

Ariadna Dasca Beneito

**ESTUDI I DESENVOLUPAMENT DE
TRANSISTORS ORGÀNICS ELECTROQUÍMICS
PER A LA DETECCIÓ DE REACCIONS
IMMUNOLÒGIQUES**

Dirigit per el Dr. Francisco Javier Andrade

i

Tutoritzat per la Dra. Josefa Gavalrà Martínez

TREBALL FI DE GRAU

Grau de Química



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Tarragona

2019

Índex

Agraïments	4
1. Resum	5
2. Objectius.....	6
3. Introducció	7
3.1. Àrea de treball	7
3.2. Biosensors com a detectors d'albumina. L'ahir, l'avui i el demà, l'evolució de la detecció.....	7
4. Fonaments.....	8
4.1. Transistors electroquímics.....	8
4.2. Polímer conductor	9
4.3. Caracterització d'un transistor electroquímico	10
5. Part experimental.....	12
5.1. Instrumentació.....	12
5.2. Muntatge	12
5.2.1. Muntatge de la caracterització elèctrica i del condicionament	12
5.2.2. Muntatge de la caracterització electroquímica	13
5.3. Elaboració dels elèctrodes	14
5.4. Caracterització dels elèctrodes.....	16
5.5. Llistat dels reactius emprats i manipulació.....	23
5.6. Caracterització del sensor	26
5.7. Optimització	28
5.8. Funcionalització.....	29
5.9. Detecció	30
6. Resultats i discussió	31
6.1. Caracterització d'un sensor	31
6.2. Optimització del canal	35
6.3. Detecció	41
7. Conclusions	46
8. Expectatives de futur	47
9. Bibliografia.....	48

Agraïments

Voldria agrair a diverses persones l'ajuda que m'han dispensat en la realització d'aquest Treball de Fi de Grau. En primer lloc, als meus directors, el Dr. Francisco Javier Andrade i el Dr. Pascal Blondeau per tot el que m'han ensenyat i m'han transmès al llarg d'aquests mesos. Sense el seu suport i les seves ensenyances m'hauria estat molt difícil la realització d'aquest treball. També vull donar les gràcies a la meva tutora, la Dra. Josefa Gavalda Martínez, pel seu valuós ajut, i als meus companys de Kamleon Ventures per la seva col·laboració. Per últim, vull agrair a la meva família el seu ànim i recolzament.

1. Resum

El present projecte desenvolupa la creació d'un biosensor imprès en substrats de paper per detectar de forma selectiva i en baixa concentració sèrum d'albumina humana, basat en OECT (*Organic Electrochemical Transistors*), una eina d'última generació. L'OECT és emprat com a transductor de l'esdeveniment de bioreconeixement, per tal de transformar un fenomen químic en un senyal elèctric. Aquest es durà a terme mitjançant la funcionalització de la superfície de la porta, lloc on es produirà la reacció selectiva antigen-anticòs.

The present project develops the creation of a biosensor printed on paper substrates to detect selectively and in low concentration human albumin serum, based on OECT (Organic Electrochemical Transistors), the latest generation tool. The OECT is used as a transducer of the biorecognition event, to transform a chemical phenomenon into an electrical signal. This will be carried out by functionalizing the surface of the gate, where the antigen-antibody selective reaction will take place.

2. Objectius

L'objectiu d'aquest treball és l'exploració i el desenvolupament de transistors orgànics electroquímics (OECT) que es poden aplicar a la determinació d'albúmina humana.

Aquest objectiu comporta l'assoliment de propòsits més específics, tals com:

- Entendre el funcionament d'un transistor orgànic electroquímic.
- Aplicar conceptes físics i químics en un sistema d'última generació.
- Realitzar una cerca bibliogràfica sobre un camp científic determinat.
- Realitzar i optimitzar els passos experimentals necessaris per a desenvolupar el OECT.
- Validar les mesures obtingudes amb un criteri analític.
- Entendre els càlculs a realitzar i saber interpretar les dades que en resulten a fi d'optimitzar el sistema.

3. Introducció

3.1. Àrea de treball

Kamleon Ventures és una empresa spin-off que es va crear el 2017 a partir de les tecnologies i idees sorgides dels Laboratoris de la Universitat Rovira i Virgili. En particular, el desenvolupament de patents al voltant de tecnologia de sensors per a monitoritzar la deshidratació van donar lloc al sorgiment d'aquesta empresa, que està enfocada en la creació de plataformes per a la millora del benestar de les persones, inicialment enfocada a la millora del rendiment esportiu. L'empresa té com a objectiu desenvolupar sistemes de sensors simples, robusts i econòmics que permetin millorar la qualitat de vida de la gent en tots els aspectes.

El projecte que em va designar l'empresa rep com a nom *Estudi i desenvolupament de transistors orgànics electroquímics per a la detecció de reaccions immunològiques*. Aquests sistemes presenten una potencial sèrie d'avantatges respecte els mètodes tradicionals de mesura en relació amb la seva sensibilitat, versatilitat i costos¹.

3.2. Biosensors com a detectors d'albumina. L'ahir, l'avui i el demà, l'evolució de la detecció

La detecció de biomarcadors de proteïnes té una gran importància en el diagnòstic precoç dels estats patològics greus². Per aquest motiu, una part important de la investigació en química analítica està dirigida en aquesta direcció. En aquest treball es pretén crear biosensors del tipus OECT impresos en substrats de paper per detectar de forma selectiva l'albumina de sèrum humà (HSA). Aquests OECT representen una alternativa innovadora als sensors convencionals que permet millorar sensiblement molts dels sistemes electroquímics tradicionals.

L'albumina sèrica humana és la proteïna més abundant del plasma sanguini humà, constitueix aproximadament la meitat de la proteïna sèrica. Aquesta es troba en la sang i s'encarrega de transportar hormones, àcids grassos i altres compostos, a més de mantenir la pressió oncòtica, entre d'altres funcions³.

La detecció d'albumina és d'interès ja que un nivell baix o elevat d'albumina en sang pot provocar greus danys a l'organisme, des de retenció de líquids, vòmits i pell seca fins a causar la mort. El baix nivell d'albumina en l'organisme s'associa a malalties del fetge, desnutrició, cremades, entre d'altres i nivells elevats d'albumina s'associen principalment a la deshidratació o al consum elevat de proteïnes. L'interval de referència per a les concentracions d'albumina en sèrum és d'aproximadament 35-50g/L⁴.

L'estimació d'albumina es realitza de manera rutinària en laboratoris de bioquímica clínica. En el passat, els mètodes més populars que s'empraven per detectar albumina sèrica humana (HSA) eren les precipitacions selectives. No obstant, aquests mètodes van quedar en desús degut a la seva baixa selectivitat. Actualment, es practiquen els mètodes immunoquímics i d'adhesió de colorants. Aquests mètodes presenten certes limitacions. En el cas dels mètodes immunoquímics destaca la immunoturbidimetria on una elevada concentració de l'ió calci produeix falsos positius i en el cas del mètode d'adhesió de colorants mencionar el blau de bromofenol on es pot donar falsos negatius com a resposta en orina diluïda⁵.

Aquest treball, presenta una idea innovadora assenyalant el paper dels biosensors basats en OECT com una eina poderosa en tecnologia d'immunoassaig senzilla, de baix cost i no invasiva, ultra-sensible i àmpliament aplicable. Capaç de millorar els resultats obtinguts en tots els mètodes emprats anteriorment.

4. Fonaments

4.1. Transistors electroquímics

Un transistor orgànic electroquímic és un transistor en el qual el corrent es controla per migració de ions d'un electròlit en un canal semiconductor (Figura 1). Aquest sistema està format principalment per dues parts¹. La primera d'elles s'anomena canal, aquest conté una capa prima de polímer semiconductor (en estat dopat) dipositat sobre un substrat que li fa de suport. En aquest substrat, també hi ha la font (*Source*, S) i el drenatge (*Drain*, D) els quals es troben units pel polímer conductor. La segona és una part externa al substrat anomenada porta (*Gate*, G). La part encarregada de fer d'unió entre el canal i la porta és l'electròlit.

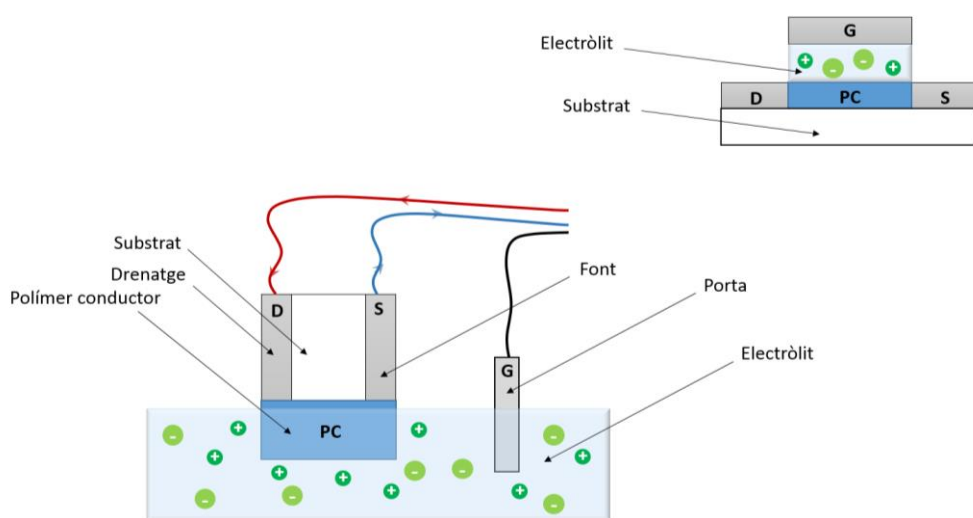


Figura 1 Representació esquemàtica d'un transistor orgànic electroquímic. Elaboració pròpia

4.2. Polímer conductor

El material que s'usa normalment en el canal dels transistors orgànics és un polímer conductor. S'ha de tenir present que no qualsevol material o polímer és vàlid ja que ha de complir els requisits adequats per a la finalitat desitjada, en aquest cas, la detecció biològica i química.

Requisits a complir:

- Ha de tenir una conducció mixta iònica/electrònica.
- El material ha de permetre ser dopat per la migració de ions, objecte d'estudi el qual es pretén detectar.
- El polímer conductor ha de ser electroquímicament actiu.
- Presentar una elevada estabilitat (a la temperatura i a la degradació).
- Conservar la seva activitat en un ampli rang de pH.

El candidat ideal per tal de dur a terme aquest projecte és el PEDOT, poli (3,4-etilendioxitiòfè) (Figura 2). El PEDOT té la capacitat de conduir corrents elèctriques ja que presenta en la seva estructura càrregues ressonants positives (vacants) deslocalitzades al llarg de les cadenes.

Comercialment, el PEDOT (insoluble) es ven juntament amb un altre polímer, l'àcid estirè sulfònic (PSS) donant lloc a una solució aquosa negra homogènia en un estat altament conductor on el polímer es troba dopat en estat tipus p^6 .

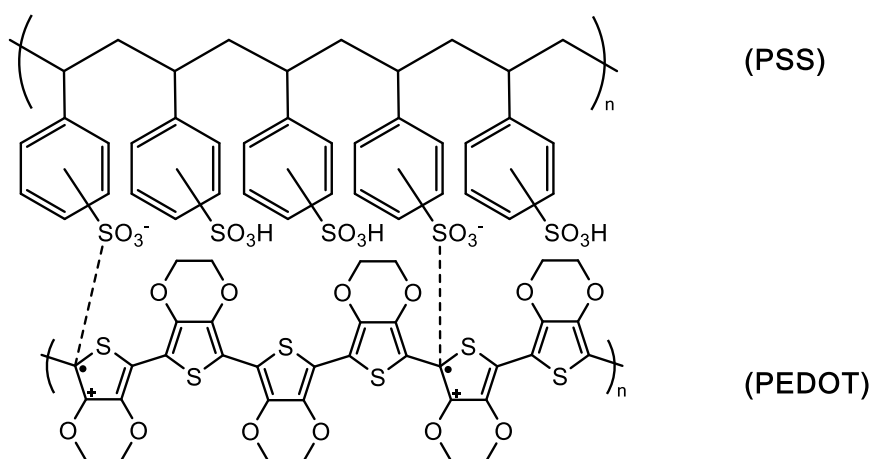


Figura 2 Esquema del compost PEDOT:PSS

El principal rol del PSS és l'estabilització de les càrregues positives mitjançant els anions sulfonats, augmentant la mobilitat iònica de les vacants i en conseqüència també la conductivitat. Un aspecte a destacar del PSS és l'augment de la capacitat de processament. Això es deu a la fabricació d'una tinta que permet una impressió ràpida i fàcil.

Tanmateix, cal tenir en compte la morfologia del PEDOT:PSS condicionada per l'estructura interna del material. Durant el procés d'assecat, aquests dos polímers formen dominis. El valor resultant de resistència dependrà de la morfologia obtinguda durant el procés de assecat, ja que el corrent que podrà assolir estarà influenciat per la formació amorfa o cristal·lina de dominis.

Un altre punt clau és que el polímer conductor és un conductor volumètric. Per modelitzar-ho es podrien considerar cables molt petits introduïts dintre d'una matriu polimèrica on a major densitat de cables i volum, major corrent i per tant, més senyal. No obstant, interessa tenir un sistema que presenti un cert volum però que sigui suficientment fi (poc gruixut) per obtenir uns resultats òptims.

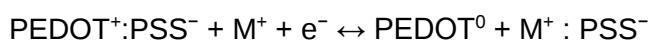
4.3. Caracterització d'un transistor electroquímic

Existeixen dos modes de caracterització en els transistors orgànics: l'elèctric (el sistema actua com un resistor) i l'electroquímic (el sistema actua com un transistor). Per tal de caracteritzar un sensor s'ha de dur a terme l'estudi dels dos modes.

Pel que fa al mode elèctric és produeix un corrent elèctric quan s'aplica un voltatge de forma directa. A partir de les magnituds intensitat i voltatge se'n deriva una tercera, la resistència. Totes elles es relacionen seguint l'expressió de la llei d'Ohm: $\Delta V_{ds} = I_{ds} \cdot R$. On la resistència, R , és la inversa de la conductància. Aquest mode engloba dos apartats durant la caracterització d'un sensor, en ambdós, el sistema actua com un resistor. Aquests són la caracterització elèctrica i el condicionament. La diferència principal rau en si el sensor es troba en contacte amb la solució (electròlit) o no. En el cas de la caracterització elèctrica, el sensor es troba en sec i en el cas del condicionament, el sensor es troba en contacte amb la solució. La finalitat del condicionament és posar apunt el sistema per tal d'obtenir un valor final constant de resistència. Aquest permetrà realitzar de manera satisfactòria l'estudi del mode electroquímic del sensor garantint l'obtenció d'uns resultats reproduïbles.

Pel que fa al mode electroquímic, aquest té lloc quan la regulació del flux de portadors de càrrega es produeix de manera remota. La metodologia a emprar per al funcionament d'un transistor electroquímic es basa en l'aplicació d'un potencial modulador a la porta (V_g), mantenint un potencial V_{ds} constant, de tal manera, que a través de l'aplicació d'un potencial extern es provoca un canvi en el corrent detectat, I_{ds} . A partir d'aquestes dues magnituds se'n deriva una tercera, la transconductància (ϕ) que és la conductància remota, $\Delta I_{ds} = \phi \cdot \Delta V_g$. Aquest mode engloba únicament una etapa de la caracterització d'un sensor anomenada caracterització electroquímica. Aquesta es duu a terme quan la solució es troba en contacte amb el canal i la porta. El punt clau és la migració de ions

de la solució cap al polímer. Segons el potencial efectiu de la porta, s'obté una major o menor migració de ions presents en l'electròlit (mitjà pel qual es troben en contacte les diferents parts del sistema). Aquesta migració produeix una alteració en el nivell de dopatge de la zona activa del polímer conductor. Depenent del signe del voltatge aplicat a la porta, s'afavoreix el dopatge (potencials positius) o el desdopatge (potencials negatius). Aquest procés és reversible; el polímer canvia entre els seus estats d'oxidació possibles. La reacció electroquímica que té lloc és la següent⁷:



On M^+ és un catió present en l'electròlit i e^- un electró de la font.

Quan s'apliquen potencials de la porta positius, té lloc la migració de M^+ al PEDOT. Es passa d'un estat oxidat (PEDOT^+) a un estat reduït (PEDOT^0) i té lloc la reacció de reducció. La conductivitat disminuirà degut a que els ions (M^+), impulsats per l'aplicació d'un potencial positiu de la porta, interaccionen amb el sulfonat que és l'encarregat d'estabilitzar les càrregues positives del PEDOT. Aquesta interacció produeix que el sulfonat no pugui estabilitzar les càrregues positives produint-ne així, una càrrega efectiva i estabilització menor. Com a resultat, el sistema tindrà un menor corrent. Els ions PSS^- continuaran dintre de la matriu polimèrica ja que tenen una mida molt gran.

