

Università degli Studi di Bologna

DOTTORATO DI RICERCA IN
SCIENZE CHIMICHE

FABBRICAZIONE NON CONVENZIONALE DI NANOSTRUTTURE A BASE DI CARBONIO PER BIOSENSORI

Tesi di Dottorato presentata da:
Dott. **Massimo Facchini**

Relatore:
Prof. **Giuliano Longoni**
Dott. **Fabio Biscarini**

Coordinatore:
Prof. **Vincenzo Balzani**

XIX Ciclo
Area 03 – Scienze Chimiche CHIM/02 Chimica Fisica

INDICE

INTRODUZIONE	i
Riferimenti Introduzione	v
CAPITOLO I - Nanotubi di Carbonio	1
I.1 Introduzione	1
I.2 Struttura dei SWNTs	1
I.3 Struttura elettronica e proprietà di trasporto	4
Riferimenti Capitolo I.....	10
CAPITOLO II - Preparazione di Nanotubi di Carbonio per la Nanofabbricazione	13
II.1 Introduzione	13
II.2 Purificazione dei SWNTs	14
II.2.1 Materiale da scarica ad arco.....	16
II.2.2 Materiale da Chemical Vapour Deposition.....	22
II.2.3 Materiale da High Pressure CO decomposition (HiPco)	24
II.3 Funzionalizzazione di CNTs.....	28
Riferimenti Capitolo II	30

CAPITOLO III - Nanofabbricazione di strutture funzionali basate su CNTs	31
III.1 Introduzione	31
III.2 Patterning di Single Wall Nanotubes	31
III.2.1 Litografie soffici	32
III.2.1.1 Replica Molding.....	34
III.2.1.2 MicroMolding in Capillaries (MIMIC).....	36
III.2.1.3 Lithographically Controlled Wetting (LCW)	39
III.3 Patterning di SWNTs via MIMIC: risultati e discussione	41
III.4 Patterning di SWNTs via LCW: risultati e discussione.....	45
III.5 Patterning di polianilina	47
III.6 Patterning di biomolecole - DNA	49
Parte Sperimentale	51
Riferimenti Capitolo III	55
CAPITOLO IV - Ibridi Biomolecole/SWNTs	57
IV.1 Introduzione	58
IV.2 Nano-bio-tecnologie	58
IV.3 Complessi Ibridi Biomolecola/CNT	59
IV.4 Complessi proteina/CNT	60
IV.4.1 Citocromo C.....	61
IV.4.2 Tripsina	62
IV.4.3 Albumina	63
IV.4.4 GroEl.....	64
IV.5 Complessi acidi nucleici/CNT	65
IV.5.1 ssDNA/CNT	66
IV.5.2 dsDNA/CNT	67
IV.5 Spettroscopia Raman su ibridi biomolecola/CNT	69
IV.5.1 Spettroscopia Raman ad alte energie: contorno del CNT - analisi del G-Mode	70
IV.5.2 Raman ai bassi numeri d'onda: distribuzione dei diametri - analisi del RBM.....	72
Parte Sperimentale	74
Riferimenti Capitolo IV	77
CAPITOLO V - Conclusioni e Prospettive	79

Appendice 1 - Metodi di sintesi di SWNTs	83
Scarica ad Arco (AD)	84
Ablazione Laser (LA).....	84
Chemical Vapour Deposition (CVD)	84
High Pressure CO decomposition (HiPco).....	85
Riferimenti Appendice 1	85
Appendice 2 - Caratterizzazione dei SWNTs	87
Microscopia a Scansione Elettronica (SEM).....	88
Spettroscopia Raman	89
Riferimenti Appendice 2	92
Appendice 3 - Microscopia a Forza Atomica (AFM)	93
Le sonde per AFM.....	95
L'interazione punta-campione: la forza	96
Modalità operative del microscopio AFM.....	97
Riferimenti Appendice 3	100

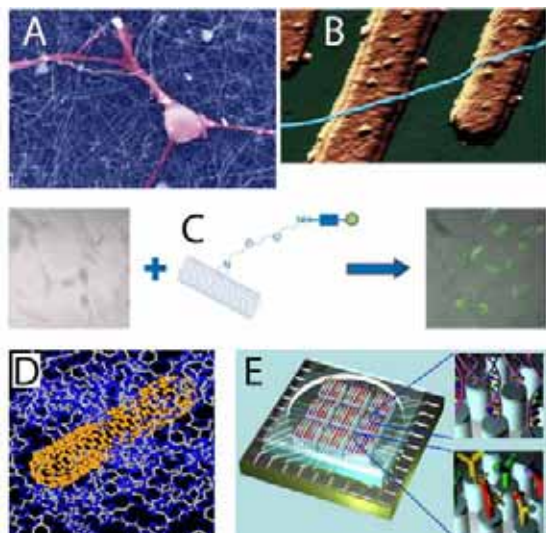
INTRODUZIONE

L'attuale trend nel campo dei sensori, in particolare per analisi chimiche e biologiche, è in forte correlazione con lo sviluppo delle nanotecnologie. La capacità di generare nanoscopiche strutture funzionali è centrale nelle scienze e tecnologie moderne; varie prospettive spingono alla realizzazione di nuove strutture ed alla miniaturizzazione di quelle esistenti. La nano-strutturazione dei materiali è stata oggetto di ricerca sia dal punto di vista scientifico che tecnologico. Scientificamente la nano-strutturazione comporta cambiamenti nelle proprietà di conduzione, magnetiche, ottiche, termiche, meccaniche della materia connesse ai fenomeni di scala. Questo include importanti fenomeni di meccanica quantistica (es. *quantum size effect* (QSE), conducibilità quantizzata (*single electron tunneling*, variazione dei *band-gap*, Coulomb *blockade*, ecc.) provenienti da effetti di confinamento spaziale in oggetti come fili e punti quantici. Dall'altro canto la nano-strutturazione può fornire un significativo aumento delle performance dei sensori e dispositivi elettronici ed ottici, per costruire chip con maggiori prestazioni, più economici, veloci ed a minor consumo energetico.^[1]

In particolare nel campo della sensoristica con la riduzione delle dimensioni saranno possibili incrementi della sensibilità e della selettività. Si avrà inoltre la miniaturizzazione dei dispositivi: con una riduzione del peso, della potenza richiesta e dei volumi di reagenti. Nanosensori e sensori nano-attivi hanno applicazioni in molti settori (come nel trasporto, nelle comunicazioni, in medicina, nella sicurezza ed in campo militare) per la rivelazione di agenti chimici (gas, inquinanti), biologici (saggi diagnostici), esplosivi (decontaminazione campi minati).

Mentre le attuali tecnologie per i sensori e biosensori hanno un'elevata sensibilità e specificità, ma difficili da miniaturizzare; sensori basati su nanotubi di carbonio (CNTs), o su materiali nanometrici, portano intrinsecamente alla miniaturizzazione grazie alle loro piccole dimensioni. Inoltre possono essere raggiunti elevati rapporti area/volume potenziando la capacità di rivelazione.

Le particolari proprietà elettriche e meccaniche dei CNTs ne fanno uno dei più interessanti materiali “*building-block*” nella nanotecnologia, nell'industria micro e nanoelettronica (sia



come elemento attivo semiconduttore che per l'interconnessione di circuiti) nell'industria aerospaziale^[2] e nel campo della sensoristica.

Figura 1 Applicazione dei nanotubi di carbonio in campo nanotecnologico. **A)** Supporto per la crescita di cellule; R.C. Haddon, University of California. **B)** Nanoelettronica (CNT-FET); C. Dekker, Delft University of Technology. **C)** Veicolazione di farmaci; M. Prato, Università di Trieste; **D)** Nanocompositi; C. Wei NASA Ames Research Center. **E)** Biosensori; J. Li, NASA Ames Research Center.

Studi elettrochimici condotti su elettrodi modificati con CNTs in *bulk* hanno dimostrato che i CNTs mediano reazioni a trasferimento elettronico con specie elettroattive in soluzione. Sono poi stati applicati per la determinazione di analiti, e per lo studio processi redox di proteine e fenomeni d'ibridazione di DNA. In queste applicazioni i nanotubi sono usati come materiale di *bulk* senza avvantaggiarsi delle loro dimensioni nanometriche.

Grazie alla struttura elettronica unica dei nanotubi di carbonio a parete singola (SWNTs) e le proprietà di trasporto di carica, è stato osservato che *transistor* basati su un unico SWNT isolato permettono il riconoscimento di singoli eventi di adsorbimento sul nanotubo. Possono quindi essere usati per una trasduzione elettrica diretta dei singoli eventi sia di legame delle biomolecole sul nanotubo sia dell'attività biologica manifestata da sistemi biologici con un notevole vantaggio in campo biosensoristico.^[3]

C'è però la mancanza di una strutturazione intermedia in cui possa essere sfruttata l'elevata sensibilità dei nanotubi e le loro proprietà elettriche, accoppiate con una maggiore riproducibilità del segnale e di fabbricazione del dispositivo. La quasi totale assenza di processi in grado di conferire l'organizzazione spaziale su varie scale, per poter interfacciare in maniera desiderata i nanotubi di carbonio, le nano-strutture di SWNTs e le dimensione tipiche dei dispositivi (micrometri), rende necessario lo sviluppo di un metodo di controllo e posizionamento riproducibile dei SWNTs su larga scala.

Le nanostrutture: approcci alla realizzazione

La micro e nano-fabbricazione si riconduce “storicamente” alla microelettronica dalla quale è nata ed alla quale andranno a confluire gli sforzi e le soluzioni nei prossimi anni. In questo campo la ricerca si è spinta nella costruzione di dispositivi nanometrici per conservare la previsione della legge di Moore (“*The complexity for minimum component costs has increased at a rate of roughly a factor two per year. ... Certainly over the short term this rate can be expected to continue...*”)^[4] in cui si anticipa la duplicazione del numero di componenti per unità di area ogni 12 mesi. Vi sono state limitazioni fino dagli anni ‘70 (raddoppio ogni 2 anni) e complicazioni alla fine degli anni ‘90 nella realizzazione di semiconduttori sotto i 100nm.

Dallo sforzo compiuto fino ad oggi nella miniaturizzazione si evince che l’obiettivo fondamentale di tutto il processo di nano-fabbricazione è il controllo delle organizzazioni gerarchiche su scala multipla: dai singoli atomi al nanometro delle singole molecole, dai pochi nanometri (che attualmente assesta la scala delle parti attive) fino alla scala del micrometro dei sistemi a cui devono essere interfacciati. Questo controllo può essere raggiunto utilizzando tecniche che sfruttino gli approcci ‘base’ alla nano-fabbricazione. Gli approcci possono essere divisi in due grandi categorie: *Top-Down* e *Bottom-Up*. Il primo parte da materiali *bulk* (massivi) o film sottili di materiale e per rimozione dello stesso raggiunge strutture a dimensione nanometrica. Il secondo metodo si basa sulle proprietà di riconoscimento molecolare e *self-assembly* (auto-organizzazione) per creare le strutture nanometriche desiderate a partire dai singoli costituenti.

Mentre il primo approccio si basa su processi tecnologici ormai noti come le fotolitografie; il secondo necessita di conoscenze di chimica e scienze dei materiali.

Top-Down Manufacturing

L’approccio *Top-Down* alla realizzazione di nanostrutture ed usato nella nanofabbricazione è quello storicamente più ‘antico’ sia concettualmente sia a livello pratico. Partendo da un ‘blocco’ di materiale lo si modella per rimozione tramite attacco chimico, corrosione,



incisione, fresatura, lavorazione, fino ad ottenere la struttura finale. E’ utilizzato nella meccanica di precisione e nelle litografie classiche (fotolitografia e litografia a fascio particellare), che stanno dominando da 40 anni l’industria dei semiconduttori per la quale sono state create e sviluppate.^[5] L’approccio *Top-Down* è molto affidabile e può realizzare forme complesse, dall’altro canto è energeticamente dispendioso e produce elevate quantità di scarti.

Figura 2 Rappresentazione grafica liberamente ispirata degli approcci *Top-Down* e *Bottom-Up*.

Bottom-Up Manufacturing

L'approccio *Bottom-Up* sfrutta l'organizzazione dei materiali a partire da elementi costruttivi progettati chimicamente per formare le strutture funzionali desiderate, portando a vantaggi enormi in termini di sostenibilità e risoluzione – potenzialmente si può arrivare a livello di singole molecole come caso estremo della tecnologia. Possiamo immaginare questo processo come dei mattoncini che si assemblano, spontaneamente o sotto uno stimolo esterno, a creare una struttura complessa che mantiene dimensioni nella scala dei nanometri (la nanocasa!). Le nanotecnologie hanno preso spunto dai processi naturali in cui il *Bottom-Up* è largamente sfruttato.

Quindi la creazione di strutture nanometriche tramite un approccio *Bottom-Up* può essere suddiviso in tre principali funzioni: la sintesi chimica, l'auto-organizzazione (*self-assembly* o *self-organization*) e l'organizzazione indotta (*positional assembly*). La sintesi va da singoli atomi a molecole a nanomateriali (nanoparticelle, cluster, CNT) con proprietà cangianti con la loro dimensione (legato al confinamento nanometrico); che siano d'interesse e fruibili da un punto di vista applicativo. Il *self-assembly* è un fenomeno spontaneo con il quale atomi, molecole o nanomateriali si riconoscono ed organizzano seguendo le forze che s'instaurano tra le singole unità (interazioni idrofilo/idrofobo, legame idrogeno, forze di Van der Waals), seguendo percorsi che portano ad un minimo termodinamico. Questo fenomeno può essere sfruttato a partire dai singoli componenti ad ottenere una struttura gerarchica superiore e complessa con un ridotto numero di difetti. Opposto all'auto-assemblaggio è l'organizzazione indotta: tramite stimoli esterni o vincoli chimici o fisici si forzano atomi o molecole a posizionarsi come si desidera.^[6]

Scopi della tesi

La realizzazione di nanostrutture ordinate con un controllo gerarchico dell'organizzazione a varie lunghezze di scala impone l'utilizzo di tecniche ad approccio ibrido *Top-Down/Bottom-Up*. Il lavoro riportato in questa tesi ha come primo scopo quello di studiare l'applicazione delle tecniche di nanofabbricazione per la creazione di strutture ordinate, funzionali al *sensing* biologico, utilizzando come *building blocks* i nanotubi di carbonio (CNTs).

Con questa visione sono state scelte le litografie non convenzionali assistite da stampi (*soft-lithography*) in cui i materiali sono processati da soluzione. Questa classe di tecniche sfruttano un approccio *Top-Down* ma presentando una maggiore flessibilità delle condizioni operative consentono l'accoppiamento con i fenomeni di auto-organizzazione ed organizzazione indotta. Perseguire questo scopo significa, in un più ampio scenario, sviluppare una nuova piattaforma tecnologica basata su tecniche di fabbricazione non convenzionale per la realizzazione di dispositivi.

Il materiale *building block* (nanotubi di carbonio a parete singola SWNTs) ha forma tubolare con diametro tipico di un nanometro (10^{-9} m) e una lunghezza dal centinaio di nm ai μ m (10^{-6} m). I SWNTs sono configurazionalmente equivalenti ad un foglio di grafene

arrotolato su stesso a creare un tubo e possono essere metallici o semiconduttori a seconda della chiralità e del diametro. Presentano conducibilità elettrica è paragonabile a quella del Cu (10^{-6} Ohm·m) con densità di corrente eccezionalmente elevate (10^7 - 10^9 A/cm²), conducibilità termica pari al diamante (1750-5800 W/m·K) e resistenza meccanica maggiore dell'acciaio (resistenza tensile 60 Gpa, modulo di Young 1 Tpa). La relazione tra struttura geometrica e proprietà dei nanotubi è oggetto del primo capitolo della tesi.

Uno degli aspetti più critici all'applicazione dei nanotubi di carbonio nella realizzazione di dispositivi è la scarsa processabilità. I CNT sono scarsamente solubili ed i materiali provenienti dalla sintesi possiedono percentuali in CNT variabili dal 40 al 80%. Questi due fattori ne hanno finora frenato lo sviluppo a livello industriale. Nel secondo capitolo sono illustrati i metodi e le procedure sviluppate che hanno permesso di ottenere un materiale a purezza adeguata ed in soluzione per le successive applicazioni nei processi di nanofabbricazione.

Nel terzo capitolo è mostrata la deposizione controllata di sospensioni di SWNTs tramite litografia soffice. Le tecniche usate per la realizzazione delle nanostrutture sono selezionate in base a: massima risoluzione raggiungibile (minore dimensione dei particolari ottenibili), scalabilità della tecnica (applicazione su larga scala). I risultati conseguiti sono incoraggianti, si è in grado di produrre linee continue di *bundles* di SWNT e di allocare ordinatamente tubi singoli sulla superficie.

Il secondo obiettivo della tesi, trattato nel capitolo IV, è quello di studiare i fenomeni d'interazione tra CNT e biomolecole che preludono alla comprensione degli eventi di *sensing*. Questo è stato condotto principalmente con l'analisi al microscopio a forza atomica (AFM) e con spettroscopia Raman dei complessi ibridi che si creano per legame specifico tra SWNTs e biomolecole. Uno studio sistematico si è attenuto a linee guida dettate dalla dimensione, funzionalità biologica, 'rilevanza scientifica', delle molecole. Le immagini AFM, risolto a livello molecolare, sono poi state correlate alle funzioni biologiche. Si è osservato che l'interazione modifica in maniera sostanziale il componente 'bio', alterandone la conformazione spaziale. Il Raman mostra processi di trasferimento di carica: comunicazione tra i due sistemi.

Riferimenti Introduzione

¹ G. Cao; Nanostructures and Nanomaterials - Synthesis, Properties and Applications, Imperial College Press, Londra 2004

² <http://mmtpdpublic.jsc.nasa.gov/jscnano/>; http://eed.gsfc.nasa.gov/562/SA_CarbonNanotubes.htm

³ E. Bekyarova, Y. Ni, E.B. Malarkey, V. Montana, J.L. McWilliams, R.C. Haddon, V. Parpura; *J. Biomed. Nanotech.* 2005, **1**, 3-17

⁴ G.E. Moore, *Electronics Magazine* 1965, **38**

⁵ S.E. Thompson, S. Parthasarathy; *Materials Today* 2006, **9**, 20-25

⁶ The Royal Society; <http://www.nanotec.org.uk/finalReport.htm>

CAPITOLO I

Nanotubi di Carbonio

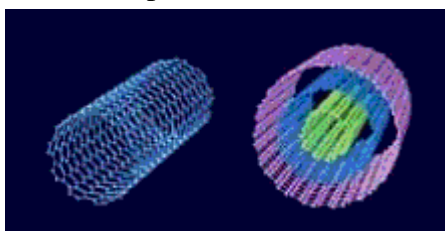
1.1 Introduzione

I nanotubi di carbonio (CNT) sono cilindri nanometrici costituiti da un singolo foglio di grafene arrotolato a formare un tubo. Sono una nuova classe di materiali affascinanti da un punto di vista teorico ed applicativo. Elettronicamente, teoria e pratica hanno dimostrato che nanotubi di carbonio a parete singola (SWNTs) possono avere carattere metallico o semiconduttore. Le loro proprietà di trasporto sono paragonabili o eccedono quelle dei metalli; rendendoli interessanti per applicazioni in nanoelettronica.

In questo capitolo introdurremo i nanotubi di carbonio, la loro struttura geometrica ed elettronica e le proprietà che li hanno resi di grande interesse per la ricerca di base ed applicata.

1.2 Struttura dei SWNTs

I nanotubi di carbonio (CNTs) sono la forma allotropica del carbonio scoperta per ultima in ordine di tempo.^[1] Hanno una struttura cilindrica con diametro dell'ordine dei nanometri e



lunghezza variabile dalle centinaia di nanometri fino a raggiungere i micrometri; possono avere le estremità chiuse da semisfere di tipo fullerenico.^[2,3]

Figura I - 1 Modello di SWNT a sinistra e MWNT a destra

La prima forma ritrovata fu quella dei *multi-wall carbon nanotubes* (MWNTs o nanotubo di carbonio a parete multipla)^[1] che sono costituiti da una serie concentrica di *single wall carbon nanotubes* (SWNTs o nanotubi di carbonio a parete singola) come in un modello “a matricia”; i SWNTs furono isolati ed identificati in seguito.^[4]

La forma che attrae maggiore interesse di tipo teorico ed applicativo è il SWNT. SWNT sono costituiti da una parete monoatomica di carbonio, che topologicamente si può ottenere arrotolando un foglio di grafene su se stesso, ed avendo cura di far corrispondere le giunzioni tra gli esagoni, ricavando così la geometria cilindrica. Teoricamente non ci sono limiti al diametro; calcoli teorici hanno previsto un guadagno di energia interna fino ad un diametro massimo di circa 2.5nm,^[5] sperimentalmente il diametro minimo individuati è stato 0.4nm.^[6] Gli atomi di carbonio costituenti il foglio di grafene sono in conformazione planare ma non lo potrebbero essere nella geometria cilindrica. Ciò significa che l'ibridazione non è più sp^2 pura ma si ha una certa percentuale di carattere sp^3 che incrementa al diminuire del diametro. Questo comporta una maggiore reattività superficiale rispetto al foglio di grafite. Gli orbitali p liberi del carbonio che nella grafite portano a interazioni deboli tipo Van der Waals tra i piani si trasforma nei nanotubi in un'affinità che tende ad organizzarli spontaneamente in fasci

(*bundles*). La forma tubolare e l'energia del legame C-C (2.5eV)^[7] fa sì che i CNTs presentino proprietà meccaniche eccezionali come modulo di Young di $\sim 1\text{TPa}$ ^[8] e conducibilità termica di $\sim 2000\text{W/m}\cdot\text{K}$.^[9]

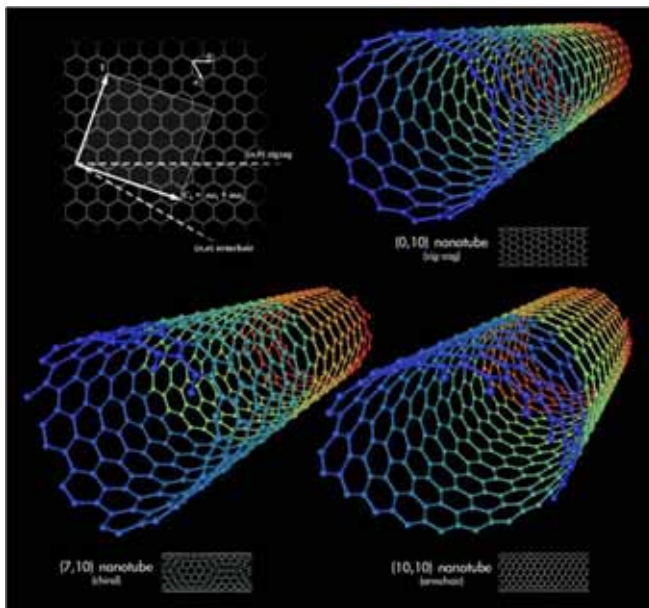


Figura I - 2 Rappresentazione grafica tridimensionale dei tre tipi di SWNTs: chirale, in basso a sinistra con indici n ed m diversi tra loro; ed i due achirali individuati come Zig-Zag, in alto a destra con il primo indice pari a zero; Armchair, in basso a destra, con i due indici uguali. Immagine riprodotta da^[10].

Ci sono vari modi di poter arrotolare il foglio di grafene come illustrato in figura I-2. Alcuni casi danno origine a tubi con due piani di simmetria ortogonali tra loro che giacciono parallelamente e trasversalmente all'asse del nanotubo. In accordo con la chimica tradizionale vengono così definiti nanotubi chirali.^[11]

Le tre tipologie di nanotubi, ovvero zig-zag, Armchair e chirale possono essere descritte partendo dal foglio di grafene (figura I-3) e definendo parametri geometrici come il vettore di elicITÀ (o chiralità) C_h e dall'angolo di elicITÀ (o chiralità) θ che definiscono analiticamente i modi di arrotolamento e chiusura della superficie:

$$OA = C_h = na_1 + ma_2 \quad \text{con } (0 \leq |m| \leq n)$$

$$\cos \theta = \frac{2n + m}{2\sqrt{n^2 + m^2 + nm}}$$

dove n ed m sono numeri interi e a_1 e a_2 sono i vettori dell'unità di cella del grafene.

Il vettore di chiralità è perpendicolare all'asse del nanotubo, mentre l'angolo di chiralità è preso con l'asse chiamato dei "zig-zag". E' possibile da queste considerazioni geometriche estrarre il diametro del nanotubo con la semplice formula

$$d = \frac{|C_h|}{\pi} = \frac{a_{c-c} \sqrt{n^2 + m^2 + nm}}{\pi}$$

dove a_{c-c} è la lunghezza del legame C-C.

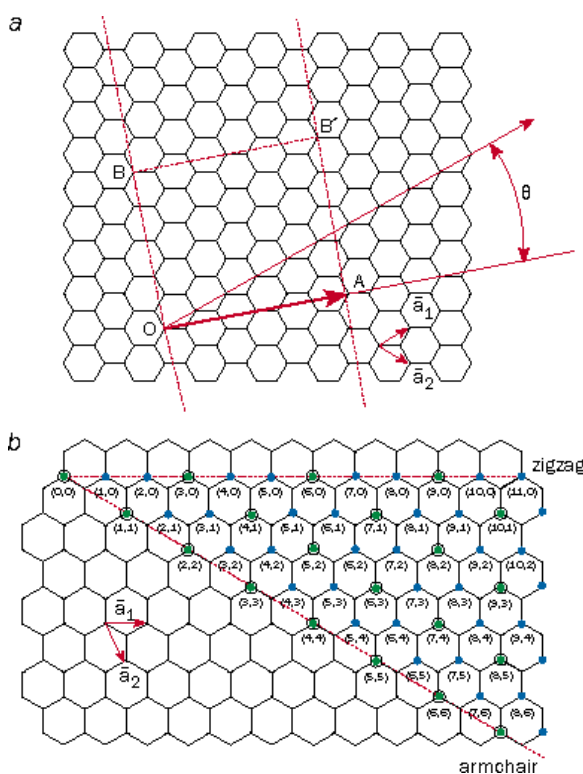


Figura I - 3 a) Schema del foglio di grafite in cui sono tracciati i vettori dell'unità di cella (a_1 e a_2), il vettore di chiralità C_h (corrispondente ad OA) e l'angolo di chiralità θ . **b)** Possibili vettori chirali identificati con i corrispettivi indici (n,m) . I punti cerchiati denotano i nanotubi metallici mentre i punti semplici i semiconduttori.

Al fine d'identificare un particolare nanotubo sono sufficienti i due indici n ed m , riportati tra parentesi (n,m) . S'individuano così i tre tipi di nanotubi schematizzati nella figura I-2. Quando gli indici sono diversi tra loro siamo in presenza di nanotubi chirali; quando invece $n = 0$ otteniamo i zig-zag (che hanno angolo di elicità di 0°); quando $n = m$ gli Armchair (angolo di elicità di 30°).

Inoltre il diverso *overlapping* delle bande delle densità elettroniche dovuto all'"arrotolamento" e chiusura del foglio di grafene, porta a caratteristiche elettroniche del tutto particolari.

Dalle relazioni geometriche espresse sopra, unitamente alla struttura elettronica del foglio di grafite, considerando le nuove condizioni al contorno che si vengono a creare per il calcolo delle funzioni d'onda, è possibile estrarre il carattere metallico del nanotubo corrispondente ad una data coppia di indici. Si ottiene che quando $n = m$ oppure $|n - m|$ è un multiplo di 3 il nanotubo corrispondente a temperatura ambiente ha comportamento metallico, negli altri casi semiconduttore. Perciò considerando tutti gli indici possibili si determina che in natura il rapporto tra metallici e semiconduttori è di 1:2.

I.3 Struttura elettronica e proprietà di trasporto

Da calcoli teorici fu previsto che le proprietà elettroniche dei nanotubi dovevano essere molto sensibili alla loro struttura geometrica.^[9,12,13] Essendo il grafene un semiconduttore a zero-gap venne teoricamente predetto che i CNTs potevano comportarsi sia da metalli sia da semiconduttori con *gap* diversi a seconda delle loro caratteristiche geometriche, quindi di n ed m . Per comprendere meglio bisogna considerare la struttura elettronica del foglio di grafene, che ha stati che incrociano il livello di Fermi in due soli punti non equivalenti. Il confinamento in uno spazio monodimensionale 1D, porta alla quantizzazione del vettore d'onda sulla circonferenza del tubo.^[14,15]

Un foglio isolato di grafene è un semiconduttore a zero *band-gap* la cui struttura elettronica prossima al livello di Fermi è caratterizzata dalle bande π occupate e π^* vuote. Gli orbitali σ e π_x e π_y del C sono impegnati a dare i legami nel piano della grafite. L'incontro delle bande π e π^* avviene nei punti K al livello di Fermi della Brillouin *zone*,^[16] nel caso ideale la superficie di Fermi è costituita da 6 punti K.

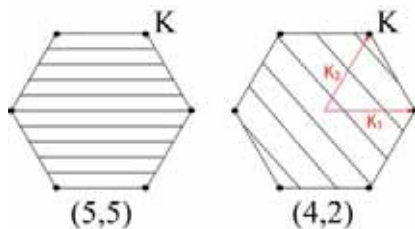


Figura I - 4 Rappresentazione schematica della Brillouin *zone* del foglio di grafene (esagono) ed le rispettive linee di taglio ottenute per un nanotubo Armchair (5,5) ed uno chirale (4,2)

Quando “arrotoliamo” il foglio di grafene il vettore d'onda lungo la direzione circonferenziale diventa quantizzato a causa delle condizioni periodiche al contorno; quindi un numero discreto di stati k del piano della grafite diventano permessi. La dipendenza dello stato elettronico del nanotubo dal suo diametro compare nella definizione degli stati tangenziali del nanotubo in cui $k_{\perp} = l K_1$, dove l è un intero e $K_1 = 2/d_t$ con d_t diametro del tubo. Per completezza è da dire che $k_{\parallel} = \alpha K_2$ con α reale e $|\alpha| < 1/2$. K_1 e K_2 sono i vettori base del nanotubo di carbonio nella Brillouin *zone*, come illustrato in figura I-4. I vettori permessi sono rappresentati come linee di taglio della Brillouin *zone* del grafene; la loro orientazione dipende invece dalla rispettiva linea di chiusura del foglio, quindi dall'angolo di chiralità θ .

Quando i vettori passano per uno dei punti K del grafene si hanno nanotubi metallici; ciò avviene esclusivamente per quelli con indici (n,n) . Quando K non è compreso si ottengono semiconduttori, che presentano comunque stati molto vicini ai punti K e dai quali dipenderanno le proprietà elettriche e di trasporto. In questo secondo caso si possono differenziare due situazioni: quelle in cui $n-m = 3j$, con j intero e maggiore di zero e rappresenta un piccolissimo *band-gap*; e tutti gli altri casi in cui in *band-gap* è maggiore.

Siamo così in presenza di tre tipi di tubi: metallici, semiconduttori con piccolo *band-gap* (che varia con $1/R^2$) e semiconduttori con largo *band-gap* ($1/R$).^[17] Dato che i semiconduttori con $n-m = 3j$ hanno un *band-gap* molto piccolo possono essere considerati metallici a temperatura ambiente. Quindi la regola per la metallicità dei nanotubi, vista sopra come semplice calcolo geometrico dipende dalle considerazioni e calcoli appena enunciati.

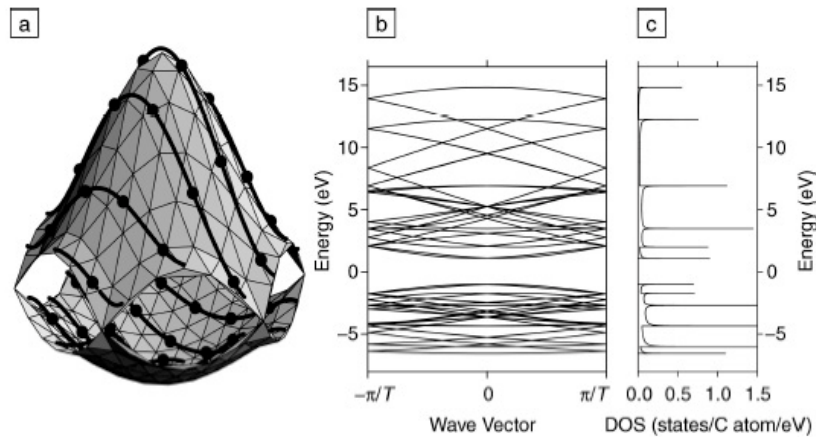


Figura I - 5 a) Superficie isoenergetica calcolata per le bande di valenza e di conduzione del foglio di grafene nella Brillouin zone. Le curve tracciate rappresentano le linee di taglio per un nanotubo (4,2). b) Diagramma della dispersione dell'energia vs K per il nanotubo (4,2). T rappresenta l'unità di cella del nanotubo lungo il suo asse. c) Grafico della densità degli stati elettronici corrispondente al diagramma b. Riprodotto da ^[15]

In questo modo però è difficile interpretare la struttura delle bande di un determinato nanotubo. Diventa più intuitivo e facile quando se ne rappresenta la densità degli stati (DOS); che evidenziano le caratteristiche singolarità di van Hove (vHS). Le singolarità di van Hove definiscono stretti intervalli di energia dove la DOS elettronica diventa molto alta. Quindi il nanotubo possiede un comportamento “simil-molecolare”, con livelli energetici elettronici ben definiti ad ogni vHS. Queste bande sono state associate al particolare comportamento fotofisico dei nanotubi, anche se la struttura elettronica è stata verificata con microscopia ad effetto tunnel (STM) unitamente alla misura di spettroscopia ad effetto tunnel (registrazione della curva I/V legata al variare del potenziale applicato) sullo stesso nanotubo. In questo modo si è potuto univocamente definire le caratteristiche strutturali del SWNT (diametro e chiralità, quindi gli indici) con le caratteristiche elettroniche registrate (semiconduttore o metallico).^[18,19]

Conferma della struttura elettronica e quindi delle rispettive proprietà elettriche è stata data da misure di conducibilità su vari sistemi come MWNTs, *bundle* di SWNT e su isolati SWNTs.^[20] Il trasporto di carica nei nanotubi di carbonio ha attirato una considerevole attenzione grazie alle potenziali molteplici applicazioni nella miniaturizzazione dei circuiti.

Trasporto di carica nei CNTs

Diversi fenomeni possono essere osservati su SWNTs, singoli *bundle* di SWNTs, singoli o *bundle* di MWNT.

I CNT sono quasi dei conduttori monodimensionali perfetti, in cui il trasporto al variare della temperatura è stato osservato manifestare interessanti fenomeni come trasporto di singoli elettroni e *tunneling* risonante tra livelli energetici discreti, Coulomb *blockade*, comportamento come liquidi di Luttinger.^[9,21,22,23] Questi fenomeni sono affascinanti ed hanno apportato un notevole contributo alla validazione di teorie fisiche sui conduttori monodimensionali, ma non sono direttamente rilevanti nella maggior parte delle loro applicazioni in dispositivi. Da un punto di vista applicativo è più interessante studiarne i fenomeni di trasporto a temperatura ambiente.

La prima misura su singolo nanotubo venne condotta su un MWNTs, poi la maggiore disponibilità di SWNTs spostò la ricerca sulle proprietà di trasporto di questi sistemi che rappresentano un modello per lo studio dei fenomeni di trasporto quantizzato su sistemi monodimensionali.^[21]

In un conduttore filiforme macroscopico il trasporto di corrente elettrica è espressa dalla legge di Ohm secondo la relazione: $R = \rho \frac{L}{S}$

In cui la resistenza $R(\Omega)$ misurata dipende dalla resistività ρ (Ωm) e dai fattori geometrici del filo come lunghezza (L) e sezione (S). A livello sperimentale è spesso utilizzata la conduttanza G (Ω^{-1}), il reciproco della resistenza, e la conduttività $\sigma=1/\rho$ ($\Omega^{-1}\text{m}^{-1}$) l'inverso della resistività.

In un conduttore macroscopico la resistività e la conduttività sono proprietà fisiche intrinseche del materiale e non dipendono da parametri dimensionali (L e S) e dal voltaggio applicato. Quando però le dimensioni del conduttore diventano comparabili con le lunghezze caratteristiche del moto degli elettroni, allora σ e ρ dipendono da L attraverso la quantizzazione dei livelli energetici. In regime quantico gli elettroni si comportano come onde che presentano fenomeni d'interferenza a seconda delle condizioni al contorno e dalle impurezze e dai difetti presenti sul nanotubo.^[24]

MWNTs

La caratterizzazione dei MWNTs in un sistema a quattro punte condotto sul tubo isolato hanno rivelato, principalmente, un comportamento metallico^[25] con densità di corrente dell'ordine dei 10^6 A/cm². Il trasporto elettrico nei MWNTs avviene sul cilindro più esterno quindi un comportamento metallico o semiconduttore in accordo con la struttura del layer più esterno sarebbe previsto. Sperimentalmente tuttavia sono stati osservati comportamenti diversi dovuti probabilmente all'interazione tra i tubi concentrici. Come questa interazione si ripercuota e cambi la struttura elettronica dell'ultimo layer non è ancora stata chiarita.^[11,26]

Bundle di SWNTs

I nanotubi di carbonio a parete singola si auto-organizzano in fasci (*bundles*) che a loro volta si accorpano in una struttura a fune (*rope*). La distinzione tra *bundle* e *rope* in letteratura non è ben definita e si fa riferimento all'una od all'altra anche quando i diametri sono comparabili (10-12nm).

All'interno dei *bundle* i nanotubi sono allineati parallelamente l'uno all'altra in un impaccamento triangolare regolare con una costante di cella di circa 1.7nm. Sono presenti SWNTs metallici e semiconduttori in un rapporto e distribuzione casuale, questo fa sì che non esistano due *bundles* identici e quindi i comportamenti elettrici registrati variano sensibilmente. Inoltre, se l'interazione tra i SWNTs nei *ropes* fosse nulla o trascurabile la struttura delle bande lungo l'asse di contatto tra i tubi dovrebbe rimanere identica a quella dei tubi isolati. E' stato però dimostrato teoricamente che in un *bundle* composto esclusivamente da nanotubi metallici (10,10), in una geometria triangolare, l'interazione intertubo porta alla degenerazione degli stati prossimi al livello di Fermi per rottura della simmetria. Questo fenomeno comporta una repulsione tra i livelli elettronici aprendo un *gap* quasi ovunque nella Brillouin *zone*, ottenendo un *bundle* semiconduttore! La difficoltà di ottenere a livello pratico

un *bundle* come quello appena descritto non ha ancora permesso una conferma di tale ipotesi. Il trasporto è determinato, quindi, non esclusivamente dalle proprietà del singolo nanotubo; devono essere considerati la presenza di punti di *scattering*, impurezze, difetti e distorsioni strutturali, le interazioni intertubo, le interazioni con il substrato e la natura dei contatti macroscopici (*top* o *bottom*) ed il numero di tubi metallici contattati.

Sono stati osservati, a temperatura ambiente, sia andamenti non lineari della corrente verso il potenziale applicato sia lineari (Ohmici). *Bundle* composti da una sessantina di SWNTs, semiconduttori e metallici, hanno dimostrato un comportamento ohmico a temperatura ambiente, mentre la conduttanza è soppressa vicina a $V=0$ per $T < 10\text{K}$.^[24] Il trasporto di corrente è infatti composto da due contributi provenienti dai SWNTs metallici e dai semiconduttori, ma quello dei semiconduttori a temperatura ambiente è trascurabile ma può essere accentuato per effetto di un potenziale di *gate*.^[27] Comportamento non ohmico si manifestano in *bundle* con diametri ‘piccoli’ dai 2-3nm fino ai 20nm, ed è stato visto anche in sottili *network* di nanotubi.^[28] Due modelli diversi sono stati utilizzati per interpretare il meccanismo di trasporto di carica in *bundle*, in cui i tubi metallici dominano il trasporto (la conducibilità con la temperatura varia in misura limitata e non è affetta da potenziali di *gate* a temperatura ambiente): la teoria del liquido di Luttinger^[21] e dall’approccio non-Ohmico delle barriere interfacciali.^[29]

La relazione della conducibilità con la temperatura presenta due comportamenti diversi nelle regioni sopra e sotto i 100K circa: a temperature maggiori la resistenza aumenta logicamente con la temperatura, comportamento metallico; comportamento non metallico è osservato sotto i 100K in cui la resistenza torna ad aumentare ma con minore dipendenza dalla T, questo non è stato completamente compreso e si pensa che il fattore chiave sia il trasporto intra-nanotubi nello stesso *bundle*.^[30] A temperature sotto i 50K compaiono effetti quantistici, a 1.3K ed il trasporto avviene per *tunneling* risonante tra livelli energetici discreti,^[31] appare un’anomalia della resistenza differenziale a potenziale zero (ZBA) indice di una forte interazione elettrone-elettrone.

SWNTs metallici

Le misure di trasporto su singolo SWNTs sono state condotte in un sistema a tre elettrodi, simile ad una configurazione per *transistor* ad effetto di campo (FET), in cui la sorgente (*source*, S) ed il pozzo (*drain*, D) contattano direttamente il nanotubo e servono a misurare la corrente trasportata rispetto al potenziale applicato (V_{bias}). Al terzo elettrodo (*gate*, G) si applica un potenziale (V_{gate}) che modifica il potenziale elettrostatico ai nanotubi. In questa configurazione il V_{bias} cambia il potenziale chimico tra i due elettrodi μ_1 e μ_2 , mentre il potenziale di *gate* cambia la posizione dei livelli energetici del nanotubo rispetto ai due potenziali chimici μ_1 e μ_2 . Il grafico corrente/potenziale V_{bias} per misure condotte a 5mK, mostra un andamento a plateau con correnti diverse da zero, dovuto al *tunneling* di un singolo elettrone e tunnel risonante attraverso un unico orbitale molecolare; tipico dei fenomeni di trasporto ballistico che si manifesta quando i canali conduttori (ossia gli stati) sono nel *range* $V_{bias} = (\mu_1 - \mu_2)/e$. La posizione dei gradini cambia in funzione del potenziale di *gate* applicato. Essendo il nanotubo anche un condensatore a bassa temperatura può avvenire che l’energia termica sia inferiore all’energia di carica di un elettrone (E_c) e quindi il suo trasporto

possa essere bloccato nella finestra tra μ_1 e μ_2 . Si ha quindi che il flusso di corrente avviene per $V_{bias} > E_c$, dato che i livelli energetici del SWNT possono essere modificati con V_{gate} posso avere passaggio di corrente solo per certi V_{bias} .^[32]

Misure di conducibilità a diversa lunghezza di canale sullo stesso nanotubo sono state ottenute per microscopia a forza atomica con punta ricoperta d'oro,^[33] un cui un contatto era fisso ed il secondo consisteva nella punta stessa, hanno dimostrato che per piccole lunghezze di canale la resistenza misurata è compatibile con quella predetta teoricamente per trasporto ballistico ($h/4e^2$). Inoltre sono stati ottenuti valori di resistenza per unità di lunghezza

$R/L=4k\Omega/\mu m$, un libero cammino medio di $2\mu m$ ed una resistività a temperatura ambiente $\rho\sim 10^{-6}\Omega\cdot cm$ comparabile se non superiore a quella del rame a temperatura ambiente. Ed ancora la corrente trasportata al punto di rottura è decisamente alta corrispondente a valori di densità di corrente $j\sim 10^9 A/cm^2$.^[34]

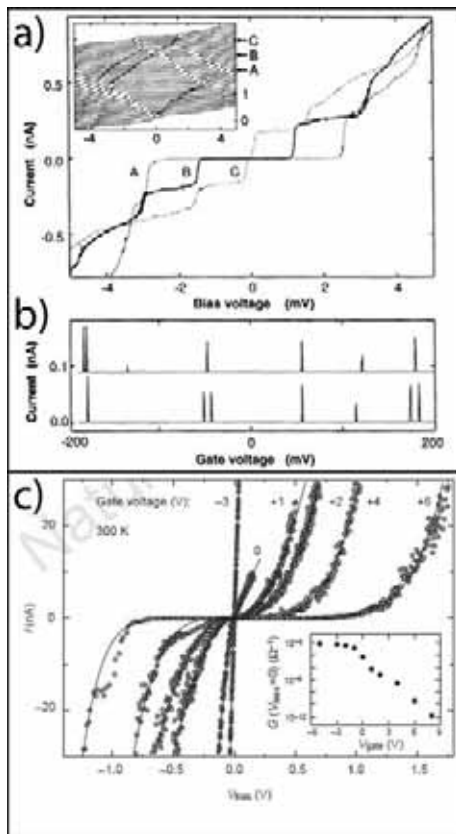


Figura I - 6 a) Curva I/V_{bias} su singolo SWNT metallico ottenuta per tre (A 88mV, B 104mV, C 120mV) diversi valori di V_{gate} . Nell'inserto è riportato per V_{gate} da 50 a 136mV. La variazione del gap attorno a V_{bias} zero per diversi V_{gate} è da attribuirsi a carica Coulombiana. Il numero di gradini varia con il numero di stati all'interno della finestra di potenziale. b) Curva I/V_{gate} con V_{bias} fisso (30 μ V). Riprodotto da ^[32]. c) Grafico I/V_{bias} ottenuto su SWNT semiconduttore variando il V_{gate} . Valori negativi di V_{gate} conducono ad un comportamento ohmico, mentre valori positivi sopprimono la conducibilità per valori bassi di V_{bias} ed andamenti non lineari per alti V_{bias} . In inserto curva I/V_{gate} a V_{bias} fisso (0V). Riprodotto da ^[35].

