

<b>Introduction générale .....</b>	<b>5</b>
 <b>Partie I : Etat de l'art .....</b>	 <b>9</b>
<b>Introduction .....</b>	<b>10</b>
<b>Chapitre I : Principe, théorie et méthode de base de l'électrochimie .....</b>	<b>13</b>
I. Interface électrolyte solide .....	14
II. Courant dans un électrolyte .....	15
III. Transfert et transport de matière .....	17
IV. Voltampérométrie .....	19
IV.1. Système rapide .....	19
IV.2. Système lent .....	20
IV.3. Système quasi-rapide .....	20
V. Voltampérométrie cyclique .....	21
VI. Méthode expérimentale généralement utilisée .....	22
VI. Spectroscopie d'impédance .....	23
<b>Chapitre II : Les capteurs chimiques en phase liquide .....</b>	<b>27</b>
I. Principe de fonctionnement des ChemFETs .....	28
II. Principe physico-chimique de détection .....	29
III. Détermination du potentiel chimique $\psi$ .....	30
III.1 Etude de l'interface solide-électrolyte .....	30
III.2. Interface Electrolyte/Isolant/Silicium (EIS) .....	33
IV. Détection du pH .....	36
V. Principe de mesure .....	37
<b>Chapitre III : Intégration des polymères .....</b>	<b>39</b>
I. Introduction .....	40
II. Définition .....	41
III. Dépôts .....	44
IV. Accroches .....	46
V. Encapsulation .....	49
VI. Intégration des matériaux sensibles .....	52
<b>Conclusion .....</b>	<b>53</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>55</b>

<b>Partie II : Réalisations et résultats .....</b>	<b>61</b>
<b>Chapitre I : Développement technologique des microcapteurs chimiques .....</b>	<b>63</b>
Introduction .....	64
I. Développement de microdispositifs génériques .....	64
I.1. Conception et réalisation de ChemFETs .....	64
I.1.1. Objectif .....	64
I.1.2. Fabrication des ChemFETs .....	65
I.1.2.1 Description du procédé technologique .....	65
I.1.2.2. Résumé de la fabrication des ChemFETs .....	78
I.2. Conception et réalisation de microélectrodes .....	80
I.2.1 Objectif .....	80
I.2.2. Fabrication des microélectrodes .....	80
II. Adaptation des capteurs en fonction de l'application .....	87
II.1 Réalisation de microcuves en PDMS .....	87
II.1.1. Présentation du polydiméthylsiloxane (PDMS) .....	87
II.1.1.1. Caractéristiques chimiques .....	87
II.1.1.2. Domaines d'applications du PDMS .....	88
II.1.2. Conception de cuves en PDMS sans micro-canaux .....	90
II.1.2.1. Réalisation des cuves .....	90
II.1.2.2 Réticulation, collage, démoulage et assemblage du PDMS ...	92
II.1.2.3. Avantages et inconvénients du procédé .....	93
II.1.3. Conception de cuves en PDMS avec micro-canaux .....	93
II.1.3.1. Réalisation des cuves .....	93
II.1.3.2. Réalisation des moules .....	94
II.1.3.3. Traitement de surface anti-adhésion .....	100
II.1.4. Conclusion .....	100
II.2. Dépôt des couches sensibles .....	101
II.2.1 Dépôt à la microgoutte .....	101
II.2.2. Procédé de fabrication collective .....	103
II.2.3. Etude du dépôt de PSX à la tournette .....	106
II.2.3.1. Effet du temps d'insolation .....	106
II.2.3.2. Effet de la vitesse de rotation de la tournette .....	108
II.2.4. Influence de l'ajout d'ionophore .....	115

II.2.5. Conclusion .....	116
<b>Chapitre II : Caractérisations électriques et chimiques .....</b>	<b>117</b>
Introduction .....	118
I. Etude des ChemFETs .....	118
I.1. Bancs de mesure .....	118
I.2. Préparation des échantillons .....	124
I.3. Caractérisation des MOSFETs .....	127
I.4. Caractérisation des pH-ISFETs .....	128
I.4.1 Caractéristique de fonctionnement .....	128
I.4.2 Dérive temporelle .....	129
I.4.3 Détection du pH .....	129
I.4.4 Effet des ions potassium et sodium .....	132
I.5. Caractérisation des pK-ISFETs .....	134
I.5.1 Détection du potassium .....	134
I.5.2 L'effet du pH .....	135
I.6. Caractérisation des pNH <sub>4</sub> -ISFETs .....	136
I.7. Caractérisation des pH-ISFETs en microvolume .....	137
I.7.1 Principe de mesure biologique .....	137
I.7.2 Mesure du pH en microvolume .....	140
I.7.3 Détection bactérienne .....	141
I.8. Conclusion .....	144
II. Etude des microélectrodes .....	145
II.1. Bancs de mesure .....	145
II.2. Caractérisation des microélectrodes d'or .....	146
II.2.1 Caractérisation de l'électrolyte .....	146
II.2.2 Choix de l'électrode de référence .....	153
II.2.3 Effet de la tension de polarisation .....	156
II.2.4 Effet de la vitesse de balayage .....	157
II.2.5 Dérive temporelle .....	158
II.2.6 Effet du travail en microvolume .....	159
II.3. Caractérisation des microélectrodes or-PSX* .....	160
II.4. Conclusion .....	164
II.5. Autres caractérisations des microélectrodes .....	164

## Table des matières

II.5.1 Détection d'ions lourds .....	164
II.5.2 Détection du paludisme .....	166
II.5.3 Conclusion .....	168
Conclusion .....	168
Références bibliographiques .....	170
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>173</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>177</b>

## **Introduction générale**

Les instruments classiques d'analyse pour la détection d'une espèce (bio)chimique sont généralement complexes, coûteux, volumineux et souvent difficiles à mettre en œuvre. De plus, les phases de préparation des échantillons, d'incubation, et d'exploitation des résultats augmentent souvent très fortement la durée totale d'analyse.

Depuis une trentaine d'années, ils font face à l'avènement des capteurs chimiques appelés plus couramment microcapteurs [1]. Ceux-ci sont des dispositifs souvent simples et compacts transformant le signal (bio)chimique en un signal électrique facilement exploitable. Ils sont pour la plupart issus des techniques de la microélectronique. Ils sont en général constitués d'une partie sélective (couche sensible), et d'un système transducteur transformant en signal électrique les modifications physicochimiques induites par les interactions se produisant dans la couche sensible. Ils disposent aussi d'un environnement d'exploitation qui permet notamment le traitement électrique des signaux.

Ces dernières années, le domaine des microcapteurs a connu un développement remarquable sous la pression de trois facteurs principaux:

- le besoin en capteurs fiables qu'entraîne la croissante sévérité des normes dans les domaines tels que l'environnement, la santé, l'agroalimentaire, ....
- la généralisation de l'automatisation dans le génie des procédés;
- la recherche du moindre coût dans le domaine de l'analyse biomédicale ou environnementale.

L'utilisation des techniques de la microélectronique dans le domaine des microcapteurs permet en particulier d'envisager des productions massives à faible coût. Ainsi a vu le jour la réalisation de différents types de microcapteurs tels que les microélectrodes, les microleviers, les transistors chimiques à effet de champ, les microbalances à quartz, ...

Cependant, l'intense activité de recherche n'a induit à ce jour que peu de réalisations commerciales. Une des raisons du peu de commercialisation de ces capteurs est la sévérité des contraintes de la fonctionnalisation d'un transducteur par une molécule spécifique. Mais les dernières barrières qui empêchent un développement commercial généralisé des

## Introduction générale

microcapteurs ne vont certainement pas manquer de s'écrouler sous la forte pression que constitue l'attrait d'un équipement d'analyse de taille réduite, permettant des tests simples et rapides, et nécessitant une préparation limitée des échantillons.

Le but de ce travail a été de développer deux types de microcapteurs: les ChemFETs et les microélectrodes. Ce travail a été également consacré à l'apport des polymères dans les microcapteurs sous deux aspects : l'encapsulation à travers la réalisation de microcuvettes, microcanaux et microcavités et l'intégration de couches ionosensibles.

Dans les années 70, Bergveld a présenté le principe de mesure de la concentration des quantités chimiques présentes dans une solution avec un dispositif électronique, appelé ChemFET (chemical Field Effect Transistor) [2]. Les avantages de ce composant par rapport aux grosses électrodes de mesure de pH en verre (la méthode la plus couramment utilisée pour la mesure du pH) sont la taille très petite, la rapidité de réponse, la possibilité de production en volume élevé, le bon rapport signal sur bruit, et enfin la possibilité d'intégration de l'électronique ensemble avec le capteur sur la même puce. Nous retrouvons la plupart de ces avantages avec les microélectrodes qui sont elles aussi issues de la fabrication de la microélectronique. Leur simplicité de réalisation en fait des capteurs jetables très concurrentiels.

L'utilisation des électrodes pour l'analyse et le traitement physicochimique en milieu liquide a été parmi les premières à être utilisées dans le milieu industriel. La diminution en taille des électrodes classiques en verre a atteint ses limites. Ainsi de nouvelles électrodes de plus petites dimensions (microélectrodes) ont été développées en utilisant les technologies issues de la microélectronique et les technologies polymères.

L'utilisation des polymères dans la microélectronique est plus récente (fin des années 70) avec la réalisation des premiers systèmes microfluidiques [3,4]. Ainsi, des laboratoires sur puces (lab on chips) ont vu le jour permettant d'acheminer et de mélanger plusieurs petites quantités de liquides sur des zones précises afin qu'elles soient analysées par des microcapteurs intégrés.

Les polymères ont également été utilisés comme couches sensibles en utilisant directement certaines de leurs propriétés chimiques ou indirectement comme supports matriciels pour des agents actifs.

Dans une première partie nous ferons un état de l'art sur les capteurs électrochimiques et les polymères qui y sont associés. Tout d'abord, nous présenterons dans un premier chapitre les principes fondamentaux de l'électrochimie, à travers les principales réactions se produisant aux interfaces. Nous aborderons également les différentes méthodes de caractérisation des électrodes. Puis, dans un deuxième chapitre nous approfondirons la théorie sur le fonctionnement des ChemFETs. Nous exposerons également les principes de mesure liés à ce type de capteurs chimiques. Ensuite, à travers un troisième chapitre, nous présenterons les polymères ainsi que leurs utilisations dans les capteurs chimiques en phase liquide. Nous verrons comment les polymères ont pu être adaptés pour encapsuler ou pour réaliser des couches sensibles.

Dans une deuxième partie, nous présenterons les réalisations technologiques ainsi que les résultats que nous avons obtenus. Dans le premier chapitre, nous montrerons les différentes étapes de fabrication des ChemFETs puis des microélectrodes avec les différentes optimisations effectuées. Ensuite, nous présenterons les différentes méthodes utilisées pour la réalisation et pour le report des microcuvettes en polymère. Puis, nous exposerons les moyens employés pour le dépôt des couches sensibles en polymère. Enfin, nous approfondirons l'étude du dépôt à la tournette avec une analyse théorique de celui-ci. Dans le deuxième chapitre, nous présenterons les résultats que nous avons obtenus avec les différents capteurs en milieu ionique, bactérien et sanguin ainsi que les différents bancs de mesure utilisés pour les caractérisations.

## Références bibliographiques

[1] L.C.Clark, C.Lyons

“Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery”, *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 102, 1962, Pages 29-45

[2] P.Bergveld

“Development of an Ion-Sensitive solid-state device for Neurophysiological Measurements”, *IEEE Trans.Biomed. Eng.*, BME-17, 1970, Pages 70-71.

[3] N.Giordano and J- T.Cheng.

“Microfluid mechanics : progress and opportunities” *J.Phys. : Condens. Matter*, 13, 2001, Pages 271 – 295

[4] Darwin R.Reyes, Dimitri Iossifidis, Pierre-Alain Auroux, and Andreas Manz

“Micro total analysis systems 1. introduction, theory, and technology” *Anal. Chem.*, 74, 2002, Pages 2623



# **PARTIE I**

## **Etat de l'art**

## **Introduction :**

Il existe de nombreuses familles de capteurs chimiques pour l'analyse en phase liquide. Chacune d'elles ayant des modes d'analyse spécifiques et adaptés au milieu à étudier.

- Détection optique :

L'utilisation des transducteurs optiques est de plus en plus répandue notamment pour les analyses en milieux biologiques. Deux types de détection sont utilisés, une invasive via les fibres optiques, l'autre non invasive via les détecteurs optiques, les photodiodes et les caméras (traitement de l'image). Les fibres optiques, grâce à leurs faibles poids, leurs petites dimensions et leurs insensibilités aux interférences électromagnétiques mais également à leurs possibilités d'effectuer des mesures dans les endroits difficilement accessibles, sont des capteurs qui ont pris une place importante. Tous ces capteurs sont devenus depuis quelques années très concurrentiels grâce au développement intensif des fibres optiques et à la banalisation des détecteurs optiques. La détection est réalisée par les changements des propriétés optiques (Fluorescence, réflexion, radiomarquage, absorption, résonance de plasmons de surface SPR, ...) en solution ou en présence de couches sensibles [1, 2]. De nombreuses espèces (bio)chimiques et biologiques peuvent être mesurées avec ces types de détection (pH, pCO<sub>2</sub>, glucose, bactéries, cations des métaux, ...). Cependant, ce type de capteurs reste souvent coûteux, non jetable et difficilement transportable. De plus, ils sont perturbés par la lumière naturelle.

- Détection mécanique :

Avec le développement des microsystemes, de nombreuses investigations sont apparues récemment notamment pour les détecteurs mécaniques. En effet, avec la réduction en taille, la sensibilité de ces capteurs s'est nettement améliorée, car le rapport surface/volume augmentant, les phénomènes situés en surface ont tendance à devenir prépondérants. Plusieurs types de détecteurs existent tels que les capteurs thermométriques, les détecteurs à onde de surface, les microbalances ou encore les microleviers [3]. Les transducteurs thermométriques sont peu utilisés du fait qu'ils sont limités aux analyses en milieu réactionnel produisant des variations thermiques. Ces capteurs calorimétriques tels que les thermistances permettent de quantifier, la variation de température lors d'une réaction biométabolique. Les capteurs à

ondes de surface utilisent des ondes acoustiques de surface progressives [4] (SAW Surface Acoustic Wave). Ces capteurs sont constitués de deux paires d'électrodes interdigitées séparées par un matériau sensible. Une des paires d'électrodes exige un matériau piézoélectrique créant une onde de surface (par exemple de Rayleigh ou de Love). Cette onde se propage à la surface, elle est ensuite détectée par l'autre paire d'électrode interdigitée. Cette technique est très employée pour réaliser des filtres hautes fréquences utiles en traitement du signal, pour la télévision ou la téléphonie mobile par exemple. Dans le cadre des capteurs, on regardera comment la propagation de l'onde de surface sera atténuée selon des paramètres sensibles aux caractéristiques mécaniques de la surface, entre autres la masse ajoutée sur cette surface de propagation. Du fait des fréquences très élevées des ondes (30-500MHz), l'utilisation en milieu liquide est compromise par l'absorption considérable de l'onde par le liquide. Les microbalances à quartz sont constituées d'une fine pastille de quelques millimètres d'épaisseur et de quelques centimètres de diamètre d'un matériau piézoélectrique. En mettant en vibration le quartz dans son premier mode de vibration transversal, sa fréquence de résonance étant comprise entre 5 et 25 MHz et du fait un excellent facteur de qualité aux alentours de  $10^5$ , la fréquence est très sensible à la masse totale en vibration. Ainsi, en ajoutant à la surface d'un tel quartz une couche sensible, et en réalisant un suivi de cette fréquence de résonance lors de la réaction, on peut avoir accès à une variation de masse. Notons qu'il n'est pas aisé d'appliquer cette méthode en milieu liquide du fait de la forte sensibilité du facteur de qualité à la viscosité du fluide, mais des améliorations techniques récentes permettent d'obtenir de bons résultats [5]. Les microleviers sont utilisés suivant deux modes de détection en déformation statique [6] en suivant par exemple les variations d'une piézorésistance intégré dans le microlevier ou en mode résonance en suivant la variation de la fréquence de résonance [7]. Ce type de capteur est très sensible (jusqu'à des concentrations de  $10^{-18}$  mole) et donc peu approprié pour nos applications.

- Détection électrochimique :

Les capteurs électrochimiques opèrent dans les milieux liquides et gazeux de manière continue. Nous pouvons les classifier selon leur mode de transduction : potentiométrique, ampérométrique ou impédancemétrique [8, 9]. Les capteurs impédancemétriques sont surtout basés sur la mesure de la conductivité ou de la capacité entre deux électrodes interdigitées. La conductivité d'une solution peut être mesurée car celle-ci dépendant de la concentration en ions. Il est aussi possible de mesurer une conductivité de surface entre électrodes en ayant déposé une couche sensible à la surface des électrodes. Lorsque l'espèce à détecter a été

piégée par la couche sensible, l'impédance électrique de cette couche s'en trouve modifiée. Les capteurs ampérométriques mesurent le courant issu de l'électrolyse d'une espèce électro-active en analysant les variations du courant autour d'un potentiel donné [10]. Le courant est directement relié à la concentration dans la solution des espèces électro-actives ou à leur vitesse de production. Les réactions choisies sont souvent telles que les courants mesurés dépendent de la concentration des espèces à analyser, des propriétés des matériaux, de la géométrie des électrodes et des mécanismes de transport des espèces en solution (migration, convection, diffusion) [11]. Ces capteurs ont une bonne sensibilité et un temps de réponse assez rapide. Les plus populaires et les plus anciens des capteurs potentiométriques sont les électrodes ionosensibles (EIS) [12, 13]. Elles mesurent la différence de potentiel entre deux électrodes qui se développe à travers une membrane sensible. Ce potentiel est proportionnel à la concentration de l'espèce à détecter. Ces EIS balayent un grand domaine d'applications avec une large gamme de détection. Néanmoins, elles sont fragiles, peu intégrables, relativement chères et ont besoin d'une maintenance régulière. Un autre capteur potentiométrique, les ChemFETs (Chemical Field Effect Transistor) à base de transistor MOS avec une grille métallique isolée a été proposée par P.Bergveld dans les années 70 [14]. Ce type de capteur remporte un grand succès dans diverses applications comme la biologie avec les BioFETs (biological FET), les ImmunoFETs, les EnFETs (Enzyme FET), ou encore pour la détection des ions avec les ISFETs. Le principe de détection est basé sur la variation du potentiel grille source ( $V_{gs}$ ) pour un courant drain source ( $I_{ds}$ ) donné. Ce potentiel ( $V_{gs}$ ) varie en fonction de la concentration de l'espèce à détecter grâce à la couche sensible déposée sur la grille du transistor. Les principaux atouts de ces capteurs chimiques ChemFETs sont leur compatibilité avec les microtechnologies, donc la possibilité de production de masse à faible coût, leur simplicité d'utilisation, leurs faibles dimensions et leur caractère générique.

## **CHAPITRE I**

# **Principe, théorie et méthode de base de l'électrochimie**

Dans ce premier chapitre, nous nous appuierons sur les ouvrages de synthèses de B. Trémillon et F. Bedioui [15, 16, 17] qui donnent dans les différents domaines particuliers de l'électrochimie : les bases théoriques et les méthodes d'analyse.

## I. Interface électrolyte solide

Dans tous processus électrochimiques, on relève plusieurs types de phénomènes associés à un transfert de charge électrique aux interfaces formées par la mise en contact d'électrodes (conduction électronique) et d'un électrolyte (conduction ionique). Lors de ce transfert de charge, on assiste à une transformation chimique : l'oxydoréduction.

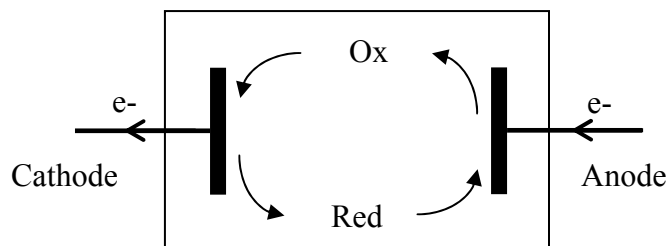
Ces réactions d'oxydation et de réduction obéissent au schéma réactionnel suivant :



Comme illustré par la figure I.1. Le potentiel d'équilibre de la solution est défini par la loi de Nernst :

$$E_{eq} = E^0 + \frac{RT}{nF} \cdot \ln \frac{C_{Ox}^{sol}}{C_{Red}^{sol}} = E^0 + \frac{kT}{nq} \cdot \ln \frac{C_{Ox}^{sol}}{C_{Red}^{sol}} \quad (1)$$

Avec  $E^0$  constante appelée potentiel standard apparent (thermodynamique) caractéristique du système considéré,  $F$  constante de Faraday ( $9,65 \cdot 10^4$  C/mol),  $n$  nombre d'électron,  $R$  constante des gaz parfaits ( $8,31$  J/K/mol),  $T$  température absolue,  $C_{OX}^{sol}$  et  $C_{Red}^{sol}$  les concentrations des espèces Ox et Red en solution.



*Figure I-1 : réaction d'oxydoréduction et transport du courant dans une chaîne électrochimique.*

Le potentiel d'équilibre n'est mesurable que lorsque le courant  $I$  dans la solution est nul. Dès lors qu'il existe un courant dans la solution, le potentiel  $E \neq E_{eq}$  et le système Ox/Red devient complet.

## **II. Courant dans un électrolyte**

Après avoir mentionné les expressions générales à partir desquelles le courant est calculé, nous donnerons la relation de Butler-Volmer qui est reprise dans tous les traités de l'électrochimie. Cette relation tient compte des constantes de vitesse, de transfert de charge et de l'activité faradique.

Enfin, en nous plaçant dans le cas de nos expériences, nous rappellerons les simplifications permettant d'aboutir à la relation de Tafel et à l'expression de la résistance de transfert de charge.

Dans le cas général, pour tout système  $\text{Ox} + n\text{e}^- \leftrightarrow \text{Red}$ , les réactions électrochimiques reliant les nombres de mole  $N_{\text{Ox}}$  ou  $N_{\text{Red}}$  produites ou consommées aux électrodes à la charge électrique totale  $Q$  transférée à travers l'interface électrode/solution sont données par la loi de Faraday.

$$N_{\text{Ox}} = N_{\text{Red}} = \frac{Q}{n.F} \quad (2)$$

Le courant électrique  $I$  traversant l'interface électrochimique dépend de la vitesse du processus. Ces deux grandeurs sont reliées par l'expression classique suivante :

$$\frac{I}{n.F.A} = \frac{j}{n.F} = k_a \cdot c_{\text{Red}}^* - k_c \cdot c_{\text{Ox}}^* \quad (3)$$

Avec  $A(\text{cm}^2)$  aire de l'électrode,  $I(\text{A})$  intensité du courant,  $j(\text{A}/\text{cm}^2)$  densité du courant,  $k_a$  et  $k_c$  ( $\text{cm}/\text{s}$ ) constantes de vitesse caractéristiques du processus d'oxydation et de réduction,  $c_{\text{Ox}}^*$  et  $c_{\text{Red}}^*$  les concentrations respectives de Ox et Red à la surface de l'électrode.

C'est en tenant compte :

- de ces vitesses de transferts de charges  $k_a$  et  $k_c$  qui obéissent à la loi d'activation d'Arrhenius,
- de l'activité Faradique,
- de l'application d'un surpotentiel  $\eta = E - E_{\text{eq}}$  que l'on abouti à la relation de Butler-Volmer :

$$j = j^0 \cdot \left[ \left( \frac{c_{\text{Red}}^*}{c_{\text{Red}}^{\text{sol}}} \cdot \exp\left(\frac{(1-\alpha).n.F}{R.T} \cdot \eta\right) \right) - \left( \frac{c_{\text{Ox}}^*}{c_{\text{Ox}}^{\text{sol}}} \cdot \exp\left(\frac{-\alpha.n.F}{R.T} \cdot \eta\right) \right) \right] \quad (4)$$

Avec  $j^0$  la densité de courant d'échange à l'équilibre.

## Partie I

Lorsque le courant d'électrolyte est faible ou que la solution est très saturée de telle sorte que l'on puisse considérer les concentrations constantes dans toute la cellule d'expérience (comme c'est notre cas) la relation de Butler-Volmer se simplifie et devient :

$$j = j^0 \cdot [\exp(\frac{(1 - \alpha) \cdot n \cdot F}{R \cdot T} \cdot \eta) - \exp(\frac{-\alpha \cdot n \cdot F}{R \cdot T} \cdot \eta)] \quad (5)$$

La relation de Tafel est déduite de cette expression lorsque la surtension  $\eta$  appliquée au système est relativement élevée :

$$\log(j_a) = \log(j^0) + \frac{(1 - \alpha) \cdot n \cdot F}{R \cdot T} \cdot \eta \quad (6)$$

$$\text{et} \quad \log(-j_c) = \log(j^0) - \frac{\alpha \cdot n \cdot F}{R \cdot T} \cdot \eta \quad (7)$$

Avec respectivement  $j_a$  et  $j_c$  les densités de courant d'oxydation et de réduction.

Ces expressions sont intéressantes d'un point de vue expérimental car elles permettent de déterminer les constantes  $j^0$ ,  $k^0$  et  $\alpha$  comme le montre la figure I.2.

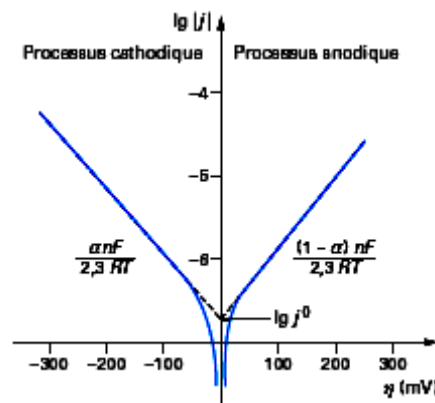


Figure I-2 : détermination expérimentale des constantes cinétiques  $j^0$  et  $\alpha$  en utilisant la relation de Tafel [16]

La résistance de transfert de charge peut être calculée pour des surtensions  $\eta$  très faibles car la relation de Butler-Volmer se simplifie :

$$j = j^0 \left( \frac{n \cdot F}{R \cdot T} \right) \eta \quad (8)$$

Où le terme  $\left( \frac{R \cdot T}{n \cdot F} \right) \cdot \frac{1}{j^0}$  est la résistance de transfert de charge au potentiel d'équilibre,

$R_{tc}$  et dont la valeur est :

$$R_{tc} = \frac{R \cdot T}{n^2 \cdot F^2 \cdot k^0 \cdot (c_{Red}^{sol})^\alpha \cdot (c_{Ox}^{sol})^{(1-\alpha)}} \quad (9)$$



### **III. Transfert et transport de matière**

Que ce soit dans la matière solide ou la matière liquide, il est nécessaire pour étudier le transport et le transfert de matière de considérer les 3 modes suivants :

- la diffusion : c'est le mouvement des espèces électroactives provoqué par un gradient de concentration créé à la suite d'oxydoréduction des espèces à la surface de l'électrode ;
- la migration : c'est le mouvement des espèces chargées provoqué par un gradient de potentiel appliqué à l'électrode ;
- la convection : c'est le mouvement des espèces en solution provoqué par des forces mécaniques (exemple : agitation de la solution).

