteristica indispensabile per il funzionamento di un dispositivo bioelettronico. Un materiale che recentemente ha suscitato molto interesse e curiosità nell'ambiente scientifico è il PEDOT, polimero conduttivo dalle molteplici proprietà che lo rendono adatto a svariati contesti e applicazioni.

1.2.1 Polimeri conduttivi

Il termine polimero secondo la definizione IUPAC indica "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". Le singole unità ripetitive di un polimero vengono chiamate monomeri, sono collegate fra loro attraverso una serie di legami covalenti e vanno a costituire la "spina dorsale" del polimero [19]. Qualora tali monomeri siano costituiti da atomi di carbonio, il polimero è chiamato polimero organico. Le proprietà di questi polimeri dipendono principalmente dal tipo di ibridazione degli atomi di carbonio di cui sono formati. I polimeri saturi sono costituiti da atomi di carbonio ibridizzati sp^3 e pertanto ciascuno dei loro elettroni di valenza è impiegato in un legame covalente di tipo σ . In questo caso la differenza energetica fra l'orbitale molecolare occupato ad energia più alta (HOMO) e quello non occupato ad energia più bassa (LUMO), che possono essere interpretati rispettivamente come la banda di valenza e di conduzione di un semiconduttore inorganico, è piuttosto ampia; questo rende i polimeri saturi dei materiali isolanti, con basse conducibilità elettriche a causa dell'elevato gap energetico presente fra le due bande. I polimeri coniugati invece presentano una differente configurazione elettronica, dovuta alla diversa ibridazione del carbonio, che li rende potenzialmente conduttivi. Nei polimeri coniugati gli atomi di carbonio risultano ibridizzati sp^2 e oltre a tre legami σ sono in grado di formare anche un legame di tipo π . La sovrapposizione degli orbitali in grado di formare legami π porta ad una delocalizzazione degli elettroni lungo la catena polimerica che risulta così capace di condurre cariche elettriche. Ciò è dovuto al fatto che la differenza di energia fra gli orbitali di legame π (HOMO) e quelli di antilegame π^* (LUMO) è relativamente piccola e può essere modificata facilmente cambiando la struttura molecolare del polimero e dunque la simmetria della catena polimerica. In questo modo, il polimero può assumere caratteristiche da semiconduttore, nel caso in cui presenti una struttura in cui i legami fra gli atomi di carbonio siano alternativamente lunghi e corti, con gli elettroni π non equispaziati fra loro; oppure, può assumere caratteristiche metalliche, nel caso in cui la lunghezza dei legami sia sempre la stessa e gli elettroni risultino perciò equidistanti [20]. I polimeri conduttivi furono scoperti nel 1976 grazie ai lavori di MacDiarmid, Shirakawa, Heeger e colleghi che drogando il poliacetilene con vapori di bromo e iodio riuscirono a

controllarne la conduttività riproducendo proprietà isolanti, semiconduttive e conduttive [20]. I polimeri conduttivi si suddividono a loro volta in due categorie: polimeri conduttivi estrinseci, ottenuti dalla miscela di polimeri isolanti con additivi elettricamente conduttivi, e polimeri conduttivi intrinseci, a cui si farà sempre riferimento da qui in avanti, ottenuti introducendo chimicamente cariche elettriche nel polimero coniugato. Quest'ultimo processo può essere realizzato attraverso diverse tecniche di drogaggio, riportate di seguito (Fig. 1.6), che permettono l'introduzione di cariche nel polimero, modificandone il livello di conduttività.

- Drogaggio chimico con trasferimento di carica

Uno dei modi per drogare il polimero coniugato è quello di trasferire la carica dal drogante al polimero attraverso una reazione di ossido-riduzione: l'ossidazione induce un drogaggio di tipo p (eccesso di lacune) mentre la riduzione uno di tipo n (eccesso di elettroni). Un alto livello di drogaggio porta il polimero ad assumere proprietà metalliche. Questo tipo di drogaggio risulta però difficile da controllare in quanto richiede materiali di alta qualità per alti drogaggi ed è invece piuttosto disomogeneo nei livelli di drogaggio intermedi [20].

- Drogaggio elettrochimico

Il drogaggio elettrochimico, a differenza di quello precedente, è più semplice da gestire e controllare: in questo caso, l'elettrodo fornisce la carica per la reazione redox del polimero mentre gli ioni dell'elettrolita in cui è immerso si diffondono dentro o fuori la struttura polimerica per compensare la carica elettronica e mantenere la neutralità del polimero. Il livello di drogaggio è completamente determinato dal voltaggio applicato fra contro-elettrodo e polimero conduttivo e può essere pertanto regolato con molta precisione [20].

- Drogaggio attraverso reazione acido-base

Questa tipologia di drogaggio è stata applicata con successo alla polianilina e consiste in una reazione di protonazione (acido-base) che comporta una reazione redox interna, la quale converte il semiconduttore in metallo. Il processo induce una variazione dello spin degli elettroni coinvolti lasciando uno spin disaccoppiato per ogni unità ripetuta senza però cambiare il numero degli elettroni. Il risultato è la formazione di una banda semipiena e, potenzialmente, di uno stato metallico in cui è presente una carica positiva per ogni unità che si ripete (dovuto alla protonazione) e un contro-ione associato [20].

- Fotodrogaggio

In questo processo il polimero coniugato viene localmente ossidato e ridotto dal processo di fotoassorbimento e conseguente separazione di cariche che porta alla creazione di coppie elettrone-lacuna e dunque di portatori liberi. Assorbendo il fotone, il polimero passa al suo stato eccitato, dal quale si diseccita, tornando allo stato fondamentale, attraverso processi radiativi (luminescenza) o non radiativi [20].

- Iniezione di carica sull'interfaccia fra metallo e polimero semiconduttivo

In questa tipologia di drogaggio elettroni o lacune vengono iniettati direttamente dai contatti metallici nella banda di legame π o antilegame π^* ; così il polimero viene ridotto o ossidato. A differenza dei drogaggi chimici o elettrochimici in questo caso non sono presenti contro-ioni [20].

E' importante notare come i primi due tipi di drogaggio riportati nel precedente elenco inducano una conduttività elettrica permanente fino a quando i portatori non vengono compensati chimicamente o rimossi attraverso un processo di 'undoping'. Il fotodrogaggio è invece temporaneo poiché, se non sollecitato continuamente, termina non appena avvengono fenomeni di ricombinazione che riportano il polimero allo stato fondamentale; infine, l'ultima tipologia di drogaggio viene mantenuta fintanto che si applica un voltaggio fra i due materiali a contatto, al fine di ostacolare processi di ricombinazione[20].

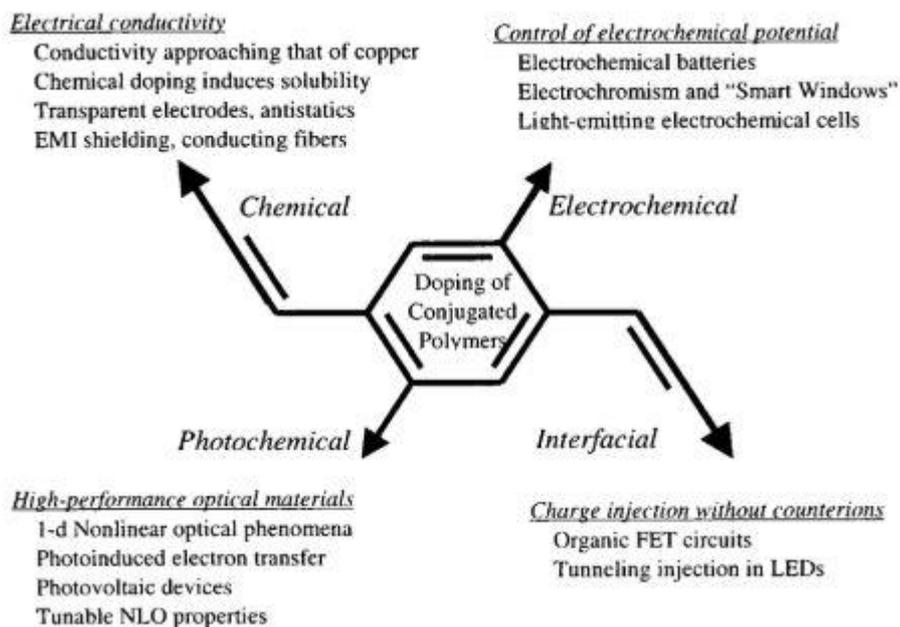


Fig. 1.6 Metodi di drogaggio e relative possibili applicazioni[20].

1.2.2 PEDOT e PEDOT:PSS

Fra i polimeri coniugati intrinseci più interessanti e utilizzati si colloca il PEDOT, poli(3,4-etilenediossitiufene), catena di monomeri di EDOT (3,4-etilenediossitiufene). Il PEDOT fu scoperto attorno al 1980 da un gruppo di scienziati del laboratorio di ricerca della BAYER AG, in Germania, per ovviare a delle caratteristiche problematiche del politiofene, un ulteriore polimero altamente conduttivo[21]. Il politiofene, infatti, nonostante presentasse un'alta conduttività nel suo stato drogato, era altamente instabile in questa configurazione, degradando facilmente anche con l'umidità presente nell'aria. La soluzione a questo problema fu trovata nell'aggiunta di gruppi alcoxilici, disposti in modo da avere come prodotti monomeri di EDOT. Ciò portò alla creazione di un materiale altamente conduttivo e altrettanto stabile nel suo stato drogato, il PEDOT [19]. Questo materiale è però insolubile in soluzione acquosa per natura e ciò complica notevolmente i processi di deposizione in strati sottili e uniformi; per superare questo inconveniente il PEDOT è stato combinato al polielettrolita poli(stirene sulfonato) (PSS), solubile in acqua, formando così il PEDOT:PSS.

1.2.2.1 Struttura e proprietà

Nella Fig. 1.7 è raffigurata l'evoluzione che ha portato alla realizzazione del PEDOT partendo da molecole di politiofene, evidenziandone la struttura e composizione chimica. Oltre alle proprietà accennate precedentemente, il PEDOT possiede molte altre caratteristiche di notevole interesse, riportate di seguito.

- Stato reversibile di drogaggio
Il PEDOT può essere drogato in maniera reversibile, ovvero senza che gli vengano apportate modifiche permanenti, risultando molto flessibile nella scelta della sua conduttività. Lo stato di drogaggio può inoltre essere individuato dal suo colore e dalla sua opacità. Il PEDOT appare blu scuro nello stato neutro mentre assume una colorazione più azzurrognola e trasparente nello stato ossidato, rendendolo anche adatto ad applicazioni ottiche [21].
- Elevata stabilità chimica e termica

Il PEDOT è anche dotato di un'ottima stabilità chimica e termica. La degradazione del polimero inizia ad avvenire solo a temperature superiori ai 150° ed anche le sue proprietà, come la conducibilità elettrica, rimangono quasi del tutto inalterate nel tempo.

- **Elevata conduttività**

Il gap energetico fra la banda di valenza e conduzione di uno strato di PEDOT neutro è piuttosto piccolo, all'incirca 1.6-1.7 eV, e può essere ridotto fino all'incirca ad 1 eV con opportuni drogaggi [21]. Ciò significa che, se drogato, il PEDOT può raggiungere ottime capacità conduttive che si traducono in un valore della conduttività elettrica pari a 550 S/cm.

- **Proprietà elettrochimiche**

Il PEDOT risulta molto stabile nel suo stato drogato, ha un basso potenziale redox e una struttura chimica molto regolare caratterizzata da catene ridotte che lo rende facile da trattare e modificare.

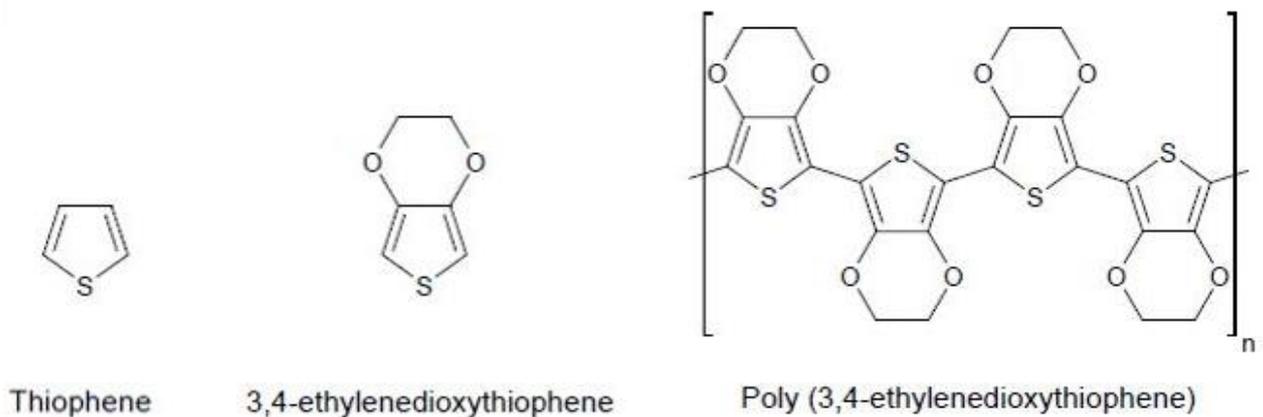


Fig. 1.7 Schema raffigurante la molecola di tiofene, la molecola di EDOT ed infine il polimero PEDOT.

Nella Fig. 1.8 è raffigurata invece la struttura chimica del PEDOT:PSS che, come anticipato, costituisce un polielettrolita complesso (PEC), composto da policationi (PEDOT) e polianioni (PSS) in soluzione acquosa, preparato in forma di dispersione stabile. Il PSS agisce come contro-ione per il PEDOT e ne bilancia le cariche positive garantendone la disposizione a catena cationica. Inoltre il PSS mantiene dispersi i segmenti di PEDOT, rendendolo così più stabile e più semplice da lavorare e depositare [22]. Il PEDOT:PSS è infine un composto facilmente reperibile in commercio e di basso costo.

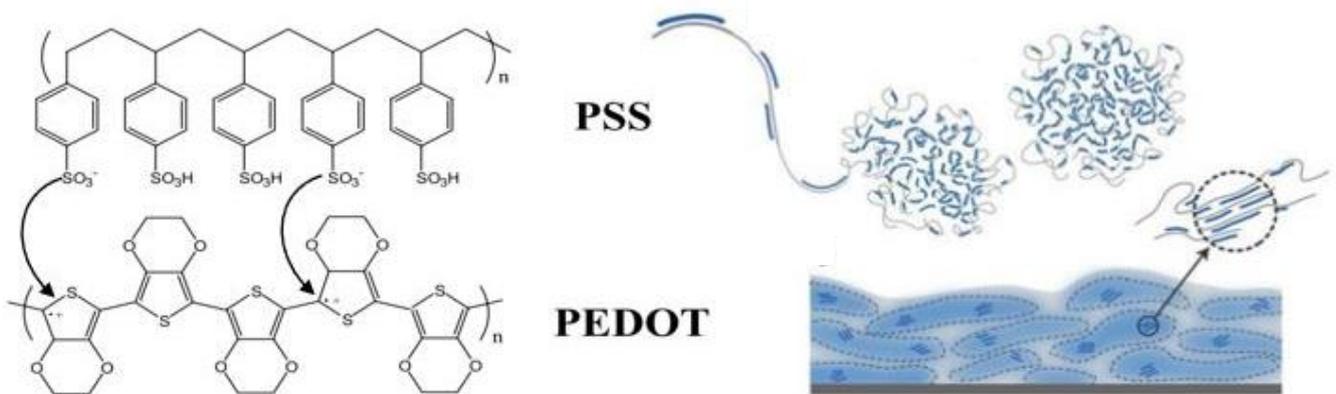


Fig. 1.8 Schema, a sinistra, della struttura chimica e, a destra, della microstruttura organizzativa interna del polielettrolita complesso PEDOT:PSS.

1.2.2.2 Metodi di deposizione

Per quanto riguarda la deposizione della soluzione di PEDOT:PSS esistono svariati metodi per effettuarla, i quali determinano diverse caratteristiche e proprietà dello strato polimerico finale. La scelta del processo da impiegare è influenzata da diversi fattori quali, viscosità della soluzione, omogeneità e forma dello strato da depositare, spreco di soluzione e velocità di deposizione. Fra i metodi di ricoprimento si ricordano: tecniche di *elettrodeposizione*, nelle quali lo strato da depositare non è preformato, ma lo si realizza con processi elettrochimici durante la deposizione stessa; tecniche di *printing* (*screen printing*, *pad printing* *ect*), con le quali viene depositato uno strato di materiale con forma già definita e adatte alla realizzazione di pattern complessi; infine, tecniche di *coating* (*spin coating*, *spray coating* *ect*), con le quali si ricopre l'intera area disponibile del substrato con la soluzione polimerica desiderata. Le tecniche più diffuse appartenenti a queste tre categorie sono descritte più in dettaglio nell'elenco seguente [23] :

- Spin coating

Questa tecnica di deposizione è molto diffusa ed è quella utilizzata anche nei ricoprimenti in PEDOT:PSS degli OECT fabbricati in questa tesi. Il processo di spin coating consiste nel depositare una goccia di soluzione su un dato substrato a sua volta posto su una piastra rotante. La velocità predefinita con cui la piastra viene fatta ruotare permette la creazione di uno strato polimerico omogeneo sul substrato scelto. Lo spessore d dello strato che si viene a depositare può essere calcolato dalla legge semi-empirica $d = k\omega^\alpha$, dove k e α sono costanti dipendenti dalla viscosità e altre caratteristiche fisiche della soluzione polimerica e ω è la velocità angolare della piastra. Questo processo ha il vantaggio di realizzare strati polimerici piuttosto omogenei su ampie aree e di essere facilmente riproducibile, poiché dipende essenzialmente dalla viscosità della soluzione depositata e dalla velocità angolare impostata. Questa tipologia di deposizione causa però uno spreco inevitabile di parte della soluzione impiegata, che viene espulsa in fase di rotazione. Questo inconveniente non crea un grande problema quando la quantità di soluzione da utilizzare è molto piccola ed è perciò altrettanto minima quella che risulta in eccesso.

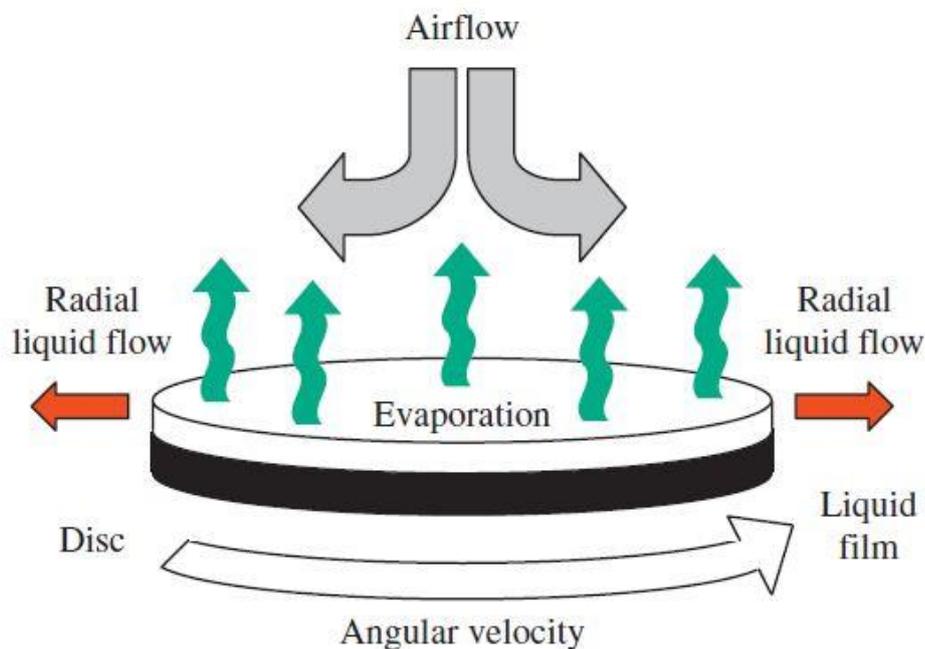


Fig.1.9 Schema di funzionamento dello spin-coater per depositare strati di materiale su substrati scelti.

- Ink-jet printing

Questa tecnica di deposizione è molto utilizzata per la realizzazione di pattern complessi perché permette una grande precisione nella deposizione del materiale desiderato. L'*ink-jet printing* consiste nell'iniettare delle piccole gocce di inchiostro nel substrato scelto. Le goccioline vengono formate attraverso una compressione meccanica dell'inchiostro in un ugello o riscaldando l'inchiostro stesso. Successivamente, le gocce vengono caricate elettrostaticamente e accelerate verso il substrato mediante un campo elettrico.

- Elettrodeposizione

Il metodo di elettrodeposizione si distingue dalle tecniche di *coating* e *printing* a causa del fatto che lo strato da depositare non è già formato ma viene realizzato mediante dei processi elettrochimici, partendo dai monomeri di EDOT, durante la fase di deposizione stessa. I monomeri di EDOT vengono polimerizzati con gli anioni di PSS direttamente in soluzione acquosa elettrolitica. All'interno di questa soluzione vengono inseriti due elettrodi, uno dei quali costituirà il substrato (elettrodo di lavoro) mentre l'altro il contro elettrodo che polarizza la soluzione. Applicando una piccola differenza di potenziale fra i due elettrodi è possibile depositare uno strato di PEDOT:PSS sul substrato scelto. Tuttavia, l'elettrodo di lavoro (il substrato) deve necessariamente essere conduttivo, mentre, spesso, il substrato su cui si deposita il PEDOT è un isolante. Per ovviare a questo fatto è possibile utilizzare come elettrodo un substrato già rivestito di PEDOT:PSS, mediante altre tecniche di deposizione, e ricoprirlo con un ulteriore strato polimerico, realizzando così una doppia deposizione. Questo stratagemma risulta utile per applicazioni che richiedono un doppio drogaggio.