SWNTs semiconduttori

La conducibilità nei SWNTs semiconduttori può essere incrementata al variare del potenziale di $gate$, in una configurazione FET, applicando potenziali negativi e ridotta a zero per potenziali positivi.^[35] Approssimando un comportamento Ohmico in regime di funzionamento lineare del *transistor* si possono estrapolare mobilità (μ) per buche pari a 1000-10000 $cm^2/V\cdot s$ maggiori di quelle mostrate da Si MOSFET (200 $cm^2/V\cdot s$ per buche, 800 $cm^2/V\cdot s$ per elettroni).

I *transistor* basati su SWNTs possono essere ambipolari, mostrando caratteristiche sia di tipo p sia di tipo n . L'ambiente di misura infatti induce un trasferimento di carica tra il nanotubo e le molecole di ossigeno rendendolo un conduttore p . Evitando questa interazione, attraverso misure in vuoto o in atmosfera di gas inerte, anche transistor con caratteristiche n sono stati misurati.^[36]

La misura del trasporto di carica è come illustrato in precedenza il campo d'elezione della studio sui nanotubi e rappresenta una fetta importante dell'attività di ricerca su questi materiali. L'analisi del singolo nanotubo viene fatta in maniera statistica depositando il materiale su un substrato di silicio e poi creando i contatti oppure su un *test pattern* già pronto. Rappresenta quindi una tecnica poco riproducibile per analizzare le proprietà medie di un campione di materiale. Lo stesso può dirsi per le misure sui singoli *bundles*. Sono stati comunque proposti all'interno di protocolli la misura di conducibilità su *bucky paper* quale strumento per la valutazione della purezza di un *bulk* di nanotubi e l'effetto dei trattamenti a cui è stato sottoposto il materiale in fase di purificazione. Il *bucky paper* viene ottenuto per filtrazione del materiale su policarbonato nanoporoso e la misura condotta in una configurazione a quattro punte. Una maggiore conducibilità è solitamente associata ad una maggiore purezza dei nanotubi oppure ad un eventuale drogaggio intervenuto durante la manipolazione.

Riferimenti Capitolo I

- ¹ S. Iijima; *Nature* 1991, **354**, 56-58. Nota: nel 1956 Radushkevich e Lukyanovich pubblicarono sul Russian Journal of Physical Chemistry una chiara immagine di un tubo fatto di carbonio con diametro di 50nm. E' quindi e comunque verosimile che nanotubi di carbonio fossero stati ottenuti anche prima di tali date ma l'invenzione del microscopio a trasmissione elettronica (TEM) concretizzò la visualizzazione diretta di tali strutture.
- ² H.W. Kroto, J.R. Heath, S.C. O'Brien, R.F. Curl and R.E. Smalley; *Nature* 1985, **318**, 162-163.
- ³ W. Krätschmer, L.D. Lamb, K. Fostiropoulos, D.R. Huffman; *Nature* 1990, **347**, 354-358;
- ⁴ S. Iijima, *Nature* 1993, **363**, 603-605
- ⁵ J. Tersoff, R.S. Ruoff; *Phys. Rev. Lett.* 1994, **73**, 676-679
- ⁶ N. Wang, Z.K. Tang, G.D. Li, J.S. Chen; *Nature* 2000, **408**, 50-51
- ⁷ A. Rochefort, D.R. Salahub, Ph. Avouris; *Chem. Phys. Lett.* 1998, **297**, 45-49
- ⁸ E. Dujardin, T. W. Ebbesen, A. Krishnan, P. N. Yianilos, M.M.J. Treacy; *Phys. Rev. B* 1998, **20**, 14013-14019
- ⁹ M.S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, Ph. Avouris; Carbon Nanotubes: synthesis, structure, properties and applications; Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2001
- ¹⁰ http://en.wikipedia.org/wiki/Carbon_nanotube#_ref-6
- ¹¹ Per una correttezza formale dovrebbe essere preferita la parola elicità invece di chiralità. Autori vari; Springer handbook of nanotechnology / Bharat Bhushan (ed.), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg 2004
- ¹² R. Saito, M. Fujita, G. Dresselhaus and M.S. Dresselhaus, *Phys. Rev. B.* 1992, **46**, 1804-1811
- ¹³ J. W. Mintmire, B.I. Dunlap, C.T. White; *Phys. Rev. Lett.* 1992, **68**, 631-634
- ¹⁴ P.J.F. Harris; Carbon Nanotubes and related structures: new materials for the 21st century; Cambridge University Press, Cambridge 1999
- ¹⁵ A. Jorio, R. Saito, T. Hertel, R.B. Weisman, G. Dresselhaus and M.S. Dresselhaus; *MRS Bulletin* 2004, **29**, 276-280
- ¹⁶ La prima Brillouin zone è la cella primitiva del reticolo cristallino di un solido rappresentata nello spazio reciproco vettoriale.
- ¹⁷ C.L. Kane, E.J. Mele; *Phys. Rev. Lett.* 1997, **78**, 1932-1935
- ¹⁸ J.W.G. Wildöer, L.C. Venema, A.G. Rinzler, R.E. Smalley, C. Dekker; *Nature* 1998, **391**, 59-62
- ¹⁹ T.W. Odom, J.L. Huang, P. Kim, C.M. Lieber; *Nature* 1998, **391**, 62-64
- ²⁰ Molti sono gli articoli pubblicati in questo contesto che permette di collegare studi teorici su sistemi monodimensionali con materiale che posseggono tali proprietà, nonché lo sfruttamento di tali caratteristiche per applicazioni in elettronica. Tra i più autorevoli Ph. Avouris, H. Dai, C. Dekker, S. Roth, P.L. McEuen, e R.E. Smalley.
- ²¹ M. Bockrath, D.H. Cobden, J. Lu, A. G. Rinzler, R.E. Smalley, Leon Balents, P.L. McEuen; *Nature* 1999, **397**, 598-601
- ²² C. Dekker; *Physics Today* Maggio 1999, 22-28
- ²³ V.N. Popov; *Materials Science and Engineering R* 2004, 61-102
- ²⁴ R. Saito, G. Dresselhaus, M.S. Dresselhaus; Physical properties of Carbon Nanotubes, Imperial College press Londra 1998
- ²⁵ T.W. Ebbesen, H.J. Lezec, H. Hiura, J.W. Bennet, H.F. Ghaemi and T. Thio; *Nature* 1996, **382**, 54-56
- ²⁶ K. Tsukagoshi, E. Watanabe, I. Yagi, N.Y.oneya and Y. Aoyagi; *New J. Phys.* 2004, **6**, articolo 3
- ²⁷ P.G. Collins, M.S. Michael, Ph. Avouris; *Science* 2001, **292**, 706-709
- ²⁸ V. Skakalová, A.B. Kaiser, Y.-S. Woo, S. Roth; *Phys. Rev. B* 2006, **74**, 085403 1-10
- ²⁹ Th. Hunger, B. Lenge, J. Appenzeller; *Phys. Rev. B* 2004, **69**, 195406 1-4
- ³⁰ J.E. Fischer, H. Dai, A. Thess, R. Lee, N.M. Hanjani, D.L. Dehaas, R.E. Smalley; *Phys. Rev. B* 1997, **55**, R4921-R4924
- ³¹ M. Bockrath, D.H. Cobden, P.L. McEuen, N.G. Chopra, A. Zettl, A. Thess, R.E. Smalley, *Science* 1997, **275**, 1922-1925
- ³² S.J. Tans, M.H. Devoret, H. Dai, A. Thess, R.E. Smalley, L.J. Geerligs, C. Dekker; *Nature* 1997, **386**, 474-477

- ³³ J.-Y. Park, S. Rosenblatt, Y. Yaish, V. Sazonova, H. Üstünel, S. Braig, T. A. Arias, P. W. Brouwer, and P.L. McEuen *Nano Lett.* 2004, **4**, 517-520
- ³⁴ P.L. McEuen, J.-Y. Park; *MRS Bulletin* 2004, **29**, 272-275
- ³⁵ S. J. Tans, A. R. M. Verschueren, C. Dekker; *Nature* 1998, **393**, 49-52
- ³⁶ A. Javey, M. Shim, H. Dai; *Appl. Phys. Lett.* 2002, **80**, 1064-1066

CAPITOLO II

Preparazione di Nanotubi di Carbonio per la Nanofabbricazione

II.1 Introduzione

I nanotubi di carbonio hanno una struttura caratteristica, da cui ne derivano le peculiari proprietà meccaniche ed elettroniche, e che ne rende particolarmente difficile la processabilità e la purificazione. Il capitolo ha lo scopo d'introdurre i metodi sviluppati durante la tesi di dottorato per la preparazione di materiali contenenti SWNTs con purezza idonea alle tecniche di nanofabbricazione.

II.2 Purificazione dei SWNTs

Per ottenere un materiale che sia utilizzabile nelle varie applicazioni bisogna eliminare i coprodotti ed i sottoprodotti che provengono dalla sintesi dei nanotubi.^[1] Queste impurezze compromettono le caratteristiche e le proprietà del SWNTs e devono quindi essere rimosse in un processo di purificazione.^[2] Le tecniche di sintesi dei nanotubi di carbonio producono un materiale contenente oltre ai nanotubi anche carbonio amorfo, carbonio grafítico e particelle di metallo (usato come catalizzatore) incapsulate in gusci di materiale carbonioso.^[3,4]

Per meglio comprendere le tecniche di purificazione adottate bisogna considerare le caratteristiche del materiale grezzo derivante dalla sintesi. Solitamente si ottengono agglomerati pulverulenti con percentuali di nanotubi variabili dal 30 al 80% w/w, catalizzatore dal 15 al 35% w/w, ceneri, carbonio amorfo e grafítico. L'elevato intervallo di valori mostrati dipende dal tipo di sintesi con cui il materiale è stato ottenuto. In figura II-1 sono riportate le micrografie al microscopio a scansione elettronica (SEM) e lo spettro Raman

dei tre materiali grezzi, di origine commerciale, studiati durante il dottorato. Sono evidenti le differenze tra i vari materiali come quantità di nanotubi ed impurezze.^[5]

Inoltre bisogna considerare come manipolare i nanotubi, e quali processi e tecniche possono essere utilizzati. Lo svantaggio dei nanotubi è la loro insolubilità in tutti i solventi: un rapido calcolo sul peso molecolare di un nanotubo con diametro di 1nm e lunghezza di 500nm porta ad ottenere valori di circa 10^6 g/mol che, unito alla grande affinità d'aggregazione, ne impedisce la dissoluzione. Questo ne riduce il tipo di trattamento e processi di purificazione, oltre ad aumentarne la complessità, ne limitano l'analisi con tecniche in soluzione. Un'intensiva ricerca si sta portando avanti per trovare nuovi metodi che permettano di ottenere materiali dalle elevate purezze senza compromettere l'integrità dei nanotubi. Infatti ancora oggi non sono stati sviluppati protocolli di purificazione univocamente accettati che assicurino l'ottenimento di un materiale con caratteristiche definite ed uguali, indipendentemente dalla sorgente da cui deriva.

Avendo a disposizione materiali grezzi con caratteristiche molto diverse tra loro, è stato necessario, durante il mio lavoro di tesi, individuare procedimenti di purificazione diversi. In linea di massima ciò che accomuna tutti i metodi sviluppati in letteratura è un trattamento di ossidazione che può avvenire con una fase gassosa (aria,^[6] ossigeno,^[7] gas umidi^[8]) o liquida (con acidi ossidanti^[9] o miscele di acidi^[10]), con il quale si vuole eliminare, o quantomeno ridurre, la componente carboniosa amorfa nel materiale di partenza. E' fatto seguire uno *step* di lavaggio in ambiente acido per eliminare il catalizzatore^[6,8] che nei processi di ossidazione in liquido fa parte dello stesso passaggio.

In coda viene talvolta fatta seguire una sospensione dei nanotubi con tensioattivi, in ambiente acquoso, seguita da centrifugazione per eliminare la componente pesante non sospesa.^[6,11,12]

I metodi non operano quasi mai tramite l'isolamento o l'estrazione dei nanotubi dalla matrice ma piuttosto una concentrazione tramite l'eliminazione delle impurezze. Quindi l'adozione di un processo *multi-step* risulta essere adeguata e necessaria.

L'obiettivo di standardizzare i metodi di purificazione è in linea con l'uniformare le tecniche di caratterizzazione. La necessità di definire un materiale grezzo contenente nanotubi ha condotto ad uno sforzo da parte dei ricercatori dell'individuazione e stesura di protocolli per la "certificazione" della purezza/quantità di nanotubi.^[13,14] L'obiettivo di un protocollo è stimare la quantità e qualità dei CNTs durante le varie fasi del processo di purificazione. Non è stata però individuata una tecnica d'elezione e si rende necessaria la compartecipazione dei risultati ed informazioni che possono essere tratte con tecniche diverse. Anche in questo caso nessuno dei protocolli emanati finora è globalmente accettato, sia per ragioni pratiche (presenza di strumenti e competenze specifiche nei laboratori di ricerca) sia per la scarsa opera di comunicazione fatta dalla comunità scientifica dei nanotubi.

Per seguire i vari procedimenti e poter valutare il grado di purezza si è scelto di sfruttare due tecniche: la microscopia a scansione elettronica e la spettroscopia Raman. Queste oltre ad essere presenti nei laboratori in cui è stata svolta la tesi, sono quelle maggiormente utilizzate in letteratura. La SEM conferisce un'idea di massima della struttura tubolare o particolare del materiale analizzato, potendo così discernere in maniera qualitativa tra la presenza relativa di

nanotubi e particolato (catalizzatore, carbonio amorfo). La spettroscopia Raman è stata utilizzata in maniera quali-quantitativa nella stima dell'incremento di nanotubi all'interno del materiale: l'analisi quantitativa è stata condotta monitorando il rapporto tra le aree sottese al *Radial Breathing Mode* (RBM) ed alla D-Band rispetto alla G-Band.^[5]

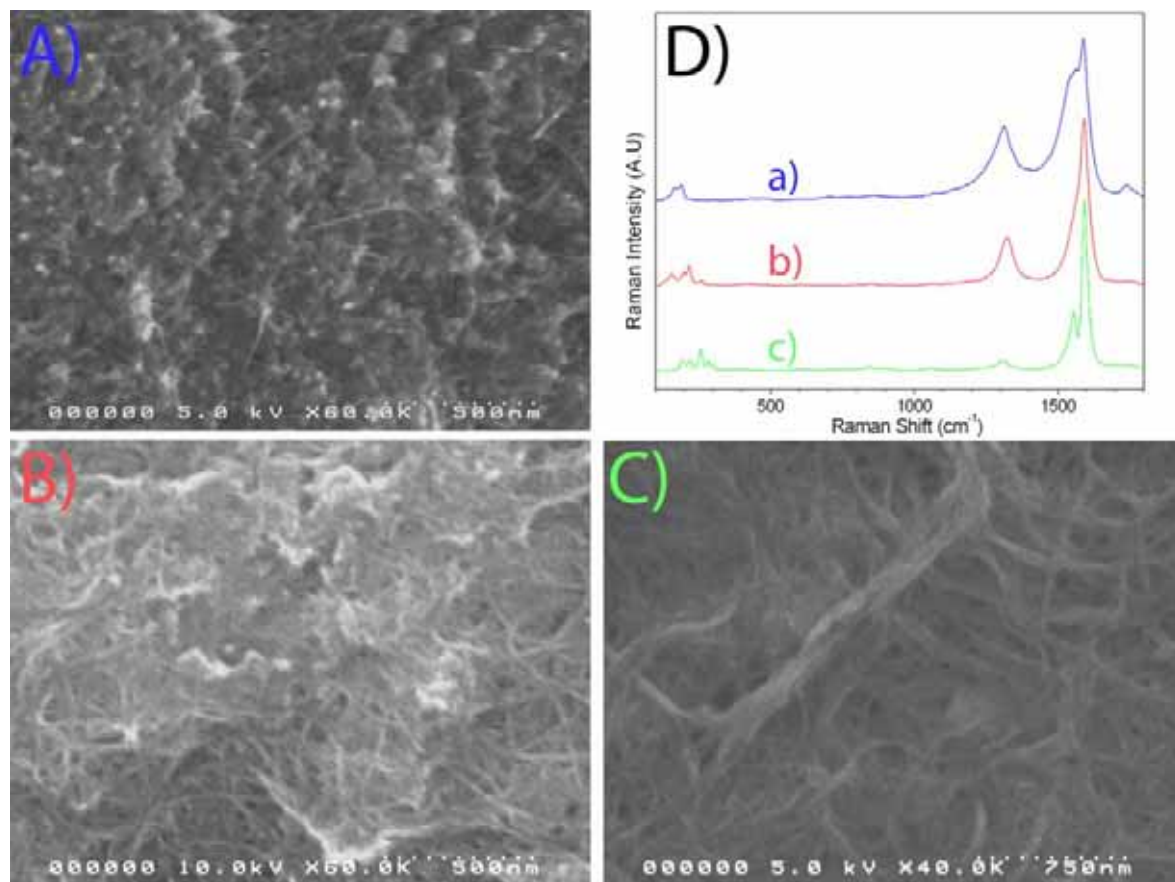


Figura II - 1 Micrografia SEM del materiale grezzo ottenuto per: **A)** scarica ad arco (AD) (Yangtze Nanomaterial Co.); **B)** *Chemical Vapour Deposition* (CVD) (Thomas Swan); **C)** High Pressure CO Decomposition (HiPco) (Carbon Nanotechnologies Inc.). **D)** Spettri Raman dei tre materiali: **a)** AD; **b)** CVD; **c)** HiPco.

Verranno di seguito illustrati i protocolli sviluppati per ognuno dei materiali studiati durante il dottorato. Saranno inoltre illustrati i principali risultati ottenuti ed i punti critici emersi.

II.2.1 Materiale da scarica ad arco (AD)

Il materiale di origine commerciale è ottenuto per processo a scarica ad arco dalla Yangtze Nanomaterial & Co. Ltd. e venduto come grezzo appena sintetizzato. Viene dichiarato con una percentuale in peso di SWNTs del 50% circa ed il catalizzatore usato è una miscela di Ni ed Y. Si presenta come polvere fuliginosa, con una bassissima densità apparente e fortemente elettrostatico. L'impiego di mascherina e guanti è d'obbligo presentando il materiale dimensioni nanometriche che potrebbero portare a fenomeni di tossicità respiratoria sia da parte dei nanotubi che del catalizzatore o delle particelle di carbone amorfo contenute.^[15]

Processo di Purificazione Sviluppato e Adottato

Ossidazione: *Batch* da 100mg di materiale grezzo sono posti in una navicella in vetro appositamente realizzata per poter movimentare il materiale durante il trattamento ed avere una migliore omogeneità. Quindi inserito in forno tubolare a 300°C, precedentemente condizionato con l'atmosfera ossidante desiderata e trattati per 3 ore. In condizioni di convezione forzata nessun flusso d'aria viene introdotto ed il forno lasciato aperto da un lato (al secondo è collegato lo scarico dei gas sotto cappa). Le diverse atmosfere ossidanti sono state create fissando il flusso totale in 50ml/min e variando il rapporto di aria/azoto ottenendo percentuali di O₂ dal 2 al 20%. Per una normalizzazione tra i campioni viene riportato il flusso di ossigeno rispetto alla massa di materiale trattato ottenendo un parametro scalabile in ml/min·mg. Alla fine del trattamento il materiale viene estratto, pesato e calcolata la perdita percentuale.

Trattamento acido: Campioni da circa 30mg vengono trattati in soluzione di acido cloridrico 12% v/v in un rapporto volume acido (ml) su peso campione (mg) di 1:1. La soluzione viene innanzitutto sonicata per 5 minuti in bagno ad ultrasuoni, per conferire una miglior omogeneità, quindi posta in agitazione magnetica e riscaldata a moderato riflusso per 3 ore. Dopo il trattamento il materiale viene recuperato per centrifugazione come precipitato, quindi lavato ripetutamente fino a neutralità delle acque, quindi filtrato con sistema Millipore[®] su filtri in policarbonato (diametro pori di 0.45µm) ottenendo un *bucky paper* che è molto più maneggiabile rispetto alle polveri. Il *bucky paper* è pesato e viene calcolata la perdita di peso percentuale.

Sospensione/centrifugazione: A circa 20mg del materiale precedentemente trattato vengono aggiunti circa 20ml di soluzione di sodio dodecilsolfato (SDS) 1% w/w e posti in un contenitore di vetro, quindi immersi in bagno ad ultrasuoni in modo che il menisco del liquido interno combaci con il livello dell'acqua nel bagno ad ultrasuoni. Ripetute scariche da 15 minuti ciascuna sono intervallate da un'agitazione macroscopica manuale per un complessivo trattamento di 60 minuti. La sospensione così ottenuta è centrifugata per 2 ore a 5000rpm. Il surnatante è delicatamente separato dal precipitato e filtrato con sistema Millipore[®] su filtri in policarbonato con diametro pori di 0.45µm e abbondantemente lavato con acqua per rimuovere completamente il tensioattivo assorbito sui nanotubi. Si ottiene un materiale sotto forma di *bucky paper* compatto disponibile per gli usi successivi.

Discussione dei risultati

La definizione del processo *multi-step* descritto sopra è ottenuta dall'analisi critica delle informazioni ottenute tramite la caratterizzazione del materiale grezzo con le tecniche SEM, Raman (figura II-1) e termogravimetria (TGA) (figura II-2). Di supporto è stata la letteratura sull'argomento e le conoscenze reperite dal contatto con esperti del settore.

La microscopia elettronica (figura II-1A) permette d'individuare tra la massa particellare le strutture tubolari classiche dei *bundles* di SWNTs, ma non consente nessuna informazione quantitativa. Dallo spettro Raman (figura II-1Da) si delineano i picchi del RBM,^[16] indice di una presenza di nanotubi superiore al 10%, ed i più intensi D e *G-Mode*. L'intensità e la larghezza della banda D è indice di una presenza consistente di carbone amorfo.^[17] Come

riportato in letteratura infatti questo segnale non è ‘proprio’ dei nanotubi ma deriva da difetti strutturali presenti sui SWNTs oppure, come in questo caso, da carbone amorfo nel campione. La struttura della banda G è costituita da due segnali accoppiati: in questa zona SWNTs metallici e semiconduttori presentano infatti profili diversi.^[18] Ovviamente ci può essere il contributo della parte grafitica del grezzo. Le analisi termiche sono utilizzate per investigare la stabilità termica di un materiale. I nanotubi “puri” si decompongono in aria (bruciano) come le altre forme carboniose, manifestando un’elevata resistenza termica che ne assesta la temperatura di decomposizione (T_0) a circa 600°C.^[19, 20, 21] La temperatura di ossidazione è in correlazione con il diametro del nanotubo stesso, minore diametro significa una maggiore curvatura sugli orbitali del C (maggiore piramidalizzazione) quindi una inferiore resistenza termica rispetto ai diametri maggiori, ma nessun lavoro ha mostrato questa correlazione in maniera diretta. Anche la presenza di difetti sui nanotubi riduce la T_0 ricongiungendosi alla motivazione espressa sopra.

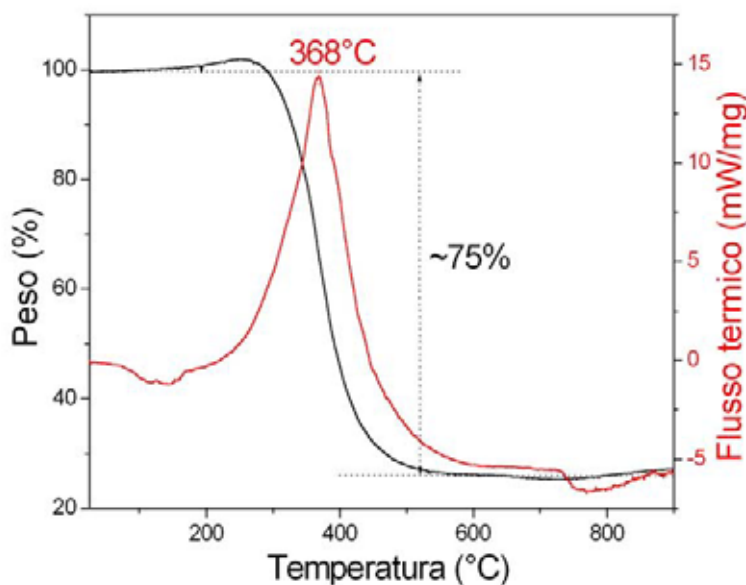


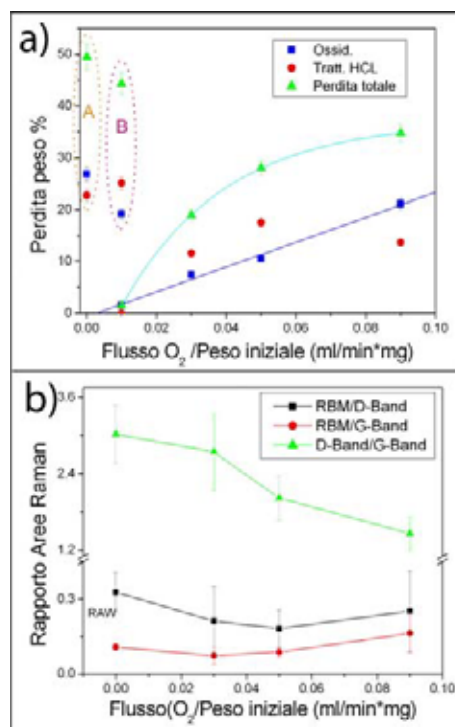
Figura II - 2 Analisi termica del materiale grezzo ottenuto per scarica ad arco condotta in aria (velocità 5°C/min, flusso aria 10ml/min). L’analisi termogravimetrica (curva nera) permette la stima della perdita di peso del campione dovuta alla combustione ed il residuo di materiale inorganico, circa il 25%, costituito dal catalizzatore. L’analisi termica differenziale (curva rossa) ha come picco massimo il punto di maggior flusso di calore, quindi la combustione del materiale organico. Come descritto in precedenza la posizione di questo picco è fortemente influenzata dalla purezza del materiale.

Il campione di nanotubi grezzi appena sintetizzati sottoposto a TGA presenta un unico picco di combustione a circa 370°C (Figura II-2). La riduzione di T_0 è dovuta alla presenza di metalli utilizzati per la sintesi che in questo caso agiscono da catalizzatore nella combustione del nanotubo. Anche la presenza di considerevoli quantità di carbone amorfo, la cui degradazione è tra i 300 ed i 400°C, abbassa ulteriormente la T_0 facilitando anche la combustione dei nanotubi limitrofi (*hot-spots*). Il residuo di materiale inorganico oltre gli 800°C pari al 25% del peso iniziale del campione è dovuto al catalizzatore rimasto dalla sintesi.

La prima fase del processo di purificazione del materiale ottenuto per scarica ad arco prevede un trattamento in aria a 300°C per 3 ore; la temperatura è impostata in maniera da ottenere una decomposizione selettiva del carbonio amorfo. Contestualmente si ottiene l’apertura dei gusci di materiale organico che ricoprono il catalizzatore ed una possibile ossidazione dello stesso. Come visto per l’analisi termica il catalizzatore presente, la creazione di *hot-spots* da combustione del carbonio amorfo, comportano anche la rimozione

di parte dei nanotubi. Inoltre i nanotubi stessi reagiscono in queste condizioni nei punti con maggiore tensione angolare ossia sulle calotte fullereniche terminali e sui difetti comportando la formazione di gruppi idrossilici, carbonilici e carbossilici.^[22]

Figura II - 3 a) Il grafico riporta le perdite di peso rispetto al flusso di ossigeno (normalizzato per tempo e peso del campione) con cui è stato trattato. La perdita di peso nel trattamento termico (■) mostra una dipendenza lineare con la quantità di ossigeno. Anche il trattamento in acido (●) mostra una dipendenza lineare iniziale, legato all'aumento di inorganico disponibile all'attacco fino a raggiungere un *plateau*. La terza serie (▲) riporta la perdita di peso totale costituita dalla somma dei due singoli passaggi. Serie di dati (A) relativo al campione trattato in convezione naturale espresso a riferimento; (B) al campione trattato con flusso di aria 5ml/min per 24 ore. **b)** Andamento del rapporto tra le aree sottese ai segnali Raman rispetto al flusso d'aria utilizzato: (■) RBM/D-Band; (●) RBM/G-Band; (▲) D /G-Band. I punti sono uniti con una linea per aiutare la visualizzazione dell'andamento.



Lo spettro Raman del materiale ossidato in aria per 3 ore a 300°C mostra la riduzione del segnale del G-mode e l'incremento del D-mode come se vi fosse una diminuzione della quantità di nanotubi presente. In realtà questi due segnali per i SWNTs sono in correlati con i difetti presenti nella struttura e quindi sopra si ha un danneggiamento durante l'ossidazione. Infatti il segnale RBM incrementa d'intensità: il carbone amorfo che nel materiale grezzo ricopre i nanotubi come un involucro ostacolandone lo *stretching* radiale (RBM) è rimosso dal trattamento.

L'ossidazione quando condotta in convezione naturale possiede una quantità sufficiente di ossigeno tale da rendere spontanee le combustioni del materiale e la creazione di *hot-spots*. Abbiamo quindi introdotto un parametro di controllo della cinetica di reazione agendo sull'ossigeno disponibile piuttosto che sulla termodinamica, mantenendo costante la temperatura di 300°C ed il tempo. Inoltre per migliorare l'omogeneità del trattamento il letto di materiale è costantemente movimentato.

Si nota come la perdita di materiale sia direttamente proporzionale alla quantità di ossigeno flussato (figura II-3a■). E' interessante evidenziare che l'ossigeno disponibile in tutte le ossidazioni effettuate (convezione forzata o naturale) sia comunque in largo eccesso rispetto a quello usato, un consumo medio di circa il 5%.

Una volta individuato un flusso sufficientemente ridotto da non creare apprezzabili variazioni di peso in 3 ore di ossidazione (cinetica molto lenta) si è prolungato il trattamento fino a comportare una perdita di peso paragonabile a quella ottenuta in convezione forzata, presa a riferimento. Lo scopo è quello di ottenere un materiale in cui si rimuove il solo carbonio amorfo in maniera più selettiva senza intaccare la componente di nanotubi. La caratterizzazione Raman e SEM del prodotto ottenuto non evidenzia peraltro apprezzabili differenze dal materiale ossidato in convezione naturale. Probabilmente ciò che avviene è da

ricondursi ai processi di trasferimento di massa nelle due diverse condizioni di trattamento. Durante la combustione si crea un gradiente di concentrazione di ossigeno ed anidride carbonica tra il letto di materiale e l'ambiente circostante. In convezione forzata il gradiente è minore grazie a trasferimenti di massa più efficaci; perciò per ridurre *hot-spots* e combustioni spontanee bisogna agire sulla percentuale di ossigeno del flusso in ingresso. Nella convezione naturale si è in regime di controllo diffusivo che crea un'atmosfera locale sul materiale carbonioso con una concentrazione effettiva di ossigeno minore. Inoltre avviene una modifica graduale nel tempo del potere ossidante dell'atmosfera all'interno del forno tubolare.

Un ulteriore fattore che può comportare una riduzione della quantità di CNTs durante i processi di ossidazione, pur mantenendo basse le temperature del trattamento, è dovuta ad effetti di combustione catalitica attivata dai metalli di transizione presenti (come Co, Ni, Fe impiegati per la sintesi dei CNTs) con spiccate doti di catalisi ossidativa.

Il secondo passaggio prevede un lavaggio del materiale in acido cloridrico al fine di rimuovere il catalizzatore. La perdita di peso rapportata al trattamento termico precedentemente subito manifesta un comportamento lineare iniziale per raggiungere poi un *plateau* verso il 18-20% paragonabile al 25% come evidenziato dal residuo della TGA (figura II-2). La linearità iniziale è comprensibile in termini di catalizzatore disponibile: se il trattamento acido viene eseguito sul materiale grezzo non si ha alcuna rimozione della parte metallica in quanto essa si presenta coperta di carbonio amorfo che ne previene l'attacco da parte dell'acido. Man mano che l'ossidazione avanza, corrispondente alla perdita di materiale nel primo *step*, una maggiore quantità di catalizzatore si rende disponibile al seguente attacco acido.

I materiali che non hanno evidenziato una perdita di peso paragonabile alla percentuale di impurezze presenti, comparati per i vari trattamenti, non hanno subito ulteriori fasi di purificazione e le procedure con i quali sono stati ottenuti dimesse. Quindi lo studio è stato portato avanti esclusivamente per i campioni ottenuti in condizioni di convezione naturale e per convezione forzata con flussi di aria da 45ml/min e da 5ml/min protratta per 24 ore.

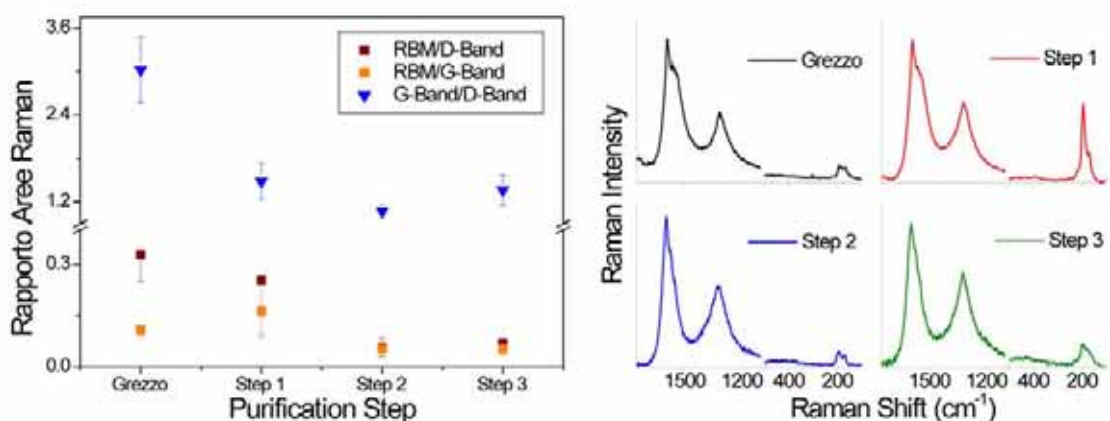
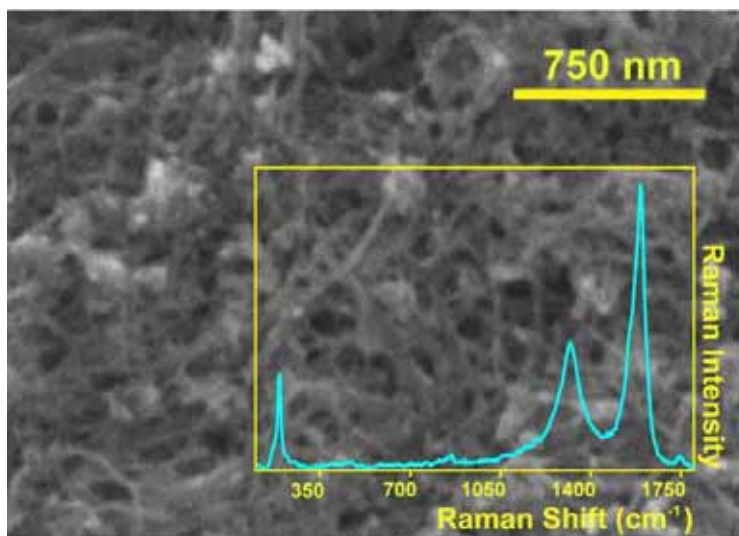


Figura II - 4 Andamento dello spettro Raman rispetto allo *step* di purificazione per un materiale trattato sotto flusso d'aria 45ml/min per 3 ore. *Step 1* ossidazione in aria, *Step 2* trattamento in acido cloridrico, *Step 3* sospensione in tensioattivo e centrifugazione. A sinistra è mostrato il grafico del rapporto tra le aree sottese ai segnali Raman nelle zone del RBM, della D-Band e della G-Band. A destra i rispettivi spettri completi.

La caratterizzazione Raman dei materiali ottenuti dopo i due trattamenti mostra una minore intensità del RBM che potrebbe addursi ad una riduzione della percentuale di tubi. In realtà è molto più probabile che il trattamento acido comporti un'ulteriore danneggiamento dei tubi, che partendo dai difetti introdotti in fase ossidante si propagano nel tubo durante il trattamento acido. C'è però da considerare l'eventuale effetto *doping* dei tubi da parte dell'acido che comporterebbe una modifica dello spettro Raman. Dalle immagini SEM infatti non risulta una notevole riduzione di materiale tubolare a conferma di quanto supposto.

L'ultimo passaggio della purificazione prevede la sospensione dei nanotubi in sodio dodecilsolfato, un tensioattivo molto efficace nella sospensione dei SWNTs in acqua.^[23] Il SDS è un tensioattivo anionico in grado di creare spontaneamente micelle tubolari a concentrazioni maggiori di 8mM. Il materiale contenente CNTs viene posto in una soluzione di SDS 1% w/w (di un ordine di grandezza superiore alla concentrazione micellare critica), quindi posto in bagno ad ultrasuoni. Il tensioattivo si dispone con le code apolari sulla parete del nanotubo fino a creare attorno ad esso una micella in grado di mantenerlo sospeso. Il trattamento con ultrasuoni favorisce il processo di *de-bundling* (ossia di separazione delle matasse create dai CNTs) e quindi l'inserzione del tensioattivo. Inoltre gli ultrasuoni tagliano i nanotubi riducendone lunghezza e peso molecolare. Se però la sonicazione è protratta a lungo avviene la completa lisi dei SWNTs. Una volta ottenuta la sospensione questa viene centrifugata, in questo modo la componente grafite ancora presente nel campione, il materiale con una densità maggiore del nanotubo e non sospeso, vengono trascinati verso il



fondo. Il surnatante contenente la frazione sospesa è poi filtrato ed il tensioattivo rimosso per lavaggio con acqua.

Figura II - 5 Immagine al microscopio a scansione elettronica di nanotubi puliti ottenuti per scarica ad arco e purificati, come descritto nel testo, con processo di ossidazione condotto in convezione naturale. Insetto: spettro Raman dello stesso materiale.

Il materiale finale si presenta con ancora alcune impurezze, come mostrato in figura II-5, di entità notevolmente ridotta rispetto all'inizio. Sia l'analisi al SEM dove si visualizzano facilmente *bundles* di nanotubi sia l'analisi Raman supportano questa indicazione. Dal confronto con dati non pubblicati di gruppi coinvolti nella ricerca sullo sviluppo di metodi e protocolli per la purificazione dei nanotubi si osserva che per i materiali ottenuti per scarica ad arco sia impossibile raggiungere elevati standard di purezza come quelli ottenibili partendo da materiali da sintesi diversa.

II.2.2 Materiale da Chemical Vapour Deposition (CVD)

Il prodotto di origine commerciale (Elicarb™) è fornito dalla Thomas Swan & Co.Ltd. come 'wet cake': completamente imbevuto d'acqua (circa 2% in peso di CNT) per un impiego e trasporto più sicuri. Il materiale è ottenuto per CVD in un processo a letto fluido con catalizzatore Fe supportato su ossido di Mg.

Proprietà	Valore
Contenuto metallo (wt%)	1.96 Fe, 0.02 Mg
Ceneri (wt%)	4.72
Diametro tubi (nm)	< 2
Contenuto nanotubi nel 'wet cake' (wt%)	2.36

Tabella II - 1 Tabella riassuntiva delle proprietà del prodotto commercializzato e sintetizzato per CVD.

Il prodotto fornito è insospesabile sia in dimetilformammide sia in soluzioni 1% di SDS. Questo trova riscontri anche in letteratura dove materiali ottenuti per CVD con elevati gradi di purezza si dimostrano molto più difficoltosi da processare rispetto a materiali ottenuti per scarica ad arco.

Processo di Purificazione Sviluppato 1

Il materiale è essiccato in condizioni blande: temperatura ambiente poi in forno a 60°C fino a stabilizzazione del peso. Terminata l'essiccazione il materiale si presenta in grani a dimensione varia di circa un millimetro di diametro. Per favorire i punti d'attacco nei trattamenti successivi ed avere campioni omogenei si è proceduto ad uno *step* di macinazione su mortaio di agata. Si presenta con una densità apparente molto maggiore rispetto agli scarica ad arco e non ne possiede la caratteristica pulverulenta.

Ossidazione: Circa 50mg di materiale sono posti in una navicella standard per trattamenti termici. Trattati in forno a 300°C in convezione naturale. I tempi d'ossidazione sono stati fatti variare da 3 a 15 ore. Quindi il materiale è pesato.

Trattamento acido: come riportato per gli scarica ad arco.

Discussione dei risultati

Il materiale si presenta qualitativamente migliore ad una prima analisi Raman (figura II-1Db) e SEM (figura II-1B) e dalla descrizione fornita dal produttore (tabella II-1). Questa caratterizzazione parziale aiuta ad individuare l'*iter* del processo di pulizia del materiale che rimane comunque necessaria.