Rappelons que dans notre cas, nous nous sommes toujours placés en solution saturée ce qui nous permet de supposer que dans le volume de l'électrolyte nous pouvons minimiser la migration des espèces et que nous n'avons ni agité la solution, ni mis en mouvement les électrodes et donc que nous minimisons le mode de convection. Nous ne considérerons donc dans ce paragraphe que le transfert de charge dû à la diffusion.

Quel que soit le système, la diffusion obéit aux lois de Fick qui lient le flux au gradient de la concentration et la variation du profil de la concentration au cours du temps.

• Première équation de Fick : elle permet d'effectuer le bilan de matière sur un plan parallèle à la surface de l'électrode et situé à une distance  $x$  de celle-ci :

$$\Phi = -D \cdot \text{grad}(c) = -D \cdot \frac{\partial c(x)}{\partial x} \quad (10)$$

avec  $D$  ( $\text{cm}^2/\text{s}$ ) coefficient de diffusion de l'espèce électroactives,  $\Phi$  ( $\text{mol}/\text{cm}^2/\text{s}$ ) flux de l'espèce électroactive à la concentration  $c$  en solution.

A l'interface électrode/électrolyte la condition de conversion Ox/Red s'accompagne d'un courant de conduction électrique (figure I.3) :

$$-D_{\text{Ox}} \left( \frac{\partial c_{\text{Ox}}}{\partial x} \right)_{x=0} = D_{\text{Red}} \left( \frac{\partial c_{\text{Red}}}{\partial x} \right)_{x=0} = \frac{j}{nF} \quad (11)$$

• Seconde équation de Fick : elle permet de déterminer la variation de la concentration de l'espèce considérée dans l'espace et dans le temps :

$$\frac{\partial c(x,t)}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 c(x,t)}{\partial x^2} \quad (12)$$

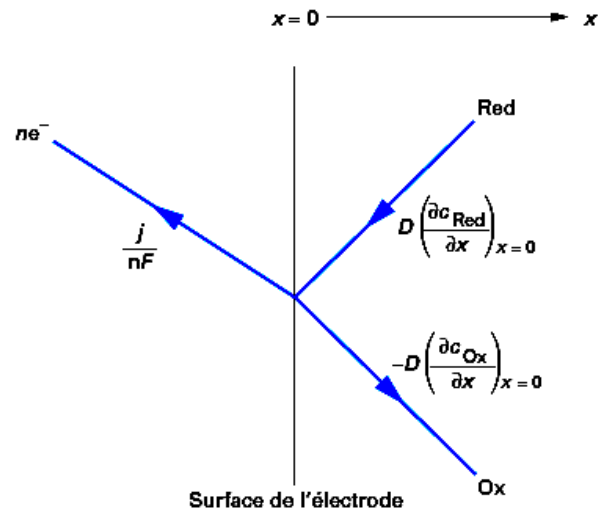


Figure I-3 : Représentation schématique de l'égalité des flux à la surface de l'électrode [16]

Pour résoudre cette équation il est nécessaire de connaître les conditions aux limites.

Ainsi :

- à  $t = 0$  (moment où l'on ferme le circuit), l'électrolyse n'étant pas commencée,  $c(x, 0) = c^{\text{sol}}$  que l'on prenne les oxydants ou les réducteurs.

- quand le circuit est fermé, le potentiel appliqué permet la consommation ou la production de substance près de l'électrode et donc il y a apparition d'un gradient qui modifie le profil de concentration et qui donne naissance au phénomène de diffusion pure (figure I.4).

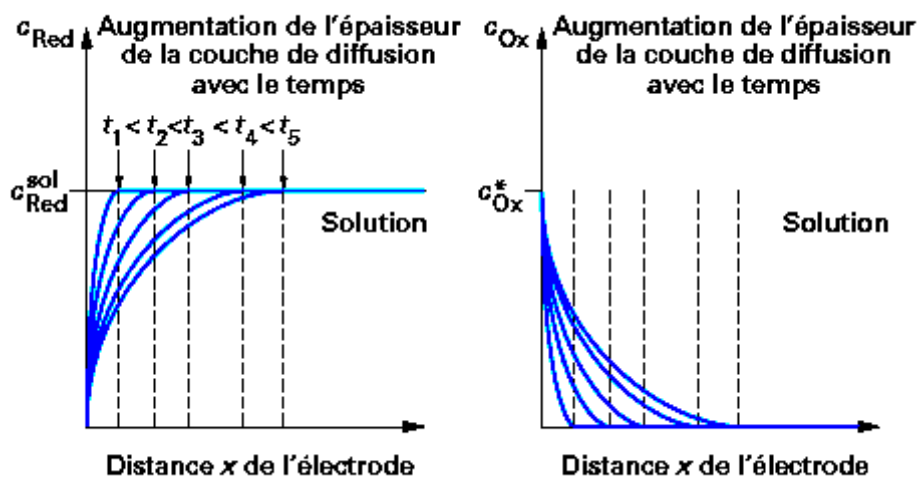


Figure I-4 : Profil de concentration des espèces Red et Ox au cours de la réaction  $\text{Red} - ne^- \rightarrow \text{Ox}$  (ou Red est présent seul en solution) en fonction de la distance  $x$  de l'électrode, à un potentiel où la substance est consommée par une électrolyse en régime de diffusion pure [16].

L'intégration de la deuxième loi de Fick, nous donne le profile de concentration et nous permet d'obtenir la concentration de substance à l'électrode considérée. Le calcul du courant s'en déduit ainsi et les expressions de  $c$  et  $j$  sont donnés par les expressions suivantes :

$$c_{\text{Red}}^* = c_{\text{Red}}^{\text{sol}} - \frac{1}{n.F.(\pi.D_{\text{Red}})^{1/2}} \int_0^t \frac{j(\tau)}{(t-\tau)^{1/2}} d\tau \quad (13)$$

$$j_a(t) = \frac{n.F.D_{\text{Red}} \cdot c_{\text{Red}}^{\text{sol}}}{(\pi.D_{\text{Red}}.t)^{1/2}} \quad (14)$$

La relation (14) est connue sous la relation de Cottrell et est obtenue pour des surtensions élevés.

## **IV. Voltampérométrie**

Dans ce qui suit, afin d'analyser les caractéristiques expérimentales obtenus sur nos systèmes, nous rappellerons simplement les expressions donnant les courants en régime de diffusion pure dans les trois cas qu'il est possible de rencontrer suivant les conditions opératoires que nous adopterons : système rapide, lent et quasi-rapide.

### **IV.1. Système rapide**

Dans le cas d'un système rapide Ox/Red, la loi simplifiée de Nernst suffit à expliquer les différents phénomènes. Le profil de concentration est donné par l'équation (13) et, après intégration, la densité de courant suit la loi suivante :

$$j = -n.F.c_{\text{Ox}}^{\text{sol}}.(\pi.D_{\text{Ox}})^{1/2} \left( \frac{n.F}{R.T} \cdot v \right)^{1/2} \chi(\sigma.t) \quad (15)$$

Où  $\chi(\sigma.t)$  est une fonction de  $E$ , calculée numériquement pour certaines valeurs de  $(E-E_{1/2})$  et  $\sigma = \frac{n.F}{R.T} v$  avec  $E_{1/2}$  le potentiel de demi-vague telle que représentait sur la figure I.5. La densité de courant  $j$  sera exprimée en A/cm<sup>2</sup> si  $D$  est exprimé en cm<sup>2</sup>/s,  $v$  en V/s et la concentration  $c$  en mol/cm<sup>3</sup>, à 25°C.

Ainsi, lors du balayage du potentiel pour le tracé du voltampérogramme, on observe d'abord une croissance du courant lorsque la réaction électrochimique commence à se

produire (ceci correspond à l'accélération du processus par accroissement du surpotentiel), puis une décroissance lorsque le ralentissement dû au phénomène de diffusion devient prépondérant.

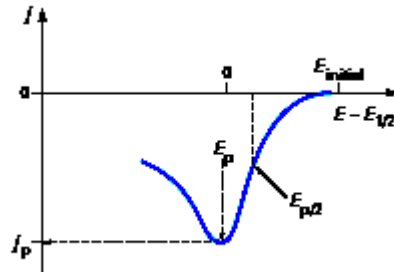


Figure I-5 : Courbe courant-potentiel théorique pour une réaction rapide  $Ox + ne^- \leftrightarrow Red$  en régime de diffusion pure [16].

## IV.2. Système lent

Dans le cas d'un système lent, au lieu de la relation de Nernst, pour prendre en compte les vitesses réactionnelles à la surface des électrodes, on utilise la relation de Butler-Volmer et si le système est vraiment lent, on peut prendre l'approximation de Tafel. Après intégration nous obtenons l'équation suivante [18, 19, 20] :

$$j = -n.F.c_{Ox}^{sol} . (\pi.D_{Ox})^{1/2} \left( \frac{\alpha.n.F}{R.T} . v \right)^{1/2} . \chi \left( \frac{\alpha.n.F}{R.T} \sigma.t \right) \quad (16)$$

## IV.3. Système quasi-rapide

Dans le cas d'un système quasi-rapide, il est nécessaire de prendre en compte la relation inverse et donc de prendre en compte la relation de Butler-Volmer complète. Les développements théoriques ont été développés par plusieurs auteurs [20, 21]. Rappelons que le courant est donné par la relation :

$$j = -n.F.c_{Ox}^{sol} . D_{Ox}^{1/2} . \left( \frac{n.F}{R.T} . v \right)^{1/2} . \psi(E) \quad (17)$$

Où  $\psi$  est une fonction tabulée pour différentes valeurs de  $(E - E_{1/2})$ .

A partir de ces expressions, on constate que, suivant la vitesse de balayage que l'on adopte pour appliquer les potentiels, on se trouve dans un système ou dans un autre. Il sera donc important dans le tracé des voltampérogrammes expérimentaux de bien appréhender ce paramètre de vitesse.

## V. Voltampérométrie cyclique

La voltampérométrie cyclique consiste à effectuer un balayage aller-retour complet du potentiel appliqué. Dans le cas qui nous intéresse (régime de diffusion pure), la caractéristique de  $I(E)$  aller est différente de la caractéristique retour car entre l'aller et le retour, la couche de diffusion a été modifiée dans sa composition. L'allure de la variation du courant au cours du temps et celle du voltampérogramme cyclique sont données par les figures I.6 et I.7.

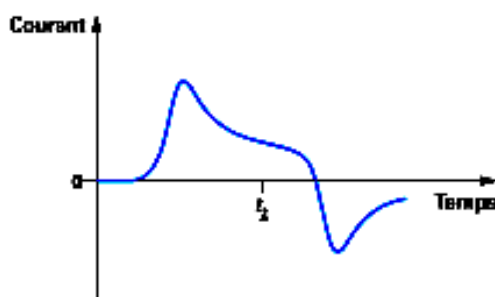


Figure I-6 : Variation du courant en fonction du temps en régime de diffusion pure [16]

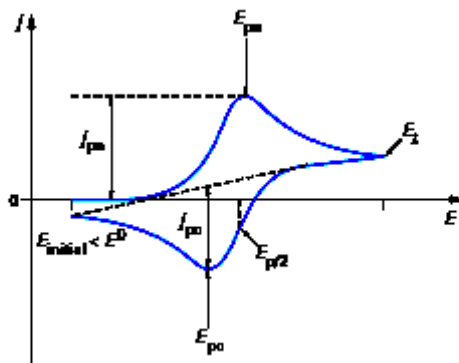


Figure I-7 : Allure du voltampérogramme cyclique d'un système rapide en régime de diffusion pure (Red seul présent en solution) [16]

Compte tenu de ces modifications de composition, il est évident que la forme du voltampérogramme retour dépend du temps d'inversion et du potentiel d'inversion. L'analyse de ces voltampérogrammes en fonction des potentiels de pics (hauteurs et espacements), des courants en fonction du temps et de la vitesse de balayage, nous permettrons ainsi de distinguer les différents systèmes (lent, rapide, quasi-rapide) (figure I.8).

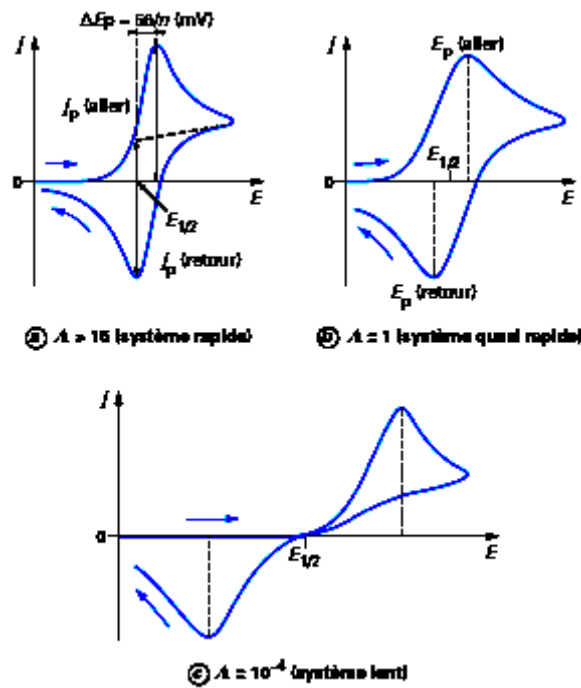


Figure I-8 : Différentes allures des voltampérogrammes cycliques selon la rapidité du système [16]

## VI. Méthode expérimentale généralement utilisée

En général, on utilise des solutions contenant outre les espèces électroactives, un sel d'électrolyte support totalement dissocié permettant de saturer la solution afin de ce placer en régime de diffusion pure. Dans ces conditions le tracé d'un voltampérogramme est de quelques millisecondes à quelques minutes. Afin d'éliminer, quand il est nécessaire, l'oxygène dissous, le mode opératoire généralement utilisé est de faire barboter un gaz inerte pendant quelques minutes [22].

La figure I.9 donne le schéma de base d'un montage expérimental couramment utilisé dans toutes expériences électrochimiques. Il est composé de trois électrodes :

- une électrode de travail sur laquelle on examine les différents processus électrochimiques à explorer.
- une électrode de référence dont le potentiel est constant et connu, ce qui permet ainsi de contrôler le potentiel à l'électrode de travail.
- une électrode auxiliaire appelée aussi contre-électrode qui permet de mesurer le courant circulant dans la cellule électrochimique.

Le potentiostat permet de réguler la tension entre l'électrode de travail et la contre-électrode de manière à maintenir constante la différence de potentiel entre l'électrode de travail et l'électrode de référence (tension de consigne).

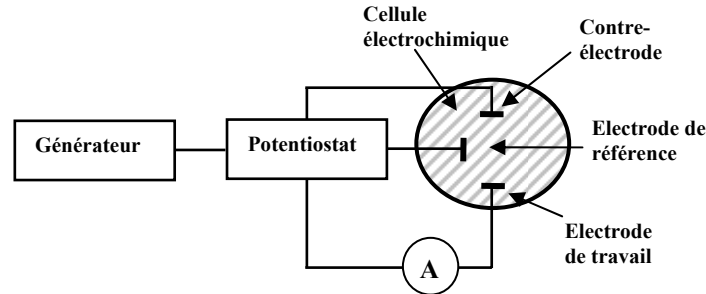


Figure I-9 : Schéma du dispositif expérimental pour les mesures à potentiel contrôlé

## VII. Spectroscopie d'impédance

De tous les travaux traitant de la spectroscopie d'impédance appliquée à l'électrochimie, nous citerons plus particulièrement les ouvrages de B. Trémillon, J.-P. Diard, B. Le Gorrec, C. Montella et C. Gabrielli [15, 23, 24].

Tous systèmes physiques ou chimiques peuvent se modéliser par des circuits électriques constitués de résistances, condensateurs, inductances, sources de courant, sources de tension, ... Ainsi une cellule électrochimique peut être considérée comme un dipôle électrique d'impédance  $Z$ .

Cette méthode d'analyse de systèmes électrochimiques par des mesures impédancemétriques a été introduite en 1960 par Sluyters [25]. Elle consiste à analyser la réponse du système en fonction de la fréquence du signal alternatif d'excitation. Le signal fréquentiel de faible amplitude est superposé ou non à une tension continue de polarisation. Une impédance  $Z(\omega)$  peut se présenter soit sous forme polaire soit en coordonnée cartésienne.

$$Z(\omega) = |Z|. \exp(j \varphi) = \text{Re}(Z) + j. \text{Im}(Z) \quad (18)$$

D'où il découle deux types de tracé, le diagramme de Nyquist et le diagramme de Bode. Nous avons vu précédemment que le courant était dû à un transport de charge (figure I.3) qui donne un courant faradique  $I_F$  et un courant capacitif  $I_C$  dû à la variation de charges inter-faciales. En conséquence, le circuit équivalent appelé aussi schéma de Randles, est donné figure I.10 où  $R_e$  est la résistance série de l'électrolyte et  $C_d$  et  $Z_F$  sont respectivement les impédances capacitives et faradiques de l'interface.

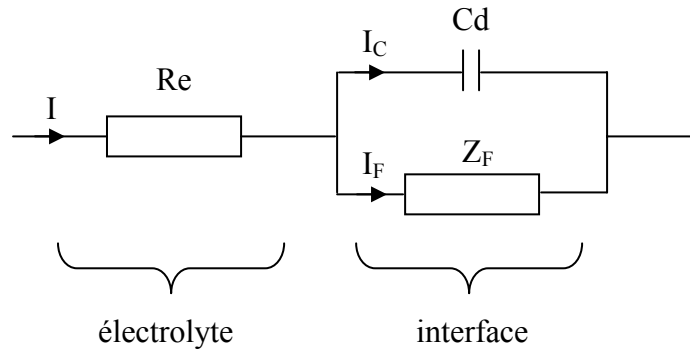


Figure I-10 : circuit équivalent d'un système électrochimique  
(Schéma de Randles).

### • Calcul de l'impédance faradique

Tout calcul d'impédance impose la connaissance de la relation liant le courant à la tension en fonction du temps et donc de la fréquence. Bien souvent cette impédance dépend du point de fonctionnement choisi pour analyser le système considéré.

Les systèmes électrochimiques ne dérogent pas à la règle et c'est pour cela qu'il faut pour le calcul de l'impédance, se placer dans les conditions opératoires choisies, en tenant compte que le signal alternatif de mesure doit être de faible amplitude pour pouvoir linéariser le système ou effectuer des simplifications.

#### → Cas d'une couche de diffusion d'épaisseur infinie [15, 24] :

Le courant faradique  $I_F$  s'exprime comme nous l'avons montré précédemment, sous la forme :

$$I_F = I [E, c_1^*(t)] \quad (19)$$

Où  $c_1^*$  représente les concentrations à la surface de l'électrode des espèces ( $I$  représentant les indices Ox et Red) en solution.

On peut supposer que  $c_1^*(t)$  est de la même forme que  $E(t)$  et  $I(t)$ . Nous pouvons donc l'exprimer ainsi :

$$c_1^*(t) = c_{10}^* + \Delta c_1^*(t)$$

Où le terme d'indice  $_0$  correspond à l'état stationnaire.



Dans ces conditions, les variations du courant en fonction des variations de tension et de concentration sont données en dérivant l'équation (3) qui exprime le courant faradique. Les lois de Fick relient quant à elles, le courant à la variation de concentration soit :

$$j\omega \Delta c_1(x) = D_1 \cdot \frac{\partial^2 \Delta c_1(x)}{\partial x^2} \quad (20)$$

Où  $x$  est l'axe perpendiculaire au plan de l'électrode, et  $\omega$  la pulsation du signal.

L'intégration de cette équation et la prise en considération des conditions aux limites pour la diffusion naturelle semi-infinie permettent d'obtenir la variation du courant en fonction de la variation de la tension et permettent de tirer l'expression de l'impédance faradique.

$$\frac{1}{R_{tc}} \Delta E = \Delta I_F \cdot \left( 1 + \left( \frac{K_C}{\sqrt{D_{Ox}}} + \frac{K_a}{\sqrt{D_{Red}}} \right) \cdot \frac{1}{\sqrt{j\omega}} \right) \quad (21)$$

Soit pour l'impédance :

$$Z_F(\omega) = \frac{\Delta E}{\Delta I_F} = R_{tc} \cdot \left( 1 + \frac{\lambda}{\sqrt{j\omega}} \right) \quad (22)$$

$$\text{Où : } \lambda = \frac{K_C}{\sqrt{D_{Ox}}} + \frac{K_a}{\sqrt{D_{Red}}} \quad (23)$$

On en déduit que l'impédance faradique peut être décomposée en une résistance de transfert  $R_{tc}$  et une impédance issue du processus diffusionnel, appelée « impédance de Warburg ( $Z_W$ ) » :

$$Z_W = \frac{R_{tc} \lambda}{\sqrt{j\omega}} \quad (24)$$

En conséquence, le schéma de Randles devient comme représenté figure I.11 où l'impédance faradique a été remplacée par la résistance  $R_{tc}$  et l'impédance de Warburg  $Z_W$ .

Le diagramme de Nyquist (figure I.12) permet de calculer la résistance de l'électrolyte  $R_e$  pour les hautes fréquences, l'impédance de Warburg pour les basses fréquences à partir de l'asymptote à  $45^\circ$  et le demi-cercle aux moyennes fréquences permet d'accéder à la constante de temps  $R_{tc} \cdot C_d$ .

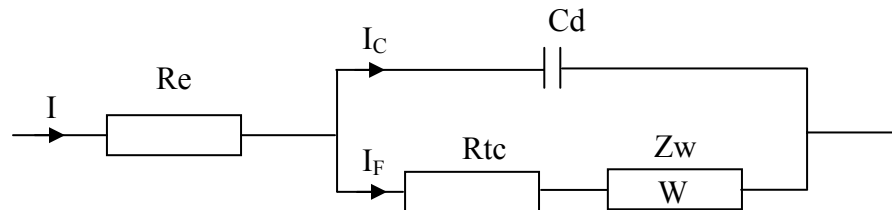


Figure I-11 : circuit équivalent d'un système électrochimique (Schéma de Randles).

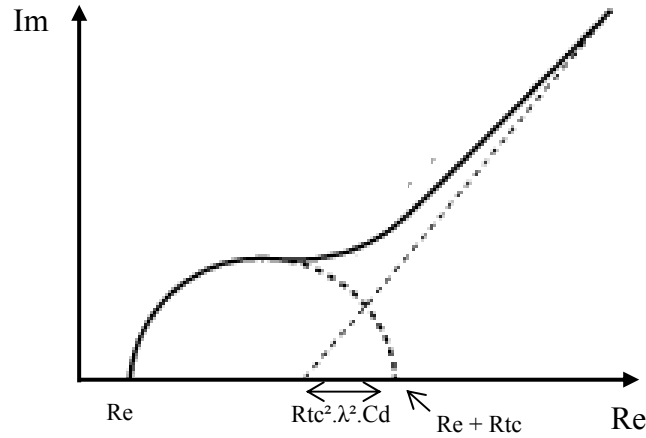


Figure I-12 : Diagramme de Nyquist pour une couche de diffusion d'épaisseur infinie

→ **Cas d'une couche de diffusion d'épaisseur infinie [15,16] :**

Dans ces conditions, l'hypothèse de Nernst est utilisée. Les différents auteurs [15, 24] supposent que la concentration d'espèce diffusante varie linéairement sur toute la largeur de la couche de diffusion. De ce fait, nous avons les conditions aux limites en  $x = 0$  (près de l'électrode) et en  $x = \delta$  (largeur de la couche de diffusion) qui permettent de calculer l'expression du courant et donc de l'impédance de Warburg. Cette expression est donnée par l'équation 25.

$$Z_F(\omega) = Rtc \cdot \left( 1 + \frac{k_c \cdot th\left(\delta \cdot \sqrt{\frac{j\omega}{D_{Ox}}}\right)}{\sqrt{j\omega \cdot D_{Ox}}} + \frac{k_a \cdot th\left(\delta \cdot \sqrt{\frac{j\omega}{D_{Red}}}\right)}{\sqrt{j\omega \cdot D_{Red}}} \right) \quad (25)$$

## **Chapitre II**

# **Les capteurs chimiques en phase**

# **liquide**

## I. Principe de fonctionnement des ChemFETs

En 1970, Piet Bergveld développa un nouveau procédé électronique permettant de mesurer l'activité des ions dans un milieu chimique et biochimique. Il utilisa le principe d'une électrode de verre et d'un transistor à effet de champ. Il mit en évidence la sensibilité aux ions  $H^+$  d'un transistor MOS (Métal-Oxyde-Semiconducteur) sans grille métallique. Il introduisit ainsi le premier capteur chimique (ChemFET) à effet de champ, l'ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor) [26]. La méthodologie de l'ISFET pour la mesure d'ions est développée sur la base du transistor MOSFET (transistor à effet de champ commandé en tension par une grille métallique). Le principe de base du transistor MOSFET est de pouvoir contrôler le courant circulant entre deux zones de semi-conducteur (source et drain) par l'application d'une tension  $V_{gs}$  sur la grille.

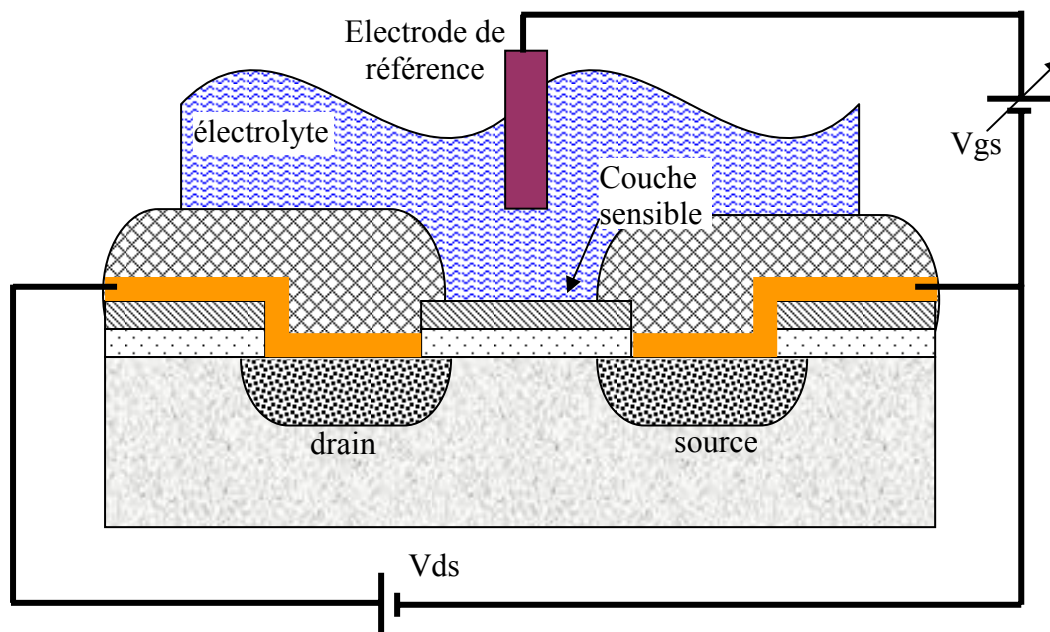


Figure 1-13: Capteur chimique ChemFET

L'électrode de grille métallique est isolée du drain et de la source au moyen d'un oxyde de silicium ( $SiO_2$ ) et commande le courant drain source ( $I_{ds}$ ) électrostatiquement. L'impédance d'entrée, extrêmement élevée de l'électrode de grille implique qu'il n'est pas nécessaire d'appliquer une grande tension d'entrée pour commander ce courant ( $I_{ds}$ ). Dans le cas de l'ISFET, la grille métallique est remplacée par une électrode de référence, l'électrolyte

à analyser et une grille isolante sensible à la concentration en ion recherché (par exemple H<sup>+</sup>). Le système fondamental de mesure du pH-ISFET est montré sur la figure I-13.