Quan s'apliquin potencials de porta negatius, els ions M^+ es difondran en el medi electrolític, facilitant de nou la interacció $\text{PEDOT}^+:\text{PSS}^-$. La conductivitat tornarà a ser igual que la inicial gràcies a la reversibilitat de la reacció. Per tant, els OECTs actuen com a transductors del senyal iònic a elèctric.

També, cal remarcar que per tal d'aconseguir la màxima modulació entre els estats redox de la zona activa del polímer és necessari que l'àrea de l'elèctrode de la porta sigui considerablement més gran en comparació amb l'àrea del canal. Això, és degut a que el sistema presenta corrents d'intercanvi produïts degut a la presència de ions en solució. Quan s'aplica un canvi de potencial a la porta es produeix un corrent en el canal. Coneixent que els corrents són fluxos i flux és corrent sobre àrea, es vol tenir un sistema el qual es tingui la mateixa quantitat de càrregues a la porta que en el canal a fi d'aconseguir que el corrent passi per a un sol punt i obtenir un bon dopatge. La geometria del sistema juga un paper clau en la resposta.

5. Part experimental

5.1. Instrumentació

L'equip instrumental consta de tres parts fonamentals:

- La primera d'elles són dos fonts d'alimentació de corrent continu, la funció principal és subministrar un voltatge entre la font i el drenatge (canal) o a la porta de manera constant. Aquestes poden operar en dos modes d'operació: voltatge constant (CV) o corrent constant (CC). En el mode de voltatge constant, la font d'alimentació es comporta com una font de voltatge, mantenint constant el voltatge en els terminals de sortida, mentre que el corrent de sortida varia depenent de les condicions requerides per complir la llei d'Ohm. El mode de corrent constant és l'oposat al de voltatge constant, la font d'alimentació es comporta com una font de corrent, mantenint constant el corrent que flueix a través dels terminals de sortida, mentre que la tensió de sortida varia segons les condicions establertes per la llei d'Ohm.
- La segona d'elles és un electròmetre, un amperímetre altament sensible on la funció principal és mesurar intensitats de corrent molt petites.
- La tercera d'elles és un ordinador amb el corresponent programari instal·lat amb la finalitat d'enregistrar la lectura dels corrents mesurats mitjançant l'electròmetre. Un cop enregistrats, permet fer un estudi exhaustiu de les dades obtingudes i simultàniament fer una representació d'elles.

5.2. Muntatge

Per tal de realitzar la mesura, el circuit ha d'estar elèctricament tancat. De tal manera que es connecten en sèrie l'electròmetre (amperímetre) i una de les dues fonts d'alimentació (en mode voltatge de sortida constant).

5.2.1. Muntatge de la caracterització elèctrica i del condicionament

Per tal d'aplicar un potencial negatiu es connecta el cable unint l'entrada de color negre de l'aparell (pol negatiu) amb el drenatge del canal. Per aquest cable tindrà lloc l'aplicació del potencial, donant lloc a un corrent associat (al voltatge aplicat). La sortida del corrent tindrà lloc per la font connectada a l'electròmetre tancant el circuit.

Per tal d'aplicar un potencial positiu només es canviarà la connexió d'entrada de la font d'alimentació. El color característic dels potencials positius és el vermell (pol positiu) (Figura 3).

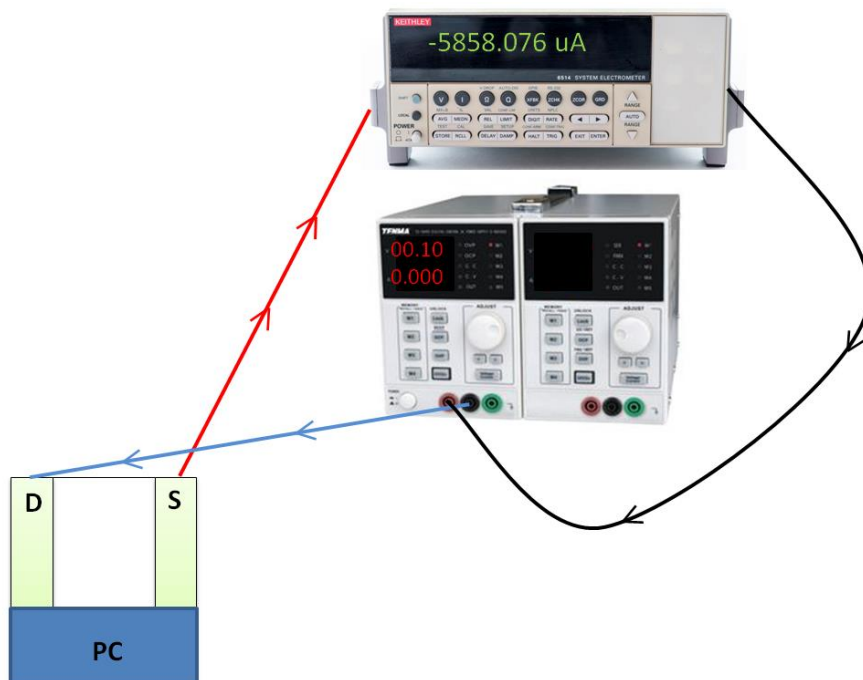


Figura 3 Muntatge de la caracterització elèctrica i del condicionament. Elaboració pròpia

5.2.2. Muntatge de la caracterització electroquímica

Per tal de realitzar la caracterització electroquímica les connexions al canal es realitzen igual que s'han esmentat en l'apartat anterior. Per tal d'aplicar el potencial extern es connecta un cable unint la porta amb l'entrada de la segona font d'alimentació en el lloc corresponent segons el signe del voltatge que es vol aplicar. Remarcar que en aquesta caracterització té lloc l'aplicació de dos voltatges de diferents fonts d'alimentació. Quan s'aplica un voltatge sempre ha de ser respecte terra ja que és una diferència de potencial. És d'interès tenir un mateix terra per les dues fonts ja que els aparells poden tenir associat un *off-set* diferent de tal manera que, a l'unir els dos aparells es pot assegurar que el potencial aplicat parteix d'un valor comú (Figura 4).

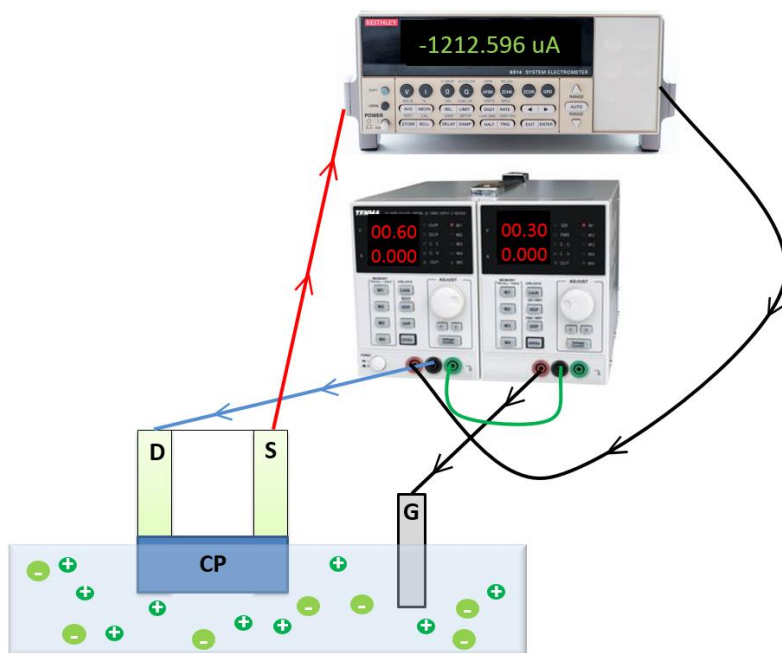
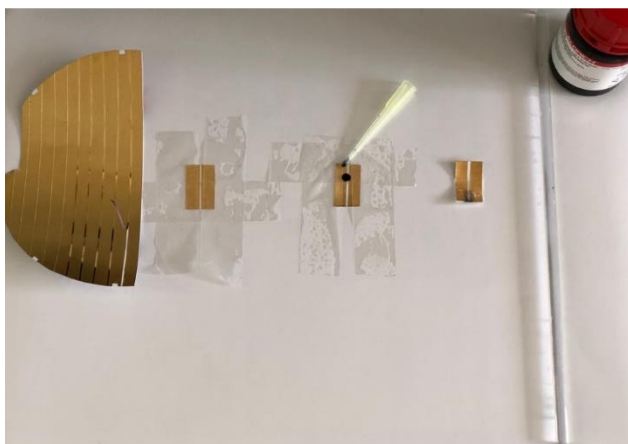


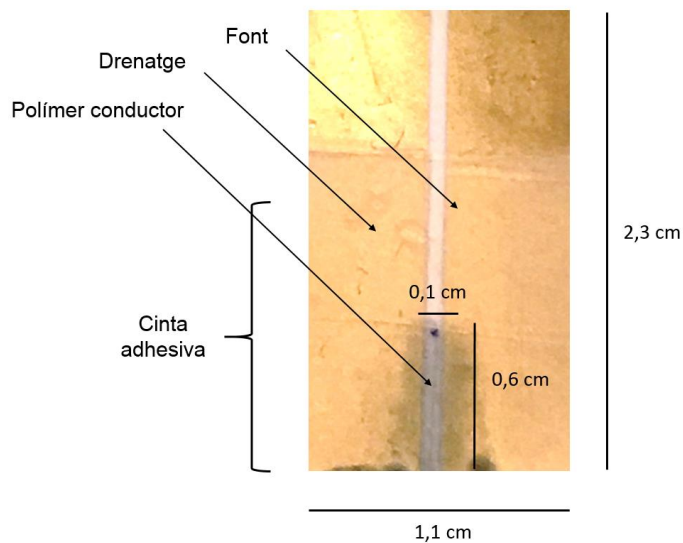
Figura 4 Muntatge de la caracterització electroquímica. Elaboració pròpia

5.3. Elaboració dels elèctrodes

La construcció del canal es duu a terme mitjançant la polvorització catòdica d'or en un paper de pòster. Es disposa l'or en franges de 0,5 cm deixant de separació la mida desitjada. Un cop obtinguts, es talla el canal format per dos franges d'or i una sense. La dimensió de llargària del canal ha de ser 2,3 cm. Després, es disposa el PEDOT sobre del canal. Per tal de controlar les dimensions es fica cinta adhesiva a les parts on no interessa la seva deposició. La incorporació del PEDOT es duu a terme ficant una gota a l'extrem superior de la cinta adhesiva i finalment amb l'ajut d'una vareta es fa lliscar per sobre del canal. Un cop incorporat, es fica el canal al forn durant 20 minuts per tal d'assecar el PEDOT. Finalment, es fica cinta adhesiva protectora a les parts del drenatge i font que estaran en contacte amb la solució durant l'experiment (Il·lustració 1 i 2).

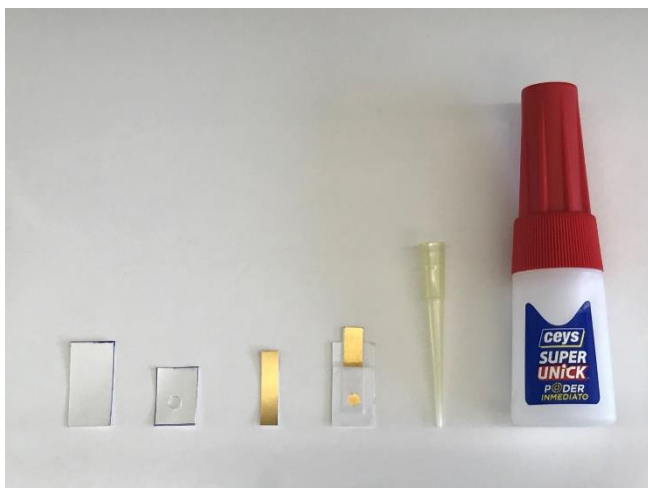


Il·lustració 1 Elaboració del canal

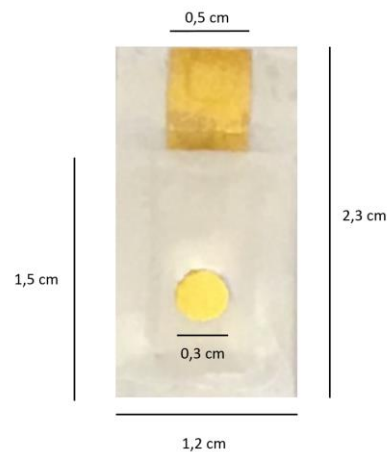


Il·lustració 2 Canal

La construcció de la porta es duu a terme mitjançant la polvorització catòdica d'or en un paper de pòster. Es preparen dues màscares de paper de pòster de dimensions 1,2 x 2,3 cm i 1,2 x 1,5 cm (amplada per llargària). La màscara superior té una finestra circular de diàmetre 3 mm, lloc per on s'exposarà la superfície de l'element electroactiu (or). Les dimensions de la làmina d'or són 0,5 x 2,3 cm. Finalment per fixar els diferents elements s'usa pegament amb l'ajuda d'una punta de pipeta (Il·lustració 3 i 4).



Il·lustració 3 Elaboració de la porta



Il·lustració 4 Porta

5.4. Caracterització dels elèctrodes

Mitjançant la tècnica ESEM (*Environmental scanning electron microscope*), es va voler obtenir informació morfològica i de la composició química superficial dels materials emprats com a elèctrodes⁸.

Aquesta tècnica es basa principalment en una font emissora, filament de tungstè, encarregada de generar un feix d'electrons (primaris) els quals són accelerats degut a l'aplicació d'un voltatge amb l'objectiu de fer un escombrat superficial de la mostra. Existeixen diferents modes d'operació del sistema, no obstant, per tal de realitzar l'estudi de mostres conductores com és aquest cas on s'empra, carboni, or i platí, el mode emprat és d'alt buit (HV). Un cop els electrons incidents interactuen amb la mostra es generen diferents senyals capturades pels diferents detectors com podrien ser electrons secundaris, electrons retro-dispersats, raigs X, entre d'altres.

Electrons secundaris (SE) – Proporcionen informació de la morfologia superficial de la mostra.

Electrons retro-dispersats (BSE) – Generen imatges amb diferent brillantor en funció de la composició química superficial.

Espectrometria d'energia dispersiva de raigs X (EPMA) – Mostra una anàlisi semi-quantitativa/quantitativa de la composició química dels elements químics presents en la superfície de la mostra.

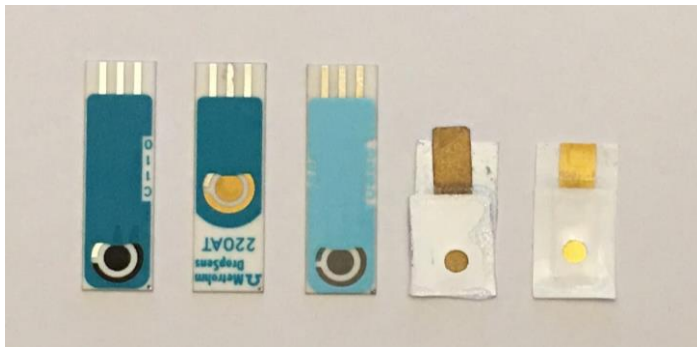
Les mostres analitzades van ser les següents (Il·lustració 5):

Elèctrodes de la companyia *Dropsens*® carboni, or i platí: Aquests elèctrodes s'han fet a partir d'una impressió serigrafiada. Dissenyats específicament per treballar en

solucions mitjançant una zona de detecció totalment immersa. Són ideals per a desenvolupar (bio)sensors específics⁹.

Elèctrodes d'or amb substrat de paper de filtre: Aquests elèctrodes es van fer a partir de la polvorització catòdica d'or. Quan s'exposa or a una descàrrega gasosa, àtoms d'or s'expulsen i condensen en forma de partícules microscòpiques d'or que són dipositades sobre un substrat (paper de filtre) després de que l'or hagi estat bombardejat per partícules energètiques. El grossor de la capa d'or formada va ser de 100 nm.

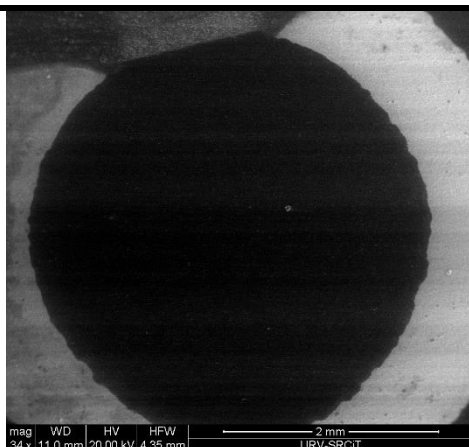
Elèctrodes d'or amb substrat de paper de pòster: Aquests elèctrodes es van fer a partir de la polvorització catòdica. El grossor de la capa d'or formada va ser de 100 nm.