Seguendo quanto già sviluppato per i nanotubi sintetizzati per scarica ad arco, si è proceduto con un'ossidazione in aria a 300°C per 3 ore. Questa ha portato a variazioni di massa molto ridotte di circa 8%. Quindi aumentando il tempo di permanenza in forno fino a 15 ore si è notato un *plateau* che assesta la perdita media di materiale a circa 11% e si manifesta già per tempi di trattamento pari a 6 ore.

Il materiale quindi, come evidenziato inizialmente dallo spettro Raman nel *D-Mode*, presenta una quantità di carbonio amorfo molto bassa. Grazie all'ossidazione il rapporto G-

Mode/D-Mode passa da un valore 3.3 iniziale a 4.5 confermando l'abbattimento del carbonio amorfo. Tale andamento, crescente già nel primo *step*, manifesta un comportamento opposto a quello osservato per gli scarica ad arco. E' in realtà ciò che ci si aspetterebbe dal materiale: negli scarica ad arco il carbonio amorfo era talmente elevato che nonostante si sia provato a mantenere cinetiche lente, si creavano *hot-spots* che bruciavano anche parte dei nanotubi. In questo campione la presenza è talmente ridotta che non va ad inficiare la quantità di tubi. Probabilmente anche la diversa natura ed ammontare del catalizzatore giocano un ruolo fondamentale nelle cinetiche di ossidazione catalitica.

Il successivo trattamento acido ad eliminare le poche tracce di metalli comportano un abbassamento dell'intensità del segnale RBM pur mantenendo invariato il rapporto G/D-*Mode*. Il materiale si presenta al SEM assente da particolato e con un elevata quantità di materiale tubolare. Indice questo della sensibilità del Raman ad effetti di *doping* sul nanotubo e quindi la necessità di affiancare due tecniche complementari come SEM e Raman.

Dopo questi trattamenti il materiale si presentava ancora insospesibile in DMF ed in soluzioni di SDS rendendo impossibile il terzo passaggio di purificazione ed anche inutile alle successive applicazioni che ne prevedevano l'impiego in sospensione. Per questa ragione il materiale sintetizzato per CVD e trattato con la procedura riportata sopra non è stato utilizzato.

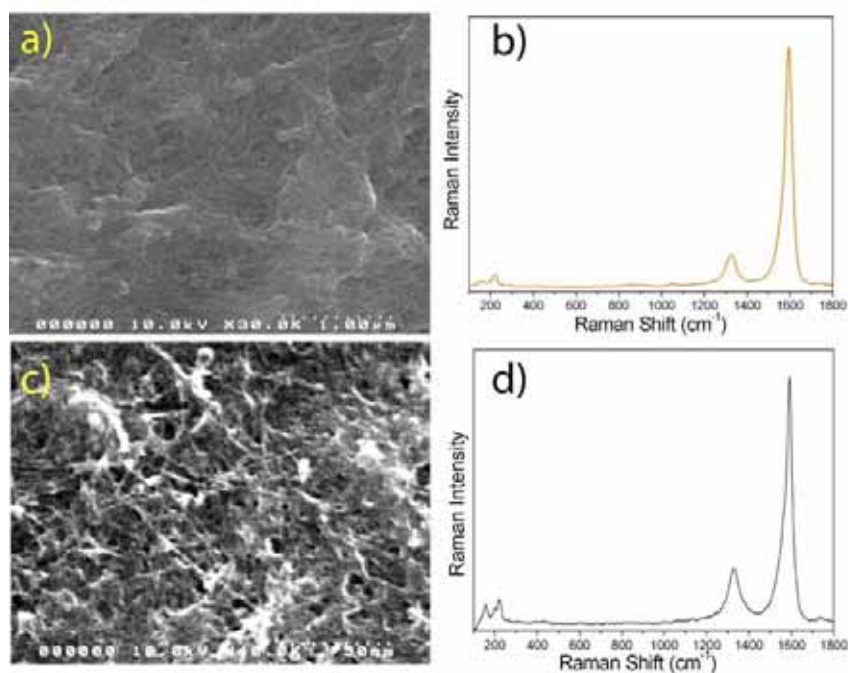


Figura II - 6 a) Micrografia SEM dei nanotubi ottenuti con il metodo 'ossidazione in aria e lavaggio in acido cloridrico' come descritto nel testo e b) spettro Raman dello stesso materiale. c) SEM e d) Raman dei nanotubi ottenuti dopo trattamento in acido nitrico concentrato per 6 ore.

In letteratura sono riportati anche metodi di purificazione dei nanotubi in liquido che prevedono in un unico

step l'ossidazione e la rimozione del catalizzatore a carico di agenti chimici. Presentano spesso condizioni aggressive di reazione con la presenza di acidi ossidanti come HNO_3 , H_2SO_4 , talvolta in miscela con H_2O_2 .^[7] Questi tipi di attacco, più energetici ed omogenei sul campione, comportano oltre alla riduzione delle impurezze anche il taglio dei nanotubi rendendoli più facilmente sospensibili. Ritenendo necessario un approccio più energico rispetto a quelli finora utilizzati si è proceduto con trattamento in acido nitrico come riportato di seguito.

Processo di Purificazione Sviluppato 2

Metodo con Acido Nitrico: Il materiale sotto forma di ‘wet cake’, come ricevuto, è trattato con una soluzione di acido nitrico concentrato. Circa 100mg di materiale sono posti in pallone assieme a 40ml di HNO₃ 65%, posti in bagno ad ultrasuoni per 15 minuti per ridurre gli aggregati, quindi posto a riflusso sotto agitazione per 3 ore. Il solido è separato per centrifugazione e recuperato come precipitato, lavato fino a neutralità delle acque; infine filtrato su filtro Millipore® in policarbonato (diametro pori 0.45µm).

Discussione dei risultati

Il trattamento ossidante in liquido, così come quello in aria, inserisce notevoli difetti sui nanotubi: questi difetti sono gruppi carbossilici, carbonilici ed alcolici che si formano nelle zone più reattive del tubo: calotte o zone con difetti di sintesi ossia dove l’atomo di carbonio già mostra un grado di piramidizzazione maggiore.^[22] Da questi punti iniziali d’attacco la propagazione dei difetti diventa più semplice e si ha quindi l’ottenimento di nanotubi puliti ma con qualità elettroniche peggiori. Infatti come dimostra la spettroscopia Raman si ha un incremento del segnale nel *D-Mode*, associato ai difetti sui nanotubi, che si riflette sulla riduzione del rapporto tra *G-Mode* e *D-Mode*. Al SEM il si ha un materiale che presenta una maggiore quantità di sottoprodotti/impurezze; probabilmente carbone amorfo che si è creato a causa delle condizioni di reazione troppo aggressive. La lunghezza media delle strutture tubolari risulta accorciata, ciononostante la sospensibilità in DMF ed SDS non sembra accresciuta in maniera paragonabile.

L’impossibilità di ottenere con due metodi così diversi materiali non adatti agli utilizzi futuri ha comportato l’interesse ad investigare un terzo tipo di materiale ossia gli HiPco

II.2.3 Materiale da High Pressure CO decomposition (HiPco)

I nanotubi sintetizzati con il metodo di decomposizione del monossido di carbonio ad alta pressione (HiPco) sono diventati all’interno della comunità scientifica dei nanotubi il materiale di riferimento. Il loro vasto impiego deriva dalla qualità dei nanotubi ottenuti e la loro disponibilità sul mercato quando la concorrenza proveniva solo dalla scarica ad arco.

Il grezzo ottenuto con questa tecnica contiene un’elevata percentuale in peso di SWNTs, circa 60-70%, con una ridotta quantità di ceneri (<35% w/w) e carbone amorfo. Ciò che rende questo materiale unico è la qualità dei nanotubi ottenuti: pochi difetti strutturali, diametro medio di 1nm ed un intervallo molto stretto da 0.8 a 1.2nm e quindi la presenza di “pochi” tipi di nanotubi. Il materiale è stato talmente studiato e caratterizzato che si conoscono i SWNTs presenti ossia i loro indici (n,m) e la frazione.

Proprietà	Valore
Contenuto metallo (wt%)	13 Fe
Ceneri (wt%)	< 15
Diametro tubi (nm)	0.8 – 1.2
Umidità (%)	< 5

Tabella II - 2 Tabella riassuntiva delle proprietà del prodotto commerciale ‘Purified HiPco® Single-Wall Carbon Nanotubes’

Il materiale da noi utilizzato è commercializzato con il nome 'Purified HiPco® Single-Wall Carbon Nanotubes' e fornito da Carbon Nanotechnologies Inc. (detentore unico dei brevetti per la sintesi con metodo HiPco). Il materiale grezzo viene pulito parzialmente dal produttore per ridurre la quantità di catalizzatore, senza però comunicare la procedura utilizzata. In tabella II-2 vengono riportate proprietà e valori con cui sono forniti. Lo spettro Raman e l'immagine al SEM sono mostrati in figura II-1.

Pur avendo un'elevata purezza ed ottima qualità iniziale si deve comunque procedere alla rimozione del catalizzatore ancora presente ed alla riduzione delle lunghezze medie dei tubi al fine d'incrementarne la sospensibilità.

Come per il materiale a scarica ad arco l'HiPco si presenta pulverulento come una fuliggine e sono state prese le stesse precauzioni in fase di lavoro.

Processo di Purificazione Sviluppato 1

Ossidazione: come per materiale a scarica ad arco.

Trattamento acido: come per materiale a scarica ad arco.

Discussione dei risultati

Dapprima si è seguita la metodica con ossidazione in aria a 300°C per 3 ore. Il materiale non presentava alcuna perdita di peso significativa indice di una ridottissima quantità di carbonio amorfo. Probabilmente il trattamento eseguito dal produttore ha permesso oltre alla riduzione della componente metallica anche la parziale o completa rimozione del carbonio amorfo. Il successivo trattamento in acido cloridrico ha permesso la rimozione del catalizzatore ottenendo un materiale di buona qualità con segnali Raman inalterati rispetto al materiale di partenza, evidenza che i nanotubi non sono stati danneggiati con questa metodica, e la componente particellare invisibile al SEM. Probabilmente per verificare la totale assenza di catalizzatore dal materiale si renderebbe necessaria un'analisi al microscopio a trasmissione elettronica (TEM). Sfortunatamente il materiale pur presentandosi con elevato grado di purezza non è abbastanza sospensibile. Si possono comunque trarre importanti informazioni da questa metodica che si presentava non totalmente efficace sui materiali sintetizzati per scarica ad arco. Si è avuta infatti conferma che il trattamento a 300°C in aria su un materiale ad elevata purezza non deteriora la parte tubolare così come il trattamento in acido cloridrico non altera la qualità dei nanotubi.

Processo di Purificazione Sviluppato 2

Metodo con Acido Nitrico: Circa 20mg di materiale (come ricevuto) sono posti in pallone ed aggiunti circa 50ml di acido nitrico 2,5M. Messo a reflusso sotto agitazione magnetica per 24 ore, ad intervalli regolari la soluzione è sonicata tre volte per 15 minuti. Al termine il materiale è stato recuperato per filtrazione (Millipore®) su filtro in policarbonato (diametro pori 0.45µm) e lavato con acqua fino a completa neutralità. Il trattamento di 6 ore viene condotto allo stesso modo riducendo le fasi di sonicazioni da tre a due.

Discussione dei risultati

Visto che il primo approccio con ossidazione in aria non ha dato i risultati desiderati in processabilità si è trattato il materiale in acido nitrico. Partendo dal materiale ricevuto, che ha già subito una prima purificazione, si possono pensare a condizioni di reazione meno drastiche di quelle esposte in letteratura. Viene riportato da H. Dai,^[24] confermato da precedenti studi di Haddon,^[9] la necessità di lavorare con concentrazioni basse di HNO₃ (circa 2-3M) per ridurre la formazione di carbonio amorfo ed allungare i tempi di reazione fino a 24 ore. Risulta inoltre indispensabile l'ausilio degli ultrasuoni per tagliare i nanotubi. Seguendo le indicazioni si è sviluppata la procedura riportata nella parte sperimentale. Il materiale dopo

il trattamento è completamente danneggiato. Lo spettro Raman presenta segnali debolissimi nella zona del RBM ed al SEM non è visualizzata alcuna struttura tubolare. Riducendo il trattamento a 6 ore la qualità del materiale ottenuto non migliora.

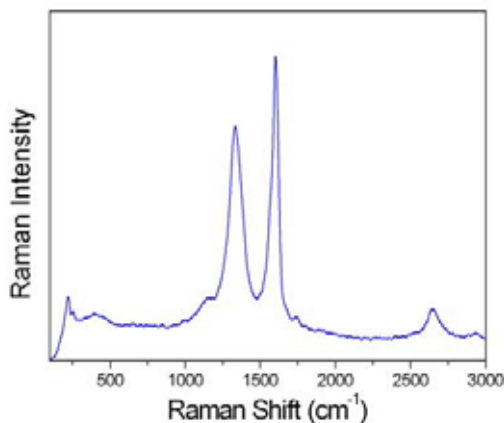


Figura II - 7 Spettro Raman di nanotubi HiPco trattati in acido nitrico 2.5M a riflusso per 6 ore. Il completo danneggiamento porta alla scomparsa del segnale RBM ed all'incremento del D-Mode ad intensità paragonabili al G-Mode.

Processo di Purificazione Sviluppato e adottato

Metodo con Soluzione Piranha: Il materiale, circa 30mg, è pesato e posto in un contenitore aperto nel quale sono addizionati circa 10ml di soluzione piranha composta da H₂SO₄ 68% : H₂O₂ 30% 3:1. Mantenuta agitazione magnetica per un'ora a temperatura ambiente. Quindi il materiale è recuperato come precipitato dopo centrifugazione, lavato fino a neutralità e filtrato con sistema Millipore® su policarbonato (diametro pori 0.45µm).

Discussione dei risultati

L'approccio che utilizza miscela piranha a temperatura ambiente^[25] per il 'taglio' dei nanotubi ha dato buoni risultati ottenendo materiali più facilmente processabili. Sia l'analisi SEM che Raman confermano l'integrità dei nanotubi. In particolare dal Raman si evince come il trattamento introduca difetti sui nanotubi andando ad aumentare il segnale del D-Mode ma senza incrementare la quantità di particolato amorfo non visibile al SEM. Inoltre si ha una modifica dell'intensità relativa dei picchi nella zona del RBM: si ha infatti la totale scomparsa del segnale a 296cm⁻¹ e una forte attenuazione di quello a 284cm⁻¹, corrispondenti ai diametri inferiori che avendo una maggiore piramidizzazione dei carboni hanno una reattività maggiore. Un notevole incremento d'intensità relativa avviene per i SWNTs con segnale a 258 e 221cm⁻¹. È interessante notare come anche il picco 195cm⁻¹, corrispondente al un nanotubo metallico di diametro maggiore,^[26,27] subisca una forte diminuzione probabilmente dovuta alla reattività di questi sistemi^[27] e segno di una possibile selettività del metodo con soluzione piranha verso nanotubi metallici. Questa valutazione risulta fortemente semplificata dall'utilizzo del laser He-Ne con linea d'emissione a 632.8nm (1.96eV) in grado

di eccitare alcuni tubi metallici e 5 tipi di semiconduttori per HiPco SWNTs, ben separati come energie di transizioni E_{22}^S e E_{11}^M e nei diametri corrispondenti: inferiori i semiconduttori (circa 0.8nm in media) e maggiori i metallici (circa 1.2nm in media).

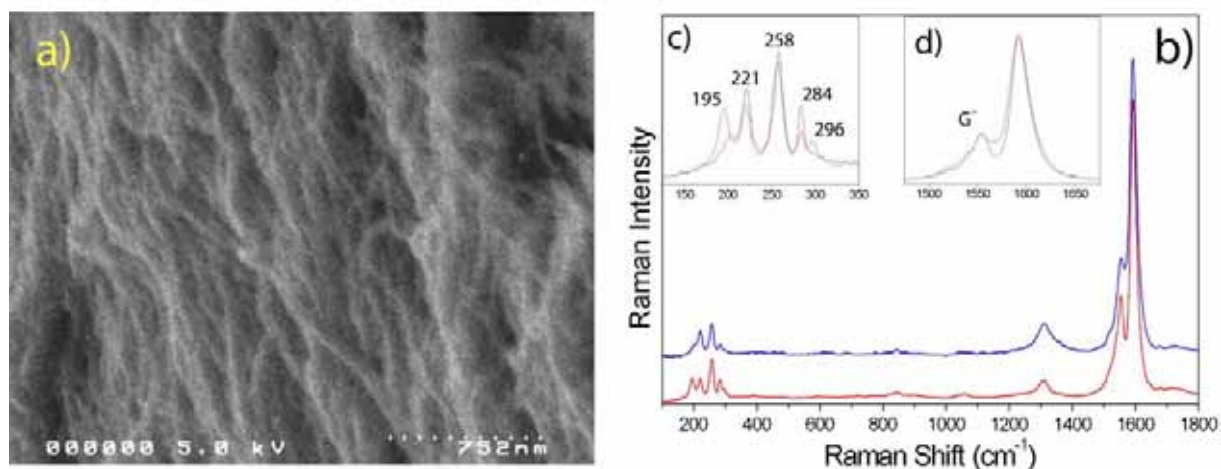


Figura II - 8 L'immagine al microscopio SEM **a)** evidenzia la struttura tubolare e l'assenza di particolato. Al Raman si nota l'incremento del segnale del D-Mode, per l'introduzione di difetti sui nanotubi. Inoltre un incremento del segnale da SWNTs con diametro maggiore ossia frequenza minori di risonanza (inserto **c**) evince la totale scomparsa del segnale a 300cm^{-1} corrispondente al diametro minore e l'incremento relativo dei segnali a 200 e 250cm^{-1} . Inserto **d** mostra la variazione di forma del picco G.

Evidenza di un effetto drogante del trattamento sui nanotubi dal segnale Raman non sembra esserci: la banda dello *stretching* grafiteo (G-Mode) rimane centrata a 1592cm^{-1} quando si sarebbe atteso un suo spostamento ad energie maggiori come avviene nell'interazione con composti elettron accettori. La banda G, che mostra profili ed intensità differenti a seconda della metallicità dei nanotubi, ovvero picco largo e intenso per metallici mentre debole e stretto per semiconduttori, subisce un leggero aumento d'intensità ed allargamento del profilo. Deduciamo che SWNTs con diametro minore hanno reattività legata alla piramidizzazione dei carboni mentre SWNTs metallici hanno reattività dipendente dall'energia degli stati elettronici. I due effetti naturalmente si sommano, ma nella finestra di tubi da noi analizzata (laser 1.96eV) l'effetto sui diametri minori semiconduttori è leggermente superiore alla reattività dei metallici. Per una quantificazione di questo fenomeno sarebbe necessaria una caratterizzazione con laser d'eccitazione a diversa energia.

Quindi il trattamento di purificazione in piranha operato su HiPco ne preserva grossomodo la varietà di nanotubi rispetto al campione nativo anche se l'abbondanza relativa ne viene modificata come discusso sopra. Sembra aumentata la sospensibilità, segno dell'avvenuta riduzione delle lunghezze medie.

II.3 Funzionalizzazione di CNTs

Una serie di metodi sono stati proposti e sfruttati per incrementare la solubilità, ma sarebbe più corretto dire sospensibilità, di questi materiali nei solventi. Si possono dividere in due sottogruppi: funzionalizzazione covalente e non-covalente.^[28]

La funzionalizzazione covalente sfrutta la creazione di legami covalenti tra il nanotubo ed una molecola a basso peso molecolare che solitamente presenta una catena alchilica. I pendagli introdotti hanno il compito di aumentare la solubilità del SWNT nei solventi, incrementandone la compatibilità. Un secondo effetto dell'introduzione di queste catene laterali è dovuto al loro comportamento come 'spaziatori' (o plastificanti) andando a ridurre le forti interazioni di π - π *stating*. Le forze di Van der Waals che si instaurano tra i nanotubi ne causano l'aggregazione in *bundles* e quindi in oggetti molto più grandi con una solubilità molto minore.

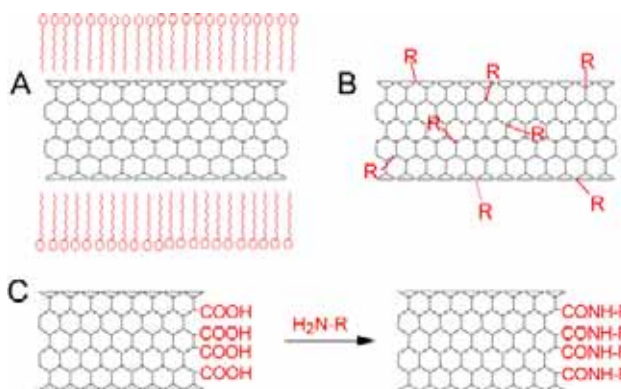


Figura II - 9 Rappresentazione grafica delle funzionalizzazioni A) non covalente B) covalente C) covalente sui difetti

L'attacco di queste catene laterali può avvenire in due punti: sui difetti strutturali del SWNT o direttamente sulla parete laterale del nanotubo. La funzionalizzazione sui difetti, creatisi in fase di sintesi ma ancor più nei processi

di purificazione, ovvero sui gruppi carbossilici, carbonilici ed alcolici presenti sui tubi, aiuta la sospensibilità senza creare ulteriori modifiche alla struttura del nanotubo. Ha però lo svantaggio di non poter essere efficacemente dosata e quindi non si possono introdurre più gruppi di quelli che non siano già presenti.^[29] Questo vincolo non si presenta con la funzionalizzazione direttamente sulla parete del nanotubo. Dall'altro canto l'attacco di questi pendagli sul nanotubo comportano il passaggio da un'ibridazione sp^2 , con un certo grado di piramidizzazione- a sp^3 , tetraedrica, perciò la perdita di delocalizzazione della struttura π e la riduzione delle proprietà di conducibilità.^[30]

La funzionalizzazione non-covalente si basa esclusivamente sulla riduzione delle interazioni intertubo andando a creare uno strato 'protettivo' attorno alla parete del SWNT, prevenendone l'aggregazione. L'agente funzionalizzante interagisce con il CNT competendo con il π - π *stating* e conferendo un'affinità per il solvente. La molecola disperdente deve quindi possedere due siti interni a diversa affinità: un sito affine al nanotubo, il secondo affine al solvente.

La dispersione dei nanotubi è ottenuta sonicando il materiale solido in una soluzione dell'agente disperdente. La molecola in contatto con il materiale solido aderisce sulla parete dei *bundle* con il sito 'specifico' per il nanotubo mantenendo il secondo a contatto con il solvente. La sonicazione conferisce l'energia cinetica sufficiente al processo di *de-bundling* (sfaldamento degli aggregati di nanotubi). Si ha quindi l'esposizione della parete dei nanotubi

al solvente, le piccole molecole di disperdente aderiscono portando ad una maggiore stabilità del sistema ed alla sospensione dei nanotubi.

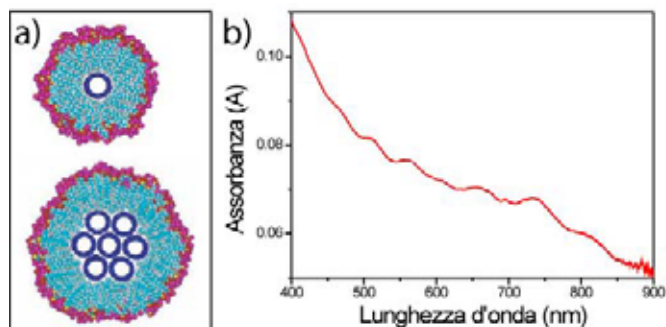


Figura II - 10 a) Sezione trasversale di un SWNT e di un *bundle* di SWNTs circondati da SDS. Riprodotto da ^[34]. b) Spettro di assorbimento di HiPco trattati con soluzione piranha e sospesi in SDS 1% per sonicazione in bagno ad ultrasuoni. Nella regione dai 400 ai 1600nm avvengono le transizioni E_{11} ed E_{22} dei SWNTs isolati. L'andamento ondulatorio che si evidenzia è legato a questi assorbimenti che subiscono un allargamento delle bande ed un *red-shift* per aggregazione in *bundles*. La nostra sospensione è quindi composta di singoli SWNTs e di piccoli *bundles*.

E' stato osservato che molti sistemi agiscono da sospendenti verso i SWNTs come tensioattivi, polimeri ed anche biomolecole. Le molecole piccole (tensioattivi e biomolecole a struttura globulare)^[31] si dispongono attorno al nanotubo a creare come una micella attorno ad esso; mentre le molecole grandi (polimeri e biomolecole lineari) si arrotolano attorno al nanotubo.^[32,33]

Per l'applicazione nella deposizione controllata tramite litografie soffici (vedi capitolo III) abbiamo scelto il sodiododecilsolfato (SDS) un tensioattivo anionico il cui sistema di funzionalizzazione è noto e molto efficace.^[34] Inoltre la presenza di gruppi carichi superficialmente conferisce alle strutture micellari una energia repulsiva che previene maggiormente l'aggregazione dei tubi, un particolare che potrebbe essere rilevante in fase di deposizione essendo coinvolti volumi decisamente piccoli (canali di $1\mu\text{m}$ nel MIMIC ed anche inferiori per quelli creati per *pinning* sotto lo stampo in LCW).

Riferimenti Capitolo II

- ¹ Vedi Appendice 1
- ² R.C Haddon, J. Sippel, A.G. Rinzier, F. Papadimitrakopoulos; *MRS Bulletin* 2004, **29**, 252-259
- ³ V. Skákalová, A.B. Kaiser, U. Dettlaff-Weglikowska, K. Hrnčariková, S. Roth; *J. Phys. Chem. B* 2005, **109**, 7174-7181
- ⁴ G.S. Duesberg, S. Roth, P. Downes, A. Minett, R. Graupner, L. Ley, N. Nicoloso; *Chem. Mater.* 2003, **15**, 3314-3319
- ⁵ Le tecniche di caratterizzazione utilizzate sono descritte in maggiore dettaglio in Appendice 2
- ⁶ U. Vohrer, I. Kolaric, M.H. Haque, S. Roth, U. Dettlaff-Weglikowska; *Carbon* 2004, **42**, 1159-1164
- ⁷ S. Nagasawa, M. Yudasaka, K. Hirahara, T. Ichihashi, S. Iijima; *Chem. Phys. Lett.* 2000, **328**, 374-380
- ⁸ I.W. Chiang, B.E. Brinson, A.Y. Hunag, P.A. Willis, M.J. Bronikowski, J.L. Margrave, R.E. Smalley, R.H. Hauge; *J. Phys. Chem. B* 2001, **105**, 8297-8301
- ⁹ H. Hu, B. Zhao, M.E. Itkis, R.C. Haddon; *J. Phys. Chem. B* 2003, **107**, 13838-13842
- ¹⁰ J. Liu, A.G. Rinzier, H. Dai, J.H. Hafner, R.K. Bradley, P.J. Boul, A. Lu, T. Iverson, K. Shelimov, C.B. Huffman, F. Rodriguez-Macias, Y.-S. Shon, T.R. Lee, D.T. Colbert, R.E. Smalley; *Science* 1998, **280**, 1253-1256
- ¹¹ G.S. Duesberg, J. Muster, H.J. Byrne, S. Roth, M. Burghard; *Appl. Phys. A* 1999, **69**, 269-274
- ¹² A.G. Ryabenko, T.V. Dorofeeva, G.I. Zvereva; *Carbon* 2004, **42**, 1523-1535
- ¹³ Progetti finanziati dalla comunità europea SPANG e CARDECOM
- ¹⁴ S. Arepalli, P. Nikolaev, O. Gorelik, V.G. Hadjiev, W. Holmes, B. Files, L. Yowell; *Carbon* 2004, **42**, 1783-1791
- ¹⁵ C.-W. Lam, J.T. James, R. McCluskey, R.L. Hunter; *Toxicological Sciences* 2004, **77**, 126-134
- ¹⁶ A.M. Rao, E. Richter, S. Bandow, B. Chase, P.C. Eklund, K.A. Williams, S. Fang, K.R. Subbaswamy, M. Menon, A. Thess, R.E. Smalley, G. Dresselhaus, M.S. Dresselhaus; *Science* 1997, **275**, 187-191
- ¹⁷ A.C. Dillon, M. Yudasaka, M.S. Dresselhaus; *J. Nanosci. Nanotech.* 2004, **4**, 691-703
- ¹⁸ A. Jorio, M.A. Pimenta, A.G. Souza Filho, R. Saito, G. Dresselhaus and M.S. Dresselhaus; *New J. Phys.* 2003, **5**, 139.1-139.17
- ¹⁹ S. Arepalli, P. Nikolaev, O. Gorelik, V.G. Hadjiev, W. Holmes, B. Files, L. Yowell; *Carbon* 2004, **42**, 1783-1791
- ²⁰ Thermogravimetric Analysis (TGA), da http://www.msel.nist.gov/Nanotube2/Carbon_Nanotubes_Guide.htm
- ²¹ B.J. Landi, C.D. Cress, C.M. Evans, R.P. Raffaele; *Chem. Mater.* 2005, **17**, 6819-6834
- ²² D.B. Mawhinney, V. Naumenko, A. Kuznetsova, J.Y. Yates, J. Liu, R.E. Smalley; *J. Am. Chem. Soc.* 2000, **122**, 2383-2384
- ²³ M.J. O'Connell, S.M. Bachilo, C.B. Huffman, V.C. Moore, M.S. Strano, E.H. Haroz, K.L. Rialon, P.J. Boul, W.H. Noon, C. Kittrell, J. Ma, R.H. Hauge, R.B. Weisman, R.E. Smalley; *Science*, 2002, **297**, 593-596
- ²⁴ N.W. S. Kam, T. C. Jessop, P.A. Wender, H.J. Dai; *J. Am. Chem. Soc.* 2004, **126**, 6850-6852
- ²⁵ K.J. Ziegler, Z. Gu, H. Peng, E.L. Flor, R.H. Hauge, R.E. Smalley; *J. Am. Chem. Soc.* 2005, **127**, 1541-1547
- ²⁶ H. Kataura, Y. Kumazawa, Y. Maniwa, I. Umezū, S. Suzuki, Y. Ohtsuka, Y. Achiba; *Synt. Met.* 1999, **103**, 2555-2558
- ²⁷ M.S. Strano; *J. Am. Chem. Soc.* 2003, **125**, 16148-16153
- ²⁸ A. Hirsch; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2002, **41**, 1853-1859
- ²⁹ J. Chen, M. A. Hamon, H. Hu, Y. Chen, A. M. Rao, P. C. Eklund, R.C. Haddon; *Science* 1998, **282**, 95-98
- ³⁰ Y.-S. Lee, N. Marzari; *Phys. Rev. Lett.* 2006, **97**, 116801 1-4
- ³¹ Vedi capitolo IV
- ³² M. Zheng, A. Jagota, E.D. Semke, B.A. Dinner, R.S. Mclean, S.R. Lustig, R.E. Richardson, N.G. Tassi, *Nature Mater.* 2003, **2**, 338-342
- ³³ M.J. O'Connell, P. Boul, L.M. Ericson, C. Huffman, Y. Wang, E. Haroz, C. Kuper, J. Tour, K.D. Ausman, R.E. Smalley; *Chem. Phys. Lett.* 2001, **342**, 265-271

³⁴ M.J. O'Connell, S.M. Bachilo, C.B. Huffman, V.C. Moore, M.S. Strano, E.H. Haroz, K.L. Rialon, P.J. Boul, W.H. Noon, C. Kittrell, J. Ma, R.H. Hauge, R.B. Weisman, R.E. Smalley; *Science*, 2002, **297**, 593-596

CAPITOLO III

Nanofabbricazione di strutture funzionali basate su CNTs

III.1 Introduzione

La realizzazione di dispositivi basati su nanotubi di carbonio (CNTs) è strettamente connesso alla capacità di posizionarli accuratamente su superfici ed integrarli in microcircuiti. In questo capitolo si dimostra che questo obiettivo può essere raggiunto utilizzando tecniche di nanofabbricazione dette non convenzionali. In particolare sarà illustrata l'applicazione di alcune tecniche, specificamente microfluidica e *Lithographically Controlled Wetting*, per depositare ordinatamente i SWNTs, in modo da realizzare di un dispositivo funzionante.

Allo scopo di dimostrare la possibilità d'integrare materiali diversi utilizzando la stessa piattaforma tecnologica verrà mostrato l'impiego di tali tecniche anche per la deposizione controllata di materiali di natura diversa come polimeri conduttori e biomolecole.

III.2 Patterning di Single Wall Nanotubes

I nanotubi di carbonio a singola parete (SWNTs) sono stati estensivamente studiati per le loro proprietà elettroniche (vedi capitolo II). La loro elevata mobilità di carica assieme alla capacità di trasportare elevate densità di correnti li rendono interessanti come materiali trasportatori di carica nei dispositivi a scala nanometrica e come elementi base per creare connessioni nei circuiti.^[1]

Transistor ad effetto di campo basati su singoli SWNTs isolati,^[2] in numero finito,^[3] o in *network* casuali^[4] sono stati dimostrati. Sono stati ottenuti anche dispositivi funzionanti per la sensoristica,^[5] trasduzione di biomolecole^[6] e *transistor* ad emissione di luce.^[7] Una delle

maggiori barriere tecnologiche è la mancanza di processi per la fabbricazione di strutture funzionali di CNTs su substrati in larga area e con controllo spaziale. Tra gli approcci proposti vi è la crescita per *Chemical Vapour Deposition* (CVD) direttamente sulla superficie precedentemente disseminata di catalizzatore. Mentre crescere giunzioni verticali risulta piuttosto semplice come nel caso delle cosiddette foreste di CNTs.^[8] Per orientare la crescita orizzontalmente (ad esempio tra gli elettrodi di un dispositivo) è più complesso, si sfruttano campi elettrici^[9] o il flusso del gas.^[10]

Questi metodi garantiscono eccellenti risultati, ma richiedono strumenti complessi, la deposizione controllata del catalizzatore sulla superficie, e sono ristrette ad un limitato numero di substrati.

Altri approcci sono basati su superfici *prepatternate*, usando sospensioni di CNTs in solventi, e sfruttando interazioni in competizione (idrofilo/idrofobo)^[11] o deposizione elettroforetica.^[12]

In questo capitolo dimostriamo la deposizione controllata dei nanotubi di carbonio tramite tecniche litografiche non convenzionali come microfluidica (MIMIC) ed e *Lithographically Controlled Wetting* (LCW), basate sull'uso stampi di dimensioni opportune. Il risultato è la realizzazione di strutture interconnesse con controllo sub-micrometrico, costituite da strisce di singoli nanotubi e *bundles*.

III.2.1 Litografie soffici

Le litografie soffici (*soft-lithography*),^[13] così chiamate per l'utilizzo di stampi in materiale elastomerico, sono una famiglia di tecniche di nanofabbricazione non convenzionale sviluppate a partire dagli anni '90. Si basano sui principi di stampa usati a livello macroscopico, che vengono trasferiti alla scala micro e nano-metrica ed integrati con fenomeni di auto-assemblaggio ed auto-organizzazione delle molecole. Caratteristica fondamentale delle *soft-lithography* è la realizzazione di un contatto conforme a livello nanometrico tra uno stampo in materiale 'soffice' con particolari rilievi disegnati ed un substrato, consentendo il trasferimento del *pattern* dallo stampo alla superficie. Le *soft-lithography* sono una famiglia di tecniche veloci, semplici e spesso molto efficaci, nonché con un notevole potenziale di scalabilità a processi industriali.

Le litografie appena introdotte sfruttano l'approccio *Top-Down* alla nanofabbricazione. Presentando una maggiore flessibilità delle condizioni operative permettono l'accoppiamento con i fenomeni di auto-organizzazione (propri del *Bottom-Up*) creando tecniche di deposizione ad elevato controllo spaziale che risulteranno fondamentali nello sviluppo di nuove tecnologie alternative alla fotolitografia ed al silicio nei processi industriali.^[14] Questi nuovi metodi combinati, per il diretto trasferimento mediato da contatto di singole molecole, nanoparticelle e materiali ad alto impatto tecnologico, costituiscono un'importante campo di ricerca che richiede conoscenze chimiche, fisiche e tecnologiche. In questa visione stampi nanostrutturati promuoveranno o assisteranno direttamente i fenomeni di auto-organizzazione molecolare sfruttando un approccio ibrido *Top-Down/Bottom-Up*.

Le *soft-lithography* traggono la loro forza ed il loro notevole vantaggio dalla possibilità di processare e *patternare* -depositare con controllo spaziale- materiali ‘fragili’ che sarebbero incompatibili con le tecniche litografiche tradizionali in particolare polimeri conduttori e molecole biologiche.

L’introduzione di stampi soffici consente di utilizzare superfici non piane ovviando ad uno dei fondamentali svantaggi delle tecnologie tradizionali. Essendo molto versatili possono essere applicate a substrati di natura diversa e con vari materiali.

Soffrono comunque di alcune limitazioni; per esempio la difficoltà di creare processi multistrato con un accurato riposizionamento sulla superficie, che fino al micron potrebbe essere ovviato con l’impiego di *mask-aligner*, la difficoltà di ottenere risoluzioni elevate connesse alla elasticità degli stampi ed alla loro distorsione, che sarebbe aggirata con stampi più rigidi. La formazione di difetti deve essere tenuta sotto controllo: granelli di polvere, contatto non perfetto tra stampo e substrato, presenza di bolle, oligomeri a basso peso molecolare all’interno degli stampi che potrebbero essere rilasciati. Le criticità descritte sopra hanno ridotto l’impiego a livello industriale ed attualmente non sono in grado di soppiantare la fotolitografia alla quale possono affiancarsi come tecniche complementari.

Storicamente la prima tecnica proposta da G.M. Whitesides nel 1993^[15] permette di depositare monostrati di tioli (*Self Assembled Monolayer*, SAM) su una superficie di oro - *Microcontact Printing* (μ CP)-. Lo stampo inchiostrato con una soluzione di tioli è appoggiato sulla superficie di oro e trasferisce le molecole sulla superficie a contatto dove si auto-organizzano a formare un SAM delle dimensioni delle protuberanze. Sono poi state sviluppate altre tecniche di litografia soffice con diverse funzionalità^[16] come *Near-Field Phase shift lithography*,^[17] *Replica Molding*,^[18,19] *Micromolding in Capillaries* (MIMIC),^[20] *Microtransfer Molding* (TM),^[21] *Lithographically Controlled Wetting* (LCW).^[22]

Descriveremo ora in dettaglio alcune delle tecniche di maggior interesse tra quelle definite sopra che hanno trovato applicazione nell’attività di ricerca svolta nel periodo di dottorato.

III.2.1.1 Replica Molding

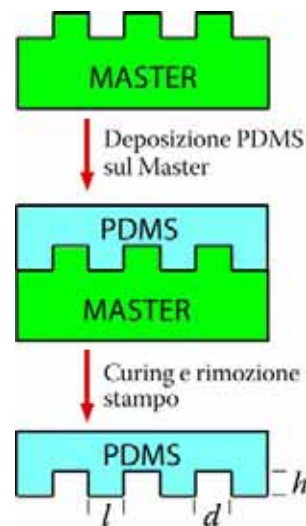
Uno dei materiali più utilizzati per gli stampi nelle litografie soffici è un elastomero siliconico polidimetilsilossano (PDMS); per le sue proprietà elastiche che ne permettono notevoli deformazioni reversibili senza modificarne la strutturazione superficiale nella sua formulazione normale (Sylgard 184, Dow Corning) ha un modulo tensile di 1.8MPa.^[23] Possiede inoltre eccellenti doti di resistenza chimica e durabilità. PDMS ha una bassa energia libera superficiale ($21,6\text{dynes/cm}^2$),^[24] si conforma reversibilmente a tutte le superfici anche curve.

Per trattamento con plasma la superficie del PDMS può essere inoltre modificata chimicamente, con inserimento di funzioni ossidriliche e conferire nuove proprietà d’interfaccia per modulare la tensione superficiale o per procedere ad ulteriore funzionalizzazione.^[25]

La fabbricazione di stampi in PDMS da impiegare nelle *soft-lithography* è generalmente ottenuta con un processo chiamato *replica molding*, ovvero replica di una matrice (*master*). Il

prepolimero liquido, mescolato assieme ad un agente di *curing* è depositato per colata appunto sulla superficie del *master* della quale vogliono essere riprodotti rilievi, buche, motivi presenti. Il materiale siliconico è fatto reticolare per via termica fino ad ottenere l'elastomero finale con le proprietà desiderate. La replica è quindi rimossa e sulla superficie si ottiene l'immagine negativa di quella presente sul *master*.

Figura III - 1 Schema del processo di *replica molding*. Il substrato da replicare (*master*) è solitamente in silicio in quanto ottenuto con tecniche litografiche convenzionali. Il prepolimero liquido è depositato sul *master*, reticolato ed infine rimosso lo stampo.



Il *master* è di solito ottenuto per processo litografico come fotolitografia, per le strutture micrometriche, o litografia a fascio elettronico (EBL), per quelle nanometriche. Il *master* è in materiale rigido e inerte: mantiene le dimensioni originali delle strutture (nessuna contrazione volumetrica locale), non viene danneggiato dal processo di reticolazione e può quindi essere riutilizzato varie volte (fino a centinaia). Per evitare l'adesione del materiale polimerico al *master* si ricorre alla modifica chimica della superficie con molecole fluorurate che ne riducono l'adesione.^[26] Il *replica molding* può essere comunque utilizzato con una grande varietà di materiali come molti polimeri, gel, molecole viscosi.

La risoluzione del processo di *replica molding* dipende dal tipo di *pattern* da riprodurre (buchi piuttosto che rilievi) e dalla loro forma e geometria (come altezza, larghezza ed il loro rapporto dimensionale). Ci sono alcuni problemi di tipo pratico che bisogna tenere in considerazione quando si utilizzano gli stampi in materiale elastomerico, come il PDMS, nelle litografie soffici e si vogliono creare strutture complesse. Innanzitutto la forza di gravità, le forze di adesione e capillari, producono stress sulle strutture elastomeriche causando difetti nel *pattern* generato. Bisogna controllare a priori le dimensioni delle strutture ed il loro *aspect ratio* (l/h). Quando il valore risulta troppo piccolo le strutture cadono o collassano sotto il peso dello stampo causando il fenomeno illustrato in figura III-2a, per evitare il fenomeno si devono avere rapporti tra 0.2 e 2. Se l'*aspect ratio* è basso le strutture non sorreggono lo stampo che 'spancia' sotto il proprio peso e l'azione delle forze di adesione con la superficie causando il fenomeno detto *sagging* figura III-2b. Questo avviene già per valori $l \geq 7h$. In ultimo deformazioni 'dimensionali' dello stampo possono causare modifiche delle strutture, figura III-2c.^[13] Questo ultimo aspetto presenta però un vantaggio pratico interessante, ossia la possibilità di variare le dimensioni delle strutture superficiali tramite il trattamento in solventi,^[27] esposizione a stress meccanici o termici^[28] dello stampo

Il *replica molding* ha permesso la riproduzione con un'elevata accuratezza e fedeltà di strutture fino a dimensioni di pochi nanometri (minimo raggiunto 3nm di risoluzione laterale ottenuto replicando un nanotubo di carbonio).^[29] Il limite non è ancora sperimentalmente noto ma è possibile che sia legato a fenomeni di capillarità, forze di Van der Waals e fattori cinetici di ricoprimento delle strutture.