1.3 OECT

Un dispositivo di particolare interesse per la bioelettronica, nonché per gli scopi di questa tesi, è il transistor elettrochimico organico (OECT). Si tratta di una particolare tipologia di transistor sviluppata nella prima metà del 1980 da Wrighton e colleghi, appartenente alla classe dei transistor a gate elettrolitico (EGT), ovvero transistor in cui il gate è immerso in un elettrolita che diventa parte integrante del dispositivo e lo rende particolarmente adatto ad applicazioni in ambienti acquosi, quali quelli biologici [24]. Gli OECT, in quanto transistor, vengono utilizzati principalmente come amplificatori, ovvero con lo scopo di incrementare un dato segnale in entrata. Essi sono costituiti da tre terminali collegati ad un circuito esterno; due di questi, source e drain, sono connessi da un canale di semiconduttore organico a sua volta messo in contatto con il gate attraverso l'elettrolita, come in Fig. 1.10. In questo modo, modulando la tensione di gate (input) è possibile controllare una più ampia variazione della corrente di drain (output) [24]. L'utilizzo di OECT offre anche numerosi vantaggi grazie al loro basso costo e facilità di fabbricazione, flessibilità e compatibilità con vari substrati; inoltre la possibilità di lavorare a basso voltaggio in ambiente acquoso e la conversione di segnali ionici in correnti elettroniche permettono a questi device di interfacciare dispositivi elettronici con sistemi biologici [25]. Queste due ultime proprietà, in particolare, li rendono molto interessanti per applicazioni bioelettroniche, specie nel campo della sensoristica [26].

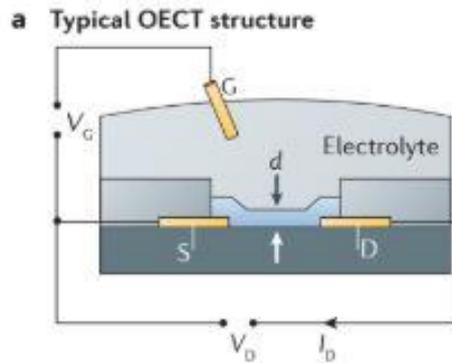


Fig.1.10 Rappresentazione schematica della struttura di un OECT.

1.3.1 Struttura e funzionamento

Come brevemente anticipato nel paragrafo precedente, la struttura di un OECT (Fig. 1.10) consiste in due elettrodi, source e drain, connessi mediante un canale realizzato con un semiconduttore organico in contatto con un elettrolita, nel quale è immerso anche il gate, che può essere metallico o polimerico. Il canale è inoltre nella maggior parte dei casi costituito da un semiconduttore drogato p, ossia ossidato, in grado pertanto di trasportare lacune. Il funzionamento di un dispositivo di questo tipo si basa sull'applicazione di una tensione di gate, V_G , con la quale è possibile modificare lo stato di drogaggio del canale e di conseguenza la sua conduttività. Il modo più immediato per verificare le variazioni provocate sulla conduttività è quello di studiare l'andamento della corrente di drain, I_D . Questa viene indotta a sua volta dalla tensione di drain, V_D , applicata fra i terminali di drain e source, posto a massa per convenzione, che dipende ovviamente dalla densità di lacune presente nel canale. Grazie alle proprietà di questa tipologia di transistor, un piccolo cambiamento nella tensione di gate può provocare una notevole modulazione della corrente di drain; ciò viene quantificato da un parametro definito transconduttanza ($g_m = dI_D/dV_G$) che, per i transistor, ha un valore relativamente alto, dell'ordine dei millisiemens. Principalmente gli OECT lavorano in modalità di svuotamento (Fig.1.11), ovvero, in assenza di tensione di gate, il canale è nel suo stato acceso, pertanto al suo interno scorre la corrente indotta dalla tensione di drain applicata; al contrario, in presenza di una tensione di gate positiva, i cationi dell'elettrolita vengono spinti all'interno del canale, riducendone il numero di lacune libere (per semiconduttori drogati di tipo p) e abbassandone così la conducibilità (e di conseguenza la corrente in output) [24].

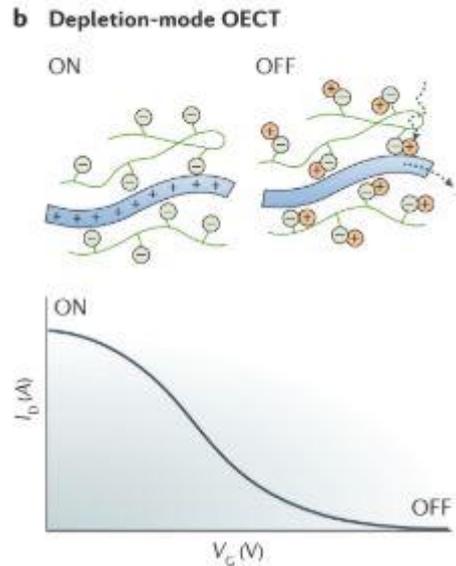


Fig. 1.11 Rappresentazione di cosa succede all'interno di un OEET in modalità svuotamento con relativo andamento della corrente di drain al variare della tensione di gate[24].

Il modello più accreditato e immediato per spiegare la fisica che regola questi dispositivi è quello proposto da A. Bernards e G. Malliaras che suddivide il comportamento degli OEET in due circuiti, uno elettronico ed uno ionico [27] (Fig. 1.12).

- Circuito elettronico

Il circuito elettronico consiste in uno strato di semiconduttore organico drogato p che trasporta le lacune fra gli elettrodi di source e drain ed il flusso di tali lacune è descritto dalla legge di Ohm

$$J(x) = q\mu p(x) \frac{dV(x)}{dx} \quad (1.1)$$

in cui J è il flusso di cariche, q la carica elementare, μ la mobilità delle lacune, p la densità di lacune e $\frac{dV(x)}{dx}$ il campo elettrico, mentre x è la coordinata spaziale che indica il punto del canale a cui si sta facendo riferimento. In questa analisi si assume per semplicità che la mobilità sia costante all'interno del canale, ignorando la sua dipendenza dal campo elettrico e dalla concentrazione. Applicando una tensione di gate positiva, si attiva il meccanismo di 'undoping' che comporta l'iniezione dei cationi dell'elettrolita nel canale organico con conseguente compensazione degli accettori. Questo processo, a differenza di quello che avviene in un materiale inorganico come il silicio, può essere realizzato a temperatura ambiente e in tempi piuttosto brevi. Questo meccanismo avviene mantenendo la neutralità elettrica del semiconduttore organico e si sviluppa così: per ogni catione che penetra nel canale una lacuna esce dal source e non viene rimpiazzata da un'ulteriore iniezione da parte del drain (per $V_D > 0$). Un'espressione che descrive l'andamento della densità delle lacune è la seguente

$$p = p_0 \left(1 - \frac{Q}{qp_0v}\right) \quad (1.2)$$

nella quale, p_0 è la densità di lacune prima dell'applicazione della tensione di gate, Q è la carica totale dei cationi iniettati nel canale e v il volume di materiale semiconduttore considerato. Per semplicità

si assume che le densità di carica siano uniformi nello spessore dello strato di semiconduttore, ipotesi valida per strati sottili [27].

- **Circuito ionico**

Il circuito ionico modella il trasporto di ioni nell'elettrolita ed è descritto mediante una combinazione di elementi circuitali lineari in serie, una resistenza ed una capacità. Il resistore descrive la conduttività dell'elettrolita ed è una misura della sua resistenza ionica, il condensatore invece spiega la polarizzazione delle interfacce fra canale-elettrolita e gate-elettrolita. Questo modello assume che non avvengano reazioni significative sul gate e che quindi il dispositivo lavori in regime non faradico. L'applicazione di una tensione di gate porta ad un processo di carica del condensatore descritto dalla seguente equazione

$$Q(t) = Q_{ss} [1 - e^{-t/\tau_i}] \quad (1.3)$$

dove $Q_{ss} = C\Delta V$ è la carica totale che passa attraverso il circuito, ΔV è il voltaggio applicato sull'elettrolita mentre $\tau_i = RC$ è il tempo caratteristico di transito degli ioni nell'elettrolita [27]. Poiché C dipende dalla geometria del dispositivo e soprattutto dal volume del canale è più corretto utilizzare come parametro $C^* = C/v$, ovvero la capacità volumetrica [25].

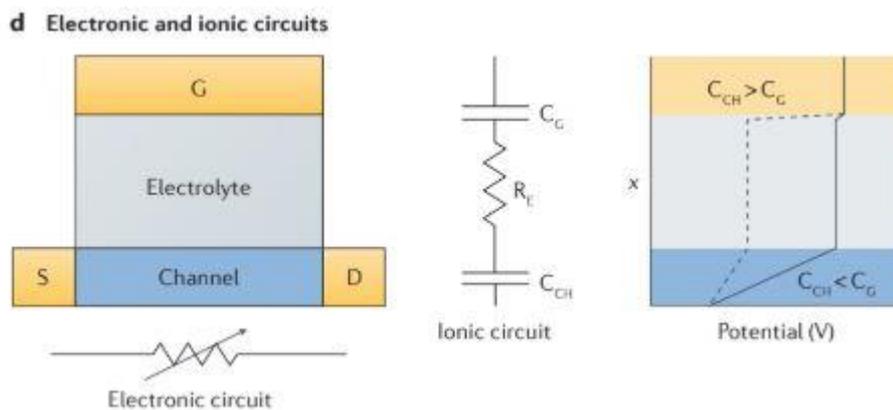


Fig.1.12 Descrizione in termini circuitali del funzionamento di un OEET secondo il modello teorizzato da A. Bernards e G. Malliaras [24].

1.3.2 Comportamento stazionario

Per trovare soluzioni analitiche che descrivano il comportamento di un OEET allo stato stazionario, con tensione V_G costante, è necessario conoscere il valore della densità delle lacune in ogni punto del canale. In questa configurazione il processo di 'undoping' può avvenire su tutto lo strato di materiale organico, e non solo in prossimità dei contatti, grazie all'elevata densità di carica all'interno del canale, e può essere descritto dalla legge seguente

$$J(x) = q\mu p_0 \left[1 - \frac{V_G - V(x)}{V_P} \right] \frac{dV(x)}{dx} \quad (1.4)$$

dove $V_P = qp_0/C^*$ è la tensione di pinch-off, detta anche di strozzamento, tensione necessaria ad accumulare una densità di carica pari a quella di drogaggio del semiconduttore organico. Questa equazione può essere risolta in diversi regimi di funzionamento, considerando $V_G > 0$ (Fig.1.14):

- $V_D > 0$ e $V_D < V_G$

In questo caso il processo di 'undoping' avviene uniformemente su tutto lo strato di materiale organico e risolvendo l'equazione precedente si ottiene l'espressione esplicita dell'andamento della corrente di drain

$$I_D = G \left[1 - \frac{V_G - 1/2V_D}{V_P} \right] V_D \quad (1.5)$$

dove $G = q\mu p_0 WT/L$ indica la conduttanza del semiconduttore organico, mentre W , T ed L sono rispettivamente larghezza, spessore e lunghezza del canale (Fig.1.13).

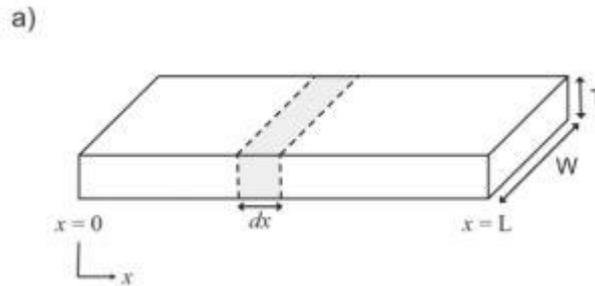


Fig. 1.13 Strato di materiale organico costituente il canale di un OECT con il terminale di source posto ad $x=0$ e quello di drain a $x=L$ [27].

- $V_D > 0$ e $V_D > V_G$

In questo caso il processo di 'undoping' può avvenire solo nelle zone del canale in cui $V(x) < V_G$. La corrente di drain risulta pertanto descritta dalla formula

$$I_D = G[V_D - V_G^2/2V_P] \quad (1.6)$$

e risulta lineare con la tensione di drain.

- $V_D < 0$

Nel caso in cui si inverta la tensione di drain è possibile svuotare completamente il canale nelle zone in cui la densità dei cationi iniettati uguaglia la densità di drogaggio intrinseca del materiale semiconduttore. Ciò accade quando $(V_G - V_D) \geq V_P$. Indicando con $V_D^{sat} = V_G - V_P$ il valore critico di saturazione per la tensione di drain. Al diminuire della tensione di drain al di sotto del valore di saturazione il canale continua a svuotarsi dal terminale di drain fino a quello di source, a causa di un aumento progressivo della larghezza della regione di svuotamento. Se il canale è lungo, la corrente di drain non risente molto della dipendenza dalla tensione di drain perciò raggiunge il suo valore di saturazione, mentre in un canale corto la dipendenza della corrente dalla tensione non è trascurabile e la corrente anziché saturare continua ad aumentare. Nel caso di canali lunghi con $V_D \leq V_D^{sat}$ la corrente in regime di saturazione segue la legge

$$I_D = -\frac{GV_D^{sat2}}{2V_P} \quad (1.7)$$

[27].

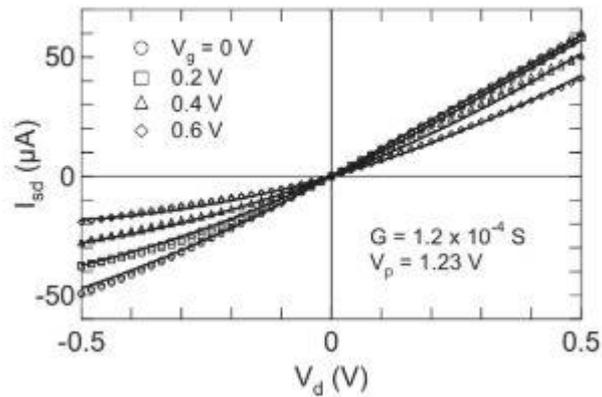


Fig. 1.14 Esempio di caratteristiche di un OECT in regime statico per diversi valori della tensione di gate [27].

1.3.3 Comportamento dinamico

Il comportamento dinamico in un OECT può essere studiato facilmente mantenendo costante la tensione di drain e variando solo periodicamente il valore della tensione di gate. Tale comportamento è descritto da due eventi principali: l'iniezione dei cationi dall'elettrolita al canale e la conseguente rimozione di lacune dall'elettrodo di source non rimpiazzate da parte di quello di drain, per tensioni di drain positive. Studiare la risposta del dispositivo equivale a studiare l'andamento della corrente di drain che può essere di due tipi in base ai tempi caratteristici ionico e elettronico: decadimento monotono o decadimento spike-and-recovery (Fig. 1.15).

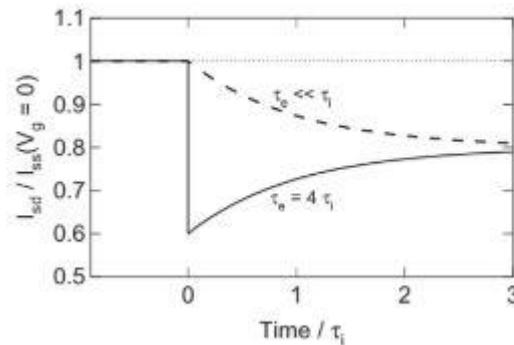


Fig. 1.15 Rappresentazione dei due possibili andamenti della corrente di drain per una tensione di drain costante [27].

Il primo indica una situazione in cui la risposta elettronica del materiale organico, ovvero il trasporto ed estrazione di lacune dal canale, è così rapida da poter essere trascurata nella valutazione della risposta del dispositivo, che risulta quindi completamente controllata dall'iniezione ionica. La seconda tipologia di decadimento indica invece una condizione in cui il trasporto di lacune all'interno del canale avviene in tempi relativamente lunghi e pertanto la corrente dinamica è dominata dall'estrazione delle lacune dal canale. Poiché, come già accennato, il comportamento della corrente dipende dai tempi di trasporto ionico ed elettronico, è utile riportare le loro espressioni analitiche

$$\tau_i \sim l/C^{1/2} \quad (1.8)$$

$$\tau_e = L^2/\mu V_D \quad (1.9)$$

$$\frac{\tau_e}{\tau_i} \sim (C)^{1/2} L^2 / l \mu V_D \quad (1.10)$$

dove l indica la distanza del canale dal gate e C è la concentrazione ionica. Da queste espressioni si possono dedurre vari modi per modulare e migliorare la risposta del dispositivo come: variare la posizione dell'elettrodo di gate, la lunghezza del canale o la tensione di drain [27].

1.3.4 OECT in PEDOT:PSS

Il semiconduttore organico più ampiamente utilizzato nella realizzazione del canale o come rivestimento degli elettrodi degli OECT è il polimero coniugato PEDOT:PSS. Come già discusso in precedenza, questo materiale risulta molto efficiente essendo elettrochimicamente attivo nel suo stato drogato, capace dunque di condurre ioni ed elettroni e di subire modifiche elettrochimiche reversibili. Inoltre, il PEDOT:PSS è dotato di una grande stabilità e funziona bene in un vasto intervallo di pH. E' infine commercialmente disponibile sotto forma di dispersione acquosa che consente di depositarlo facilmente in strati sottili [24].

1.3.4.1 Funzionamento

Il funzionamento di un OECT con canale in PEDOT:PSS replica quello di un OECT generico descritto nei paragrafi precedenti. Il PEDOT:PSS risulta drogato di tipo p, e presenta delle lacune mobili dovute alle catene di PEDOT compensate elettricamente dagli ioni accettori fissi di SO_3^- del PSS [28]. Quando la tensione di gate è nulla il polimero è nello stato conduttivo e il transistor risulta acceso. All'applicazione di una tensione di gate positiva, si attiva invece il processo di 'undoping' del PEDOT:PSS, causato dall'iniezione dei cationi dell'elettrolita nel canale, con conseguente progressivo spegnimento del transistor. Il processo di 'undoping' del PEDOT:PSS avviene secondo la seguente reazione

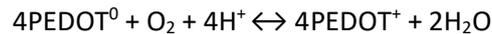


dove con M^+ si indica il catione che dall'elettrolita penetra nel canale e con e^- un elettrone iniettato dal source [26]. Da questa formula è evidente come l'ingresso dei cationi nel film polimerico porti ad una redistribuzione delle cariche con conseguente ritorno allo stato neutro, non conduttivo, del PEDOT. Questo processo è completamente reversibile, infatti, è sufficiente invertire il segno della tensione di gate per provocare una migrazione inversa dei cationi che ritornerebbero così nell'elettrolita rendendo il PEDOT nuovamente ossidato e capace di condurre.

1.3.4.2 Applicazione come sensore di ossigeno in soluzione

Un'applicazione recentemente studiata per gli OECT in PEDOT:PSS è quella come sensori di ossigeno in soluzioni acquose. La reazione di riduzione dell'ossigeno (ORR) è un processo piuttosto lento e che richiede pertanto la presenza di agenti catalizzatori, come ad esempio il platino. Questo però, oltre a presentare diversi svantaggi pratici, è anche molto costoso e pertanto si stanno cercando e studiando altri materiali più economici, ma che siano altrettanto efficienti. Anche in questo caso i polimeri organici, in particolare il PEDOT, si sono rivelati degli ottimi materiali da utilizzare in questi dispositivi. Infatti, gli studi pionieristici di Winther-Jensen e collaboratori hanno dimostrato che un elettrodo in PEDOT offre una prestazione elettrocatalitica per ORR al pari di quella data dal platino [29]. Successivamente, grazie agli studi di E. Mitraka e S.K. Singh si sono dimostrate, da punti di vista differenti, le proprietà catalitiche del PEDOT. Il primo, studiando le proprietà spettroscopiche, elettriche e strutturali del PEDOT:Cl in presenza o meno di ossigeno, dimostrò che le reazioni di riduzione dell'ossigeno sono disaccoppiate da quelle elettrochimiche: il PEDOT, nonostante sia ridotto elettrochimicamente dal potenziale applicatogli, grazie alla presenza di ossigeno, rimane in parte ossidato, ovvero nel suo stato conduttivo. Singh invece dimostrò da un punto di vista teorico, sfruttando teorie quantomeccaniche basate sulla teoria del funzionale di densità, che la reazione di riduzione

dell'ossigeno con il PEDOT avviene spontaneamente, in quanto esoenergetica, nel modo descritto dalla formula seguente:



Secondo la reazione, l'ossigeno strappa un elettrone al PEDOT, drogandolo di tipo p, e inducendo un moto di lacune nel canale che provoca a sua volta un aumento della corrente di drain nel dispositivo. Per questo motivo, è possibile utilizzare i transistor elettrochimici organici come sensori di ossigeno in soluzione: analizzando il transistor nello stato "off" (a livello di potenziali applicati), l'aumento di corrente sarà correlato alla concentrazione di ossigeno disciolto in soluzione.