Plusieurs matériaux ont été examinés afin de produire une ionosensibilité. Parmi les couches sensibles à l'ion H<sup>+</sup>, la première à avoir été étudiée est l'oxyde de silicium SiO<sub>2</sub>. Après quoi, plusieurs matériaux tels que Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> [27-28], Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> [29-30], Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> [31,32], SnO<sub>2</sub> [33-34] ont été utilisés comme membranes sensibles au pH. Dans notre procédé technologique, nous utilisons du nitrure de silicium (Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>) car le LAAS a développé, il y a quelques temps déjà, la réalisation technologique et la caractérisation d'ISFET à grille ionosensible SiO<sub>2</sub> /Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> en vue de mesure du pH [35].

Quand Bergveld présenta pour la première fois le composant ISFET, celui-ci fonctionnait sans électrode de référence. Cependant, des travaux ultérieurs ont indiqué que les opérations propres à l'ISFET demandent la présence d'une électrode de référence pour établir un potentiel dans l'électrolyte en contact avec le substrat en silicium [36].

## **II. Principe physico-chimique de détection**

L'équation qui régit la tension de seuil d'un MOSFET est la suivante :

$$V_t = \frac{\Phi_M - \Phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{ox} + Q_{ss} + Q_b}{C_{ox}} + 2\Phi_f \quad (26)$$

où :  $\Phi_M - \Phi_{Si}$  reflètent la différence des travaux de sortie entre la grille métallique ( $\Phi_M$ ) et le silicium ( $\Phi_{Si}$ ),  $Q_{ox}$ ,  $Q_{ss}$  et  $Q_b$  sont respectivement les charges dans l'oxyde, à l'interface oxyde-silicium et dans la couche de déplétion du substrat silicium et  $\Phi_f$  est caractéristique du niveau de dopage du substrat.

Dans le cas de l'ISFET, le même procédé de fabrication est utilisé. Cependant des contributions supplémentaires se manifestent ; en effet l'électrode métallique de grille du MOSFET étant remplacée par une électrode de référence, l'électrolyte et la couche chimiquement sensible, l'équation précédente devient :

$$V_t = E_{ref} - \Psi + \chi_{sol} - \frac{\Phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{ox} + Q_{ss} + Q_b}{C_{ox}} + 2 \cdot \Phi_f = V_{t_0} - \Psi \quad (27)$$

Le terme  $E_{ref}$  représente le potentiel de l'électrode de référence,  $\psi$  est le potentiel chimique fonction du pH et  $\chi_{sol}$  est un paramètre constant représentant le potentiel de surface du solvant.

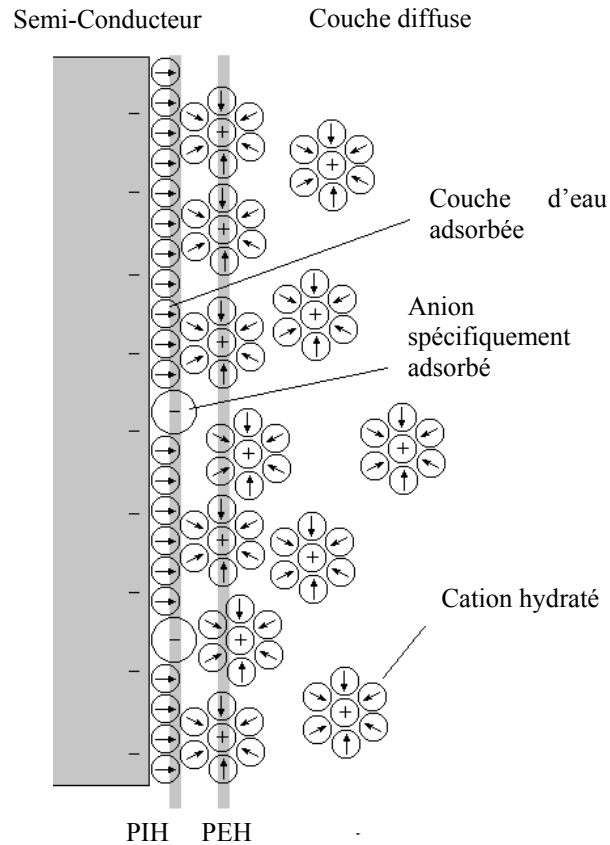
Le principe de fonctionnement du capteur chimique ISFET est donc basé sur le piégeage d'ions au niveau de la couche sensible. Les charges piégées induisent une variation du potentiel chimique  $\psi$  et donc de la tension de seuil du transistor  $V_t$ .

### **III. Détermination du potentiel chimique $\psi$**

Contrairement aux électrodes à ions spécifiques, le principe physico-chimique de détection de l'ISFET est basé sur le cas d'une électrode idéalement bloquante. Dans le cas où aucune charge ne pourrait traverser l'interface électrode-électrolyte, il apparaît à cette interface une région très dense en ions, épaisse de quelques angströms, qui est le siège de réactions électriques et chimiques. L'accumulation de ces charges modifie le comportement de cette interface qui devient alors analogue à un condensateur. Plusieurs modèles ont été développés pour rendre compte et expliquer les phénomènes électrostatiques qui ont lieu à l'interface Electrolyte/Isolant/ Solide. Pour expliquer le fonctionnement de cette structure, la théorie du « Site Binding » semble être à l'heure actuelle la seule théorie utilisée [37-38].

#### **III.1 Etude de l'interface solide-électrolyte**

Du fait de la dimension finie des ions et des molécules de solvant dans une solution électrolytique, il apparaît une différence entre les zones de charge d'espace d'un système solide-électrolyte. Ainsi, dans un système à électrode idéalement bloquante, la zone de charge d'espace est formée de plusieurs couches de structures différentes qui définissent la double couche électrique de HELMOLTZ [38-39]. La capacité de cette double couche est fonction du potentiel. Pour une électrode chargée négativement, la distribution des espèces est présentée de façon simplifiée sur la figure I.14. La distribution du potentiel dans la couche diffuse est décrite par le modèle de GOUY-CHAPMAN-STERN [38-39].



*Figure I-14 : Distribution des espèces à l'interface-solide électrolyte, représentation du modèle de Gouy-Chapman-Stern.*

Ce modèle considère trois régions : La première région, la plus proche du solide est appelée couche interne. Elle contient les molécules d'eau et certaines espèces (ions ou molécules) dont on dit qu'elles sont spécifiquement adsorbées. Cette région s'étend jusqu'au lieu des centres électriques des ions spécifiquement adsorbés appelé plan interne d'HELMOTZ (PIH). Dans la littérature, cette couche interne est aussi appelée couche de HELMOTZ. L'orientation des dipôles dépend de la charge de l'électrode [39-40].

STERN a amélioré ce modèle en tenant compte de la taille des ions solvatés et en considérant que ceux-ci ne pouvaient s'approcher de la surface que jusqu'au plan interne d'HELMOTZ (PIH). La deuxième couche appelée couche de Stern est réservée aux ions solvatés. Cette région s'étend de la distance de contact entre les ions adsorbés et les ions solvatés jusqu'au centre des ions solvatés. Le centre des ions solvatés, le plus proche de la surface du solide est appelé plan externe de HELMOTZ (PEH) [39-40]. La chute de potentiel entre l'électrode et la solution dans ce cas est linéaire et l'interface est équivalente du point de vue électrique à un condensateur plan parallèle.

## Partie I

Une troisième région qui s'étend du plan externe de HELMOTZ jusqu'au sein de l'électrolyte est appelée couche diffuse. Cette couche, comprend les ions non spécifiquement adsorbés. Cette couche diffuse est comparable à la zone de charge d'espace des MOSFETs ; l'extension de cette couche dépend du potentiel et de la concentration en ions de l'électrolyte.

A partir de ce modèle, il a été montré que le champ électrique était constant et que le potentiel variait linéairement dans la couche compacte. La capacité de ce système est donc équivalente à la mise en série de la capacité de la couche diffuse et de la capacité de la couche compacte.

La relation entre le potentiel électrique  $\varphi_0(x)$  à une distance  $x$  du plan PEH et la densité de charge d'espace  $\rho(x)$  est donc :

$$\frac{d^2\varphi_0(x)}{dx^2} = -\frac{\rho(x)}{\epsilon_r \cdot \epsilon_0} \quad (28)$$

où  $\epsilon_r$  est la permittivité de l'eau et  $\epsilon_0$  celle du vide.

La distribution des ions dans la double couche sous l'action du potentiel et de l'agitation thermique est décrite par la statistique de Boltzmann :

$$C_i(x) = C_{i0} \cdot \exp\left(-\frac{q_i \varphi_0(x)}{k \cdot T}\right) \quad (29)$$

où  $C_i$  et  $q_i$  sont respectivement la concentration et la charge de l'ion  $i$ .

La densité de charge est :

$$\rho(x) = \sum_i C_i \cdot q_i = \sum_i q_i \cdot C_{i0} \cdot \exp\left(-\frac{q_i \varphi_0(x)}{k \cdot T}\right) \quad (30)$$

La combinaison des équations 1 et 3 conduit à l'équation Poisson-Boltzmann :

$$\frac{d^2\varphi_0(x)}{dx^2} = -\frac{1}{\epsilon_r \cdot \epsilon_0} \sum_i C_{i0} \cdot q_i \cdot \exp\left(-\frac{q_i \varphi_0(x)}{k \cdot T}\right) \quad (31)$$

Pour un électrolyte symétrique, dans lequel les ions ont une charge de valeur absolue  $q$  :

$$q_+ = -q_- = q$$

$$C_+ = C_- = C$$

Il est possible d'intégrer l'équation 31 avec comme conditions aux limites :

$$\varphi_0(x) = \varphi_{0d} \text{ à } x = 0$$



$$\varphi_0(x) = 0 \text{ et } \frac{d\varphi_0}{dx} = 0 \text{ à } x \rightarrow \infty$$

La solution de l'équation (31) est alors donnée par :

$$\frac{d\varphi_0(x)}{dx} = -\left(\frac{8.k.T.C}{\varepsilon_r.\varepsilon_0}\right)^{1/2} \cdot \sinh\left(\frac{q.\varphi_0(x)}{2.k.T}\right) \quad (32)$$

En utilisant la loi de Gauss, on obtient la charge de la couche diffuse :

$$\sigma_d = -\left(8.\varepsilon_r.\varepsilon_0.k.T.C\right)^{1/2} \cdot \sinh\left(\frac{q.\varphi_{0d}}{2.k.T}\right) \quad (33)$$

Il est maintenant possible de calculer la capacité différentielle  $c_d$  de la couche diffuse en différenciant l'équation précédente :

$$c_d = -\frac{d\sigma_d}{d\varphi_{0d}} = \left(\frac{2.q^2.\varepsilon_r.\varepsilon_0.C}{k.T}\right)^{1/2} \cdot \cosh\left(\frac{q.\varphi_{0d}}{2.k.T}\right) \quad (34)$$

Cette capacité diffuse, qui varie avec la concentration passe par un minimum.  $C_d$  croît rapidement de part et d'autre de ce minimum. Stern, en tenant compte de la taille finie des ions, et du fait qu'ils ne peuvent approcher la surface qu'à une distance finie, a montré que la capacité est en réalité constituée de deux composantes montées en série :

- une capacité indépendante du potentiel correspondant à la capacité des charges portées par le plan externe d'Helmholtz,
- une capacité en forme de V correspondant à la capacité de la charge réellement diffuse.

### **III.2. Interface Electrolyte/Isolant/Silicium (EIS)**

Dans la pratique, la sensibilité au pH mesurée par un ISFET est inférieure à la valeur prédite par la loi de NERNST. Un phénomène chimique propre aux membranes sensibles formées à partir de couche de  $\text{SiO}_2$  est responsable de cette dérive. Il n'y a plus d'équilibre thermodynamique entre les ions dans l'isolant et les ions dans l'électrolyte, par conséquent la loi de NERNST n'est plus applicable. La théorie du site-binding, inspirée des travaux de BOUSSE, explique le procédé qui se produit à l'interface isolant-électrolyte [39-40]. Ce modèle considère les groupes Si-OH sur la couche d'oxyde comme des centres actifs dont la

charge varie proportionnellement aux ions présents à la surface de l'ISFET. Ces centres actifs sont responsables de la formation de la double couche électrique décrite par la théorie de GOUY-CHAPMAN-STERN et donne le potentiel à l'interface oxyde-électrolyte.

Les ions  $H^+$  et  $OH^-$ , présents dans une solution aqueuse sont appelés « ions déterminants le potentiel ». Ces ions sont responsables de l'état de charge à l'interface  $SiO_2$ /électrolyte. Au contact de la solution aqueuse, des groupements de silanol ( $SiOH$ ) se forment à la surface de l'isolant. Ces groupements peuvent être, suivant le pH de la solution, chargés positivement, chargés négativement ou neutres. Le pH particulier pour lequel la surface de la membrane a zéro charge est appelé « pH au point de charge nulle »  $pH_{pcn}$ . La présence de ces groupements de charges amène une correction à l'équation de NERNST habituellement utilisée en électrochimie.

La figure I.15 illustre les trois différents types de groupements silanols à la surface d'une membrane.

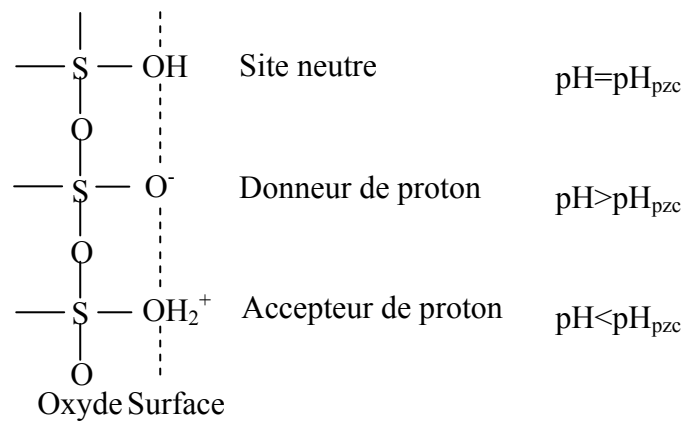
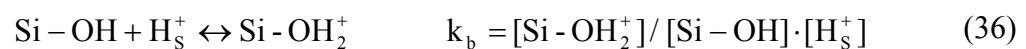


Figure I-15 : Représentation schématique de la théorie du site-binding

La manière la plus simple de calculer la relation reliant la différence de potentiel entre la surface de l'isolant et l'électrolyte ( $\phi_0$ ) et la charge de surface de l'isolant ( $\sigma_0$ ) est d'utiliser les constantes d'équilibres  $k_a$  (constante d'acidité) et  $k_b$  (constante de basicité) des réactions de dissociation des sites hydroxyles amphotères.



## Partie I

Où  $[H_S^+]$  représente la concentration en ions  $H^+$  à la surface de l'isolant et  $[H^+]$  représente la concentration des ions  $H^+$  dans l'électrolyte. Comme dans l'équation (29), la distribution des ions hydrogène dans l'électrolyte peut être décrite par la statistique de Boltzmann :

$$[H_S^+] = [H^+] e^{-q\phi_0/kT} \quad (37)$$

La théorie du site binding permet ainsi de montrer que :

$$[H^+] = (K_a/K_b)^{1/2} e^{(-q\phi_0/kT)} F(\phi_0) \quad (38)$$

En prenant le logarithme de l'équation précédente, on aboutit à :

$$pH = -\log(K_a/K_b)^{1/2} - \frac{q\phi_0}{kT(\ln 10)} - \log F(\phi_0) \quad (39)$$

Ainsi, en isolant le potentiel  $\phi_0$ , on obtient :

$$\frac{q\phi_0}{kT} + G(\phi_0) = \ln(10)(pH_{pzc} - pH) \quad (40)$$

Avec :

$$pH_{pzc} = -\frac{1}{2} \log\left(\frac{K_a}{K_b}\right) \quad (41)$$

L'étude complète permet également de montrer que [41] :

$$G(\phi_0) = \arg\text{Sh}\left(\frac{q\phi_0}{\beta kT}\right) \quad (42)$$

Avec :

$$\beta = \frac{2q^2 N_s}{\left(\frac{K_a}{K_b}\right)^{1/2} C_D kT} \quad (43)$$

Ce terme  $\beta$  va rendre compte de la sensibilité finale. Il est fonction de l'équilibre acide base relatif aux réactions de surface, du nombre total de sites amphotères à la surface de l'isolant  $N_s$  et de la capacité de la double couche (équation 34)  $C_D$ .

Lorsque  $\beta \gg \frac{q\phi_0}{kT}$ , on a :

$$G(\phi_0) \approx \frac{q\phi_0}{\beta kT} \quad (44)$$

L'équation 15 deviendra alors :

$$\frac{q\phi_0}{kT} = \frac{\beta}{\beta + 1} \ln 10 (\text{pH}_{\text{pzc}} - \text{pH}) \quad (45)$$

Ainsi, la sensibilité de l'ISFET sera définie par :

$$S = \left| \frac{d\phi_0}{d\text{pH}} \right| = \ln 10 \cdot \frac{kT}{q} \cdot \frac{\beta}{\beta + 1} \quad (46)$$

Pour un bon nitrure ( $\beta \gg 1$ ), à  $T = 300\text{K}$ , la sensibilité est Nernstienne ( $S \approx 59 \text{ mV/pH}$ )

## **IV. Détection du pH**

Le capteur pH-ChemFET avec la grille  $\text{SiO}_2$  possède une sensibilité faible et sub-Nernstienne de  $30 \text{ mV/pH}$ . L'amélioration des propriétés des micro-capteurs pH-ChemFETs passe par l'investigation et l'optimisation des matériaux de détection et de leur dépôt sur la grille  $\text{SiO}_2$ . De nombreuses membranes sensibles aux ions hydrogène (généralement ce sont des matériaux non-organiques) ont été élaborées afin d'améliorer la sensibilité, la sélectivité, la stabilité et la durée de vie. Notons les principales membranes sensibles aux ions hydrogène et leurs caractéristiques:

- Le nitrure de silicium ( $\text{Si}_3\text{N}_4$ ). Le capteur pH-ChemFET avec la grille diélectrique  $\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$  est caractérisé par un court temps de réponse, un faible courant de fuite et une sensibilité quasi-Nernstienne (autour de  $50 - 56 \text{ mV/pH}$ ). Ce matériau qui est bien connu et maîtrisé dans la technologie des circuits intégrés (IC) a été parmi les premiers impliqués dans les capteurs chimiques [42]. Généralement, cet isolant est obtenu par dépôt chimique en phase vapeur à basse pression (LPCVD) [43-44] ;
- L'oxyde d'aluminium ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ). La sensibilité de cette membrane est autour de  $53 - 56 \text{ mV/pH}$ , néanmoins les capteurs pH-ChemFETs avec la couche  $\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$  possèdent une importante dérive temporelle. La couche sensible est habituellement obtenue par dépôt chimique en phase vapeur (CVD). Cependant, il existe une technique alternative de dépôt par laser pulsé (pulsed laser deposition PLD) qui est chargée d'améliorer la sensibilité du capteur ainsi que sa stabilité temporelle par une meilleure qualité des couches obtenues [45] ;

- L'oxyde de tantale ( $\text{Ta}_2\text{O}_5$ ). Cette couche diélectrique est prometteuse pour la détection des ions hydrogène. Elle possède une bonne sensibilité de 58 – 59 mV/pH et une petite dérive temporelle de 0,03 – 0,05 pH/jour. Les membranes de  $\text{Ta}_2\text{O}_5$  ne sont pas sélectives aux ions potassium  $\text{K}^+$ , calcium  $\text{Ca}^{+2}$  et sodium  $\text{Na}^+$ . Ce matériau est déposé soit par pulvérisation radiofréquence RF [46], soit par dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma (PECVD) [47] ;

Pour aller plus loin, notons que les matériaux conducteurs tels que Pt, TiN sont également sensibles aux ions hydrogène. On peut citer ici d'autres types d'oxydes sensibles aux ions hydrogène:  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{PtO}_2$ ,  $\text{Ir}_2\text{O}_3$ ,  $\text{OsO}_2$ ,  $\text{SnO}_2$ ,  $\text{WO}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$  ou encore le silicium amorphe hydrogéné, le carbone structure diamant, etc. Ces couches sont déposées sur la grille diélectrique par pulvérisation. Leur sensibilité au pH est autour de 55 mV/pH. Cependant, elles ne sont pas trop utilisées.

Les membranes organiques qui sont répandues pour la détection de divers types d'ions sont rarement utilisées pour la détection du pH. Wakida & al. ont proposé d'utiliser la couche sensible à base d'amines ternaires (tridodecylamine, methyldioctadecylamine) pour détecter des ions hydrogène. Son rôle consiste à diminuer l'interférence de la force ionique et des charges contaminant la surface. Généralement, ces membranes fonctionnent dans la gamme du pH [2-9], elles ont un coefficient important de non-linéarité et une faible adhérence aux surfaces diélectriques. Ce type de capteurs pH-ChemFETs est destiné à des applications spécifiques.

## **V. Principe de mesure**

Le principe de mesure est le suivant : la valeur du courant de drain ( $I_{ds}$ ) est maintenue constante à une valeur  $I_0$  au moyen d'un asservissement électronique. Si la valeur du pH de la solution change, la tension de seuil de l'ISFET ( $V_t$ ) change ainsi que le courant de drain. La rétroaction électronique rajuste la tension fixée par l'électrode de référence de telle manière que le courant de drain soit maintenu constant à la valeur  $I_0$ . L'écart entre la nouvelle tension de grille ( $V_{pH2}$ ) et l'ancienne ( $V_{pH1}$ ) est proportionnel à la variation de pH (figure I-16).

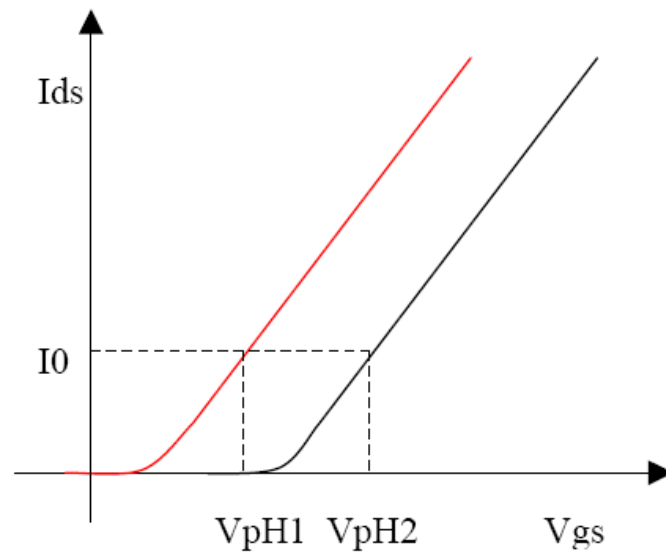


Figure I-16 : Réponse au pH d'un capteur ISFET. Variation de la tension de seuil pour des mesures  $I_{ds}(V_{gs})$  effectuées dans deux solutions différentes.

Ainsi, la sensibilité au pH est déterminée de la manière suivante :

$$S = d\psi/dpH = (V_{pH2} - V_{pH1}) / (pH2 - pH1) \quad (47)$$

# **CHAPITRE III**

## **Intégration des polymères**

## **I. Introduction**

Dans le cadre du développement de la microélectronique dans le domaine de la biologie, les polymères apparaissent comme des biomatériaux très prometteurs. En effet, leur utilisation est de plus en plus courante dans des domaines tels que la médecine où ils sont utilisés dans certains procédés chirurgicaux notamment oculaires, comme implants artificiels, prothèses ou bien dans les systèmes de distribution automatique de médicaments [48].

Dans le domaine des biotechnologies, les polymères servent déjà couramment de support pour l'immobilisation des biorécepteurs classiques : protéines, anticorps, oligonucléotides... Mais dans l'ensemble, ces polymères doivent avoir des propriétés bien spécifiques, notamment dans le domaine biomédical.

Dans le domaine des microtechnologies, les polymères sont utilisés depuis très longtemps comme encapsulant avec des propriétés tels que la conduction thermique, la protection électromagnétique ou encore la protection anti UV. Pour nos applications de capteurs en milieu liquide, les polymères doivent également protéger les connections électriques et donc être imperméables. De plus, ces polymères doivent pouvoir être facilement modulables afin d'obtenir des motifs tri-dimensionnels avec une résolution submillimétrique correcte.

Les polymères sont sélectionnés suivant différents critères tels que leur résistance mécanique, leur dégradabilité, leur perméabilité, leur solubilité ou encore leur transparence. Et, dans tous les cas, il est nécessaire d'optimiser leurs propriétés surfaciques et volumiques. Si toutes ces propriétés ne sont pas forcément recherchées, il en est deux qui elles sont quasiment obligatoires pour des polymères utilisés dans le cadre de la biologie et plus particulièrement dans celui du biomédical. Il s'agit des propriétés de biomimétisme et de biocompatibilité. Il semble important à ce niveau de définir ces deux termes caractérisant un polymère puisque nous y ferons référence plus loin.

Biomimétisme : Il s'agit de la capacité d'un matériau artificiel à se comporter de la même manière que le matériau original que ce soit au niveau de la microstructure ou de la macrostructure. Actuellement, les comportements biomimétiques les plus courants sont observés en chimie où les réactions chimiques suivent un processus analogue à un processus biochimique. En effet, certains polymères utilisés dans les biomatériaux sont constitués de regroupements chimiques qui sont ordonnés de façon à imiter les caractéristiques de



molécules naturelles. Ces biomatériaux ou produits de synthèse biomimétiques ne font pas obstacle à la communication biochimique.

Biocompatibilité : il s'agit de la capacité d'un matériau à réagir de façon appropriée à la réponse de l'hôte lors d'une application spécifique. Cette affinité fait que les biomatériaux sont bien tolérés par l'organisme hôte et qu'ils ne provoquent pas de réaction de rejet, de réaction toxique, de lésion ou d'effet nocif sur les fonctions biologiques de ce dernier.

## **II. Définition**

“Un polymère est une macromolécule formée de l'enchaînement covalent d'un très grand nombre d'unités de répétition qui dérivent d'un ou de plusieurs monomères (qui sont également appelés motifs)” [49].

Initialement inspirés par la nature qui met à profit les propriétés de macromolécules telles que l'ADN et les protéines, les chimistes se sont vite intéressés aux polymères. La combinaison de monomères plus simples amène à une grande variété de macromolécules. De homopolymère statistique séquencé alterné plus, il existe plusieurs types de polymérisation, influençant le nombre d'unités, et par suite les propriétés physiques et chimiques du polymère final. On distingue deux grandes familles de polymères :

- des monomères éthyléniques (le squelette final étant uniquement carboné),
- des hétéroatomes qui peuvent servir de jonctions.