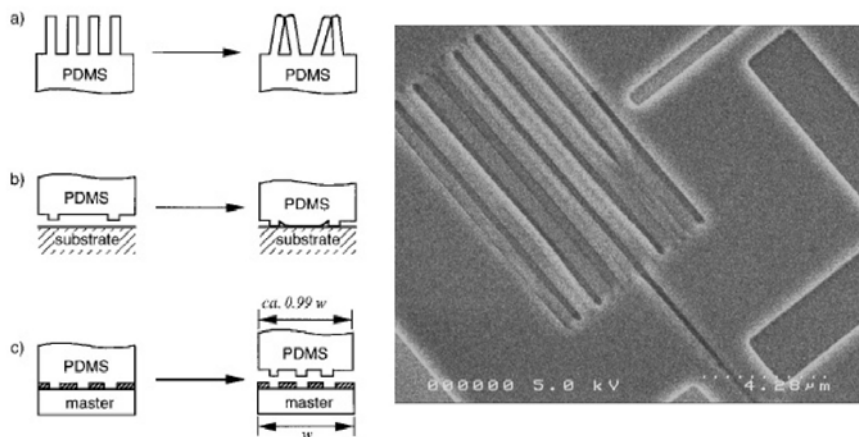


Figura III - 2 Rappresentazione grafica dei fenomeni di a) collasso delle strutture, b) *sagging*, c) deformazione dimensionale dello stampo. Riprodotto da [13]. A destra un esempio reale del collasso delle strutture in PDMS ottenute per *replica molding* di elettrodi interdigitati. L'immagine al SEM dello stampo è ottenuta dopo ricopertura con uno strato di Au.

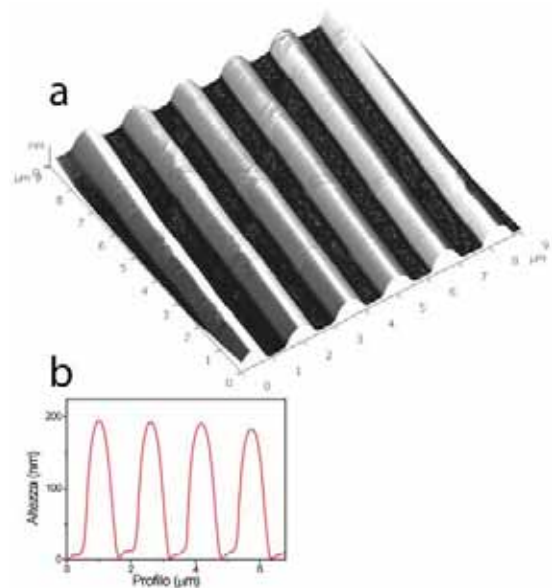
PARTE SPERIMENTALE

Preparazione dei master

I *master* utilizzati per la creazione di stampi in PDMS sono *compact disc* (CD) e *digital versatile disc* (DVD) vergini di origine commerciale. Essi sono costituiti da una serie di linee parallele la cui periodicità e dimensione varia tra CD e DVD. Il CD ha periodo di $1.5\mu\text{m}$, 'onde' larghe circa 900nm e profonde 200nm ; il DVD invece 780nm , 480nm e 100nm rispettivamente. Variazioni delle dimensioni delle strutture riprodotte dai CD di origine commerciale può avvenire sia a causa dei trattamenti di pulizia condotti sullo stampo sia dai trattamenti termici e di *curing* subiti sia dalla marca del CD utilizzato come *master*.

Il lato riprodotto è in policarbonato lavato abbondantemente con isopropanolo o etanolo per rimuovere il colorante presente quindi sciacquato con acqua *HQ grade* ed asciugato con flusso di azoto.

Figura III - 3 a) Rappresentazione grafica tridimensionale di un'immagine topografica al microscopio a forza atomica (AFM) della replica in PDMS di un CD commerciale. **b)** Profilo lineare delle protrusioni dello stampo.



Preparazione del PDMS e curing

Il polimero elastomerico di origine commerciale (Sylgard 184 Elastomeric Kit, Dow Corning) si ottiene per reazione tra un prepolimero siliconico ad alta viscosità ed un agente reticolante. I due componenti sono mescolati nel rapporto in peso di 10:1, come consigliato dalla casa produttrice. Variazioni minime del 2-3% sul rapporto modificano significativamente le proprietà elastiche del polimero risultante. Per ridurre i punti di discontinuità ed incrementare la qualità delle repliche, prima della deposizione sono eliminate tutte le bolle di aria formatesi durante la miscelazione dei componenti. Il composto è poi colato sul *master*, per geometrie complesse è consigliata l'incapsulazione sotto vuoto per rimuovere eventuali inglobamenti d'aria. La reticolazione (*curing*) avviene per via termica (a temperatura ambiente i tempi sono superiori

alle 24ore). I trattamenti termici consigliati per avere l'elastomero pronto in tempi minori sono di 4 ore a 60°C, 3 ore a 70°C, 2 ore a 80°C oppure 1 ora a 90°C. Temperature superiori e tempi più lunghi comportano deterioramenti del polimero. L'impiego della temperatura consigliata più bassa aiuta il prepolimero, riducendone la viscosità, a penetrare meglio nelle strutture complesse mantenendo tempi di *curing* ragionevoli. Per *master* poco complessi non si notano differenze tra i trattamenti termici suggeriti. Terminato il *curing* lo stampo è separato dal *master*.

L'integrità e la qualità delle struttura riprodotte sullo stampo dal *master* è controllata tramite microscopia a forza atomica (AFM) su un campione statistico condotto su ogni ciclo di produzione di stampi.

In dipendenza dell'applicazione degli stampi e delle soluzioni con cui sarebbero venuti a contatto subivano trattamenti di pulizia e funzionalizzazione superficiale diverse. Il PDMS non è compatibile con tutti i tipi di solvente ed una pratica guida è fornita da ^[27].

III.2.1.2 MicroMolding in Capillaries (MIMIC)

Questa tecnica è stata inventata per creare strutture in materiale polimerico su *wafer* di silicio che servissero da maschere per i successivi processi di *etching* sulla superficie. I monomeri venivano flussati all'interno dei canali creati dallo stampo e quindi reticolati rilasciando le strutture sulla superficie.^[30] In seguito si è poi dimostrata una tecnica con grande versatilità venendo impiegata per il *patterning* diretto di molecole funzionali che creassero strutture attive sulla superficie aggirando i lunghi processi di *etching* e *lift-off*.^[31, 32, 33]

Nel MIMIC uno stampo in materiale elastomerico costituito da strutture parallele (figura III-4a) è posto in contatto conforme con una superficie (es. silicio, vetro, mica) formando dei microcanali (figura III-4b). Ad un'estremità dello stampo è posta la soluzione del materiale da depositare che grazie alle forze capillari penetra e fluisce all'interno dei canali (figura III-4c). L'evaporazione del solvente farà precipitare il soluto ottenendo la replica positiva del *master* (stampo) impiegato (figura III-4d).

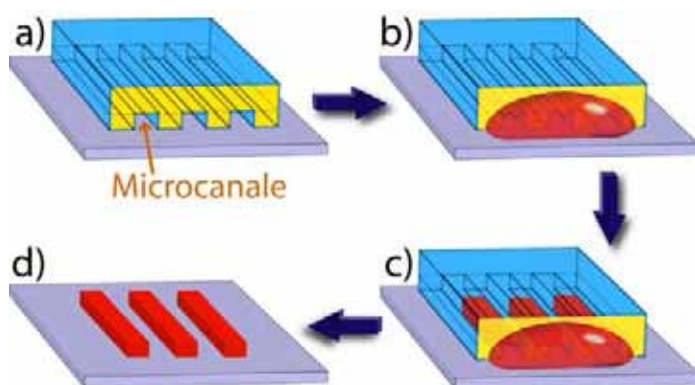


Figura III - 4 Schema del processo MIMIC. **a)** Lo stampo strutturato posto in contatto conforme con il substrato crea i canali. Per capillarità una goccia di liquido depositata ad un'estremità dei canali **(b)** flussa all'interno **(c)**. Evaporato il solvente e rimosso lo stampo rimane sulla superficie il *pattern* creato **d)**.

Questo approccio ha una forte scalabilità ed è adatto alla fabbricazione su larga area di molti materiali diversi (polimeri, semiconduttori organici, biomolecole) il cui unico requisito è la solubilità. Il *micromolding in capillaries* può essere visto come il primo e più semplice *step* della microfluidica; a differenza di questa sfrutta la capillarità come forza motrice del solvente. Dallo sviluppo di questa tecnica con l'introduzione di pompe, valvole, ecc. sarà

possibile creare *pattern* complessi su un substrato a partire da una o più soluzioni dei materiali d'interesse. E' immediato intuire la potenzialità di creare circuiti stampati con l'unica limitazione data dalla necessità di un contatto idraulico tra tutte le componenti.

Oltre alla necessità di contatto idraulico il MIMIC possiede altre limitazioni come la difficoltà di deposizione su lunghe distanze (maggiori del cm circa) a causa delle perdite di carico, la velocità del flusso dipende dalla sezione del canale risultando lento per alcune applicazioni e le resistenze idrodinamiche potrebbero impedire il riempimento dei canali fino al termine.^[34]

Liquidi in contatto con solidi o gas hanno tensioni superficiali all'interfaccia. Alla microscala, le forze legate alle tensioni superficiali diventano le forze dominanti eccedendo di ordini di grandezza le forze di volume come la gravità. Per flussi orizzontali, ossia in sistemi in cui la componente verticale è trascurabile, il trasporto di materiale è un processo guidato dalla termodinamica. Il flusso nei capillari è perciò principalmente influenzato dalle tensioni superficiali e dalla curvatura nelle diverse fasi: liquido-vapore, solido vapore, solido-liquido. La differenza di energia d'interfaccia solido-vapore e solido-liquido (che definisce l'angolo di contatto) determina le condizioni termodinamiche che favoriscono il processo capillare. Per canali semplici, a sezione circolare, la pressione del menisco è data dall'equazione di Laplace

$\Delta P = 2\gamma_{LV} \cos\theta / r$ dove γ_{LV} è l'energia libera tra liquido e vapore, θ è l'angolo di contatto ed r è il raggio del capillare. Si evince che la pressione capillare sarà maggiore per canali di diametro minore. Nei canali a sezione non circolare si avrà una pressione maggiore in corrispondenza delle zone ad angolatura maggiore.

Diventa quindi di cruciale importanza l'interazione tra il liquido che si desidera fluire, le superfici del substrato e le pareti del canale create dallo stampo. Informazioni sull'affinità tra questi elementi può essere ottenuta misurando l'angolo di contatto del liquido sulle superfici coinvolte.

Da un punto di vista applicativo risulta interessante anche sapere con quale velocità e per quale distanza all'interno del canale potremo ottenere un flusso di soluzione. Per fluidi incompressibili, isotropici e newtoniani,^[35] assumendo che il fluido possa essere trattato come un continuo, in cui siano presenti solo forze capillari, come nel MIMIC, in condizioni termodinamiche l'equazione che descrive la velocità di flusso nei canali (circolari) è data da

$\frac{dz}{dt} = \frac{G \cdot \Delta P}{\eta \cdot z}$ dove G è un termine geometrico legato alla curvatura superficiale del liquido del canale ed η è la viscosità del fluido.^[36, 37]

Un altro modo per determinare a priori la velocità del flusso senza dover misurare G che richiederebbe misure in *real time* ed *in situ* durante il processo di capillarità è data, per capillari a sezione circolare, dall'equazione di Young-Dupré

$$\frac{dz}{dt} = \frac{r\gamma_{LV} \cos\theta}{4\eta \cdot z} = \frac{r(\gamma_{SV} - \gamma_{SL})}{4\eta \cdot z}$$

Risulta che dz/dx , la velocità di riempimento del canale, è legata esclusivamente alle tensioni superficiali (γ), alla viscosità del liquido ed alle caratteristiche geometriche del capillare coinvolto: sia il raggio (r) sia la lunghezza del riempimento (z).^[13]

Si può notare come la velocità sia direttamente proporzionale alla sezione ed inversamente alla distanza percorsa dal fluido. Si evince come le resistenze idrodinamiche possano ridurre le potenzialità del MIMIC.

PARTE SPERIMENTALE

Preparazione dello stampo per MIMIC di CNTs

Lo stampo ottenuto per *replica molding* di un CD (o un *master* propriamente strutturato) fornisce tre delle quattro pareti necessarie a formare il canale. L'accoppiamento con una superficie fornisce la quarta parete. Il substrato può essere di PDMS e dare quattro pareti chimicamente identiche, ma molto più frequentemente è un materiale diverso. L'interazione tra stampo in PDMS e superficie può essere reversibile, sigillazione conforme, o irreversibile, su alcuni substrati previa esposizione di entrambe le superfici a plasma di aria o ossigeno.^[34]

L'accoppiamento reversibile avviene in quanto la flessibilità del PDMS gli permette di conformarsi ad una superficie con pochi difetti e l'instaurarsi di forze di Van der Waals mantiene le superfici unite. Avviene semplicemente già a temperatura ambiente e consente alte pressioni di lavoro (>5psi) nei canali senza distacco. Dopo la rimozione lo stampo può lasciare qualche traccia di polimero sulla superficie.

Il trattamento in plasma di ossigeno od aria introduce nella catena di PDMS [-O-Si(CH₃)₂-] gruppi polari. Si ha la formazione di gruppi [Si-OH] a spese del gruppo [Si-CH₃]. Quando lo stampo è posto in contatto con una superficie si ha la condensazione con i gruppi presenti sulla superficie (come X-OH, X=O) a formare legami covalenti che sigillano irreversibilmente lo stampo al substrato. Per vetro e silicio si creano legami Si-O-Si, con perdita di acqua. In questo modo si riescono a mantenere pressioni di lavoro di 30-50psi. Per quanto questo approccio sia molto utile in applicazione come *microelectromechanical system* (MEMS) e *Lab-on-a-chip*, diventa abbastanza inutile nello studio dei fenomeni dei *patterning* dove è necessario studiare con tecniche locali (es. AFM) la morfologia e le caratteristiche delle strutture create.

Il PDMS possiede una superficie idrofoba (angolo di contatto 110°, figura III-5a). Si dice che un liquido bagna una superficie, quindi c'è un'affinità del liquido per la superficie, quando l'angolo di contatto è minore di 90° (se il liquido è acqua la superficie si definisce idrofila), quando θ è maggiore di 90° (come l'acqua sul PDMS) il liquido non bagna e non c'è affinità tra i due sistemi (la superficie è idrofoba).

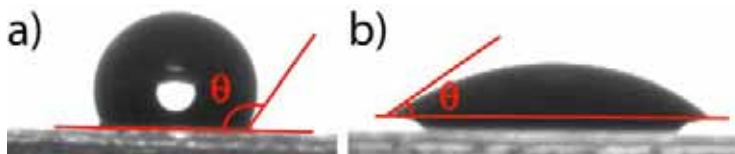


Figura III - 5 Angolo di contatto dell'acqua sul PDMS piatto prima (a) e dopo (b) trattamento in plasma di ossigeno ed immersione in acqua. In rosso disegnati il piano della superficie, la retta tangente alla superficie di contatto del liquido con la superficie e l'angolo di contatto (θ) formato. Il valore di θ passa da 110° a 30°.

Canali idrofobi in PDMS diventano difficili da bagnare con soluzioni acquose e solventi polari, generando una resistenza idrodinamica al flusso. L'esposizione dello stampo ad ambienti fortemente ossidanti come plasma ad ossigeno o soluzione piranha, rendono la

superficie idrofila e quindi più facilmente bagnabile da solventi polari. La modifica superficiale è già sufficiente esponendo lo stampo in plasma ad ossigeno ad una pressione di 0.5Torr, 50Watt di potenza per 60 secondi. Il trattamento in plasma è reversibile, la superficie torna allo stato iniziale nell'arco di 30 minuti se lasciata in aria (a seconda dell'umidità relativa). La tempestiva immersione in acqua consente il mantenimento a medio termine delle caratteristiche idrofile imposte tramite il trattamento ossidante; a lungo termine non è stato valutato. L'immersione in acqua riduce inoltre la reattività dei gruppi superficiali, originati dal trattamento, verso il substrato con cui lo stampo è accoppiato; evitando fenomeni di adesione irreversibile.

III.2.1.3 Lithographically Controlled Wetting (LCW)

Il *Lithographically Controlled Wetting* (LCW) fa parte delle tecniche di deposizione controllata assistita da stampi. Permette l'ottenimento di strutture nanometriche in poco tempo ed in un solo passaggio; è semplice, veloce e non richiede l'impiego di complesse attrezzature. Potenzialmente scalabile è una tecnica versatile di *patterning* da soluzione che permette di raggiungere elevata risoluzione e di depositare un'ampia gamma di materiali in quanto non è basata su interazioni specifiche molecola/superficie.^[22,38,39]

La tecnica prevede il contatto tra un *master* ed un film di liquido, contenente il materiale che si desidera depositare, su una superficie (come illustrato nello schema in figura III-6). Le forze capillari che s'instaurano tra il *film* di liquido ed il *master* sovrastante veicolano la soluzione sotto le strutture in rilievo del *master*, generando così la replica positiva dei dettagli.

La dimensione delle strutture può essere spinta al di sotto delle dimensioni geometriche del *master* lavorando in regimi molto diluiti o utilizzando spessori calibrati tra stampo e liquido. In queste condizioni il menisco creatosi nelle prime fasi dell'evaporazione si sdoppia prima dell'inizio della precipitazione del soluto, i flussi capillari trasportano il materiale ai lati e quello che si ottiene è la replica dei bordi con notevole riduzione delle dimensioni del *pattern* creato (figura III-6c) rispetto ai motivi presenti sul *master*.^[22]

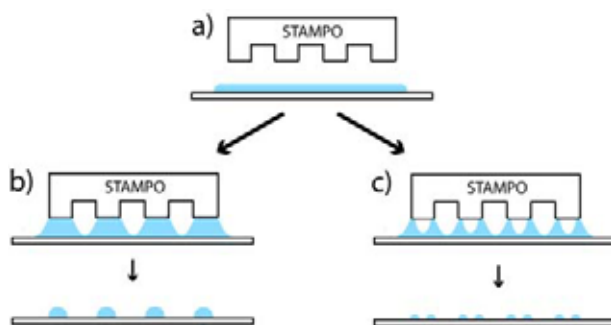


Figura III - 6 Schema del processo LCW. **a)** Una goccia di soluzione è depositata sulla superficie a creare uno strato di liquido, quindi il *master* viene delicatamente appoggiato sulla superficie del liquido. Appena lo stampo è posizionato viene mantenuto flottante dalla tensione superficiale del liquido senza sprofondare nella soluzione. Quindi la soluzione è guidata dalle forze capillari sotto le protrusioni del *master* generando dei menischi dove rimane vincolata (aree di *pinning*) durante la fase di evaporazione del solvente creando colonne di liquido. Quando la

concentrazione critica è raggiunta il soluto precipita sul substrato dando origine ad un sottile film di materiale che mantiene le caratteristiche geometriche imposte dallo stampo. Controllando le condizioni sperimentali è possibile creare strutture con dimensioni paragonabili o inferiori al *master* utilizzato, per esempio variando la concentrazione del soluto da regimi diluiti **b)** a molto diluiti **c)**.

Sfruttando processi di auto-organizzazione del materiale^[40] o fenomeni di bagnamento e debagnamento del liquido nei canali sotto le protrusioni,^[41,39] si possono ottenere *pattern* di diverso tipo.

In linea di principio la tecnica può essere applicata a qualunque materiale solubile. Bisogna però considerare che l'efficacia del processo dipende dallo stampo (materiale, distanza dal substrato, rigidità, dimensione *pattern*), dalla soluzione (solvente, soluto, concentrazione, viscosità, densità) e dal substrato (materiale e rugosità).

PARTE SPERIMENTALE

Il set-up sperimentale utilizzato è quello senza sostegni fisici dello stampo (spaziatori). Si sfruttano completamente le forze capillari non solo per il *patterning* ma anche per mantenere flottante lo stampo sul *film* di liquido. Diventa cruciale il peso dello stampo e quindi dimensione e spessore. Si è utilizzato un sottile foglio di poliestere con rilievi paralleli con periodo da 1.5 μm , spessore di circa 1 μm ed altezza di 200nm, la cui superficie è stata metallizzata. Queste strutture sono reperibili commercialmente e costituiscono la copertura metallica dei CD. Separati dal supporto sono lavati con isopropanolo ed acqua ultrapura per rimuovere il colorante presente.

Il film sottile di liquido è ottenuto per *drop casting* sulla superficie di volumi variabili dai 5 ai 20 μl a seconda dell'area su cui creare il *pattern*. La dimensione dello stampo è scelta seguendo le necessità di flottazione ed area strutturabile.

NOTA

Le tecniche di deposizione adottate necessitano di materiale da depositare in soluzione. La scarsa solubilità dei nanotubi in qualunque tipo di solvente ne complica l'applicazione. La limitata processabilità da liquido dei nanotubi è uno dei fattori chiave di tutta la ricerca su questi materiali nonché la maggiore resistenza al completo sviluppo di una nuova tecnologia totalmente basata sui CNTs. I metodi per aumentare la sospensibilità dei SWNTs sono stati presentati nel capitolo II. Per l'impiego nella deposizione controllata tramite MIMIC ed LCW abbiamo scelto il sodio dodecilsolfato (SDS) un tensioattivo anionico che funzionalizza i nanotubi in maniera non covalente, creando una micella attorno al nanotubo. Questo permette di mantenere le proprietà elettroniche e di conducibilità dei SWNTs inalterate. La presenza di gruppi carichi superficialmente conferisce, inoltre, alle strutture micellari una energia repulsiva che previene l'aggregazione dei tubi. Questo effetto particolare potrebbe essere rilevante in fase di deposizione essendo coinvolti volumi decisamente piccoli (canali di 1 μm nel MIMIC ed anche inferiori per quelli creati per *pinning* sotto lo stampo in LCW).

III.3 Patterning di SWNTs via MIMIC: risultati e discussione

Creazione del pattern di CNTs

Lo stampo in PDMS per il MIMIC, ottenuto per *replica molding* e trattato in plasma come descritto in precedenza, è costituito da linee parallele con periodo di 1.5 μm , larghe circa 600nm e profonde 200nm (vedi figura III-3). Posto in contatto conforme con un substrato di vetro si creano canali per la microfluidica di circa 1 μm di larghezza e 200nm di altezza. Ad un'estremità dei canali è depositato un volume di sospensione di circa 10 μl . Dopo 24 ore, una volta asciutto il campione, lo stampo è rimosso ed il *pattern* studiato tramite microscopia AFM. Il tensioattivo è rimosso per immersione del campione in etanolo assoluto, avendo cura

di mantenere orizzontale la superficie *patternata*. Durante la fase di lavaggio i tubi immersi nella matrice di tensioattivo sono liberi di muoversi e bisogna ridurre i fenomeni che possano compromettere ulteriormente il *pattern*.

Risultati e discussione

La deposizione controllata di SWNTs tramite MIMIC permette la realizzazione di un *pattern* di strisce separate e costituite di *bundles* allineati lungo la direzione del flusso, manifestando un'anisotropia di conducibilità.

Lo stampo in PDMS utilizzato è costituito da linee parallele con periodicità di $1.4\mu\text{m}$ (vedi sezione III.2.1.1 - 2). Quando è posto in contatto conforme con il substrato forma canali di larghezza di circa $1\mu\text{m}$ ed altezza di circa 200nm . Per ridurre le resistenze idrodinamiche e favorire il flusso delle sospensioni acquose di nanotubi in SDS la superficie dello stampo è stata trattata con plasma ad ossigeno. Questo trattamento inserisce sulla superficie gruppi idrossilici ed abbassa l'angolo di contatto dell'acqua da 110° a 30° comportando una maggiore pressione capillare a supporto del flusso (vedi sezione III.2.1.2).

La superficie del vetro utilizzato come substrato, pulita con lavaggi in acetone, isopropanolo ed acqua ultrapura, non necessitava di ulteriori trattamenti presentando già una buona idrofilicità (angolo di contatto 14°)

La sospensione di nanotubi in SDS è flussata all'interno dei canali, come descritto nel

processo MIMIC. Una volta evaporato il solvente, all'analisi AFM risulta un *pattern* costituito da strisce parallele di materiale, larghe circa $1\mu\text{m}$ e spaziate di 400nm a replica negativa dello stampo utilizzato. L'altezza delle strisce varia dai 60 ai 100nm . Queste strutture prodotte sono costituite da nanotubi di carbonio completamente immersi in una matrice di tensioattivo (Figura III-7A).

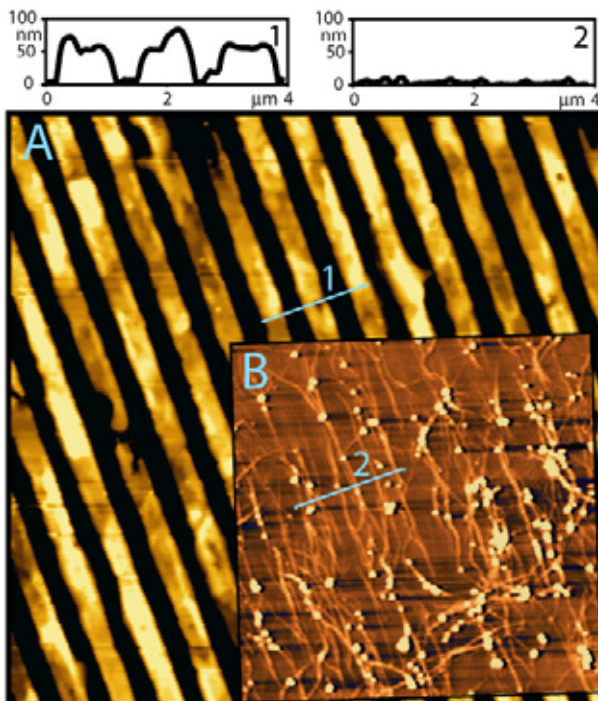


Figura III - 7 Analisi al microscopio AFM del *pattern* di SWNTs ottenuto con il processo MIMIC. **A)** Appena depositato ed in linea **1)** il profilo lineare delle strutture. **B)** Allineamento dei *bundles* di SWNTs dopo rimozione del tensioattivo per immersione in etanolo ed in linea **2)** il profilo lineare del *pattern* paragonato a quello iniziale.

Il deposito ottenuto inizialmente è lavato in etanolo puro. L'etanolo scioglie il tensioattivo rendendo però sfavorita la formazione di micelle stabili e quindi la ri-sospensione dei nanotubi. Questo processo da origine ad un *pattern* di *bundles* di nanotubi di carbonio allineati (figura III-7B) lungo la direzione del flusso. La separazione laterale dei *bundles* è leggermente ridotta rispetto al *pattern* iniziale. Parte dell'ordine imposto dallo stampo è perduto nella fase di lavaggio a causa dell'elevata quantità di tensioattivo presente. Bisogna

infatti considerare che i SWNTs sono immersi in strutture alte 60-100nm e siano sano liberi di muoversi durante la rimozione del tensioattivo quindi perdano parte dell'orientamento. I SWNTs presenti si organizzano in *bundles* e rimangono depositati sulla superficie con un ordine direzionale preferenziale ed una separazione laterale variabile da zona a zona. Talvolta i *bundles* risultano ancora ricoperti da uno strato di SDS; non è quindi da escludere che parte del materiale possa rimanere adsorbito sui nanotubi.

L'allineamento dei CNT nella stessa direzione del flusso all'interno dei canali capillari è da ricondursi all'alto *aspect ratio* (rapporto lunghezza diametro) dei nanotubi. Le dimensioni micro/nanometriche del canale impongono che solamente i SWNTs orientati lungo la direzione del canale o la cui dimensione sia inferiore agli 800nm riescano ad entrare ed essere trasportati dal flusso.

Bisogna inoltre considerare le condizioni di moto del fluido all'interno dei canali submicrometrici.^[42] Il flusso laminare è la caratteristica definitiva della microfluidica. Liquidi che scorrono in canali con dimensione dell'ordine dei micrometri (<100 μ m) ed alle velocità di flusso che si raggiungono localmente sono caratterizzati da bassi numeri di Reynolds. Il numero di Reynolds è un parametro che rapporta l'energia cinetica di un volume di liquido in un flusso con l'energia dissipata per interazione con le pareti: $Re = \rho U^2 V / \mu U S = \rho U L / \mu$, dove μ è la viscosità, ρ è la densità ed U è la velocità media del flusso. La dimensione lineare caratteristica L è data dal rapporto tra volume V e la superficie delle pareti S. Per esempio per il nostro microcanale, considerandolo rettangolare per semplicità anche se non esattamente tale, di lunghezza 1mm, che rappresenta la distanza caratteristica del *pattern* nelle condizioni più favorevoli, larghezza 1 μ m ed altezza 200nm, L è 50 μ m.^[43] E' stato trovato empiricamente che, in tubi lisci con diametro idrodinamico (L), si hanno flussi laminari per $Re < 2000$. Prendendo $L = 50\mu$ m del canale, in cui fluisce acqua e quindi densità prossima a 1g/cm³ e viscosità di 0.01g/cm-s, il flusso dovrebbe rimanere laminare per velocità sotto i 10m/s. Flussi tipici di sistemi microfluidici sono nel *range* di 1cm/s o inferiori,^[34,36] dando $Re < 1$. Anche apportando considerevoli variazioni alla densità ed alla viscosità legati alle sospensioni utilizzate si ritiene di essere in condizioni sperimentali tali da rientrare nel campo dei flussi laminari. Quindi la caratteristica lamellare dei profili di velocità potrebbe ulteriormente favorire l'allineamento dei CNT nella direzione del flusso.

Per confermare la qualità del *pattern* ottenuto una volta eliminato il tensioattivo e studiarne il comportamento elettrico ne è stata osservata la conducibilità. Per caratterizzare il *pattern* è stato misurato il trasporto di carica al variare del potenziale parallelamente e perpendicolarmente alle strisce di nanotubi. Abbiamo quindi creato un complesso di elettrodi in oro, come schematizzato in figura III-8b, per evaporazione attraverso una maschera fatta da una griglia con quadrati di 50 *mesh*. In questa configurazione i contatti erano separati da canali lunghi 62 μ m e larghi 438 μ m. Le *mesh* erano allineate con una direzione parallela ed una perpendicolare rispetto alla direzione di allineamento dei nanotubi come schematizzato in figura III-8b.

Il sistema di elettrodi depositato ha permesso di misurare l'andamento della corrente verso il potenziale applicato tra due quadrati d'oro adiacenti in una configurazione strumentale a due terminali. Nelle misure, condotte in aria ed a temperatura ambiente, il potenziale

applicato è fatto variare da 0 al massimo negativo, quindi al massimo positivo e nuovamente a zero.

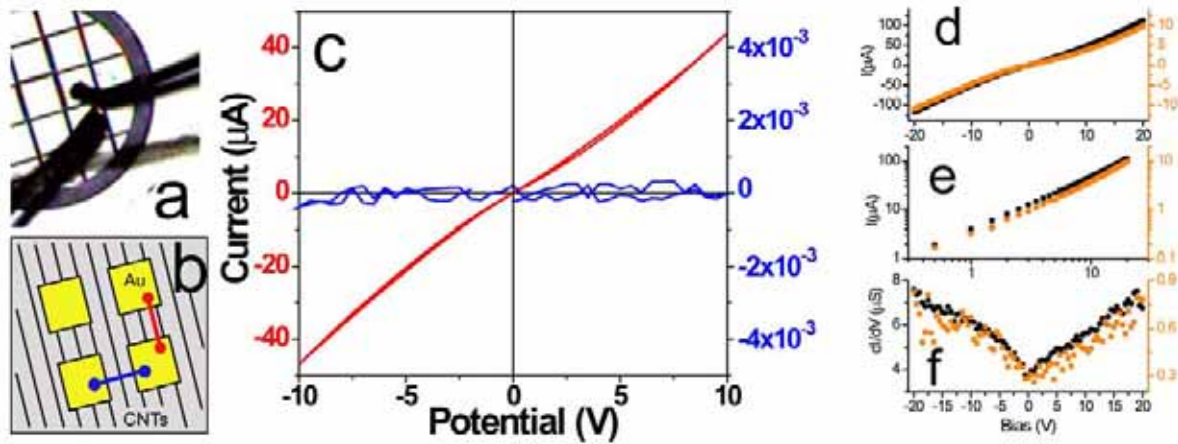


Figura III - 8 Comportamento elettrico del *pattern* ottenuto tramite la misura delle curva I/V caratteristica. Il sistema misurato in configurazione a due terminali tra due elettrodi d'oro adiacenti (a) depositati come schematizzato in (b). Il grafico riporta il tipico comportamento registrato per le misure condotte longitudinalmente (rosso) e trasversalmente (blu) alle strisce di nanotubi. In d) sono riportati i dati relativi a due settori con intensità di correnti diverse ma identico andamento; e) Grafico in scala logaritmica della corrente vs potenziale; f) relativa conducibilità differenziale.

La prima ed importante evidenza emersa dalle misure è il comportamento anisotropo della conducibilità. Si è osservato che la conducibilità del sistema nella direzione del *pattern* è in media 6 ordini di grandezza maggiore rispetto a quelle perpendicolare. In figura III-8c,d sono mostrati due andamenti tipici delle correnti ottenute. Il comportamento è simile per misure eseguite su diversi settori ma con intensità di corrente diverse che dipende dal numero di linee realmente connesse tra i due elettrodi. Questo primo risultato è di grande importanza e dimostra come sia possibile ottenere circuiti connessi e dispositivi basati su nanotubi di carbonio allineati ed ordinati a partire dalle loro sospensioni con tecniche litografiche non convenzionali.

Esaminando più attentamente il grafico corrente vs potenziale nella direzione di *pattern* (figura III-8c curva rossa) si può notare un andamento non lineare della corrente rispetto al potenziale applicato. Lo stesso comportamento è stato visto in *bundles* isolati e in sottili *network* di nanotubi.^[44] Il trasporto in sistemi composti da *bundles* (così come nei *network*) è dominato dai SWNTs metallici, a temperatura ambiente il contributo dei semiconduttori è trascurabile.^[45] L'andamento a legge di potenza (vedi grafico in figura III-8e) si trasforma in ohmico quando il sistema aumenta di dimensionalità: ossia in *bundle* costituiti da molti nanotubi (diametro *bundle* > 10-15nm) e *network* spessi; questo effetto è probabilmente causato dall'aumento dei percorsi percolativi.^[44] Il meccanismo di trasporto è ricondotto per il singolo *bundle* alla teoria dei liquidi di Luttinger^[46] o a barriere interfacciali.^[47] Dalle misure effettuate non è possibile indicare quale sia il meccanismo effettivo ma alcune considerazioni generali possono essere fatte.

In prima analisi il sistema si presenta piuttosto isolante se paragonato ai dati in letteratura. Il calcolo della conducibilità del sistema, dalle misure effettuate e della conduttanza del

singolo *bundle*, considerando un *pattern* perfetto di strisce continue costituite da 3 *bundle* da 10nm di diametro ciascuna, portano ad ottenere rispettivamente valori di $5.3 \cdot 10^{-6}$ S a +10V e $4.8 \cdot 10^{-9}$ S/cm.

All'interno della misura sperimentale rientrano però resistenze di contatto molto elevate, fino a $1M\Omega$,^[48] in cui il passaggio di corrente avviene per *tunneling* tra barriere ed è stato osservato come fenomeno dominante del trasporto per potenziali elevati come nel nostro caso.^[48] Inoltre il passaggio di corrente avviene esclusivamente nei nanotubi metallici e quindi gli elettroni possono essere iniettati o estratti solamente da quelli a diretto contatto con gli elettrodi. All'interno delle strisce sono presenti vari *bundles* ed il trasporto di carica intertubo presenta resistenze. Infatti se le misure su singolo *bundle* non sono affette dalla lunghezza del canale nel range tra 200 e 1000nm^[47] in *network* sottili sono state osservate dipendenze della conducibilità con $L_{SD}^{1.8}$ per canali $>5\mu m$.^[4]

Per la complessità del nostro sistema e per i motivi detti sopra, non possiamo paragonare le misure effettuate a quelle riportate per i singoli *bundle*. E' realisticamente più corretto confrontarla con quello di un *network* molto sottile mostrando entrambi un comportamento elettrico paragonabile. Quindi poter stimare il numero di strisce realmente connesse.

Non essendo possibile stimare per i *network* lo spessore reale (t) si fa solitamente riferimento alla conduttanza per quadrato ($\sigma \cdot t$). Per semplificare i calcoli supporremo un comportamento ohmico: stimiamo che l'errore così introdotto sia inferiore a quello che andremo ad apportare successivamente con la stima del numero di *bundles* presenti in ogni striscia. La conducibilità del *pattern* è preso al potenziale applicato di -2V per essere più vicino ai dati riportati in letteratura ed ai quali faremo riferimento per il valore di conduttanza quadrata dei *network*.

Dalle due leggi di Ohm otteniamo per il nostro sistema $\sigma \cdot t = \frac{I}{V} \frac{L}{W \cdot z}$ dove la sezione è stata

espressa in sezione 'effettiva' $S = W \cdot t \cdot z$, con W larghezza elettrodi, t spessore del *pattern*, z è la frazione connessa dell'area geometrica espressa da $W \cdot t$. La conduttanza quadrata varia da *network* a *network* ed in letteratura sono riportati valori da $8 \cdot 10^{-4}$ S,^[44] a $2.2 \cdot 10^{-5}$ S.^[4]

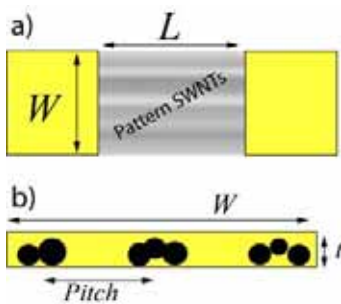


Figura III - 9 Illustrazione schematica del dispositivo misurato costituito da nanotubi allineati. Sono riportate le caratteristiche geometriche come utilizzate per la stima del numero di linee interconnesse. Distanza tra gli elettrodi o lunghezza del canale (L), larghezza degli elettrodi (W), spessore del *pattern* (t), periodicità del *pattern* (*Pitch*). Schema del dispositivo a) vista dall'alto e b) in sezione.

Utilizzando il primo valore come riferimento si ottiene un valore per z di $7.5 \cdot 10^{-4}$. Per ottenere il numero di linee connesse dal parametro z bisogna definire il numero di *bundle* ed il diametro che compongono le strisce. Dalle misure AFM è possibile valutare una media di 3 *bundles* per striscia e con un diametro medio di 10nm.

Dalla relazione $W \cdot t \cdot z = \frac{W}{Pitch} \frac{t^2 \pi}{4} n_{b/s} \phi$, in cui *Pitch* è la periodicità del *pattern* ($1.5\mu m$),

$n_{b/s}$ il numero di *bundles* per striscia; si ottiene un valore di φ , frazione di linee interconnesse, del 5% circa. La stima è affetta da errori per difetto, basti ricordare che nei *bundles* il trasporto è a carico dei SWNTs metallici e quindi la sezione reale non corrisponde a quella efficace. Viceversa, applicando potenziali così alti non si può escludere un contributo dei semiconduttori alla conducibilità.

Come evidenziato all'AFM alcuni *bundles* circuitano strisce adiacenti. Si potrebbe quindi supporre di avere trasporto anche nella direzione trasversale al *pattern*. Questo non si verifica a causa della distanza degli elettrodi che non permette un percorso percolativo efficace al trasporto di carica. E' inoltre stato dimostrato nelle misure di conducibilità su singolo fascio di nanotubi che le conducibilità lungo l'asse del *bundles* e trasversalmente sono consistentemente diverse, maggiore di 4 ordini di grandezza.^[49] Bisogna anche considerare che la resistenza di contatto espressa da giunzioni di SWNTs incrociati dipende da come le strutture atomiche si sovrappongono tra di esse. Quando sono in simmetria come tra due piani grafitici A-B allora la resistenza è bassa, in casi diversi si ha una notevole resistenza di contatto.

III.4 Patterning di SWNTs via LCW: risultati e discussione

Creazione del pattern via LCW

Sulla superficie di mica appena pulita sono depositati circa 10 μ l di sospensione di CNTs. Sul *film* di liquido così creato è posto lo stampo in policarbonato. Dopo 24 ore circa, una volta asciutto il campione, lo stampo è rimosso ed il *pattern* studiato tramite microscopia AFM in condizioni ambiente.

Risultati e discussione

La deposizione controllata di SWNTs tramite LCW porta alla realizzazione di un *pattern* costituito da individuali SWNTs o piccoli *bundles* (2 o 3 tubi).

Lo stampo in policarbonato utilizzato è costituito da linee parallele con periodicità di 1.4 μ m (vedi sezione III.2.1.3). Le strutture superficiali hanno larghezza di 1 μ m circa ed altezza di 200nm.

La scelta la mica, un alluminio silicato carico negativamente, come superficie per il *patterning* via LCW deriva dalla bassa rugosità superficiale (atomicamente piatta) ideale nelle misure AFM di oggetti molto piccoli quali singoli SWNTs, inoltre la sua carica superficiale riteniamo rivesta un ruolo importante nella realizzazione del *pattern* nel processo LCW. I nanotubi sono mantenuti in sospensione dal sodio dodecilsolfato un tensioattivo anionico che dispone le proprie code idrofobiche a contatto con la parete del nanotubo disponendo le teste polari cariche verso l'esterno. Il SWNT è quindi rivestito di uno 'involucro' negativo. Perciò, quando la soluzione è depositata sulla superficie carica negativamente della mica, le repulsioni elettrostatiche tra lo strato di SDS attorno al CNT ed il substrato carico riducono la velocità di deposizione del sistema SDS/CNT. La minor velocità di deposizione permette alle forze capillari di orientare i nanotubi all'interno dei canali mesoscopici creati dai menischi di

soluzione adesiva sotto le protrusioni dello stampo. In queste condizioni è possibile orientare e depositare i SDS/CNT sotto le strutture dello stampo.