La rilevazione della percentuale di ossigeno in un sistema biologico è un importante indicatore del livello di salute di quel sistema, dunque questa tipologia di dispositivi trova numerose applicazioni in campo biomedico [30].

1.3.4.3 Applicazione come sensore di dopamina in soluzione

Oltre al sensore di ossigeno in questa tesi vengono anche riportati degli studi realizzati sul sensore di dopamina, basato analogamente su un OECT in PEDOT:PSS che sfrutta la reazione redox che si attiva fra PEDOT e dopamina (DA), ma solo in presenza di tensioni negative applicate al gate del device. La formula che regola questo processo è la seguente:



Da tale formula si evince facilmente che la dopamina, a differenza dell'ossigeno, è un agente riducente nell'interazione con il PEDOT che viene pertanto riportato dallo stato ossidato conduttivo a quello neutro. Ciò comporta che l'OECT risponda ad un aumento della concentrazione di dopamina con una diminuzione della corrente di drain, dunque spegnendosi.

Il sensore di dopamina trova largo impiego in campo medico in quanto la dopamina è un importante neurotrasmettitore nel sistema nervoso centrale dei mammiferi e una sua anomala concentrazione può essere connessa a varie malattie, tra cui il morbo di Parkinson [31].

Capitolo 2 MATERIALI E METODI DI FABBRICAZIONE DEGLI OECT

In questo capitolo verrà riportato il procedimento seguito in laboratorio per la fabbricazione degli OECT impiegati poi come sensori di ossigeno e dopamina, costituiti da canale in PEDOT:PSS, gate in cromo/oro rivestito di PEDOT:PSS (lo strato di oro sottostante riduce la caduta di potenziale lungo il gate, una volta polarizzato) e da contatti in cromo/oro. Sarà inoltre descritto l'apparato sperimentale utilizzato per le analisi e le misure di caratterizzazione che sono state effettuate per testare e studiare le proprietà del sensore costruito.

2.1 Fabbricazione OECT

Gli OECT con cui sono state realizzate le misure e le analisi riportate in questa tesi, sono stati costruiti direttamente in laboratorio con materiali relativamente economici e facilmente reperibili in commercio. Gli OECT sono stati fabbricati su dei vetrini, usati come substrati, sui quali sono stati depositati successivamente i materiali per la composizione di canale e terminali. La geometria dei dispositivi è stata scelta a seconda della tipologia di sensore che si voleva ottenere, di ossigeno o dopamina, in base ai risultati conseguiti da studi precedenti che hanno definito le configurazioni migliori per le varie tipologie di sensori, in modo da ottimizzarne le prestazioni.

2.1.1 Deposizione Cromo e Oro

Prima di iniziare con la deposizione è necessario lavare accuratamente i vetrini in modo da privarli di ogni tipo di impurità presente sulla superficie. Per far ciò si effettua una pulizia suddivisa in quattro passaggi: i vetrini vengono inseriti in un bagno ultrasonico e immersi sequenzialmente in acqua e sapone (rapporto volumetrico 10:1), acqua distillata, acetone e isopropanolo, per 15 minuti di lavaggio ciascuno.

Dopo ogni passaggio è opportuno lasciar asciugare i vetrini per circa 5 minuti e, al termine di tutta la pulizia, vengono asciugati completamente con una pistola a flusso di azoto per prevenire la formazione di aloni (essendo un gas nobile, si prevengono reazioni non volute con eventuali sostanze). Successivamente si ripete lo stesso procedimento per pulire i filamenti di cromo e oro, saltando il primo passaggio. In seguito anche le maschere, che serviranno a definire le zone in cui avverrà la deposizione dei due metalli, vengono lavate ma senza il passaggio in acetone, in quanto sono realizzate con carta da lucido. Per quanto riguarda la deposizione dei metalli, sono stati impiegati (25 ± 4) mg di cromo e (144 ± 4) mg di oro, in modo da ottenere rispettivamente degli strati di 10 nm e 50 nm. La deposizione viene effettuata in una camera di evaporazione termica, in cui il campione viene inserito a faccia in giù, con l'opportuna maschera fissata con del nastro adesivo, mentre i due filamenti metallici sono posti su fili di tungsteno alla base della camera e verranno riscaldati con il passaggio di corrente fino ad essere portati ad evaporazione. La camera dispone inoltre di uno shutter che può essere spostato in modo tale da coprire il vetrino in fase di riscaldamento dei filamenti metallici, così da evitare la deposizione su di esso di impurità ed elementi indesiderati. Prima di evaporare viene realizzato il vuoto all'interno della camera, per migliorare la purezza dell'evaporazione: una pompa rotativa viene accesa al fine di creare un primo vuoto grezzo nel range tra 10^{-1} e 10^{-2} torr; successivamente, si avvia una pompa turbomolecolare, in comunicazione con la camera tramite una valvola di gate, che crea il vuoto spinto, necessario all'evaporazione, facendo scendere la pressione fino a $2-3 \cdot 10^{-6}$ torr. Una volta creato il vuoto, si inizia a far passar corrente sui filamenti di tungsteno ad una potenza crescente del 5% ogni 30 secondi circa, per far salire la temperatura in maniera graduale, non causando la rottura dei filamenti e assicurando una completa e corretta evaporazione. La duplice sorgente interna alla camera permette l'evaporazione consecutiva dei due materiali, evitando di riaprire la camera fra una deposizione e l'altra ed evitando dunque di avere impurezze (dovute al contatto con l'aria) tra i due strati metallici. Il motivo per cui il cromo viene depositato prima dell'oro risiede nel fatto che possiede una miglior adesione al substrato e ciò

riduce la delaminazione ed il deterioramento dello strato metallico finale, spesso presente quando si effettuano misure in liquido.

Al termine della deposizione dei due materiali, si abbassa lentamente la potenza erogata per il passaggio di corrente, si spegne lo strumento e si estrae il vetrino, dal quale si rimuove la maschera, in modo tale da renderlo pronto alla deposizione del PEDOT:PSS. (Fig.2.1)



Fig.2.1 Camera di evaporazione termica con portacampioni in alto e crogioli, in cui posizionare i filamenti metallici, alla base.

2.1.2 Deposizione PEDOT:PSS

Dopo aver depositato i contatti metallici, si ripulisce il vetrino con del getto di azoto e si ricoprono con del teflon idrofobico le parti in cui non deve essere presente il PEDOT. La soluzione polimerica che viene poi depositata è così composta:

- 94% PH1000, dispersione acquosa stabile di Clevios PH1000 (Heraeus)
- 5% Glicole etilenico (EG), per aumentare la conducibilità della soluzione polimerica (Sigma Aldrich)
- 1% Glicidossipropil-trimetossilano (GOPS), reticolante per migliorare la coesione e stabilità delle molecole di PEDOT:PSS tra di loro, una volta depositate, riducendo il rischio di eventuali rotture (Sigma Aldrich)
- 0.25% Dodecilbenzene sulfonato (DBSA), per aumentare l'adesione al substrato (Sigma Aldrich)

La soluzione polimerica così realizzata è stata poi posta per 10 minuti in bagno ultrasonico, in modo da essere omogenea, ben miscelata e prevenire la sedimentazione di eventuali agglomerati. Prima di passare alla deposizione, la soluzione è stata filtrata con filtri in acetato di cellulosa di 1.2 μm (Sartorius). In seguito la miscela risultante di PEDOT:PSS è stata depositata con la tecnica di *spin coating*. Questo metodo prevede la deposizione di qualche goccia di soluzione sul vetrino posizionato su una piastra rotante, la quale viene successivamente fatta girare ad una velocità angolare predefinita così da portare la soluzione polimerica a diffondersi omogeneamente su tutta l'area del substrato disponibile. In questa tesi i parametri dello spin-coater sono stati impostati in modo tale da avere una velocità angolare di 700 RPM (round per minute, giri al minuto), che vengono raggiunti in un secondo e mantenuti per altri nove. Ciò consente di ottenere uno strato polimerico dello spessore di 500nm. Una volta ultimata la deposizione, il vetrino, privato dei vari ricoprimenti in teflon, viene fatto asciugare su una piastra riscaldante a 120° per 30 minuti, in modo da far

evaporare tutti gli additivi in eccesso e ottenere un riarrangiamento delle catene polimeriche (con conseguente miglioramento della conducibilità) dovuto al trattamento termico.

2.1.3 Caratteristiche fisiche e geometriche degli OECT

Una volta asciugato il vetrino, si definiscono le aree di gate e canale rimuovendo le parti di PEDOT in eccesso, così da rendere precisa la geometria del dispositivo, e si lascia immerso in acqua distillata per un'ora, in modo da espellere sostanze interne, ma non legate, al film polimerico e avere una risposta più stabile nel suo utilizzo come sensore. Successivamente, con una punta diamantata si taglia ciascun vetrino in modo da ottenere più di un dispositivo da analizzare. Le misure delle due tipologie di sensore realizzate sono riportate in Fig.2.2 e in Tab.2.1 sono invece indicate le rispettive aree di gate, canale e il rapporto fra le due. Infine, si è realizzato un supporto con un ulteriore pezzo di vetrino, fissato al dispositivo con silicone e teflon, sul quale si sono poste tre strisce di rame, connesse alle piste metalliche con pasta d'argento, che verranno usate per connettere i coccodrilli in fase di misurazione. Questo permette di allontanare i contatti dalla soluzione acquosa in cui verrà immerso il dispositivo, favorendo così una loro maggiore protezione al fine di evitare la loro ossidazione e la presenza di segnali spuri sulle misure elettriche. Altra accortezza che è stata messa in atto consiste nel ricoprire le estremità del nastro di rame con pasta d'argento, in modo da migliorare i contatti.

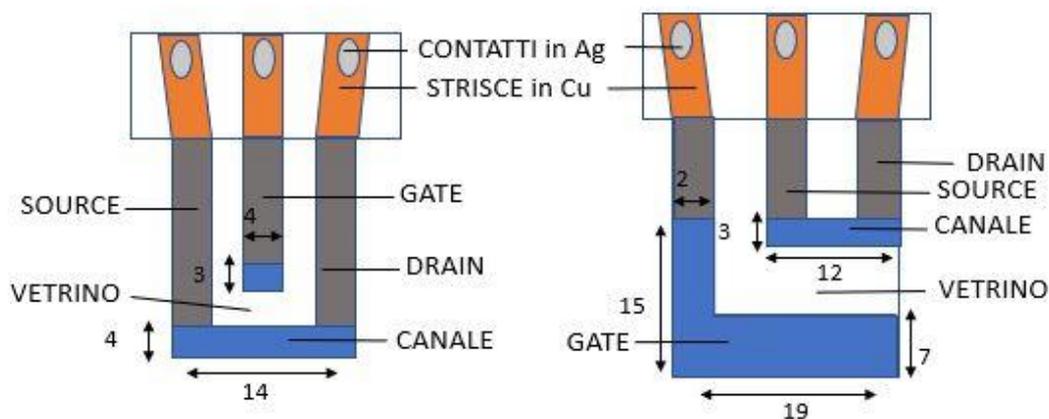
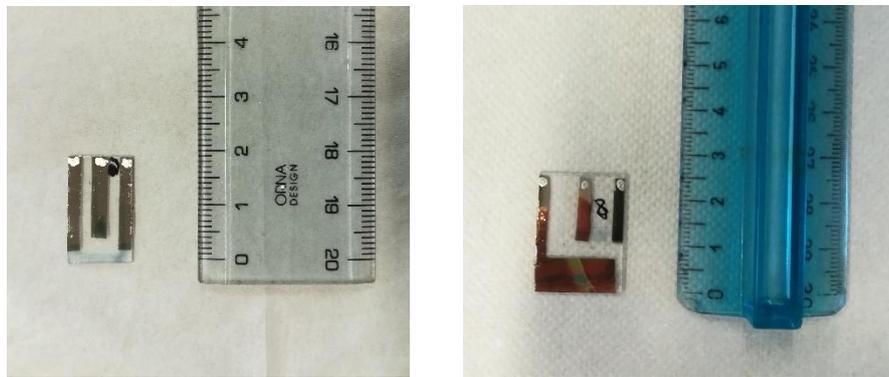


Fig.2.2 Immagini relative alle due configurazioni di OECT realizzate: a sinistra quello impiegato come sensore di dopamina e a destra quello di ossigeno. Le misure riportate in figura sono tutte in mm.

	Dimensioni (mm)	A_{GATE} (mm ²)	A_{CANALE} (mm ²)	A_{GATE}/A_{CANALE}
Sensore dopamina	14 x 25	12 ± 3	56 ± 7	0.21 ± 0.06

Sensore ossigeno	20 x 25	149 ± 11	36 ± 6	4.1 ± 0.8
------------------	---------	----------	--------	-----------

Tab.2.1 Caratteristiche geometriche dei sensori di dopamina e ossigeno costruiti in laboratorio.

2.2 Apparato sperimentale

La strumentazione utilizzata per effettuare le misure sugli OECT realizzati è mostrata in Fig. 2.3. In particolare, sono stati utilizzati dei set up differenti per le due diverse tipologie di sensore a causa della disponibilità di dopamina e ossigeno in forme fisiche differenti, la prima in soluzione acquosa e il secondo in stato gassoso. Ciò ha portato ad utilizzare una pipetta, in un caso, e un flussimetro nell'altro, per variare la concentrazione delle relative sostanze nella soluzione elettrolitica in cui era immerso il sensore. I due apparati sperimentali utilizzati sono descritti più approfonditamente nel seguente elenco:

- Apparato per sensore di dopamina: L'OECT è immerso in una soluzione elettrolitica di PBS 1X nella quale vengono inserite aggiunte di quantità definite di una soluzione 10 mM di dopamina in acqua distillata, in modo da variare la concentrazione di dopamina in soluzione elettrolitica secondo i seguenti valori: 10, 50, 100 e 200 μ M. Le misure vengono inoltre ripetute per tre diversi volumi di PBS pari a 10, 25 e 100 ml. Il sensore viene mantenuto all'interno della cella elettrolitica mediante un supporto verticale regolabile in altezza in modo tale da permettere l'inserimento completo del dispositivo nella soluzione, evitando però che essa entri in contatto con i terminali. Al fine di evitare che i terminali si bagnino, compromettendo il buon funzionamento del dispositivo, vengono anche ricoperti con del nastro di teflon idrofobico. Inoltre, tramite tre coccodrilli, si collegano i terminali al Source Measure Unit (SMU) Keysight B2912A che è a sua volta connesso ad un PC con attivo un software utilizzato per impostare le misure e raccogliere dati.
- Apparato per sensore di ossigeno: L'OECT è immerso in una soluzione elettrolitica di KCl 0.1 M o in una soluzione di DMEM completo, mezzo di coltura cellulare, in un volume pari a 25 ml. Anche in questo caso il dispositivo è mantenuto immerso nella soluzione senza che vengano compromessi i contatti, i quali sono collegati mediante i coccodrilli e cavi connettori allo SMU. All'interno della cella elettrolitica, chiusa al fine di evitare scambi con l'atmosfera esterna alla cella, viene inserito anche un gorgogliatore di vetro connesso a sua volta ad un flussimetro a due uscite e due ingressi. Il primo ingresso è collegato ad una bombola di azoto, mentre il secondo ad una di ossigeno o di miscela di azoto (95%) e ossigeno (5%), scegliendo in base ai range di concentrazione di ossigeno da studiare (ad esempio, si sono usate le bombole di miscela e di azoto per il range tra 0.31% e 5% di O_2). Il gorgogliatore ha il compito di flussare il gas risultante dalle due uscite del flussimetro nella soluzione, aiutando l'ossigeno a disciogliersi in soluzione e contribuendo a miscelarla. Il gorgogliatore viene però messo a "battente" durante la fase di misurazione, per evitare rumori ma mantenere fissa la pressione parziale dell'ossigeno sull'atmosfera all'interno della cella (sopra alla soluzione). Il flussimetro permette invece di regolare i flussi dei gas da iniettare in modo tale da gestire la concentrazione di ossigeno in soluzione, che viene fatta variare con regolarità.

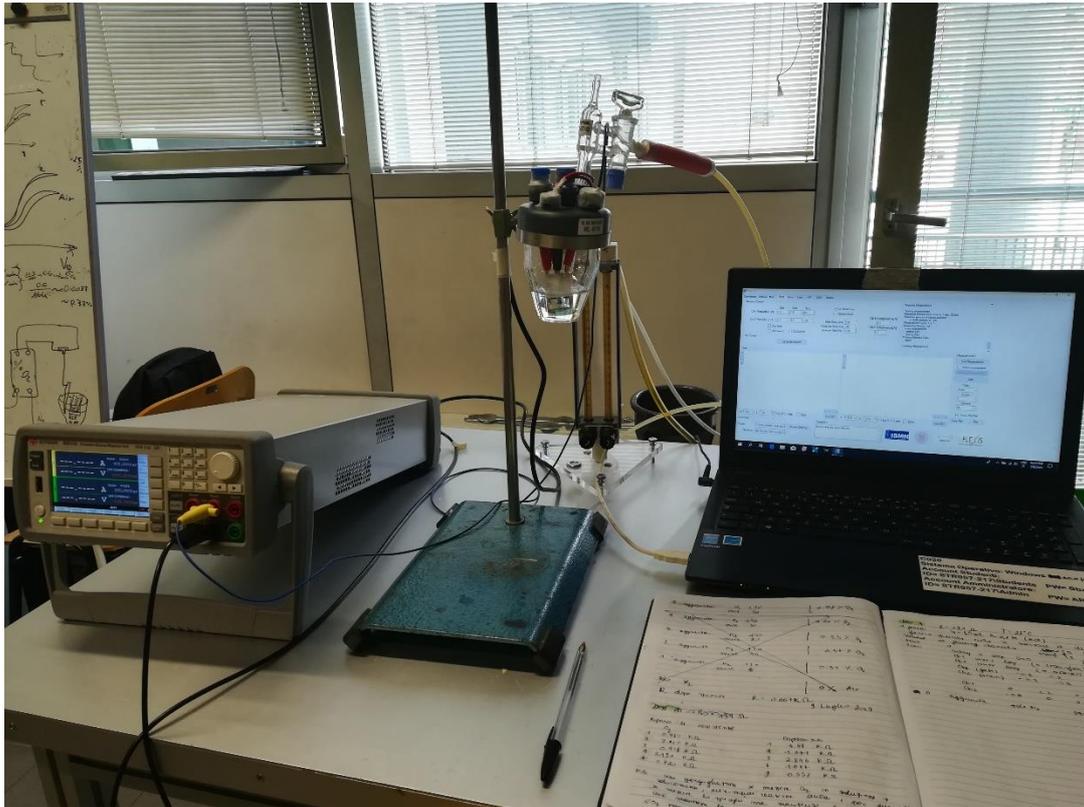


Fig.2.3 Strumentazione impiegata nella caratterizzazione e analisi dei sensori. L'immagine raffigura la configurazione usata per il sensore di ossigeno con il gorgogliatore inserito nella cella elettrochimica, chiusa al fine di evitare scambi con l'atmosfera esterna.

2.3 Misure di caratterizzazione

Per caratterizzare le due tipologie di sensori e valutare le loro prestazioni sono state effettuate tre tipologie di misure sui diversi dispositivi precedentemente costruiti: curve transcaratteristiche, di output e della corrente di drain in funzione del tempo.

2.3.1 Transcaratteristiche

Le curve transcaratteristiche studiano l'andamento della corrente di drain, I_D , in funzione della tensione di gate applicata, V_G , tenendo la tensione di drain, V_D , costante. Nelle misure effettuate per il sensore di dopamina sono stati impostati i seguenti valori: V_D costante a -0.1 V e V_G variabile nell'intervallo da -0.5 a $+0.5$ V con step di 0.05 V. Le misure sono state effettuate sia per attivare il sensore e stabilizzarne la risposta sia prima e dopo le misure di $I_D(t)$ per controllare la differenza delle curve in presenza o assenza di dopamina. Per il sensore di ossigeno sono stati usati invece i seguenti valori: V_D costante a -0.3 V e V_G variabile nell'intervallo da -0.2 a 1.2 V con step di 0.01 V. Le misure sono state effettuate dopo ogni variazione della concentrazione di ossigeno in soluzione, in modo da poter analizzare l'andamento della corrente alle varie percentuali di ossigeno. Prima di ogni misura i gas sono stati flussati in soluzione con il gorgogliatore per circa 15 minuti, così da avere la percentuale di ossigeno introdotta ben disciolta in soluzione. Esempi di transfer per sensori di ossigeno sono riportati in Fig.2.4.