Mais il existe également une autre façon de classer les polymères :

- Les homopolymères qui ne possèdent qu'un seul type d'unité ...MMMMMMM...
- Les copolymères qui possèdent plusieurs types d'unités
  - ✓ Copolymère statistique : ...MNNMMMMNNNMNMMNMNMN...
  - ✓ Copolymère séquencé: ...MMMMMMMMMMMMNNNNNNNM...
  - ✓ Copolymère alterné: ...MNMNMNMNMN...

“Les polymères, qu'ils soient homo ou copolymères, peuvent être réticulés. Un polymère réticulé est un polymère dont certaines de ses chaînes sont reliées entre elles par des ponts chimiques covalents” [49].

L'avantage des polymères par rapport aux autres matériaux comme les métaux ou les céramiques, est de pouvoir modifier leur composition pour obtenir une plus grande variété de structures et de propriétés. S'il existe des polymères d'origine naturelle tels que la soie ou la cellulose, les polymères d'origine synthétique sont, d'une manière générale plus intéressants par la malléabilité de leur composition.

L'inconvénient reste le manque de biocompatibilité de la majorité de ces matériaux qui sont la cause de réactions inflammatoires lors de la mise en contact avec un milieu vivant. Malgré cela, certains de ces matériaux sont déjà très utilisés dans le milieu médical. La liste des applications présentée est loin d'être exhaustive, mais elle donne une vision globale du rôle des polymères dans la médecine actuelle.

Il ne faut pas perdre de vue que les capteurs que nous souhaitons développer sont principalement destinés à un usage biomédical qui peut être étendu au domaine biologique et biochimique en général ou, en un mot, au domaine du vivant. Il apparaît donc important, à ce niveau de souligner les intérêts avérés des polymères pour des applications de la microélectronique en biologie :

- Ils sont relativement peu chers
- Ils peuvent être déposés sur des types de substrats très variés
- Les techniques de fabrication, de réticulation et de fonctionnalisation permettent de moduler assez facilement leurs propriétés.

Comme le montre le tableau I-1 [50], les polymères commencent déjà à être bien implantés dans le monde de la microélectronique en présentant à la fois des avantages et des inconvénients. En effet, si la théorie laisse entrevoir un nombre quasi-infini de possibilités de détection, il n'en est pas de même dans la pratique.

L'étape limitante dans la fabrication de capteurs possédant une couche sensible basée sur la chimie des polymères est le dépôt même de ce polymère et surtout, le mode d'insertion de l'élément détecteur au sein de la macromolécule. Lorsqu'il s'agit d'intégrer une « simple » molécule chimique, les contraintes existent mais peuvent être contournées plus ou moins aisément. Il n'en va pas de même lorsque le récepteur est d'origine vivante. En effet, dès qu'il s'agit d'une entité biologique, les techniques sont vite limitées. En effet, le choix des réactifs

chimiques à utiliser dans le procédé est restreint et les températures appliquées doivent être basses (de l'ordre de 40°C). Diverses méthodes ont déjà été mises en œuvre. Tout comme pour les modes d'accroche directe, il va exister plusieurs façons d'amener l'élément biologique sensible sur la grille du capteur grâce à un polymère. Nous ne nous intéresserons finalement ici que très peu aux modes de dépôt des polymères sur le substrat. Nous en citerons quelques uns sans entrer dans les détails des techniques. Cette seconde partie de l'état de l'art s'attachera plutôt aux modes d'intégration de l'élément sensible au sein du polymère et à l'état physique de ce dernier.

Type de capteur	Avantages	Inconvénients	Etat actuel
	Comparé aux membranes inorganiques		
Thermistance CTP (coefficient de température positif)	Effet CTP net dans une large gamme de températures	Gamme de travail limitée	Disponible sur le marché
Capteurs de pression	Très grande sensibilité, résistance aux chocs	Problèmes de stabilité	Recherche et développement
Capteurs tactiles	Flexibilité, la meilleure imitation des doigts humains		Recherche et développement
Capteurs acoustiques	Grande sensibilité, résistance aux chocs	Gamme de températures limitée	Disponible sur le marché
Capteurs infrarouges	Grande résistivité thermique	Faible sensibilité	Disponible sur le marché
Capteurs d’humidité	Grande sensibilité, intégration possible	Problèmes de stabilité	Disponible sur le marché
Capteurs de gaz	Grandes sensibilité et sélectivité, travail à température ambiante	Dérive à long terme	Quelques uns disponibles sur le marché, les autres sont en cours de développement
Capteurs sensibles aux ions	Grande sélectivité, large choix d’ionophores	Courte durée de vie	Electrodes disponibles sur le marché, capteurs intégrés en cours de développement
Biocapteurs	Biocompatibilité, immobilisation relativement facile d’enzyme ou d’autres composés biologiques	Courte durée de vie	Recherche et développement Quelques uns sur le marché

Tab. I-1: Résumé de la situation, des avantages et inconvénients des capteurs utilisant les polymères

### III. Dépôts

#### • Dépôt par la technique de Langmuir-Blodgett

Historiquement, le physicien américain Langmuir et son assistante Miss Blodgett mirent en évidence le fait qu'une goutte d'huile (molécule amphiphile) déposée sur une surface statique d'eau, s'étale jusqu'à former un film monomoléculaire. Ce film, moyennant quelques précautions, peut être récupéré sur une surface propre et présente des propriétés tout à fait remarquables.

Une petite quantité d'une solution d'un composé organique à longue chaîne typiquement amphiphile, c'est à dire possédant une extrémité hydrophile (fonction acide) et une extrémité hydrophobe (chaîne carbonée) est introduite dans une cuve remplie d'eau. En raison de sa structure, après évaporation du solvant, ce matériau va former un film monomoléculaire à la surface de l'eau. Une barrière mobile va permettre de comprimer ce film afin de ne laisser aucun espace libre sur la surface. Dans ces conditions, toutes les molécules se disposent parallèlement les unes aux autres et, de manière schématique, perpendiculairement au plan de la surface liquide, avec l'extrémité hydrophile au contact de l'eau comme représenté sur la figure I-17.

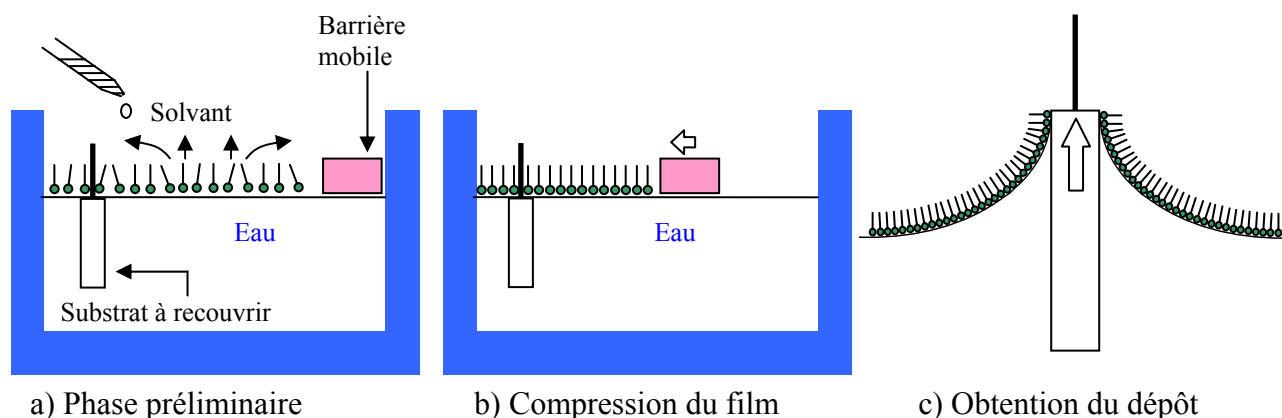


Figure I-17: Mode de réalisation du dépôt de couche de Langmuir-Blodgett

On immerge alors perpendiculairement à la surface le substrat support du futur capteur et on le retire doucement. Cette manœuvre doit être réalisée à l'aide d'un mécanisme de précision automatique, c'est à dire ne produisant aucune vibration latérale et se déplaçant

verticalement à vitesse constante. En raison du phénomène de capillarité, le film se fixe sur le substrat avec une bonne adhérence et constitue une structure mono-moléculaire pratiquement exempte de défauts. En procédant à plusieurs passes, il est possible d'empiler ainsi plusieurs dizaines de monocouches (la limite possible est dépendante du type de molécule) [51-53].

### • Dépôt à la microgoutte

Cette méthode consiste à venir déposer manuellement une microgoutte à l'aide d'une micropipette directement sur la partie active du capteur. Cette technique est la plus utilisée en laboratoire car elle est simple, ne nécessite pas de matériel spécifique, ni de compétence particulière. De plus, il n'y a aucune perte du produit déposé (très utilisé pour le dépôt de substance onéreuse). Néanmoins, la reproductibilité de cette technique est très aléatoire (variation d'épaisseur et de dimension). Toutefois, ces inconvénients sont en partie éliminés lorsque le dépôt est accompli par un automate. Cette technique de dépôt automatisé est très utilisée pour les puces à ADN permettant ainsi de créer des matrices (microarray) de plusieurs dizaines de microgouttes espacées régulièrement et de taille identique [54].

### • Dépôt à la tournette (spin-coating)

Cette méthode consiste à déposer par centrifugation une solution déposée en excès sur un substrat. Cette technique a l'avantage d'être facilement mise en œuvre, pour des investissements relativement modérés. De plus, elle est considérée comme une technique de base de la microélectronique classique. Cette méthode de dépôt peut être décomposée en quatre phases :

- 1) le dépôt de la solution
- 2) le début de la rotation : la phase d'accélération provoque l'écoulement du liquide vers l'extérieur du substrat
- 3) la rotation à vitesse constante permet l'éjection de l'excès de liquide sous forme de gouttelettes et la diminution de l'épaisseur du film de façon uniforme
- 4) l'évaporation des solvants les plus volatils qui accentue la diminution de l'épaisseur du film déposé

En contrôlant les paramètres de rotation, il est possible de calculer l'épaisseur du film déposé : Meyerhoffer a publié un modèle prenant en compte les paramètres entrant en jeu lors du dépôt [55]. Nous étudierons ce modèle un peu plus en avant de ce mémoire puisque c'est cette technique de dépôt que nous avons choisi d'utiliser. Il est possible de trouver dans la littérature différents types de capteurs dont la membrane a été réalisée par cette méthode. C'est le cas de détecteurs chimiques pour les vapeurs organiques fabriqués à partir de poly(thienylene vinylene) [56], de capteurs de gaz pour le monoxyde d'azote [57], de capteurs pH magnétoélastiques [58] ou encore de capteurs optiques d'urée utilisant un film de poly(vinylchlorure) [59].

## **IV. Accroches**

### **• Polymérisation**

Dans la polymérisation en chaîne, les monomères s'associent sans réaction d'élimination simultanée. C'est le procédé le plus utilisé dans l'industrie : le polyéthylène, le polypropylène, le polystyrène, l'alcool polyvinylique et le polytétrafluoroéthylène (Téflon) sont des exemples de polymères obtenus par polymérisation en chaîne. Comme toute réaction en chaîne, cette polymérisation comporte les étapes suivantes : l'amorçage (formation des centres actifs à partir du monomère); la propagation (croissance des chaînes de polymère par additions successives); la terminaison (destruction du centre actif et interruption de la croissance des chaînes).

La polymérisation peut être radicalaire, cationique ou anionique selon la nature de l'espèce active. Dans le cas des polymérisations radicalaires, les plus courantes, l'amorçage s'effectue sous l'action de la chaleur, par irradiation ou par des molécules spécifiques. Les espèces actives sont des radicaux libres. Le polymère ainsi obtenu est dit atactique : il a une structure totalement désorganisée, ou amorphe.

En 1983, on a découvert une nouvelle méthode de polymérisation par addition : la polymérisation par transfert de groupe, ou télomérisation. Un groupe activant dans la molécule initiant le procédé établit une réaction de transfert aux extrémités des chaînes en croissance, et limite ainsi la longueur des chaînes. La télomérisation est par exemple utilisée pour synthétiser les plastiques acryliques.

Il existe quatre techniques principales de mise en œuvre des réactions de polymérisation : les polymérisations en solution, en masse, en suspension et en émulsion.

### • Liaisons covalentes

Un autre « grand » mode de fixation sur une surface est la création de liaisons covalentes entre le substrat et la particule à immobiliser. Le couplage covalent se fait généralement avec un support fonctionnalisé insoluble dans l'eau. Lorsque cette technique est utilisée avec un élément biologique, la réaction implique des sites qui ne sont pas essentiels à l'activité biologique de la molécule.

De façon générale, l'attachement d'une entité biologique (enzyme, anticorps, protéine...) à la surface d'un capteur résulte de deux étapes. La première étape consiste en l'activation de la surface inerte du capteur, afin de lui donner une réactivité chimique. La seconde étape nécessite de lier le biorécepteur à cette surface chimiquement activée. La nature exacte des réactions chimiques impliquées dépend fortement du type de surface.

Bien que les surfaces métalliques soient chimiquement inactives, elles peuvent être fonctionnalisées avec des réactifs tels que les chloro- ou alkylsilanes [60] lorsqu'elles sont recouvertes d'un fin film d'oxyde. Par analogie avec les surfaces de silice, les surfaces Pt/PtO, Au/AuO et SnO<sub>2</sub> possèdent beaucoup de sites M-OH (où M représente le métal). Lorsqu'ils sont en contact, sous conditions anhydres, avec par exemple une solution de dichlorodiméthylsilane [Cl<sub>2</sub>Si(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>], les réactifs organosilanes sont immobilisés grâce à la création de liaisons –MOSi-, chimiquement très stables (où MO représente l'oxyde de métal de surface) [61].

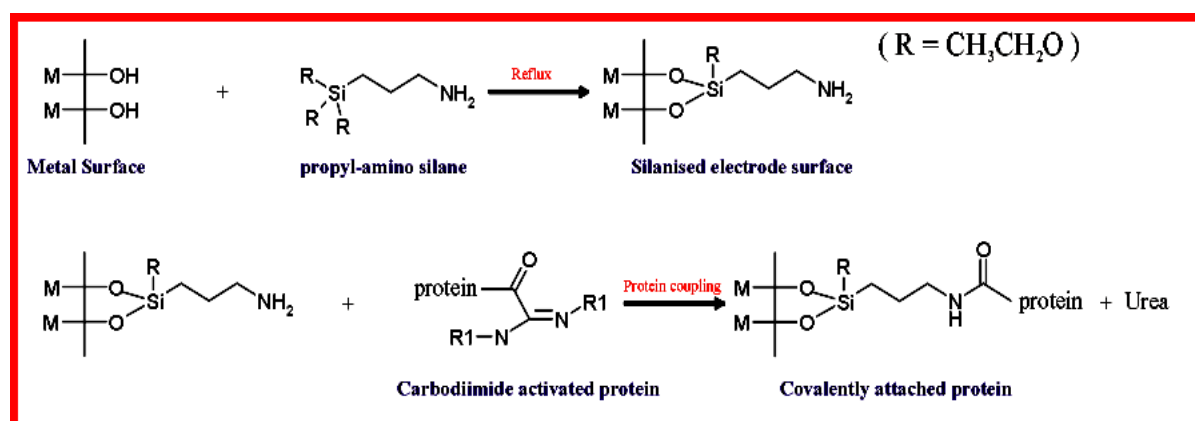


Fig. I-18: Formation de la liaison covalente entre une enzyme et une électrode métallique par la formation d'une liaison amide entre le groupement amine du silane et la fonction acide carboxylique de la protéine [62].

Bien que la réaction décrite ci-dessus produise une surface fonctionnalisée, celle-ci n'est pas forcément appropriée au greffage d'éléments biologiques du fait du manque de réactivité des groupements méthyls.

Pour lier un biorécepteur de façon covalente, il est important que l'organosilane utilisé soit porteur, par exemple, d'un groupement amine primaire ou encore d'une fonction acide carboxylique. Un réactif très utile dans ce contexte est le propylaminosilane  $[(CH_3CH_2O)_3Si(CH_2)_3NH_2]$  [62] qui fonctionnalise la surface métallique tout en permettant de greffer chimiquement un élément biologique grâce au groupement amine. Un schéma de synthèse classique utilisant ce réactif est présenté sur la figure I-18. Il permet de lier de façon covalente une enzyme sur une électrode métallique par la formation d'une liaison amide entre le groupement amine du silane et la fonction acide carboxylique de la protéine. Il faut toutefois noter que la fonction acide carboxylique doit être activée au préalable.

Récepteur immobilisé	Agent de fixation	Substrat	Elément(s) détecté(s)	Ref
Acide dicarboxylique (AE6)	Chlorure de p-toluène sulfonyle	Si/SiO <sub>2</sub>	Fer	61
Chaînes aromatiques	Réactifs de Grignard, espèces Lithium aryl	Si	NO <sub>x</sub> , SO <sub>x</sub> , CO, NH <sub>3</sub>	62
Oligonucléotides	Epoxyasilane, 3-aminopropyltriethoxysilane,	Si/SiO <sub>2</sub>	ADN	63 64
Anticorps	Ethoxysilane, alkylthiols,	SiO <sub>2</sub> , Au	Antigènes associés	65 66
Enzymes :				67
Uréase	Carbodiimide	Si/SiO <sub>2</sub>	Urée	68
Penicillinase	Carbodiimide, Glutaraldéhyde	Non spécifié	Pénicilline	69
Laccase	ABTS (sel d'ammonium)	Pt	p-phényldiamine, p-aminophénol	70
Glucose oxydase	MES (acide sulfonique)	Indium-tin oxyde	Glucose	71
Acétylcholinestérase Organophosphate hydrolase	Amine-silanisation, sulfurhydryl-silanisation	SiO <sub>2</sub>	Organophosphate	72

Tab. I-2: Exemples d'applications utilisant le greffage covalent de divers récepteurs sur différents substrats



La synthèse chimique décrite sur la figure I-18 n'est évidemment qu'une manière de procéder parmi de nombreuses possibilités. Le tableau I-2 présente quelques exemples de systèmes chimiques de détection réalisés par le biais de la fixation covalente de récepteurs chimiques ou biologiques.

## **V. Encapsulation**

L'encapsulation d'un capteur chimique ou biochimique protège du milieu liquide les différentes connexions électriques, le substrat de silicium et le support.

L'enrobage des capteurs joue un rôle important sur des paramètres tels que stabilité temporelle, temps de réponse et durée de vie des microcapteurs chimiques. Le concept habituel de l'encapsulation doit satisfaire les demandes suivantes :

- Bonne adhérence de l'encapsulant sur la puce, sur le circuit imprimé, sur les parties conductrices qui assurent la connexion électrique et sur la membrane ionosensible. De préférence, une adhérence doit être assurée par des liaisons covalentes. Une attention particulière doit être portée sur les zones telles que définies par le point A (figure I-19) où l'eau risque plus particulièrement de pénétrer vers les zones électriquement actives;
- Bonne stabilité chimique, électrique et thermique;
- Faible absorption des espèces à détecter;
- Commodité pour dessiner le motif de la zone sensible;
- Compatibilité avec la production de masse, de préférence au niveau de la plaquette.

Egalement, selon les applications biologiques, il faut tenir compte des points suivants:

- Biocompatibilité du système entier;
- Possibilité de stérilisation périodique.

Plusieurs matériaux ont été étudiés dans la littérature comme encapsulant (époxy, polyimide, silicone, ...) mais aucun de ces matériaux ne peut assurer toutes les exigences du cahier de charge.

*Epoxy* : Ces matériaux sont largement et habituellement utilisés dans la technologie du capteur grâce à leur faible perméabilité (très faible par rapport au silicone), leur large gamme

de viscosité, leur rigidité et leur dureté [73]. Souvent pour améliorer certaines propriétés de l'époxy, un remplisseur est commodément utilisé.

*Polyimide* : Ce matériau est populaire dans la technologie des circuits intégrés (IC) grâce à son excellente résistance thermique (jusqu'à 350°C), son élasticité élevée par rapport à l'époxy à température ambiante et sa flexibilité [74]. Les polyimides gardent leurs propriétés dans le volume et sur l'interface avec les autres matériaux même s'ils ont été soumis aux contraintes superficielles liées à l'humidité et à la température. Néanmoins, les polyimides montrent une sensibilité envers des solutions fortement alcalines.

*Silicone* : Ce matériau possède de bonnes propriétés thermiques et diélectriques, il est relativement mou et est biocompatible, donc il est destiné dans la plupart des cas aux applications biomédicales.

Notons brièvement les principales techniques de caractérisation des matériaux encapsulants : spectroscopie infrarouge pour caractériser la liaison chimique, mesures capacité-tension (C/V) pour caractériser le système "électrolyte/isolant/semi-conducteur" et études de la réponse des capteurs aux ions pour l'analyse de la sensibilité d'encapsulant envers ces espèces chimiques à analyser [75].

Initialement, la technique d'encapsulation des capteurs a été dérivée des technologies des circuits intégrés. Les puces ont ainsi été protégées par une couche épaisse de passivation et ensuite enrobées. Cependant l'encapsulation des capteurs possède des points particuliers: la zone sensible ne doit pas être recouverte alors que le reste du capteur des connexions électriques et du PCB doit être entièrement recouvert par un encapsulant (figure I-19).

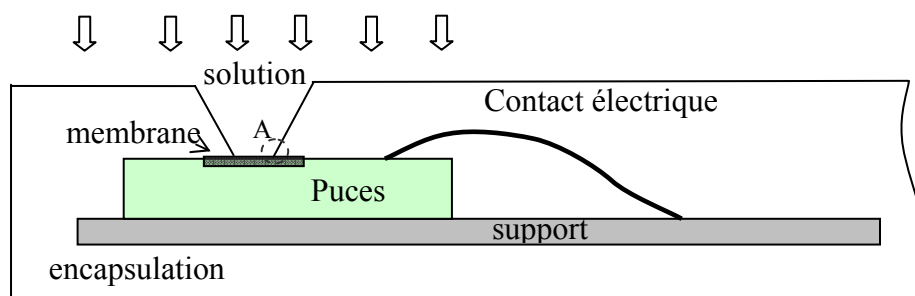


Figure I-19: Encapsulation classique d'un capteur chimique

Lors d'un assemblage standard, la puce est reportée sur le circuit imprimé, puis les connexions électroniques sont réalisées par microsoudure « wedge bonding » de fils d'or. Ensuite un enrobage de type « glob-top » (époxy ou silicone) est effectué au niveau des

connexions, de la puce et du circuit imprimé assurant ainsi l'étanchéité du système, seule la partie sensible du capteur étant épargnée par cet enrobage.

D'autres techniques plus spécifiques ont fait leur apparition comme l'encapsulation par la tranche (wafer level packaging). Cette technique d'encapsulation consiste à venir sceller sur la première plaquette de silicium ou se trouvent les circuits actifs, une deuxième plaquette qui a été au préalable gravée afin de permettre des interactions entre les zones actives des capteurs et les milieux d'analyses. La connexion se fait par des microbilles conductrices via des trous gravés et métallisés de la plaquette d'encapsulation (figure I-20).

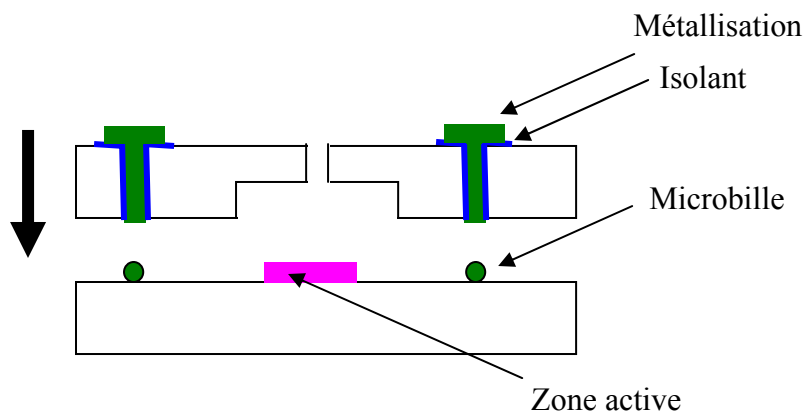


Figure I-20: Encapsulation par tranche d'un capteur chimique

L'utilisation de systèmes microfluidiques permet l'encapsulation des microcapteurs en ne faisant circuler les fluides uniquement sur des zones préalablement définies. Ces systèmes sont de plus en plus utilisés car ils permettent en plus d'une encapsulation simple, d'utiliser de petites quantités de liquide, de les acheminer vers des zones précises et de les mélanger entre elles, le tout dans des petits volumes (figure I-21).

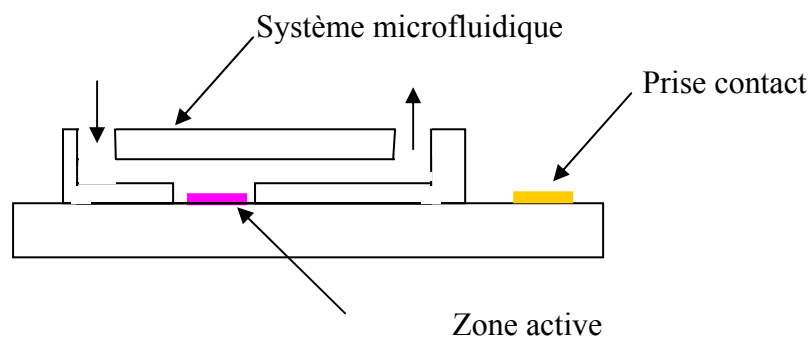


Figure I-21: Encapsulation microfluidique d'un capteur chimique

## **VI. Intégration des matériaux sensibles**

La détection des cations et anions comme  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $NH_4^+$ ,  $NO_3^-$ , etc est habituellement basée sur des membranes organiques [76]. Ces membranes ionosensibles sont généralement préparées à partir d'un mélange de polymère de haute masse moléculaire, d'un plastificateur/photoinitiateur, d'un ionophore et d'un sel lipophile dissous dans un solvant organique. Le polymère sert de matrice pour la membrane sensible, le plastificateur assure un milieu favorable pour les composants électroactifs, l'ionophore et le sel lipophile contrôlent la sensibilité aux ions et l'impédance de la membrane. La performance électroanalytique d'une membrane sensible repose sur l'ensemble complexe des fonctions des composants qui la forment, et nécessite donc souvent d'être optimisée. Le PVC est la matrice la plus communément utilisée, cependant il faut reconnaître sa faible adhérence à la surface  $SiO_2/Si_3N_4$ , ce qui contribue à une dérive temporelle importante et une faible durée de vie. Néanmoins, il existe plusieurs méthodes pour améliorer son adhésion: traitement chimique de la surface, attachement mécanique de la couche, introduction d'une couche d'hydrogel. Il est aussi possible d'utiliser d'autres matériaux alternatifs (polysiloxane (PSX), polyHEMA/siloprene, polyurethane/acrylate, polyimide ...). Les membranes à base de couches ultraminces de type Langmuir-Blodgett ont une faible sensibilité pour la gamme de  $pX = [2 - 6]$ . Les membranes à base de Polyimide adhèrent bien en surface (liaison covalente) mais leur sensibilité est relativement faible par rapport aux membranes PVC. Dernièrement, les membranes à base de PSX ont été étudiées [77]. Elles sont caractérisées par une bonne adhérence en surface silanisée, une bonne compatibilité avec la technologie silicium et une bonne sensibilité. C'est ce dernier, le polysiloxane, que nous avons utilisé pour réaliser nos couches sensibles dans lesquelles nous avons incorporé des ionophores spécifiques pour la détection des ions  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $NH_4^+$  et  $NO_3^-$ . Ces couches ont été déposées soit par dépôt à la micropipette, soit par dépôt à la tournette aussi bien sur les capteurs ISFETs avec des épaisseurs plutôt élevées (10-50 $\mu m$ ), que sur les microélectrodes avec des couches très fines (100-300nm). (voir chapitre II-3)

## **Conclusion :**

A partir d'une structure de base de type pH-ChemFET, identique quelle que soit l'application recherchée, la spécificité du capteur sera finalement obtenue par l'adjonction de la couche chimiquement sensible. Autrement dit, les capteurs chimiques ChemFETs présentent une structure générique qui permet de concevoir sur la même puce le système de multi-capteurs selon leurs applications. D'autre part, les caractéristiques des capteurs (sensibilité et sélectivité) ne dépendent que des propriétés chimiques des couches ionosensibles. Si l'utilisation d'une électrode de référence ne permet pas leur intégration complète, des solutions, actuellement à l'étude, passent par la fabrication des microélectrodes de pseudo référence en faisant appel aux métaux nobles (or, platine).