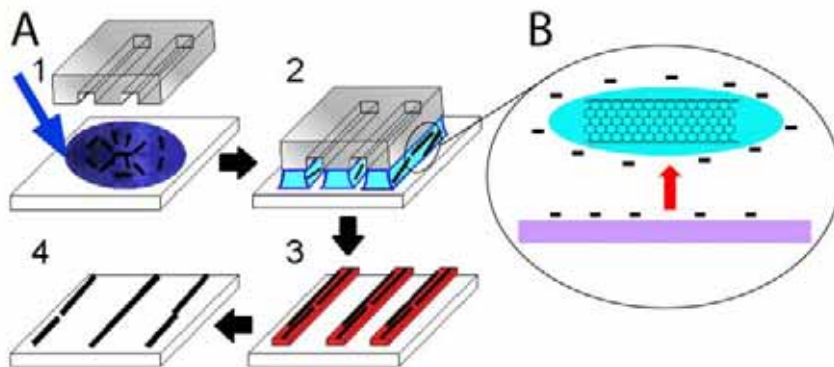
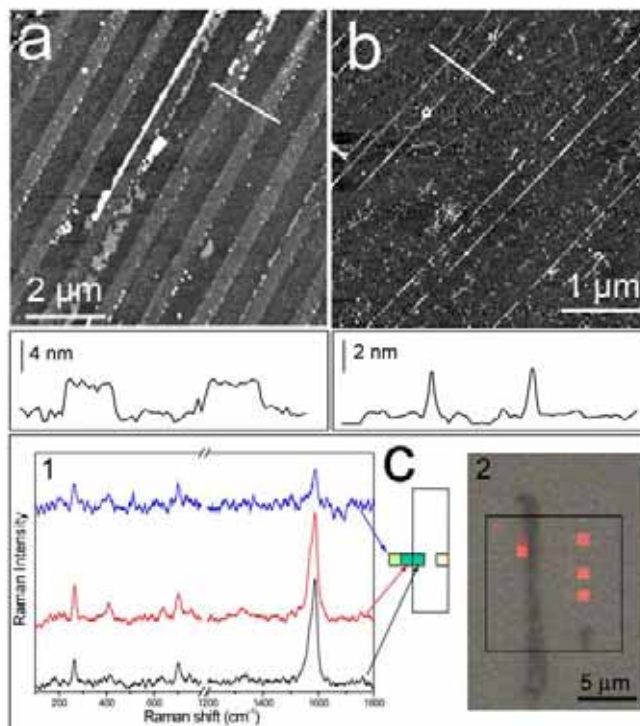


Figura III - 10 A) Schema del processo di nanofabbricazione di SWNTs con il metodo *Lithographically Controlled Wetting*. B) Rappresentazione grafica liberamente ispirata dell'interazione tra SWNTs sospeso in SDS e la superficie carica negativamente della mica.

Dopo aver ottenuto il *pattern* (figura III-10A3) il tensioattivo è rimosso con etanolo. Sulla superficie rimangono singoli SWNT o piccoli *bundles* con lo stesso allineamento imposto dallo stampo.

Le migliori condizioni di deposizione sono ottenute utilizzando sospensioni di SWNTs e SDS molto diluite (tipicamente da 0.1g/l di CNTs e 0.1% w/w di SDS) per evitare fenomeni di segregazione dei nanotubi e del tensioattivo. Questo consente di ottenere una risoluzione spaziale migliore rispetto al processo MIMIC, arrivando alla deposizione del singolo CNT. La minore quantità di SDS ne permette la rimozione con una minor quantità di etanolo. In questo modo lo *step* di lavaggio non introduce ulteriore disordine consentendoci di ottenere il *pattern* di singoli CNTs come mostrato in figura III-11b

Figura III - 11 a) Immagine AFM del campione appena *patternato* e b) dopo lavaggio in etanolo. c) Risultati ottenuti al microRaman. In 1) sono riportati gli spettri acquisiti da tre aree adiacenti in cui si evidenzia il segnale proveniente da un singolo nanotubo (blu) accoppiarsi con un altro (rosso), quindi il segnale del secondo nanotubo da solo (nero). 2) Mappa microRaman riportando il segnale del G-Mode, accoppiata con l'immagine ottica.



I SWNTs hanno un caratteristico segnale Raman (vedi appendice 2) quando eccitati con laser di energia appropriata. Lo spettro Raman registrato si compone di 3 segnali caratteristici: il *Radial Breathing Mode* (RBM, tra 400 e 1000 cm^{-1}) presente esclusivamente in queste forme di carbonio, il *G-Mode* (a circa 1600 cm^{-1}) ed il *D-Mode* (circa 1300 cm^{-1}).

L'analisi microRaman permette di accoppiare l'elevata selettività del Raman con l'accurato posizionamento spaziale così da ricreare una mappa del segnale Raman proveniente da una

superficie. La risoluzione tipica è dell'ordine del micron, utilizzando obiettivi con ingrandimenti da 50x e luce monocromatica rossa (632.8nm), permettendo la distinzione del segnale proveniente da due linee adiacenti spaziate di 1.5 μ m come nel nostro *pattern*. Il segnale registrato dalla scansione microRaman conferma la presenza sul campione di SWNTs isolati o raggruppati in piccoli *bundles* di 2 o 3 tubi. La mappa microRaman, ottenuta per ricostruzione dello spettro acquisito da una serie di posizioni sul campione, mostra una 'concentrazione' superficiale di SWNTs minore di quella trovata con AFM. La ragione di questa discordanza è da attribuirsi all'elevata specificità del Raman; infatti come spiegato in appendice 2 esclusivamente i nanotubi in risonanza con la radiazione eccitante (Raman risonante) danno un segnale sufficientemente intenso da essere registrato. Inoltre le condizioni sperimentali utilizzate prevedono basse energie del laser per evitare la combustione dei nanotubi.

III.5 Patterning di polianilina

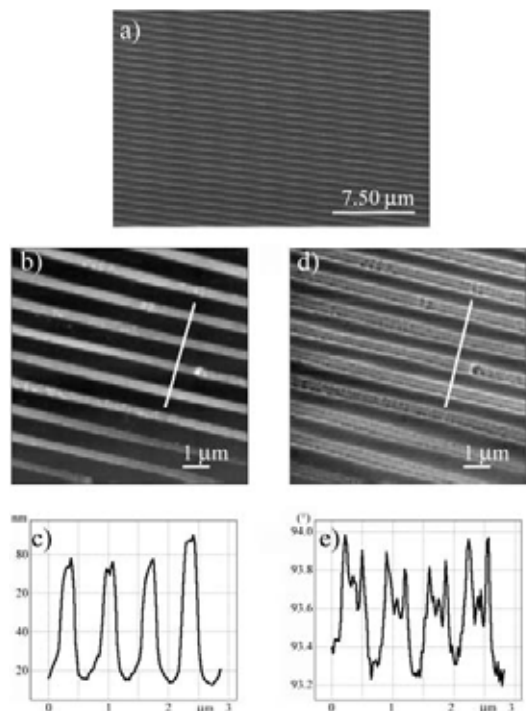
La polianilina (PANI) è stato uno dei polimeri conduttori più studiati grazie alla sua elevata conducibilità elettrica e stabilità.^[50] La forma conduttiva della polianilina è ottenuta per protonazione della forma emeraldina base. Il trasporto di carica è governato dal π -*stacking* intercatena, quindi la conducibilità dipende dalla morfologia che assume allo stato solido. Un'alta cristallinità massimizza le interazioni π imponendo l'ordine tra le catene. Nei domini cristallini la carica si muove nel sistema π delocalizzato, ed attraversa le fasi amorfe, tra i domini cristallini, per *hopping*.^[51] Il controllo delle fasi della PANI è determinante per avere eccellenti proprietà di trasporto. Una delle maggiori limitazioni è la scarsa solubilità che ne limita l'applicazione in tecniche 'liquide'. Per ovviare a questo ostacolo sono state proposte varie strategie come l'impiego di tensioattivi droganti, l'aggiunta di catene laterali; ma presentano lo svantaggio di non formare elevate fasi cristalline e quindi una conducibilità piuttosto bassa.

Nel nostro laboratorio è stato sintetizzato uno ione drogante in grado di conferire un'elevata conducibilità nella fase amorfa. La strategia adottata prevede la formazione d'interazioni multiple tra drogante e varie catene di PANI tale da creare un *network* tridimensionale. I requisiti del drogante affinché agisca come descritto sono: i) una forte acidità in grado di protonare la forma base della PANI; ii) multiprotico per poter drogare più catene simultaneamente; iii) avere i siti acidi ben definiti e direzionati nello spazio tali da creare un *network* tra le catene; iv) possedere un alto trasporto elettrico intercatena. Seguendo queste linee guida è stato sintetizzato il complesso tris(Acido 8-idrossichinolina-5-sulfonico)Al che indicheremo con Al(qS)₃. Questo drogante possiede tutte le caratteristiche definite sopra. La sua azione drogante sulla PANI ha conferito maggiori proprietà di conducibilità nella fase amorfa ed una buona processabilità da liquido.^[31]

L'effettiva formazione del complesso PANI-Al(qS)₃, ottenuto aggiungendo AlCl₃ ad una soluzione di PANI-qS, è stata valutata spettroscopicamente con la comparsa della fluorescenza del complesso di Al. Inoltre si evidenzia la formazione del picco polaronico della PANI: piuttosto largo e centrato a 870nm. La conducibilità del polimero drogato è di

circa 90 S/cm quasi un ordine di grandezza superiore a quello misurato per il solo PANI-qS, segno dell'effettivo meccanismo di trasporto di carica intercatena operato dal drogante. Al microscopio a luce polarizzata non sono state evidenziate zone cristalline indice di un'elevata conducibilità nella fase amorfa.

Nonostante la creazione di un *network* tridimensionale è stato possibile processare la



PANI-Al(qS)₃ per via liquida (vedi figura III-12). E' stata adottata la tecnica MIMIC, usando uno stampo costituito da strutture parallele alte 140nm, larghe 450nm con periodo di 800nm, e ossido di silicio come substrato. Partendo da una soluzione del polimero drogato in DMF, sono state ottenute strisce parallele di materiale. Dalla micrografia al SEM si nota un'elevata omogeneità del campione con il *pattern* ben strutturato su larga scala (figura III-12a).

Figura III - 12 a) Immagine al microscopio elettronico delle strisce di PANI drogata. b) topografia ottenuta al microscopio a forza atomica (AFM) e c) profilo lungo la linea. d) Immagine di contrasto di fase presa sulla medesima area tramite microscopia a forza elettrostatica e e) profilo della fase lungo la linea

Dall'analisi AFM del *pattern* si trovano strutture alte circa 70-80nm, larghe 200-250nm con la stessa periodicità dello stampo (figura III-12b,c). Sulla stessa area in cui è stata acquisita l'immagine topografica (figura III-12b) è stata eseguita la misura di forza elettrostatica (EFM) (figura III-12d), applicando alla punta un voltaggio di +4V ed il campione a massa. Per evitare il contributo topografico nell'immagine di fase EFM il segnale è stato registrato in modalità in secondo passo.^[52] L'immagine EFM mostra un elevato contrasto tra il substrato e le strisce di PANI-Al(qS)₃ segno di una differenza di comportamento elettrico. Il segnale di fase registrato sulle strisce corrisponde a $93.6 \pm 0.06^\circ$, mentre sul substrato si ha un valore di $93.3 \pm 0.06^\circ$. Lo stesso valore di 93.3° è stato registrato sulla superficie di ossido di silicio di riferimento non *patternata*. Il risultato mostra l'effettiva presenza di strisce conduttive di PANI sulla superficie e dimostra la processabilità della PANI-Al(qS)₃ con tecniche da soluzione.

III.6 Patterning di biomolecole - DNA

Arrays di biomolecole legate alla superficie trovano applicazioni nella bio-sensoristica, cromatografia, diagnostica immunologica, cultura cellulare, DNA *microarray* ed in altre applicazioni analitiche. Tra queste applicazioni la diagnostica immunologica e l'analisi nucleotidica (DNA *sensing*) sono le forze trainanti alla continua miniaturizzazione dei *test* dei saggi biologici e poter stimare in parallelo più analiti. Questo andamento offre numerosi

vantaggi: in piccoli volumi il trasporto di massa per diffusione diventa più rapido ed un impiego di minor quantità di reagenti e solventi. Le piccole dimensioni rendono i sistemi per analisi biologiche più disponibili alla parallelizzazione ed all'integrazione su larga scala. La piccola scala può risultare determinante per la realizzazione di alcuni saggi, per esempio dove si richiede flusso laminare^[53] o dove una veloce dissipazione del calore può ridurre il tempo di reazione come nelle PCR (*Polymerase Chain Reaction*).^[54]

Il controllo spaziale nel posizionamento delle singole molecole di DNA risulta quindi un obiettivo fondamentale in queste applicazioni, in cui la biomolecola deve avere un grado di libertà sufficiente a mantenere le proprie 'funzioni' (caratteristiche) biologiche. La deposizione di molecole di DNA (singole o gruppi) su superfici risulta quindi un problema scientifico e applicativo che è stato affrontato con tecniche molto diverse: dal 'combing' molecolare^[55] al *transfer printing*^[56] e la creazione di *arrays*, raggiunto sia con litografie tradizionali^[57] sia con litografie soffici.^[58]

Un controllo gerarchico su diverse scale spaziali è stato da noi raggiunto accoppiando una tecnica *top-down* di litografia non convenzionale con il *bottom-up* di fenomeni di auto-organizzazione indotta. Il risultato ottenuto è la creazione di *array* di *nanodot* su un'area del mm^2 .^[59] Ognuno di questi *dot* è costituito da una o poche molecole di DNA. Il metodo sfrutta l'auto-organizzazione delle molecole di DNA da una soluzione confinata tra superfici. Lo stampo impone la prima dimensione caratteristica (spaziatura *array*) mentre la seconda (spaziatura nanostrutture di DNA) è dettata dai fenomeni di auto-organizzazione indotta (*dewetting*). Scegliendo opportunamente le dimensioni delle strutture dello stampo si può agire sulla prima dimensione caratteristica, mentre la seconda può essere modulata variando la concentrazione del DNA nella soluzione depositata e quindi le condizioni di bagnamento.

La tecnica scelta per la deposizione delle soluzioni di DNA è il MIMIC, utilizzando mica come substrato ed uno stampo in PDMS non trattato (linee parallele con periodo di $1.5\mu\text{m}$, larghe circa 600nm e profonde 200nm ; figura III-3). I fenomeni di auto-organizzazione avvengono nelle ultime fasi di evaporazione del solvente, nello stesso ordine di tempi in cui avviene anche la precipitazione del soluto. Se la concentrazione critica è raggiunta con il canale riempito da uno strato omogeneo di soluzione, si ottiene la deposizione del materiale in linee continue (figura III-13a e figura III-14a). Se la soluzione aderisce agli estremi del canale (figura III-13b), dove risiedono le curvature superficiali maggiori, si ha un profilo di evaporazione del solvente non omogeneo. I moti convettivi trasportano il materiale nei siti di adesione, quindi la precipitazione in due linee separate di materiale.

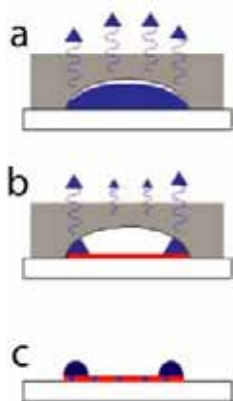


Figura III - 13 Schema del processo di evaporazione del solvente all'interno del canale del MIMIC. **a)** Fasi iniziali dell'evaporazione: il canale è completamente riempito di soluzione. **b)** Fenomeno di *pinning* nelle zone di maggior curvatura del canale. Se non intercorrono fenomeni di *pinning* il materiale si deposita uniformemente a dare lo strato omogeneo disegnato in rosso. **c)** Risultato del processo di evaporazione del solvente con la precipitazione del soluto ai lati nelle zone di *pinning* (punti blu) oppure omogeneo nel canale strato rosso. Sono osservate condizioni in cui le due situazioni coesistono (vedi testo).

Soluzioni di λ DNA (100-8000bp) a 1.25 μ g/ml in tampone tri(idrossimetil)aminometano cloridrato (TRIS) 10mM danno origine a *pattern* di linee continue ed omogenee (figura III-14a); la cui larghezza a metà altezza è di 750 \pm 50nm ed alte 10 \pm 1nm con periodicità di 1.5 μ m. Usando una soluzione di DNA più concentrata si osserva la formazione di alcuni *dot* sopra un film continuo di materiale. Per concentrazioni tra 2 e 4 μ g/ml i *dot* sono ben definiti ma non ordinati (figura IV-14b,c). Quando la concentrazione raggiunge i 5 μ g/ml emerge una correlazione spaziale tra i *nanodot* creati, ed anche la loro dimensione aumenta (figura III-14d). I *dot* sono perfettamente allineati lungo le zone di maggior curvatura del canale come risultato del fenomeno di adesione ai bordi del canale e dei moti convettivi verso gli estremi. Le semisfere create sono alte in media 18 \pm 2nm, larghe 150nm e distanti di 600nm sulla linea di sezione del canale. La larghezza dei *dot* potrebbe essere sovrastimata anche di un fattore due dovuta ai fenomeni di convoluzione della punta che ha curvatura di 10-20nm. Variando la concentrazione di tampone, fino a 100mM, mantenendo costante a 5 μ g/ml quella di DNA si osserva la stessa formazione di *array* di *dot*.

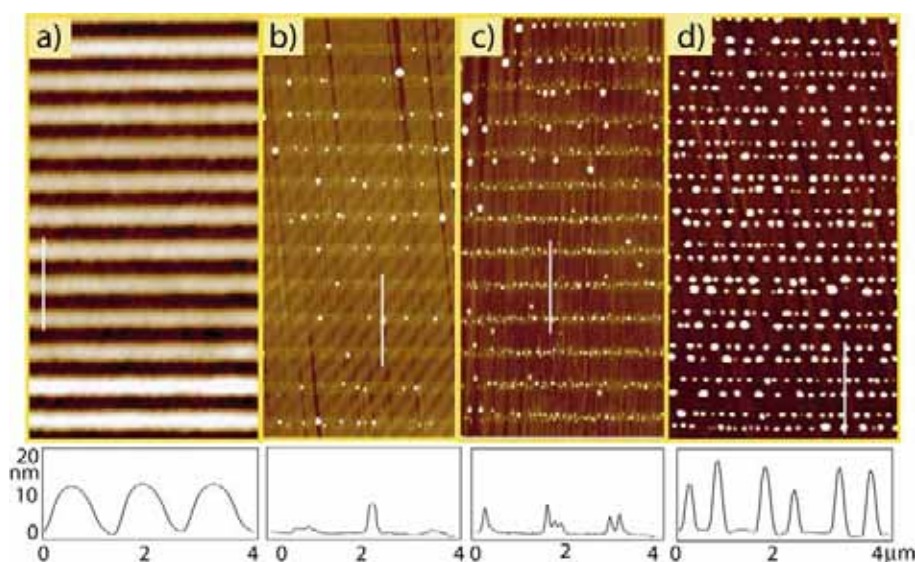


Figura III - 14 Immagini AFM (sopra) e profili d'altezza (sotto) del λ DNA (100-8000bp) depositato su mica a diverse concentrazioni:

- a) 1.25 μ g/ml,
- b) 2.0 μ g/ml,
- c) 2.8 μ g/ml,
- d) 5.0 μ g/ml.

E' noto che modifiche alla struttura conformazionale del DNA *-supercoiling-* sono causate da elevate concentrazioni di sale (*salt-out*) o dall'uso di sali 'strutturanti'. Il tampone TRIS si comporta come un sale naturale e leggermente stabilizzante la conformazione naturale del DNA; inoltre la concentrazione è sufficientemente bassa da non creare alterazioni strutturali. Si può quindi stimare che nei *dot* creati, con un volume approssimativo di $3 \cdot 10^5$ nm³, siano contenute in media 1500bp, considerando la presenza del sale e del DNA.

Il *patterning* avviene durante la fase di deposizione del DNA all'interno dei canali. Le molecole di DNA sono cariche negativamente e presentano una bassa affinità con la superficie della mica anch'essa carica negativamente e le tensioni superficiali sono la forza che guida il processo. In soluzioni diluite di DNA le cariche repulsive tra le catene di DNA sono mascherate dal tampone ed è quindi depositato uno strato continuo di materiale.

La transizione tra linee continue e separate strisce di *dot* avviene tramite un meccanismo di debagnamento della striscia continua iniziale^[60] o di nucleazione e crescita in regime di bagnamento parziale.^[61] Entrambi i fenomeni sono stati osservati in film sottili di liquidi ed

entrambi implicano la formazione spontanea di correlazioni spaziali in dimensione e spaziatura. Il debagnamento comporta la rottura di un film continuo causato da uno stimolo esterno. Questo può seguire un percorso di nucleazione e crescita di buche oppure un meccanismo spinodale in cui il film ha fluttuazioni superficiali fino alla frequenza caratteristica che corrisponde alla rottura del film. In entrambi i regimi, la scala minore, dimensione e spaziatura dei *dot*, dipendono dalla concentrazione iniziale.

Alle alte concentrazioni, i *dot* sono attratti verso gli spigoli dei canali creati nel contatto tra stampo e superficie a causa dell'azione delle forze capillari e la necessità di minimizzare l'energia superficiale.

Parte Sperimentale

Preparazione Substrati

I substrati utilizzati nelle varie prove sperimentali variano dal silicio, al vetro alla mica.

La mica (Ted Pella Inc.) è la più semplice da pulire in quanto le deboli interazioni elettrostatiche tra i piani di cui è composta ne permettono la scissione strato a strato ottenendo sempre una superficie pulita ed atomicamente piatta.^[62]

Il silicio è stato utilizzato con due diversi tipi di ossido ricoprente: naturale e termico. Le superfici di silicio sono solitamente ricoperte da uno strato di ossido molto sottile (circa 2-3nm) che si forma spontaneamente per reazione con acqua (umidità dell'aria) e questo genera un dielettrico insufficiente per le applicazioni in elettronica. Uno strato di ossido termico può essere ottenuto sulla superficie di silicio per trattamento in aria ad alta temperatura, tipicamente 1100°C,^[63] il cui spessore può essere controllato nell'ordine dei nanometri. Il trattamento termico oltre a creare uno strato di dielettrico modifica le proprietà chimiche dando origine ad una superficie più idrofobica rispetto all'ossido nativo. I *wafers* ottenuti in camera pulita hanno rugosità superficiali molto basse, inferiori al nanometro; eventuali contaminazioni avvengono quando sono manipolati in ambienti non sufficientemente puliti. Per rimuovere l'eventuale materiale depositato i substrati sono stati lavati in acetone bollente, quindi in isopropanolo bollente ed infine in acqua ultrapura a caldo ed asciugati sotto flusso di azoto.

Lo stesso trattamento per la pulizia del silicio è condotto sul vetro.

III.3 - 4 Patterning di SWNTs

Sospensioni SWNTs in SDS

I nanotubi di carbonio utilizzati di origine commerciale (Yangtze Nanomaterials & Co. Ltd.) sono stati sintetizzati per scarica ad arco e puliti secondo le procedure esposte al capitolo II.

Le sospensioni sono state ottenute sonicando i CNTs, a concentrazione variabile 0.1-1.0g/l, in soluzioni acquose di SDS, concentrazione 0.1-1.0 % w/w, per 15 minuti. Collocare la provetta contenente SDS e CNTs in posizione centrale nel bagno ad ultrasuoni, mantenendo allo stesso livello la sospensione e l'acqua del bagno, permette condizioni d'intensità di sonicazione riproducibili.

Le sospensioni presentavano talvolta piccoli aggregati visibili ad occhio nudo che precipitavano pochi minuti dopo la sonicazione.

Imaging AFM

I campioni sono esaminati con un microscopio AFM '*stand-alone*' Smena NT-MDT in condizioni ambiente in modalità semicontatto utilizzando *cantilever* ricoperti d'oro (Ultrasharp NSG11, NT-MDT) con frequenze di risonanza tipiche di 160 e 250kHz rispettivamente per le punte lunghe e corte.^[64]

Ottenere un'immagine topografica tramite AFM su un campione contenente tensioattivo risulta piuttosto problematico a causa di fenomeni d'interazione tra le cariche del SDS e la punta specialmente al variare dell'umidità dell'ambiente. Essendo un materiale soffice la punta si sporca con molta facilità e quindi la modalità semicontatto risulta leggermente avvantaggiata rispetto al contatto.

Immagini topografiche della superficie sono prese a 512x512 *pixels* su un'area rappresentativa da 200 a 25 μm^2 con ingrandimenti sequenziali. Sono poi state trattate con software (Image Analysis 2.1.2., NT-MDT) e livellate con correzione 1D per interpolazione delle linee, escludendo i picchi più alti.

Misure elettriche

Le misure di trasporto elettrico sono state effettuate in una configurazione a due terminali con un voltmetro/amperometro Keithley Mod. 6430 femto amperometro.

MicroRaman

Gli spettri Raman sono registrati in geometria *back-scattering* con uno spettrometro microRaman Renishaw 1000 equipaggiato con un rivelatore a CCD e microscopio con lente ad ingrandimento x50. La sorgente d'eccitazione è la linea a 632.8 nm (1.96eV) del laser He-Ne. Le misure sono state condotte con una densità di potenza del raggio laser sufficientemente bassa (200 W/cm²) per evitare il foto-danneggiamento del campione studiato. In condizioni confocali la risoluzione spaziale sul piano è di 1 μm . Un'area di 11x11 μm è scansata utilizzando un supporto motorizzato in cui è posto il campione. L'immagine Raman è ottenuta analizzando gli spettri Raman registrati sequenzialmente da posizioni diverse del campione. L'analisi permette di selezionare diverse chiavi di lettura dei parametri dello spettro come intensità, larghezza a mezza altezza ed energia del picco Raman.

III.5 Patterning PANI-Al(qS)₃

PANI-Al(qS)₃: circa 1.8g di PANI (Emeraldina base, MW ~65000g/mol) corrispondente a circa 2.5mmol di azoti imminici, sono sciolti in DMF (30ml) quindi aggiunto acido 8-idrossichinolina-5-sulfonico (2.5mmol) con formazione di una soluzione verde. Circa 10ml di una soluzione di AlCl₃ (0.09M) in DMF è aggiunta goccia a goccia. Dopo una notte si ha la formazione del complesso PANI-Al(qS)₃ e di un leggero precipitato. La soluzione si presenta luminescente sotto luce UV. Parte del solvente viene evaporato ed aggiunta acqua per favorire la precipitazione del polimero. Il solido verde è quindi filtrato e lavato con 10ml di NH₄OH diluita e due volte con acqua.

La caratterizzazione UV-Vis è stata condotta in soluzioni di DMF usando uno spettrofotometro doppio raggio JASCO.

La caratterizzazione elettrica è stata effettuata registrando la curva corrente/potenziale su un *film* di polimero ottenuto per *drop-cating* su due elettrodi circolari concentrici. Il raggio interno è di 530µm circa, la lunghezza del canale di circa 7µm.

MIMIC: lo stampo in PDMS ottenuto per *replica molding* di un DVD commerciale è posto in contatto conforme con una superficie di ossido di silicio. Ad una estremità è depositato un volume di circa 20 µl di soluzione PANI-Al(qS)₃ in DMF a concentrazioni di circa 1g/l. Dopo circa 24ore lo stampo è rimosso ed il campione analizzato con SEM e AFM.

Le immagini SEM sono state ottenute con un microscopio (Hitachi S-4000) raccogliendo gli elettroni secondari emessi dal campione utilizzando un'accelerazione del fascio elettronico incidente tipicamente di 5 KeV.

L'analisi EFM è condotta con microscopio AFM '*stand-alone*' Smena NT-MDT in condizioni ambiente in modalità 'secondo passo' con punte ricoperte in Pt e *cantilever* ricoperti in oro (Ultrasharp NSG11/Pt, NT-MDT).

III.6 Patterning DNA

Lo stampo utilizzato per la deposizione del DNA è stato ottenuto per *replica molding* di un CD commerciale come descritto nella sessione III.2.1.1. Lo stampo così ottenuto era posto in contatto conforme con la superficie di mica a creare i canali del MIMIC. 10µl di di λDNA (100-8000bp, Sigma-Aldrich) a concentrazione variabile in soluzione tampone pH 7.4 di tri(idrossimetil)amminometano cloridrato (TRIS) 10mM sono posti ad un'estremità dello stampo. Dopo completa evaporazione dell'acqua lo stampo è rimosso ed il campione esaminato con AFM

Riferimenti Capitolo III

- ¹ C. Joachim, J.K. Gimzewski, A. Aviram; *Nature* 2000, **408**, 541-548
- ² S.J. Tans, A.R.M. Verschueren, C. Dekker; *Nature* 1998, **393**, 49-52
- ³ R. Seidel, A.P. Graham, E. Unger, G.S. Duesberg, M. Liebau, W. Steinhoegl, F. Kreupl, W. Hoenlein, W. Pompe; *Nano Lett.* 2004, **4**, 831-834
- ⁴ E.S. Snow, J.P. Novak, P.M. Campbell, D. Park; *Appl. Phys. Lett.* 2003, **82**, 2145-2147
- ⁵ X. Guo, M. Myers, S. Xiao, M. Lefenfeld, R. Steiner, G.S. Tulevski, J. Tang, J. Baumert, F. Leibfarth, J.T. Yardley, M.L. Steigerwald, P. Kim, C.P. Nuckolls; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2006, **103**, 11452-11456
- ⁶ A. Star, J.-C.P. Gabriel, K. Bradley, G. Grüner; *Nano Lett.* 2003, **3**, 459-463
- ⁷ J. Chen, V. Perebeinos, M. Freitag, J. Tsang, Q. Fu, J. Liu, Ph. Avouris; *Science* 2005, **310**, 1171-1174
- ⁸ L. Zhang, Y. Tan, D. E. Resasco; *Chem. Phys. Lett.* 2006, **422**, 198-203
- ⁹ Y. Zhang, A. Chang, J. Cao, Q. Wang, W. Kim, Y. Li, N. Morris E. Yenilmez, J. Kong, H. Dai; *Appl. Phys. Lett.* 2001, **179**, 3155-3157
- ¹⁰ S. Huang, X. Cai, J. Liu; *J. Am. Chem. Soc.* 2003, **125**, 5636-5637
- ¹¹ M. Burghard, G. Duesberg, G. Philipp, J. Muster, S. Roth; *Adv. Mater.* 1998, **10**, 584-588
- ¹² S.J. Oh, J. Zhang, Y. Cheng, H. Shimoda, O. Zhou; *Appl. Phys. Lett.* 2004, **84**, 3738-3740
- ¹³ Y. Xia, G.M. Whitesides; *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, **37**, 550-575
- ¹⁴ E.M. Vogel; *Nature* 2007, **2**, 25-32
- ¹⁵ A. Kumar, G.M. Whitesides; *Appl. Phys. Lett.* 1993, **62**, 2002-2004
- ¹⁶ G.M. Whitesides, Soft Lithography da www.wtec.org/loyola/nano/US.Review/04_02.html
- ¹⁷ J.A. Rogers, K.E. Paul, R.J. Jackman, G.M. Whitesides; *Appl. Phys. Lett.* 1997, **71**, 3773-3775
- ¹⁸ Y. Xia, J. McClelland, R. Gupta, D. Qin, X.-M. Zhao, L.L. Sohn R.J. Celotta, G.M. Whitesides; *Adv. Mater.* 1997, **9**, 147-149
- ¹⁹ J.A. Rogers, M. Meier, A. Dodabalapur; *Appl. Phys. Lett.* 1998, **73**, 1766-1768
- ²⁰ E. Kim, Y. Xia, G. M. Whitesides; *Nature* 1995, **376**, 581-584
- ²¹ X.-M. Zhao, Y. Xia, G.M. Whitesides; *Adv. Mater.* 1996, **8**, 420-424
- ²² M. Cavallini, F. Biscarini; *Nano Lett.* 2003, **3**, 1269-1271
- ²³ K.M. Choi, J.A. Rogers, *J. Am. Chem. Soc.* 2003, **125**, 4060-4061
- ²⁴ B.D. Gates; *Materials Today* 2005, **8**, 44-49
- ²⁵ M.J. Lee, N.Y. Lee, J.R. Lim, J.B. Kim, M. Kim, H.K. Baik, Y.S. Kim; *Adv. Mater.* 2006, **18**, 3115-3119
- ²⁶ B. D. Gates, Q. Xu, M. Stewart, D. Ryan, C.G. Wilson G.M. Whitesides; *Chem. Rev.* 2005, **105**, 1171-1196
- ²⁷ J.N. Lee, C. Park. G.M. Whitesides; *Anal. Chem.* 2003, **75**, 6544-6554
- ²⁸ B. Michel, A. Bernard, A. Bietsch, E. Delamarche, M. Geissler, D. Juncker, H. Kind, J.-P. Renault, H. Rothuizen, H. Schmid, P. Schmidt.Winkel; R. Stutz, H. Wolf ; *J. Res. & Dev.* 2001, **45**, 697-791
- ²⁹ F. Hua, Y. Sun, A. Gaur, M. A. Meitl, L. Bilhaut, L. Rotkina, J. Wang, P. Geil, M. Shim, J.A. Rogers; *Nano Lett.* 2004, **4**, 2467-2471
- ³⁰ Y. Xia, E. Kim, G.M. Whitesides; *Chem. Mater.* 1996, **8**, 1558-1567
- ³¹ M.Massi, C. Albonetti, M. Facchini, M. Cavallini, F. Biscarini; *Adv. Mater.* 2006, **18**, 2739-2742
- ³² T. Granlund, T. Nyberg, L. S. Roman, M. Svensson, O. Inganäs; *Adv. Mater.* 2000, **12**, 269-273
- ³³ W.S. Beh, I.T. Kim, D. Qin, Y.Xia, G.M. Whitesides; *Adv. Mater.* 1999, **11**, 1038-1041
- ³⁴ J.C. McDonald, D.C. Duffy, J.R. Anderson, D.T. Chiu, H. Wu, O.J.A. Schueller, G.M. Whitesides; *Electrophoresis* 2000, **21**, 27-40
- ³⁵ Un fluido si definisce newtoniano quando la sua viscosità non varia con la velocità. Matematicamente questi fluidi presentano un legame di proporzionalità diretta tra il tensore degli sforzi viscosi e il tensore delle velocità di deformazione; la costante di proporzionalità è detta viscosità.
- ³⁶ I. Viola, D. Pisignano, R. Cingolani, G. Gigli; *Anal. Chem.* 2005, **77**, 591-595

-
- ³⁷ N.-T. Nguyen; S.T. Wereley; *Fundamental and applications of microfluidics*; Artech House Inc., Norwood, MA, USA 2002
- ³⁸ M. Cavallini, M. Facchini, M. Massi, F. Biscarini; *Synth. Met.* 2004, **146**, 283-286
- ³⁹ M. Cavallini, F. Biscarini, J. Gomez-Segura, D. Ruiz, J. Veciana; *Nano Lett.* 2003, **3**, 1527-1530
- ⁴⁰ M. Cavallini, P. Stoliar, J.-F. Moulin, M. Surin, P. Lecière, R. Lazzaroni, D. W. Breiby, J. W. Andreasen, M.M. Nielsen, P. Sonar, A.C. Grimsdale, K. Mullen, F. Biscarini; *Nano Lett.* 2005, **5**, 2422-2425
- ⁴¹ M. Massi, M., Cavallini, S. Stagni, A. Palazzi, F. Biscarini; *Material Science and Engineering C* 2003, **23**, 923-925
- ⁴² P. Gravesen, J. Branebjerg, O.S. Jensen; *J. Micromech. Microeng.* 1993, **3**, 168-182
- ⁴³ G.M. Whitesides, A.D. Stroock; *Physics Today* Giugno 2001, 42
- ⁴⁴ V. Skakalová, A.B. Kaiser, Y.-S. Woo, S. Roth; *Phys. Rev. B* 2006, **74**, 085403 1-10
- ⁴⁵ M. Bockrath, D.H. Cobden, P.L. McEuen, N.G. Chopra, A. Zettl, A. Thess, R.E. Smalley, *Science* 1997, **275**, 1922-1925
- ⁴⁶ M. Bockrath, D.H. Cobden, J. Lu, A. G. Rinzler, R.E. Smalley, Leon Balents, P.L. McEuen; *Nature* 1999, **397**, 598-601
- ⁴⁷ Th. Hunger, B. Lengle, J. Appenzeller; *Phys. Rev. B* 2004, **69**, 195406 1-4
- ⁴⁸ Z. Yao, C.L. Kane, C. Dekker; *Phys. Rev. Lett.* 2000, **84**, 2941-2944
- ⁴⁹ A. Thess, R. Lee, P. Nikolaev, H. Dai, P. Petit, J. Robert, C. Xu, Y.H. Lee, S.G. Kim, A.G. Rinzler, D.T. Colbert, G.E. Scuseria, D. Tománek, J.E. Fischer, R.E. Smalley; *Science* 1996, 273, 483-487
- ⁵⁰ T.A. Skotheim, R.L. Elsenbaumer, J.R. Reynolds; *Handbooks of conducting polymer*; Marcel Dekker, New York 1997
- ⁵¹ R. Pelster, G. Nimtz, B. Wessling; *Phys. Rev. B* 1994, **49**, 12718-12723
- ⁵² C.H. Lei, A. Das, M. Elliot, J.E. Macdonald; *Nanotechnology* 2004, **15**, 627-634
- ⁵³ B.H. Weigl, P. Yager; *Science* 1999, **283**, 346-347
- ⁵⁴ M.U. Kopp, A.J. de Mello, A. Manz; *Science* 1998, **280**, 1046-1048
- ⁵⁵ Z. Gueroui, C. Place, E. Freyssingeas, B.P. Berge; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002, **99**, 6005-6010
- ⁵⁶ H. Nakao, M. Gad, S. Sugiyama, K. Ohtobe, T. Ohtani; *J. Am. Chem. Soc.* 2003, **125**, 7162-7163
- ⁵⁷ G.J. Zhang, T. Tani, T. Funatsu, I. Ohdomari; *Chem. Commun.* 2004, **7**, 786-787
- ⁵⁸ S.A. Lange, V. Benes, D.P. Kern, J.K. Heinrich Horber, A. Bernard; *Anal. Chem.* 2004, **76**, 1641-1647
- ⁵⁹ E. Bystrenová, M. Facchini, M. Cavallini, M.G. Cacace, F. Biscarini; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2006, **45**, 4779-4782
- ⁶⁰ G. Reiter; *Langmuir* 1993, **9**, 1344-1351
- ⁶¹ D. Beysens, C.M. Knobler; *Phys. Rev. Lett.* 1986, **57**, 1433-1436
- ⁶² www.2spi.com/catalog/submat/mica-disk.html
- ⁶³ Tesi di dottorato di M. Massi, *Molecular Engineering and Nanofabrication*, Università degli Studi di Bologna
- ⁶⁴ Le basi della Microscopia a Forza Atomica sono illustrate in Appendice 3

CAPITOLO IV

Ibridi Biomolecole/SWNTs

IV.1 Introduzione

Lo studio delle interazioni tra nanotubi di carbonio e biomolecole è propedeutico alla comprensione della loro biocompatibilità e tossicità ed alla valutazione di questi materiali in applicazione biologiche come veicolatori di molecole attive o come supporto per colture cellulari. La combinazione delle proprietà elettriche e meccaniche dei CNT può portare allo sviluppo di sensori e nuove sonde a scansione ad alta risoluzione. Molte specie di biomolecole si adsorbono spontaneamente sulla parete del nanotubo. Questa interazione aspecifica può essere sfruttata per creare complessi ibridi biomolecola/CNT, che sono prototipi per lo studio delle proprietà di rivelazione molecolare in vista di applicazioni in dispositivi. Nel capitolo verranno illustrate le capacità di sospensione di proteine ed acidi nucleici. Per comprendere come biomolecole interagiscono con i nanotubi è stato svolto uno studio al microscopio a forza atomica degli ibridi bio/CNT la cui attività biologica è stata quindi determinata con saggi biochimici.

IV.2 Nano-bio-tecnologie

L'interesse della ricerca di base si sta spostando verso le aree di contatto tra diverse discipline. Una delle aree che si è recentemente sviluppata e è quella delle Nano-bio-tecnologie.

Infatti le nanotecnologie possono offrire una varietà di nuovi materiali, rivoluzionari per struttura e funzionalità, processi di fabbricazione sofisticati e dispositivi mentre le

biotecnologie dispongono del controllo dei fenomeni di riconoscimento altamente specifici con la realizzazione di strutture gerarchiche complesse.^[1] L'applicazione dei principi della biologia alle nanotecnologie provvede una nuova via alla ulteriore miniaturizzazione ed incremento delle prestazioni di dispositivi artificiali. La fattibilità di un approccio *bottom-up* basato sul riconoscimento molecolare e l'auto-organizzazione è già stato dimostrato in molti sistemi ibridi organici/inorganici.^[2,3]

Diversamente si applicano concetti 'nanotecnologici' allo studio dei fenomeni biologici. Nano-dispositivi con proprietà di bio-riconoscimento generano strumenti ad elevato potenziale, con la possibilità di controllare e manipolare cellule e studiare processi biochimici a livello molecolare.

Il futuro nel campo delle nano-bio-tecnologie, in cui i due campi si fondono sinergicamente, porta grandi promesse e vantaggi nell'ingegneria tissutale, genomica, farmacogenomica, veicolamento/rilascio farmaci e nella medicina in generale.^[4] I nanomateriali sono stati proposti in molteplici applicazioni in campo biomedico e biotecnologico, come crescita di tessuti ossei, incapsulazione di enzimi, biosensori,^[5,6] e trasportatori intracellulari per terapia genica.^[7]

Tra i nanomateriali i nanotubi di carbonio (CNTs) rappresentano sicuramente una delle famiglie più affascinanti per le applicazioni in campo biologico.^[8] L'interazione dei CNTs con biomolecole rappresenta un sistema modello all'integrazione delle funzionalità elettroniche al riconoscimento biomolecolare.^[9,10] La loro forma gli consente un'elevata capacità di attraversare la membrana cellulare, il fenomeno è stato sfruttato per la progettazione di veicolatori intracellulari^[11] e per il trattamento di cellule tumorali.^[12]

In questo capitolo è valutato come diverse biomolecole, come acidi nucleici (DNA a singolo e doppio filamento) e proteine (tripsina, albumina da siero bovino e citocromo C) interagiscano con i nanotubi di carbonio a parete singola (SWNTs). Queste biomolecole si adsorbono spontaneamente sulla parete esterna del nanotubo creando dei complessi ibridi biomolecola/SWNT. Abbiamo studiato l'interazione tramite microscopia a forza atomica (AFM) in condizioni ambiente, questa tecnica permette la diretta visualizzazione a livello molecolare dei materiali ibridi ottenuti. Le immagini ad alta risoluzione dei complessi biomolecola/CNT acquisite con AFM sono analizzate. L'attività delle biomolecole adsorbite sul nanotubo è stimata con saggi biochimici, per stabilire il livello di deformazione a cui le biomolecole sono soggette. Le caratteristiche che appaiono da questo schema di legame non covalente suggerisce la presenza di una preferenziale anche se non specifica interazione tra biomolecola e nanotubo.

IV.3 Complessi Ibridi Biomolecola/CNT

Nella creazione di complessi ibridi bio/CNT, in cui la semplice interazione aspecifica porta all'ottenimento di sistemi stabili, sono stati modificati i parametri/caratteristiche legate al sistema biologico. Abbiamo studiato il legame che s'instaura tra due diverse classi di biomolecole ed i nanotubi. Le diverse forme, dimensioni e bioattività le rende

modelli perfetti nell'ampio spettro di molecole presenti nei sistemi viventi. Avendo scelto un metodo d'indagine basato su *imaging* molecolare con AFM è indispensabile valutare i sistemi biologici da un punto di vista geometrico/spaziale. Le proteine nella loro conformazione naturale hanno forme globulari assimilabili a sfere. Quelle selezionate variano dai 3nm del citocromo C fino ai 14nm circa di grandi complessi multiproteici (GroEl). La seconda classe di biomolecole prese da riferimento sono state gli acidi nucleici, sia a singolo che doppio filamento di DNA. Presentano una struttura filiforme ed un *aspect ratio* paragonabile a quello dei nanotubi, anche se non ne possiedono la rigidità.