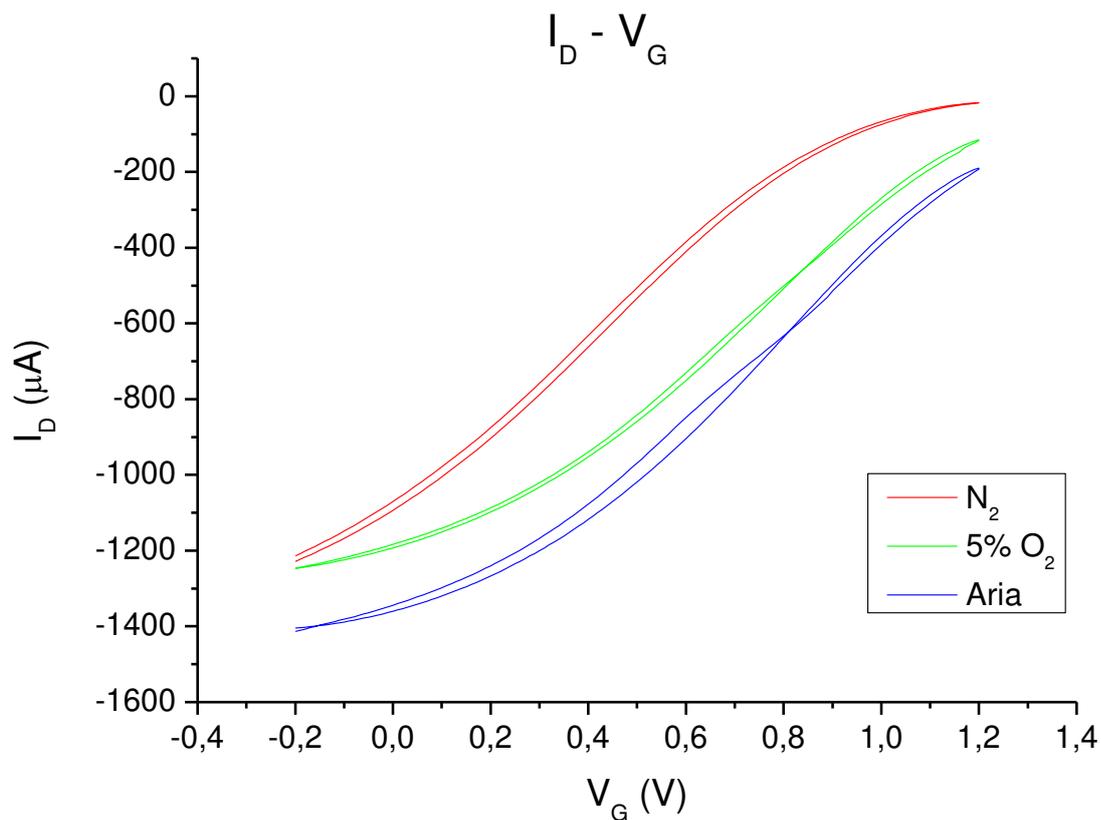


Fig.2.4 Curve transcaratteristiche per un sensore di ossigeno in soluzione di KCl 0.1M per tre concentrazioni di ossigeno con tensione di gate variabile in [-0.2-1.2] V e tensione di drain fissa a -0.3 V.

2.3.2 Output

Le curve di output sono state realizzate solo per i sensori di ossigeno e studiano l'andamento della corrente di drain in funzione della tensione di drain per valori di tensione di gate fissati. Nelle misure effettuate si sono tenuti i seguenti valori: V_D variabile nell'intervallo da -0.6 a 0 V con step di 0.05 V e V_G che assume valori da 0 a 1.2 V con step di 0.2 V. Le misure sono state effettuate, come per le transcaratteristiche, dopo ogni aggiunta di ossigeno in soluzione, così da analizzare il comportamento del sensore a varie concentrazioni. Un esempio di curve di output a V_G fissata a 0.8 V è riportato in Fig.2.5.

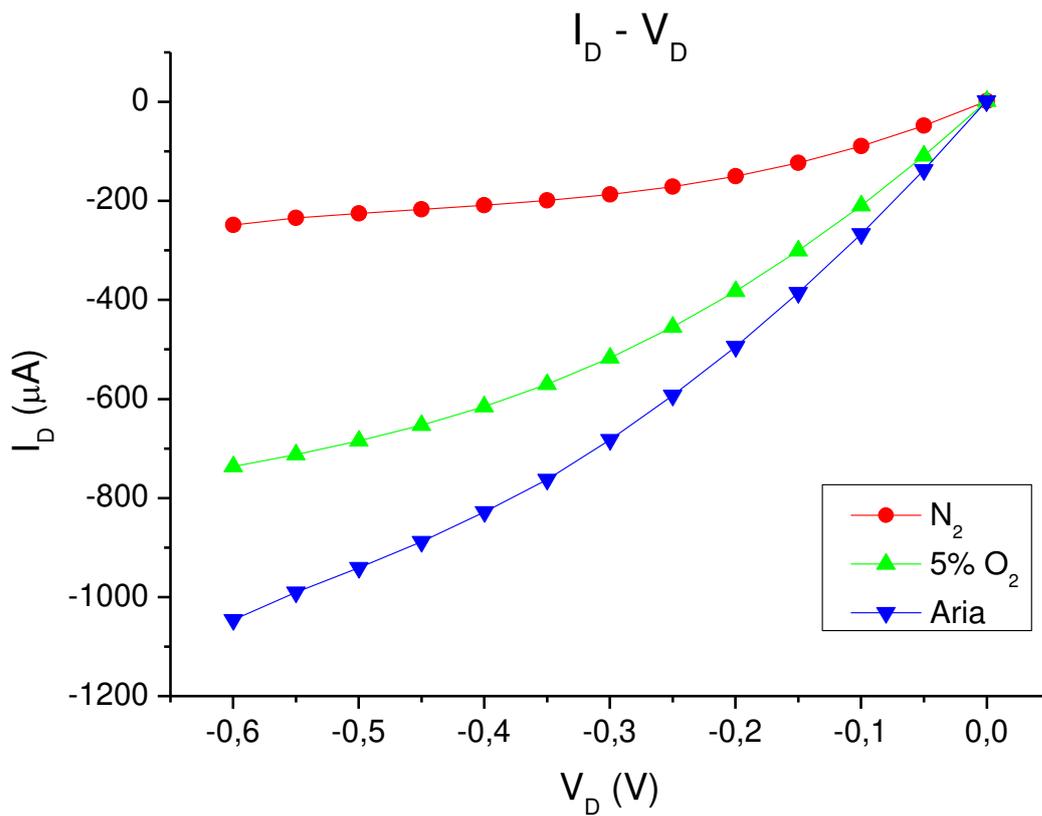


Fig.2.5 Curve di output per sensore di ossigeno in soluzione di KCl 0.1M per tre concentrazioni di ossigeno, con tensione di gate a 0.8 V.

2.3.3 $I_D(t)$

Le misure dell'andamento della corrente di drain nel tempo, a tensioni di gate e drain fissate, sono state effettuate per entrambe le tipologie di sensori. Queste curve mostrano in tempo reale le variazioni della corrente al variare della concentrazione di dopamina o ossigeno in soluzione. Nel caso dei sensori di dopamina si sono tenuti i seguenti parametri: V_D fissa a -0.1 V e V_G fissa a 0.5 V. Nel caso dei sensori di ossigeno si sono mantenuti invece i valori seguenti: V_D fissa a -0.3 V e V_G fissa a 0.4 V. In entrambi i casi, le aggiunte successive delle sostanze in soluzione venivano fatte solo una volta che la corrente avesse raggiunto un valore stabile. Esempio di questa tipologia di curve è riportato nella Fig.2.6 per la dopamina.

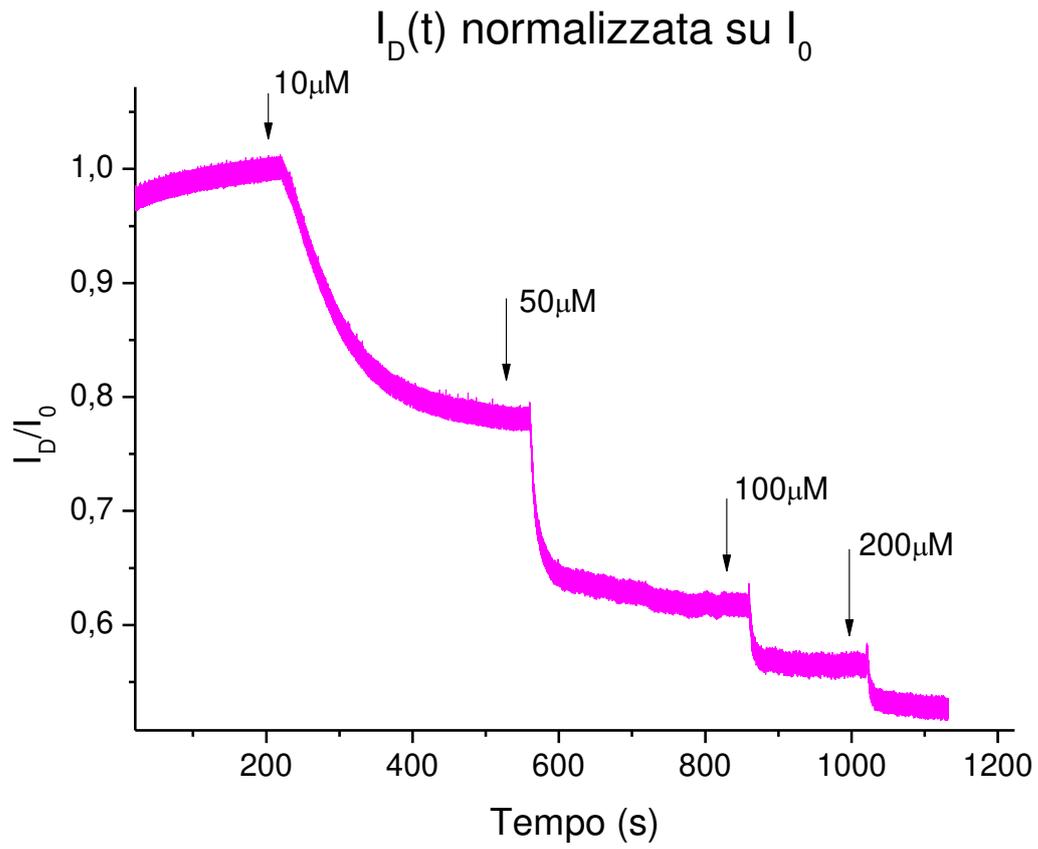


Fig.2.6 Curva della corrente di drain, normalizzata sul valore di corrente prima delle aggiunte I_0 , in funzione del tempo per un sensore di dopamina con tensione di gate posta a 0.5 V e di drain a -0.1 V.

Capitolo 3 SENSORE DI DOPAMINA

In questo capitolo si riportano le analisi effettuate su due dispositivi utilizzati come sensori di dopamina in diverse configurazioni: tre diversi volumi di soluzione elettrolitica (10, 25, 100 ml). Le analisi sono state svolte sull'andamento della corrente di drain in funzione del tempo, per studiarne la dipendenza dalla concentrazione di dopamina in soluzione (10, 50, 100 e 200 μM). Lo studio in diversi volumi di soluzione, invece, è stato condotto per verificare che la risposta del sensore non fosse dipendente dal volume dell'elettrolita, in cui si effettuava la misura, ma dipendesse esclusivamente dalla concentrazione dell'analita (dopamina) disciolto in soluzione. Questa conferma, infatti, permetterebbe di calibrare e caratterizzare il dispositivo anche in volumi più piccoli di quelli studiati in questa tesi e quindi più vicini ai volumi reali, come ad esempio quelli di gocce di sangue o di sudore, in cui questi sensori si troverebbero a lavorare nella maggior parte delle applicazioni per cui sono stati ideati.

3.1 Analisi curve $I_D(t)$

Le curve di $I_D(t)$ sono state ottenute fissando V_G a 0.5 V e V_D a -0.1 V e misurando l'andamento della corrente a seguito di aggiunte periodiche di dopamina nella soluzione elettrolitica. Le aggiunte effettuate sono state tre per lo studio della ripetibilità (attendibilità) del sensore (10, 50, 100 μM di dopamina in soluzione), e quattro per il confronto delle risposte nei diversi volumi (10, 50, 100, 200 μM di dopamina in soluzione). Le analisi sono state realizzate su due sensori diversi in modo da verificare che il comportamento dell'OECT fosse lo stesso e che si trattasse dunque di un sensore affidabile e riproducibile. Per ognuno di questi dispositivi sono state ripetute le misure più volte nelle stesse condizioni di volume, in modo da testare la ripetibilità del sensore, di cui si parla nel paragrafo 3.1.1, e in volumi diversi, per una loro accurata caratterizzazione e per confermare la dipendenza della risposta esclusivamente dalla concentrazione totale dell'analita in soluzione, paragrafo 3.1.2.

3.1.1 Ripetibilità del sensore

Per testare l'attendibilità del sensore si sono ripetute più volte le misure dell'andamento di corrente sullo stesso volume di soluzione per lo stesso dispositivo. Nella Fig.3.1 sono riportate le curve delle correnti di drain, normalizzate sulla corrente che scorreva nel dispositivo prima delle aggiunte di dopamina, I_0 , in funzione del tempo. Tali curve sono state ottenute in due prove successive effettuate sullo stesso dispositivo, dopo un lavaggio accurato in acqua distillata. Nella figura sono evidenziati i momenti corrispondenti alle aggiunte di dopamina in soluzione in modo da sottolineare maggiormente le variazioni che inducono sulla corrente che scorre nel canale. Come suggerito dalle considerazioni teoriche esposte nel sotto paragrafo 1.3.4.3, la presenza di dopamina comporta una riduzione del PEDOT:PSS che torna così al suo stato neutro, non conduttivo, causando una diminuzione della corrente di drain che fluisce nel canale dell'OECT, come è ben evidente nelle curve riportate. Il grafico evidenzia inoltre come il dispositivo sia attendibile in quanto le curve delle correnti nelle due prove si sovrappongono quasi perfettamente. Il leggero "shift" nell'asse delle ascisse presente tra le due curve dipende unicamente dai diversi tempi in cui sono state effettuate le aggiunte, che nel caso della seconda prova sono state realizzate leggermente più tardi. Dal grafico si può notare che l'ultima aggiunta nella curva ricavata dalla prima prova non è molto evidente: la misura appare infatti molto rumorosa (per via della riduzione della corrente nel canale dell'OECT, mentre rimane attivo l'effetto rumoroso dello *stirrer*, calamita rotante che mantiene omogenea la soluzione) e sembra che il dispositivo sia entrato in saturazione prima del previsto.

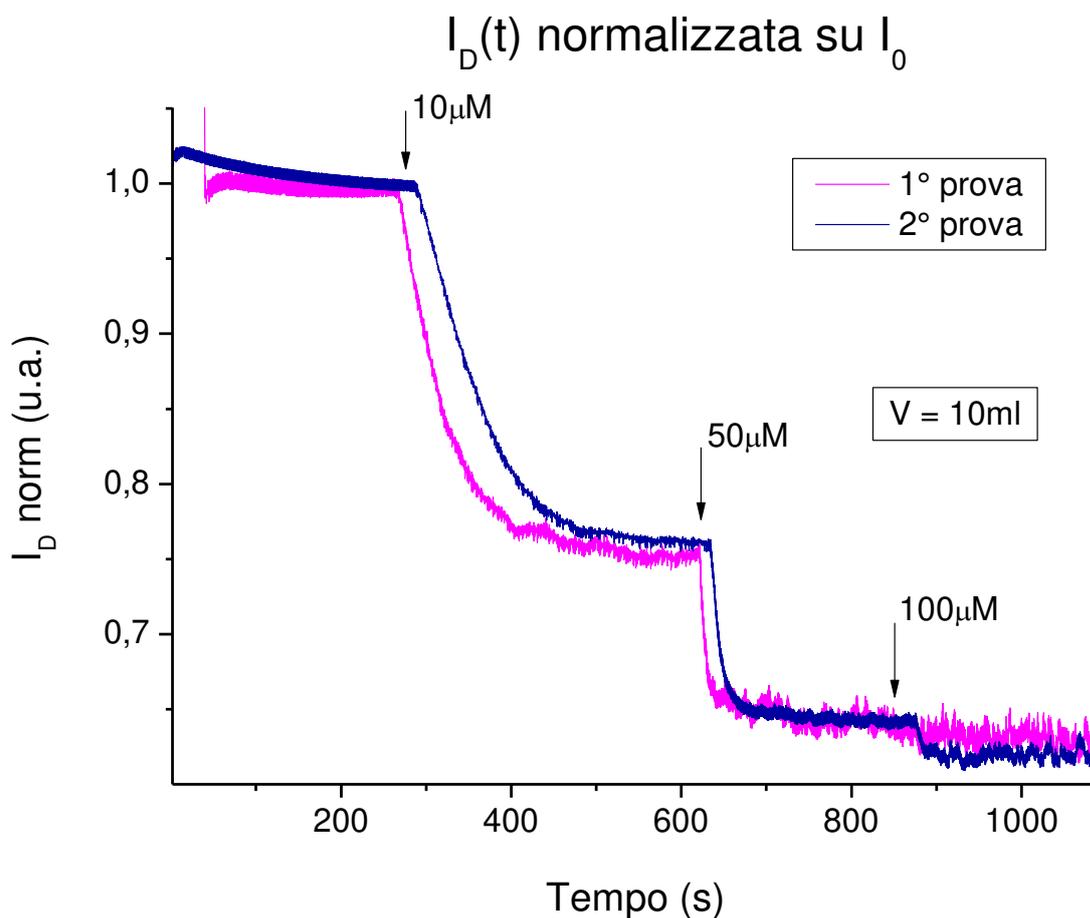


Fig. 3.1 Andamento delle correnti di drain in funzione del tempo, per varie concentrazioni di dopamina in soluzione, ricavate da due prove effettuate sullo stesso dispositivo. Le correnti sono normalizzate sul valore di corrente I_0 , prima delle aggiunte di dopamina. Le frecce indicano i momenti in cui sono state realizzate le aggiunte.

3.1.2 Confronto per diversi volumi di soluzione elettrolitica

Su un altro dispositivo è stata invece condotta un'analisi fra gli andamenti della corrente di drain, a seguito delle varie aggiunte di dopamina, in diversi volumi di soluzione elettrolitica. Dalla Fig.3.2 si evince che gli andamenti delle correnti, normalizzate sul loro valore iniziale prima delle aggiunte, I_0 , risultano simili nei tre volumi esaminati, 10, 25 e 100 ml. Anche in questo caso lo "shift" delle curve che si osserva in figura è dovuto alla diversità dei tempi in cui sono state effettuate le aggiunte di dopamina.

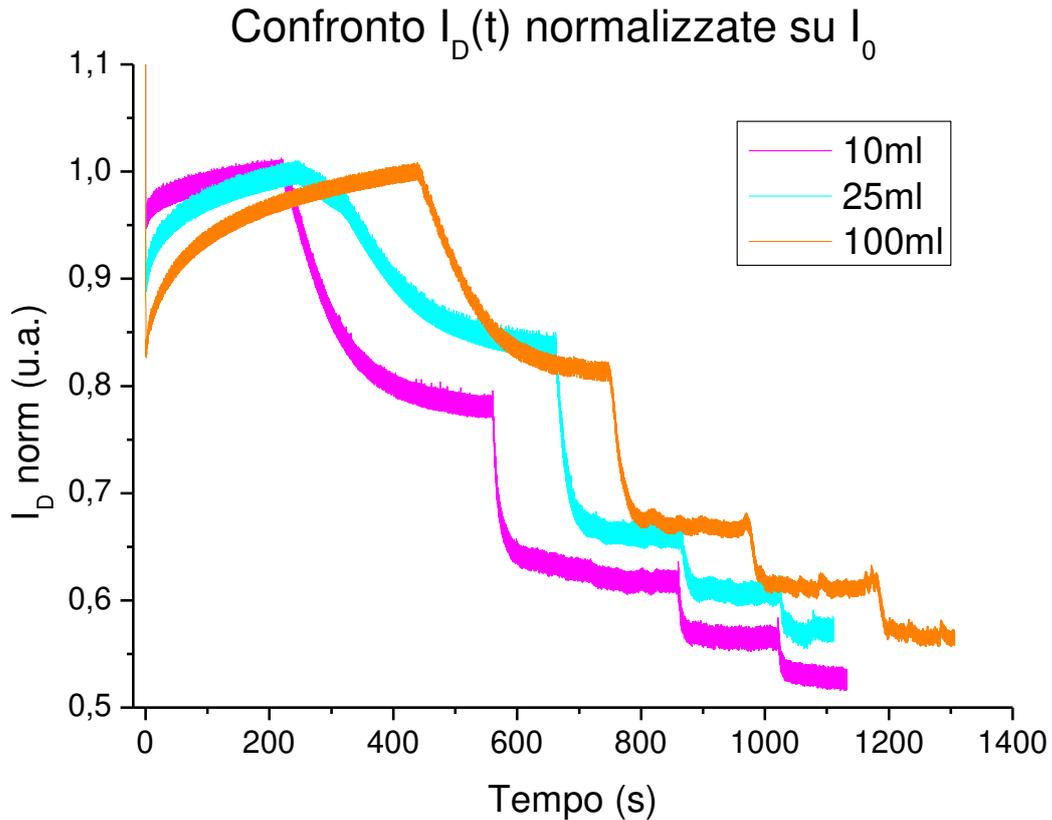


Fig.3.2 Andamento delle correnti di drain normalizzate in funzione del tempo per tre diversi volumi di soluzione elettrolitica.