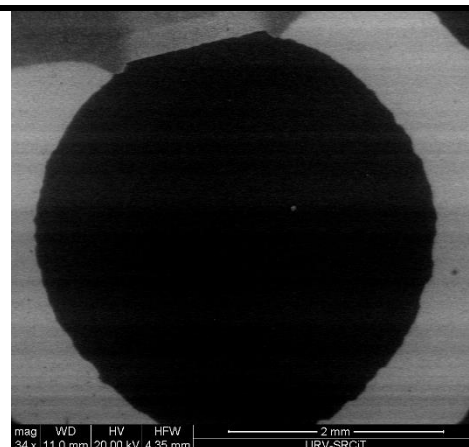
Il·lustració 5 Elèctrodes d'estudi

Tot seguit, es mostren les imatges aconseguides segons el senyal d'estudi de les diferents mostres (Figures de la 5 a la 10).

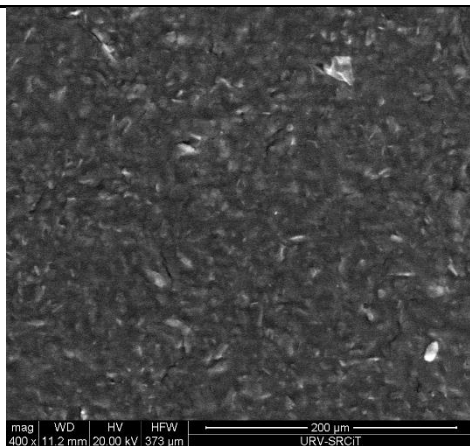
Dropsens de carboni



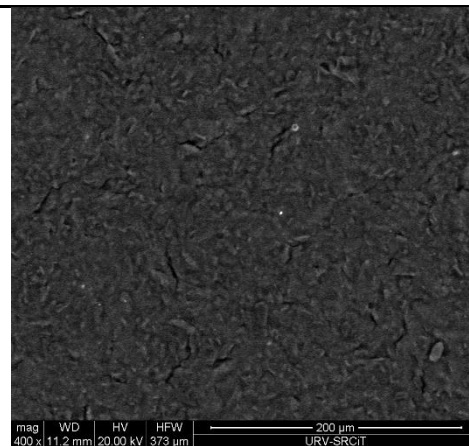
X34



X34 BSE



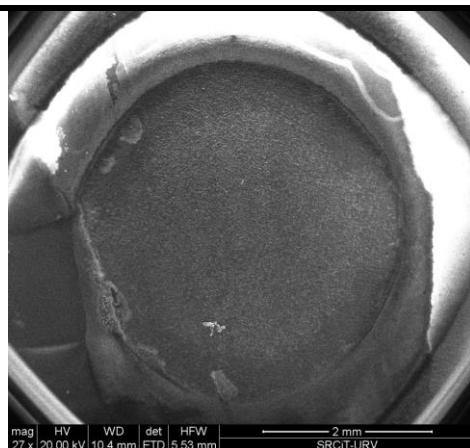
X400



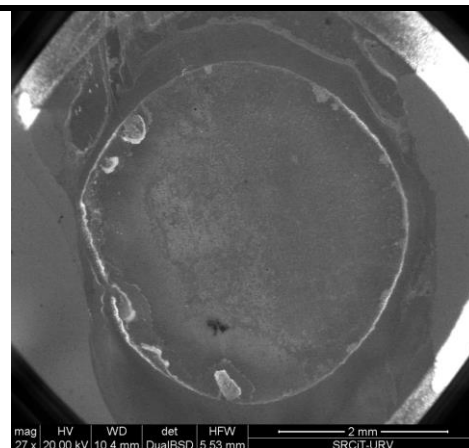
X400 BSE

Figura 5 *Dropsens de carboni*

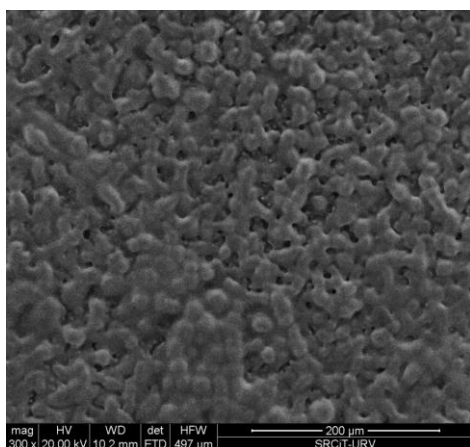
Dropsens de plati



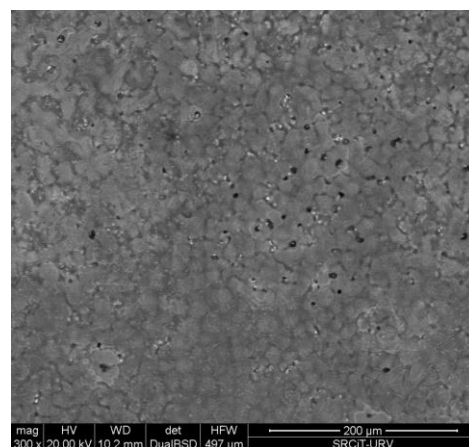
X27



X27 BSE



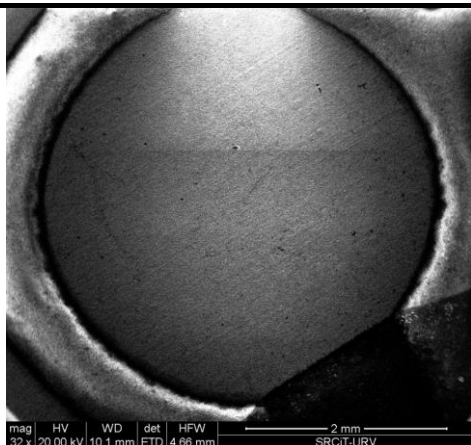
X300



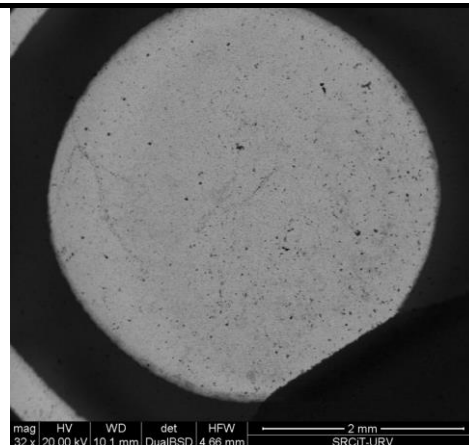
X300 BSE

Figura 6 *Dropsens de plati*

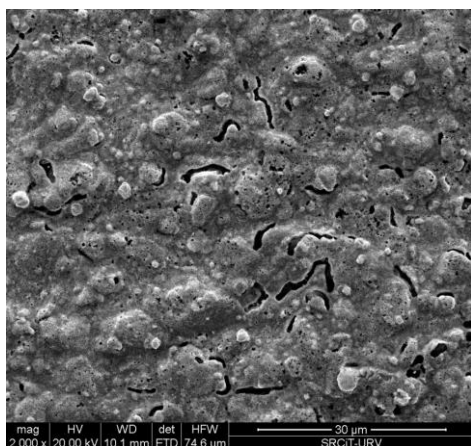
Dropsens d'or



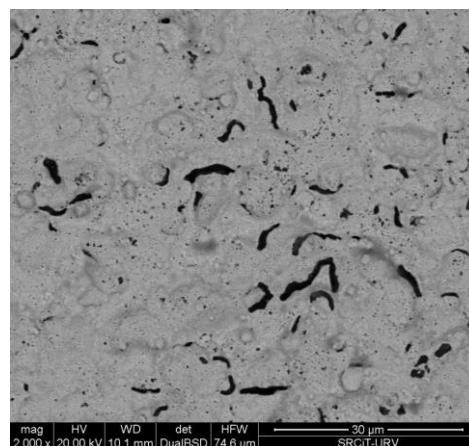
X32



X32 BSE



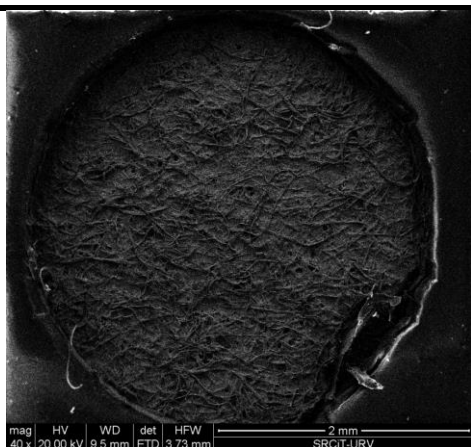
X2000



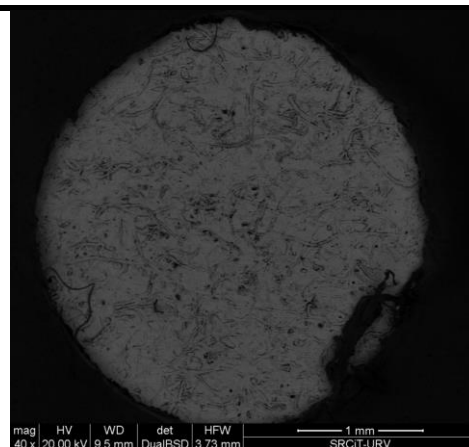
X2000 BSE

Figura 7 Dropsens d'or

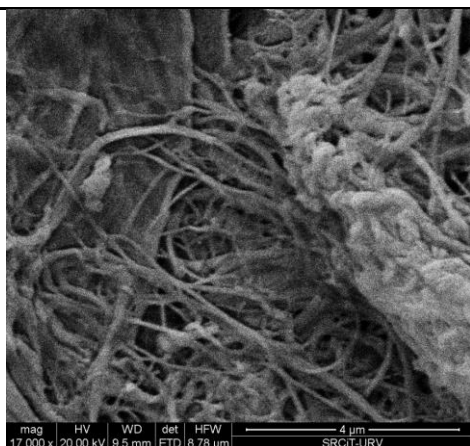
Or dipositat sobre paper de filtre



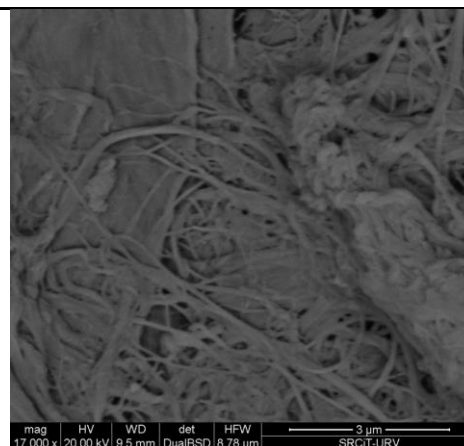
X40



X40 BSE



X17000



X17000 BSE

Figura 8 Or dipositat sobre paper de filtre

En les anteriors figures, les imatges mostrades a l'esquerra van ser enregistrades mitjançant l'estudi dels electrons secundaris i les de la dreta amb electrons retro-dispersats. Pel que fa a l'estudi del senyal SE (imatges de l'esquerra), cal remarcar la morfologia observada en els *dropsens* de platí, or i l'or dipositat sobre el paper de filtre. En el cas del platí són formes globulars allargades (Figura 6), en l'or petits grànuls (Figura 7) i en el paper de filtre fibres característiques del substrat (Figura 8). Per tal d'analitzar més detalladament les imatges de la dreta es va realitzar l'estudi EPMA.

Taula 1 Espectrometria d'energia dispersiva de raigs X del *dropsens* de carboni, d'or, de platí i paper de filtre

Resultats (% en pes)	Cl	S	O	Pt	Al	C	Au
<i>Dropsens</i> de C	12.55	0.47	6.62		0.40	80.32	
<i>Dropsens</i> de Pt				100			
<i>Dropsens</i> de Au					1.11	10.8	88.09
Paper de filtre						33.33	66.67

En la taula 1 es mostren els resultats obtinguts de l'estudi de la composició en pes de cada element mitjançant EPMA dels diferents *dropsens* i del paper de filtre. Pel que fa al de carboni, majoritàriament conté carboni i també cal destacar l'aparició de clor, aquest podria provenir del substrat (Figura 5). En el cas del platí la seva composició en pes és d'un 100% platí (Figura 6). En canvi, en el cas del *dropsens* d'or es va poder veure la presència de diversos elements. El majoritari és l'or, seguit del carboni i una quantitat residual d'alumini. L'or es va atribuir a la capa activa del *dropsens* i el carboni i l'alumini a zones del substrat on mancava la deposició d'or (Figura 7). En el cas de l'or

dipositat sobre el paper de filtre es va observar una composició formada per dos elements. El carboni es va atribuir al substrat i l'or a la capa activa (Figura 8).

Pel que fa a l'estudi del senyal BSE (imatges de la dreta), en destaca el cas del *dropsens* d'or on es va visualitzar la presència de zones amb diferents tonalitats. Les zones més clares fan referència als elements atòmics més pesats, en aquest cas l'or. En canvi, les zones amb tonalitats més fosques fan referència a elements més lleugers que són l'alumini i carboni (Figura 7).

Els estudis anteriors van permetre confirmar que les mostres analitzades presentaven una correcta deposició del material d'interès (carboni, or o platí).

En el cas dels elèctrodes de paper de pòster es va realitzar un estudi més detallat degut a les diferents parts observades al realitzar BSE (Figura 9 i 10).