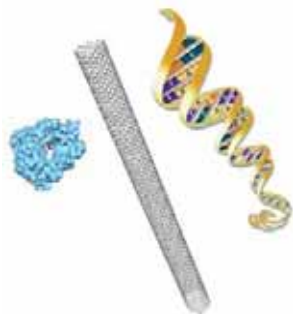


Figura IV - 1 Rappresentazione grafica delle forme dei sistemi coinvolti nella creazione ibridi biomolecole/CNT

La preparazione dei coniugati biomolecola/nanotubo è condotta con due metodi diversi. Il primo prevede la semplice miscelazione tra una 'sospensione instabile' di nanotubi in acqua ed una soluzione di biomolecola in soluzione tampone. Il pH controllato della soluzione permette di mantenere le proteine nella loro forma naturale. Non si hanno variazioni di carica e non si altera la loro conformazione tridimensionale naturale (struttura terziaria per le proteine e superavvolgimenti nei filamenti di DNA). Questo permette di mantenere le funzioni biologiche native inalterate e l'isolamento delle alterazioni apportate esclusivamente dalla prossimità del nanotubo.

Il secondo metodo prevede dopo la miscelazione l'ausilio degli ultrasuoni per valutare le capacità di funzionalizzazione e sospensione dei biomateriali verso i nanotubi. La sonicazione inoltre permette la formazione di un maggior numero di complessi ma a causa delle elevate energia comporta un danneggiamento delle strutture molecolari, sia del nanotubo sia delle biomolecole.

Bisogna anticipare che la creazione degli ibridi può essere confermata anche senza la diretta ed esplicita visualizzazione AFM delle biomolecole. Infatti la preparazione del campione per deposizione e lavaggio su mica non permette al nanotubo da solo di interagire e di legarsi; esclusivamente in presenza delle biomolecole possono essere visualizzati sul substrato. Un ulteriore metodo per la determinazione di questi complessi è la comparsa di una colorazione omogenea delle soluzioni indice di un potere tensioattivo/sospendente da parte delle biomolecole.

I nanotubi utilizzati in questo studio sono stati di due tipi. Sintetizzati da scarica ad arco e da High Pressure CO Decomposition, puliti secondo le metodologie sviluppate durante il dottorato e riportate in dettaglio nel capitolo II.

IV.4 Complessi proteina/CNT

La coniugazione di proteine su SWNTs ha portato alla realizzazione di sensori con il nanotubo ad agire da traduttore attivo.^[9,10]

In letteratura sono presenti pochi lavori in cui sia valutata la deformazione delle proteine nei complessi con CNT. Generalmente si ha perdita o riduzione di attività catalitica/biologica, ma alcuni sistemi naturali come la glucosio ossidasi, una proteina dimerica, mantiene potere ossidante verso il substrato.

Lo studio condotto durante il dottorato su sistemi proteici/CNT ha definito le modalità di selezione delle biomolecole in base a dimensione e carica a pH fisiologico. Variando questi parametri è stato visto che le proteine indipendentemente dalla loro dimensione hanno un potere disperdente verso i nanotubi, anche se sembra a livello qualitativo che proteine più grandi riescano a portare in sospensione un numero maggiore di CNT. La carica della proteina non sembra influire sulla capacità di sospensione, confermando un'interazione con la parte idrofobica della biomolecola sulla parete esterna del nanotubo. L'adsorbimento è talmente energetico da portare alla perdita di funzionalità biologica; il sistema enzimatico studiato, tripsina, perde completamente la sua attività catalitica. È stato osservato che la superficie del nanotubo induce alterazioni strutturali diverse in proteine di natura diversa.^[13] Tutte le proteine subiscono, per interazione con i nanotubi, alterazioni della struttura secondaria (α -elica e β -foglietto) incorrendo anche in processi di *unfolding*.^[13] Proteine contenenti una maggiore frazione di strutture β -foglietto sono però maggiormente affette da questa interazione, come dimostra la perdita di attività catalitica da parte della tripsina studiata da noi. I β -foglietti sono infatti caratterizzati da una maggiore quantità di amminoacido con residui idrofobici, rispetto alle α -eliche stabilizzate da amminoacidi piccoli e carichi.

IV.4.1 Citocromo C

Il Citocromo C (Cit C) è una piccola proteina (MW 12kDa) del gruppo delle HEME proteine, nell'organismo agisce da trasferitore di elettroni nei processi di ossidazione metabolica (fosforilazione ossidativa). Le sue dimensioni sono di 30x30x34Å. Possiede una elevata carica positiva in condizioni di pH fisiologico (punto isoelettrico 10-10.5),^[14] ed è quindi in grado di legarsi non esclusivamente al CNT ma anche alla superficie.

È possibile osservare al AFM (figura IV-2A,B) le molecole di proteina legate sulla parete esterna di strutture tubolari. Infatti l'interazione aspecifica permette alla biomolecola di legarsi sia sul singolo SWNT sia su *bundle*. Inoltre la mica, scelta d'elezione per l'analisi AFM dei complessi biomolecola/CNT essendo atomicamente piatta, possiede una carica superficiale negativa su cui il Cit C, carico positivamente, interagisce creando un omogeneo e compatto strato di proteina (figura IV-2C). La superficie della mica così 'modificata' aiuta quindi l'adsorbimento di CNT sul substrato con una ridotta funzionalizzazione sulla parete. In soluzione si presenterà la competizione d'interazione tra biomolecola-CNT-superficie. La natura di queste interazioni è però diversa; mentre tra Cit C e mica si ha esclusivamente attrazione elettrostatica dovuta alle

cariche opposte, l'interazione tra SWNTs e Cit C è probabilmente di natura idrofobica, sebbene non possano essere escluse altre forme. Si hanno quindi in parallelo la formazione dei Cit C/CNT in soluzione e la loro deposizione e la creazione dello strato di proteina seguita dall'assorbimento dei CNT.

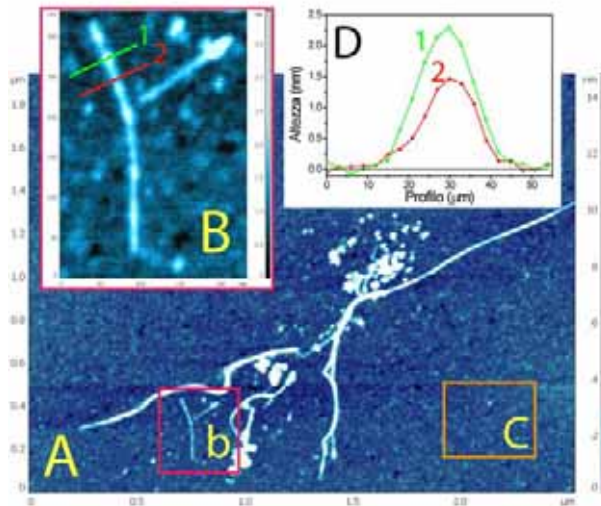


Figura IV - 2 A) Immagine di topografia AFM di un campione Cit C/CNT su mica, sono presenti sia *bundles* sia singoli SWNTs come mostrato in dettaglio nell'ingrandimento B). C) Monostrato omogeneo e completo di Cit C libero. D) Profilo lineare del SWNT (2) e del Cit C/SWNT (1).

Dall'analisi delle immagini AFM è possibile valutare la dimensione della proteina adsorbita sul nanotubo. Si può notare dal profilo, come riportato in figura IV-2D, che il diametro del SWNTs corrisponde ad un tubo isolato ed è consistente con le attese. Differente è invece la dimensione della Cit C adsorbito sulla parete. A conferire una minore dimensione accorrono due fattori uno meccanico/strumentale ed il secondo 'scientifico'. Nella microscopia AFM in modalità in semicontatto la punta interagisce con il campione fino a toccarlo ed a schiacciarlo leggermente; la deformazione spaziale è maggiore nei materiali soffici. I nanotubi sono strutture rigide con moduli di Young sul 1Tpa, le biomolecole hanno moduli di Young dell'ordine dei 10Mpa. Quindi la punta interagendo con il nanotubo non ne altera la dimensione essendo molto rigido, mentre la proteina più soffice è leggermente schiacciata e quindi l'altezza rilevata dallo strumento non è quella reale. La seconda possibile spiegazione, che si andrebbe ad aggiungere al contributo strumentale di cui si è certi, è la possibile deformazione della struttura terziaria. L'interazione tra nanotubo e biomolecola potrebbe essere sufficientemente forte da alterare le proprietà strutturali e dimensionali del Cit C che risulta quindi più compresso. Per elucidare la forza e la natura di queste interazioni sono stati investigati altri sistemi proteici.

IV.4.2 Tripsina

La tripsina fa parte della famiglia delle proteasi la cui attività biologica è ben nota e documentata. Rispetto al Cit C è leggermente più grande, 24kDa ed un raggio di girazione di 6nm, ma ugualmente carica positivamente (P.I. 10.1-10.5).^[14]

L'adsorbimento della tripsina sui nanotubi, come avveniva per il Cit C, coinvolge sia singoli SWNTs (figura IV-3) che *bundles* (non mostrato). La presenza di particelle globulari a diverse dimensioni dimostrano come la proteina sia presente sia come singola sia come aggregato molecolare. Questa tendenza è mostrata anche dalla proteina individualmente. La quantificazione di enzima adsorbito sui nanotubi è determinata tramite il suo dosaggio in soluzioni a diverse concentrazioni poste ad interagire con

quantità fisse di CNT. Mescolando assieme i due sistemi per semplice agitazione l'isoterma di adsorbimento cresce in funzione della concentrazione dell'enzima sino ad un *plateau* (grafico in figura IV-4A simboli rossi). Utilizzando un bagno ad ultrasuoni per mescolare, la curva di adsorbimento dopo un primo *plateau* ritorna a crescere (figura IV-4A simboli neri). Alle basse concentrazioni iniziali di enzima, fino a circa 10 μ g/ml, la tripsina è quasi totalmente adsorbita sul nanotubo, ed il metodo di miscelazione non influisce. Entrambi infatti mostrano un *plateau* paragonabile ad una concentrazione di 0.16 μ gTri/ μ gCNT. A concentrazioni maggiori si ha un effetto tensioattivo della tripsina verso i *bundles* di nanotubi, la sonicazione aiuta il processo di sospensione fornendo un'energia maggiore rispetto alla semplice agitazione e la curva subisce un incremento. Nel processo di sospensione dei nanotubi, come illustrato nel paragrafo II.3, la molecola disperdente interagisce con la parete laterale del tubo conferendo affinità per il solvente. Serve comunque un'energia esterna che possa favorire il processo di *debundling* (sfaldamento delle matasse di SWNTs) e la sonicazione è molto più efficace in questo dell'agitazione.

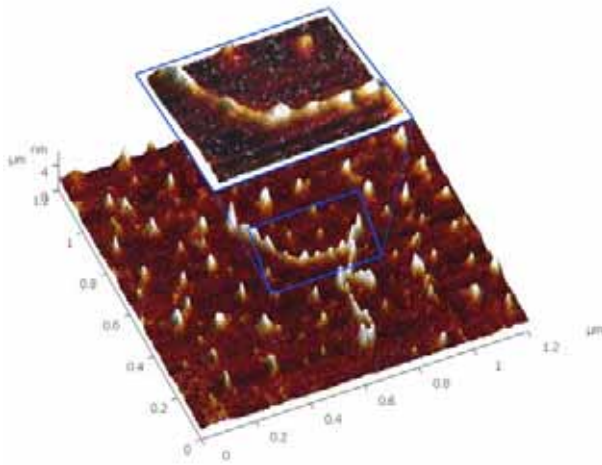


Figura IV - 3 Rendering tridimensionale di un'immagini topografica AFM del complesso Tripsina/CNT. Nell'ingrandimento in inserto (□) dettaglio delle biomolecole adsorbite sul nanotubo, si notano leggere differenze delle dimensioni delle strutture globulari probabilmente dovute a fenomeni di aggregazione. Sulla superficie di mica si visualizza la proteina libera.

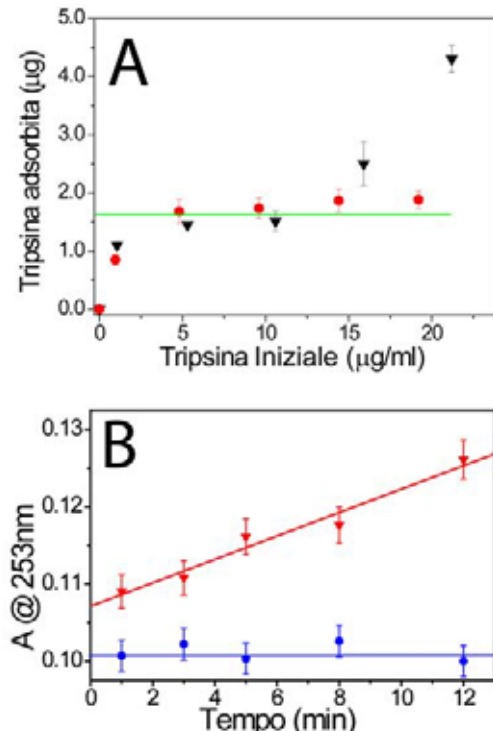
La tripsina possiede un'attività catalitica nelle idrolisi delle proteine. E' infatti uno dei tre principali enzimi digestivi delle proteinasi. L'elevata specificità permette il taglio esclusivo al terminale C dei residui amminoacidici di lisina e arginina. La cinetica di reazione è lenta a pH acidi e mostra il suo ottimo in ambienti leggermente basici, pH 7-9, tipici degli ambienti intestinali. La funzionalità di un enzima è in generale un importante test per la valutazione delle condizioni in cui si trova, esempio pH, presenza denaturanti, temperatura, inibitori. Lo studio delle cinetiche di reazione per il complesso tripsina/CNT può conferire informazioni sulla deformazione strutturale apportata alla biomolecola per interazione con un materiale nanostrutturato.

Si è quindi confrontata direttamente l'attività espressa dall'enzima libero con la stessa quantità di enzima adsorbito sul CNT -usando un mescolamento blando, per evitare danneggiamenti all'enzima, ed una quantità di proteina inferiore al *plateau* osservato, per evitare eventuale rilascio di enzima da eventuali aggregati ed il completo adsorbimento-.

Il confronto diretto permette di minimizzare gli errori dovuti a fluttuazioni di temperatura, variazioni di pH, ed una semplice e diretta interpretazione dei dati ottenuti. Seguendo l'evoluzione della reazione sul substrato modello Na-benzoil-L-Arginina Estere (vedi parte sperimentale per maggiori dettagli) è osservabile la soppressione dell'attività

biologica dell'enzima (figura IV-4B). Questo suggerisce che quando la tripsina è adsorbita sul nanotubo, il suo sito attivo (solitamente posto in una tasca idrofobica) è fortemente distorto, oppure l'interazione è così forte da 'bloccare' la sua struttura terziaria. In entrambi i casi il meccanismo chiave-serratura è impedito.

Figura IV - 4 A) Isotherma di adsorbimento della tripsina sui CNTs, con mescolamento (●) e con sonicazione (▼). La linea orizzontale verde rappresenta il plateau comune a $0.16\mu\text{gTri}/\mu\text{gCNT}$. **B)** Grafico della cinetica di reazione di un eguale quantità di tripsina libera (▼) e di proteina nel complesso tripsina/CNT (●); la pendenza della retta mostra per l'enzima libero un'attività di $375\text{BAEE}/\text{mg}$.^[15]



IV.4.3 Albumina

L'albumina da siero bovino (BSA) è una proteina plasmatica e costituisce circa il 60% di tutte le proteine presenti. Ha funzioni di trasportatore multifunzionale: è in grado di legarsi a metalli (come Ca(II) , Na(I) , K(I) ; Cu(II) , Ni(II) , Hg(II) e Au(I)) e molecole idrofobiche (ormoni, acidi grassi, bilirubina) nella tasca idrofobica.^[16] Il suo ruolo principale è di mantenere costante la pressione oncotica (pressione osmotica colloidale) nel sangue. Ciò che la rende di particolare interesse nel nostro studio è la sua carica negativa a pH fisiologico; a differenza delle proteine precedenti la BSA ha punto isoelettrico $4.7-4.9$.^[14] Ha una struttura tridimensionale leggermente prolata, con dimensioni di $30 \times 30 \times 80 \text{Å}$, ed un peso molecolare di circa 62kDa quindi leggermente

maggiore rispetto alle precedenti biomolecole studiate.

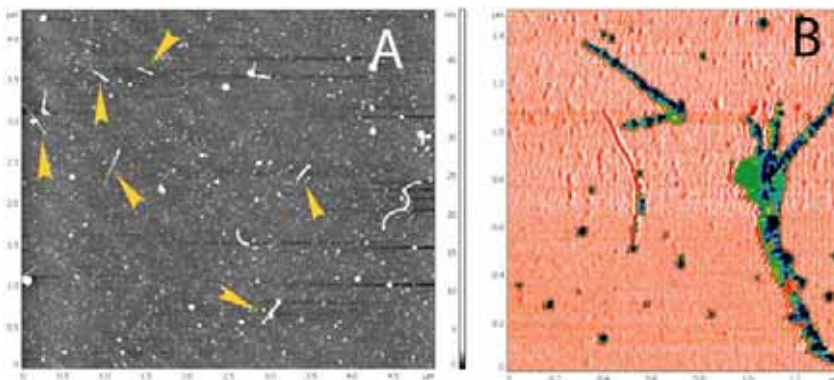


Figura IV - 5 A) immagine topografica di complessi BSA/CNT (indicati con frecce gialle). **B)** Dettaglio in contrasto di fase di un nanotubo parzialmente ricoperto di proteina.

LA BSA si lega anch'essa ai nanotubi come mostrato in figura IV-5. Questo comporta l'esclusione del fattore 'carica della proteina in soluzione' dalle possibili interazioni tra biomolecola e nanotubo. Come è osservato proteine con carica complessiva positiva o

negativa li legano indistintamente alla parete laterale del nanotubo, suggerendo un'interazione esclusivamente idrofobica.

La capacità della BSA di portare in sospensione i nanotubi è sensibilmente migliore rispetto alle proteine precedenti probabilmente connesso alla presenza della tasca idrofobica utilizzato nella veicolazione sanguigna.

IV.4.4 GroEl

GroEl è il *chaperon* molecolare dell'*Escherichia coli*. Gli *chaperon* sono complessi multiproteici con la funzione di mediare il ripiegamento delle catene polipeptidiche fino al raggiungimento della loro conformazione tridimensionale stabile governata dalla sola sequenza amminoacidica. E' composto da 14 subunità identiche che si auto-organizzano in due anelli simmetrici, ciascuno con 7 unità, a dare un costrutto di forma toroidale (disegno in figura IV-6). Le unità si dispongono negli anelli con la superficie idrofoba verso l'interno creando una cavità in cui le proteine entrano per essere ripiegate. Le dimensioni del GroEl sono di 70x70x140Å. Complessi supramolecolari, come le chaperonine, sono campioni adatti per studi strutturali al AFM avendo una forma ben definita e dimensioni

'appropriate'. Inoltre la cavità idrofoba di ~ 4nm lascia la possibilità di interazione tra GroEl e CNT, come ad esempio i rotassani.

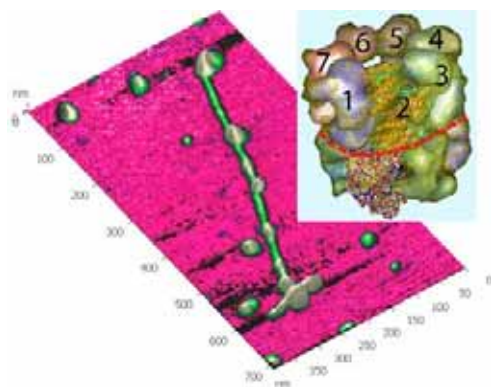


Figura IV - 6 Immagine tridimensionale di un complesso GroEl/CNT. Si nota il tubo parzialmente ricoperto. Sia sul tubo che sulla superficie sono presenti emi-toroidi di GroEl composte da 7 subunità. In inserto rappresentazione tridimensionale del GroEl completo mettendo in evidenza la linea di separazione tra i due anelli (tratteggio rosso) e le sette unità costituenti.

In figura IV-6 è mostrata l'immagine AFM del complesso GroEl/CNT. Si osserva la creazione di parziali organizzazione delle subunità sia attorno al CNT sia sulla mica. L'aggregazione dei singoli componenti a dare il complesso multiproteico finale è un processo delicato che risente notevolmente delle condizioni al contorno come concentrazione di K e di Mg ed il loro rapporto, di pH. La natura idrofoba del nanotubo non influisce nella realizzazione dei costrutti attorno ad esso come ci si prefiggeva di visualizzare ma non ne altera la formazione.

IV.5 Complessi acidi nucleici/CNT

Gli ibridi DNA/CNT hanno suscitato negli ultimi anni un forte interesse. E' stato dimostrato che sequenze di ssDNA ricche in guanidina e timina si adsorbono sui nanotubi.^[17] L'adsorbimento porta alla formazione di sospensioni stabili di SWNT in acqua. L'eluizione in colonne cromatografiche a scambio ionico dei complessi DNA/SWNT porta alla parziale separazione tra CNT metallici e semiconduttori,^[17,18] o per

diametro.^[19] L'interpretazione data dagli autori è sostenuta da fattori geometrici, ossia cambiando il diametro cambia lo schema di legame del DNA, fattori elettronici per effetto della diversa schermatura delle cariche.

La separazione dei nanotubi di carbonio tra le diverse tipologie (metallici/semiconduttori; diametri-elasticità) rappresenta uno degli obiettivi più importanti per lo sviluppo di una tecnologia basata su di essi.

Questi ibridi DNA/CNT sono anche stati utilizzati per studiare cambiamenti conformazionali (da forma B a Z) di sequenze non complementari poliG-T;^[20] per rilevare fenomeni d'ibridazione di catene complementari^[21] con tecniche spettroscopiche. I dati riportati finora in letteratura aprono le frontiere dei nanotubi quali sensibili strumenti di misura per la valutazione a livello molecolare di fenomeni biologici.

Una delle limitazioni introdotte in tutti gli studi effettuati finora è la lunghezza dei nucleotidi impiegati. L'attenzione è focalizzata su filamenti di ssDNA mono/bi-nucleotidiche di origine sintetica composti da 30-90 monomeri. Questo porta, in alcuni casi, a fenomeni di organizzazione supramolecolare (ossia arrotolamento preferenziale/chirale) del DNA sui nanotubi. In questo lavoro di tesi viene mostrato come sequenze casuali derivanti da sorgenti naturali, abbiano un'elevata affinità per il nanotubo senza però mostrare alcuna periodicità. Inoltre il processo di sospensione per sonicazione è altamente energetico e spezza le molecole di DNA, comportando la riduzione in applicazioni biologico-riconoscitivo. Abbiamo quindi sviluppato un metodo che permette la creazione dei complessi mantenendo intatte le informazioni sulla sequenza. Questo viene dimostrato dalla diretta visualizzazione con AFM dei complessi ibridi in cui DNA e SWNT sono risolti a livello molecolare.

IV.5.1 ssDNA/CNT

Il DNA a singolo filamento (ssDNA) consiste in una sola catena di acido desossiribonucleico; ottenuta per denaturazione del dsDNA.

Riproducendo lo studio condotto da Zheng,^[17] sonicando nanotubi HiPco (trattati in piranha) in una soluzione concentrata di ssDNA si ottengono delle sospensioni dense di nanotubi. In figura IV-7A è mostrata la sospensione ottenuta depositata su mica, in cui è possibile osservare un'elevata concentrazione areale di nanotubi. La particolare geometria con la quale i nanotubi giacciono sulla superficie è in relazione al processo di *debundling* che avviene nella sonicazione: il *bundle* si apre, la biomolecola interagisce con la porzione di nanotubo scoperto e via via fino a totale apertura del fascio, come in una chiusura lampo.^[22] E' stato dimostrato che la forza motrice di questo processo è l'interazione di π - π *stacking* tra le basi aromatiche (puriniche e pirimidiniche) del ssDNA con la parete idrofoba del CNT. Questa configurazione permette al ssDNA di portare i gruppi fosforici carichi negativamente verso il solvente, di allontanarli spazialmente riducendone l'interazione, e conferendo idrofilicità al complesso. Sul substrato giace uno strato di piccoli frammenti di ssDNA libero. Gli ultrasuoni utilizzati per sospendere i nanotubi spaccano la biomolecola: per il DNA che ha forma lineare è molto più evidente rispetto alle proteine ma è

verosimile pensare che ciò avvenga anche nei sistemi presentati sopra. Questo effetto è evidente nel nostro caso avendo impiegato segmenti lineari da 587 a 831 bp, in letteratura dove la maggior parte degli studi sui complessi ssDNA/CNT utilizza generalmente frammenti più piccoli. Quindi la sonicazione risulta uno step fondamentale nell'ottenimento di quantitative sospensioni di nanotubi ma comporta la perdita totale delle informazioni inerenti la sequenza di basi e la lunghezza della biomolecola

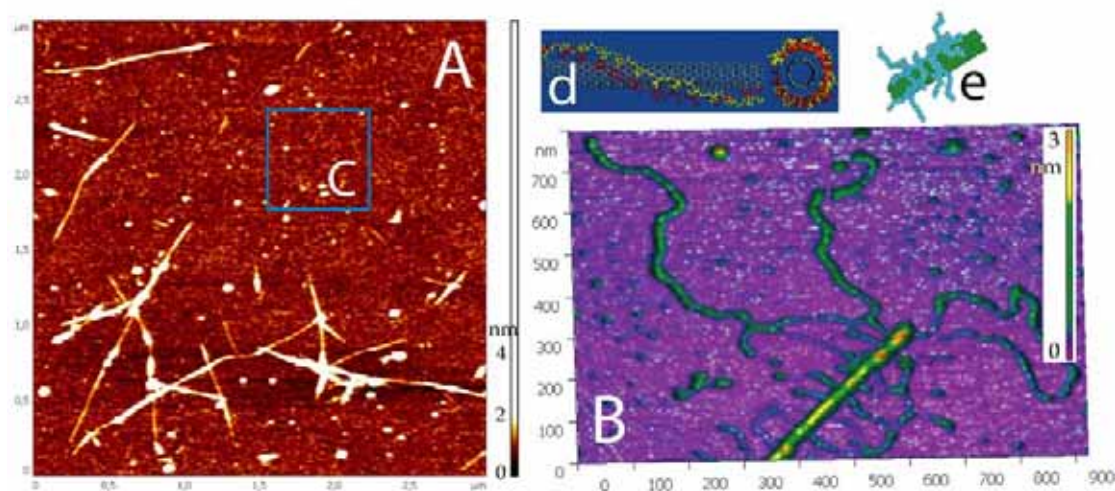


Figura IV - 7 A) Immagine AFM della sospensione di nanotubi, depositati su mica, ottenuta per sonicazione con ssDNA, c) strato di ssDNA tagliato. B) Dettaglio di un complesso ssDNA/CNT ottenuto per mescolamento, l'acido nucleico mantiene la sua lunghezza originale. d) Modello di legame con arrotolamento del ssDNA sul nanotubo, riprodotto da ^[17]. e) Modello di legame tipo 'ragno' tra ssDNA e CNT.

Evitando la sonicazione e semplicemente miscelando i due componenti si previene la 'denaturazione' del ssDNA che mantiene la sua interezza come mostrato in figura IV-7B. La quantità di nanotubi dispersi è notevolmente diminuita ma è molto più semplice la distinzione al AFM dei due sistemi molecolari. Nell'immagine riportata in figura IV-7B si vedono le catene di ssDNA sovrapporsi al SWNT. In questi ibridi si potrebbe osservare una chiralità del sistema. Il nanotubo presenta una propria elicità (come mostrato nel capitolo I) ed il ssDNA possiede la chiralità delle basi ma nessuna orientazione spaziale. Quindi si dovrebbero osservare periodicità di avvolgimento del filamento di ssDNA attorno al CNT. Le elicità dovrebbero essere differenti se guidate dalla parete grafenica del nanotubo, oppure costanti se legate esclusivamente al DNA.

Modellazione molecolare (*self consistent force field*) suggerisce che ssDNA (Poli-T, 30-60mer) può assumere vari modi di legarsi al SWNT (10,0) con una piccola differenza di energia.^[17] I modi includono arrotolamento chirale, (levo o destrogiro; figura V-7d) con diversi periodi o le catene linearmente estese.

Nei nostri campioni si sono osservate piuttosto strutture tipo 'ragno' in cui varie molecole di ssDNA competono nell'adsorbimento sul nanotubo. Pur essendo in presenza di catene lineari di nucleotidi piuttosto lunghe (590-830mer) non è stato osservato nessun periodo. Forse legato alla sequenza e composizione casuale delle basi (41.2% G-C, 58.8% A-T).

IV.5.2 dsDNA/CNT

Il DNA a doppio filamento (dsDNA) è costituito da due filamenti complementari ed antiparalleli di acido desossiribonucleico, organizzati in una struttura a doppia elica destrorsa di circa 2nm di diametro. Le basi rimangono verso l'interno della catena a creare un centro idrofobo, mentre i gruppi fosfato negativi sono posti all'esterno della struttura. Le dimensioni e l'*aspect ratio* sono confrontabili con quelle di un nanotubo.

Anche in questo caso la sonicazione aiuta la formazione di sospensioni stabili di nanotubi in acqua, segno della formazione di ibridi dsDNA/CNT, ma comporta la rottura della catena di DNA (figura IV-8a).

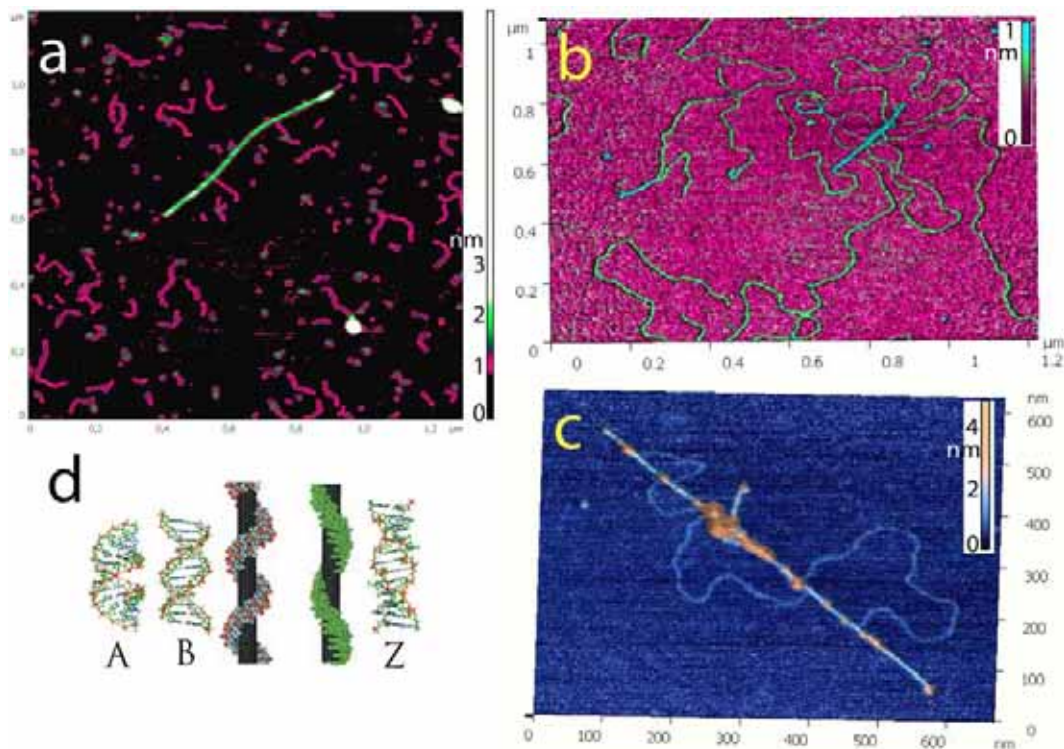


Figura IV - 8 a) Topografia AFM di dsDNA/CNT sottoposto a sonicazione. La colorazione a soglia permette di distinguere le catene spezzate di dsDNA (rosa) alte 1nm, il complesso dsDNA/CNT altro circa 2nm in verde. **b)** Risoluzione molecolare di un complesso dsDNA/CNT ottenuto per mescolamento (in soluzione CNT/DNA 160 w/w). Il dsDNA (pBR32) di 4300bp, lungo circa 1.4 μ m, rimane inalterato. **c)** Variando il rapporto in massa tra dsDNA e CNT è possibile controllare il numero di molecole di DNA presenti nel complesso (in soluzione CNT/DNA 20 w/w). **d)** Rappresentazione schematica di dsDNA in conformazione A,B e Z e legato al CNT in conformazione B e Z, riprodotto da ^[20] e da ^[23].

Il semplice mescolamento permette nuovamente il mantenimento dell'integrità della biomolecola, proprietà strutturali e quindi funzionali. Le immagini AFM evidenziano i nanotubi come punti di concentrazione del DNA segno di una forte interazione tra i due sistemi. Entrambi i sistemi presentano a pH 7.4 della soluzione tampone cariche negative: gruppi fosfato sul DNA residui carbossilici sul CNT. La natura dell'interazione è probabilmente di tipo idrofobo. La parte interna del DNA dovrebbe andare ad interagire con il nanotubo; ma le interazioni π - π nel DNA sono responsabili della stabilizzazione della struttura ad elica e quindi si presuppone una modifica conformazionale locale del dsDNA. Transizioni conformazionali da strutture B ad A sono state osservate in soluzioni

di omopolimeri GC.^[24] Le modifiche strutturali del DNA tra le due forme porta ad un incremento del diametro da 2.0 a 2.6nm.

Con la microscopia a forza atomica, pur presentando risoluzione a livello molecolare (figura IV-8b), non siamo riusciti a risolvere queste due conformazioni. Probabilmente nelle condizioni da noi usate, la forza esercitata sulla biomolecola è troppo alta ed essendo soffice si deforma in misura maggiore rispetto alle variazioni conformazionali. E' normale osservare al AFM il dsDNA depositato sulla superficie con diametri di 1nm, esattamente la metà di quello reale. E' da sottolineare che ancora oggi non è stata ottenuta la risoluzione della struttura a doppia elica tramite AFM.

Variando il rapporto tra dsDNA e CNT è possibile ridurre il numero di biomolecole legato al nanotubo (figura IV-8b,c). Utilizzando una catena di DNA a singola lunghezza (4300bp; 1.4µm) si pensava di stimare il numero di spire di dsDNA attorno al CNT per differenza con la catena di dsDNA libera. Questo risulta però impossibile per la difficoltà di controllo rinvenuta nell'influenzare il numero di filamenti attorno ad ogni nanotubo. Può non essere esclusa la compartecipazione di più catene di acido desossiribonucleico nel complesso con CNT, di cui alcune completamente adsorbite senza parti libere.

In tutti i casi riportati sembra evidente dagli studi AFM che la natura del nanotubo non venga alterata dall'interazione con le biomolecole. Al contrario le biomolecole subiscono un forte stress fino alla perdita di attività biologica. Da un punto di vista strumentale le dimensioni delle biomolecole risultano essere sottostimate per effetto dello schiacciamento da parte della punta del AFM e della loro morbidezza, peraltro non possono essere escluse deformazioni spaziali proprio a causa della creazione degli ibridi.

IV.6 Spettroscopia Raman su ibridi biomolecola/CNT

L'interazione tra sistemi chirali comporta meccanismi di affinità selettività elettività reciproca molto sensibili. In particolar modo molecole e sistemi di origine biologica possiedono oltre ad atomi chirali anche strutture chirali che comporta un potere di riconoscimento dei substrati con cui interagire fortemente affetto dalla natura chirale. Questo può dare origine a fenomeni di selettività anche per interazione sui nanotubi di carbonio che presentano una propria elicità. Un eventuale meccanismo di riconoscimento o di affinità elettiva potrebbe portare alla separazione dei nanotubi, uno degli aspetti critici nella industrializzazione per componenti elettronici. E' cruciale considerare per i SWNT la diretta relazione tra struttura 'geometrica' e struttura elettronica. Quindi alla possibile affinità per una particolare elicità, potrebbe sovrapporsi o affiancarsi un riconoscimento da parte delle biomolecole delle densità elettroniche del nanotubo e quindi alle proprietà metalliche e semiconduttrici.

Tramite microscopia a sonda è possibile osservare accuratamente i complessi ibridi che si formano per spontanea interazione tra SWNTs e biomolecole. Come illustrato precedentemente si raggiungono risoluzioni molecolari, distinguendo chiaramente il nanotubo e la biomolecola. L'indagine micoscopica AFM sui complessi

biomolecola/CNT non rileva la reale dimensione del nanotubo. I SWNT appaiono quindi topograficamente identici tra di loro, le differenze di pochi Angstrom che ci sono tra i diametri per coppie di indici diverse rientrano nell'errore strumentale. Come introdotto nel capitolo I i SWNTs con indici diversi possono avere diametro uguale ma proprietà

elettroniche opposte. Per esempio nell'intervallo 10.8-11.1Å esistono 6 nanotubi: 2 metallici e 4 semiconduttori; 1 zig-zag, 1 armchair.^[25]

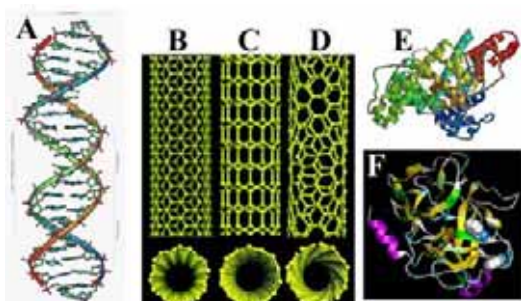


Figura IV - 9 Rappresentazione grafica della chiralità espressa dai diversi sistemi investigati. A) dsDNA (forma B), B) Armchair, C) Zig-Zag, D) SWNT chirale E) BSA, F) Tripsina

La spettroscopia Raman è stata intensamente usata per caratterizzare solidi e soluzioni contenenti nanotubi di carbonio.^[26] E' uno strumento sensibile alla struttura elettronica del nanotubo. Può quindi essere utile a comprendere se sia presente un'interazione preferenziale delle biomolecole verso alcuni tipi di SWNT. Se accorrono alterazioni della struttura del nanotubo durante la creazione degli ibridi che non siano rilevabili al AFM.

L'impiego di SWNTs HiPco^[27] conferisce una maggiore semplicità nella valutazione dell'effetto dell'interazione con sistemi biologici. Il materiale possiede una serie di picchi ben strutturati e definiti nella zona del RBM; inoltre è presente un'intensa caratterizzazione in letteratura che rende più facile l'interpretazione dei dati ed un confronto diretto con gli studi già pubblicati. L'analisi spettroscopica è condotta sul solido asciutto ottenuto depositandola su vetrino 10µl di sospensione, seguendo la procedura riportati nella parte sperimentale.^[17]

IV.6.1 Raman ad alte energie: contorno del CNT - analisi del G-Mode

I modi tangenziali dei SWNTs permessi al Raman cadono nella regione dei 1600cm⁻¹, ed il segnale proviene dagli spostamenti sul piano grafítico dei C-C ibridati sp². Può essere diviso in due regioni, fononi a bassa ed ad alta frequenza, per effetto della diversa costante di forza del legame nella direzione parallela all'asse del nanotubo o perpendicolare. Le due regioni sono identificate con G⁺ per i modi tangenziali con spostamento degli atomi lungo l'asse e G⁻ per movimenti circolari. I due segnali si presentano diversi tra semiconduttori e metallici permettendone la differenziazione.^[28] Inoltre il segnale risente dell'intorno a cui il nanotubo è esposto e quindi può dare indicazioni sulla creazione di ibridi.

Dall'analisi degli spettri Raman ottenuti dai vari complessi biomolecola/CNT si vede che il picco più intenso (G⁺) mantiene la posizione attorno ai 1591.5cm⁻¹ all'interno dell'errore strumentale ±1cm⁻¹. Esclusivamente il dsDNA/HiPco mostra una differenza apprezzabilmente superiore centrandosi a 1589.8cm⁻¹. Il *downshift* del G⁺ è legato al grado di perturbazione indotto alle vibrazioni sul piano ed al trasferimento di carica con speci elettron donatori. Il dsDNA possiede infatti una superficie esterna negativa, costituita dai gruppi fosfato, che può trasferire carica sul nanotubo.

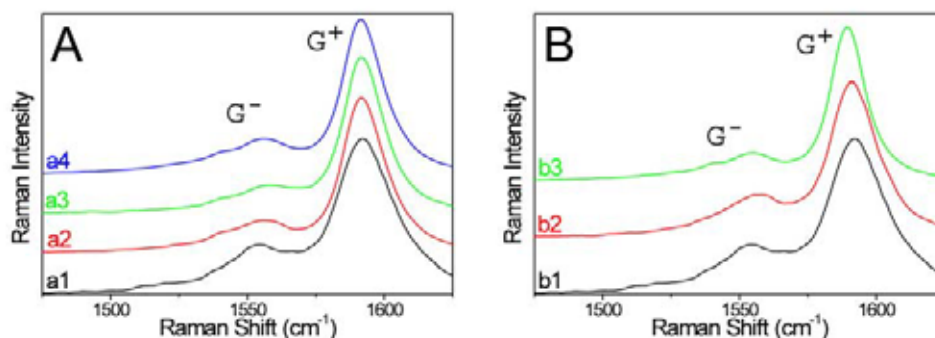


Figura IV - 10 Spettri Raman dei modi tangenziali ottenuti dai complessi bio/CNT. La misura è fatta sul campione solido ottenuto per deposizione della sospensione su silicio. **A)** Confronto dei complessi proteina/CNT rispetto al materiale di partenza a1) HiPco trattato in piranha, a2) CytC/HiPco, a3) Tripsina/HiPco, a4)BSA/HiPco. **B)** Confronto dei complessi acido nucleico/CNT rispetto al materiale di partenza b1) HiPco trattato in piranha, b2) ssDNA/HiPco, b3) dsDNA/HiPco.

Nel ssDNA il fenomeno non si osserva in misura marcata, in questo complesso la stabilizzazione implica l'esposizione della parte idrofila –i gruppi fosfato- al solvente, riducendo il trasferimento di carica. In accordo con questo comportamento è il complesso BSA/HiPco, l'unica proteina che presenta una carica negativa al pH utilizzato. In misura più o meno accentuata si osserva un restringimento dello stesso picco. La larghezza a metà altezza (FWHM) passa da 26.5cm^{-1} del materiale di partenza ad una media di 17cm^{-1} . La riduzione di FWHM è associata ad una minore interazione intertubo. SWNTs in bundles hanno larghezze di banda allargate rispetto ai SWNTs isolati. Questo conferma la presenza delle molecole biologiche sulla parete laterale del nanotubo e la tendenza ad agire da isolanti rispetto all'ambiente circostante.