Per indagare la leggera differenza della curva del sensore studiato in 10 ml è stata realizzata un'analisi ulteriore estraendo i valori della corrente, una volta stabile dopo ogni aggiunta, normalizzati secondo la formula (modulazione normalizzata della corrente)

$$I \text{ normalizzata} = \frac{I_D - I_0}{I_0} \quad (3.1)$$

Il grafico della modulazione della corrente normalizzata in funzione del logaritmo della concentrazione totale di dopamina in soluzione ha evidenziato una chiara relazione lineare fra le due grandezze, come si può osservare in Fig.3.3. Sebbene sia presente un piccolo "offset" (specialmente per la misura effettuata in 10 ml), è ben evidente come le tre curve abbiano la stessa pendenza, rappresentata dalla *sensitivity*, ottenuta mediante un fit lineare, che ha fornito valori molto simili $((0.20 \pm 0.02)\text{dec}^{-1}, (0.19 \pm 0.01)\text{dec}^{-1}$ e $(0.21 \pm 0.02)\text{dec}^{-1}$). Come già anticipato all'inizio di questo capitolo, il fatto che il comportamento del sensore non dipenda dal volume della soluzione elettrolitica ma unicamente dalla concentrazione di dopamina, permette di calibrare il dispositivo anche per volumi più piccoli, corrispondenti agli ambienti reali in cui troverà maggiori applicazioni.

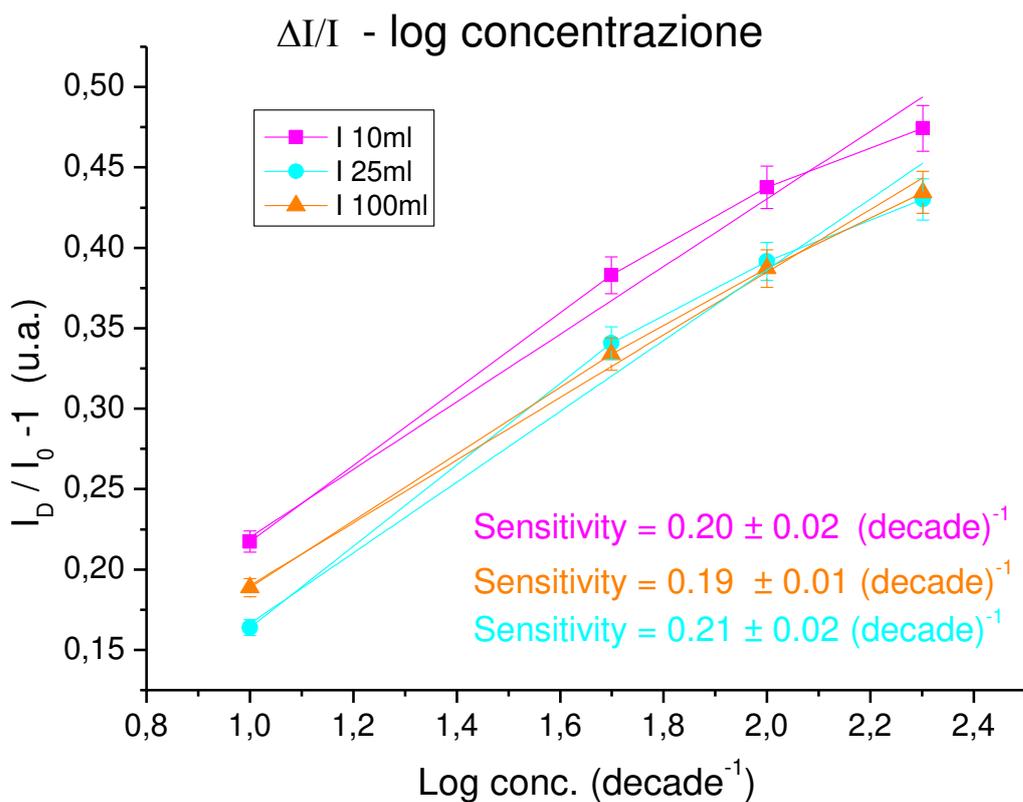


Fig.3.3 Esempio di correlazione lineare fra il logaritmo della concentrazione di dopamina in soluzione e $(I_D - I_0)/I_0$, corrente normalizzata.

3.2 Analisi delle resistenze dei sensori

Infine si è ritenuto utile analizzare l'andamento della resistenza del canale dell'OECT al trascorrere del tempo, così da avere un indice della degradazione dello strato polimerico e conseguente alterazione delle prestazioni del sensore. Infatti, nonostante il PEDOT sia un materiale ottimo sotto numerosi punti di vista, presenta un limite tipico dei materiali organici ovvero si deteriora facilmente in certe condizioni. Ad esempio, l'esposizione ai raggi UV provoca sul PEDOT un'ossidazione accelerata. Per questo motivo si è deciso di misurare periodicamente, con un multimetro digitale, le resistenze dei canali dei sensori utilizzati, dalla loro fabbricazione fino a dopo la fase di misurazione. Il grafico di Fig.3.4 riporta l'andamento nel tempo della resistenza dei due sensori, impiegati nelle misure di corrente discusse nei paragrafi precedenti. La resistenza è stata normalizzata sul valore misurato al termine della loro fabbricazione. E' evidente come la resistenza del canale aumenti gradualmente e con linearità nelle fasi pre e post utilizzo (con pendenza, e quindi degradazione, più alta nella fase pre-utilizzo a pochi giorni dalla fabbricazione), mentre subisca un brusco incremento dopo la fase di misurazione e di impiego del sensore. Questo può anche essere dovuto al fatto che alcuni ioni potrebbero rimanere intrappolati nel PEDOT, facendolo tornare al suo stato neutro e facendogli così perdere parte delle sue proprietà conduttive.

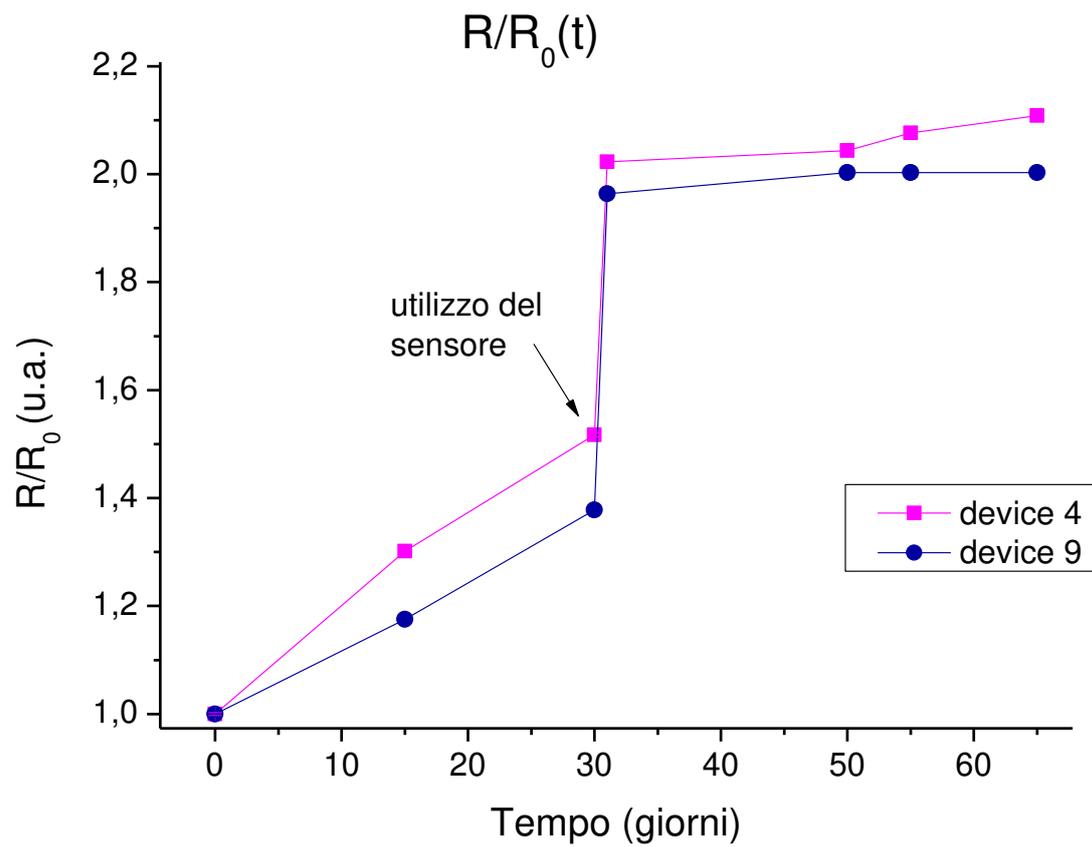


Fig. 3.4 Andamento delle resistenze del canale dell'OECT, normalizzate su quella di fabbricazione del sensore, al trascorrere del tempo.

Capitolo 4 SENSORE DI OSSIGENO

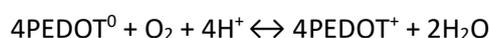
In questo capitolo si riportano le analisi effettuate su diversi dispositivi impiegati come sensori di ossigeno in due tipologie di ambiente: soluzione di KCl a 0.1 M e DMEM, mezzo di coltura cellulare. Per alcuni di questi sensori sono state esaminate le curve di output e le transcaratteristiche; da quest'ultime sono poi state estratte le curve di andamento della transconduttanza in funzione della tensione di gate. Infine, su uno dei sensori è stato studiato anche l'andamento della corrente di drain in funzione del tempo per osservarne la dipendenza dalle varie concentrazioni di ossigeno in soluzione. Il fatto di aver condotto l'analisi in due diverse tipologie di soluzione è stato utile per testare le proprietà dei sensori in diversi contesti e, in particolare, in ambienti interessanti per possibili applicazioni future. In particolare, le misure fatte in DMEM sono state realizzate proprio con lo scopo di riprodurre un ambiente standard di coltura cellulare il più possibile simile a quello di un sistema cellulare reale *in vitro*.

4.1 Analisi e caratterizzazione in soluzione di KCl 0.1M

Le analisi condotte in soluzione di KCl 0.1 M, su diversi dispositivi, hanno permesso di ottenere curve di output e transcaratteristiche, dalle quali sono poi state ricavate quelle delle transconduttanze, e grafici sull'andamento della corrente di drain nel tempo.

4.1.1 Transcaratteristiche e output

Come già anticipato nei paragrafi precedenti, le curve transcaratteristiche sono state ottenute fissando V_D a -0.3 V e facendo variare V_G fra -0.2 e 1.2 V, poiché studi precedenti hanno dimostrato che questo è il range in cui il sensore fornisce le migliori prestazioni. Nella Fig.4.1 sono riportati gli andamenti delle curve transcaratteristiche di un sensore in un intervallo di concentrazioni di ossigeno dallo 0% (atmosfera di azoto) al 21% circa (aria). Dalla figura si può notare chiaramente che, all'aumentare della tensione di gate, la corrente arriva quasi ad annullarsi per basse concentrazioni di ossigeno, mentre mantiene un valore diverso da zero per concentrazioni di ossigeno più alte (curva nera, in aria). Questo fatto è in accordo con quanto sostenuto dalle considerazioni teoriche esposte nel sottoparagrafo 1.3.4.2: nonostante la V_G positiva determini una diminuzione della conduttività del PEDOT:PSS (*de-doping* elettrochimico), l'ossigeno agisce come elemento ossidante nei confronti del polimero, che in questo modo diventa più conduttivo e permette che la corrente continui a fluire all'interno del canale dell'OECT. Al crescere della quantità di ossigeno, aumenta la conduttività del PEDOT:PSS, indotta dalla reazione chimica



e dunque l'effetto provocato dall'ossigeno, che tende ad "accendere il device", si contrappone a quello della tensione positiva di gate, che cerca invece di "spegnerlo".

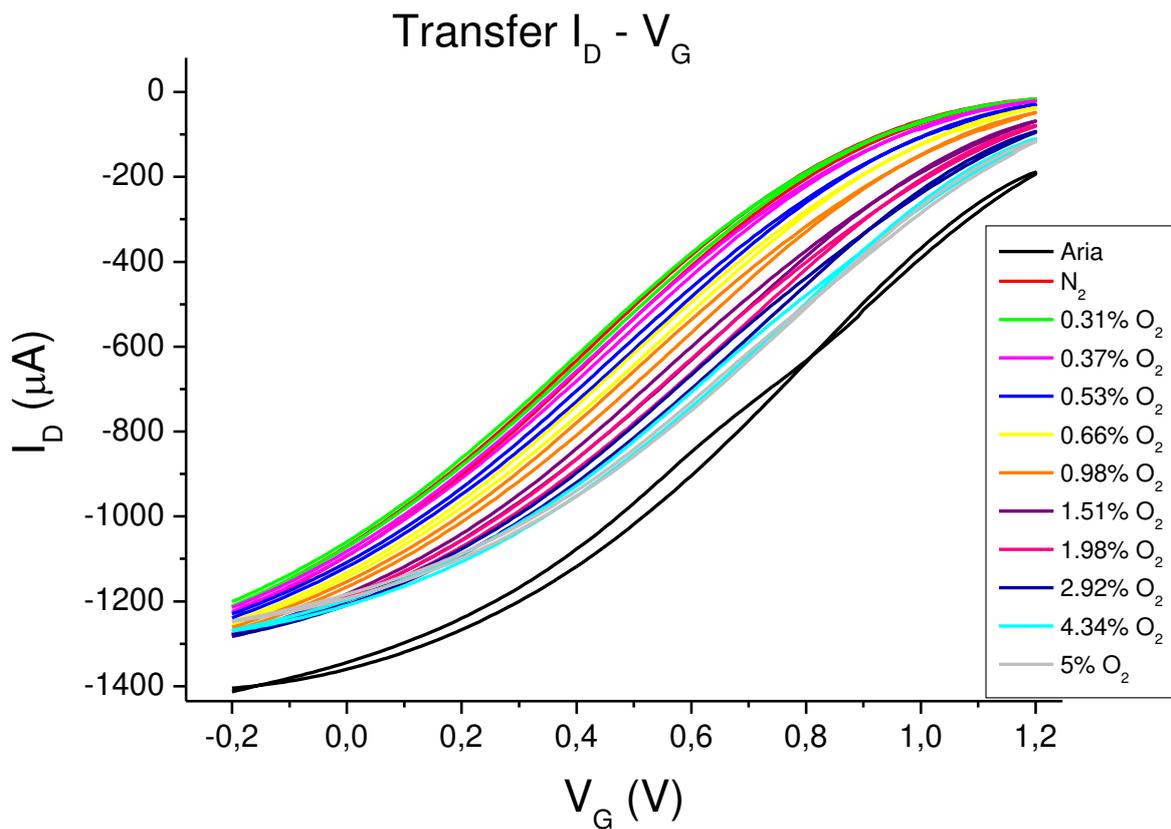


Fig.4.1 Curve transcaratteristiche per un sensore di ossigeno con tensione V_D fissa a -0.3 V e V_G variabile nell'intervallo $[-0.2; 1.2] \text{ V}$ per varie concentrazioni di ossigeno in soluzione di $\text{KCl } 0.1 \text{ M}$.

Nella Fig.4.2, invece, sono riportate delle analisi effettuate sui valori di correnti estratti per due distinti valori della tensione di gate, quelli in cui le transcaratteristiche apparivano abbastanza separate le une dalle altre. L'evidente separazione delle curve indica un range in cui il sensore risulta molto sensibile e con buone capacità amplificatorie, cosicché piccole variazioni di tensione di gate comportano notevoli aumenti della corrente di drain. In particolare, nelle curve in Fig.4.2 si evidenzia, tramite un fit, una relazione lineare fra corrente normalizzata (Equazione 3.1) e percentuale di ossigeno in soluzione, specie per basse concentrazioni. Un parametro significativo estratto da queste curve è il L.O.D (*limit of detection*) che corrisponde alla minima percentuale di ossigeno che il sensore riesce a rilevare ed è calcolabile dalla seguente formula

$$L. O. D = \frac{3 \cdot \Delta a}{b} \quad (4.1)$$

in cui Δa è l'errore associato all'intercetta della retta di fit e b è la sensibilità. Il L.O.D è pertanto interpretabile anche come la concentrazione di analita (ossigeno in questo caso) che induce un segnale tre volte più ampio del rumore sperimentale (valutato come la deviazione standard del segnale bianco)[32]. Bassi valori di L.O.D, come quelli ottenuti nelle analisi descritte, sono indice di un dispositivo altamente sensibile e che fornisce perciò ottime prestazioni nell'ambito della sensoristica.

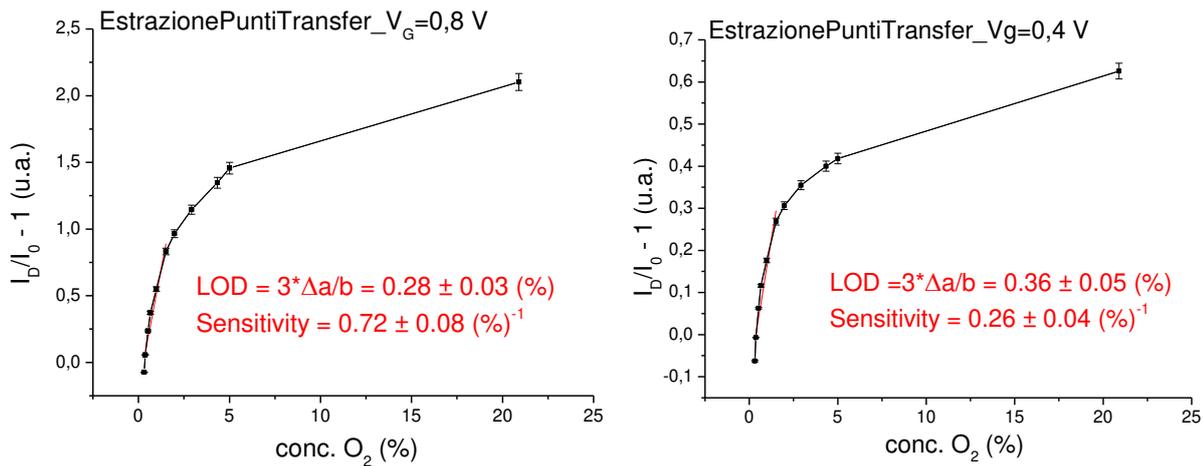


Fig. 4.2 Analisi della variazione della corrente indotta nel canale in funzione della variazione della concentrazione di ossigeno in soluzione per due diversi valori di tensione di gate: $V_G = 0.8$ V a destra, $V_G = 0.4$ V a sinistra.

Oltre alle transfer, per alcuni sensori, sono state misurate anche le curve di output impostando come parametri V_D variabile in $[-0.6 ; 0]$ V e V_G in $[0 ; 1.2]$ V. Le curve di output riportate in Fig.4.3 sono state ricavate per un valore fisso della tensione di gate, pari a 0.8 V, al fine di avere un *de-doping* elettrochimico costante dal gate ed essere in regime di spegnimento del sensore (questo valore di gate era uno dei due in cui le transfer, a diverse concentrazioni di ossigeno, risultavano ben separate, secondo lo studio precedente). Il grafico mostra come, variando la tensione di drain fino ad annullarla, si possa analizzare l'andamento della corrente alle varie concentrazioni di ossigeno: per alte quantità di ossigeno (curva nera, in aria) la corrente subisce un decremento notevole poiché il suo valore iniziale è molto alto per effetto dell'alta conduttività del canale polimerico causata dall'azione del gas; per basse quantità di ossigeno si ha invece un decremento più lieve per il motivo contrario (le basse concentrazioni di gas inducono piccoli effetti sullo stato del PEDOT:PSS).

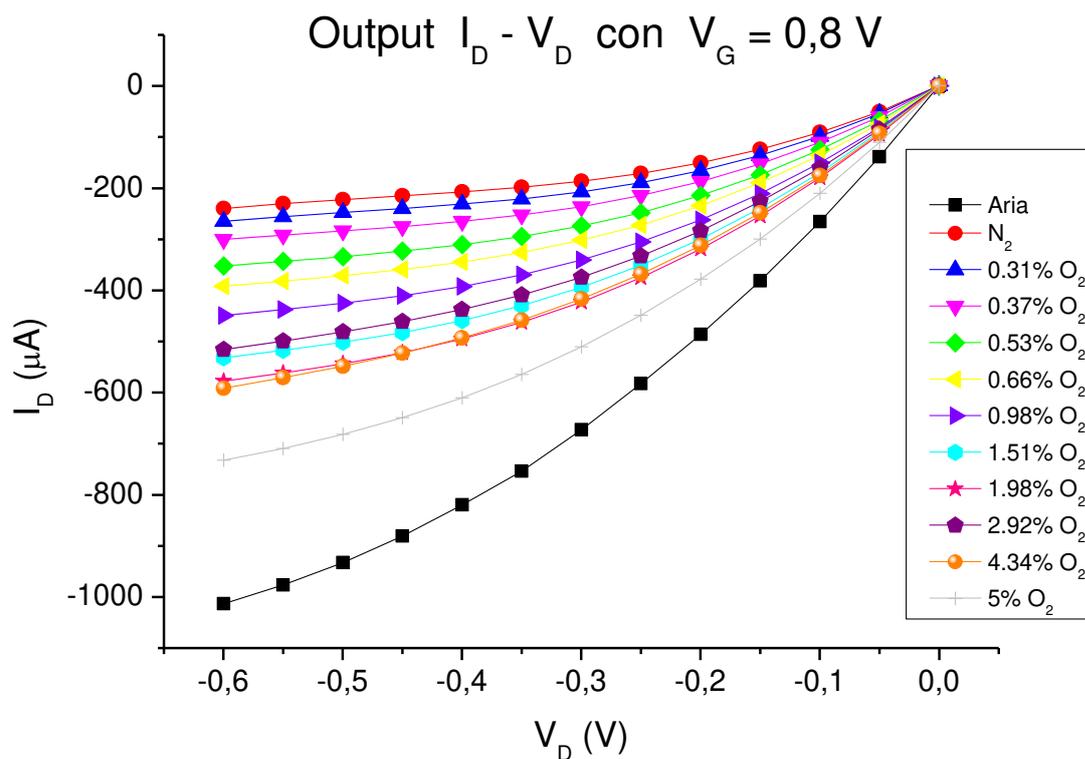


Fig.4.3 Curve di output per un sensore di ossigeno per $V_G = 0.8$ V e con tensione V_D variabile nell'intervallo $[-0.6 ; 0]$ V per varie concentrazioni di ossigeno in soluzione.