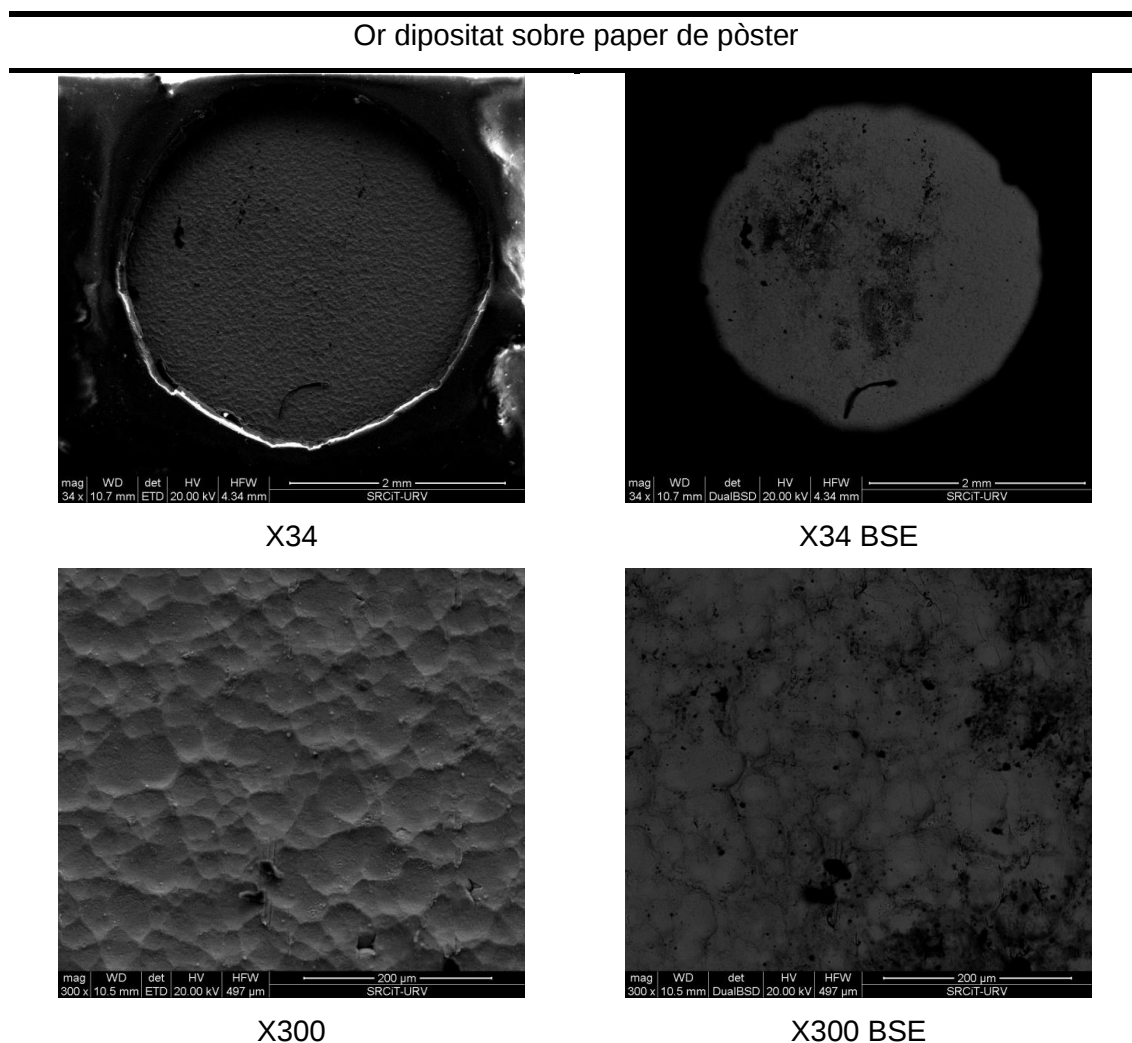


Figura 9 Or dipositat sobre paper de pòster

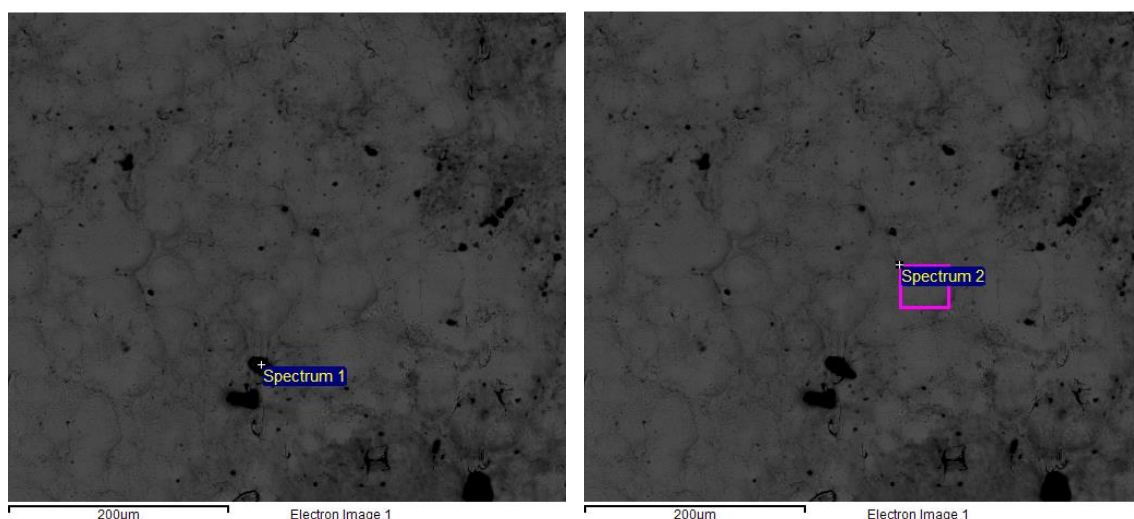


Figura 10 Punts d'estudi de l'or dipositat sobre paper de pòster

Taula 2 Espectrometria d'energia dispersiva de raigs X de l'or dipositat sobre paper de pòster

Resultats (% en pes)	C	O	Na	Cl	K	Au
Espectre 1	55.73	11.02	0.78	2.42	1.46	28.59
Espectre 2	20.71	8.43				70.85

Es va realitzar un estudi EPMA de dos punts diferents de la mostra d'or dipositat sobre paper de pòster (Taula 2). S'observà que en l'espectre 1 el percentatge en pes majoritari corresponia al carboni, aquest provenia del paper. I en el cas de l'espectre 2 el percentatge majoritari era l'or, element el qual es va dipositar sobre el substrat de paper. Destacar la presència de clor atribuïda com a element blanquejant del paper.

Finalment, es va concloure que la deposició de l'or havia estat satisfactòria.

5.5. Llistat dels reactius emprats i manipulació

Taula 3 Llistat dels diferents reactius emprats, dades de la seva perillositat i la manipulació recomanada

Reactiu	Casa Comercial i Puresa	Perillositat (Pictogrames)	Manipulació	Altres aspectes d'interès
Poli(3,4- etilendioxitiofè)- poli(estirè sulfonat) (PEDOT:PSS)	Sigma-Aldrich 3.0-4.0% en H ₂ O		Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	Conservar en un lloc sec i ben ventilat. Emmagatzemar en un lloc fresc. Conservar 2 - 8°C
N-(3- Dimetilaminopropil)- N'-etilcarbodiimida hidroclorur (EDC)	Sigma-Aldrich ≤100%	 	Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	Conservar a -20°C
Etanolamina	Sigma-Aldrich ≥98%	 	Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	-

3- Àcid mercaptopropionic	Sigma-Aldrich ≥99%	 	Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	Conservar en un lloc sec i ben ventilat.
N-hidroxisuccinimida (Sulfo-NHS)	Sigma-Aldrich 98%	-	Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	Conservar en un lloc sec i ben ventilat. Sensible a la humitat.
Clorur de sodi	Sigma-Aldrich ≥98%	-	Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	Conservar en un lloc sec i ben ventilat. Emmagatzemar en un lloc fresc.
Clorur de potassi	Sigma-Aldrich 99.0 -100.5%	-	Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	Conservar en un lloc higroscòpic, sec i ben ventilat.

Fosfat de potassi monobàsic	Sigma-Aldrich ≥99%	-	Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	Conservar en un lloc sec i ben ventilat. Emmagatzemar en un lloc fresc.
Fosfat de sodi monobàsic dihidratat	Sigma-Aldrich ≥99.0%	-	Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	Conservar en un lloc sec i ben ventilat. Emmagatzemar en un lloc fresc.
Etanol absolut, per a síntesis	Scharlau 100%	 	Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	Conservar entre 5-40°C
Sèrum d'albúmina humana	Sigma-Aldrich ≥99%	-	Bata, ulleres de seguretat, guants i vitrina	Conservar en un lloc sec i ben ventilat. Emmagatzemar en un lloc fresc. Conservar 2 - 8°C

La fitxa de seguretat del Anti-HSA no es troba disponible a la pàgina del comerciant (Sigma-Aldrich). No obstant, a l'envàs del reactiu es troba especificat com conservar-lo concretament entre 2-8°C i si es vol emmagatzemar per a un llarg termini guardar-lo al congelador a -20°C.

5.6. Caracterització del sensor

La caracterització d'un sensor consta de cinc etapes principals, aquestes són les següents:

- Mesura de la resistència estàtica
- Caracterització elèctrica
- Càlcul de la resistència dinàmica
- Condicionament
- Caracterització electroquímica

Primer de tot, cal esmentar que qualsevol material sempre presenta dos tipus de resistències: la estàtica i la dinàmica. La resistència estàtica es troba realitzant la mesura amb un multímetre digital, és el valor de resistència donat per l'aplicació d'una intensitat de corrent i mesurada una diferència de potencial. S'anomena estàtica perquè es calcula fent el quocient en un punt. No obstant, la resistència que es mesura al ficar dos puntes en la part conductora del polímer és una resistència lineal entre dos punts. Tot hi no ser la manera més òptima de mesurar la resistència estàtica ofereix una aproximació del valor real de resistència del sistema. Hi ha una manera més acurada de mesurar la resistència estàtica que s'anomena resistència de quatre puntes. Quan es té una superfície que condueix, no es pot mesurar amb dues puntes ja que el valor de resistència mesurat canvia en funció de l'àrea i la línia del camp elèctric. En canvi, si es realitza la mesura de la resistència amb quatre puntes el valor de resistència que s'obté és independent de la geometria. S'avaluen les línies de conductivitat al llarg del camp elèctric.

La resistència dinàmica és aquella que prové de la mesura de diferents intensitats per a diferents voltatges. Aquesta es calcula fent la inversa del pendent d'una corba intensitat en front el voltatge.

En el cas dels materials conductors (materials òhmics), per exemple: un cable, un resistor, segueix la llei d'Ohm. De tal manera, que la resistència estàtica i la dinàmica coincideixen.

En el cas dels materials semiconductors (materials no òhmics) com els transistors, díodes, són aquells materials en els quals existeix una relació no lineal entre el voltatge aplicat sobre ells i el corrent que els travessa. La resistència obtinguda fent el quocient V/I no és constant, sinó que és funció de la intensitat I . Per tant, la resistència dinàmica i la resistència estàtica no tenen el mateix valor.

Un cop trobada la resistència estàtica del sensor emprant un multímetre digital, s'efectua la caracterització elèctrica on el sistema actua com un resistor. Prèviament a dur a terme

la caracterització, es realitza un petit *screening* per saber la magnitud de corrent mesurat a l'aplicar un voltatge constant de drenatge. És d'interès trobar un corrent no més elevat de 5-6 mA ja que un de més elevat donaria lloc a l'efecte Joule, fenomen irreversible el qual té lloc en un conductor quan circula corrent elèctric. Aquest es basa en la transformació d'energia cinètica dels electrons en calor degut als xocs que pateixen amb els àtoms del material conductor pel qual circulen, elevant la temperatura del material¹⁰. Aquest efecte afecta de manera molt significativa al sistema d'estudi degut a les seves petites dimensions. Caldrien emprar dissipadors per tal de poder arribar a corrents més elevades i així evitar entrar en cicles de corrent. Un cop trobat els corrents d'interès, es realitza la caracterització elèctrica fixant l'interval de voltatges d'estudi i es representa el corrent de drenatge en funció del potencial aplicat. Després de realitzar la caracterització elèctrica es calcula el valor de resistència fent la inversa del pendent de la recta trobada. Tot seguit, es condiciona el sensor. S'aplica el mateix interval de potencials estudiats en la caracterització elèctrica amb la diferència que ara, el sensor es troba en contacte amb un electròlit. Aquesta etapa es realitza tantes vegades com sigui necessària. Aquesta finalitza quan al realitzar de nou un condicionament, els valors de corrent mesurats coincideixen de manera idèntica o molt similar amb el condicionament anterior. També és d'esperar que al finalitzar els diferents condicionaments, previs al de confirmació, tingui lloc una modificació de la resistència del sensor degut a la presència de ions en el polímer conductor.

Finalment es duu a terme la caracterització electroquímica del sensor on el sistema actua com un transistor. La funció principal d'aquesta etapa és avaluar la modificació del corrent mesurat en funció de la migració de ions de l'electròlit cap al polímer conductor. Per tal d'avaluar aquest efecte, jugarà un paper clau el potencial aplicat al drenatge (canal) i a la porta. Per tal de poder realitzar aquest estudi, es fixa el potencial de drenatge mentre es fa un escombrat de potencial a la porta. Com es vol examinar l'efecte de la migració de ions, el signe del voltatge a aplicar al canal serà negatiu mentre que el de la porta positiu. Per tal de triar el potencial a aplicar al drenatge s'agafen com a valors de referència els obtinguts en les etapes prèvies. I per l'interval de potencial de porta a estudiar, es partirà sempre d'un valor lleugerament superior al voltatge aplicat de drenatge per tal de poder veure el canvi de corrent degut a la migració. Un cop triat el valor inferior de l'interval es pot emprar increments de 50 mV per tal de veure la seva influència en la resposta. Així fins a arribar un límit superior fixat. Una vegada escollits els potencials es realitza l'experiment. Un cop acabat, és d'interès repetir l'experiment canviant el potencial fixat del drenatge mantenint el mateix escombrat de potencials de la porta, això permetrà fer un estudi de la sensibilitat del sistema. Realitzat l'experiment per diversos potencials de drenatge, es procedeix a determinar quins potencials fan més

sensible el sistema. Això es fa mitjançant l'estudi de la transconductància en els diferents potencials aplicats. El sistema presentarà una major sensibilitat com major transconductància presenti. Una alta transconductància significa que petites modificacions del voltatge aplicat es tradueixen en grans variacions del corrent de sortida. Aquesta s'expressa en siemens (S) on $1S = 1A/V$.

5.7. Optimització

Per tal de realitzar l'optimització del sistema s'estudiarà la resistència estàtica i dinàmica, juntament amb la caracterització elèctrica i electroquímica de cada sensor emprat tal com s'ha esmentat en els apartats anteriors.

Amb l'objectiu d'optimitzar el sistema es va centrar l'atenció en la part del canal, concretament en el material emprat per construir la part conductora. Es van estudiar tres *dropsens* fets cadascun d'ells amb un material diferent: platí, or i carboni (II-lustració 6).

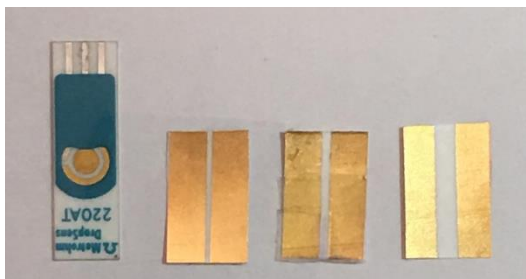


II-lustració 6 Respectivament, *dropsens* de platí, or i carboni

A fi de poder optimitzar les diferents variables que formen el sistema, es va assumir que el grossor de la pel·lícula polimèrica era pràcticament igual en els diferents sensors.

Es van realitzar els experiments utilitzant una porta de Ag/AgCl. Es va triar aquesta ja que té lloc la reacció faradaica entre Ag i Cl^- de la solució ($Ag + Cl^- \rightarrow AgCl + e^-$). La plata té una elevada tendència a crear clorur de plata a la superfície ja que la plata en presència de clorurs s'oxida fàcilment. En el moment que s'oxida es produeix l'alliberació d'un electró, té lloc una reacció de transferència de càrrega. No es produeix la polarització de la interfície de la porta de Ag, de tal manera que el potencial aplicat es transmet totalment a la interfície del canal. Aquest sistema ofereix les millors respostes (comportament ideal) en front d'altres elèctrodes com podrien ser els de carboni, platí o acer inoxidable. El motiu pel qual els altres elèctrodes no tenen una resposta òptima és degut a la interfase capacitiva. De tal manera que quan s'aplica un voltatge, el voltatge resultant serà aquell que no hagi quedat emmagatzemat al condensador. La capacítància del condensador depèn principalment de la naturalesa química del metall. Capacitàncies baixes s'associen a materials que presenten reaccions químiques⁷.

Un cop determinat el material idoni, l'or, es va optimitzar el substrat del canal. Es van estudiar 4 tipus diferents: un *dropsens* d'or i tres sensors d'or fets per polvorització catòdica on la zona polimèrica presentava diferents dimensions: 6x1, 6x2 i 6x3 mm (amplada per llargària) (Il·lustració 7). El grossor de la capa activa d'or va ser 100 nm.



Il·lustració 7 Dropsens d'or i sensors 6x1, 6x2 i 6x3 respectivament

5.8. Funcionalització

El protocol de funcionalització de monocapa autoensamblada (SAM) implica la formació d'un enllaç d'un alcà tiol sobre una superfície d'or (S-Au)¹¹.

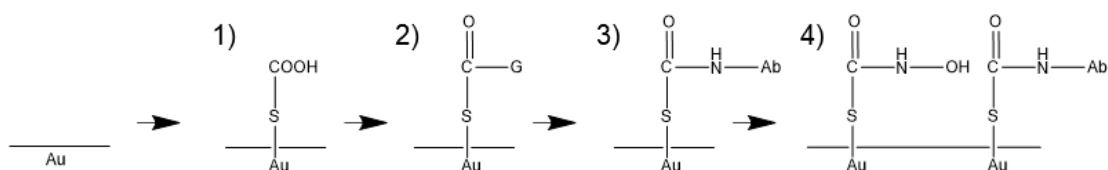
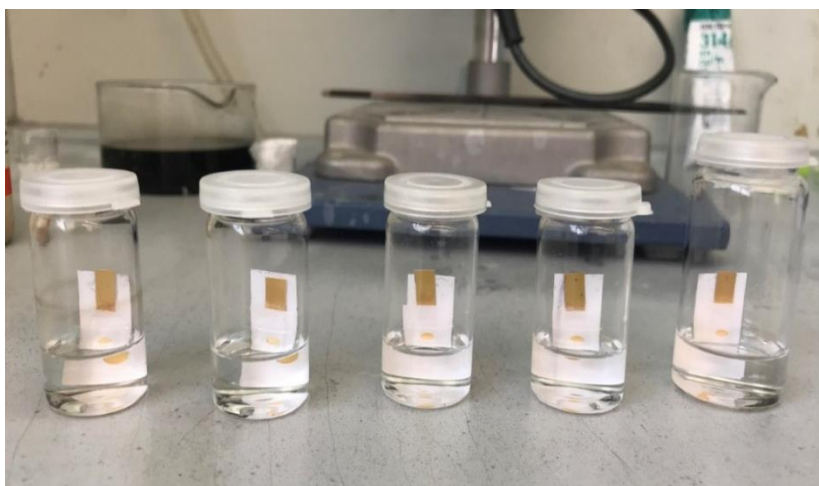


Figura 11 Etapes de la funcionalització

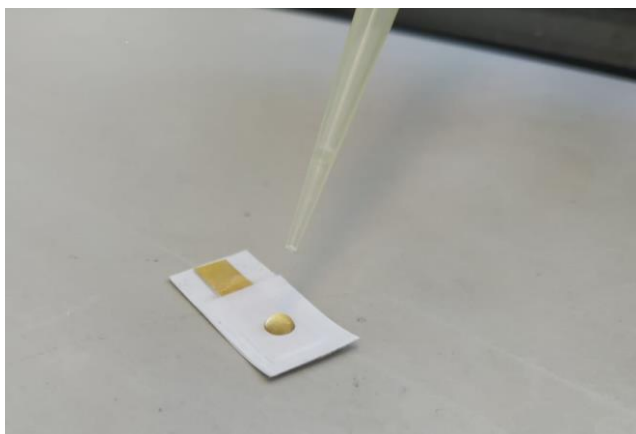
Passos a seguir (Il·lustracions 8 i 9) (Figura 11):

- 1) Formació de l'enllaç S-Au. Es disposen els sensors en una solució 0.01M de 3-àcid mercaptopropionic en etanol durant 18 hores.
- 2) Activació del sensor per immersió en solució aquosa. Els sensors es disposen en una solució aquosa 0.2M de EDC i 0.05M de Sulfo-NHS durant 2 hores.
- 3) Introducció de l'anticòs, 100 µg/mL de Anti-HSA en PBS (pH =7.4) durant 2 hores. La composició del PBS segueix el procediment de l'article citat¹¹.
- 4) Aquest últim pas es realitza per tal d'evitar l'adsorció no específica i aconseguir sistemes més selectius. Es submergeixen els sensors en una solució 1M d'etanolamina en PBS durant una hora.