De même, une structure (motif) de base à deux ou trois électrodes peut être réalisée pour les capteurs microélectrodes à laquelle on adjoint la couche chimiquement sensible, cette dernière donnant la sélectivité aux capteurs. La sensibilité de ce type de capteur dépendant en plus des propriétés chimiques de la couche ionosensible, de la distance inter-électrode, des motifs des électrodes, des tensions appliquées (vitesse de balayage, gamme de tension, tension de polarisation).

De nombreux travaux de recherche sont ainsi menés pour optimiser le dépôt collectif de couches sensibles ainsi que leur sensibilité et leur sélectivité.

Le tableau (I-3) qui suit donne les avantages et les inconvénients de ces deux types de capteurs.

Enfin, l'avantage majeur reste lié à leur totale compatibilité avec la technologie silicium. Certainement, cette technologie nécessite la mise en œuvre d'investissements lourds et de matériels performants, mais en contrepartie, l'utilisation des techniques de production collective de la microélectronique permet la conception et la réalisation de systèmes multi-capteurs intégrés avec de faibles coûts, donc jetables. Cet avantage fait de ces deux capteurs des candidats sérieux pour le développement des analyses biochimiques en milieux aqueux.

	ChemFETs		Microélectrodes	
	avantage	inconvénient	avantage	inconvénient
Compatibilité avec la technologie silicium	<i>X</i>		<i>X</i>	
Faible coût	<i>X</i>		<i>X</i>	
Possibilité de conception des capteurs "jetables"	<i>X</i>		<i>X</i>	
Miniaturisation	<i>X</i>		<i>X</i>	
Intégration dans les systèmes monolithiques	<i>X</i>		<i>X</i>	
Robustesse	<i>X</i>		<i>X</i>	
Facilité et commodité d'utilisation	<i>X</i>			<i>X</i>
Résistance de sortie	<i>X</i>			<i>X</i>
Caractère générique: adaptation à tout type d'ions dans le cadre de systèmes multicapteurs	<i>X</i>		<i>X</i>	
Temps de réponse	<i>X</i>		<i>X</i>	
Energie de consommation	<i>X</i>		<i>X</i>	
Interface avec la microfluidique	<i>X</i>		<i>X</i>	
Maintien spécial	<i>X</i>		<i>X</i>	
Dérive temporelle		<i>X</i>		<i>X</i>
Vieillessement		<i>X</i>		<i>X</i>
Sensible à la force ionique de la solution		<i>X</i>		<i>X</i>
Calibration fréquente		<i>X</i>	<i>X</i>	
Packaging		<i>X</i>	<i>X</i>	
Intégration des couches sensibles		<i>X</i>		<i>X</i>

Tableau I-3 : avantages/inconvénients des capteurs chimiques

## Références bibliographiques

[1] Eric Udd

“Fiber Optic Sensors, an Introduction for Engineers and Scientists”, *Wiley Series in Pures and Applied Optics*. Wiley & Sons, 1991

[2] D. P. Saini and S. L. Coulter

“Fiber sensors sniff out enviromental pollutants”, *Photonics Spectra*, March 1996

[3] M. Guirardel

“Conception, réalisation et caractérisation de biocapteurs micromécaniques résonants en silicium avec actionnement piézoélectrique intégré : détection de l’adsorption de nanoparticules d’or”, *Thèse Université Paul Sabatier Toulouse*, 2003.

[4] D. Royer, E. Dieulesaint

“Ondes elastiques dans les solides”, *volume 1-2*, Masson, 1999.

[5] <http://www.q-sense.com/>

[6] D.R. Baselt, G.U Lee, R.J. Colton

“Biosensor based on force microscope technology”, *J. Vac. Sci. Technol. B*14(2), 1996, Pages 789–793.

[7] M. Su, S. Li, V.P. Dravid.

“Microcantilever resonance-based adn detection with nanoparticle probes”, *Applied Physics Letters*, 82(20), 2003, Pages 3562–3564.

[8] P. B. Luppa, L. J. Sokoll, et D. W. Chan

“Immunosensors - principles and applications to clinical chemistry”, *Clin. Chim. Acta*, 14(1-2), 2001, Pages 1–26.

[9] D.R. Thevenot, K. Toth, R.A. Durst, et G.S. Wilson

“Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification”, *Biosensors and Bioelectronics*, 16(1-2), 2001, Pages 121–131.

[10] Adam Heller

“Amperometric biosensors”, *Current Opinon in Biotechnology*, 7, 1996, Pages 50–54.

[11] J.Janata

“Principles of Chemical Sensors”, *NY: Plenum*, 1989.

[12] N.V Shvedene

“Ion-Selective Electrodes”, *Journal of chemical education*, N5, 1999.

[13] Carlo Maccà

“Response time of ion-selective electrodes”: Current usage versus IUPAC recommendations, *Analytica Chimica Acta*, Vol. 512, 2004, Pages 183-190.

- [14] P. Bergveld  
“Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurement”, *IEEE, Trans Biomed, BME 17*, 1970.
- [15] B. Trémillons  
“Electrochimie analytique et reactions en solution”, *Masson, Tome 2*, 1993
- [16] F. Bedioui  
“Voltampérométrie. Théorie et mise en œuvre expérimentale”, *technique de l'ingénieur, réf : P2126*.
- [17] F. Bedioui  
“Voltampérométrie. Phénomènes couplés au transfert électronique”, *technique de l'ingénieur, réf : P2127*.
- [18] A. SEVICK  
“Oscillographic polarography with periodical triangular voltage”, *Coll. Czech. Chem. Com. 13*, 1948, Pages 349.
- [19] R.S. NICHOLSON, I. SHAIN  
“Theory of stationnary electrode polarography”, *Anal. Chem. 36*, 1964, Pages 706.
- [20] W.H. REINMUTH  
“Nernst-controlled currents in hanging-drop polarography”, *J. Am. Chem. Soc. 79*, 1957, Pages 6358.
- [21] H. MATSUDA, Y. AYABE  
“Zur theorie der Randles-Sevcikschen kathodenstrahl-polarographie”, *Zeit. Elektrochem. 59*, 1955, Pages 494.
- [22] R.E. WHITE, J.O.M. BOKRIS, B.E. CONWAY, E. YEAGER  
“Comprehensive treatise of electrochemistry”, *Plenum Press, Volume 8*, 1984.
- [23] J.-P. Diard, B. Le Gorrec, C. Montella  
“Cinétique électrochimique”, *Hermann, 1996*
- [24] C. Gabrielli  
“Méthode électrochimique, Mesure d'impédance”, *Technique de l'ingénieur, réf : P2210*.
- [25] J.H. Sluyters  
“On the Impedance of Galvanic Cells”, *Rec. Trav. Chim. 79*, 1960, Pages 1092–1100
- [26] P. Bergveld  
“Thirty years of ISFETOLOGY What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years”, *Sensors & Actuators, B6*, 2002, Pages 1-20
- [27] D. L. Harame, L.J. Bousse, J.D. Shott, J.D. Meindl  
“Ion-sensing devices with silicon nitride and borosilicate glass insulators”, *IEEE Trans. Electron Devices ED-34*, 1987, Pages 1700-1706



- [28] M.N.Niu.X.F.Tong  
“Effect of TWO types of surfaces sites on the characteristics of Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> gate pH-ISFET”, *Sensors & Actuators, B37, 1996, Pages 13-17*
- [29] L.Bousse, H.van der Vlekkert, N.de Rooij  
“Hysteresis in Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-gate ISFET”, *Sensors & Actuators, B2, 1990, Pages 103-110*
- [30] H.van der Vlekkert, L.Bousse, N.de Rooij  
“The temperature dependence of the surface potential at the Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/electrolyte interface”, *J.Colloid Interface Sci. volume 122, 1988, Pages 336-345*
- [31] A.S.Poghossian  
“The super-Nernstian pH sensitivity of Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-gate ISFET”, *Sensors & Actuators, B7, 1992, Pages 367-370*
- [32] D.H.Kwon, B.W.Cho, C.S.Kim, B.K.Sohn  
“Effect of heat treatment on Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> sensing membrane for low drift and light sensitivity pH-ISFET”, *Sensors & Actuators, B34, 1994, Pages 441-445*
- [33] H.K.Liao, L.L.Chi, J.C.Chou, W.Y.Chung, T.P.Sun, S.K.Hsiung  
“Study on pH<sub>pzc</sub> and surface potential of tin oxide gate ISFET” , *Mater.Chem.Phys, 2428, 1999, Pages 1-6*
- [34] H.K.Liao, J.C.Chou, W.Y.Chung, T.P.Sun, S.K.Hsiung  
“Study of amorphous tin oxide thin films for ISFET applications”, *Sensors & Actuators, B50, 1998, Pages 104-109*
- [35] F.Chauvet, A.Amari, A.Martinez  
“Stability of silicon nitride/silicon dioxide/silicon electrodes used in pH microelectronic sensor”, *Sensors & Actuators, B6, 1984, Pages 255*
- [36] C.D.Liu, Y.K.Su, S.C.Chen  
“Ion sensitive field effect transistor with silicon nitride gate for pH sensing”, *Int.J.Electron.I, 1989, Pages 59-63*
- [37] L. Bousse, S. Mostarshed, B. van der Schoot, N.F. de Rooij  
“Comparison of the hysteresis of Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> pH-sensing insulators”, *Sensors & Actuators B 17, 1994, Pages 157–160*
- [38] L.Bousse, N.F.de Rooij, P.Bergveld  
“Operation of Chemically Sensitive Field-Effect Sensor as a function of the Insulator-Electrolyte Interface”, *IEEE Trans.Electron Devices ED-30, 1983, Pages 1263-1270*
- [39] Ali Amari  
“Etude de la réponse au pH de structures microelectroniques a membranes de nitrure de silicium fabriqué par LPCVD”, *Thèse de doctorat de l'UPS de Toulouse, 1984*
- [40] A.J.Bard, L.R.Faulkner  
“Electrochimie, principes, méthodes et application”, *Masson, 1983*

[41] P. Bergveld

“ISFET, Theory and Practice”, *IEEE Sensor Conference Toronto, October 2003*

[42] L. Bousse, S. Mostarshed, B. van der Schoot, N.F. de Rooij

“Comparison of the hysteresis of Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> and Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub> pH-sensing insulators”, *Sensors & Actuators B* 17, 1994, Pages 157–160

[43] D. L. Hareme, L.J. Bousse, J.D. Shott, J.D. Meindl

“Ion-sensing devices with silicon nitride and borosilicate glass insulators”, *IEEE Trans. Electron Devices ED-34*, 1987, Pages 1700-1706

[44] B. D. Liu, Y.K. Su, S.C. Chen

“Ion-sensitive field effect transistor with silicon nitride gate for pH sensing”, *Int. J. Electron* 1, 1989, Pages 59-63

[45] Abu Bakar Md. Ismail, Tetsuro Harada, Tatsuo Yoshinobu, Hiroshi Iwasaki, M. J. Schöning, H. Lüth

“Investigation of pulsed laser-deposited Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> as a high pH-sensitive layer for LAPS-based biosensing applications”, *Sensors & Actuators B* 71, 2000, Pages 169-172

[46] Dae-Hyuk Kwon, Byung-Woog Cho, Chang-Soo Kim and Byung-Ki Sohn

“Effects of heat treatment on Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> sensing membrane for low drift and high sensitivity pH-ISFET”, *Sensors & Actuators B* 34, 1996, Pages 441-445

[47] Y. Ito

“Long-term drift mechanism of Ta<sub>2</sub>O<sub>5</sub> gate pH-ISFETs”, *Sensors and Actuators B* 64, 2000, Pages 152-155

[48] N. Angelova and D. Hunkeler

“Rationalizing the design of polymeric biomaterials”, *Trends Biotechnol*, Volume 17, 1999, Issue 10, Pages 409-421

[49] <http://perso.orange.fr/chimie.sup/polymeres/GENERALITESPOLYMERES.html>

[50] G. Harsanyi

“Polymer films in sensor applications: a review of present uses and future possibilities”, *Sensor review*, Volume 20, 2000, Issue 2, Pages 98-105

[51] D. Xie, Y. Jiang, W. Pan and Y. Li

“A novel microsensor fabricated with charge-flow transistor and a Langmuir–Blodgett organic semiconductor film”, *Thin Solid Films*, Volume 424, 2003, Issue 2, Pages 247-252

[52] S. Rochefeuille, C. Jimenez, S. Tingry, P. Seta and J. P. Desfours

“Mixed Langmuir–Blodgett monolayers containing carboxylic ionophores. Application to Na<sup>+</sup> and Ca<sup>2+</sup> ISFET-based sensors”, *Mater Sci Eng C*, Volume 21, 2001, Issues 1-2, Pages 43-46

[53] C. Jimenez, S. Rochefeuille, R. Berjoan, P. Seta, J. P. Desfours and C. Dominguez

“Nanostructures for chemical recognition using ISFET sensors”, *Microelectron J*, Volume 35, 2004, Issue 1, Pages 69-71

[54] P. Belaubre

“Conception et réalisation d’un micro-système robotisé de dépôt de produits biologiques par micro-leviers en silicium pour l’élaboration de biopuces”, Thèse INSA Toulouse, 2003

[55] D. Meyerhofer

“Characteristics of resist films produced by spinning”, *J. Appl. Phys.*, Volume 49, 1978, Pages 3993-3997

[56] M. De Wit, E. Vanneste, F. Blockhuys, H. J. Geise, R. Mertens and P. Nagels

“Application of Poly(thienylene vinylene) as a chemiresistor for organic vapours”, *Synthetic Met*, Volume 85, 1997, Issues 1-3, Pages 1303-1304

[57] B-W. Koo, C-K. Song and C. Kim

“CO gas sensor based on a conducting dendrimer”, *Sens. Actuators B*, Volume 77, 2001, Issues 1-2, Pages 432-436

[58] C. Ruan, K-G. Ong, C. Mungle, M. Paulose, N-J. Nickl and C-A. Grimes

“A wireless pH sensor based on the use of salt-independent micro-scale polymer spheres”, *Sens. Actuators B*, Volume 96, 2003, Issues 1-2, Pages 61-69

[59] B. Kovács, G. Nagy, R. Dombi and K. Tóth

“Optical biosensor for urea with improved response time”, *Biosens Bioelectron*, Volume 18, 2003, Issues 2-3, Pages 111-118

[60] E. Pavlovic, A.P. Quist, U. Gelius and S. Oscarsson

“Surface Functionalization of Silicon Oxide at Room Temperature and Atmospheric Pressure”, *J. Colloid Interf Sci* 254, 2002, Pages 200–203

[61] Z-H. Wang and G. Jin

“Covalent immobilization of proteins for the biosensor based on imaging ellipsometry”, *Journal of Immunological Methods*, Volume 285, Issue 2, 2004, Pages 237-243

[62] [http://www-biol.paisley.ac.uk/marco/enzyme\\_electrode/Chapter1/Silane.htm](http://www-biol.paisley.ac.uk/marco/enzyme_electrode/Chapter1/Silane.htm)

[63] R. Mlika, H. Ben Ouada, F. Mhenni, G. Gamoudi, R. Kalfat and N. Jaffrezic-Renault

“Thin sensitive organic membranes on selective iron-ion sensors”, *Synthetic Met*, Volume 90, 1997, Issue 3, Pages 239-243

[64] D. Narducci, P. Bernardinello and M. Oldani

“Investigation of gas–surface interactions at self-assembled silicon surfaces acting as gas sensors”, *Appl Surf Sci*, Volumes 212-213, 2003, Pages 491-496

[65] J. P. Cloarec, N. Deligianis, J. R. Martin, I. Lawrence, E. Souteyrand, C. Polychronakos and M. F. Lawrence

“Immobilization of homooligonucleotide probe layers onto Si/SiO<sub>2</sub> substrates: characterization by electrochemical impedance measurements and radiolabelling”, *Biosens Bioelectron*, Volume 17, 2002, Issue 5, Pages 405-412

- [66] E. Souteyrand, J. P. Cloarec, J. R. Martin, C. Wilson, I. Lawrence, S. Mikkelsen, and M. F. Lawrence  
 “Direct Detection of the Hybridization of Synthetic Homo-Oligomer DNA Sequences by Field Effect”, *J Phys Chem B, Volume. 101, 1997, Issue 15, Pages 2980-2985*
- [67] O. Tamarin, S. Comeau, C. Déjous, D. Moynet, D. Rebière, J. Bezian and J. Pistré  
 “Real time device for biosensing: design of a bacteriophage model using love acoustic waves, Biosens Bioelectron”, *Volume 18, 2003, Issues 5-6, Pages 755-763*
- [68] C. A. Betty, R. Lal, D. K. Sharma, J. V. Yakhmi and J. P. Mittal  
 “Macroporous silicon based capacitive affinity sensor—fabrication and electrochemical studies”, *Sensors & Actuators B, Volume 97, 2003, Issues 2-3, Pages 334-343*
- [69] I. Willner, B. Willner and E. Katz  
 “Functional biosensor systems via surface-nanoengineering of electronic elements”, *Rev Mol Biotech, Volume 82, 2002, Issue 4, Pages 325-355*
- [70] A. Senillou, N. Jaffrezic-Renault, C. Martelet and S. Cosnier  
 “A miniaturized urea sensor based on the integration of both ammonium based urea enzyme field effect transistor and a reference field effect transistor in a single chip”, *Talanta, Volume 50, 1999, Issue 1, Pages 219-226*
- [71] R. Koncki, E. Leszczyska, A. Cybulska and S. Gab  
 “Penicillin enzyme biosensors based on pH membrane electrodes”, *Anal Chim Acta, Volume 321, 1996, Issue 1, Pages 27-34*
- [72] D. Quan, Y. Kim and W. Shin  
 “Characterization of an amperometric laccase electrode covalently immobilized on platinum surface”, *J Electroanal Chem, Volume 561, 2004, Pages 181-189*
- [73] N.J. Ho J. Kratochvil  
 “Encapsulation of polymeric membrane based-ion-selective field effect transistors”, *Sensors & Actuators 4, 1983, p.413-421*
- [74] R. E. G. Van Hal, P. Bergveld, J. F. J. Engbersen and D. N. Reinhoudt  
 “Characterization and testing of polymer-oxide adhesion to improve the packaging reliability of ISFETs”, *Sensors and Actuators B 23, 1995, Pages 17-26*
- [75] M. Chudy, W. Wróblewski, A. Dybko and Z. Brzózka  
 “Multi-ion analysis based on versatile sensor head”, *Sensors & Actuators B 78, 2001, Pages 320-325*
- [76] Paik-Kyun Shin, Thomas Mikolajick  
 “H<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, and K<sup>+</sup> ion sensing properties of sodium and aluminum coimplanted LPCVD silicon oxynitride thin films”, *Applied Surface Science, Volume 207, 2003, Pages 351-358*
- [77] B.Torbiero, M.L.Pourciel, I.Humenyuk, J.B.Doucet, A.Martinez, P.Temple-boyer  
 “Mass fabrication of polysiloxane layers using spin coating and photolithography techniques”, *Microelectronics Journal, Vol.37, 2, Pages 133-136, 2006*

## **PARTIE II**

### **Réalisations et résultats**



# **CHAPITRE I**

## **Développement technologique des microcapteurs chimiques**

## **Introduction**

L'intégration et la miniaturisation des microsystèmes et microcapteurs chimiques sont des points essentiels pour améliorer les performances des analyses en milieux aqueux. Ces capteurs servent à transformer les grandeurs chimiques en signaux électriques qui seront traités afin de réduire les influences parasites (dérive, température, lumière, ...). L'utilisation des technologies de la microélectronique pour la réalisation de ces capteurs permet une intégration et de faibles coûts de production grâce à la fabrication collective.

Elles ont aussi permis la mise en place de procédés technologiques dit génériques pour la réalisation de microcapteurs chimiques en phase liquide tels que les transistors chimiques à effet de champ ChemFETs ou les microélectrodes chimiques.

Nous allons présenter dans ce chapitre les réalisations et les développements technologiques mis en place au cours de nos travaux de thèse. Dans un premier temps, nous décrirons les procédés de fabrication des ChemFETs et des microélectrodes. Ensuite, dans une deuxième partie, nous présenterons les apports des technologies polymères en vue de l'optimisation des micro-capteurs chimiques dans le cadre d'applications données : analyse de microvolumes et intégration de couches chimiquement sensibles.

## **I. Développement de microdispositifs génériques**

### **I.1. Conception et réalisation de ChemFETs**

#### **I.1.1. Objectif**

L'étude en milieu biologique notamment avec des organismes vivants comme les bactéries, nécessite un volume d'analyse très petit afin de n'avoir besoin que d'une petite quantité de matière première. Notre travail a consisté à faire une optimisation des capteurs ChemFETs, que nous réalisons et utilisons déjà pour d'autres applications telles que l'analyse des ions  $H^+$ ,  $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $NO_3^-$ ,  $NH_4^+$  en solution. Ces modifications portent



essentiellement sur une intégration de l'électrode de référence, sur les longueurs de pistes métallisées, sur la surface générale en silicium du capteur et dans une moindre mesure sur la largeur de grille. Les procédés de réalisation ont été étudiés, simulés et testés lors de thèses précédentes (thèses de Melle Irina HUMENYUK et de Mr William SANT) [1-2]. Toutes ces modifications nous ont amenés à refaire une série de masques réalisée sous le logiciel CLEWIN.

### **I.1.2. Fabrication des ChemFETs**

#### **I.1.2.1 Description du procédé technologique**

Pour effectuer le procédé technologique des ChemFETs, sept niveaux de masques ont été nécessaires. Le logiciel CLEWIN a été utilisé pour la création de ces masques. Ce procédé technologique des micro-capteurs est basé sur les étapes standards de la technologie silicium [3-4]. Néanmoins, il doit être adapté aux particularités des capteurs chimiques. Au total, il y a 21 étapes dans la réalisation des ChemFETs à partir du choix du substrat jusqu'au montage des puces.

##### **➤ Choix du substrat**

Le substrat de silicium de type N (dopé Bore) avec l'orientation <100> a été choisi. La résistivité du substrat est de  $4 \Omega \cdot \text{cm}$  ( $N_d = 10^{13} \text{ at/cm}^3$ ). La dimension des plaquettes est de 4 pouces, qui est dictée par l'équipement disponible dans la centrale technologique du LAAS-CNRS. L'épaisseur de la plaquette est de  $525 \mu\text{m}$  ce qui assure de bonnes performances mécaniques. Du fait que notre processus technologique ne comporte que des interventions en face avant, les plaquettes utilisées sont polies simple face. Afin de valider les différentes étapes du procédé technologique, nous avons utilisé des plaquettes témoins ayant les mêmes caractéristiques que les substrats choisis et ayant suivi les même étapes de fabrication.

##### **➤ Etape 1: Nettoyage des plaquettes de silicium**

Le nettoyage des plaquettes est une des étapes régulièrement répétées au long de la fabrication des composants ChemFETs.

Cette procédure est communément appelée "attaque piranha". Elle est destinée à enlever les impuretés et les composés organiques en surface du silicium, en faisant croître une fine couche d'oxyde qui va piéger ces impuretés, puis en éliminant cette couche. Cette étape s'effectue de la manière suivante:

- Nettoyage des plaquettes dans le bain  $\text{H}_2\text{SO}_4(90\%)/\text{H}_2\text{O}_2(10\%)$  [1:1] en volume pendant 30 secondes, création d'un oxyde de silicium de quelques nanomètres d'épaisseur;
- Rinçage des plaquettes dans l'eau déionisée EDI et séchage sous azote;
- Attaque chimique dans le  $\text{HF}(10\%)$  pendant 30 sec. pour enlever la couche d'oxyde;
- Rinçage des plaquettes dans l'EDI (11  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$  et plus) et séchage sous azote.

### ➤ Etape 2: Oxydation de masquage

Cette étape a pour but de faire croître une couche d'oxyde thermique de 700 nm. Le cycle thermique de l'oxydation de masquage est représenté sur la figure 2.1.

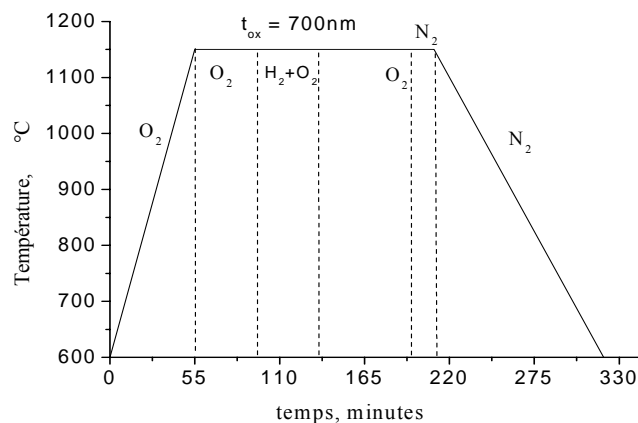


Figure 2.1: Cycle thermique de l'oxydation de masquage

Notons que l'épaisseur d'oxyde de masquage doit être suffisamment grande pour protéger le reste de la plaquette des effets d'implantation et des autres opérations thermiques. L'oxydation se fait sur les deux cotés de la plaquette (figure 2.2).