Anche nel caso degli output è risultato opportuno estrarre i valori della corrente ad un valore della tensione di drain, -0.3 V, in cui le curve sono già separate. Inoltre, questi erano gli stessi parametri usati per le transfer e questo ha permesso di confrontare la calibrazione del sensore con i due diversi tipi di misura. E' stato dunque analizzato l'andamento della variazione di corrente in funzione della concentrazione di ossigeno, che risulta pressochè lineare per piccole concentrazioni, come mostra il fit in Fig.4.4. Dallo studio eseguito, si è ottenuto un basso valore per il L.O.D (0.31%), indice di un dispositivo capace di rilevare quantità di ossigeno in soluzione fino allo 0.31%. Per concentrazioni prossime al 5% si registrano comportamenti leggermente anomali del sensore, che sembra non percepire l'aumento di concentrazione di ossigeno, come si può notare anche dalla sovrapposizione delle curve di output. Questi effetti sono probabilmente dovuti ad un deterioramento del sensore con conseguente peggioramento della conduttività.

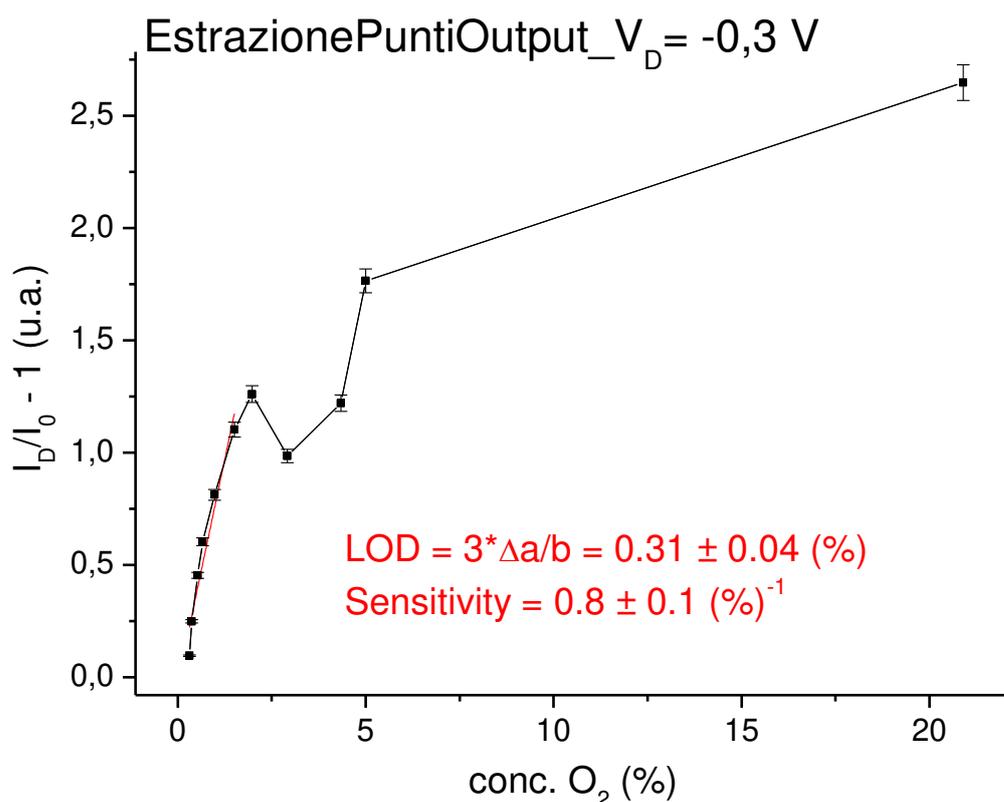


Fig. 4.4 Analisi della variazione di corrente di drain in funzione della concentrazione di ossigeno in soluzione per valori di V_D e V_G fissati rispettivamente a $-0.3 V$ e $0.8 V$.

4.1.2 Transconduttanze

La transconduttanza è una grandezza definita dalla formula $g_m = dI_D/dV_G$ ed è un parametro molto importante per studiare l'efficienza di risposta del sensore. In particolare, la transconduttanza, definisce quanto una variazione sulla tensione di gate possa influenzare la modulazione della corrente di drain che scorre nel canale dell'OECT, dunque quanto lo stato conduttivo del canale sia stato alterato. Le curve di transconduttanza si ricavano pertanto facilmente da una derivazione di primo grado delle transfer. Nelle Fig. 4.5 e 4.6 sono rappresentate le curve di transconduttanza per piccole e grandi concentrazioni di ossigeno ricavate dall'analisi delle transfer. Nonostante le curve siano parzialmente rumorose, è evidente come all'aumentare della concentrazione di ossigeno il picco si sposti verso tensioni di gate maggiori e si abbassi leggermente. Ciò è dovuto al fatto che la pendenza delle transfer diminuisce all'aumentare della quantità di ossigeno disciolto, perché il dispositivo non riesce a spegnersi del tutto, e il picco di massima amplificazione (variazione massima di corrente al variare di V_G) si riduce e si sposta in corrispondenza di tensioni di gate maggiori.

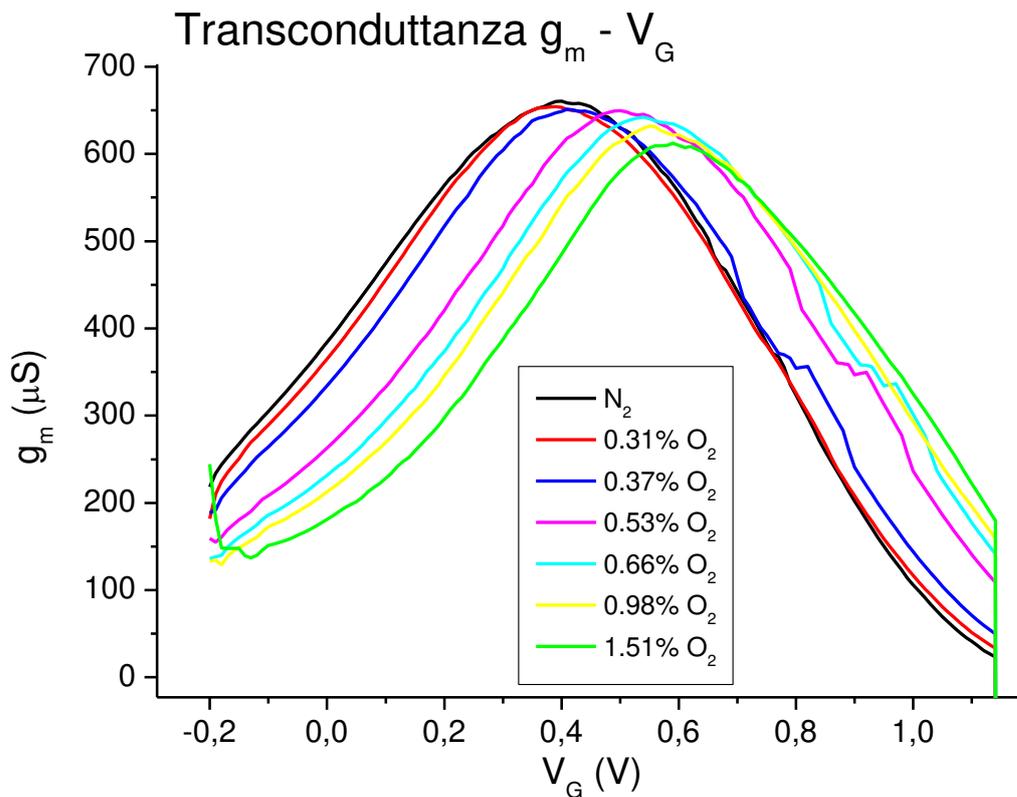


Fig.4.5 Curve di andamento della transconduttanza in funzione della tensione di gate con V_D fissa a $-0.3V$ per basse concentrazioni di ossigeno in soluzione (dallo 0% all'1.51%).

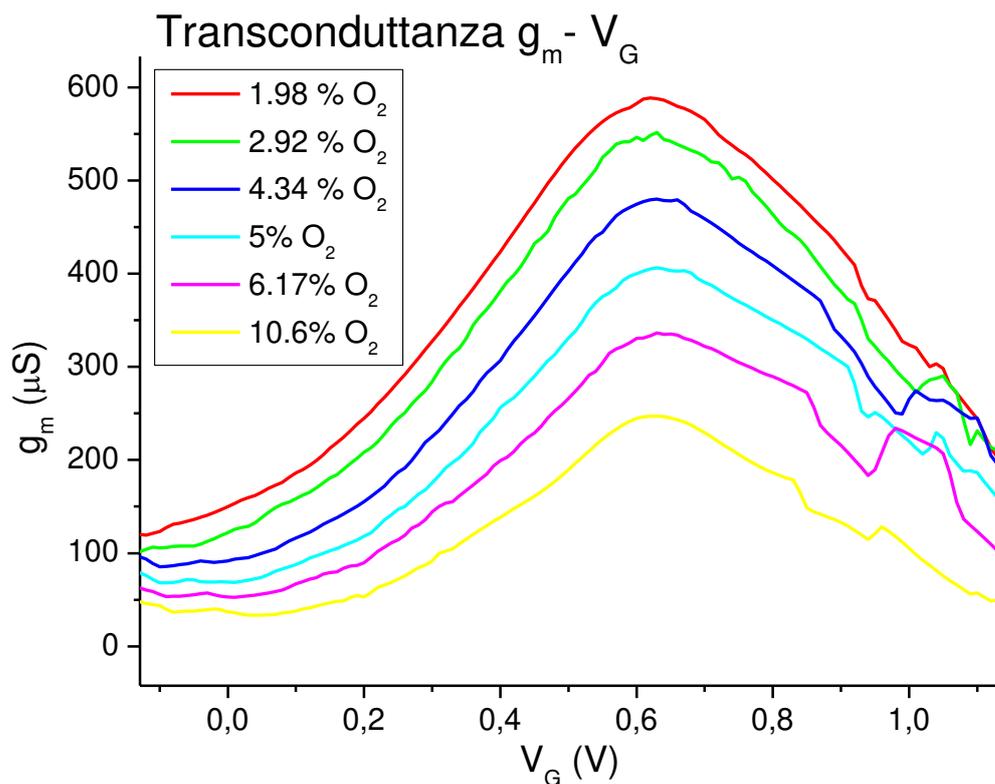


Fig.4.6 Curve di andamento della transconduttanza in funzione della tensione di gate con V_D fissa a $-0.3V$ per alte concentrazioni di ossigeno in soluzione (dall'1.98% al 10.6%).

E' stato poi ritenuto opportuno estrarre i valori massimi della transconduttanza per ogni concentrazione analizzata e osservare l'andamento del picco della transconduttanza normalizzato, secondo la formula 3.1, in funzione della quantità di ossigeno in soluzione (Fig.4.7). Anche in questo caso è evidente una correlazione lineare fra le due grandezze, specie per piccole concentrazioni, come mostra il fit in figura. E' inoltre molto basso anche il valore del L.O.D calcolato.

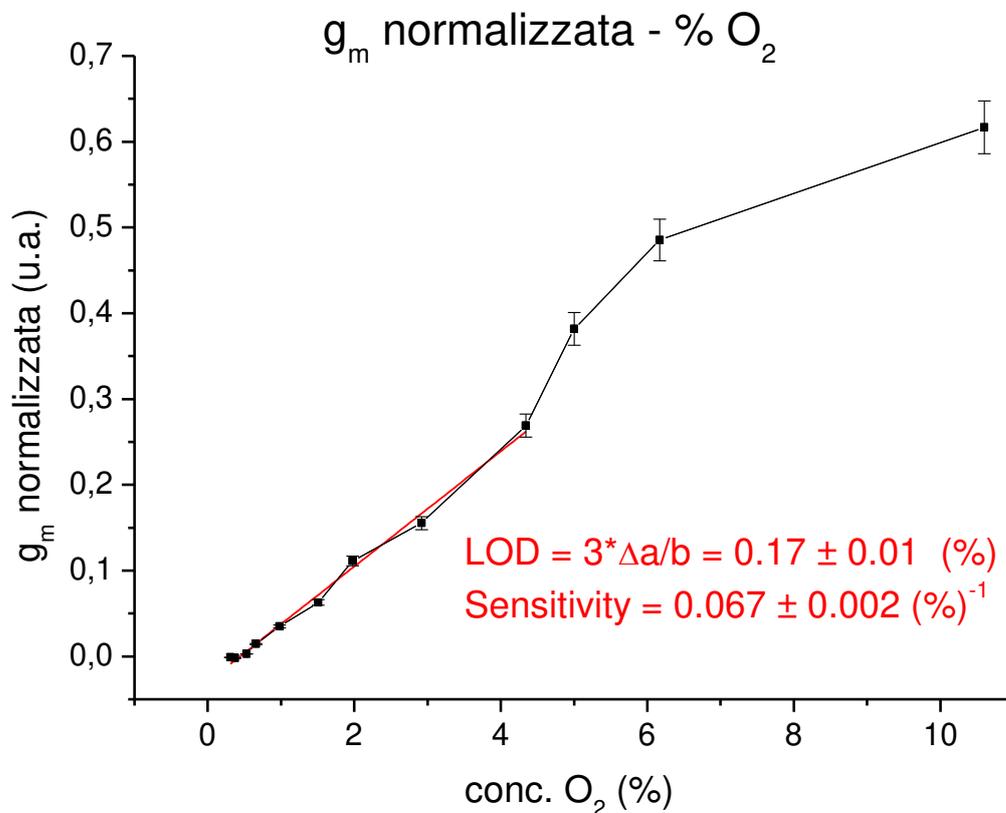


Fig.4.7 Grafico delle transconduttanze massime normalizzate su quella iniziale (N_2) in funzione delle concentrazioni di ossigeno in soluzione. E' evidente una relazione lineare fra le due per concentrazioni inferiori al 5%.

4.1.3 $I_D(t)$

Infine, su un ulteriore dispositivo è stata condotta l'analisi sull'andamento della corrente di drain nel tempo, tenendo fissa V_G a 0.4 V e V_D a -0.3 V ed aggiungendo progressivamente ossigeno in soluzione. In questa misura sono state effettuate dieci aggiunte fino ad arrivare ad una concentrazione del 5%, come mostra la Fig.4.8. Dalla curva è chiaro come all'aumento della concentrazione di ossigeno in soluzione si abbia un aumento, in modulo, della corrente che scorre nel canale del dispositivo. Ciò rispecchia quanto dimostrato da un punto di vista teorico nel sotto paragrafo 1.3.4.2: l'ossigeno agisce come elemento ossidante sul PEDOT:PSS, drogandolo di tipo p e rendendolo pertanto più conduttivo; perciò all'aumento della concentrazione di ossigeno si assiste ad un incremento della corrente di drain. Dalla figura si nota anche che questo andamento non è ben definito nelle primissime aggiunte e ciò è dovuto a dei problemi tecnici che si sono verificati durante l'inizio della misura. Infatti, questa tipologia di misura, seppur molto interessante perché permette di vedere in tempo reale la variazione della corrente al disciogliersi dell'ossigeno in soluzione, è molto delicata perché anche una piccola variazione nella quantità di gas flussato all'interno della

cella elettrolitica può causare evidenti rumori e modifiche nella corrente misurata. In particolare, in questo caso, ci sono stati dei problemi con il flussimetro, che, essendo regolabile manualmente con una manopola, non ha permesso di essere molto precisi; inoltre, per piccole concentrazioni di ossigeno, non si è riusciti a fluire con costanza e stabilità il gas all'interno della soluzione, provocando così qualche alterazione nei dati acquisiti.

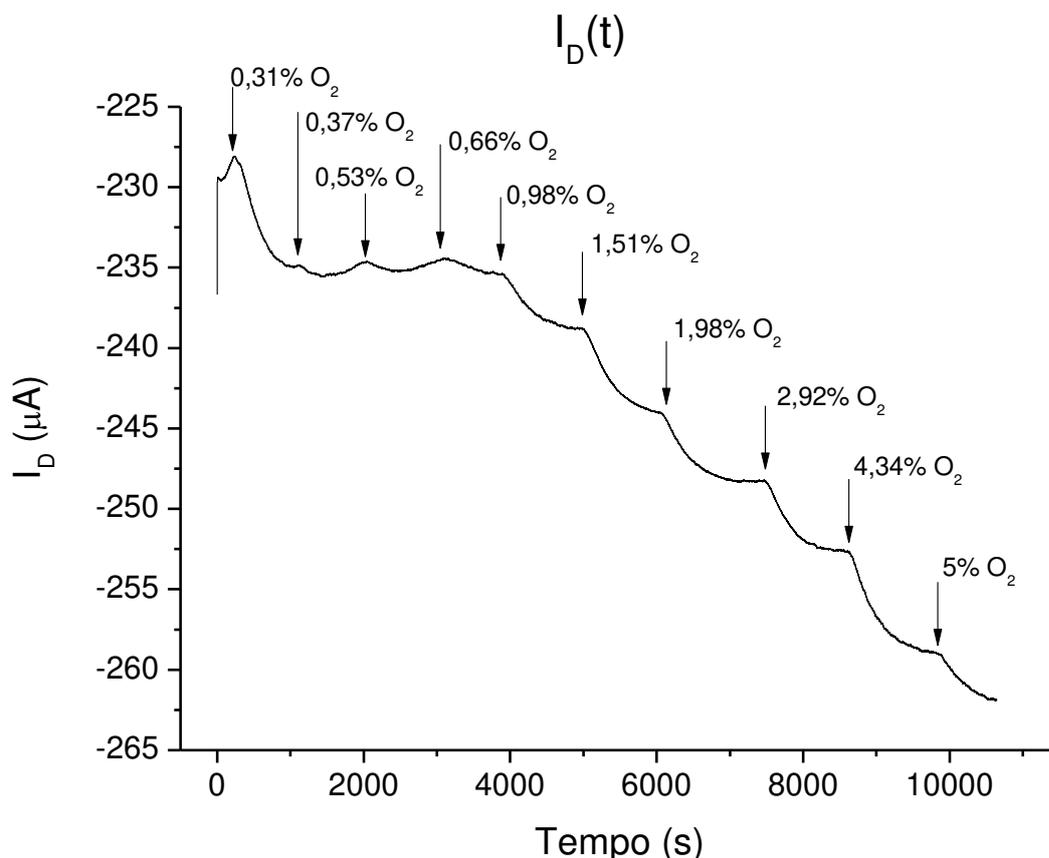


Fig.4.8 Andamento della corrente di drain in funzione del tempo per un sensore di ossigeno in soluzione salina di KCl 0.1 M per dieci diverse concentrazioni di ossigeno.

Per un'analisi più approfondita, sono successivamente stati estratti i valori della corrente dopo ciascuna aggiunta, una volta aspettata la sua stabilizzazione (quindi poco prima dell'aggiunta successiva), così da poter realizzare un grafico della corrente normalizzata, secondo la formula 3.1, in funzione della concentrazione di ossigeno in soluzione. Come si può notare dalla Fig.4.9, la corrente cresce linearmente con la concentrazione di ossigeno in due regioni distinte del grafico, evidenziate dalle rette di fit. Anche il LOD calcolato è molto basso e dunque indica che il dispositivo è un ottimo sensore. Inoltre, la scelta del valore impostato per la tensione di gate è dovuta al fatto che questo era uno dei valori in cui il sensore discriminava meglio le diverse concentrazioni di ossigeno nelle misure precedenti (es. curve di transfer ben separate le une dalle altre).