Un cop finalitzada la funcionalització, es disposen els sensors en PBS per tal d'estabilitzar-los i eliminar possibles restes interferents en futures mesures.



II·lustració 8 Procediment a seguir en les etapes 1,2 i 4



II·lustració 9 Procediment a seguir en l'etapa 3

5.9. Detecció

Un cop realitzada la funcionalització i l'estabilització dels sensors es va procedir a fer la detecció de sèrum d'albumina humana.

Per tal de dur a terme la detecció, primer es realitza la caracterització del sensor emprant com a electròlit PBS. Un cop trobades les condicions òptimes del sensor es van dur a terme les addicions. Aquestes es van calcular emprant la següent fórmula matemàtica:

$$C_f \cdot (V_i + V_a) = C_i \cdot V_i + C_a \cdot V_a$$

On:

$C_i \equiv$ Concentració inicial

$C_f \equiv$ Concentració final

$C_a \equiv$ Concentració afegida

$V_i \equiv$ Volum inicial

$V_a \equiv$ Volum afegit

Un cop calculat l'interval de concentracions d'estudi, es realitzen les addicions. És important la visualització de l'estabilització de corrent entre addicions consecutives, ja que el corrent mesurat és el punt de referència en la resposta de la següent addició.

6. Resultats i discussió

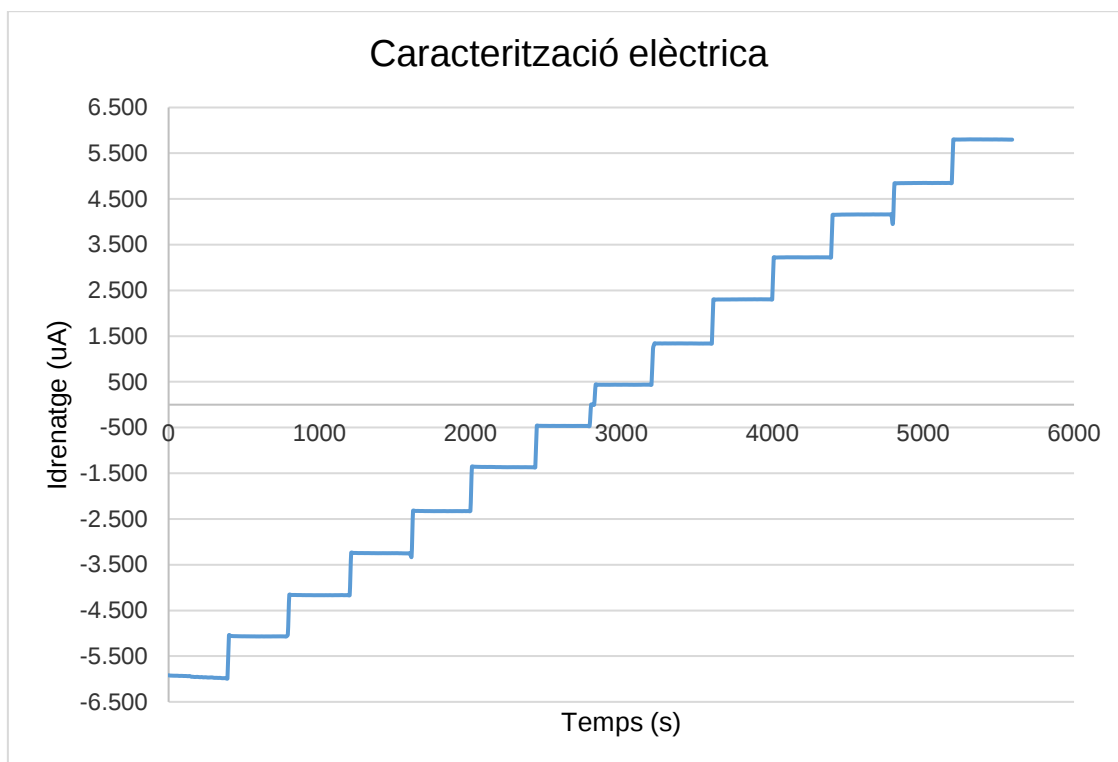
6.1. Caracterització d'un sensor

Per tal d'explicar els resultats que s'obtenen durant les diferents parts de la caracterització s'explica a continuació un exemple model.

En aquest cas, el sensor que es va estudiar és un sensor d'or fet mitjançant la tècnica de polvorització catòdica i separades les parts drenatge-font 1 mm. Les parts del canal que es trobaven en contacte amb l'electròlit es van protegir amb cinta adhesiva. El substrat emprat va ser paper de pòster.

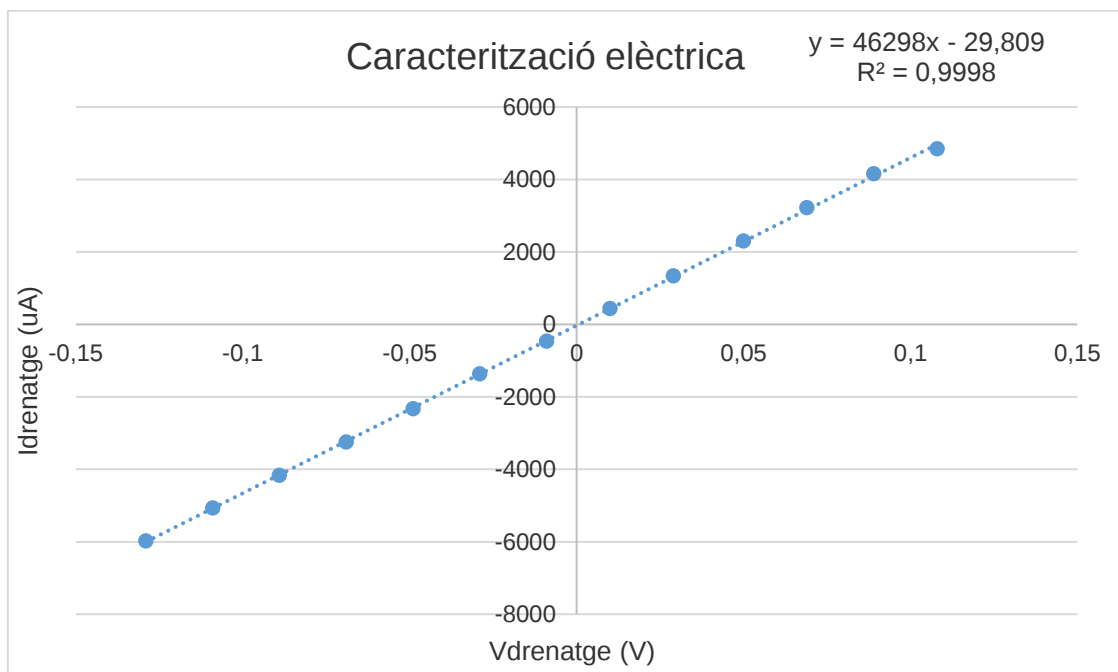
Inicialment, es va mesurar la resistència estàtica del sensor amb un multímetre digital, aquest valor aproximat va proporcionar una idea de la resistència real del sistema, en aquest cas 24 Ω .

Un cop mesurada es va dur a terme la caracterització elèctrica. Primer, es va fer un petit *screening* per determinar quin rang de voltatges s'empraria. En aquest cas, es va aplicar un voltatge de -0.20V obtenint un valor força elevat de corrent, concretament -9.726 μ A. Així doncs la caracterització es va dur aplicant l'interval de voltatges de drenatge de -0.13V a 0.13V. La representació clau en aquest apartat és la variació de corrent al llarg del temps quan s'aplica de manera constant un potencial fix (Representació 1). Era d'esperar un corrent constant ja que el potencial subministrat es mantenia de manera fixa i estable en el temps. En cas contrari, si es produïssin fluctuacions de corrent no es podria utilitzar aquest sistema ja que no presentaria estabilitat al llarg del temps i per tant, no oferiria resultats repetibles ni robustos.



Representació 1 Corba de la caracterització elèctrica. Avaluació de l'estabilitat de la intensitat al llarg del temps

Un cop trobat els valors de corrent pels diferents potencials, es va realitzar la representació 2 on s'estudià la relació del potencial aplicat en funció del corrent mesurat.

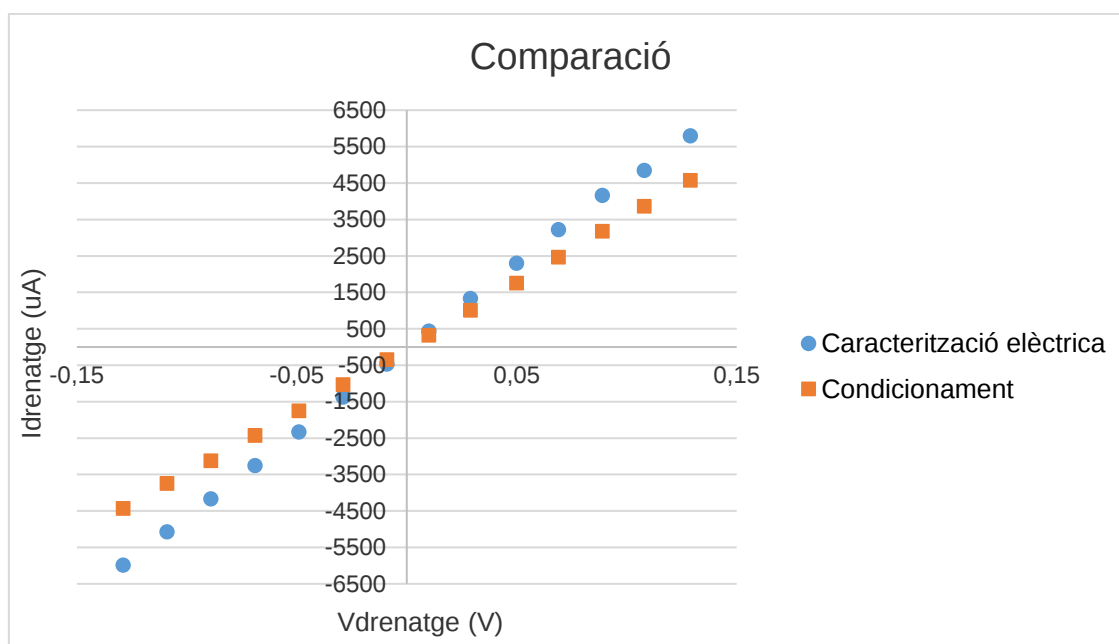


Representació 2 Corba de la caracterització elèctrica. Es representa la intensitat en funció del voltatge aplicat

A partir de l'equació de la recta trobada, es va calcular el valor de resistència dinàmica del sistema. En aquest cas, 22 Ω . Es va poder comprovar la llei d'Ohm, a l'aplicar una

diferència de potencial entre els extrems d'un conductor, el voltatge aplicat (V) és proporcional a la intensitat del corrent (I). On R, és el factor de proporcionalitat en la relació $V = R \cdot I$.

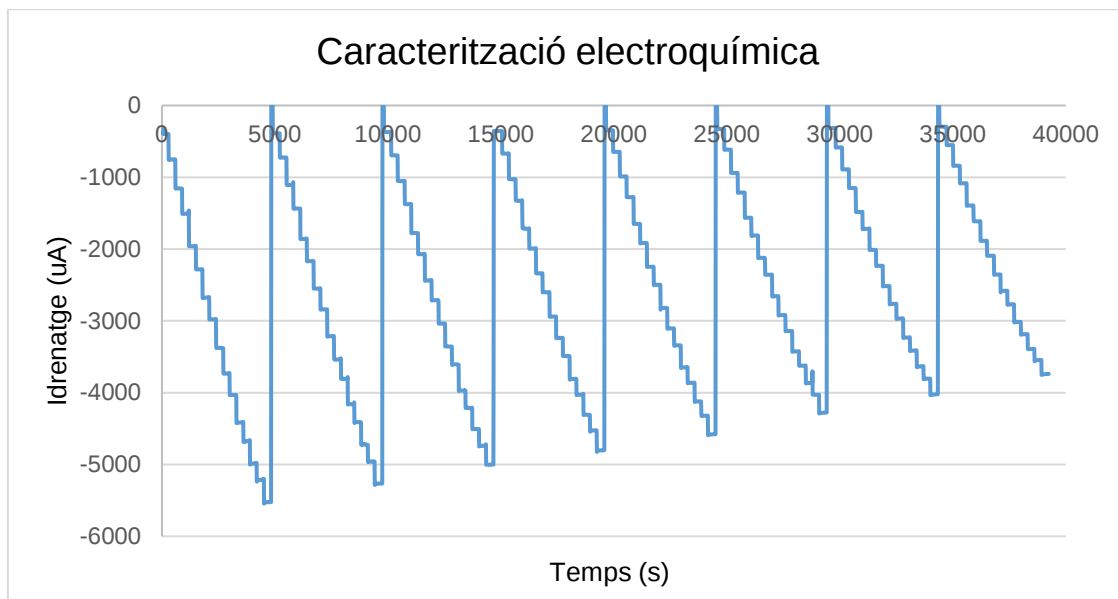
Un cop finalitzada la caracterització elèctrica es va realitzar el condicionament del sensor. Es va emprar com a electròlit NaCl 0.1M. L'interval de potencials de drenatge aplicat va ser el mateix. Es van obtenir les mateixes representacions realitzades durant la caracterització elèctrica. Es realitzaren 4 condicionaments fins a obtenir un valor molt similar de resistència entre l'anterior i el posterior condicionament. El valor final va ser de 29 Ω . S'observà que per a un mateix valor de potencial s'obtenia un menor corrent quan es mesurava amb solució. Això va ser degut a l'apantallament produït de la interacció sodi-PSS. Les càrregues positives del PEDOT tenien una menor estabilització donant així una menor conductivitat. S'observà l'efecte dopant, canvi de la resistència en funció de la migració de ions (Representació 3).



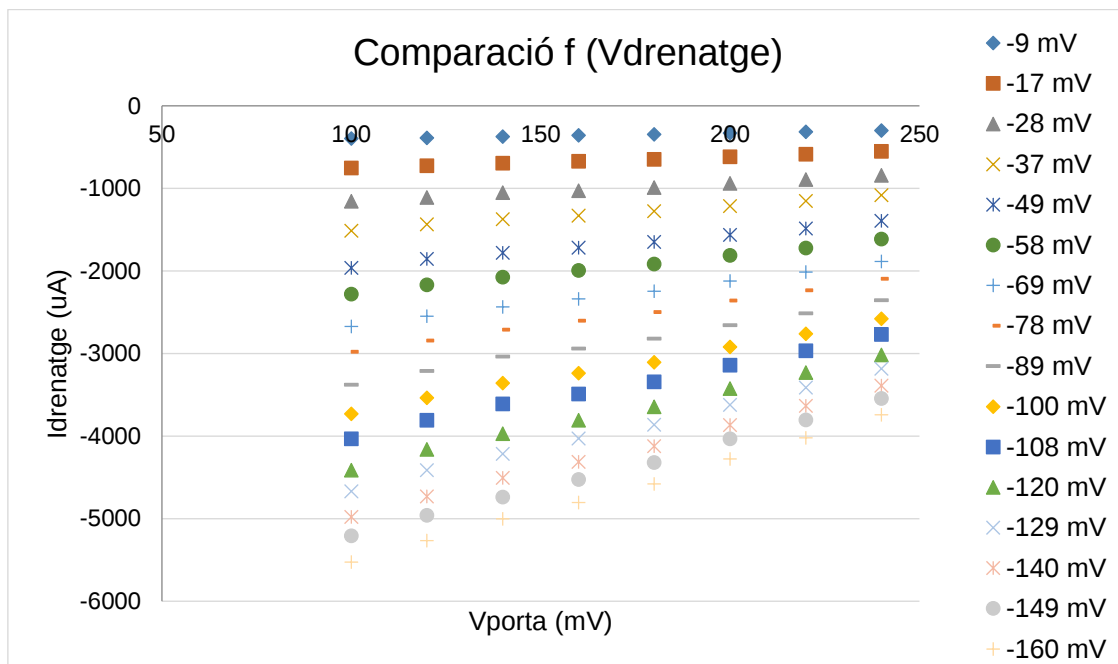
Representació 3 Comparació de les corbes de la caracterització elèctrica i condicionament

Finalment es va estudiar la caracterització electroquímica emprant com a porta Ag/AgCl. En aquest experiment es va pretendre avaluar l'efecte d'aplicar un potencial extern (V_{porta}) a un resistor. Per tal de dur-lo a terme es va mantenir un V_{drenatge} constant i es va avaluar com afecta I_{drenatge} a l'aplicar un potencial variable (V_{porta}).