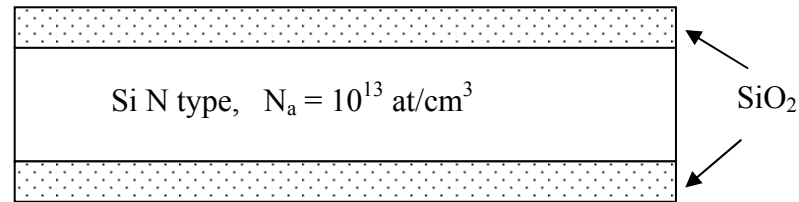


Figure 2.2: Oxydation de masquage

### ➤ Etape 3: Photogravure de l'oxyde de champ (# masque 1)

Cette étape est destinée à graver l'oxyde de masquage sur la face avant de la plaquette en vue de l'élaboration du caisson d'isolation de type P qui délimitera la zone active du composant (figure 2.3). Elle se déroule selon les séquences suivantes:

- Etuvage à 200°C (30min) puis HMDS (30 min) comme promoteur d'adhérence;
- Etalement de la résine positive AZ 1529;
- Alignement + exposition aux UV;
- Développement (AZ développeur + EDI [1:1]);
- Rinçage et vérification au microscope ;
- Post recuit 115°C pendant 1min;
- Gravure chimique de l'oxyde (buffer HF: 15 min);
- Nettoyage de la résine à l'acétone et rinçage des plaquettes dans l'EDI.

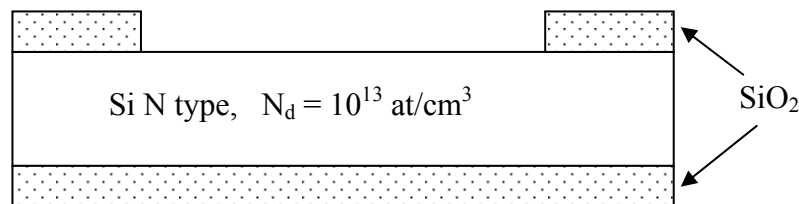


Figure 2.3: Photogravure de l'oxyde de masquage

### ➤ Etape 4: Oxydation de pré-implantation

Pendant cette étape une mince couche d'oxyde de silicium sera formée (figure 2.4). Afin de limiter la création de défauts dans le silicium, nous allons implanter les dopants (bore et arsenic) à travers cette couche pour créer le caisson P, le caisson profond P<sup>+</sup> et les zones actives du composant (drain, source).

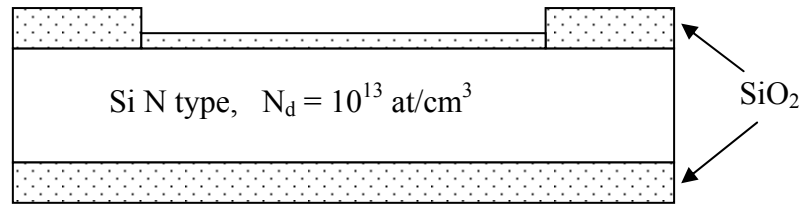


Figure 2.4: Oxydation de pré-implantation

Le profil thermique (figure 2.5) de cette étape a été optimisé à la centrale technologique du LAAS pour obtenir une épaisseur d'oxyde de 40 nm.

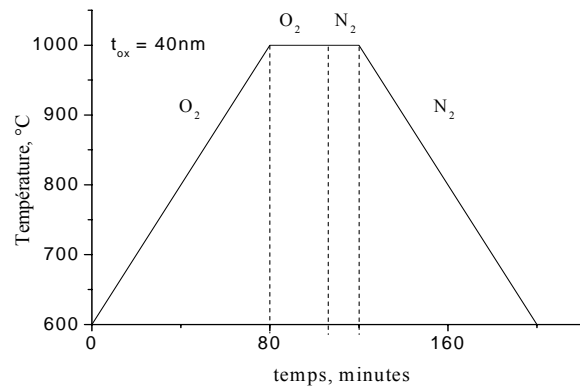


Figure 2.5: Cycle thermique de l'oxydation de pré-implantation

### ➤ Etape 5: Implantation du caisson P

Le caisson d'isolation de type P, analogue à un caisson de type Pwell dans les technologies CMOS, est réalisé par implantation ionique de bore. La concentration en surface après les différents recuits thermiques ( $N_a$ ) déterminera la valeur de la tension de seuil ( $V_T$ ).

- Implantation bore (dose:  $1 \times 10^{13}$  at/cm<sup>2</sup>; énergie: 50 keV; tilt: 7°)

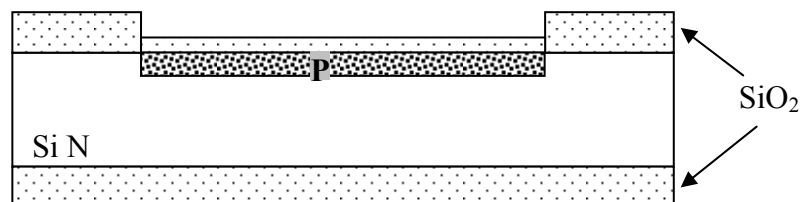


Figure 2.6: Implantation du P<sup>+</sup>

### ➤ Etape 6: Recuit de redistribution du caisson P

Cette étape thermique permet de redistribuer profondément les atomes de bore implantés dans le silicium et de les activer électriquement mais aussi de corriger les défauts cristallins créés lors de l'implantation ionique. L'oxyde de pré-implantation est conservé et permet d'éviter une exodiffusion du bore. Le profil de la redistribution est décrit dans la figure 2.7.

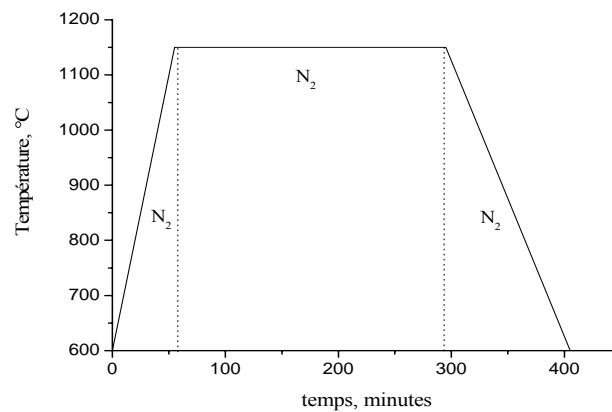


Figure 2.7: Cycle thermique de redistribution

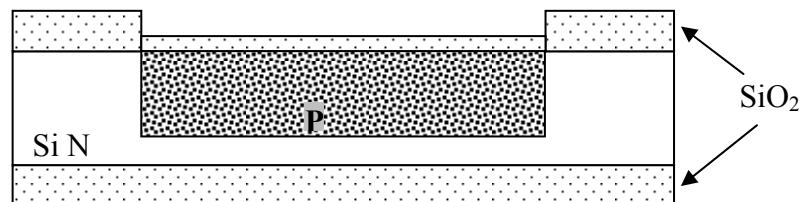


Figure 2.8: Redistribution du caisson d'isolation P

### ➤ Etape 7: Photogravure P<sup>+</sup> (masque #2)

Cette étape contient les procédures suivantes:

- Etuvage (30min) + HMDS (30 min);
- Etalement de la résine positive AZ 1529;

- Alignement + exposition;
- Développement (AZ développeur + EDI [1:1]);
- Rinçage et vérification au microscope ;
- Post recuit 115°C pendant 1 min;

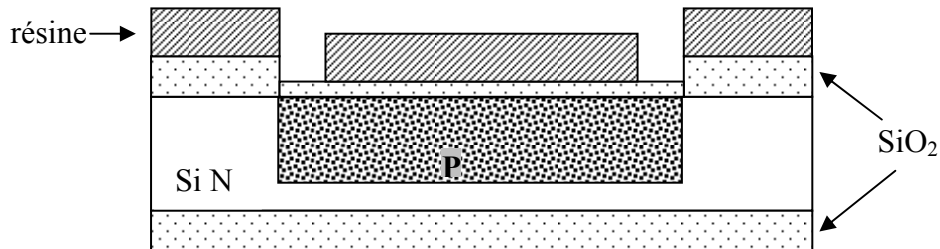


Figure 2.9: Photogravure des caissons  $P^+$

Le but de ces anneaux de garde est d'éviter les courants parasites en surface des composants. De plus, il favorise la conduction du courant au niveau du contact électrique de la polarisation du caisson P (figure 2.9).

#### ➤ Etape 8: Implantation de la zone $P^+$

L'implantation des ions bore s'effectue avec la résine de protection à travers l'oxyde de pré-implantation (figure 2.10).

- Implantation de bore (dose:  $1 \times 10^{16}$  at/cm<sup>2</sup>; énergie: 50 keV; tilt: 7°);
- Nettoyage de la résine :
  - Acétone, Rinçage EDI, séchage;
  - Plasma O2 (45 min);
  - RT2 si nécessaire.

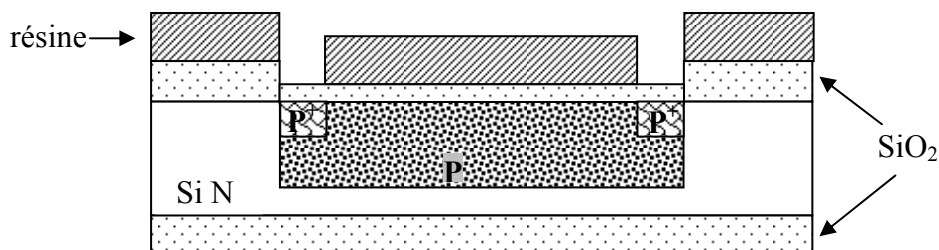


Figure 2.10: Implantation du  $P^+$

### ➤ Etape 9: Photogravure des sources et des drains $N^+$ (masque #3)

Cette étape permet de matérialiser les zones actives des sources et des drains des composants (figure 2.11).

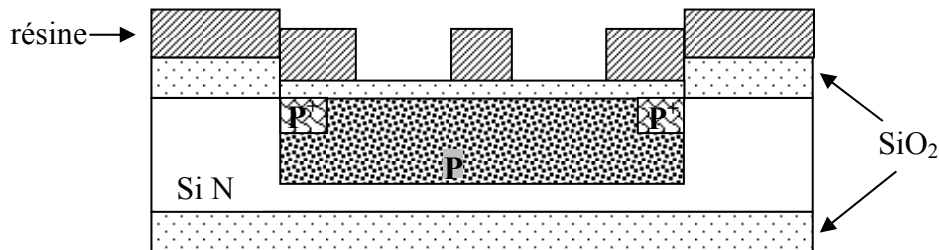


Figure 2.11: Photogravure des zones  $N^+$

Cette étape s'effectue de la façon suivante:

- Etuvage (30min) + HMDS (30 min);
- Etalement de la résine positive AZ 1529 (l'épaisseur de la résine est de 2  $\mu\text{m}$ );
- Alignement + exposition;
- Développement (AZ développeur + EDI [1:1]);
- Rinçage et vérification au microscope ;
- Post recuit 115°C pendant 1min.

### ➤ Etape 10: Implantation $N^+$

Les zones actives des composants sont réalisées par l'implantation d'ions d'arsenic à travers l'oxyde de pré-implantation et avec la résine de protection (figure 2.12). Notons que le positionnement de la source et du drain est symétrique par rapport à l'axe central du composant. Donc, la source va jouer le rôle de la "vraie" source après sa liaison externe avec le caisson P du ChemFET.

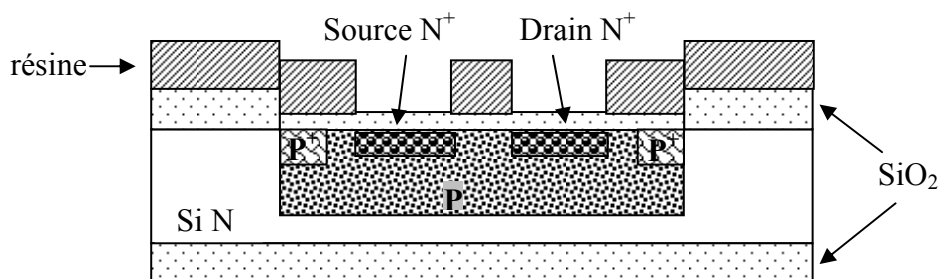


Figure 2.12: Implantation des zones de source et de drain  $N^+$

- Implantation de bore (dose:  $1 \times 10^{16}$  at/cm<sup>2</sup>; énergie: 100 keV; tilt: 7°);
- Nettoyage de la résine:
  - Acétone, Rinçage EDI, séchage;
  - Plasma O<sub>2</sub> (45 min);
  - RT2 si nécessaire.

### ➤ Etape 11: Redistribution sous atmosphère oxydante

La redistribution des diffusions N<sup>+</sup> est commune avec la redistribution des diffusions P<sup>+</sup>.

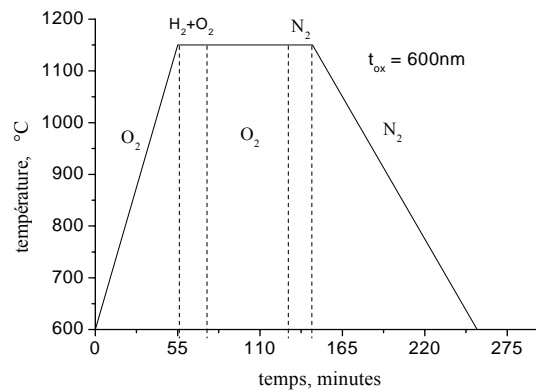


Figure 2.13: Cycle thermique de redistribution

Cette étape thermique permet donc d'homogénéiser le dopage et de diminuer les effets de surface. Ce cycle thermique de redistribution a lieu sous atmosphère oxydante, faisant ainsi croître un oxyde protecteur de 600nm (figure 2.13). On constate l'augmentation de la profondeur des jonctions et la diminution de la concentration en surface des zones actives (figure 2.14). On note que nous avons tenu compte de la diffusion du caisson d'isolation P durant le bilan thermique.

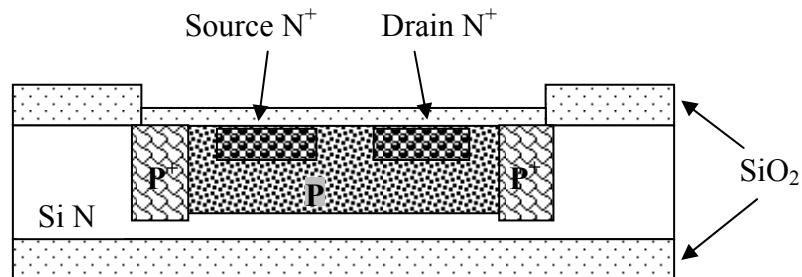


Figure 2.14: Redistribution sous atmosphère oxydante



### ➤ Etape 12: Photogravure de grille (masque #4)

Cette étape est destinée à graver l'oxyde de silicium de pré-implantation précédemment formé sur la face avant de la plaquette par une attaque au buffer HF (figure 2.15). L'étape de photogravure de grille suivra les mêmes séquences que l'étape 3 :

- Etuvage (30min) + HMDS (30 min) pour augmenter l'adhérence;
- Etalement de la résine positive AZ 1529;
- Alignement + exposition;
- Développement (AZ développeur + EDI [1:1]);
- Rinçage et vérification au microscope ;
- Post recuit 115°C pendant 1 min;
- Gravure chimique de l'oxyde (buffer HF: 10 min);
- Nettoyage de la résine à l'acétone et rinçage des plaquettes dans l'EDI.

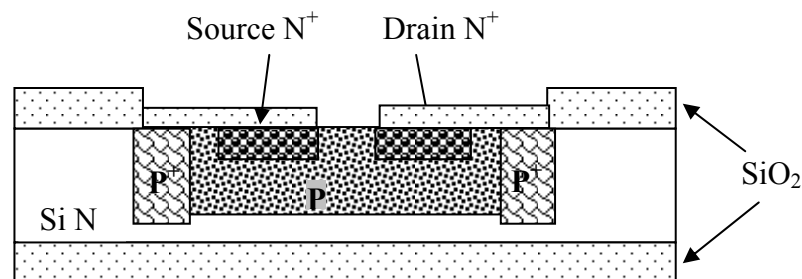


Figure 2.15: Photogravure de grille

### ➤ Etape 13: Nettoyage RCA

Avant d'effectuer l'oxyde et le nitrure de grille qui serviront d'isolant et de couche sensible pour les capteurs chimiques, il faut que la surface entre le silicium et l'oxyde de grille soit extrêmement propre. Après avoir mis le silicium à nu, le nettoyage RCA permet d'améliorer les caractéristiques d'interface entre l'oxyde et le silicium. La méthode de nettoyage RCA consiste en six bains successifs, où l'on va tour à tour enlever l'oxyde et faire un oxyde de quelques nanomètres. Ces bains permettent d'enlever les contaminations organiques, ioniques et métaux lourds. Le contrôle de la résistivité de l'eau permet de s'assurer du bon déroulement du nettoyage.

Les bains de RCA:

- bain A\* : plonger les plaquettes dans HF (10%) pendant 30 sec. pour enlever l'oxyde superficiel, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote;
- bain A : plonger les plaquettes dans l'acide nitrique  $\text{HNO}_3$  à  $80^\circ \text{C}$  pendant 10 minutes pour créer à nouveau un oxyde de silicium de quelques Angströms, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote;
- bain A\* : plonger des plaquettes dans le HF (10%) pendant 30 secondes pour enlever l'oxyde superficiel, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote;
- bain B : plonger les plaquettes dans la solution composée de  $\text{NH}_4\text{OH}$  (28%),  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%) et EDI [1:1:5] à  $80^\circ \text{C}$  pendant 10 minutes, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote;
- bain C : plonger les plaquettes dans la solution composée de  $\text{HCl}$  (37%)  $\text{H}_2\text{O}_2$  (30%) et EDI [1:1:6] à  $80^\circ \text{C}$  pendant 5 minutes, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote ;
- bain A\* : plonger les plaquettes dans le HF (10%) pendant 30 sec. pour enlever l'oxyde superficiel formé précédemment dans le bain C, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote.

### ➤ Etape 14: Oxydation de grille

Les plaques doivent être enfournées immédiatement après le nettoyage RCA pour éviter la contamination de la surface. L'oxyde de grille des composants ChemFETs est réalisé par oxydation thermique sèche du silicium qui assure la croissance d'une mince couche de bonne qualité (figure 2.16).

Le profil thermique de cette étape a été optimisé pour obtenir une épaisseur d'oxyde de 50nm (figure 2.17).

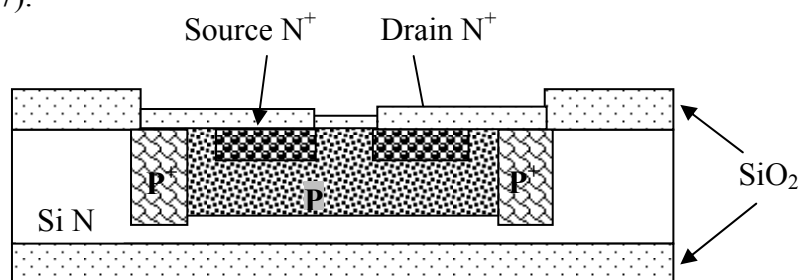


Figure 2.16: Oxydation de grille

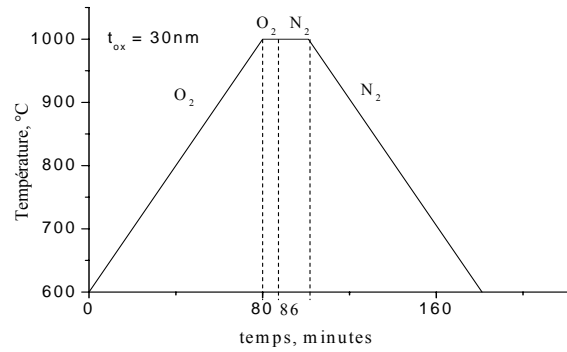


Figure 2.17: Cycle thermique d'oxyde de pré-implantation

### ➤ Etape 15: Dépôt de nitrure de silicium $\text{Si}_3\text{N}_4$ par LPCVD

Aussitôt après le dépôt d'oxyde, nous déposons une couche de nitrure de silicium de 50 nm par dépôt chimique en phase vapeur sous basse pression (LPCVD) qui assure une bonne qualité du diélectrique (figure 2.18). Cette couche est utilisée comme une membrane sensible aux ions hydrogène. De plus, elle constitue une excellente barrière à la diffusion des molécules aqueuses ( $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{H}_3\text{O}^+$ ,  $\text{OH}^-$ ). Les sources gazeuses utilisées pour réaliser cette couche sont l'ammoniac  $\text{NH}_3$  et le dichlorosilane  $\text{SiH}_2\text{Cl}_2$ .

#### ▪ Dépôt de $\text{Si}_3\text{N}_4$ par LPCVD

(Température :  $750^\circ\text{C}$  ; pression 330mTorr ; temps=20min);

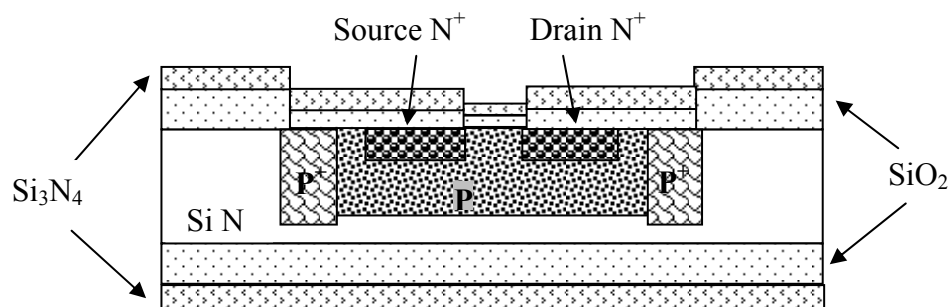


Figure 2.18: Dépôt de nitrure de silicium  $\text{Si}_3\text{N}_4$

### ➤ Etape 16 : Photogravure d'ouverture des contacts (masque #5)

L'ouverture des contacts consiste à attaquer le nitrure de silicium par une gravure plasma (RIE) et ensuite à enlever l'oxyde de silicium par gravure humide (buffer HF) (figure 2.19).

## Partie II

L'objectif de cette étape est de définir les ouvertures qui assureront de bons contacts électriques entre le métal et les zones actives du composant (drain, source, substrat).

Cette étape consiste à:

- Etuvage (30min) + HMDS (30 min);
- Etalement de la résine positive AZ 1529;
- Alignement + exposition;
- Développement (AZ développeur + EDI [1:1]);
- Rinçage et vérification au microscope ;
- Post recuit 115°C pendant 1 min.;
- Gravure plasma du nitrure (GIR 100:1min30);
- Gravure chimique de l'oxyde (buffer HF: 10 min);
- Nettoyage de la résine à l'acétone et rinçage des plaquettes dans l'EDI.

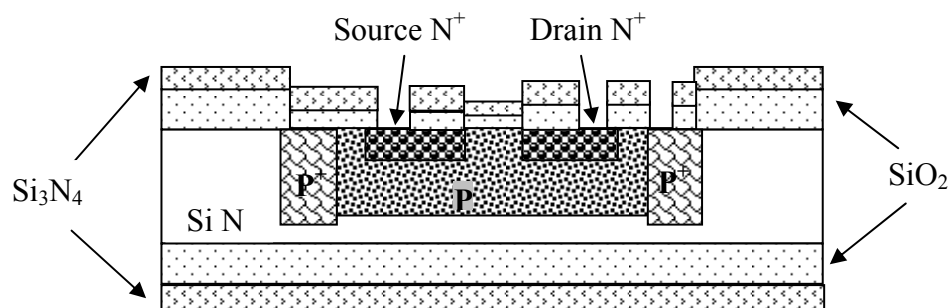


Figure 2.19: Ouverture des contacts

### ➤ Etape 17: Métallisation titane/or

Pour former des contacts fiables avec des zones actives du composant, des couches titane/or (Ti/Au) ont été déposées sur la surface de la plaquette par évaporation thermique (figure 2.20). La couche de titane est utilisée comme une couche d'accrochage.

- Dépôt à 150°C de Ti/Au (200nm/800nm) ;

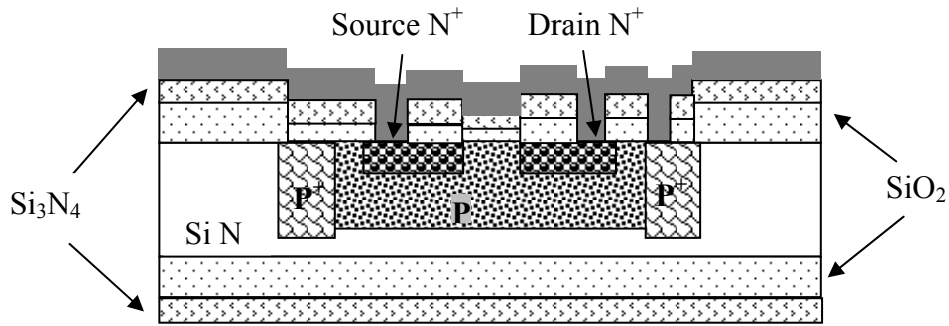


Figure. 2.20: Métallisation

### ➤ Etape 18: Photogravure des métallisations (masque #6)

Cette étape sert à protéger les régions du composant où on souhaite conserver le dépôt des métaux (contacts : source, drain et substrat). Les zones non protégées par la résine vont être enlevées par une gravure humide (figure 2.21).

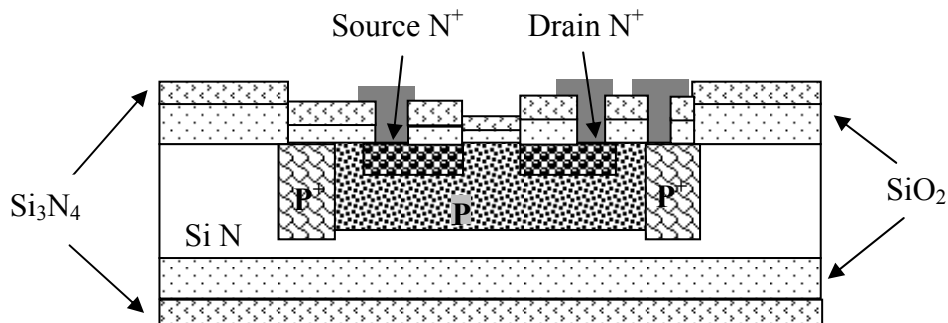


Figure 2.21: Photogravure des contacts

Décrivons brièvement cette étape:

- Etuvage (30min) + HMDS (30 min);
- Etalement de la résine positive AZ 1529;
- Alignement + exposition;
- Développement (AZ développeur + EDI [1:1]);
- Rinçage et vérification au microscope ;
- Post recuit 115°C pendant 1 min.;
- Gravure chimique de l'or dans une solution de KI + I<sub>2</sub> pendant 4 minutes;
- Gravure chimique du titane (buffer HF: 3 min);
- Nettoyage de la résine à l'acétone et rinçage des plaquettes dans l'EDI.

### ➤ Etape 19: Recuit de métallisation

Nous avons effectué le recuit des plaquettes pendant 20 minutes sous azote hydrogéné à 250°C. Ceci diminue les contraintes dans les zones métallisées et améliore les propriétés d'accrochage de la couche métallique.

### ➤ Etape 20: Réalisation des zones chimiquement sensibles.

Les couches sensibles vont être déposées soit par dépôt de microgouttes, soit à l'aide des techniques de photolithographie (masque 7). Ce sujet sera développé dans la troisième partie de ce chapitre.