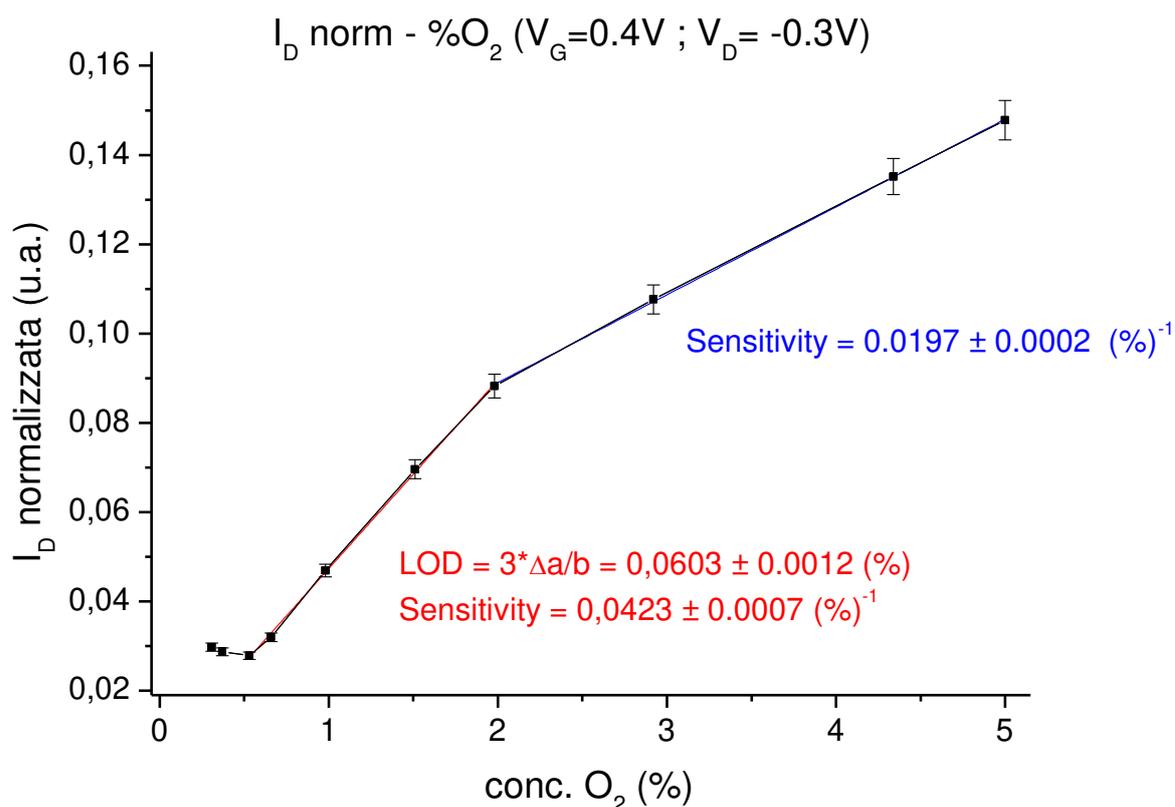


Fig.4.9 Andamento della corrente normalizzata in funzione della concentrazione di ossigeno in soluzione. Sono evidenti due regioni distinte in cui la correlazione fra le due grandezze è chiaramente lineare.

4.1.3.1 Isteresi del sensore

Inoltre, dopo aver misurato l'andamento della corrente di drain effettuando aggiunte crescenti di ossigeno in soluzione, fino ad arrivare al 5%, è stato ritenuto opportuno studiarlo anche per le stesse concentrazioni ma in ordine decrescente, effettuando così la stessa tipologia di analisi ma a ritroso. Non sono state realizzate tutte le aggiunte in quanto si stava effettuando un test preliminare e non si voleva danneggiare eccessivamente il sensore (infatti, come esposto nel paragrafo 3.2, il PEDOT subisce una forte perdita di conducibilità quando viene misurato). Come mostra la Fig.4.10, eseguendo un fit lineare sulle curve dei valori della modulazione normalizzata della corrente in funzione della concentrazione, la pendenza delle rette, nel range [0.66 - 5]%, è molto simile, entro gli errori (sensività pari $(0.026 \pm 0.002)\%^{-1}$ per l'andata e $(0.031 \pm 0.002)\%^{-1}$ per il ritorno). Questo costituisce un fatto molto interessante perché significa che il sensore ha una bassa isteresi, il che comporta che i risultati ottenuti da misure puntali fatte sul dispositivo sono quasi interamente indipendenti dalla sua 'storia', e dunque dalle misure fatte in precedenza. A basse concentrazioni le due curve si differenziano leggermente e questo può essere dovuto alla degradazione del sensore, in particolar modo nelle misure di ritorno, o alla difficoltà di fluire piccole concentrazioni di ossigeno.

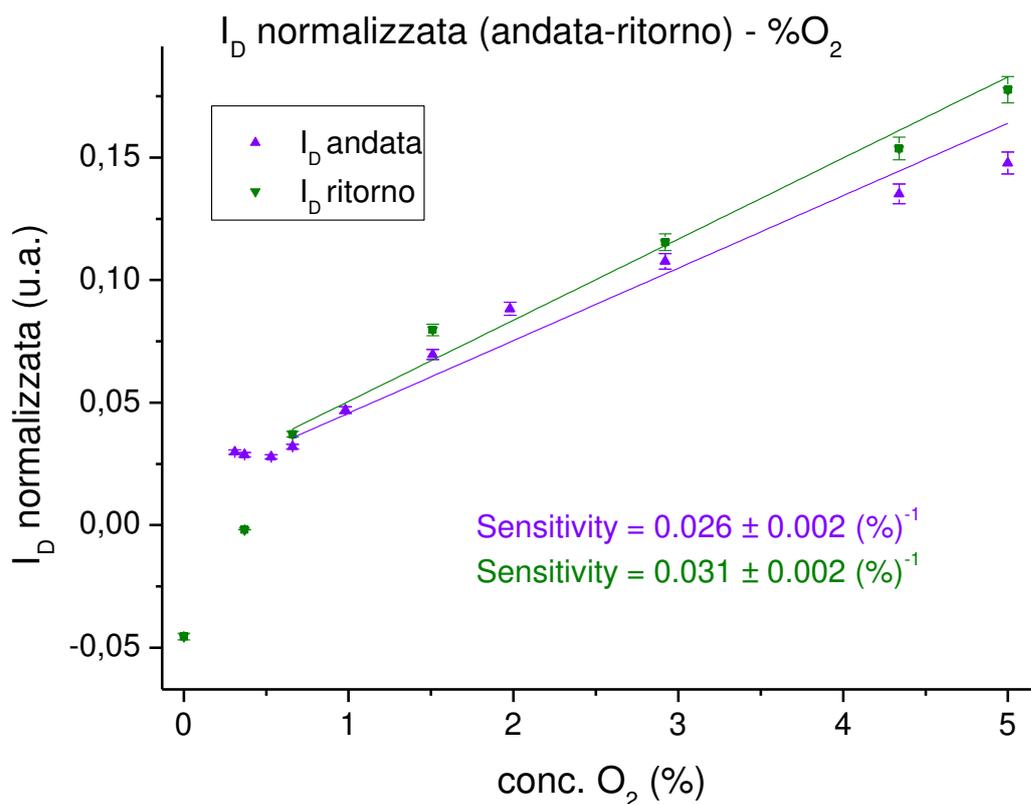


Fig.4.10 Andamento della corrente normalizzata in funzione della concentrazione per misure fatte con aggiunte di ossigeno crescenti (andata, viola) e decrescenti (ritorno, verde). E' chiaramente visibile una correlazione lineare per entrambi le misure e una pendenza delle rette di fit, sensitivity, compatibile all'interno degli errori.

4.2 Analisi e caratterizzazione in mezzo biologico (DMEM)

Le analisi in un volume di 25 ml nel mezzo biologico (DMEM) sono state condotte per un solo dispositivo come test preliminare, data la complessità della misura e il costo del liquido di cultura completo. Sono state indagate le curve di output e transcaratteristiche dell'OECT, dalle quali sono poi state ricavate quelle delle transconduttanze. Le misure relative all'andamento di corrente nel tempo non sono state fatte perché flussando ossigeno nel liquido si creavano molte bolle e un flusso continuo avrebbe causato molto rumore, alterando notevolmente le misure.

4.2.1 Transcaratteristiche e output

Le curve transcaratteristiche sono state ottenute impostando gli stessi parametri per le analisi effettuate in KCl e dunque V_D fissa a -0.3 V e V_G variabile in [-0.2 ; 1.2] V. Le transfer sono riportate in Fig.4.11 e risultano piuttosto rumorose e in contrasto con i risultati attesi e confermati anche dai grafici ottenuti per la soluzione di KCl. Infatti, il dispositivo fornisce correnti minori (in modulo) al crescere delle concentrazioni di ossigeno in soluzione e le curve appaiono sovrapposte e non distinte, ad eccezione di quella in aria che, nonostante il rumore presente, è in accordo con quanto atteso. Analogamente le curve di output di Fig.4.12, ottenute impostando V_D variabile in [-0.6 ; 0] V e V_G in [0 ; 1.2] V, sono sovrapposte e non permettono di verificare il comportamento atteso del sensore all'aumento di ossigeno in soluzione. Questi risultati fuorvianti e in disaccordo con quelli ottenuti precedentemente sono dovuti principalmente alle difficoltà che si sono riscontrate nel realizzare questa tipologia di misura, alterando i risultati ottenuti. Infatti, il DMEM, quando viene flussato l'ossigeno con il gorgogliatore, tende a fare molte bolle che, oltre ad arrivare ai contatti (che

possono venire in questo modo compromessi, nonostante le protezioni utilizzate), riescono in parte a far fuoriuscire del liquido dalla cella elettrolitica. In questo modo, le concentrazioni di ossigeno rischiano di essere alterate rispetto ai valori a cui si pensa di introdurle in soluzione, provocando dei risultati inaspettati. Inoltre, per le varie complicazioni riscontrate, le misure sono state più volte interrotte e riprese e ciò ha sicuramente inficiato sul buon funzionamento del sensore. Infine, il problema forse maggiore è dato dal deterioramento del polimero che si verifica durante la fase di misurazione: in particolare, in DMEM, il device tende a degradare più velocemente e l'abbassamento (in modulo) di corrente nelle transfer al crescere delle concentrazioni di ossigeno (inatteso) può essere dovuto a questo fattore, oltre che alla compromissione dei contatti.

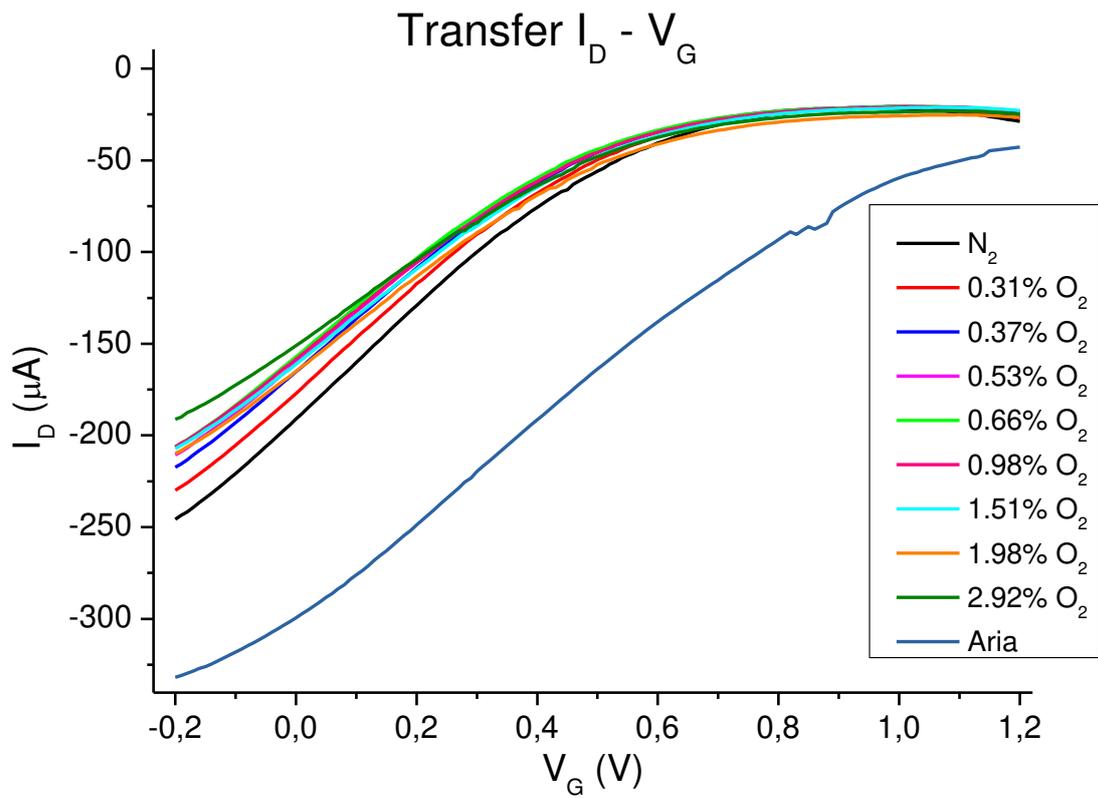


Fig.4.11 Curve transcaratteristiche per un sensore di ossigeno con tensione V_D fissa a -0.3 V e V_G variabile nell'intervallo $[-0.2; 1.2]$ V per varie concentrazioni di ossigeno in DMEM.

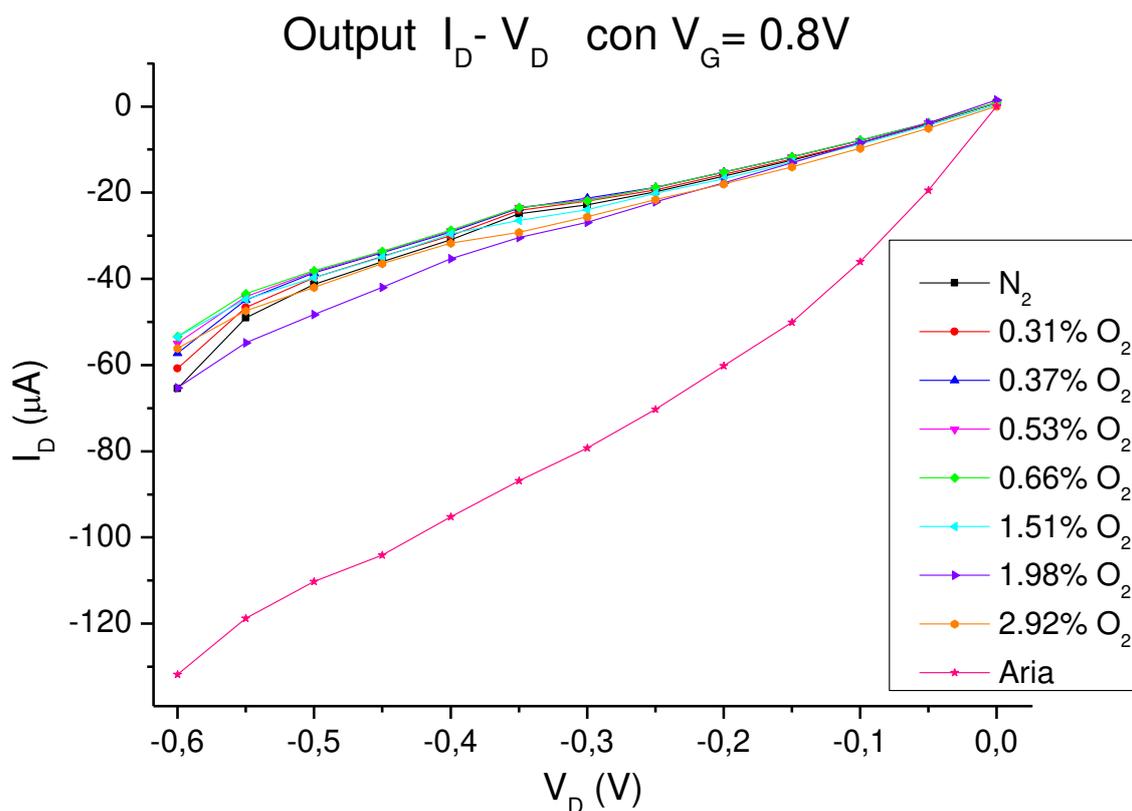


Fig.4.12 Curve di output per un sensore di ossigeno con tensione V_D variabile in $[-0.6 ; 0]$ V e V_G in $[0 ; 1.2]$ V per varie concentrazioni di ossigeno in DMEM.

4.2.2 Transconduttanze

Nonostante i problematici risultati ottenuti dalle transfer si è comunque tentato di analizzare le misure al fine di ricavare le curve per le transconduttanze riportate nelle Fig.4.13 e 4.14. Queste curve sono piuttosto rumorose e presentano dei picchi in corrispondenza dello stesso valore di tensione di gate, in quanto appunto le transfer era quasi completamente sovrapposte le une alle altre, però indicano correttamente una diminuzione del valore della transconduttanza all'aumento della concentrazione di ossigeno (transfer meno ripide per quantità maggiori di ossigeno). Un'analisi più approfondita delle curve ha portato ad estrarre i valori massimi delle g_m e, dopo averli normalizzati sul valore iniziale della transconduttanza (in N_2), a studiare il loro andamento in funzione della concentrazione di ossigeno. Escludendo il primo punto, si è eseguito un fit lineare che approssima relativamente bene la relazione fra le due grandezze, assimilabile ad una di tipo lineare (Fig.4.15). Il LOD calcolato (0.78%) è, per tutte le ragioni sopra esposte, più alto rispetto a quelli riportati fino a questo momento ma può comunque essere considerato un discreto risultato. Questa analisi fornisce un esempio concreto della 'forza' della transconduttanza che, nonostante i problemi dati dalla degradazione del PEDOT o dalla compromissione dei contatti, è un parametro molto significativo in questo studio perché studia unicamente la pendenza delle transfer, permettendo di avere comunque un'analisi ultima in accordo con le considerazioni fatte in precedenza.

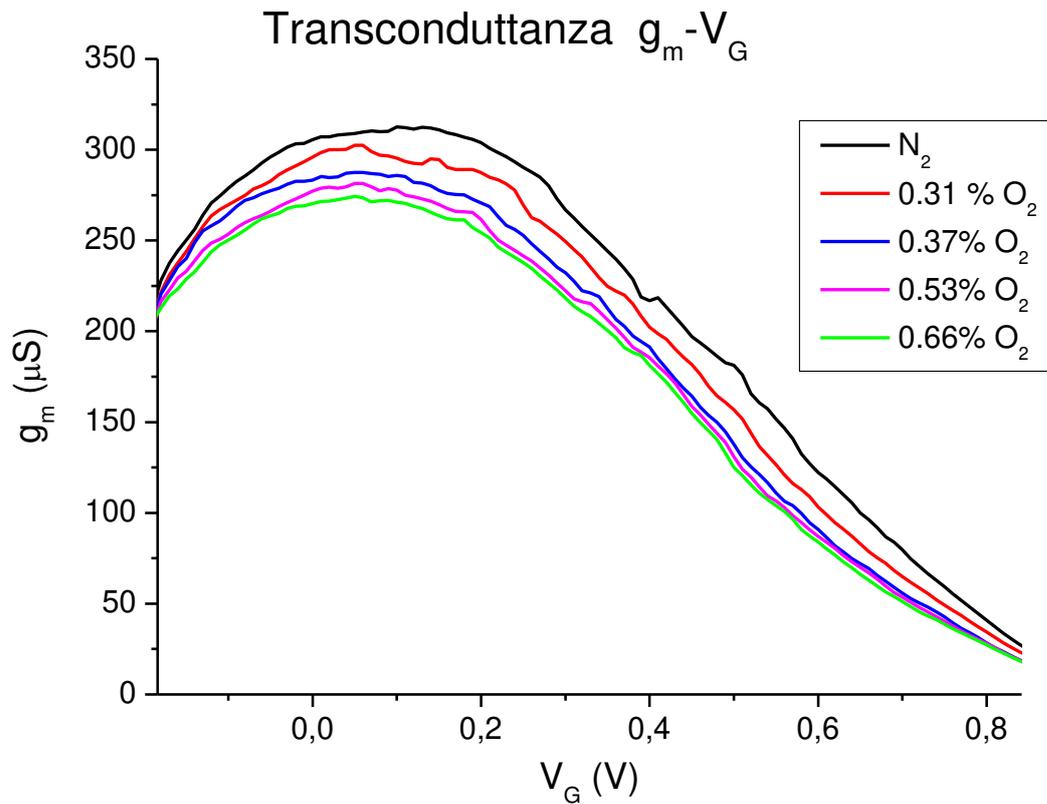


Fig.4.13 Curve di andamento della transconduttanza in funzione della tensione di gate con V_D fissa a $-0.3V$ per basse concentrazioni di ossigeno in soluzione (dallo 0% all'0.66%).

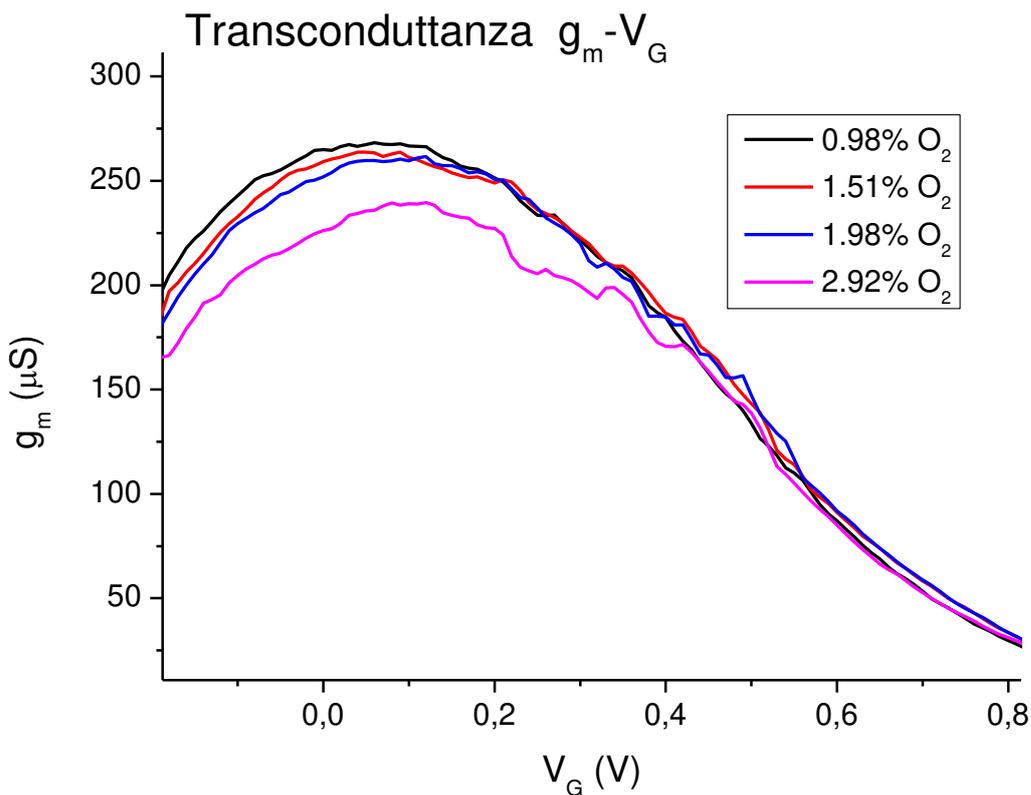


Fig.4.14 Curve di andamento della transconduttanza in funzione della tensione di gate con V_D fissa a $-0.3V$ per basse concentrazioni di ossigeno in soluzione (dallo 0.98% all'2.92%).