Tal com s'ha esmentat anteriorment, és important la lectura del corrent quan aquest és constant al llarg del temps. Per tant, es va realitzar un estudi del corrent en el temps en funció dels diferents potencial aplicats de porta.



Representació 4 Corba de la caracterització electroquímica. Avaluació de l'estabilitat de la intensitat al llarg del temps



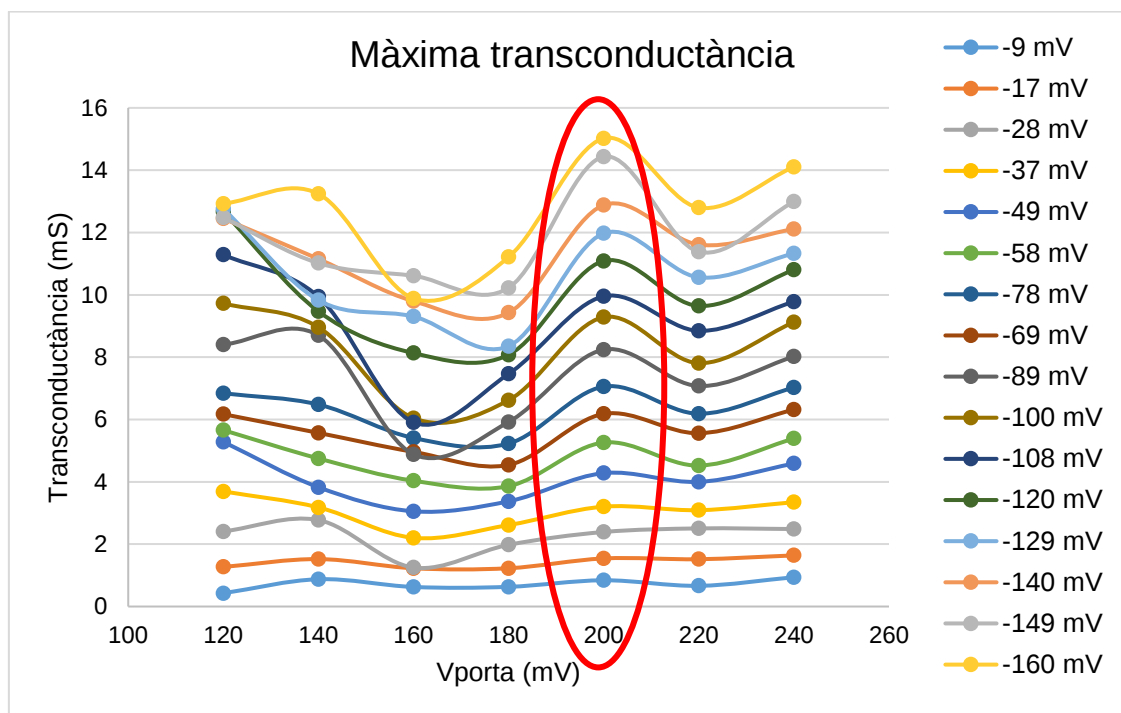
Representació 5 Corba de la caracterització electroquímica. Es representa el corrent mesurat en funció del voltatge de porta aplicat mantenint un voltatge de drenatge constant

Com es va poder observar en les representacions 4 i 5, l'aplicació dels potencials de drenatge i de la porta juguen un paper clau en la magnitud del corrent mesurat.

Pel que fa al voltatge aplicat directament al canal (drenatge) es va poder visualitzar que a major potencial aplicat, major era el corrent mesurat tal hi com regeix la llei d'Ohm. En canvi, pel que fa al potencial aplicat de manera remota (porta) actuava de manera inversament proporcional de tal manera que, a major potencial aplicat, menor era el corrent mesurat. Això va ser degut a la interacció sodi-PSS que produïa una menor

estabilització a la càrrega positiva ressonant del polímer, disminuint així el valor de corrent.

Per tal de determinar quin potencial feia el sistema més sensible s'estudià la transconductància (expressada en mil·lisiemens) en els diferents potencials aplicats. En aquest cas es va centrar l'atenció en l'interval de potencials de la porta de 100 a 240 mV (Representació 6).



Representació 6 Variació del valor de transconductància en funció del voltatge de porta aplicat mantenint constant el voltatge de drenatge aplicat

Es va observar que les condicions que proporcionaven una major transconductància i, per tant, una major sensibilitat del sistema, foren quan va tenir lloc l'aplicació d'un voltatge de drenatge de -160mV i un voltatge de porta de 200mV.

6.2. Optimització del canal

Primerament es van mesurar les resistències estàtiques dels diferents *dropsens*.

Els valors obtinguts es mostren a la taula 4:

Taula 4 Valors de resistències estàtiques en funció del *dropsens* d'estudi

<i>Dropsens</i> carboni	<i>Dropsens</i> or	<i>Dropsens</i> platí
642 Ω	25 Ω	44 Ω

Es va realitzar la caracterització elèctrica i electroquímica dels diferents canals. A continuació, es mostren els valors de resistència obtinguts en la caracterització elèctrica (resistència inicial) i el valor final del condicionament (resistència final).

Taula 5 Estudi de la variació del valor de resistència en funció del *dropsens* d'estudi

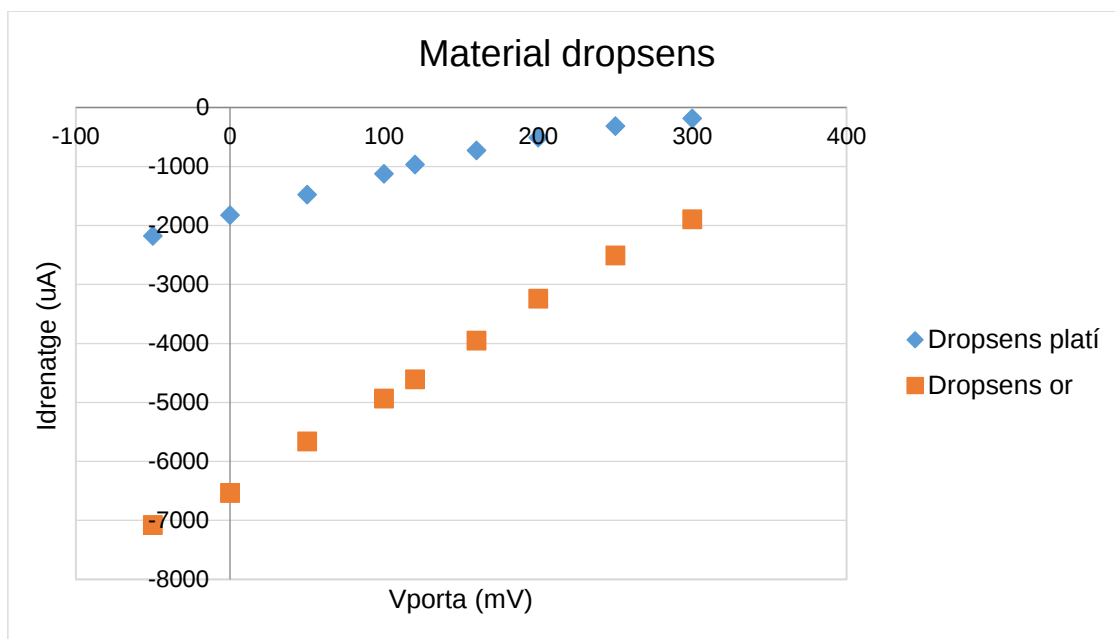
Resistència (Ω)	<i>Dropsens</i> carboni	<i>Dropsens</i> or	<i>Dropsens</i> platí
Inicial	637 Ω	21 Ω	42 Ω
Final	675 Ω	39 Ω	66 Ω

Tal hi com es va poder visualitzar a la taula 5, s'observà que en el cas dels *dropsens* d'or i platí el valor de resistència final diferia notòriament amb l'inicial. En el cas del *dropsens* d'or quasi va duplicar el valor inicial i en el *dropsens* de platí el valor de resistència va augmentar fins a un 50% el valor inicial. Pel que fa al *dropsens* de carboni el valor final de resistència va variar de manera poc substancial comparat amb la magnitud inicial. Aquest canvi poc notori es va poder atribuir a una elevada resistència de les interfícies (drenatge-polímer conductor i polímer conductor-font). De tal manera que, el valor resultant de resistència dels canals realitzats amb carboni va provenir majoritàriament del valor de resistència associat a les interfícies, fent pràcticament negligible el valor de resistència que provenia de l'efecte dopant del PEDOT. Essent així, un sistema poc sensible a la migració de ions. Per tant, els *dropsens* que van presentar major sensibilitat a la migració de ions van ser el d'or i platí. Per tal de trobar el material més sensible es van realitzar dos experiments amb les condicions esmentades a la taula 6. Únicament es va canviar el material del canal.

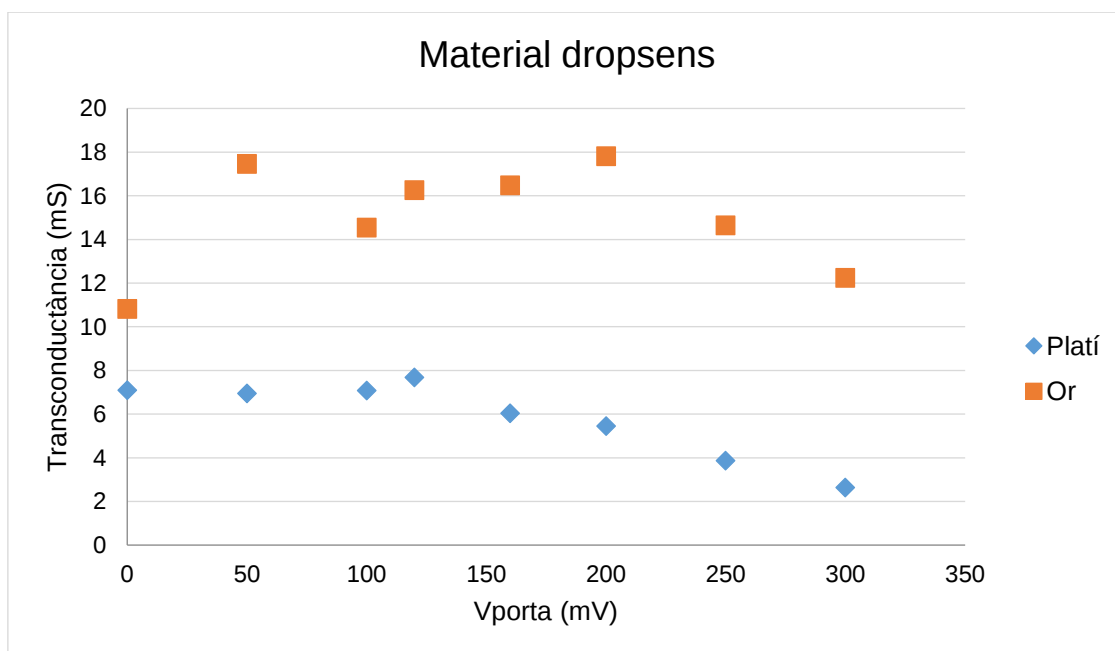
Taula 6 Condicions experimentals

Condicions	
Tipus de canal	<i>Dropsens</i> or/platí
Vdrenatge	-160 mV
Vporta	-50 a 300 mV
Porta	Ag/AgCl
Electròlit	NaCl 0.1M

Un cop obtingut els resultats, es va procedir a comparar el valor de transconductància obtingut en ambdós experiments.



Representació 7 Corba de la caracterització electroquímica segons el material del *dropsens*. Es representa el corrent mesurat en funció del voltatge de porta aplicat, mantenint un voltatge de drenatge constant



Representació 8 Estudi de la variació del valor de transconductància segons el material del *dropsens* en funció del voltatge de porta aplicat, mantenint constant el voltatge de drenatge aplicat

Tal hi com es pot veure en les representacions 7 i 8, els valors que es van obtenir de transconductància van diferir significativament segons el material utilitzat per fer el canal. Comparant els dos materials, es va poder visualitzar que el *dropsens* d'or mostrava una major sensibilitat ja que presentava uns valors més elevats de transconductància. Finalment es va poder concloure que el material òptim pel canal era l'or.

Un cop optimitzat el material, s'optimitzà el substrat del canal.

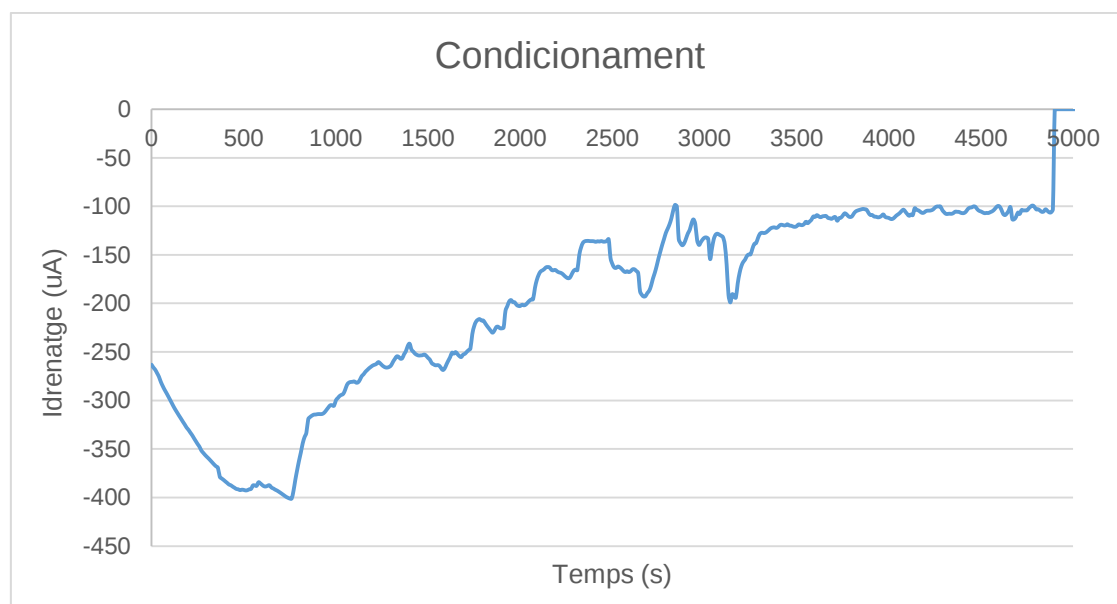
Quatre substrats van ser estudiats: un *dropsens* d'or i tres sensors d'or fets mitjançant polvorització catòdica en un paper de pòster on la zona polimèrica presentava diferents dimensions: 6x1, 6x2 i 6x3 mm (amplada per llargària) i un grossor de la capa activa de 100 nm. Les parts del drenatge i font que es trobaven en contacte amb l'electròlit van ser protegides. Es van realitzar la caracterització elèctrica i el condicionament dels quatre sensors d'estudi juntament amb les mesures pertinents de la resistència. Els resultats obtinguts varen ser els següents:

Taula 7 Estudi del valor de resistència en els diferents sensors en funció de l'etapa de caracterització

Resistència (Ω)	<i>Dropsens</i> or	1 mm <i>gap</i>	2 mm <i>gap</i>	3 mm <i>gap</i>
Estàtica	25 Ω	14 Ω	40 Ω	2100 Ω
Dinàmica	21 Ω	14 Ω	39 Ω	2374 Ω
Condicionament	39 Ω	24 Ω	45 Ω	-

Tal hi com es mostra a la taula 7, a mesura que s'augmentava els mil·límetres (mm) del *gap* es produïa un augment del valor de la resistència, això és devia a una major dissipació de portadors de càrrega a l'augmentar la longitud del conductor.