### ➤ Etape 21: Montage des composants

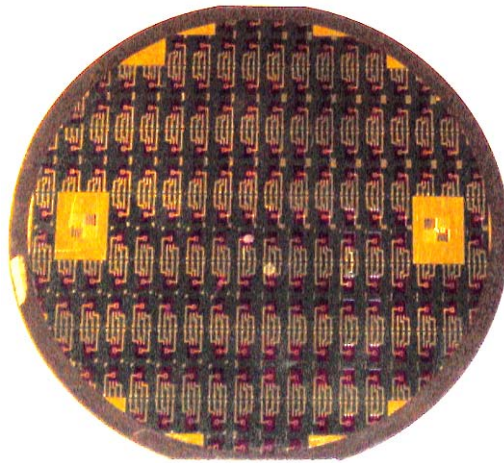
Après un dépôt de résine de protection, les plaquettes vont être découpées à l'aide d'une scie diamantée. L'utilisation d'une commande numérique permet de découper la plaquette et d'individualiser les puces sélectionnées en vue de leur montage. Ainsi, les puces vont être collées par la face arrière sur des circuits imprimés, soudées et encapsulées.

#### I.1.2.2. Résumé de la fabrication des ChemFETs

La présence des plaquettes témoins a permis de contrôler le bon déroulement des procédés technologiques. Quelques résultats réels et simulés sont présentés dans le tableau 2.1.

Paramètres	Valeurs souhaitées	Valeurs mesurées
Epaisseur oxyde de masquage	700nm	Ellipsomètre : 730nm
Epaisseur de l'oxyde de pré-implantation	40nm	Ellipsomètre : 43nm
Epaisseur d'oxyde de grille	50nm	Ellipsomètre : 55 nm
Epaisseur du nitrure de grille	50nm	Ellipsomètre : 47 nm
Résistance carré P	2120 $\Omega$ /sqr	2500 $\Omega$ /sqr
Résistance carré P+	30 $\Omega$ /sqr	35 $\Omega$ /sqr
Résistance carré N+	12 $\Omega$ /sqr	16 $\Omega$ /sqr

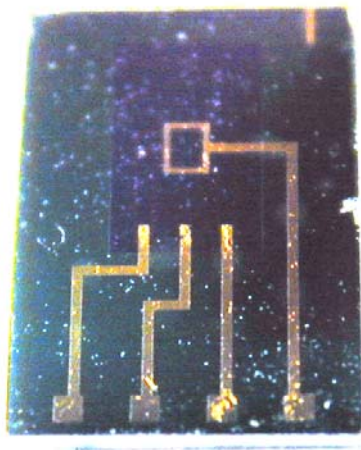
Tableau 2.1: Comparaison entre les valeurs simulées et mesurées



*Figure 2.22 : Photographie d'une plaquette des ChemFETs*

La photo de la plaquette réalisée est donnée sur la figure 2.22. La plaquette contient au total 180 composants (ChemFETs avec les différentes formes d'électrode de grille et des transistors MOS comme composants de test).

La figure 2.23 présente le capteur ChemFET avec une électrode de grille en anneau après la découpe. La structure bâtonnet réalisée par Iryna HUMENYUK [14] est présentée sur la figure 2.24.



*Figure 2.23: Photographie d'un ChemFET  
(structure pour microcuve)*



*Figure 2.24: Photographie d'un ChemFET  
(structure "bâtonnet")*

## **I.2. Conception et réalisation de microélectrodes**

### **I.2.1 Objectif**

Les microélectrodes que nous avons réalisées sont destinées pour des analyses aussi bien en milieu salin (analyse de l'eau) qu'en milieu biologique (analyse du sang). Pour ce faire, nous avons réalisé plusieurs structures et motifs de microélectrodes suivant les applications et les contraintes. Par conséquent, nous avons dû réaliser trois types différents de microélectrodes. De plus, notre travail a porté sur une optimisation du dépôt d'or afin d'obtenir une surface appropriée pour une meilleure adhésion des agents chimiques et biologiques. Donc, une série de masques a été réalisée avec les différentes structures sur le logiciel CLEWIN (annexe II).

### **I.2.2. Fabrication des microélectrodes**

Le procédé technologique des microélectrodes d'or est basé sur les étapes standards de la technologie silicium. De même que pour les micro-capteurs ChemFETs, nous avons tenu compte des particularités de fonctionnement en milieu aqueux lors de la conception. Les étages technologiques 1, 2, 4, 5, 6 et 9 sont identiques pour les trois types de microélectrodes.

#### **➤ Choix du substrat**

Nous avons choisi un substrat silicium standard de type P avec une orientation  $\langle 100 \rangle$  ayant une résistivité de  $10\Omega\cdot\text{cm}$  ( $N_a = 10^{15} \text{ at/cm}^3$ ) et une épaisseur de  $525 \mu\text{m}$ . Les dimensions des plaquettes (4 pouces) ont été dictées par les équipements de la centrale technologique. Le choix de ce substrat a été motivé non pas sur des critères technologiques mais plutôt économiques du fait que le substrat ne sert que de support mécanique.

#### **➤ Etape 1: Nettoyage des plaquettes de silicium**

Ce nettoyage (attaque piranha) est destiné à enlever les impuretés et les composés organiques en surface du silicium, en faisant croître une fine couche d'oxyde qui va piéger ces impuretés, puis en éliminant cette couche. Cette étape s'effectue de la manière suivante:



- Nettoyage des plaquettes dans le bain  $\text{H}_2\text{SO}_4(90\%)/\text{H}_2\text{O}_2(10\%)$  [1:1] en volume pendant 30 secondes, création d'un oxyde de silicium de quelques Angströms;
- Rinçage des plaquettes dans l'eau déionisée EDI et séchage sous azote;
- Attaque chimique dans le  $\text{HF}(10\%)$  pendant 30 sec. pour enlever la couche d'oxyde;
- Rinçage des plaquettes dans l'EDI (11  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$  et plus) et séchage sous azote.

### ➤ Etape 2 : Oxydation du substrat

Cette étape a pour but de faire croître une couche d'oxyde thermique de 700 nm. Cette couche d'oxyde est nécessaire pour isoler les différentes pistes électriques du capteur. Le cycle thermique de l'oxydation de masquage est représenté sur la figure 2.25.

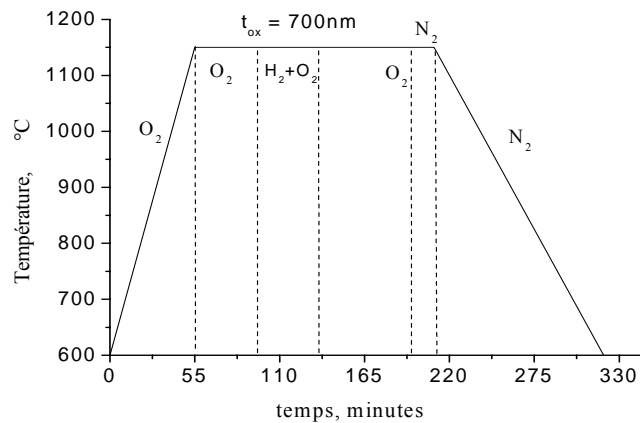


Figure 2.25: Cycle thermique de l'oxydation

L'oxydation se fait sur les deux cotés de la plaquette (figure 2.26).

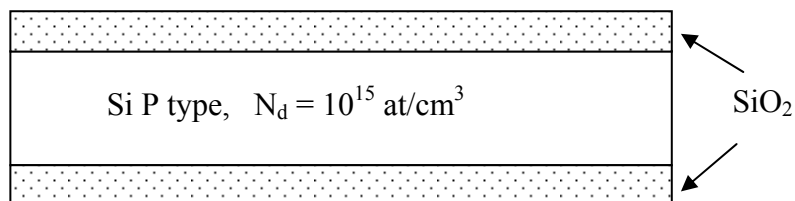


Figure 2.26: Oxydation du substrat

### ➤ Etape 3: Métallisation

Les couches de titane/or (Ti/Au) ont été déposées sur la surface de la plaquette par évaporation thermique (figure 2.27). La couche de titane est utilisée comme une couche d'accrochage. En nous basant sur les caractéristiques couramment utilisées lors des dépôts en microélectronique classique, nous avons optimisé ces dépôts pour les accroches des couches biochimiques. La couche d'or doit être la plus homogène possible afin d'obtenir un maximum de sites d'accroche. Par conséquent, l'optimisation porte essentiellement sur les vitesses et les épaisseurs de dépôt afin de diminuer les contraintes physiques. De plus pour éviter une forte migration du titane à travers la couche or, le dépôt se fait à température ambiante et le recuit de métallisation a été supprimé.

- Dépôt de Ti/Au ;
  - Vitesse de dépôt
    - Titane 2nm/s
    - Or 1nm/s
  - Epaisseur
    - Titane 30nm
    - Or 300nm

### ➤ Etape 4: Photogravure métal (# masque 1)

Cette étape sert à protéger les régions du composant où on souhaite conserver le dépôt des métaux. Des zones non protégées par la résine vont être enlevées par une gravure humide (figure 2.27).

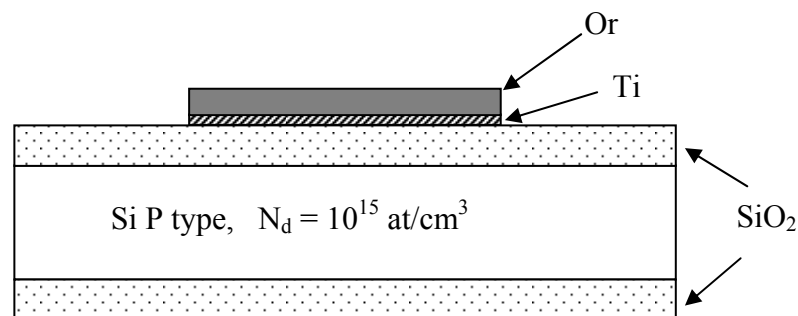


Figure 2.27: Photogravure métal

Décrivons brièvement cette étape:

- Etuvage (30min) + HMDS (30 min);
- Etalement de la résine positive AZ 1529;
- Alignement + exposition;
- Développement (AZ développeur + EDI [1:1]);
- Rinçage et vérification au microscope ;
- Post recuit 115°C pendant 1 min.;
- Gravure chimique de l'or dans une solution de KI +I2 pendant 3 minutes;
- Gravure chimique du titane (buffer HF: 2 min);
- Nettoyage de la résine à l'acétone et rinçage des plaquettes dans l'EDI.

### ➤ Etape 5: Dépôt d'oxyde par PECVD

Cette étape consiste à venir déposer une couche d'oxyde protectrice qui isolera les pistes électriques du composant une fois le capteur plongé dans la solution à analyser. Cet oxyde est créé par un dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma (PECVD). Cette technique de dépôt permet à l'oxyde d'avoir une bonne adhérence sur l'or (figure 2.28). Afin d'améliorer l'adhérence et donc de diminuer les contraintes mécaniques du dépôt d'oxyde sur l'or, une étude portant sur les différents paramètres du dépôt (température, pression, durée, ...) a été menée en collaboration avec le personnel de la salle blanche. L'épaisseur du dépôt est de 300nm.

- Dépôt de  $\text{SiO}_2$  par PECVD.  
(température : 380°C ; BF ; Temps= 8 min);

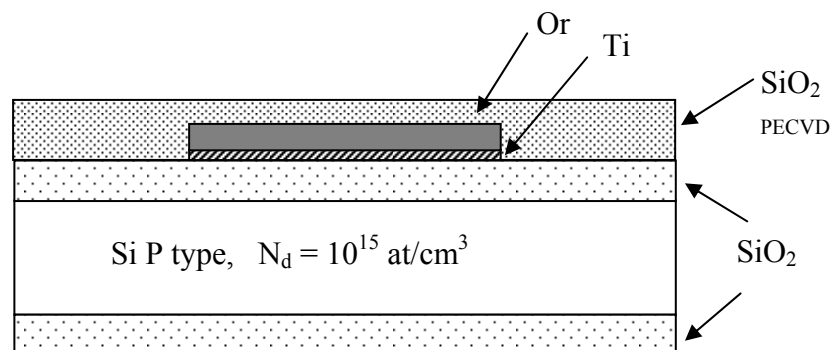


Figure 2.28: Dépôt d'oxyde de silicium  $\text{SiO}_2$  PECVD

➤ **Etape 6: Photogravure  $\text{SiO}_2$  (# masque 2)**

Cette étape permet de venir ouvrir les zones actives et les prises de contact en ne protégeant pas ces zones par de la résine (figure 2.29). L'oxyde non protégé est éliminé par une attaque humide.

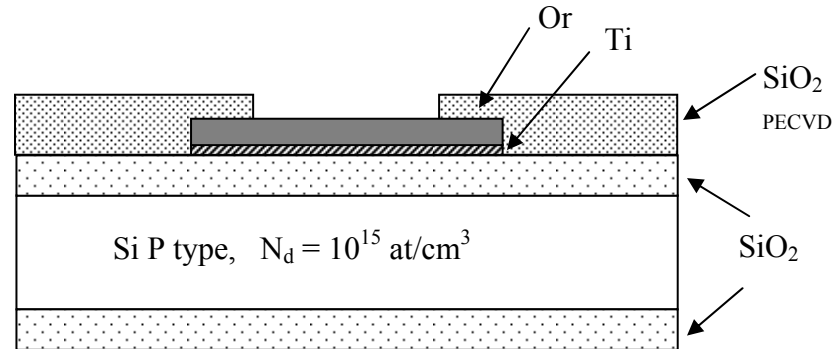


Figure 2.29: Photogravure  $\text{SiO}_2$  PECVD

Décrivons brièvement cette étape:

- Etuvage (30min) + HMDS (30 min);
- Etalement de la résine positive AZ 1529;
- Alignement + exposition;
- Développement (AZ développeur + EDI [1:1]);
- Rinçage et vérification au microscope ;
- Post recuit  $115^\circ\text{C}$  pendant 1 min;
- Gravure chimique de l'oxyde (buffer HF: 3 min);
- Nettoyage de la résine à l'acétone et rinçage des plaquettes dans l'EDI.

➡ **La prochaine étape est spécifique aux électrodes utilisées pour la détection d'ions lourds.**

➤ **Etape 7: Dépôt de l'oxyde PECVD de 20nm.**

Cette étape consiste à venir déposer une couche d'oxyde très fine sur l'or (20nm) pour permettre l'accroche de la couche sensible. Elle est également déposée par dépôt PECVD afin que cet oxyde puisse adhérer sur l'or.

- Dépôt de  $\text{SiO}_2$  par PECVD (20nm).

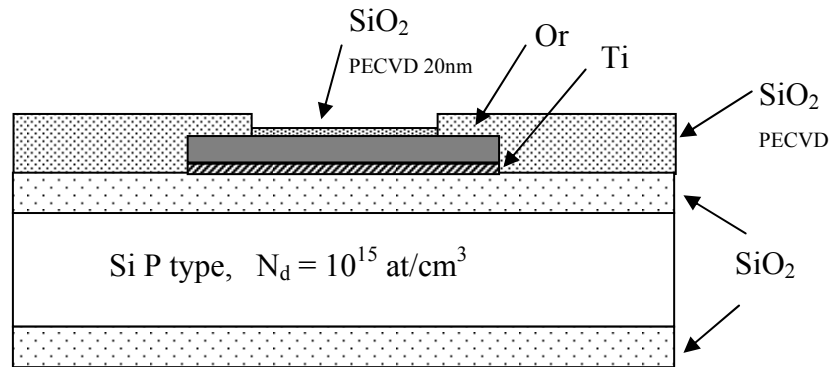


Figure 2.30: Dépôt d'oxyde de silicium  $\text{SiO}_2$  PECVD

➡ La prochaine étape est spécifique aux électrodes utilisées pour le diagnostic du paludisme.

➤ Etape 7: Dépôt du PSX.

Cette étape consiste à venir déposer un polymère, le polysiloxane (voir paragraphe II-2) afin de réaliser les microcavités d'analyse. La hauteur de ces cavités est de  $100\mu\text{m}$  (figure 2.31). Une monocouche auto-assemblée est déposée au préalable pour permettre au PSX d'adhérer sur l'oxyde (voir paragraphe II-2). Le développement du PSX non réticulé aux UV se fait dans du xylène.

Cette étape a nécessité une étude particulière décrite dans le chapitre I-2-1.

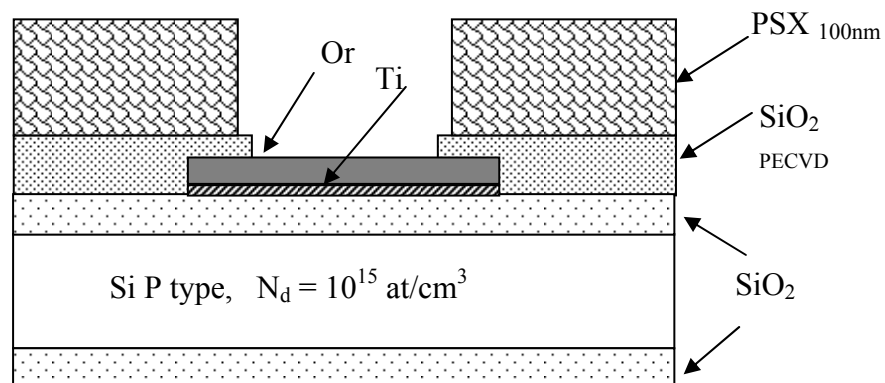


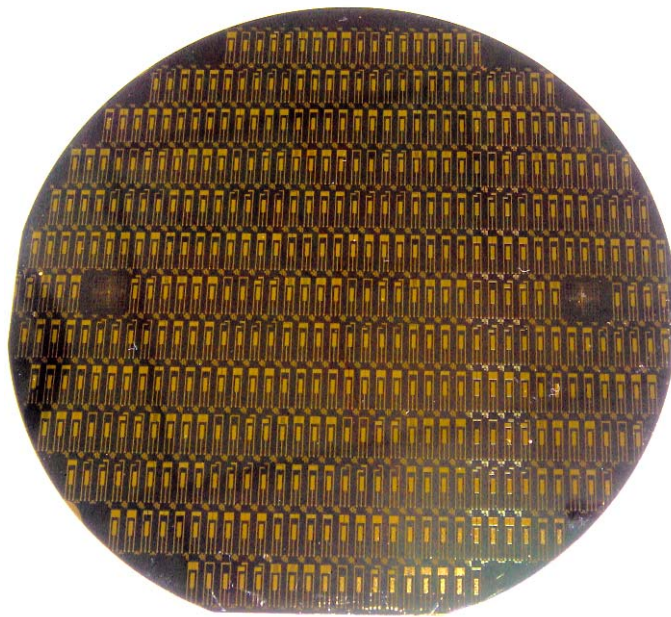
Figure 2.31: Dépôt du PSX

➤ **Etape 8: Réalisation des zones chimiquement sensibles.**

Le dépôt des couches sensibles est l'une des étapes les plus délicates, c'est ce qui confère au capteur toute sa spécificité. Les techniques d'enduction sont diverses et spécifiques aux types de matériaux (polymère, SAM, plastique, ...). Pour nos applications, nous avons utilisé les techniques de dépôts par trempage (Langmuir-Blodgett), par dépôt de microgouttes, par dépôt à la tournette et utilisation des techniques de photolithographie (masque7), ou enfin par greffage chimique. Ce sujet sera développé dans la troisième partie de ce chapitre.

➤ **Etape 9: Montage des composants**

Après un dépôt de résine de protection, les plaquettes vont être découpées à l'aide d'une scie diamantée. L'utilisation d'une commande numérique permet de découper la plaquette et d'individualiser les puces sélectionnées en vue de leur montage. Ainsi, les puces vont être collées par la face arrière sur des circuits imprimés, soudées et encapsulées (figure 2.32).



*Figure 2.32: Photo des composants réalisés*

## II. Adaptation des capteurs en fonction de l'application

### II.1 Réalisation de microcuvés en PDMS

#### II.1.1. Présentation du polydiméthylsiloxane (PDMS)

Le PDMS est un élastomère largement répandu dans le domaine des micro et nano-technologies notamment par le biais de techniques émergentes telles que la micro-impression ou « micro contact printing », ou encore la micro-fluidique. Hormis ses propriétés électriques, ses caractéristiques chimiques confèrent à ce polymère un grand intérêt en termes d'adhésion, de greffage, de moulage, de stabilité et de transparence. De plus, la simplicité et la reproductibilité de la réaction qui transforme les précurseurs du PDMS en polymère en font un matériau plus qu'attractif dans les procédés technologiques actuels qui requièrent des qualités d'adaptation à la fabrication collective à un coût le plus bas possible.

##### II.1.1.1. Caractéristiques chimiques

En général, le PDMS utilisé en laboratoire est délivré sous la forme d'un kit en deux parties. La première contient des chaînes polydiméthylsiloxane d'une soixantaine de monomères terminées par un groupement vinyle. La seconde partie est composée d'une solution de copolymères méthylhydrosiloxane / diméthylsiloxane d'une dizaine de monomères chacun et d'un catalyseur à base de platine. Une représentation semi-développée de ces composés est donnée sur la figure 2.33.

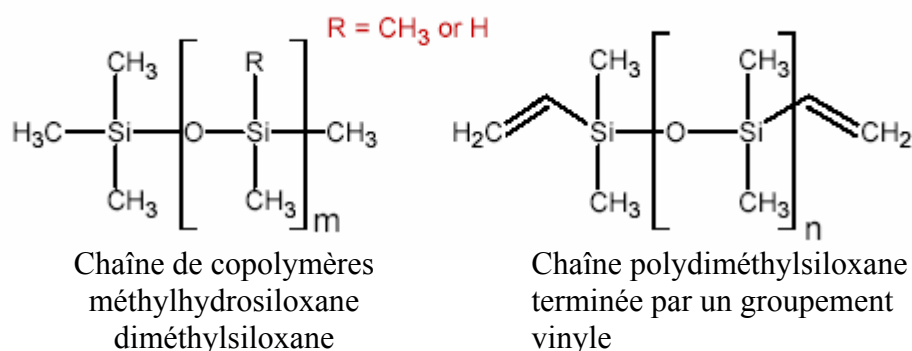


Figure 2.33 : Formules semi-développées des composés nécessaires à la préparation du polymère PDMS [5]

La réaction qui permet la création de liaisons Si-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-Si provient d'une hydrosilylation, résultant d'une réaction de polyaddition des liaisons Si - H sur les terminaisons vinyles. Cette réaction, qui permet d'obtenir finalement le polymère est présentée sur la figure 2.34.

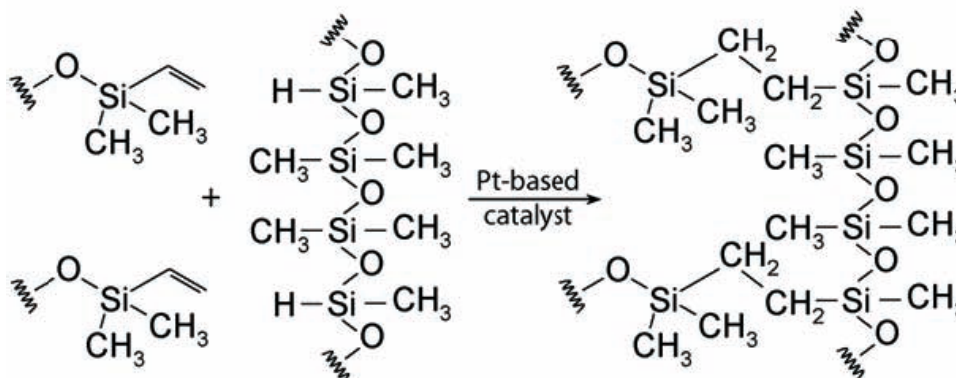


Figure 2.34 : Réaction de réticulation des précurseurs du PDMS [6]

#### **II.1.1.2. Domaines d'applications du PDMS**

Le PDMS ne trouve pas encore beaucoup d'applications directes dans l'industrie. Il est utilisé dans le domaine de l'impression à grande échelle pour le transfert d'images (Presstek, Inc). Il peut être également utilisé, dans l'industrie chimique comme base de préparation d'émulsions de silicone, anti-mousse ou encore comme lubrifiant. Par contre, dans un avenir proche, il est très grandement pressenti dans la création de membranes sélectives dans les industries chimiques pour séparer notamment les composés organiques volatils des effluents rejetés. Il pourra également être utilisé comme moule.

Pour le moment, l'utilisation du PDMS est plutôt réservée au domaine de la recherche. Il est notamment utilisé dans les procédés de nanolithographie. Il a été démontré que la reproduction de micro et nanostructures est possible, en utilisant des paramètres de pression et de température très accessibles par rapport aux procédés habituels pour les matériaux thermoplastiques [8]. Les mêmes auteurs ont également démontré que le PDMS, une fois à l'état réticulé, est compatible avec les techniques classiquement utilisées dans les procédés technologiques comme le lift-off, la gravure RIE ou l'électrodéposition. De plus, les dimensions dont il est question avec le PDMS sont comprises dans une large gamme. Des



microstructures peuvent être imprimées dans des films d'épaisseur inférieure à 1 micron tandis que des microstructures peuvent être reportées dans des couches de 100 microns.

Le PDMS trouve également beaucoup d'applications dans le domaine de la micro-fluidique et celui des laboratoires sur puce (lab-on-chip). En effet, ses caractéristiques permettent des interactions très faibles avec de nombreuses biomolécules ce qui assure une non-dénaturation des solutions biologiques. De plus, les structures obtenues par micro et nano impression peuvent directement être utilisées en tant que micro-canaux et micro-chambres dans lesquels sont mélangés et analysés les réactifs et les échantillons. La surface très lisse et très régulière du PDMS est également très avantageuse dans le cadre de la micro-fluidique de même que sa transparence qui permet de coupler de tels dispositifs avec de la détection basée sur la fluorescence.

Un autre grand avantage du PDMS est de pouvoir être scellé très facilement sur des surfaces planes sans nécessiter des techniques d'ancrages élaborées. En effet, il est possible pour les groupements siloxanes de former des liaisons hydrogènes avec, par exemple, la surface oxydée de silicium par l'intermédiaire de groupements hydroxyls terminaux comme présenté sur la figure 2.35.

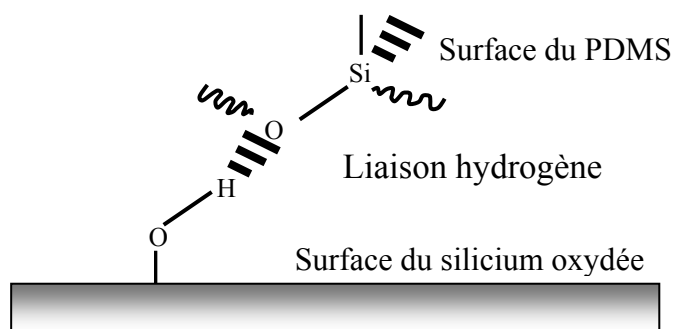


Figure 2.35 : Description schématique de la liaison hydrogène entre les chaînes de PDMS et la surface oxydée du Silicium

La surface oxydée peut être obtenue avec l'oxyde natif du silicium ayant subi un traitement UVOCS (ultraviolet ozone cleaning system) ou en utilisant un procédé conventionnel à base d'acide fluorhydrique suivi d'une oxydation par traitement à l'acide sulfurique et peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{SO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ ). De même, il existe également des traitements anti-adhésifs tels que l'octadecyltrichlorosilane bien établis qui permettent le démoulage du PDMS sans problème.