Campione	Strutturazione del G^-							
	G^+ dev.std	FWHM dev.std	G_1^- dev.std	Int G_1^- dev.std	G_2^- dev.std	Int G_2^- dev.std	G_3^- dev.std	Int G_3^- dev.std
HiPco as	1592.3 0.4	22.6 1.4	1554.3 0.3	0.35 0.03	<u>1540.5</u> 0.6	0.22 0.02	1521.0 Non stimabile	0.13
HiPco piranha	1592.0 0.5	26.5 1.6	1554.3 0.7	0.38 0.05	Non distinguibile		1521.3 0.4	0.12 0.04
CytC/HiPco	1591.7 0.3	18.1 1.7	1556.7 0.9	0.24 0.01	<u>1541.9</u> 0.0	0.16 0.00	Non distinguibile	
Try/HiPco	1591.7 0.3	16.8 1.3	1559.2 1.1	0.18 0.02	<u>1542.6</u> 1.2	0.11 0.01	1528.4 Non stimabile	0.06
BSA/HiPco	1591.0 0.9	17.6 1.1	1547.8 7.8	0.20 0.05	<u>1547.8</u> 7.8	0.20 0.05	1526.2 0.7	0.10 0.00
ssDNA/HiPco	1591.2 0.4	21.6 0.6	1557.6 0.7	0.31 0.02	<u>1541.6</u> 1.8	0.18 0.02	1524.3 1.4	0.09 0.01
dsDNA/HiPco	1589.8 0.9	16.7 1.9	1554.8 1.5	0.23 0.04	<u>1540.7</u> 0.9	0.16 0.02	1524.8 3.0	0.09 0.01

Tabella IV - 1 In tabella sono riportati i segnali Raman dei modi tangenziali. Tutti gli spettri sono stati filtrati con *Adjacent Averaging Smoothing* a 5 punti, quindi normalizzati a 1 sul picco del G^+ . Il segnale del G^- è diviso in due regioni. Per il G^+ è riportata la posizione e la larghezza a metà altezza (FWHM). Per la regione del G^- sono riportati la posizione e l'intensità del massimo (G_1^-) e delle spalle presenti (G_2^- , G_3^-). Per completezza sono stati riportati i valori del materiale come ricevuto (HiPco as) senza il trattamento in soluzione piranha.

Il picco G⁻, che presenta intensità e profili diversi per SWNTs metallici e semiconduttori,^[28] subisce un'attenuazione d'intensità in tutti i sistemi. Questo si può correlare ad un incremento nella frazione semiconduttore di SWNTs. Utilizzando una sorgente laser a 632.8nm si vanno ad eccitare SWNT metallici a largo diametro e SWNTs semiconduttori a piccolo diametro. Non si può perciò affermare con certezza se le biomolecole risentano della densità elettronica del nanotubo o della sola dimensionalità (diametro). L'interpretazione del fenomeno è duplice e per risolvere sarebbe necessario uno studio approfondito con laser a diversa lunghezza d'onda.

Il ssDNA si comporta verso i SWNTs in maniera leggermente diversa dalle altre biomolecole. E' in grado di creare complessi molto stabili e sospensioni quantitativamente superiori. Da'altro canto agisce sui nanotubi in maniera minore rispetto alle altre biomolecole, confermando l'elevata potenzialità d'applicazione di questi sistemi. Un nanotubo inalterato nelle proprietà elettroniche mantiene le stesse caratteristiche di trasporto elettrico e quindi il diretto impiego in dispositivi.

IV.6.2 Raman a basse energie: distribuzione dei diametri - analisi del RBM

Radial Breathing Mode (RBM) sono fononi a bassa numero d'onda che corrispondono alla contrazione ed espansione simmetrica del nanotubo nella sua direzione radiale. Il Raman *shift* di questo segnale è in relazione diretta con il diametro ($\omega_{RBM} \propto 1/d$); può essere usato per separare particolari nanotubi (n,m) e la loro distribuzione relativa. La diretta relazione con i fattori geometrici permette di poter valutare l'eventuale affinità dei sistemi biologici per peculiari dimensione dei substrati con cui interagiscono.

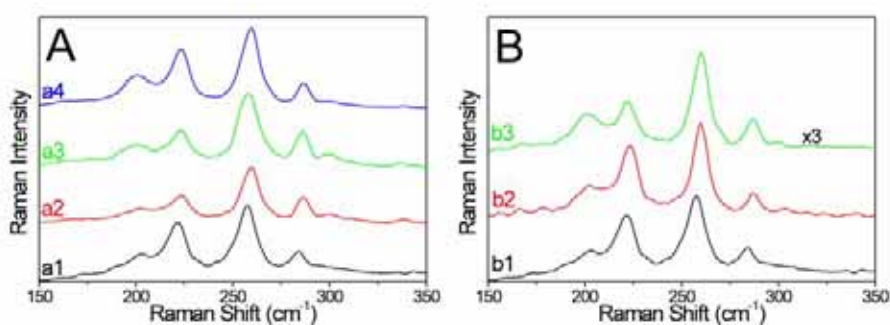


Figura IV - 11 Confronto dello spettro Raman nella zona del RBM. La misura è fatta sul campione solido ottenuto per deposizione della sospensione su silicio. **A)** Confronto dei complessi proteina/CNT rispetto al materiale di partenza a1) HiPco trattato in piranha, a2) CytC/HiPco, a3)Tripsina/HiPco, a4)BSA/HiPco. **B)** Confronto dei complessi acido nucleico/CNT rispetto al materiale di partenza b1) HiPco trattato in piranha, b2) ssDNA/HiPco, b3) dsDNA/HiPco.

La zona del RBM, utilizzando il laser a 632.8nm, per i SWNTs HiPco^[27] si suddivide in due regioni. Ai bassi Raman *shift* (150-230cm⁻¹) il segnale proviene dai nanotubi metallici a largo diametro, mentre agli alti (230-350cm⁻¹) dai semiconduttori a diametro inferiore.^[29,30] A differenza del G-Mode il segnale RBM è meno sensibile al contorno chimico del nanotubo,^[31] ma risente degli effetti di impaccamento (es. *bundling*) con significative variazioni di energia nel Raman *Shift*.^[32]

Si evidenzia per tutti gli spettri una migliore separazione dei picchi Raman ed un leggero *upshift* del segnale ($1-2\text{cm}^{-1}$). Benché l'errore sulla misura sia dell'ordine del cm^{-1} l'incremento sistematico all'interno dei complessi ne conferma la provenienza dal materiale. Questo incremento coerente del RBM è peraltro in controtendenza con le previsioni. Un SWNTs all'interno di un *bundles* è stato osservato avere un'energia di vibrazione maggiore rispetto al tubo isolato per effetto dell'interazione con gli altri tubi tramite forze di Van der Waals.^[32] La presenza delle biomolecole adsorbite sulla parete laterale dovrebbero ridurre le interazioni VdW ed agire da spaziatore 'soffice' spostando il RBM a frequenze minori. Probabilmente l'effetto di perturbazione elettronica dovuta all'assorbimento porta invece all'innalzamento delle frequenze.

Un andamento incrementale dell'intensità dei tubi a diametro minore (Raman *shift* maggiore) è presente in tutti i campioni. Compagno in alcuni complessi (Try/HiPco e ssDNA/HiPco) segnali oltre i 310cm^{-1} provenienti dai diametri molto piccoli ($<0.7\text{nm}$) poco apprezzabili nel materiale HiPco trattato piranha ma presenti nel materiale di partenza (HiPco ricevuto). Come evidenziato in precedenza con il *G-Mode* nelle nostre condizioni strumentali non possiamo affermare con certezza se l'affinità mostrata dalle biomolecole sia per diametri inferiori o SWNT semiconduttori.

Campione	P1		P2		P3		P4		P5	
	dev.std	IntP1 dev.std	dev.std	IntP2 dev.std	dev.std	IntP3 dev.std	dev.std	IntP4 dev.std	dev.std	IntP5 dev.std
HiPco as	196.1	0.067	220.9	0.073	258.3	0.143	284.0	0.080	295.9	0.039
	1.3	0.011	0.5	0.012	0.4	0.019	0.6	0.015	1.3	0.002
HiPco piranha	200.5	0.058	221.6	0.092	257.7	0.137	284.8	0.058	300.1	0.028
	2.4	0.026	0.5	0.475	0.6	0.040	0.4	0.021	1.4	0.011
CytC/HiPco	201.5	0.058	223.4	0.085	259.9	0.113	287.0	0.062	299.9	0.039
	0.7	0.021	0.7	0.027	0.0	0.001	0.7	0.000	0.1	0.008
Try/HiPco	201.9	0.068	223.2	0.093	257.1	0.155	285.6	0.094	302.0	0.055
	0.9	0.006	0.5	0.024	1.6	0.029	0.0	0.009	3.1	0.008
BSA/HiPco	201.4	0.077	223.1	0.119	259.8	0.186	286.9	0.076	301.4	0.071
	0.6	0.018	0.7	0.038	0.4	0.053	1.0	0.018	0.6	0.035
ssDNA/HiPco	202.0	0.046	223.9	0.101	259.9	0.126	286.8	0.037	300.8	0.021
	2.1	0.010	0.0	0.026	0.0	0.025	0.5	0.008	2.6	0.005
dsDNA/HiPco	201.1	0.039	222.4	0.049	259.9	0.080	286.5	0.032	298.4	0.028
	1.3	0.010	0.5	0.013	0.0	0.020	0.8	0.007	2.8	0.021

Tabella IV - 2 La tabella riassume i picchi e relative intensità dei principali segnali RBM dei complessi. Tutti gli spettri sono stati filtrati con *Adjacent Averaging Smoothing* a 5 punti, quindi normalizzati a 1 sul picco del G^+ . Sono stati riportati solamente i segnali RBM presenti in tutti i complessi. Alcuni ibridi biomolecola/HiPco manifestavano picchi presenti nel materiale HiPco come ricevuto (HiPco as) ma non in HiPco trattati piranha.

La riduzione dell'intensità del segnale Raman, che può essere paragonato esclusivamente per RBM sia per effetto della normalizzazione a 1 sul *G-Mode* sia per il metodo di misura (su solido) è indice di un fenomeno di localizzazione della carica sul nanotubo. L'adsorbimento di biomolecole può dare origine ad un'interazione con i gruppi carichi e quindi a fenomeni di trasferimento di carica e localizzazione. Questo è in linea

con ciò che si è osservato nel RBM, con scostamenti dal materiale di partenza molto più accentuati per dsDNA/HiPco.

Parte Sperimentale

Analisi AFM

Immagini ad alta risoluzione, 1024x1024 *pixels*, sono acquisite per finestre di scansione tipiche da 1-3 μ m di lato. Le immagini sono livellate con correzione '*fit-line 1D*' tramite software (Image Analysis 2.1.2, NT-MDT), eventualmente ritagliate per risaltare i coniugati.

Il microscopio a forza atomica (Smena, NT-MDT) lavora in condizione ambiente in modalità semi-contatto. Si utilizzano *cantilever* da non-contatto in Si ricoperti di oro (NSG-11, NT-MDT) con frequenza tipica da 250kHz. Sono acquisiti contemporaneamente sia il segnale topografico sia di fase.^[33]

Preparazione complessi biomolecola/CNT per AFM

I complessi si ottengono per interazione spontanea tra i due sistemi per mescolamento da soluzioni acquose. La sintesi dei sistemi ibridi per l'analisi al microscopio a forza atomica è ottenuta come segue.

IV.4.1-3 Proteine

Ad una soluzione di biomolecola 1-6 μ l (2-5 μ g/ml) in tampone tri(idrossimetil)amminometano cloridrato (TRIS) 10mM sono aggiunti 9-1 μ l di sospensione instabile di nanotubi in acqua a 100 μ g/ml. Nel volume finale di 10 μ l il rapporto in peso tra nanotubi e biomolecola è 10-20w/w. Quindi depositati su mica per 10 minuti, lavato con acqua pulita ed asciugata sotto flusso di azoto.

La procedura con sonicazione utilizza quantità maggiori di soluzioni fino al volume complessivo di 1ml. La sonicazione è condotta in bagno ad ultrasuoni ad una temperatura di 0°C. La parte non sospesa precipita spontaneamente e 10 μ l di surnatante sono depositati su mica per 10', quindi lavata la superficie con acqua ed asciugata con azoto.

IV.4.4 GroEl

La formazione del complessi multiproteico costituito dalle 14 subunità richiede condizioni 'ambientali' particolari ed è quindi evitata la sonicazione che ne comprometterebbe la costituzione. A 5 μ l di soluzione 10 μ g/ml di GroEl in tampone TRIS 10mM sono aggiunti 1 μ l di KCl 25mM, 1 μ l di MgCl₂ 50mM e 3 μ l di sospensione instabile di nanotubi in acqua a 100 μ g/ml. Quindi depositati su mica per 10 minuti, lavato con acqua pulita ed asciugata sotto flusso di azoto.

IV.5.1-2 Acidi nucleici

Il metodo senza sonicazione è identico a quello impiegato per le proteine ed illustrato sopra

Per l'ottenimento di complessi DNA/CNT è stata seguita una metodica leggermente modificata di quella proposta da Zheng e collaboratori.^[17] 100µl di una sospensione instabile in acqua di SWNTs HiPco trattati piranha (vedi capitolo III.2.3) sono uniti a 100µl di DNA (1mg/ml). Quindi posti in bagno ad ultrasuoni a 0°C per 90 minuti, centrifugati a 12000rpm per 90 minuti. Si ottiene una sospensione d'intenso colore nero che è diluita 100 volte prima di essere depositata. A 9µl di sospensione è aggiunto 1µl di MgCl₂ 100mM, quindi depositato su mica per 10', lavato con acqua ed asciugato sotto flusso di azoto.

IV.4.2 Tripsina

Saggio dell'acido binchionico: quantificazione proteina adsorbita

La stima della quantità di proteina adsorbita sul nanotubo è fatta per differenza tra l'ammontare di proteina in soluzione prima e dopo l'interazione con i nanotubi. Ad 1ml di soluzioni a concentrazioni note di tripsina in tampone fosfato 0.067M, pH7.6, sono aggiunti 100µl di una sospensione instabile di CNT in acqua a 100µg/ml. La soluzione è quindi mescolata agitando o sonicando per 5 minuti. In seguito sono poste in centrifuga per 1 ora a 8000rpm, per favorire la precipitazione dei complessi tripsina/CNT. Sul surnatante è determinata la quantità di tripsina libera rimasta in soluzione.

Il saggio dell'acido binchionico (BCA) è un metodo generale per la quantificazione delle proteine. Il principio si basa sulla complessazione del Cu²⁺ da parte delle biomolecole in condizioni alcaline, seguita dalla riduzione da Cu²⁺ a Cu⁺. L'ammontare della riduzione è proporzionale alla proteina presente in soluzione. E' stato mostrato che cisteina, cistina, triptofano, tirosina ed i legami peptidici sono i grado di ridurre il rame. BCA forma un complesso blu-porpora con il Cu⁺ in ambienti alcalini, creando una principio semplice per monitorare la quantità di rame ridotto dalla proteina seguendo il massimo d'assorbimento a 562nm. Il complesso BCA-Cu⁺ ha un colore stabile, la sua formazione risente poco di eventuali interferenti ed è applicabile su un ampio spettro di concentrazioni di proteina.

Sulle soluzioni prelevate dopo la centrifugazione è condotto il saggio tramite 'QuantiPro BCA Assay Kit' (Sigma_Aldrich) seguendo il metodo d'incubazione di 1ora a 60°C. Contestualmente è eseguita la stessa procedura sulle soluzioni di partenza, ed a concentrazione nota, di tripsina: usate per tracciare la retta di calibrazione e come quantità iniziale di enzima.

Saggio attività tripsina

La tripsina possiede una specifica attività catalitica nell'idrolisi dei peptidi al carbonio terminale dei residui lisinici ed argininici. La velocità di catalisi è bassa se alle estremità vi sono residui amminoacidici acidi ed è inibita se c'è l'amminoacido prolina.

Il test di attività della tripsina coinvolge la reazione su un substrato modello. Essendo la tripsina in grado d'idrolizzare anche legami estereici ed ammidici su derivati sintetici di amminoacidi si usa come substrato il benzoil-L-arginina etil estere (BAEE). La reazione



condotta a 25°C, pH 7.6 è seguita monitorando l'assorbimento a 253nm. La cinetica è espressa BAEE/mg di enzima, ovvero una unità BAEE produce una variazione di assorbimento a 253nm di 0.001 al minuto per un volume di 3.2ml a 25°C, pH 7.6. La reazione è seguita sui sistemi normali (enzima libero per prove d'inibizione) in tempo reale direttamente nella cuvetta da 1cm. La presenza dei nanotubi poteva dare interferenza e si è quindi sviluppato un metodo alternativo.

La cinetica è seguita parallelamente su un campione contenente una quantità nota di tripsina libera ed un secondo con la stessa quantità nota di enzima su CNT. Il complesso ibrido tripsina/CNT è ottenuto con metodo per mescolamento onde evitare potenziali danni strutturali indotti dalla sonicazione. Il rapporto tra proteina e CNT è scelto mantenendosi nelle condizioni di totale adsorbimento come rinvenuto dalla quantificazione sopra esposta.

Ad un volume iniziale di 9ml di BAEE 0.5mM in tampone fosfato 67mM a pH 7.5, è aggiunto l'enzima ad una concentrazione tale da avere una cinetica tra 300-700 BAEE/ml. La soluzione è mantenuta sotto agitazione magnetica. Si preleva un volume noto (1ml) della soluzione a tempi prestabiliti: al tempo 0, appena aggiunto l'enzima e dopo 1; 3; 5; 8; 12 minuti. Nel campione prelevato la reazione è arrestata per aggiunta di 100µl di acido acetico assoluto che riduce il pH ed inibisce completamente l'attività enzimatica. Si elimina la componente di nanotubo sospesa per centrifugazione, si misura quindi l'assorbimento a 253nm della soluzione surnatante limpida.

Riferimenti Capitolo IV

- ¹ Y. Lu, X. Yang, Y. Ma, F. Du, Z. Liu, Y. Chen, *Chem. Phys. Lett.* 2006, **419**, 390-393
- ² K. Keren, R. Berman, E. Buchstab, U. Sivan, E. Braun; *Science* 2003, **302**, 1380-1382
- ³ M. Hazani, F. Hennrich, M. Kappes, R. Naaman, D. Peled, V. Sidorov, D. Shvarts; *Chem. Phys. Lett.* 2004, **391**, 389-392
- ⁴ E. Katz, I. Willner; *Chem. Phys. Chem.* 2004, **5**, 1084-1104
- ⁵ Y.W. C. Cao, R. Jin, C.A. Mirkin; *Science*, 2002, **297**, 1536-1540
- ⁶ W.C.W. Chan, S. Nie; *Science* 1998, **281**, 2016-2018
- ⁷ N.W. Shi Kam, H. Dai; *J. Am. Chem. Soc.* 2005, **127**, 6021-6026
- ⁸ E. Bekyarova, Y. Ni, E.B. Malarkey, V. Montana, J.L. McWilliams, R.C. Haddon, V. Parpura, *J. Biomed. Nanotech.* 2005, **1**, 3-17
- ⁹ A. Star, J.-C. P. Gabriel, K. Bradley, G. Grüner; *Nano Lett.* 2003, **3**, 459-463
- ¹⁰ K. Besteman, J.-O Lee, F.G.M. Wiertz, H. A. Heering, C. Dekker; *Nano Lett.* 2003, **3**, 728-730
- ¹¹ D. Pantarotto, J.-P. Briand, M. Prato, A. Bianco; *Chem. Commun.* 2003, **10**, 16-17
- ¹² N.W. Shi Kam, M. O'Connell, J.A. Wisdom, H. Dai; *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2005, **103**, 11600-11605
- ¹³ S.S. Karajanagi, A.A. Vertegel, R.S. Kane, J.S. Dordick; *Langmuir* 2004, **20**, 11594-11599
- ¹⁴ Scheda informativa di prodotto, Sigma-Aldrich
- ¹⁵ Vedi sezione sperimentale IV.4.2
- ¹⁶ D. Voet, J.G. Voet; *Biochimica*, Zanichelli, Bologna 1993
- ¹⁷ M. Zheng, A. Jagota, E.D. Semke, B.A. Diner, R.S. McLean, S.R. Lustig, R.E. Raymond, N.G. Tassi; *Nature Mater.* 2003, **2**, 338-342
- ¹⁸ M. Zheng, A. Jagota, M.S. Strano, A.P. Santos, P. Barone, S.G. Chou, B.A. Diner, M.S. Dresselhaus, R.S. Mclean, G.B. Onoa, G.G. Samsonidze, E.D. Semke, M. Usrey, D.J. Walls; *Science* 2003, **302**, 1545-1548
- ¹⁹ M.S. Strano, M. Zheng A. Jagota, G.B. Onoa, D.A. Heller, P.W. Barne, M.L. Usrey; *Nano Lett.* 2003, **3**, 543-550
- ²⁰ D.A. Heller, E.S. Jeng, T.-K. Yeung, B.M. Martinez, A.E. Moll, J.B. Gastala, M.S. Strano; *Science* 2006, **311**, 508-511
- ²¹ E.S. Jeng, A.E. Moll, A.C. Roy, J.B. Gastala, M.S. Strano; *Nano Lett.* 2006, **6**, 371-375
- ²² M.S. Strano, V.C. Moore, M.K. Miller, M.J. Allen, E.H. Haroz, C. Kittrell, R.H. Hauge, R.E. Smalley; *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2003, **3**, 81-86
- ²³ <http://en.wikipedia.org/wiki/DNA>
- ²⁴ X. Li, Y. Peng, X. Qu; *Nucl. Acids Research.* 2006, **34**, 3670-3676
- ²⁵ I diametri e gli indici sono stati trovati con un programmino sviluppato in collaborazione con il dott. M.C. Iacobini. Inserendo il diametro centrale, l'errore sulla misura del diametro e la lunghezza C-C, genera la popolazione di nanotubi nell'intervallo specificato: raggruppando in statistiche sul numero di metalli, semiconduttori, chirali, armchair, zig-zag; e dando la coppia di indici ed il valore esatto del diametro. Per i parametri $d(\text{Å})=11$; Err% su $d=2$, $C-C(\text{Å})=1.42$ si ottengono i dati riportati sotto in tabella.

n	m	d (Å)		
8	8	10.848	Armchair	M
9	7	10.8762	Chirale	S
10	6	10.9604	Chirale	S
11	5	11.0993	Chirale	M
13	2	11.044	Chirale	S
14	0	10.9604	Zig Zag	S

²⁶ Vedi appendice 2

²⁷ Vedi capitolo II.2.3 ed appendice 1

²⁸ Per i SWNTs metallici la componente circonferenziale si accoppia con il continuo degli elettroni al livello di Fermi creando una banda allargata (BWF). I segnali G^+ e G^- per SWNT metallici cadono a 1587 e 1550 cm^{-1} ; (picchi con stessa intensità, G^- molto largo FWHM $\sim 70 \text{ cm}^{-1}$) mentre per SWNT semiconduttori a 1592 e 1570 cm^{-1} (G^+ intenso, FWHM 5-15 cm^{-1} , mentre G^- poco intenso e stretto)

²⁹ C. Fantini, A. Jorio, M. Souza, M.S. Strano, M.S. Dresselhaus, M.A. Pimenta; *Phys. Rev. Lett.* 2004, **93**, 147406 1-4

³⁰ M.S. Strano, M. Zheng, A. Jagota, G.B. Onoa, D.A. Heller, P.W. Barone, M.L. Usrey; *Nano Lett.* 2004, **4**, 543-550

³¹ M.S. Strano; *J. Am. Chem. Soc.* 2003, **125**, 16148-16153

³² J.L. Sauvajol, E. Anglaret, S. Rols, L. Alvarez; *Carbon* 2002, **40**, 1697-1714

³³ Le basi della Microscopia a Forza Atomica sono illustrate in appendice 3

CAPITOLO V

Conclusioni e Prospettive

In questa tesi di dottorato sono stati affrontati vari aspetti coinvolti nello sviluppo delle nanotecnologie. In particolare la nostra attenzione è stata rivolta ai nanotubi di carbonio (CNTs), che rappresentano una tangibile soluzione ai problemi di miniaturizzazione dei dispositivi, ed alle possibili applicazioni nel campo della biosensoristica.

Nello sviluppare una nuova tecnologia fondata sui CNTs ed improntata su applicazioni come la biosensoristica ci si scontra con vincoli intrinseci del materiale. In particolare uno degli aspetti più delicati dei CNTs riguarda la qualità e la purezza del materiale proveniente dalle sintesi. Pur non essendo il problema principale di questo lavoro, nella tesi sono stati studiati tre materiali con caratteristiche diverse (contenuto di CNTs, quantità di sottoprodotti e di catalizzatore) provenienti da altrettanti metodi di sintesi.

L'impossibilità di avere materiali grezzi ad elevata purezza obbliga l'introduzione di processi di purificazione per ottenere un materiale con caratteristiche uniformi. L'approccio sviluppato ha richiesto la creazione di procedure mediante decomposizione e solubilizzazione delle impurezze anziché le tradizionali tecniche estrattive del componente desiderato. Soprattutto per i grezzi a minore purezza sono indispensabili vari trattamenti: ossidazione, lavaggio in acido, sospensione/centrifugazione. In alternativa sono state proposte ed usate procedure che univano ossidazione e trattamento acido in un unico passaggio, presentando una maggiore difficoltà nel controllo delle reazioni. Essendo il materiale di partenza diverso a seconda del metodo di sintesi, non è possibile applicare un unico protocollo di purificazione universale ed abbiamo dimostrato la necessità di svilupparli a *ad hoc* per ogni tipo.

L'insolubilità dei CNTs è un limite tangibile che è parzialmente aggirato con l'ausilio delle funzionalizzazioni. In particolare nel periodo di dottorato questo aspetto è stato affrontato adottando la funzionalizzazione non covalente, ovvero sfruttando l'interazione di molecole anfifiliche sulla parete del nanotubo, che consente la dispersione dei CNTs in solvente senza comprometterne la struttura elettronica e le proprietà di trasporto.

Nella seconda parte si propone e dimostra la validità di tecniche di litografia non convenzionale applicate a sospensioni acquose di CNTs, funzionalizzati non covalentemente con tensioattivo. L'impiego della microfluidica ha portato alla fabbricazione di *pattern* sulla superfici d'interesse tecnologico costituiti di strisce di *bundles* di CNTs. Queste sono state interfacciate con microelettrodi dimostrando di essere elettricamente connesse; ciò prelude alla realizzazione dei dispositivi a base di strutture attive di CNT propedeutici alle applicazioni in biosensori con trasduzione elettrica. Utilizzando la tecnica del *Lithographically Controlled Wetting* si è riusciti a spingere la risoluzione del *pattern* a livello di singolo nanotubo. Le tecniche applicate, sviluppate ed adattate alla deposizione dei nanotubi, costituiscono la base per una nuova piattaforma tecnologica per la realizzazione di circuiti.

L'impiego di nanotubi in dispositivi per il *biosensing* richiede oltre allo sviluppo della componente tecnologica di nanofabbricazione la comprensione dei fenomeni di interazione CNT-biomolecola. Sono stati studiati i complessi ibridi biomolecola/CNT, che si formano per interazione aspecifica dei due componenti, sia da un punto di vista morfologico –tramite microscopia a forza atomica-, sia biologico –saggiando l'attività residua- che elettronico –tramite spettroscopia Raman-. L'unione delle informazioni apportate dai tre approcci complementari ha permesso di dimostrare l'aspecificità del legame biomolecola-nanotubo che viene guidata termodinamicamente dall'interazione tra la componente idrofobica della biomolecola e la parete esterna del nanotubo. Il legame non covalente che si crea comporta da un lato la sospensione dei nanotubi in mezzi acquosi –quindi la possibilità di essere manipolati da soluzione-, dall'altra la totale soppressione dell'attività biologica. Si verificano inoltre processi di trasferimenti di carica tra la componente biologica, dopo l'adsorbimento, ed il nanotubo. Questo perturba la struttura elettronica che viene rilevata al Raman, risultando più intensa nei complessi con molecole a carica maggiore. La 'comunicazione' tra i due componenti motiva l'applicazione in sensori di eventi di legame della singola molecola.

Gli aspetti d'innovazione e gli studi condotti in questa tesi aiutano alla comprensione dei fenomeni alla nanoscala, utilizzando un approccio multidisciplinare al problema che coinvolge la chimica ma che necessita della compartecipazione sinergica di discipline come la fisica e la biologia.

Appendice 1

Metodi di sintesi di SWNTs

La sintesi dei nanotubi è uno dei settori di ricerca più studiati per sviluppare metodi a bassa energia in grado di generare quantità rilevanti di SWNTs ad elevata purezza e perfezione strutturale. I tradizionali metodi di sintesi portano all'ottenimento di un materiale che è una miscela di nanotubi metallici e semiconduttori con un rapporto di 1 a 2. Per un utilizzo pratico dei nanotubi nel campo dell'elettronica è indispensabile l'ottenimento di CNTs con un'elevatissima selettività in diametro ed elicità in modo da avere esclusivamente metallici o semiconduttori. Questo obiettivo ha portato allo sviluppo di nuovi metodi di sintesi ed un sistematico studio delle condizioni di crescita che potessero controllare la struttura dei nanotubi ottenuti. Ad oggi non sono ancora state trovate le condizioni per ottenere esclusivamente SWNTs metallici o semiconduttori. Un altro importante *target* è quello di ottenere materiali con purezze molto elevate, in quanto i processi di purificazione dei nanotubi sono lunghi e dispendiosi, accrescendone quindi il costo finale. Inoltre possono alterare le proprietà del nanotubo.

Tutti i metodi sviluppati finora presentano alcune parti in comune. Vi è ovviamente la necessità di una materia prima che sia la fonte del carbonio ed i metodi si differenziano nell'ottenimento del carbonio atomico. Il processo avviene per evaporazione dal materiale solido, causato da una scarica ad arco o da un'ablazione *laser*, oppure per decomposizione catalitica (pirolisi) di molecole organiche volatili (*Chemical Vapour Deposition* e *High Pressure CO Decomposition*). Fondamentale è inoltre il controllo dell'atmosfera di reazione che viene ottenuto tramite l'utilizzo di gas inerti o riducenti per ottenere le migliori rese e selettività. La presenza di un catalizzatore è necessaria per la crescita dei SWNTs, di solito un metallo di transizione come Fe, Ni, Co, Pd, Pt, con l'aggiunta di piccole percentuali di Y, La, Ce per i processi ad alta temperatura (scarica ad arco e ablazione *laser*)

Scarica ad Arco (AD)

Nella scarica ad arco, gli atomi di carbonio sono evaporati da un plasma di elio acceso da un'elevata corrente che viene fatta passare tra due elettrodi di grafite. Questo metodo è stato il primo sviluppato per la crescita dei nanotubi di carbonio e si possono ottenere sia MWNTs^[1] che SWNTs^[2].

L'ottimizzazione del processo si ottiene tramite la variazione del tipo e della pressione del gas inerte, della corrente applicata agli elettrodi e del catalizzatore per i SWNTs.

Durante la sintesi si ha la formazione di co-prodotti come fullereni, poliedri grafiteici con incluse particelle metalliche, carbonio amorfo sia come particelle sia a ricoprire il nanotubo. Il prodotto finale che si estrae dalla camera ha solitamente una resa in nanotubi, presenti come *bundles*, attorno al 40-50% nei casi migliori, con diametro dei SWNTs nell'intervallo tra 1.2-1.4nm. Spesso è presente anche grafite "non reagita".

Ablazione Laser (LA)

La sintesi tramite ablazione *laser* porta all'ottenimento di nanotubi di carbonio di elevata qualità.^[3] Il metodo sfrutta un intenso raggio *laser* pulsato focalizzato su di un bersaglio di grafite contenente piccole percentuali di catalizzatore (Ni e Co). Il bersaglio è posto in un forno a 1200°C; un flusso di gas inerte viene fatto passare attraverso la camera di crescita per portare via i SWNTs prodotti che vengono raccolti in fondo su di un dito freddo.

Si ottengono anche in questo caso co-prodotti come per la scarica ad arco. Il grande vantaggio della ablazione *laser* è l'ottenimento di un ristretto numero di tipi di SWNT (distribuzione dei diametri molto netta) ma la scarsa produttività (pochi mg) ne limita l'impiego alle sole scale di laboratorio.

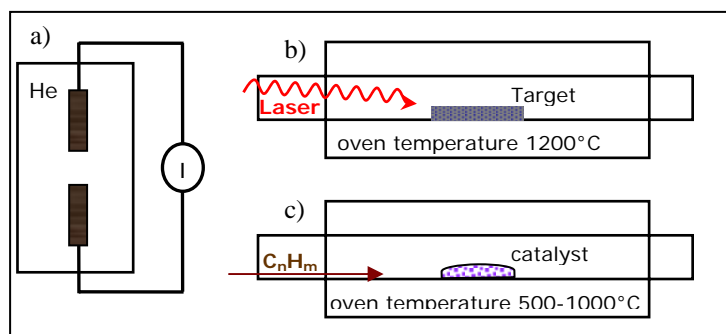


Figura A1 - 1 Rappresentazione schematica dei processi di sintesi di nanotubi descritti nel testo,

- a)** scarica ad arco (AD)
- b)** ablazione laser (LA)
- c)** Chemical Vapour Deposition (CVD)

Chemical Vapour Deposition (CVD)

La CVD è sicuramente il metodo di crescita che sta riscuotendo le maggiori attenzioni per la sua grande versatilità e, in un'ottica di produzione di massa di CNTs, per la facile scalabilità del processo.

La CVD sfrutta la decomposizione di una materia prima carboniosa ad opera di un catalizzatore (di solito un metallo di transizione come Fe, Ni, Co) a temperature medio-alte (tra i 600 ed i 1000°C). Tra le sorgenti di carbonio, quelle maggiormente impiegate sono monossido di carbonio, etanolo, acetilene, esano. Il precursore viene "rotto" nelle componenti atomiche ed il C è reso così disponibile per la crescita dei nanotubi. Il meccanismo non è ancora completamente chiarito, ma prevede una prima fase di dissoluzione del carbonio atomico all'interno dei *cluster* o nanoparticelle di catalizzatore, quindi la sua fuoriuscita a creare un primo foglio di grafene che ricopre la particella e da questo la crescita del

nanotubo.^[4] Diventa quindi di fondamentale importanza il controllo delle dimensioni delle particelle di catalizzatore,^[5] le proprietà ossido-riduttive dell'atmosfera di reazione e la temperatura.^[6]

Ad oggi grazie a questa tecnica sono quotidianamente ottenuti CNT di purezza apprezzabile intorno al 80% w/w e con una quantità di difetti strutturali molto bassa.

High Pressure CO decomposition (HiPco)

Una particolare variante del processo di sintesi tramite CVD è stata sviluppata nei laboratori della Rice University dal gruppo del Premio Nobel Richard Smalley.^[7] SWNTs vengono prodotti in un processo catalitico in fase gassosa. Il catalizzatore è formato in-situ per decomposizione del complesso ferro pentacarbonile, che 'condensa' in *clusters*, in un flusso riscaldato di monossido di carbonio ad una pressione di 1-10atm e temperatura di 800-1200°C. La resa ed il diametro dei nanotubi varia controllando le condizioni sperimentali (temperatura, pressione di CO, quantità catalizzatore) e si possono ottenere SWNT fino a 0.7nm in diametro. Il sistema è inoltre molto adatto ad essere scalato verso la produzione industriale.^[8]

Riferimenti Appendice 1

¹ T.W. Ebbesen, P.M. Ajayan; *Nature* 1992, **358**, 220-222

² D.S. Bethune, C.H. Kiang, M. DeVries, G. Gorman, R. Savoy, J. Vazquez, R. Beyers; *Nature* 1993, **363**, 605-607

³ A. Thess, R. Lee, P. Nikolaev, H.J. Dai, P. Petit, J. Robert, C.H. Xu, Y.H. Lee, S.G. Kim, A.G. Rinzler, D.T. Colbert, G.E. Scuseria, D. Tomanek, J.E. Fischer, R.E. Smalley; *Science* 1996, **273**, 483-487

⁴ M. Cau, N. Dorval, B. Cao, B. Attal-Tretout, J.L. Cochon, A. Loiseau, S. Farhat, C.D. Scott; *J. Nanosci. Nanotech.* 2006, **6**, 1298-1308

⁵ A.G. Nasibulin, D.P. Brown, P. Queipo, D. Gonzalez, H. Jiang, E.I. Kauppinen; *Chem. Phys. Lett.* 2006, **417**, 179-184

⁶ A.M. Cassell, J.A. Raymakers, J. Kong, H. Dai; *J. Phys. Chem. B* 1999, **103**, 6484 - 6492

⁷ P.Nikolaev, M.J. Bronikowski, R.K. Bradley, F. Rohmund, D.T. Colbert, K.A. Smith, R.E. Smalley; *Chem. Phys. Lett.* 1999, **313**, 91-97

⁸ M. J. Bronikowski, P.A. Willis, D.T. Colbert, K. A. Smith, R.E. Smalley; *J. Vac. Sci. Technol. A* 2001, **19**, 1801-1805

Appendice 2

Caratterizzazione dei SWNTs

Le tecniche di sintesi viste in precedenza producono dei materiali contenenti oltre ai nanotubi anche co-prodotti ed impurezze. E' necessario quindi possedere un sistema di caratterizzazione del materiale in grado di stimare la quantità/qualità dei nanotubi e l'effetto della procedura di purificazione. Questi due aspetti sono in fortissima correlazione nella ricerca sui CNTs e solitamente vengono trattati assieme.

Finora non è stata però individuata un'unica tecnica esaustiva che definisca tutte le caratteristiche di un campione. Si rende necessaria la compartecipazione dei risultati e delle informazioni acquisite da tecniche diverse. Possono essere tratte informazioni su singolo nanotubo o su *bulk* oppure a determinare le impurezze presenti.

Tra le tecniche usate vi sono le microscopie che indagano le proprietà strutturali e dimensionali dei SWNTs, come la microscopia elettronica a trasmissione (TEM) ed a scansione (SEM), le microscopie a scansione di sonda, per esempio a forza atomica (AFM) e a scansione tunnel (STM). Queste tecniche permettono di visualizzare nanotubi anche singoli con elevata risoluzione, a dare un'informazione diretta delle caratteristiche strutturali. Dall'altro canto tutte le microscopie hanno problematiche intrinseche legate alla loro natura locale e quindi sono poco adatte ad una caratterizzazione "statistica" o di *bulk* del materiale.

Il secondo gruppo di tecniche è costituito dalle spettroscopie elettroniche e vibrazionali. Il Raman è la tecnica più usata seguita dal Vis-NIR. Recentemente è comparsa la fotoluminescenza e poco usato è l'infrarosso. Sono uno strumento molto potente per studiare le proprietà elettroniche dei SWNTs. Con queste tecniche è possibile ottenere sia informazioni di *bulk* sia sul singolo nanotubo.^[1,2]

Nel terzo gruppo vi sono una serie di tecniche tradizionalmente più di nicchia come le analisi termiche che si basano sulle proprietà di stabilità dei nanotubi, diffrazione di raggi X (RD) ed altre di minor interesse (*Energy Dispersive X-Ray analysis* (EDX) *spectroscopy* (EDS)). Una famiglia a parte che è stata per anni non la tecnica ma lo scopo della ricerca sui SWNT è data dalle misure elettriche sui nanotubi al fine di caratterizzarne la conducibilità. E' stata usata sul singolo nanotubo come visto in precedenza ma è meno diffusa come caratterizzazione di *bulk*.

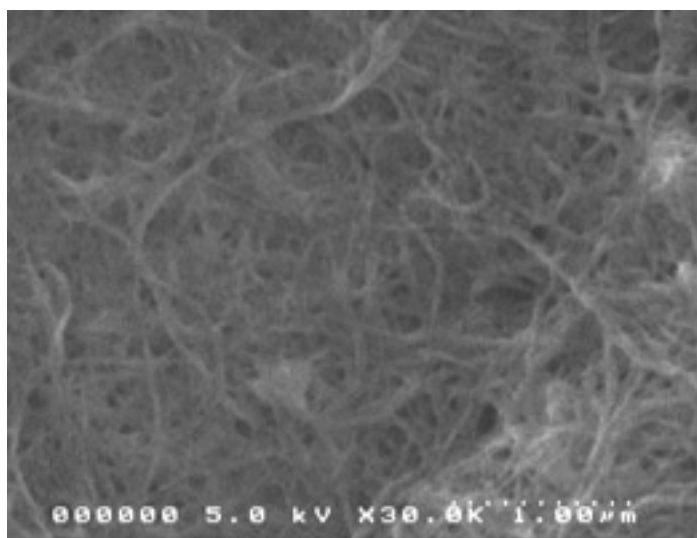
Illustreremo ora le tecniche selezionate nel lavoro di tesi e le condizioni sperimentali usate per seguire i processi di purificazione

Microscopia a Scansione Elettronica (SEM)

La microscopia a scansione elettronica impiega fasci di elettroni ad energie dai 5 ai 20KV per visualizzare la superficie. Il campione deve essere abbastanza conduttivo e stabile in condizioni di alto vuoto.

Il fascio elettronico è fatto scansionare sulla superficie, gli elettroni primari incidenti provocano la generazione di elettroni secondari (SE), elettroni riflessi (*backscattered electron* BSE) ed elettroni Auger assieme a raggi X. SE sono i più utilizzati per generare immagini di topografia superficiale, mentre i BSE sono utilizzati per dare mappe in base a numero atomico. Gli elettroni Auger ed i raggi X sono essere raccolti ed analizzati per avere informazioni sulla chimica della superficie.

Tra le tecniche microscopiche è quella più utilizzata. Si possono ottenere utili informazioni sulla natura tubolare dei SWNT, che nelle condizioni sperimentali di analisi del SEM si presentano solitamente come *bundles* di vario diametro. E' inoltre possibile stimare qualitativamente l'ammontare d'impurezze, sia di natura carboniosa diversa dai CNT che di catalizzatore che si presentano sotto forma particellare. Diventa anche qui fondamentale la preparazione del campione; informazioni di *bulk* possono essere ottenute quando si analizza il materiale sotto forma di *Bucky Paper* piuttosto che sospeso e depositato su di un substrato.



Non bisogna però scordare che la microscopia a scansione elettronica è una tecnica a sonda e si stima che la quantità di materiale analizzata per singola immagine sia dell'ordine dei 10^{-12} g, quindi molto poco rappresentativo del *bulk*.

Figura A2 - 1 Micrografia SEM su 'Purified HiPco® (Carbon Nanotechnologies Inc.), Hitachi S-4000 accelerazione 5.0KV.

Condizioni sperimentali

Le immagini SEM sono ottenute con un microscopio (Hitachi S-4000) raccogliendo gli elettroni secondari emessi dal campione utilizzando un'accelerazione del fascio elettronico incidente tipicamente di 5 KeV onde evitare il danneggiamento del campione. Quando il contrasto non è sufficiente viene incrementata l'energia del fascio a 10KeV. Il campione sotto forma di polvere o *bucky paper* è fissato al supporto tramite nastro conduttivo senza ulteriori

trattamenti. La qualità dell'immagine SEM e del materiale è fortemente influenzata dalla preparazione del campione, l'utilizzo diretto del *bucky paper* o della polvere permette di normalizzare le condizioni e poter confrontare i campioni anche trasversalmente

Spettroscopia Raman

La spettroscopia Raman dopo il TEM è stata la tecnica più utilizzata per caratterizzare i SWNTs; prima ancora del STM e delle misure di trasporto ha potuto definire la struttura e le proprietà elettroniche dei SWNTs.

Per capire come la radiazione interagisca con i nanotubi bisogna concentrarsi sulla loro struttura elettronica. Come si è visto nel capitolo I questa deriva dalla struttura 2D di un foglio di grafene che a causa del confinamento radiale della funzione d'onda lo porta ad un sistema 1D. Il continuo della densità degli stati (DOS) di un grafene si divide in una serie di livelli localizzati nei SWNT (singolarità di van Hove (vHS)).