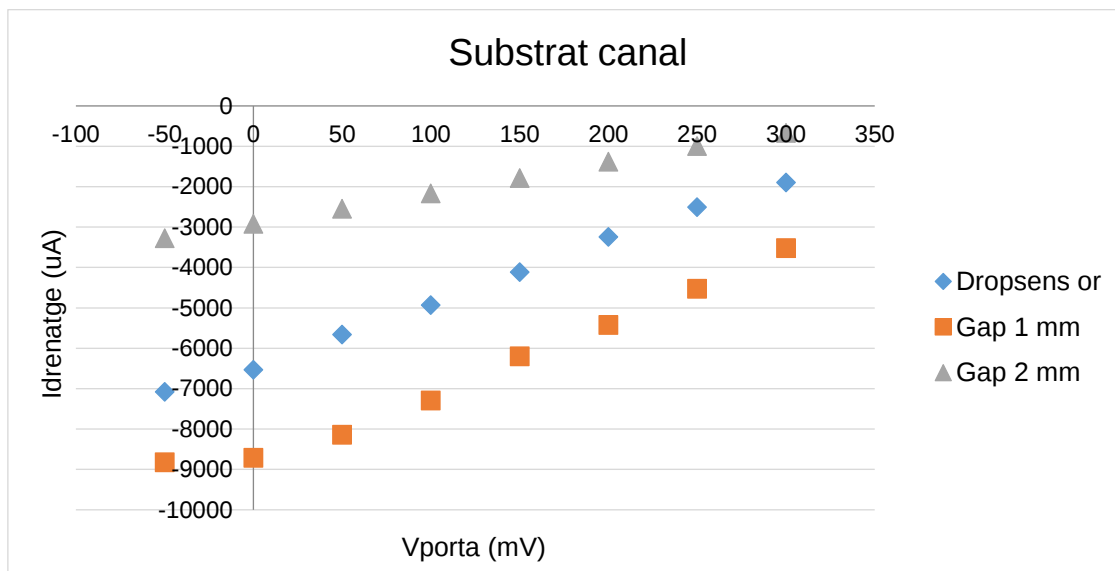
També es va observar que a diferència dels altres sensors (Representació 9), el sensor que tenia el *gap* més gran, 3 mm, no aconseguia estabilitzar el corrent mesurat a l'aplicar un potencial constant en l'etapa de condicionament.



Representació 9 Avaluació de l'estabilitat de la intensitat al llarg del temps a l'aplicar un potencial constant

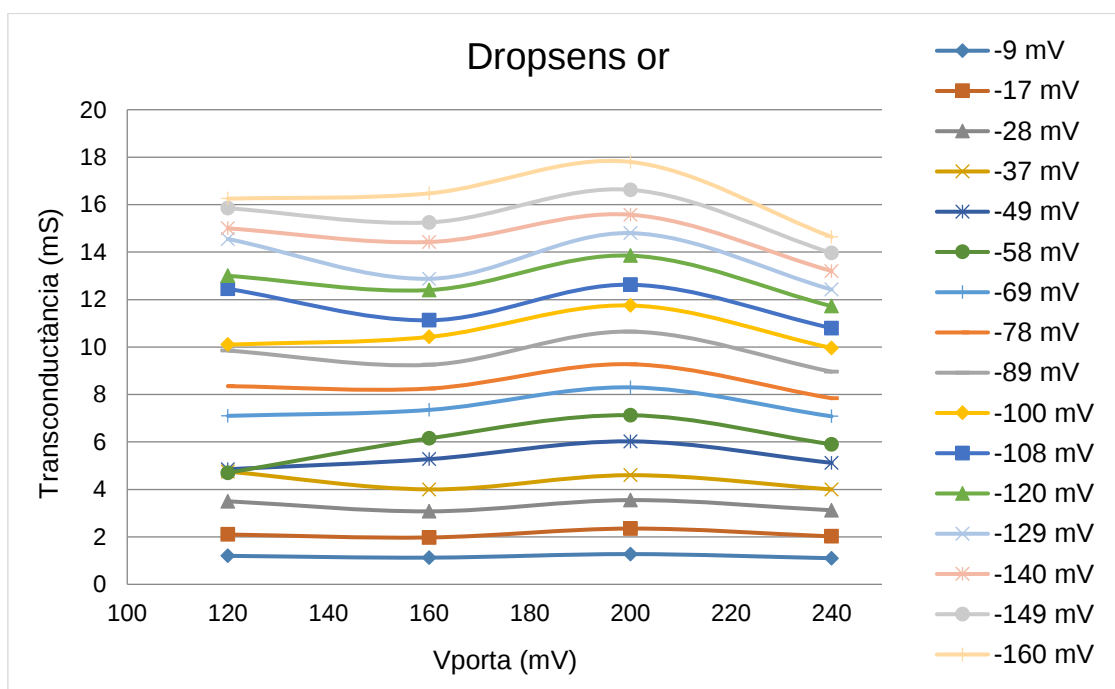
Així doncs, es va desestimar el sensor de 3 mm de *gap*.

Pel que fa als altres tres sensors, es va realitzar un estudi aplicant el mateix potencial de drenatge per tal de veure quin sensor oferia la major sensibilitat. Les condicions de l'experiment van ser les mateixes que es mostren a la taula 3 canviant únicament el tipus de canal. En aquest cas, *dropsens* d'or i sensors de paper de pòster amb *gaps* d'1 i 2 mm d'amplada (Representació 10).

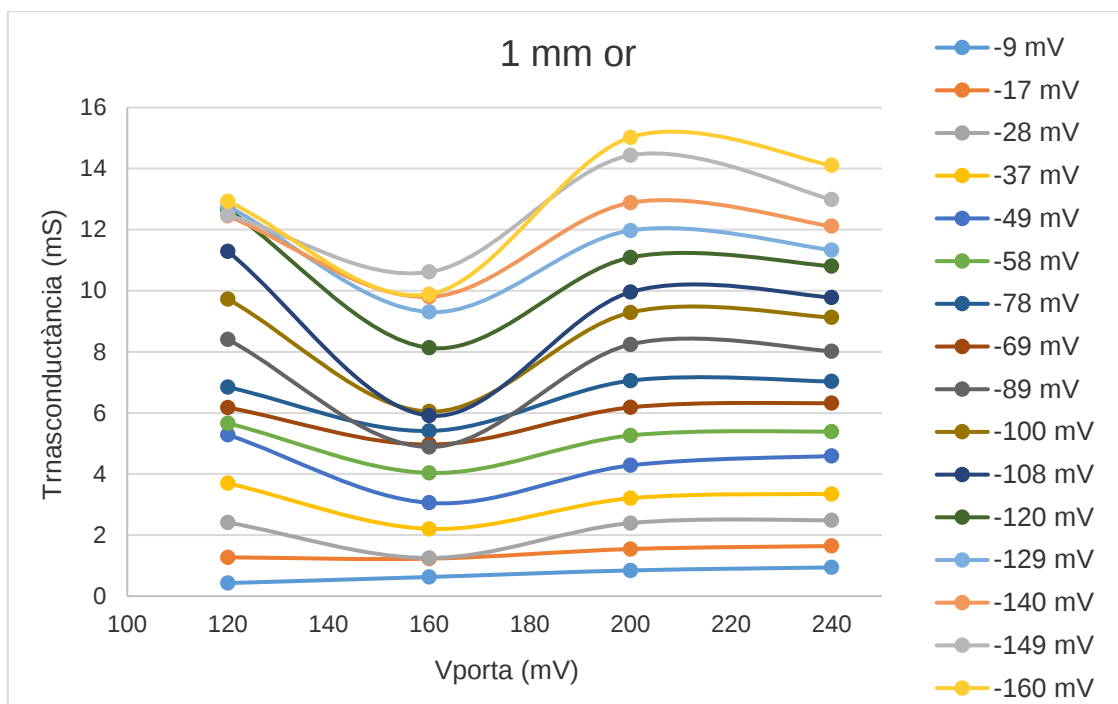


Representació 10 Corba de la caracterització electroquímica segons el substrat del *dropsens*. Es representa el corrent mesurat en funció del voltatge de porta aplicat, mantenint un voltatge de drenatge constant

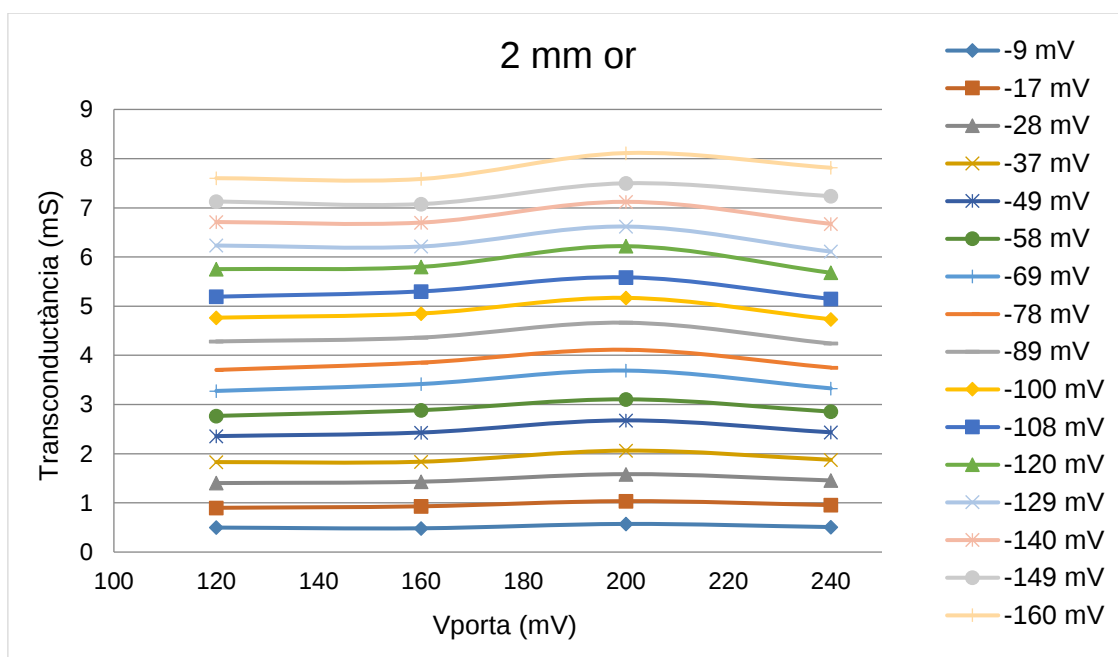
Per tal de discernir quin era el substrat òptim pel sistema, a continuació, es van estudiar les magnituds de transconductància obtingues pels diferents canals (Representacions 11, 12 i 13).



Representació 11 Estudi de la variació del valor de transconductància del *dropsens* d'or en funció del voltatge de porta aplicat, mantenint constant el voltatge de drenatge aplicat



Representació 12 Estudi de la variació del valor de transconductància del sensor 1 mm or en funció del voltatge de porta aplicat, mantenint constant el voltatge de drenatge aplicat



Representació 13 Estudi de la variació del valor de transconductància del sensor 2 mm or en funció del voltatge de porta aplicat, mantenint constant el voltatge de drenatge aplicat

Com es va poder veure en les anteriors representacions (11, 12 i 13), cada sistema tenia associada una tendència dels valors de transconductància. Si es comparen els tres sistemes, el sensor que tenia les bandes conductores separades 2 mm presentava els valors més baixos de transconductància, sent així el sistema menys sensible. Pel que fa als altres dos sistemes, l'ordre de magnitud de la transconductància va ser pràcticament igual.

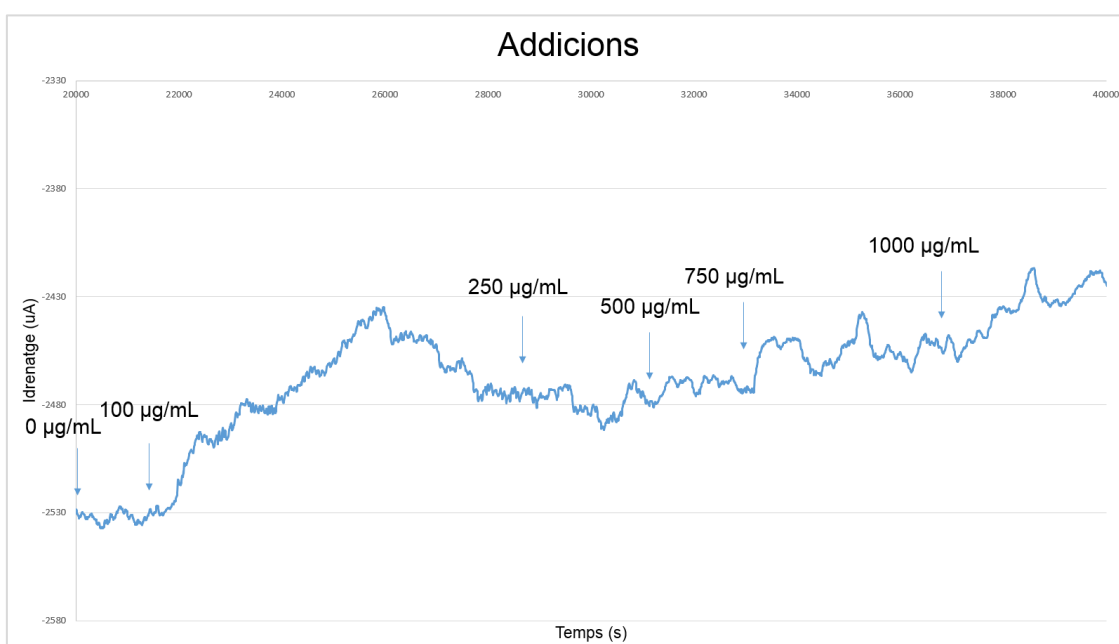
En vistes dels resultats obtinguts es va poder concloure que el sistema finalment escollit va ser el que presentava un menor *gap*, 1 mm. Les raons pel qual es va descartar emprar el *dropsens* va ser pel cost associat i per la difícil modificació dels paràmetres del sistema ja que en el cas dels sensors d'or en paper de pòster hi ha una major flexibilitat a l'hora de manipular les variables associades al corrent mesurat (amplada i longitud).

Es va poder establir que el canal òptim per aquest tipus de sistemes és un sensor que presenta com a substrat paper de pòster amb dues bandes d'or dipositades mitjançant polvorització catòdica i una zona polimèrica amb dimensions 6x1 (amplada per llargària).

6.3. Detecció

Es va realitzar la funcionalització del sensor model seguint el procediment esmentat anteriorment. Després, es va dur a terme la caracterització del sensor emprant com a electròlit PBS. El sensor presentava unes dimensions de la zona polimèrica 6x1 mm i les parts del canal que es trobaven en contacte amb la solució van estar protegides amb cinta adhesiva. En aquest cas, el sensor presentava el seu màxim de transconductància quan s'aplicà un voltatge al canal de -100mV i un voltatge de porta a 150 mV.

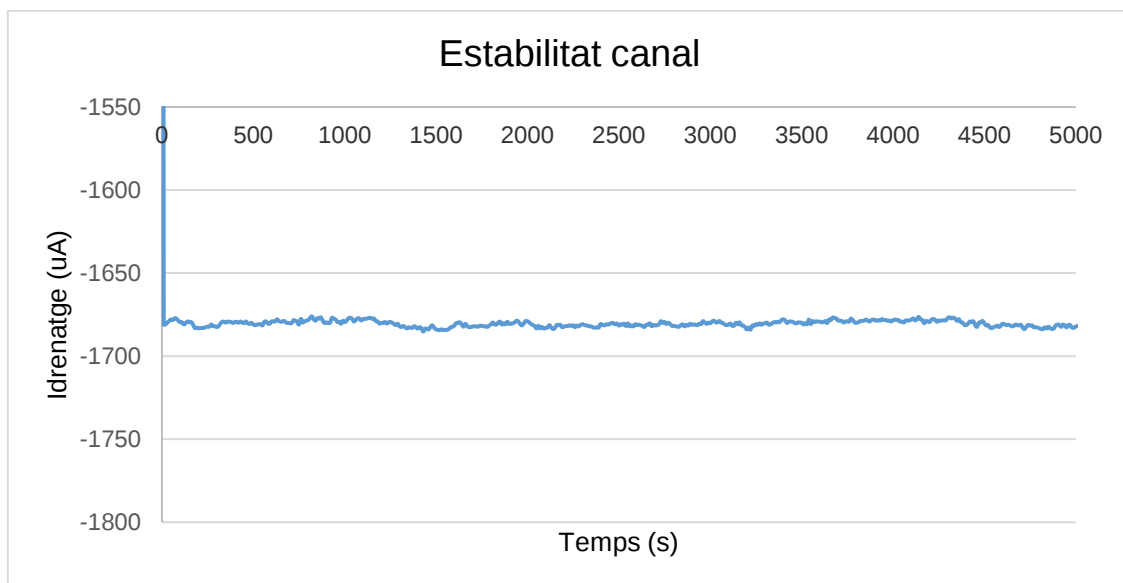
Un cop fet el següent anàlisi, es van fixar les condicions i es va procedir a realitzar les addicions. L'interval de concentracions estudiat va ser de 0 a 1000 µg/mL. Per tal de realitzar el següent interval es va preparar una solució 100 mg/mL de sèrum d'albúmina humana.