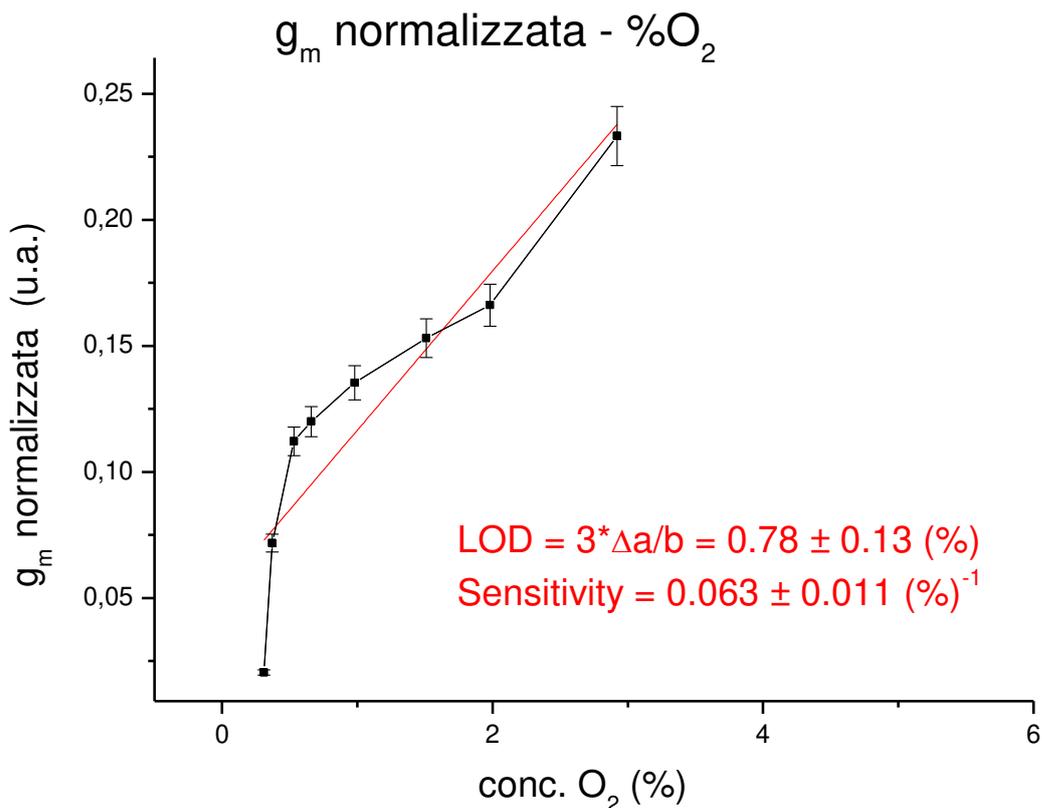


Fig.4.15 Grafico delle transconduttanze massime normalizzate su quella iniziale (N₂) in funzione delle concentrazioni di ossigeno in soluzione. E' evidente una relazione lineare fra le due per concentrazioni inferiori al 5%.

4.3 Analisi delle resistenze dei sensori

Anche nel caso dei sensori di ossigeno si è condotta un'analisi sull'andamento delle resistenze dei canali nel tempo. Infatti, il PEDOT:PSS, come tutti gli altri materiali organici, ha lo svantaggio di subire una continua degradazione allo scorrere del tempo ed in particolare si deteriora maggiormente una volta che viene stressato in fase di misurazione. Le resistenze sono state misurate solo una volta prima dell'utilizzo dei sensori perché il loro andamento era già noto dalle analisi condotte sui sensori di dopamina, mentre sono state misurate periodicamente dopo la fase di misurazione. In Fig.4.16 è riportato l'andamento delle resistenze, normalizzate sul valore misurato al termine della fabbricazione del sensore, al trascorrere del tempo per alcuni dei dispositivi sui quali sono state condotte le analisi riportate in questa tesi. Come nel caso dei sensori di dopamina, dopo il loro utilizzo la resistenza subisce un aumento considerevole ma più significativo rispetto al loro. Ciò è dovuto al fatto che la degradazione del PEDOT è principalmente legata ai processi di ossidazione ed essendo l'ossigeno un agente che ossida il polimero, a differenza della dopamina che lo riduce, i sensori di ossigeno si deteriorano maggiormente rispetto a quelli di dopamina. Inoltre analizzando il grafico, si nota che la resistenza del device 2 aumenta molto in confronto a quella degli altri due sensori dopo l'utilizzo dell'OEET; questo può essere dovuto al fatto che quel dispositivo è stato molto stressato in fase di misurazione, infatti è stato impiegato per lo studio di 12 aggiunte diverse di ossigeno, fino ad arrivare ad una concentrazione del 10.6%, anziché per le consuete 10 realizzate con gli altri sensori.

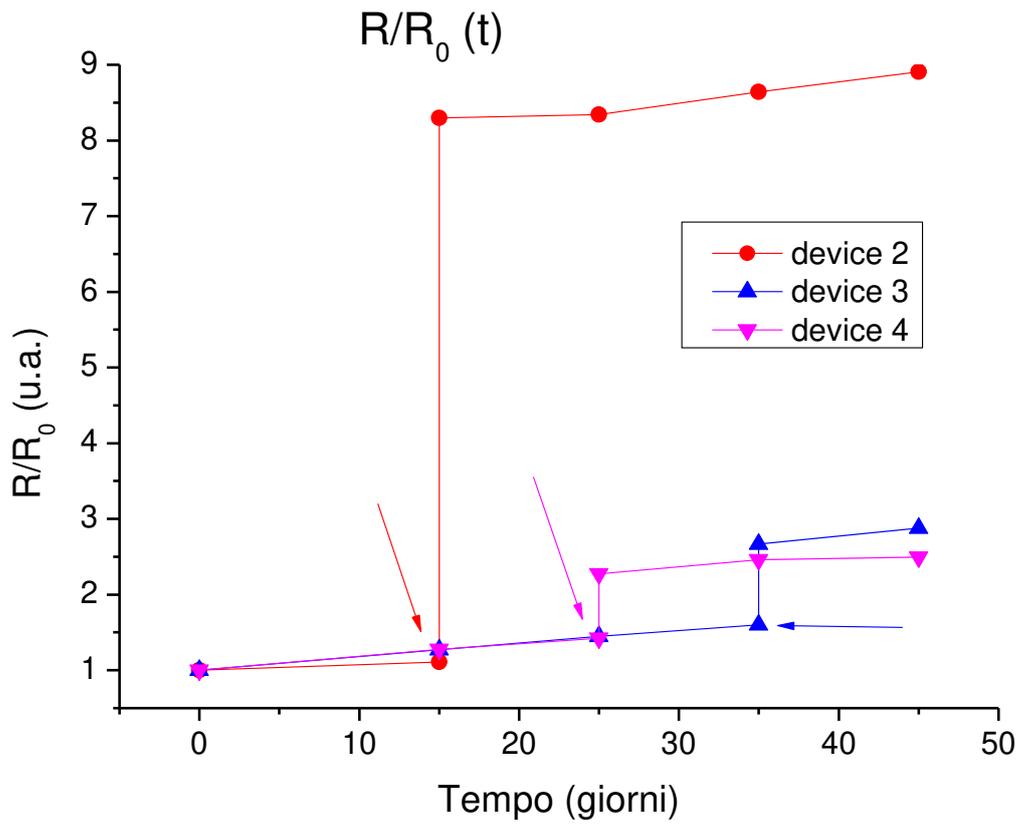


Fig.4.16 Andamento delle resistenze del canale dell'OECD, normalizzate su quella di fabbricazione del sensore, al trascorrere del tempo. Le frecce indicano i momenti corrispondenti all'utilizzo dei dispositivi come sensori di ossigeno.

Conclusioni

Questo elaborato di tesi è stato scritto con lo scopo di analizzare e caratterizzare transistor elettrochimici organici in PEDOT:PSS nella loro applicazione come sensori di dopamina e ossigeno in soluzione.

Per il sensore di dopamina si è voluto analizzare il comportamento della corrente di drain per quattro diverse concentrazioni di analita in soluzione (10, 50, 100, 200 μM). Questo studio ha permesso di verificare che la dopamina, agendo come elemento riducente, riporta il PEDOT:PSS al suo stato neutro, non conduttivo, facendo progressivamente diminuire la corrente di drain fluente nel canale dell'OECT. Si è inoltre testata un'ottima ripetibilità del sensore, confrontando le curve di corrente ottenute per lo stesso dispositivo nello stesso volume. Infine, l'analisi condotta sugli andamenti della corrente per le quattro concentrazioni di dopamina ma in volumi diversi di soluzione elettrolitica (10, 25, 100 ml) ha permesso di dedurre che la risposta dell'OECT dipende esclusivamente dalla quantità di analita in soluzione e non al volume della stessa. A conferma di ciò, si è osservato che per i tre volumi di soluzione sussiste una correlazione lineare, con sensibilità compatibili all'interno degli errori, fra il logaritmo della concentrazione di dopamina e la modulazione normalizzata di corrente. Queste analisi, specie quella di confronto su diversi volumi, sono state molto utili per la caratterizzazione del sensore, così da poterlo calibrare anche per volumi più piccoli (gocce di sangue, di sudore) tipici delle applicazioni per cui è stato progettato.

Per il sensore di ossigeno si è deciso di studiare il comportamento della corrente per concentrazioni di gas in soluzione principalmente nel range [0-5]%, che riproducono le concentrazioni tipiche degli ambienti cellulari cresciuti in ipossia. In particolare, lo studio delle transfer e degli output ha permesso di verificare che l'ossigeno, a differenza della dopamina, agisce come elemento ossidante nei confronti del PEDOT:PSS, portandolo nel suo stato drogato, conduttivo, ed incrementando il passaggio di corrente nel canale dell'OECT. Le risposte dei sensori in soluzione salina di KCl 0.1 M sono state usate per ricavare una correlazione lineare fra la modulazione normalizzata di corrente e la concentrazione di dopamina in soluzione, per determinati valori di tensione applicata al gate, specie per piccole concentrazioni (fino a circa l'1-2 %). Da quest'ultima analisi è stato possibile calcolare anche la *limit of detection* (L.O.D) per i vari sensori testati e facendo una media aritmetica fra loro si è ottenuto il valore $(0.24 \pm 0.07)\%$, che corrisponde alla percentuale minima di ossigeno in soluzione che il sensore è in grado di rilevare. Il valore ottenuto è ragionevolmente basso e ciò identifica il dispositivo come un ottimo sensore. Altro parametro che ha rafforzato questa considerazione è stata la transconduttanza, indicatrice dell'amplificazione della corrente alla variazione di tensione di gate applicata. Si sono ottenuti alti valori per questo parametro, indice di ottime capacità amplificatorie del sensore, indispensabili per applicazioni nell'ambito della bioelettronica. Inoltre, anche nel caso della transconduttanza si è osservata una buona correlazione lineare fra transconduttanza normalizzata e concentrazione di ossigeno in soluzione, per concentrazioni fino al 5%. I sensori hanno invece risposto con più difficoltà a queste stesse misurazioni realizzate nel mezzo di coltura cellulare, DMEM, a causa di numerose complicazioni dovute alle bolle generate da questo liquido mentre il gas veniva flussato. Nonostante questo problema, l'analisi delle transconduttanze ha evidenziato una progressiva diminuzione della pendenza delle transfer all'aumento di ossigeno in soluzione, a conferma del fatto che l'ossigeno mantiene acceso il sensore (ossidando il PEDOT:PSS) nonostante l'azione opposta esercitata dalla tensione di gate. In ultimo, per questi sensori si è analizzato anche l'andamento di corrente al trascorrere del tempo e si è osservato, come atteso, un aumento di corrente ad ogni aggiunta progressiva di ossigeno in soluzione. Successivamente, facendo un grafico della modulazione normalizzata di corrente in funzione della concentrazione di analita, si sono osservate due distinte regioni, $[0.53 - 1.98]\%$ e $[1.98 - 5]\%$, in cui la relazione fra le due grandezze è lineare, con sensibilità rispettivamente di $(0.0423 \pm 0.007)\%^{-1}$ e $(0.0197 \pm 0.002)\%^{-1}$. La stessa linearità è stata riscontrata anche facendo un fit sui valori di corrente estratti da misure ricavate effettuando le aggiunte in ordine inverso (sottraendo ossigeno alla soluzione, flussando cioè concentrazioni minori). Ciò mostra che il

sensores presenta un'isteresi piuttosto bassa, cosa che lo rende estremamente interessante in quanto la sua risposta risulta indipendente dalla sua 'storia' precedente nella determinazione dei risultati ottenuti da una misura puntuale.

In ultimo, l'analisi dell'andamento delle resistenze dei canali delle due tipologie di sensori nel tempo ha permesso di studiare l'entità della degradazione del polimero e, in particolare, il confronto fra i comportamenti per i due dispositivi ha supportato il fatto che l'ossidazione del PEDOT:PSS degrada maggiormente il polimero conduttivo rispetto alla riduzione dello stesso: infatti, dopo l'utilizzo, i sensori di dopamina hanno incrementato le loro resistenze in maniera ridotta rispetto a quelli di ossigeno.

Bibliografia

- [1] M. Berggren and A. Richter-Dahlfors, "Organic Bioelectronics," *Adv. Mater.*, vol. 19, no. 20, pp. 3201–3213, Set. 2007.
- [2] J. Rivnay, R. M. Owens, and G. G. Malliaras, "The rise of organic bioelectronics," *Chemistry of Materials*, vol. 26, no. 1, pp. 679–685, Gen. 2014.
- [3] R. M. Owens and G. G. Malliaras, "Organic electronics at the interface with biology," *MRS Bull.*, vol. 35, no. 6, pp. 449–456, Giu. 2010.
- [4] K. Feron, R. Lim, C. Sherwood, A. Keynes, A. Brichta, and P. C. Dastoor, "Organic bioelectronics: Materials and biocompatibility," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 19, no. 8. MDPI AG, Ago. 2018.
- [5] F. Decataldo *et al.*, "Organic Electrochemical Transistors: Smart Devices for Real-Time Monitoring of Cellular Vitality," *Adv. Mater. Technol.*, 2019.
- [6] M. Marzocchi *et al.*, "Physical and Electrochemical Properties of PEDOT:PSS as a Tool for Controlling Cell Growth," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 7, no. 32, pp. 17993–18003, Ago. 2015.
- [7] M. Ramuz, A. Hama, M. Huerta, J. Rivnay, P. Leleux, and R. M. Owens, "Combined optical and electronic sensing of epithelial cells using planar organic transistors," *Adv. Mater.*, vol. 26, no. 41, pp. 7083–7090, 2014.
- [8] D. Iandolo *et al.*, "Electron Microscopy for 3D Scaffolds—Cell Biointerface Characterization," *Adv. Biosyst.*, vol. 3, no. 2, Feb. 2019.
- [9] L. Wang, Y. Wu, B. Guo, and P. X. Ma, "Nanofiber Yarn/Hydrogel Core-Shell Scaffolds Mimicking Native Skeletal Muscle Tissue for Guiding 3D Myoblast Alignment, Elongation, and Differentiation," *ACS Nano*, vol. 9, no. 9, pp. 9167–9179, Set. 2015.
- [10] D. Khodagholy *et al.*, "In vivo recordings of brain activity using organic transistors," *Nat. Commun.*, vol. 4, 2013.
- [11] J. F. Maya-Vetencourt *et al.*, "A fully organic retinal prosthesis restores vision in a rat model of degenerative blindness," *Nat. Mater.*, vol. 16, no. 6, pp. 681–689, Giu. 2017.
- [12] D. T. Simon *et al.*, "Organic electronics for precise delivery of neurotransmitters to modulate mammalian sensory function," *Nat. Mater.*, vol. 8, no. 9, pp. 742–746, 2009.
- [13] P. Cooreman *et al.*, "Impedimetric immunosensors based on the conjugated polymer PPV," in *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 20, no. 10 SPEC. ISS., pp. 2151–2156, 2005.
- [14] X. Cui, J. Wiler, M. Dzaman, R. A. Altschuler, and D. C. Martin, "In vivo studies of polypyrrole/peptide coated neural probes," *Biomaterials*, vol. 24, no. 5, pp. 777–787, Feb. 2003.
- [15] X. Cui, J. F. Hetke, J. A. Wiler, D. J. Anderson, and D. C. Martin, "Electrochemical deposition and characterization of conducting polymer polypyrrole/PSS on multichannel neural probes," *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 93, no. 1, pp. 8–18, Ago. 2001.
- [16] D. P. Åsberg and O. Inganäs, "PEDOT/PSS hydrogel networks as 3-D enzyme electrodes," in *Synthetic Metals*, vol. 137, no. 1–3, pp. 1403–1404, 2003.
- [17] J. Y. Wong, R. Langer, and D. E. Ingber, "Electrically conducting polymers can noninvasively control

the shape and growth of mammalian cells," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 91, no. 8, pp. 3201–3204, Apr. 1994.

- [18] A. M. D. Wan, D. J. Brooks, A. Gumus, C. Fischbach, and G. G. Malliaras, "Electrical control of cell density gradients on a conducting polymer surface," *Chem. Commun.*, no. 35, pp. 5278–5280, 2009.
- [19] A. Elschner, S. Kirchmeyer, W. Lövenich, U. Merker, and K. Reuter, "*PEDOT: Principles and applications of an intrinsically conductive polymer*". CRC Press, 2010.
- [20] A. J. Heeger, "Semiconducting and Metallic Polymers: The Fourth Generation of Polymeric Materials †," *J. Phys. Chem. B*, vol. 105, no. 36, pp. 8475–8491, Set. 2001.
- [21] L. Groenendaal, F. Jonas, D. Freitag, H. Pielartzik, and J. R. Reynolds, "Poly(3,4-ethylenedioxythiophene) and its derivatives: past, present, and future," *Adv. Mater.*, 2000.
- [22] S. Ghosh and O. Inganäs, "Electrochemical Characterization of Poly(3,4-ethylene dioxythiophene) Based Conducting Hydrogel Networks," *J. Electrochem. Soc.*, 2002.
- [23] F. C. Krebs, "Fabrication and processing of polymer solar cells: A review of printing and coating techniques," *Solar Energy Materials and Solar Cells*, vol. 93, no. 4. Elsevier, pp. 394–412, 2009.
- [24] J. Rivnay, S. Inal, A. Salleo, R. M. Owens, M. Berggren, and G. G. Malliaras, "Organic electrochemical transistors," *Nature Reviews Materials*. 2018.
- [25] J. Rivnay *et al.*, "High-performance transistors for bioelectronics through tuning of channel thickness," *Sci. Adv.*, 2015.
- [26] G. Tarabella, C. Santato, S. Y. Yang, S. Iannotta, G. G. Malliaras, and F. Cicoira, "Effect of the gate electrode on the response of organic electrochemical transistors," *Appl. Phys. Lett.*, 2010.
- [27] D. A. Bernards and G. G. Malliaras, "Steady-state and transient behavior of organic electrochemical transistors," *Adv. Funct. Mater.*, 2007.
- [28] E. Stavrinidou, P. Leleux, H. Rajaona, M. Flocchi, S. Sanaur, and G. G. Malliaras, "A simple model for ion injection and transport in conducting polymers," *J. Appl. Phys.*, 2013.
- [29] S. K. Singh, X. Crispin, and I. V. Zozoulenko, "Oxygen Reduction Reaction in Conducting Polymer PEDOT: Density Functional Theory Study," *J. Phys. Chem. C*, 2017.
- [30] E. Mitraka *et al.*, "Oxygen-induced doping on reduced PEDOT," *J. Mater. Chem. A*, vol. 5, no. 9, pp. 4404–4412, 2017.
- [31] E. Scavetta *et al.*, "Dopamine amperometric detection at a ferrocene clicked PEDOT:PSS coated electrode," *J. Mater. Chem. B*, vol. 2, no. 19, pp. 2861–2867, May 2014.
- [32] "A simple all-PEDOT:PSS electrochemical transistor for ascorbic acid sensing," *J. Mater. Chem. B*, 2015.