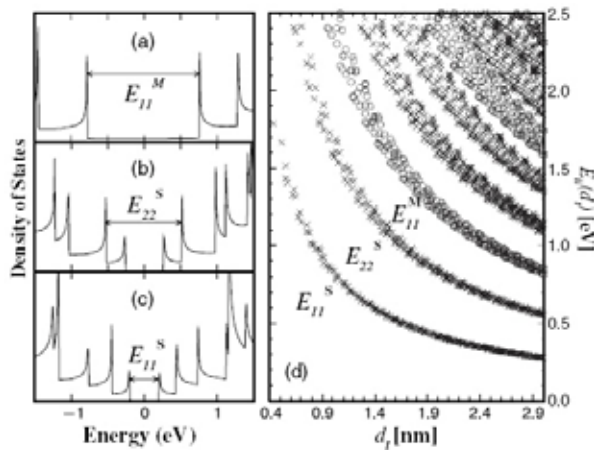


Figura A2 - 2 Grafico DOS per (a) Armchair (10,10) SWNT, (b) Chirale (11,9) SWNT, (c) Zig-Zag (22,0) SWNT ottenuto per modellazione. (d) Grafico delle energie delle transizioni elettroniche E_{ii} (descrizione semplificata) per tutti gli (n,m) nanotubi con diametro compreso tra 0.4 e 2.9nm ottenuto per modellazione. Deviazioni dalla teoria sono attese per basse energie di transizione E_{ii}^S e per nanotubi con diametro < 1nm. Riprodotto da [5].

Le transizioni nei nanotubi sono descritte in maniera semplificata assumendo che avvengano tra le vHS negli stati di valenza e di conduzione fermo restando le regole di selezione per le transizioni permesse. Sono indicate solitamente con E mettendo a pedice i due stati ed ad apice s o M se avviene in un SWNT semiconduttore o metallico. Il *gap* di energia varia a seconda del nanotubo, un utile strumento per l'identificazione delle transizioni è rappresentato dal diagramma di Kataura dove si riportano le energie di transizione in funzione del diametro. In questo modo è possibile individuare in modo molto semplice quali saranno i nanotubi interagenti con la radiazione incidente conoscendo l'energia di questa ultima.

L'interpretazione del fenomeno Raman nei SWNTs è una tematica ancora aperta, complessa e controversa.^[4] Il fenomeno (figura A2-3a,b,c) è interpretato ammettendo che il sistema, sottoposto a radiazione monocromatica (*laser*) ad energia E_{laser} , sia eccitato ad un livello molto instabile (livello virtuale, che non corrisponde a nessun livello stazionario della molecola, indicato con le linee grigie tratteggiate in figura A2-3a). La radiazione crea una coppia buca-elettrone, l'elettrone nello stato eccitato scattera con emissione di un fonone di energia $\hbar\omega_{ph}$, quindi la coppia si ricombina con emissione di un fotone ad energia E_2 .^[5] Quando entrambi gli stati elettronici intermedi sono virtuali il processo è detto non risonante

(figura A2-3a). Se E_1 è in grado di eccitare un elettrone ad uno stato elettronico reale ovvero la sua energia combacia con quella di due stati reali del nanotubo (*step 1* in figura A2-3b), il processo viene detto risonante. Se anche il secondo stato in cui ricade l'elettrone è uno stato reale allora siamo in condizioni di Raman doppiamente risonante (figura A2-3c).

Di solito la spettroscopia Raman implica solo i fononi, essendo indipendente dalla struttura elettronica del materiale e dall'energia del *laser* usata per l'eccitazione. Il segnale Raman *scattering* proveniente dai nanotubi è piuttosto basso. La condizione di Raman risonante dipende fortemente dalla densità stati elettronici del SWNT disponibili per la transizione ottica. Comunque l'efficienza di *scattering* diventa molto alta in condizioni di Raman risonante, questo si verifica quando E_{laser} corrisponde alla differenza di energia tra il livello fondamentale ed uno permesso del nanotubo (per esempio $E_{11}^S, E_{22}^S, E_{11}^M$, come illustrato in figura A2-2).

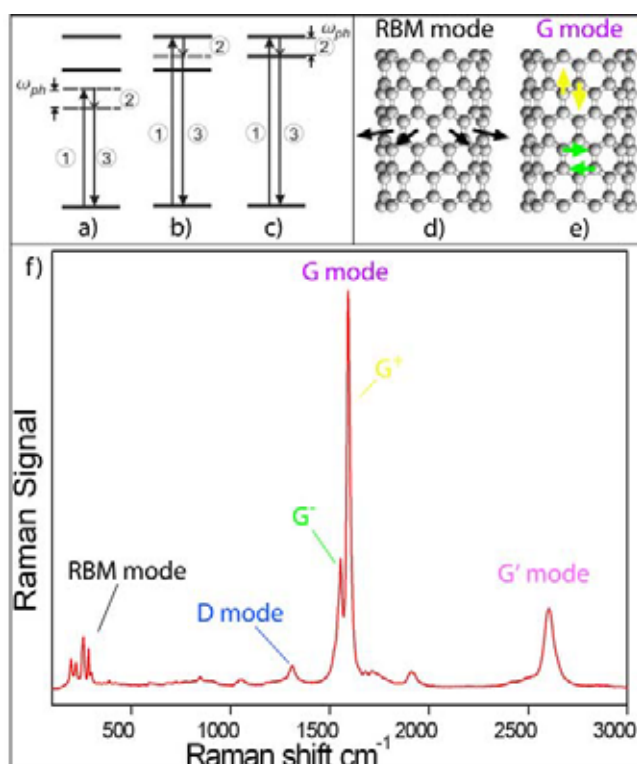


Figura A2 - 3 a) Raman *scattering* non risonante, b) Raman singolarmente risonante, c) a risonanza doppia o multipla. Le linee continue rappresentano stati realmente quelle grigie tratteggiate stati virtuali. Riprodotto da [4]. d) ed e) moti vibrazionali caratteristici dei SWNT attivi al Raman. Riprodotto da [6]. f) Spettro Raman registrato su *bundles* di HiPco pure (da Carbon Nanotechnologies Inc.) con Renishaw 1000 microRaman, *laser* He-Ne at 632.8 nm (1.96 eV).

Il Raman è stato uno strumento utilissimo all'identificazione della struttura elettronica e fononica dei nanotubi: quando applicato su SWNTs singoli è possibile eccitare solamente SWNTs con E_{ii} simile all'energia del *laser* utilizzato, isolandone il segnale. La spettroscopia Raman applicata ad un materiale contenente molti nanotubi

ottiene uno spettro composto dai segnali provenienti da tutti i SWNTs in risonanza con E_{laser} . Al fine d'identificare quali saranno i tubi che contribuiranno al segnale registrato risulta utile ricorrere al diagramma mostrato in figura A2-2d. Per avere una mappatura di tutti i nanotubi presenti in un materiale si dovrebbero utilizzare diversi *laser* con diverse energie in modo da coprire tutti i *gap* elettronici presenti.^[6]

Lo spettro Raman si presenta (figura A2-3f per *bundles* di nanotubi) con una serie di bande caratteristiche che si possono dividere tra una regione a bassa energia ed una ad alta energia.

Radial Breathing Mode (RBM)

Alle basse energie si ha il modo caratteristico dei nanotubi e che non è presente in nessuna altra forma di carbonio. Il segnale deriva dalla vibrazione radiale totalmente simmetrica del nanotubo tangenziale rispetto al suo asse principale (schema figura A2-3d) il *Radial*

Breathing Mode (RBM).^[3,7] La banda compare tra i 400 ed i 100 cm^{-1} ed è utilissima per definire il diametro dei nanotubi ovvero la loro distribuzione se eseguita su *bundles*. La relazione tra diametro e frequenza è data da $\omega_{\text{RBM}}=A/d_t+B$ dove A e B sono due parametri determinati sperimentalmente, in cui B deriva dalle interazioni del CNT con l'intorno.

D-Mode e G-Mode: le bande ad alte energie

Il *D-Mode*, che cade tra 1300-1400 cm^{-1} non è una banda “propria” del nanotubo. Spettri Raman riportati in letteratura ed ottenuti su SWNT isolato presentano un segnale in questa zona molto basso, se non assente. Il segnale è caratteristico del diamante (1332 cm^{-1} , picco stretto e poco intenso) in cui tutti gli atomi di carbonio sono ibridati sp^3 . E' presente anche in materiali come *carbon black* e nanocristalli di grafite (picco intenso e largo), dove proviene dai difetti strutturali .

E' stato quindi, per i nanotubi, messo in correlazione con difetti presenti che ne riducono la simmetria: come eteroatomi, vacanze, piegamenti del tubo, tagli o altri difetti. Negli spettri ottenuti da *bulk*, invece, esso si correla alla presenza di altre forme di carbonio come quello amorfo, risultando un importante mezzo d'analisi della purezza del materiale.^[8] Un'attenta analisi di questo modo per i nanotubi evidenzia oltre alla bassa intensità una larghezza di banda molto piccola, da 40 a 7 cm^{-1} , a differenza di quella manifestata da altre forme di carbonio che, oltre ad essere più intensa, si presenta ad energie leggermente maggiori e con larghezze di banda maggiori, da 40 a 100 cm^{-1} .

Ad energie attorno ai 1600 cm^{-1} vi è il più intenso tra i modi Raman del nanotubo che viene indicato con la lettera G (da grafite). Il *G-Mode* corrispondente ai modi tangenziali dei piani grafiteici (schema figura A2-3e) e darebbe origine ad un segnale multipicco (6 per l'esattezza) di cui due molto più intensi e che sono di norma considerati. Il segnale attorno ai 1600 cm^{-1} è strutturato in due picchi (figura A2-3e,f) indicati con G^+ , in cui gli atomi di C si spostano lungo piano grafiteico e G^- , in cui il moto degli atomi avviene nella direzione circonferenziale. La forma di questo picco si differenzia tra metallici e semiconduttori, evidenziando nella G^- un allargamento per i metallici (Breit-Wigner-Fano *lineshape*, largo e asimmetrico) mentre si presenta stretta per semiconduttori (Lorentzian *lineshape*). L'allargamento è legato alla presenza di elettroni liberi. La forma del G^+ è legata al trasferimento di carica tra il nanotubo eccitato ed il suo contorno ed è stato notato che nanotubi sospesi con un agente disperdente, che causava uno strato isolante tra di essi, presentavano restringimenti della banda.^[9]

La spettroscopia Raman si presenta come uno strumento potentissimo, utilizzabile sul singolo CNT o su *bulk*; dall'accurata analisi degli spettri possono essere estratte informazioni come il diametro dei nanotubi, la metallicità, la presenza di difetti su singolo o della purezza sul bulk, ed il loro intorno chimico. Il Raman presenta alcuni svantaggi come la necessità di utilizzare varie lunghezze d'onda del *laser* qualora si voglia una esaustiva e completa caratterizzazione del campione.

Condizioni sperimentali ed elaborazione dati

Lo spettro Raman è registrato in geometria *back-scattering* usando uno spettrometro Renishaw1000 microRaman equipaggiato con un rivelatore a CCD ed utilizzando un

obiettivo 50x. L'eccitazione è fornita da un *laser* He-Ne con linea d'emissione a 632.8nm (1.96 eV). In queste condizioni lo *spot* del raggio *laser* copre circa $1\mu\text{m}^2$ di superficie. Le misure sono state condotte utilizzando una bassa energia del *laser* ($200\text{W}/\text{cm}^2$) per evitare il danneggiamento del campione durante l'analisi. Lo spettro veniva registrato tipicamente in un finestra di frequenze dai 100 ai 1800cm^{-1} con numero di scansioni da 1 a 3 e tempi d'acquisizione variabili dai 30 ai 100 secondi. Il campione è stato analizzato come polvere o *bucky paper*; quando pulverulento veniva leggermente pressato per evitarne lo spargimento.

Per ogni campione sono stati registrati almeno tre spettri Raman su punti diversi, quindi posti in grafico ed analizzati separatamente. La stima delle aree sottese è stata eseguita su ogni spettro dopo aver corretto la linea di base, senza ulteriori manipolazioni dei dati, e calcolata moltiplicando il valore d'intensità massima del picco per la sua larghezza a mezza altezza per i segnali ben definiti del D e del *G-Mode*. Risultando questo metodo inutilizzabile nella stima dell'area del RBM, presentando spesso profili complessi dovuti alla convoluzione dei segnali provenienti dai singoli nanotubi, si è ricorso all'integrazione tramite software (Microrcal Origin) tra due punti dello spettro, individuati manualmente, che delimitassero il *range* del segnale. Quindi ne sono stati calcolati i rapporti tra le aree del *G-mode* con il *D-Mode* (*G/D-Mode*) e del RBM sul D e *G-Mode* (*RBM/D-Mode*; *RBM/G-Mode*) per ogni spettro e quindi confrontati con quelli provenienti dallo stesso campione. In questo modo l'indicazione dell'aumento di nanotubi nel materiale proviene da un aumento di tutti i rapporti, dove il *RBM/G-Mode* dovrebbe teoricamente essere il meno variante. In letteratura il maggior interesse è rivolto al rapporto *G-Mode/D-Mode*. Quale spettro rappresentativo di ogni campione ne è stato preso il mediano.

Riferimenti Appendice 2

-
- ¹ H. Kataura, Y. Kumazawa, Y. Maniwa, I. Umezū, S. Suzuki, Y. Otsu, Y. Achiba; *Synt. Met.* 1999, **103**, 2555-2558
 - ² M.S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, A. Jorio, A.G. Souza Filho, R. Saito; *Carbon* 2002, **40**, 2043-2061
 - ³ A. Jorio, M.A. Pimenta, A.G. Souza Filho, R. Saito, G. Dresselhaus and M.S. Dresselhaus; *New J. Phys.* 2003, **5**, 139.1-139.17
 - ⁴ Tesi di dottorato di Janina Maultzsch, Vibrational properties of carbon nanotubes and graphite; Technischen Universität Berlin
 - ⁵ A. Jorio, R. Saito, G. Dresselhaus, M. S. Dresselhaus; *Phil. Trans. R. Soc. Lond. A* 2004, **362**, 2311233-6
 - ⁶ C. Fantini, A. Jorio, M. Souza, M.S. Strano, M.S. Dresselhaus, M.A. Pimenta; *Phys. Rev. Lett.* 2004, **93**, 147406
 - ⁷ A.M. Rao, E. Richter, S. Bandow, B. Chase, P.C. Eklund, K.A. Williams, S. Fang, K.R. Subbaswamy, M. Menon, A. Thess, R.E. Smalley, G. Dresselhaus, M.S. Dresselhaus; *Science* 1997, **275**, 187-191
 - ⁸ A.C. Dillon, M. Yudasaka, M.S. Dresselhaus; *J. Nanosci. Nanotech.* 2004, **4**, 691-703
 - ⁹ S.G. Chou, H.B. Ribeiro, E.B. Barros, A.P. Santos, D. Nezich, Ge.G. Samsonidze, C. Fantini, M.A. Pimenta, A. Jorio, F. Plentz Filho, M.S. Dresselhaus, G. Dresselhaus, R. Saito, M. Zheng, G.B. Rao, E.D. Semke, A. K. Sain, M.S. Ünlü, B.B. Goldberg; *Chem. Phys. Lett.* 2004, **397**, 296-301

Appendice 3

Microscopia a Forza Atomica (AFM)

La microscopia a sonda in scansione si basa sulla possibilità di effettuare scansioni tridimensionali della superficie di un campione, mediante una sonda interagente localmente con la superficie.

La sonda viene posta in prossimità (a distanze $d < 100\text{nm}$) della superficie del campione. Un sistema di rilevazione, misura l'interazione della sonda con la superficie in corrispondenza di vari punti (x,y) relativi al piano di base del campione. La sonda viene spostata tra questi punti tramite un attuatore piezoelettrico, in modo da percorrere un tracciato detto *raster*.

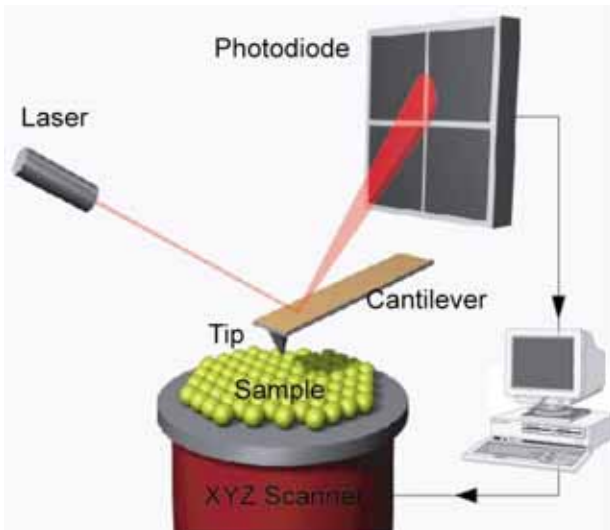
L'entità dell'interazione, qualunque essa sia, dipende essenzialmente dalla distanza punta-campione. Mappando l'intensità dell'interazione nei punti (x,y) si può ottenere un'immagine della superficie del campione. La risoluzione spaziale dell'immagine è determinata dalla minima distanza apprezzabile nell'immagine.

Nei microscopi a scansione a sonda SPM gran parte dei concetti di funzionamento e di controllo del microscopio sono comuni alle varie implementazioni. Sono di sotto elencate le caratteristiche per il Microscopio a Forza Atomica (AFM):

- 1) Una sonda (*probe*) che interagisce in prossimità della superficie. La sonda rappresenta l'elemento chiave per differenziare i microscopi SPM e renderli sensibili alla diversa natura dell'interazione (come, ad esempio, le interazioni elettriche o magnetiche).
- 2) L'interazione sonda-superficie la quale, in virtù del principio del campo prossimo,^[1] è connessa solo alle proprietà chimico-fisiche locali della superficie.
- 3) Un attuatore piezoelettrico (*scanner*) che permette il movimento della sonda o del campione nelle tre coordinate spaziali. Sfruttando le proprietà della piezoelettricità, la sonda (o il campione) si muove nelle tre direzioni spaziali con una precisione dell'ordine del pm ($1\text{pm} = 10^{-12}\text{m}$). I movimenti verticali del piezoelettrico, guidati da un sistema di retroazione (vedi punti 6 e 8), consentono di mantenere costante l'interazione sonda-superficie. Questi movimenti verticali vengono registrati dal sistema di controllo del microscopio e utilizzati per definire l'altezza delle protuberanze superficiali.
- 4) Un sistema di rilevamento ed amplificazione dell'interazione della sonda con la superficie.

- 5) Un sistema di sospensione meccanica per isolare il microscopio dalle vibrazioni meccaniche esterne e non perturbare la distanza punta-campione.
- 6) Un sistema di retroazione (o *feedback*) per mantenere il segnale l'informazione fisica proveniente dall'interazione sonda-superficie uguale ad un valore impostato denominato *setpoint*.
- 7) Un'elevata risoluzione verticale (fino a $\leq 1\text{\AA}$) e una buona risoluzione laterale delle immagini superficiali.
- 8) Un sistema di controllo composto da un computer ed una elettronica di amplificazione per il controllo, l'acquisizione e la visualizzazione delle informazioni provenienti dal microscopio.
- 9) La possibilità di utilizzarle su qualsiasi tipi di superfici e in qualsiasi ambiente (aria, gas, soluzione o vuoto).
- 10) Basse energie d'interazione in gioco. Questa caratteristica le classifica come tecniche non distruttive rispetto, ad esempio, alle tecniche di microscopia elettronica.

Nel microscopio AFM, la sonda è rappresentata da una punta piramidale fabbricata all'estremità di una leva a sbalzo (detta *cantilever*). Quando la superficie e la punta entrano in interazione, tra loro si instaura una forza che modifica l'equilibrio meccanico del *cantilever* (ad esempio, nel caso di contatto con la superficie, la leva si flette verso l'alto). Le variazioni meccaniche della leva vengono rilevate dal un fascio laser focalizzato sul retro del *cantilever* il quale, dopo un opportuno cammino ottico, colpisce un sensore ottico sensibile alla posizione del fascio (comunemente sugli AFM il sensore ottico è un fotodiodo a 2 o 4



quadranti con sensibilità agli spostamenti del fascio nell'ordine di 10^{-1}\AA). Durante la scansione della superficie, il fotodiodo rivela le variazioni di posizione del fascio laser le quali, dopo un'opportuna amplificazione, vengono utilizzate dal sistema di controllo per riprodurre la topografia superficiale.

Figura A3 - 1 Principio di funzionamento di un sistema di rivelazione delle deflessioni del *cantilever* basato sulla deflessione di un raggio laser.

Il sistema di rivelazione sancisce la sensibilità di forza del microscopio AFM: la leva, in prima approssimazione, può essere considerata una molla di costante elastica k di qualche N/m ; mentre sappiamo che il sistema di rivelazione ha una sensibilità agli spostamenti del fascio laser pari a 10^{-1}\AA . Applicando la legge di Hook, il microscopio AFM risulta sensibile a variazioni della forza d'interazione nell'ordine di qualche centinaia di pN .

Le sonde per AFM

La sonda rappresenta l'elemento cardine della microscopia a scansione e, idealmente, è realizzata in modo da essere sensibile ad una sola interazione chimico-fisica con la superficie. Nella pratica questo non avviene, occorre quindi dedicare una grande attenzione alla loro fabbricazione in modo da ridurre al minimo le interazioni secondarie provenienti dalla superficie.^[2]

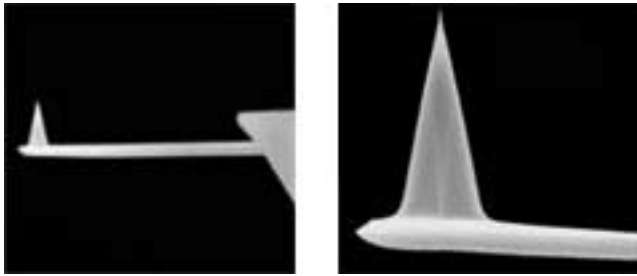


Figura A3 - 2 Immagini al microscopio elettronico di un *cantilever* in nitrato di silicio con una punta conica in silicio.^[3]

Le sonde per microscopia AFM sono delle leve a sbalzo di forma rettangolare o triangolare, sulla cui estremità viene cresciuta una punta piramidale o conica (Figura A3-2).

A titolo d'esempio, leve rettangolari con punte coniche hanno dimensioni tipiche di:^[3]

Lunghezza (μm)	100-130
Larghezza (μm)	35
Spessore (μm)	2
Raggio di curvatura della punta (nm)	10
Costante Elastica (N/m)	≤ 10

Tecnologicamente le sonde si realizzano con convenzionali tecniche microelettroniche,^[4] associate a trattamenti ed erosioni chimiche. Per rendere le caratteristiche delle leve il più uniformi possibile, comunemente si fabbricano in serie da un unico *wafer* di silicio. Il materiale più comunemente utilizzato nella fabbricazione delle leve è il nitrato di silicio, Si_3N_4 , adatto sia per caratteristiche meccaniche che per lavorabilità, ma commercialmente sono disponibili anche *cantilever* e punte in silicio o ossido di silicio.

Una caratteristica fondamentale della punta è il raggio di curvatura apicale, in quanto determina la minima risoluzione spaziale raggiungibile da un microscopio AFM. Le punte commerciali hanno un raggio di curvatura di 10-20nm, ma sono ora anche disponibili leve con raggio di curvatura inferiori ottenute per erosione tramite FIB (*Field Ions Beam*).

L'ultima fase nella fabbricazione delle leve è l'evaporazione, sul retro della leva, di due sottili film sovrapposti di Cr (strato di adesione) e Au. Questo accorgimento è rivolto al miglioramento della riflessione del fascio laser in quanto, sperimentalmente, è stato osservato che il Si_3N_4 risultava essere quasi trasparente al laser con un conseguente indebolimento del fascio riflesso incidente sul fotodiode.

L'interazione punta-campione: la forza

Le forze che si instaurano tra la punta e la superficie quando entrano in interazione sono generalmente di natura elettromagnetica, perciò complesse da separare. La causa di questa complessità è dovuta a:

- L'interazione punta-superficie è un problema a molti corpi (dal momento che l'estremità della punta e la superficie sono composte da molti atomi).
- L'interazione è sensibile all'ambiente in cui si svolgono le misure (gassoso, liquido o in vuoto).
- La scansione della superficie è un processo dinamico per cui, nello studio dei movimenti della leva, è necessario utilizzare un approccio quasi statico.
- La superficie del campione abitualmente non è cristallina quindi le interazioni atomiche risultano più complesse.
- Sulle superfici esposte all'aria si forma sempre un sottile film d'acqua (strato adsorbito) il cui spessore dipende dall'umidità relativa dell'atmosfera circostante e dalla natura chimico fisica dell'oggetto. Questa pellicola genera una forza capillare sulla la punta a causa del menisco che si forma al contatto della punta con l'acqua. Questo effetto può essere minimizzato lavorando in ambienti saturi di azoto o in ambiente liquido.

Queste problematiche limitano la sensibilità in forza della leva,^[5,6] ma non impediscono di rivelare due importanti categorie di forze:^[7]

♦ **Forze a lungo raggio**; che si suddividono in:

- *Forze di Van der Waals*^[8,9] Esistono sempre tra due corpi, ma il loro effetto è rilevante per distanze inferiori a 10nm quindi sono di particolare importanza in qualsiasi tipo di sistema atomico o molecolare. Sono forze di tipo attrattivo e seguono la legge $F \propto 1/r^6$ (dove r è la distanza tra i due corpi). Essenzialmente le forze di van der Waals si possono dividere in tre gruppi: interazioni dipolo-dipolo, interazioni dipolo-dipolo indotto, interazione dipolo indotto-dipolo indotto. Nel microscopio AFM si utilizzano per rivelare la topografia superficiale.
- *Forze elettriche*^[10] Sono di tipo coulombiano ed esistono quando sulla punta o sulla superficie sono presenti delle cariche elettriche (indotte o intrappolate). Sono proporzionali a $F \propto 1/r^2$ (dove r è distanza tra le cariche) e possono essere di tipo attrattivo o repulsivo. Le interazioni elettriche tra punta e superficie sono notevoli anche fino a qualche centinaia di nanometri.
- *Forze magnetiche*^[11] Si manifestano quando sulla punta e sulla superficie sono presenti dipoli magnetici e possono essere sia attrattive che repulsive (a seconda del tipo di materiale magnetico di cui sono fatte la punta e la superficie). Le forze magnetiche sono proporzionali $F \propto 1/r^4$ a (dove r è distanza tra i dipoli magnetici). Come il caso delle forze elettriche, anche le magnetiche contribuiscono all'interazione fino a distanze pari a centinaia di nanometri.

♦ **Forze a corto raggio**, che si possono classificare in:

- *Forze repulsive* Seguono una funzione di potenza inversa proporzionale a $F \propto \cos t / r^n$ con $n > 12$ o una funzione esponenziale. Essenzialmente hanno due origini:
 - ♦ *Repulsione tra i nuclei degli atomi interagenti* A causa della vicinanza tra gli atomi interagenti della punta e della superficie, le rispettive nuvole elettroniche tendono a

spostarsi dal loro baricentro generando in questo modo un momento di dipolo elettrico positivo sia sugli atomi della punta che su quelli della superficie. Questa situazione origina repulsioni di tipo coulombiano tra cariche dello stesso segno.

- ◆ *Repulsione di Pauli* In accordo con il principio di esclusione di Pauli, due elettroni aventi lo stesso spin non possono occupare lo stesso spazio, per cui gli elettroni possono solamente sovrapporsi aumentando l'energia del sistema e provocando una forza repulsiva. Queste forze ostacolano la penetrazione della punta nel campione e forniscono una semplice spiegazione alla corrugazione atomica osservata causata quindi dalla variazione della densità di carica totale.
- ◆ **Forze di legami covalenti** Sono originate dalla sovrapposizione delle funzioni d'onda di due o più atomi. L'energia totale sarà abbassata dall'energia di scambio che provoca una forza attrattiva. La caratteristica di questo tipo di legame è la concentrazione della densità di carica elettronica tra i due nuclei. Questa forza decresce rapidamente anche con un allontanamento di frazioni di Angström.
- ◆ **Adsorbimento fisico e chimico** Si possono creare legami tra la punta e il campione, che causano una forza attrattiva addizionale che varia su scala atomica.
- ◆ **Adesione metallica**^[12] È causata dall'interazione tra nuvole elettroniche largamente delocalizzate. Essa provoca interazioni attrattive forti che decrescono esponenzialmente con la distanza. Queste forze risultano importanti quando due superfici metalliche sono a distanze (pochi Å) tali per cui le funzioni d'onda elettroniche si sovrappongono e lo scambio di elettroni diventa importante.
- ◆ **Attrito**^[13,14] Durante una scansione della superficie con la punta in contatto, essa tenderà a scostarsi dalla sua posizione perpendicolare alla superficie, causando una forza parallela alla superficie. Questa forza d'attrito tende a torcere la leva e, dal momento che l'angolo di torsione dipende dal materiale di cui è fatta la superficie, la misura nella torsione risiedono informazioni chimico-fisiche della superficie. È stato inoltre dimostrato che con le forze di frizione è possibile osservare particolare su scala atomica.

Modalità operative del microscopio AFM

Dopo aver descritto le componenti principali e le forze che intervengono nell'interazione tra la punta e la superficie, parliamo delle modalità operative di un microscopio AFM.

Le due principali modalità di lavoro all'AFM prendono il nome dalla posizione della punta rispetto alla superficie: a "Contatto" (Forze a corto raggio) e in "Non Contatto" (Forze a lungo raggio) (Figura A3-3).

Modalità in "Contatto" Quando la punta è in contatto con la superficie, tra loro agisce una forza a corto raggio (repulsiva) che provoca una flessione verso l'alto della leva. Quando la punta viene fatta scorrere sulla superficie, il sistema di rivelazione registra le flessioni che la leva subisce a causa delle protuberanze topografiche. In contatto è possibile lavorare in due modi:

Tecnica a "forza costante" Durante la scansione della superficie, il sistema di retroazione guida il piezoelettrico (contraendolo ed estendendolo) in modo da mantenere la flessione (e quindi la forza) della leva costante.

Tecnica ad "altezza costante" In questo caso il sistema di retroazione viene disattivato, quindi il piezoelettrico non segue le variazioni topografiche della superficie. Conseguentemente, l'altezza del supporto della leva si mantiene nella sua posizione iniziale (da questo il nome "altezza costante"). Da quanto appena detto si può dedurre che questa tecnica è adatta a superfici particolarmente piatte poichè, se utilizzata su superfici rugose, la leva può subire flessioni estreme e, di conseguenza, rompersi.

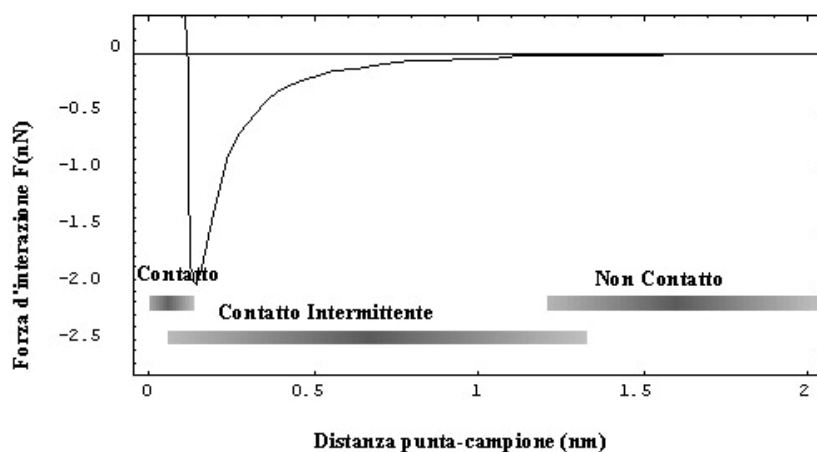


Figura A3 - 3 Andamento tipico della forza di interazione F tra punta e campione e zone d'interazione delle modalità di lavoro denominate: Contatto, Contatto Intermittente e Non Contatto.

Modalità in "Non Contatto" Le interazioni sfruttate per formare l'immagine sono quelle a lungo raggio tra la punta e la superficie del campione. La base del *cantilever* viene montata (come nel caso del "Contatto Intermittente") su una placca piezoelettrica, la quale fa oscillare la leva ad una frequenza prossima alla sua frequenza di risonanza. Un gradiente di forza presente sulla superficie modifica le proprietà dinamiche della leva con l'effetto risultante di una variazione nella sua frequenza di risonanza. Tale variazione può essere misurata registrando le variazioni dell'ampiezza d'oscillazione del *cantilever*, della frequenza di risonanza stessa o della fase. La modalità in "Non Contatto" presenta il vantaggio, rispetto al modo in "Contatto", di non esercitare nessuna forza sulla superficie del campione, ma il peggioramento della risoluzione laterale (la quale è dipendente dalla distanza punta-campione) ne ha limitato l'uso nelle applicazioni dell'AFM.

Negli ultimi anni l'invenzione della tecnica a "multi passo" e l'implementazione del microscopio AFM in ambiente di Ultra-Alto Vuoto (UHV) hanno rivitalizzato l'interesse scientifico intorno alla modalità in "Non Contatto".

Sperimentalmente si è osservato che l'uso dell'AFM in UHV migliora notevolmente le proprietà meccaniche della leva incrementandole anche di un fattore 100, per cui risulta molto più sensibile alle interazioni superficiali. Questo miglioramento ha permesso di superare l'inconveniente della risoluzione laterale delle immagini in "Non Contatto" e ottenere immagini a risoluzione atomica confrontabili con i risultati ottenuti all'STM.

Sull'idea scientifica del "Contatto" e del "Non Contatto" è nata una terza modalità di lavoro denominata "*Contatto Intermittente*" (semicontatto o Tapping-Mode) (Figura A3-4).^[15]



Figura A3 - 4 Schema delle modalità di funzionamento del AFM. In modalità in contatto l'immagine topografica viene prodotta dalla flessione del cantilever. In non contatto e semicontatto il segnale proviene dalle variazioni di ampiezza, di frequenza, di fase dell'oscillazione del cantilever.

In questo modo di lavoro il *cantilever* viene fatto oscillare, grazie ad una placca piezoelettrica posta a contatto con il supporto della leva, alla frequenza di risonanza. Durante il moto di oscillazione della leva, la punta si muove sia in un campo di forze attrattive ("Non Contatto"-forze di Van der Waals) che in un campo di forze repulsive ("Contatto").^[16] In pratica la punta entra in contatto con la superficie del campione in modo intermittente. In fase di approccio alla superficie, la leva oscilla liberamente con ampiezza predefinita. Quando la punta entra in interazione con la superficie, l'ampiezza dell'oscillazione viene ridotta fino a raggiungere il valore di riferimento (*setpoint*). Durante la scansione della superficie, il sistema di controllo del microscopio utilizza l'ampiezza di oscillazione della leva come segnale per il sistema di retroazione.^[17] Il compito della retroazione è muovere l'attuatore piezoelettrico in modo da mantenere l'ampiezza di oscillazione della leva uguale al valore di *setpoint*. Gli spostamenti dell'attuatore piezoelettrico riproducono la topografia superficiale.

A titolo esplicativo, calcoliamo la quantità di volte in cui la punta tocca la superficie in condizioni di misura tipiche. La leva (vedremo successivamente) oscilla alla frequenza di risonanza (ad esempio 150kHz) e realizza un'immagine superficiale 256x256 *pixels* di in un tempo di 2 minuti. Per ogni pixel quindi, la punta tocca la superficie circa 86 volte.

In modalità "Non Contatto" quando la punta entra in interazione con la superficie, l'ampiezza diminuisce rispetto all'ampiezza delle oscillazioni libere. Il principale vantaggio del "Contatto Intermittente" è la riduzione delle forze di trascinamento e di attrito tra la punta e la superficie infatti, durante la scansione in "Contatto" della superficie, la forza di trascinamento tra la punta e la superficie può essere elevata a causa delle forze capillari esercitate dallo strato di liquido adsorbito.^[18] Questo effetto può essere ridotto in contatto aumentando la forza sulla superficie, ma con la conseguenza di aumentare notevolmente le forze di attrito e rovinare la superficie del campione. Il "Contatto Intermittente" riduce l'effetto di trascinamento dal momento che ad ogni ciclo di oscillazione si libera dallo strato adsorbito ed elimina l'effetto di attrito poiché tocca in modo intermittente la superficie.

La tecnica a "Contatto Intermittente" è quindi particolarmente adatta all'analisi di campioni facilmente danneggiabili come, ad esempio, i campioni biologici.

Per maggiore chiarezza e per un uso futuro in questa tesi, spendiamo qualche parola sulla dinamica della leva nel "Contatto Intermittente".^[19,20] Come è già stato detto, esso viene indotto da una placca piezoelettrica alimentata da una differenza di potenziale oscillante. Per il principio della piezoelettricità, la placca si estenderà e contrarrà meccanicamente con lo stesso frequenza nella direzione del potenziale applicato. Se facciamo variare la frequenza della differenza di potenziale oscillante fino a qualche , sarà possibile trovare una frequenza

(detta frequenza di risonanza) tale per cui l'oscillazione della leva ha la sua ampiezza massima.

In figura A3-5 (Frequenza) è mostrato lo spettro in frequenza dell'ampiezza del *cantilever* (Z_0), normalizzato al valore dell'ampiezza di oscillazione pilota del moto (ampiezza dell'oscillazione della differenza di potenziale applicata alla placca piezoelettrica). Come si può osservare, lo spettro presenta un solo picco di ampiezza in corrispondenza di una specifica frequenza (frequenza di risonanza), mentre per tutte le altre frequenze l'ampiezza risulta trascurabile. Il valore della frequenza di risonanza (Ω_R) dipende dalle caratteristiche meccaniche della leva (costante elastica k) e per leve commerciali di norma assume valori che variano da 70 a 300kHz .

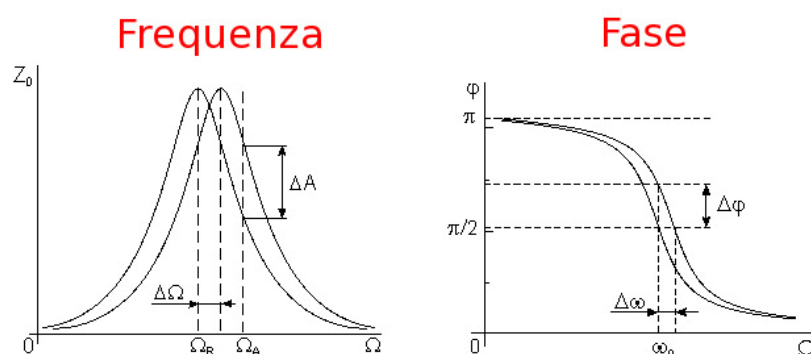


Figura A3 - 5 Spostamento della curva di risonanza e della fase in presenza di un gradiente di forza sulla superficie.

Quando la punta entra in contatto con la superficie, tra loro si instaura una forza che modifica il moto della leva.

Come si osserva dalla figura A3-5, la variazione del moto corrisponde ad uno spostamento in frequenza del picco di risonanza la quale si sposta dalla frequenza di risonanza Ω_R ad una frequenza Ω_A (prossima a quella di risonanza). Questo spostamento modifica l'ampiezza d'oscillazione della leva della differenza $\Delta A = A - A^+$ e rappresenta la variazione della forza di interazione (gradiente di forza) sulla superficie.

Il segnale di ampiezza (e la variazione di frequenza) è un segnale adatto a realizzare immagini topografiche, ma risulta poco sensibile alle variazioni nella forza di interazione chimico-fisiche locali della superficie. Questa osservazione ci permette di introdurre un nuovo segnale: la fase. Come si osserva in figura A3-5 (Fase), in corrispondenza di un gradiente di forza superficiale si osserva uno spostamento della fase $\Delta\phi$ nell'intorno della risonanza, dove la curva di fase presenta una forte pendenza. Questa caratteristica rende la fase più sensibile ai gradienti di forza, permettendo di osservare proprietà chimico-fisiche superficiali impossibili da osservare utilizzando le variazioni d'ampiezza (o di frequenza).

Riferimenti Appendice 3

¹ Il principio fisico su cui si basano tutte le microscopie SPM è il principio del campo prossimo: ad ogni istante l'informazione chimico-fisica deriva solamente dalla piccolissima regione della superficie del campione che interagisce con la sonda.

² N.F. De Rooij, G. Schurmann, G.-A. Racine, P.-F. Indermuhle; *Sens. and Act. A: Phys.* 1997, **60**, 186-190

-
- ³ Le specifiche si riferiscono a leve commerciali NSG11 prodotte dalla NT-MDT (Mosca-Russia)
- ⁴ J. A. Dagata, J. Schneir, H. H. Harary, C. J. Evans, M. T. Postek, J. Benne; *Appl. Phys. Lett.* 1990, **56**, 2001 - 2003
- ⁵ A. L. Weisenhorn, P. K. Hansma, T. R. Albrecht, C. F. Quate; *Appl. Phys. Lett.* 1989, **54**, 2683 -2585
- ⁶ U. Landman, W. D. Luedtke, A. Nitzan; *Surf. Sci.* 1989, **210**, L177-L184
- ⁷ J. Israelchvili, *Intermolecular and Surface Forces*, Academic Press, San Diego 1992
- ⁸ Y.N. Moiseev , V. M. Mostepanenko, V. I. Panov, I Y. Sokolov; *Phys. Lett. A* 1988, **132**, 354-358
- ⁹ U. Hartmann; *Phys. Rev. B* 1990, **42**, 1541-1546
- ¹⁰ J. E. Stern, B. D. Terris, H. J. Mamin, D. Rugar; *Appl. Phys. Lett.* 1988, **53**, 2717-2719
- ¹¹ Y. Martin, H. K. Wickramasinghe; *Appl. Phys. Lett.* 1987, **50**, 1455-1457
- ¹² A. Banerjea, J. R. Smith, J. Ferrante; *J. Phys. Condens. Matt.* 1990, **2**, 8841-8846
- ¹³ C. M. Mate; *Phys. Rev. Lett.* 1992, **68**, 3323-3326
- ¹⁴ C. M. Mate, G. M. McClelland, R. Erlandsson, S. Chiang; *Phys. Rev. Lett.* 1987, **59**, 1942-1945
- ¹⁵ H. G. Hansma, R.L. Sinsheimer, J. Groppe, T. C. Bruice, V. Elings, G. Gurle; *Scanning* 1993, **15**, 296-299
- ¹⁶ R. Garcia, A. S. Paulo; *Phys. Rev. B* 1999, **60**, 4961-4967
- ¹⁷ Q. Zhong, D. Inniss, K. Kjoller, V. B. Elings; *Surf. Sci. Lett.* 1993, **290**, L668-L692
- ¹⁸ Lo strato di liquido adsorbito è una sottile pellicola d'acqua sempre presente in aria e dovuta all'umidità. Quando la punta entra in contatto con la superficie si forma, per effetto capillare con lo strato adsorbito, un menisco di acqua tra la superficie e la punta stessa. Il menisco aumenta la forza trascinamento tra la punta e la superficie impedendo il distacco immediato della punta.
- ¹⁹ T. P. Albrecht, P. Grutter, D. Horne, D. Rugar; *J. Appl. Phys.* 1991, **69**, 668-673
- ²⁰ Y. Martin, C. C. Williams, H. K. Wickramasinghe; *J. Appl. Phys.* 1987, **61**, 4723-4729