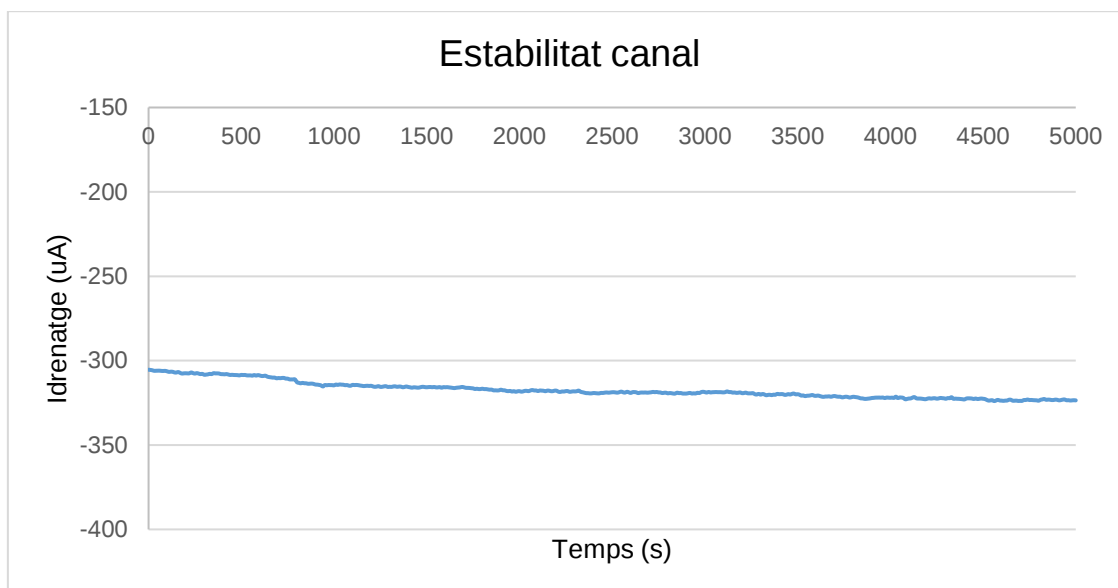
Representació 14 Variació del corrent mesurat al llarg del temps segons la concentració afegida

Tal hi com es pot veure en la representació 14, el sensor presentava certa sensibilitat a la concentració d'albumina, això es va visualitzar en el canvi de corrent produït al realitzar cadascuna de les addicions. No obstant, es van observar fluctuacions molt importants de corrent en la línia base, fet que va dificultar la lectura. Complicant així l'adjudicació del canvi de corrent única i exclusivament a l'addició d'albumina. Clarament, el sistema així no pot utilitzar-se per a la detecció de la proteïna i és precís estudiar més a fons que succeeix.

Per tal d'esbrinar la font principal causant del problema es va dividir el sistema en les parts més elementals que el formen. Es va realitzar un control previ a la detecció per tal d'assegurar-se que el canvi només depenia de l'albumina afegida. Es va fer un estudi de l'estabilitat de la mesura del canal al llarg del temps ja que el canal és la part del sistema que limitarà la capacitat de detecció. Es va preparar un canal en el que les bandes conductores d'or estaven protegides amb cinta adhesiva i un altre canal sense protecció per tal de poder verificar la influència de la protecció en l'estabilitat de la mesura. El corrent es va mesurar durant 5000 segons sense ficar en contacte el canal amb la solució. El voltatge emprat va ser de $V_{ds} = -0.03V$.



Representació 15 Estudi de l'estabilitat del canal sense solució (amb celo)



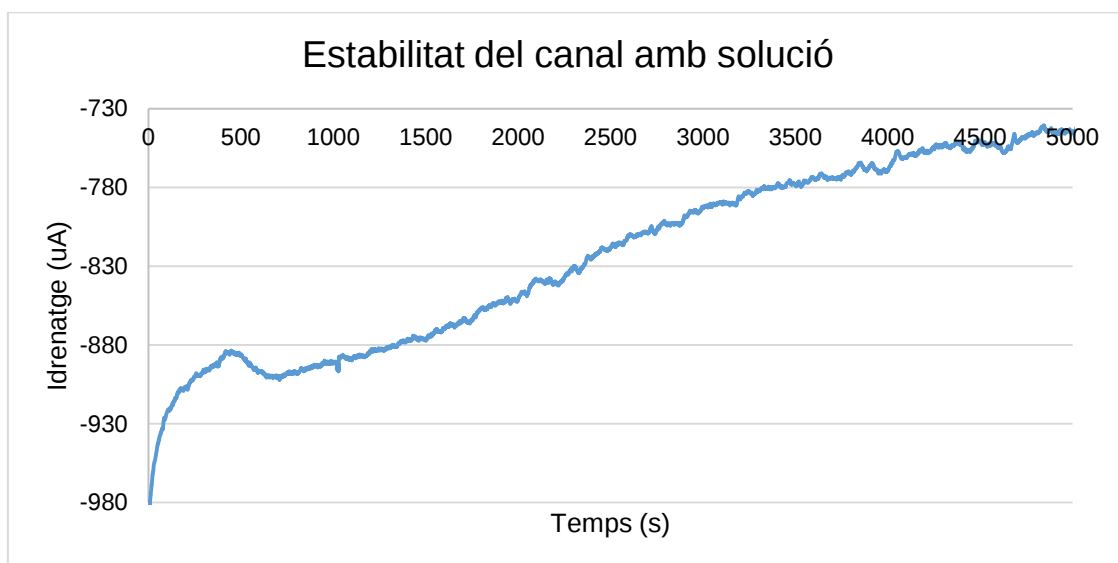
Representació 16 Estudi de l'estabilitat del canal sense solució (sense cel·lo)

Taula 8 Comparació del valor mitjà, desviació estàndard i percentatge dels últims 1000 segons

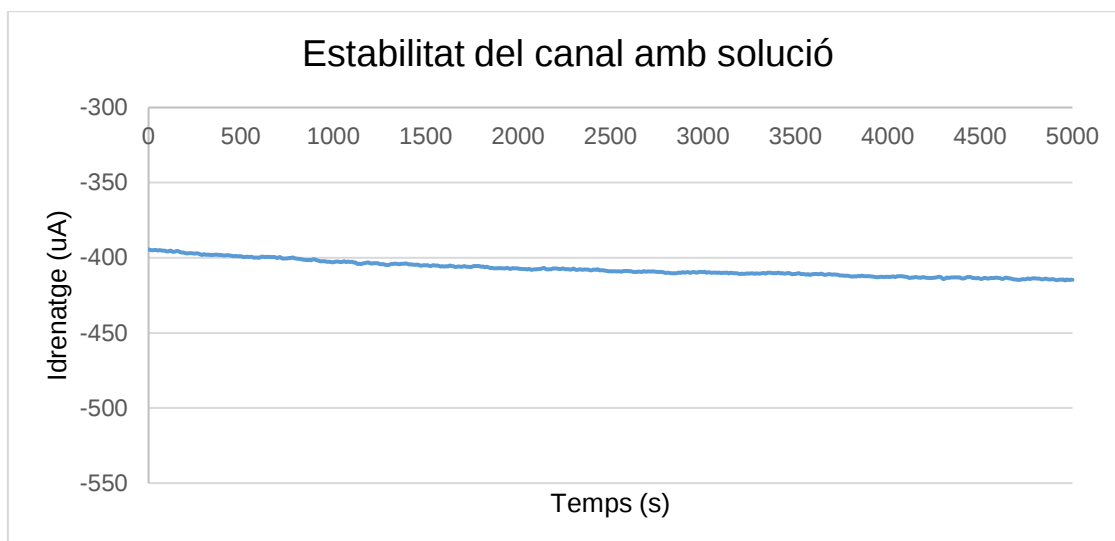
Canal	Mitjana (uA)	Desviació estàndard (uA)	Percentatge (%)
Amb cinta adhesiva	-1680.601	± 1.987	0.118
Sense cinta adhesiva	-322.895	± 0.613	0.190

Tal hi com es pot visualitzar en les representacions 15 i 16 i a la taula 8, la variació del corrent al llarg del temps no va resultar significativa. Els dos canals presentaven una bona estabilitat de la mesura.

Es va realitzar el mateix experiment afegint la variable solució (PBS) al problema.



Representació 17 Estudi de l'estabilitat del canal amb solució (amb cel·lo)



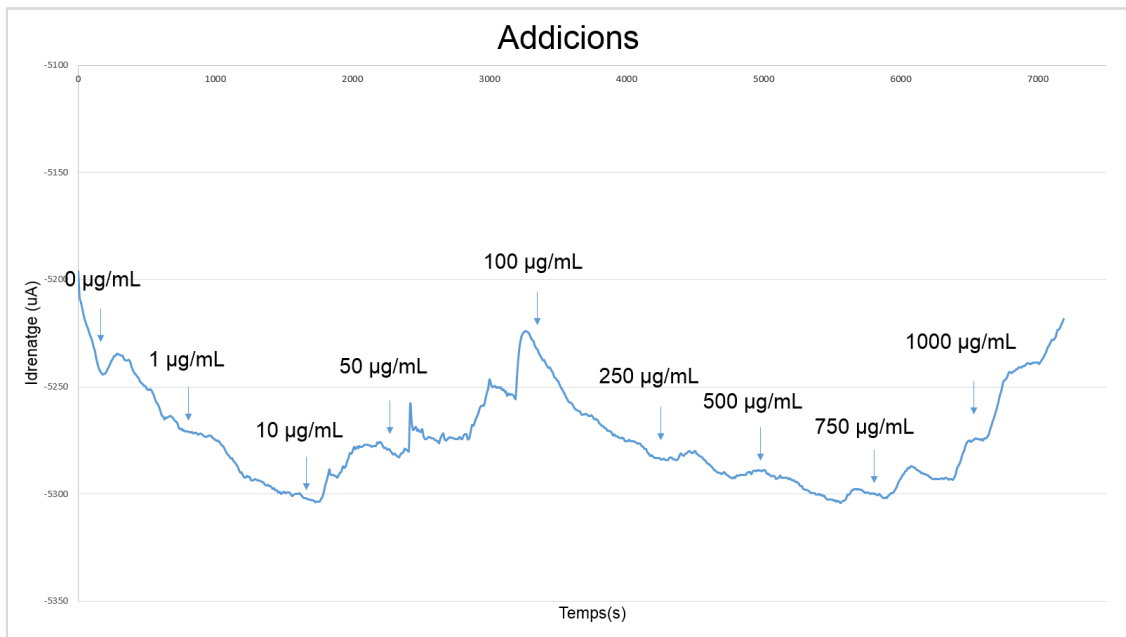
Representació 18 Estudi de l'estabilitat del canal amb solució (sense cel·lo)

Taula 9 Comparació del valor mitjà, desviació estàndard i percentatge dels últims 1000 segons

Canal	Mitjana (uA)	Desviació estàndard (uA)	Percentatge (%)
Amb cinta adhesiva	-752.662	± 5.797	0.770
Sense cinta adhesiva	-413.611	± 0.671	0.162

Tal hi com es va poder visualitzar en la representació 17, la variació del corrent no es mantenia estable al llarg del temps, tenint una clara tendència a la disminució del corrent, aquesta queda reflectida a la taula 9. Pel que fa a la representació 18, la mesura del corrent presentava una elevada estabilitat amb una desviació estàndard associada pràcticament negligible respecte del total.

Basant-se amb els resultats obtinguts es van realitzar de nou addicions d'albumina sèrica humana emprant com a electròlit PBS i una porta d'or. Es va preparar una solució mare i una diluïda: 100 mg/mL i 1mg/mL.



Representació 19 Variació del corrent mesurat al llarg del temps segons la concentració afegida

Tal hi com es va poder visualitzar en la representació 19, el sensor presentava sensibilitat a l'albumina ja que s'observà un canvi del corrent mesurat quan es produïa l'addició. No obstant, el sensor no presentava la suficient estabilitat al llarg del temps per tal de poder atribuir el canvi del corrent només a l'addició.

7. Conclusions

Aquest treball ha permès assentar les bases d'un camp emergent, els transistors orgànics electroquímics. S'han pogut construir les diverses parts que conformen el sistema emprant substrats de baix cost. L'estudi de paràmetres analítics com: la sensibilitat, la repetibilitat, la robustesa, entre d'altres, ha permès l'optimització del material, el substrat i les dimensions del sistema per tal d'oferir la màxima sensibilitat. Gràcies a aquestes bases s'ha pogut realitzar un estudi exploratori en el camp de la detecció, concretament en la detecció d'albumina humana mitjançant la funcionalització de la porta. Encara que no s'hagi pogut arribar a la detecció desitjada, s'han establert les bases per a la construcció i optimització de sensors.

This work has allowed to lay the foundations of an emerging field, the organic electrochemical transistors. We have been able to build the various parts that make up the system using low cost substrates. The study of analytical parameters such as: sensitivity, repeatability, robustness, among others, has allowed the optimization of the material, the substrate and the dimensions of the system in order to offer maximum sensitivity. Thanks to these bases it has been possible to carry out an exploratory study in the field of detection, specifically in the detection of human albumin through the functionalization of the gate. Although it has not been possible to reach the desired detections, the bases for the construction and optimization of sensors have been established.

8. Expectatives de futur

L'objectiu dels futurs experiments s'ha de basar en l'obtenció d'una línia base més estable al llarg del temps per tal d'aconseguir sistemes més reproduïbles i robustos. Caldrà realitzar un estudi més detallat de les diferents parts del sistema, començant des de l'element més bàsic fins al més complex i si s'escau, avaluar l'estabilitat de les portes fent servir la potenciometria com a tècnica.

En el futur, aquest biosensor es presentarà com a una poderosa eina en tecnologia d'immunoassaig, oferint una elevada selectivitat, sensibilitat i baix cost, amb la finalitat de ser aplicat en el camp emergent de la telemedicina, com a sensor de plataforma descentralitzada o per a control preventiu.

9. Bibliografía

- (1) Nikolou, M.; Malliaras, G. G. Applications of poly (3,4-ethylenedioxythiophene) doped with poly(styrene sulfonic acid) transistors in chemical and biological sensors. *Chem. Rec.* **2008**, 8 (1), 13-22.
- (2) Rare Commons Sant Joan de Déu La importancia de los biomarcadores en el desarrollo de fármacos. <https://www.rarecommons.org/es/actualidad/importancia-biomarcadores-desarrollo-farmacos> (accedit Maig 14, 2019).
- (3) Lifeder.com Albúmina: Funciones, Síntesis, Causas de su Deficiencia, Tipos. <https://www.lifeder.com/albumina> (accedit Maig 2, 2019).
- (4) EcuRed Albúmina. <https://www.ecured.cu/Albúmina> (accedit Maig 4, 2019).
- (5) Kumar, D.; Banerjee, D. Methods of albumin estimation in clinical biochemistry: Past, present, and future. *Clin. Chim. Acta* **2017**, 469 (April), 150-160.
- (6) Strakosas, X.; Wei, B.; Martin, D. C.; Owens, R. M. Biofunctionalization of polydioxithiophene derivatives for biomedical applications. *J. Mater. Chem. B* **2016**, 4 (29), 4952-4968.
- (7) Liao, J.; Si, H.; Zhang, X.; Lin, S. Functional sensing interfaces of PEDOT:PSS organic electrochemical transistors for chemical and biological sensors: A mini review. *Sensors (Switzerland)* **2019**, 19 (2).
- (8) Renau-Piqueras, J.; Faura, M. Principios básicos del Microscopio Electrónico de Barrido. Técnicas de microscopía, micromanipulación y análisis de imagen. II Reunión científica en biología celular y molecular; Méndez, J., Cerdán, E., Rodríguez, A.M., Eds.; Universidade da Coruña: La Coruña, 1994; pp 73-90.
- (9) Ω Metrohm DropSens: Spectroelectrochemical Instruments and Accessories. <http://www.dropsens.com> (accedit Maig 6, 2019).
- (10) Fouille, A. Compendio de electrotecnia. *Marcombo S.A*; Barcelona, 1979; Vol. 8, pp 80.
- (11) Macchia, E.; Romele, P.; Manoli, K.; Ghittorelli, M.; Magliulo, M.; Kovács-Vajna, Z. M.; Torricelli, F.; Torsi, L. Ultra-sensitive protein detection with organic electrochemical transistors printed on plastic substrates. *Flex. Print. Electron.* **2018**, 3 (3).