## **II.1.2. Conception de cuves en PDMS sans micro-canaux**

### **II.1.2.1. Réalisation des cuves**

Les premières microcuves que nous avons fabriquées, ont été réalisées sans micro-canaux. Cette première étude a été amorcée lors de la thèse de Mme pourciel Marie-Laure [9]. Il s'agissait de cubes de 2 millimètres de côté ayant en leur centre une cuve cylindrique d'un millimètre de diamètre. Dans l'optique d'un procédé de fabrication collective, nous avons donc choisi de travailler avec un moule en acier inoxydable (figure 2.36b). Celui-ci nous a permis d'obtenir, après une thermo-réticulation du polymère, une micro-cuve circulaire. La cuve a été reportée directement sur le silicium après avoir subi un traitement plasma  $O_2$  afin de rendre l'adhésion du PDMS sur le substrat plus efficace en modifiant ses caractéristiques de surface. Une fois alignée sur la grille à l'aide d'un microscope, la cuve est scellée au capteur de manière définitive grâce aux liaisons covalentes (figure 2.36a). L'ensemble est laissé à l'air libre pendant un minimum de 24 heures afin qu'il y ait un grand nombre de ces liaisons. Le système est prêt à être utilisé et est présenté sur la figure 2.37.

Le moule a été réalisé au Masuzawa Lab., CIRMM/LIMMS, de l'université de Tokyo. Un moule positif des cuves a tout d'abord été usiné par fraisage puis usiné par EDM (Electro Discharge Machining) afin d'obtenir la partie concave inférieure. Le même processus a été utilisé pour obtenir la partie supérieure en perçant des trous puis en utilisant cette partie percée pour obtenir les cylindres qui formeront la cavité. De plus, le moule est équipé d'entretoises qui permettent de fixer l'épaisseur de l'opercule supérieure à 300, 500 ou 1000 microns. Pour toutes nos expériences, nous avons préférentiellement utilisé l'entretoise de 300 microns d'épaisseur. Enfin, l'état de surface du moule fabriqué par EDM a permis d'obtenir une micro-cuve transparente ce qui a rendu possible un alignement relativement facile du dispositif sur la zone sensible du capteur.

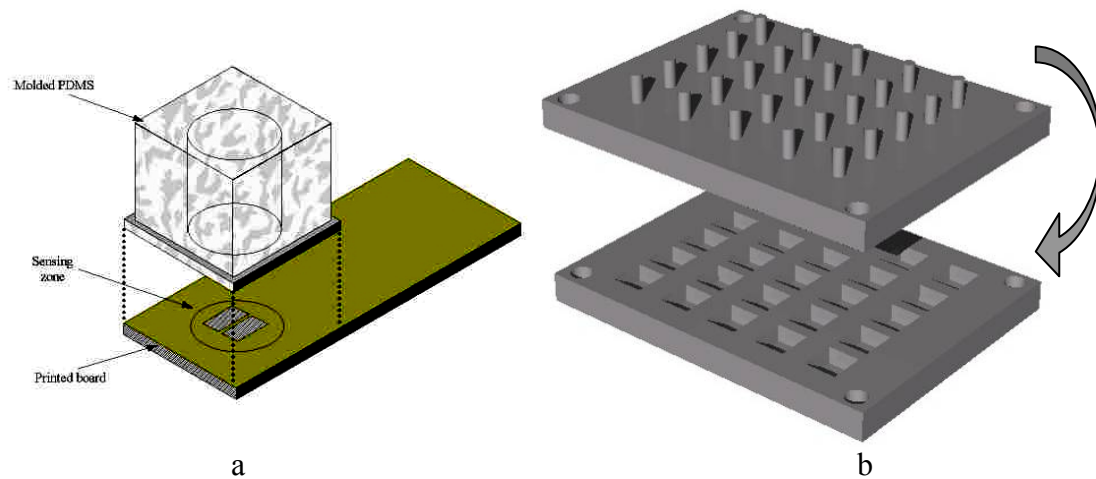


Figure 2.36 : a) Schéma de principe de la micro-cuve reportée sur le composant  
b) Schéma du moule matriciel en acier

Une fois montées, les microcuves sont percées avec deux aiguilles de 300 microns de diamètre. La première servant de remplissage pour les fluides est reliée à une seringue via un tuyau souple très fin de diamètre interne de 200 microns. La seconde est préalablement métallisée avec un dépôt d'or de 200 nanomètres et est soudé à un fil. Cette dernière sert à la fois d'électrode de référence pour l'ISFET et de vidange pour les fluides.

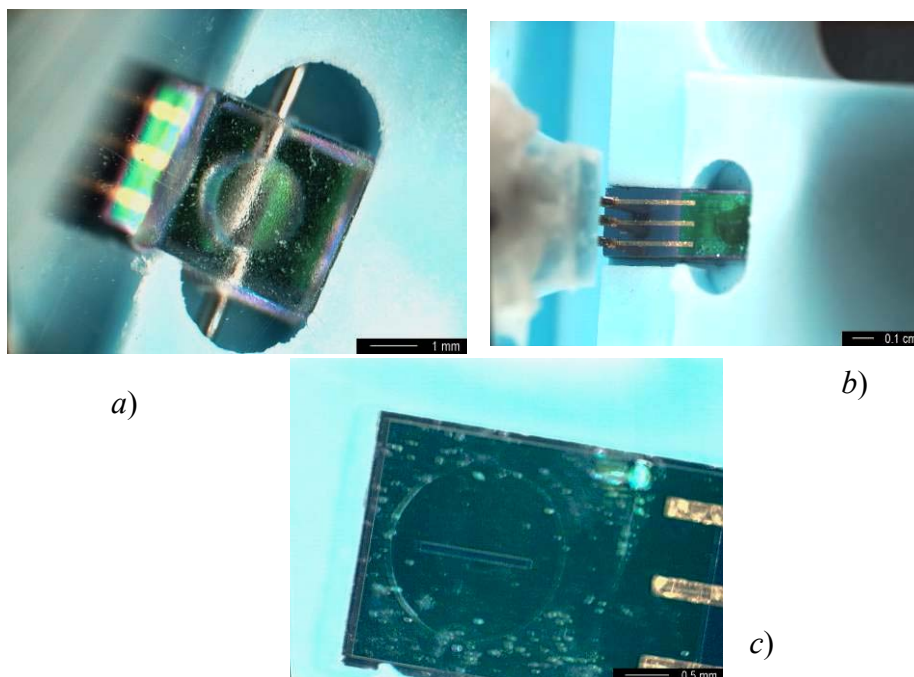


Figure 2.37 : a) Détail de l'intérieur de la cavité avec les aiguilles d'entrée et de sortie  
b) Vue de dessus de l'ISFET avec la prise de contact des pointes  
c) Vue de la grille sensible du capteur après avoir arraché la cuve de PDMS

### II.1.2.2 Réticulation, collage, démoulage et assemblage du PDMS

Le PDMS que nous avons choisi d'utiliser est le Sylgard 184. Ce polymère est un élastomère silicone utilisé notamment dans l'industrie pour l'encapsulation de matériel électrique. C'est un bon diélectrique et il dispose d'une excellente transparence. Ce produit se trouve sous forme d'un kit bi-composant, le silicone et l'agent réticulant. Les composés sont mélangés vigoureusement avec une proportion 10:1, puis l'ensemble est mis dans une enceinte sous vide afin d'éliminer toutes les bulles d'air. Le mélange est ensuite coulé sur le moule. Le tout est placé dans une étuve permettant ainsi la thermo-réticulation du PDMS. Le temps de réticulation dépend de la température de l'étuve allant de 24h à température ambiante à 10min à 150°C (figure 2.38). La couche de polymère réticulé est démoulée puis est découpée à l'aide d'un scalpel. L'ensemble est reporté sous microscope sur le capteur en prenant bien soin d'aligner la cuve sur la partie sensible du capteur. L'assemblage PDMS/silicium est réalisé par un traitement au plasma oxygène. Ce traitement à une puissance de 200W pendant 20 à 60s a pour but de modifier les énergies de surface du PDMS comme du silicium en formant des groupements hydroxyles. Lors de la mise en contact entre les deux éléments, il y a formation de liaisons covalentes Si-O-Si du fait des propriétés élastomères du polymère. Le collage ainsi réalisé est irréversible.

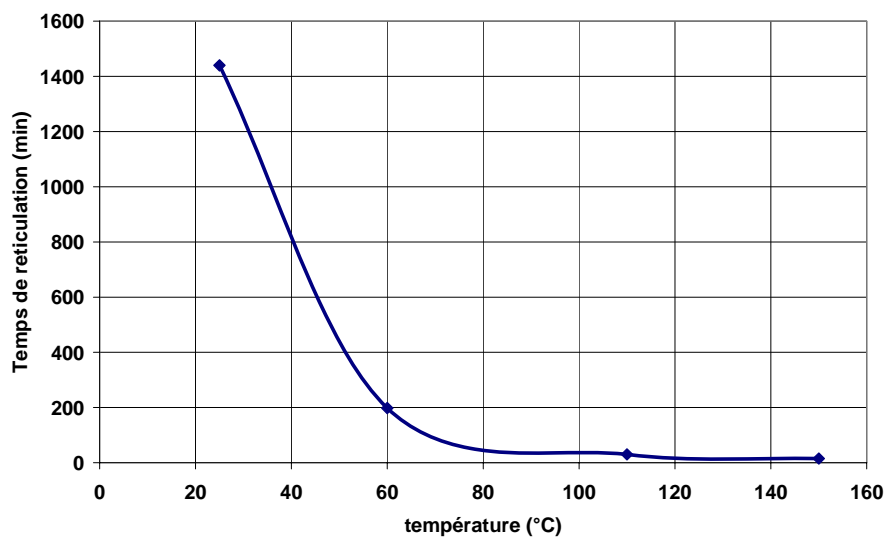


Figure 2.38 : Temps de réticulation du PDMS en fonction de la température

### **II.1.2.3. Avantages et inconvénients du procédé**

Le gros avantage de ce procédé est qu'il est simple à mettre en œuvre. Le report de la cuve se fait sur des capteurs déjà montés et encapsulés sur des circuits imprimés. Ceci induit une bonne connectique mais également nous permet de tester au préalable les capteurs par les techniques classiques de caractérisation. De plus, l'alignement de la microcuve sur la grille sensible est facilité par ses dimensions extérieures qui sont très proches des dimensions de l'ISFET.

Néanmoins, des inconvénients sont apparus lors du placement des aiguilles et lors de la caractérisation proprement dite. L'introduction des aiguilles dans le PDMS se faisant manuellement et vu la taille des différents éléments mis en jeu, la dextérité de l'opérateur est très vite mise à mal. En outre, une fois les aiguilles plantées, la manipulation du système est délicate. De plus lors de l'injection des liquides, la tuyauterie d'alimentation bouge toujours plus ou moins et déchire la fine épaisseur de PDMS autour de l'aiguille entraînant des fuites. Par ailleurs la surface de PDMS en contact avec le silicium étant relativement petite et vues toutes les forces mises en jeu lors des différentes étapes (introduction des aiguilles, injection des fluides, et déplacement divers), la cuve se décolle ou le plus souvent se déchire.

### **II.1.3. Conception de cuves en PDMS avec micro-canaux**

#### **II.1.3.1. Réalisation des cuves**

Dans la perspective d'utiliser ces capteurs dans un système microfluidique, nous avons donc décidé de modifier totalement la géométrie des cuves. Non seulement, nous avons opté pour une surface de PDMS beaucoup plus grande facilitant son report et son accroche sur silicium, mais de plus, nous avons cherché un moyen de nous affranchir du problème d'injection des fluides que nous avons rencontré précédemment. La solution que nous avons choisie est présentée sur la figure 2.39. Si la cavité est toujours de même taille (cylindre d'un millimètre de diamètre), des nouveaux canaux ont été rajoutés donnant ainsi une dimension supplémentaire au PDMS. Enfin, la grosse amélioration provient de la partie d'injection des liquides dans la cuve avec une introduction des aiguilles sur la partie supérieure du PDMS à l'aide d'un bras qui maintient l'aiguille fixe par rapport au PDMS. Cette immobilité entre tous ces éléments évite le déchirement du polymère est donc tout problème lié à l'évaporation. De

plus, la grande surface de contact entre le PDMS et le composant améliore le collage et donc les propriétés mécaniques du système.



*Figure 2.39 : microcuve avec microcanaux reporté sur un composant*

Le PDMS utilisé est le même que précédemment (sylgard184). Une fois les deux éléments qui le composent mélangés, il est coulé sur le moule puis est thermo-réticulé à l'étuve. Après démoulage et découpe, on vient percer le PDMS au niveau de la cuve et à l'extrémité du canal de vidange, à l'aide d'un petit poinçon. Ensuite, on vient sceller ce PDMS sur un autre morceau de PDMS ne contenant aucun motif mais ayant été fabriqué de la même manière. Afin d'obtenir un collage irréversible, les deux morceaux subissent au préalable un traitement au plasma oxygène créant ici aussi des liaisons covalentes Si-O-Si. L'ensemble est reporté sur le composant ayant subi un plasma oxygène, à l'aide d'un microscope afin d'aligner la cuve sur la partie sensible du capteur (figure 2.39).

### **II.1.3.2. Réalisation des moules**

De nombreuses possibilités se sont présentées à nous pour la réalisation de ces matrices de réplique, telles que les gravures profondes de silicium humide (attaque KOH) et sèche (DRIE) ou des dépôts de résines épaisses (SU8) ou encore des solutions un peu plus marginales qui utilisent la technologie des circuits imprimés. Cette dernière bien que peu coûteuse n'offre pas une reproductibilité et un respect des dimensions suffisant pour nos applications et n'a donc pas été retenue. La surface totale de PDMS étant d'une taille importante d'un point de vue microélectronique (1.8mm par 0.9mm), seul un petit nombre de motifs peut être placée sur une plaquette 4''. Cet inconvénient est compensé par le fait que

cette matrice de réplcation n'est fabriquée qu'une seule fois mais utilisée comme moule un grand nombre de fois. Par conséquent, même si le coût de fabrication du moule en lui-même reste élevé, au final, vu qu'il est utilisé plusieurs fois, le prix de chaque motif de PDMS devient concurrentiel. La section des canaux est de  $200 \times 200 \mu\text{m}$  sur une longueur d'environ 1cm et la surface de cuve est de  $1 \times 1 \text{ mm}$  sur une hauteur de  $200 \mu\text{m}$ . La hauteur des motifs de la matrice sera donc de  $200 \mu\text{m}$ . Les motifs du moule doivent avoir un profil négatif par rapport au motif final en PDMS.

Dans un premier temps, nous avons réalisé ce moule par gravure profonde DRIE (Deep Reactive Ion Etching). Cette technique bien connue en microélectronique et très largement utilisée au laboratoire a été choisie notamment pour ses qualités de gravure anisotropique.

### • Moule réalisé par gravure profonde DRIE

Le principe consiste à créer un plasma de haute densité dans un milieu à basse pression, et à diriger ensuite les ions et radicaux issus de ce plasma vers la surface à usiner. Les espèces volatilisées sont ensuite évacuées du système par pompage.

Afin de garantir un aspect anisotropique et une gravure profonde rapide, le principe de base repose sur l'utilisation d'une phase de passivation et de gravure. La phase de passivation consiste à déposer isotropiquement une couche qui inhibe le bombardement ionique sur les parois latérales de l'ouverture. La phase de gravure élimine successivement la couche de passivation puis le silicium sur le plan horizontal. Le principe de la méthode est illustré sur la figure 2.40.

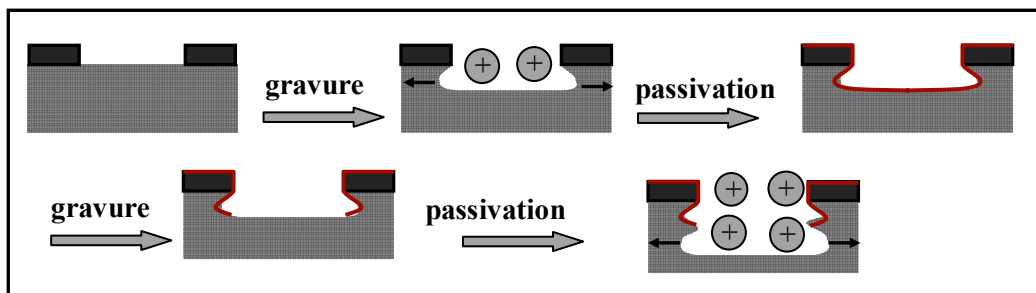


Figure 2.40 : Principe de la gravure DRIE

Ainsi, la directionnalité du bombardement ionique et l'inhibition de la gravure latérale conduit à une gravure fortement anisotropique et qui ne dépend pas des plans

cristallographiques. Les ouvertures du masque de photolithographie correspondent directement à la forme et aux dimensions des motifs.

La méthode développée par Laërmer [10,11], et communément connue sous le nom de ‘Bosch process’, repose sur l’alternance de la phase de passivation et de gravure de silicium à température ambiante. La passivation est réalisée par formation d’un polymère sur les tranches latérales issue des radicaux fluorocarbonés ( $\text{CHF}_3$ ,  $\text{C}_2\text{F}_6$ ,  $\text{C}_4\text{F}_8$ ,  $\text{CF}_4$ , ...), tandis que la gravure peut être réalisée par les radicaux généralement issus des gaz fluorés ( $\text{SF}_6$ ,  $\text{NF}_3$ , ...). Cette technique permet d’obtenir de grandes vitesses de gravure (jusqu’à une dizaine de microns par minute), une grande sélectivité de gravure par rapport aux résines de masquage, et un très bon aspect des formes.

Les substrats utilisés sont de type 4 pouces, ont une orientation cristalline  $\langle 100 \rangle$ , sont polis sur une seule face et ont une épaisseur de 1mm. Cette épaisseur non classique a été nécessaire pour conférer à la matrice après la gravure, une résistance mécanique suffisante lors des nombreuses manipulations. La profondeur de gravure qui est de  $200\mu\text{m}$ , se fait sur plus de 90% de la plaquette car seuls les motifs des canaux et de la microcuve ainsi que les chemins de découple sont protégés par la résine (profil des motifs sur le moule en négatif). La fabrication de la matrice par gravure DRIE se déroule de la manière suivante (figure 2.41) :

- Nettoyage du substrat par attaque piranha (mélange d’eau oxygène/acide sulfurique à 1/1) puis bain d’acide fluorhydrique ;
- Déshydratation en étuve à  $200^\circ\text{C}$  pendant 30min minimum ;
- Traitement de vapeur d’héxamethyldisilazane (HMDS) pendant 10min ;
- Recuit à  $150^\circ\text{C}$  pendant 20min afin de promouvoir l’adhérence de la résine ;
- Dépôt à la tournette de  $5\mu\text{m}$  de la résine AZ4562 (résine positive) à 5000tr/min avec une accélération de 5000tr/min/s pendant 30s ;
- Post-recuit à  $105^\circ\text{C}$  pendant 50s (évaporation des solvants) ;
- Alignement + exposition aux UV ;
- Développement (AZ développeur + EDI [1:1]) ;
- Rinçage et vérification au microscope ;
- Gravure DRIE avec une puissance de plasma de 800 watts (vitesse de gravure de l’ordre de  $3,7\mu\text{m}/\text{min}$ ) ;
- Nettoyage de la résine par plasma  $\text{O}_2$  (800w, 1l/min, 15min).



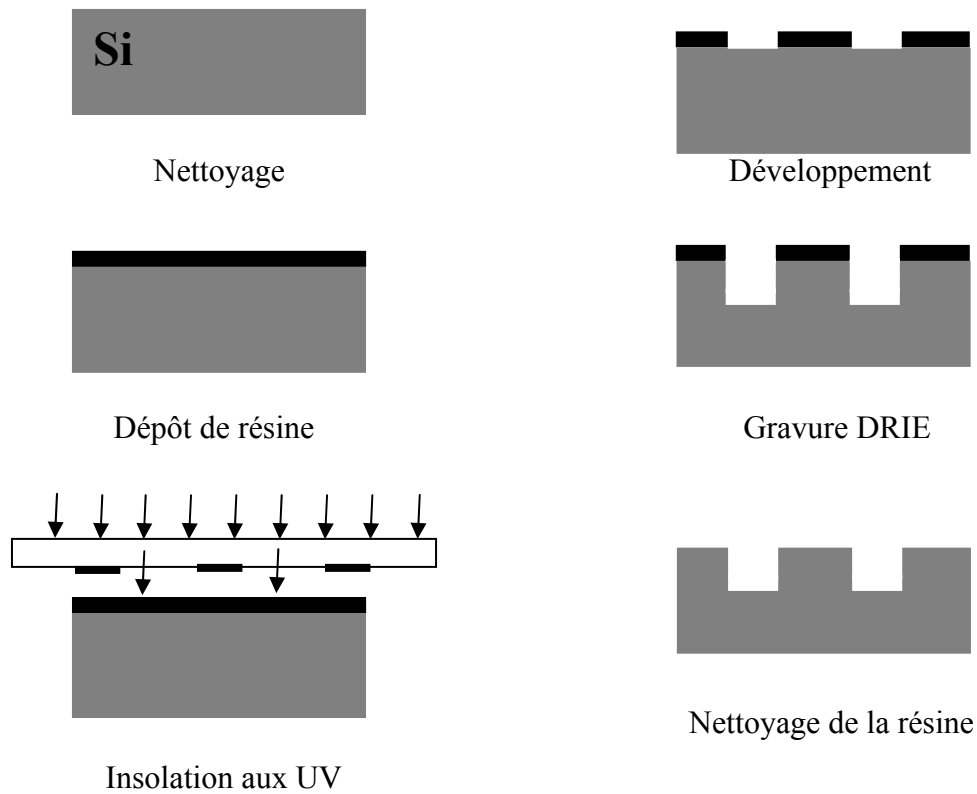


Figure 2.41 : Fabrication d'un moule par DRIE dans le silicium

La figure 2.42 montre le profil vu au microscope électronique à balayage. Les flans forment un angle d'environ  $4^\circ$  avec la verticale.

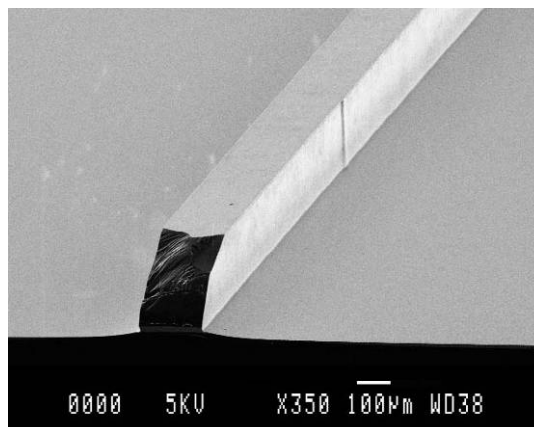


Figure 2.42: Profil de la matrice gravée par DRIE

Cependant 90% de la surface polie de la plaquette de silicium est gravée, par conséquent la rugosité de surface augmente et devient importante après la gravure rendant la surface du PDMS non lisse. Cette rugosité à la surface du PDMS n'engendre que peu de

points de liaison avec le composant en silicium. Ce faible collage entre les deux parties provoque régulièrement des décollements partiels du polymère et donc des fuites. Afin de nous soustraire, de cet effet négatif de la gravure DRIE, et par conséquence de garder un maximum de surface polie du moule en silicium, nous avons choisi de venir déposer une résine de forte épaisseur (200 $\mu$ m) à la surface de la plaquette pour y réaliser les motifs. La résine SU8 pourra répondre à ces critères.

### • Moule réalisé par dépôt de résine SU8

La résine SU-8 a été également évaluée pour la création de matrices. Cette technique est également moins exigeante en équipement puisqu'elle ne nécessite pas l'utilisation d'un bâti de gravure sèche. Enfin, on peut s'attendre à un meilleur état de surface, notamment sur les flancs. Le produit utilisé est de la série SU-8 20xx Flex de Microchem, cette série étant une version de la SU-8 2000 provoquant moins de contraintes. Cette série se décline en différentes viscosités, depuis la 2002 fluide (7,5cSt) à la 2100 très visqueuse (45000cSt). Le procédé se déroule de la manière suivante (figure 2.43) :

- Plasma pour les plaquettes (O<sub>2</sub> 1000ml) 800W 5min ;
- Dépôt de 9ml au centre de la plaquette de la SU8 2075 Flex ;
- Pré rotation
  - vitesse 500 tr/min
  - Accélération 100 tr/s<sup>2</sup>
  - Temps 5s ;
- Rotation
  - vitesse 1600 tr/min
  - Accélération 300 tr/s<sup>2</sup>
  - Temps 30s ;
- Recuit (figure 2.43)
  - 6min40s à 65°C
  - 22min à 95°C
  - Descente à 25°C ;
- Détourage acétone
  - vitesse 5000 tr/min
  - Accélération 5000 tr/s<sup>2</sup>
  - Temps 30s ;
- Alignement + exposition aux UV ;
- Post recuit (figure 2.43) 1min à 65°C

9min à 95°C

Descente à 25°C ;

- Révélation 4 à 5min PGMEA (Propylene Glycol Monomethyl Ether Acetate) puis rinçage à l'isopropanol ;
- Recuit final (figure 2.43) 1min à 65°C  
1min à 110°C  
Descente à 25°C ;

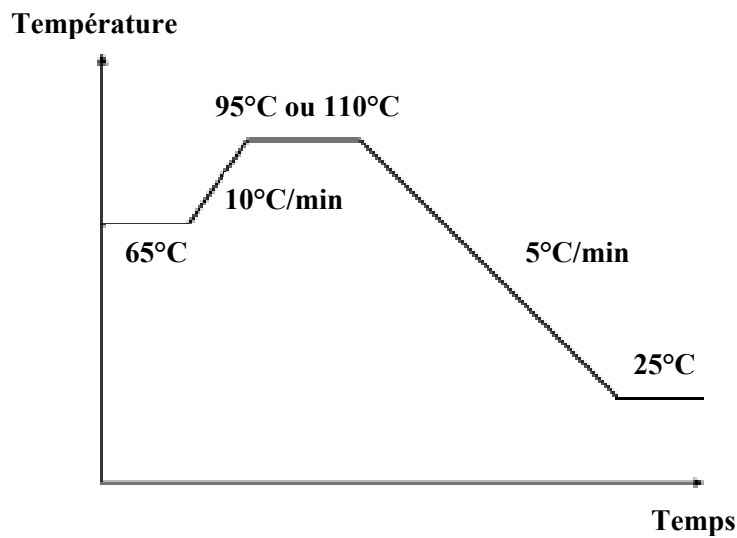


Figure 2.43 : condition des différents recuits de la résine SU8 2075 Flex pour 200  $\mu\text{m}$  d'épaisseur

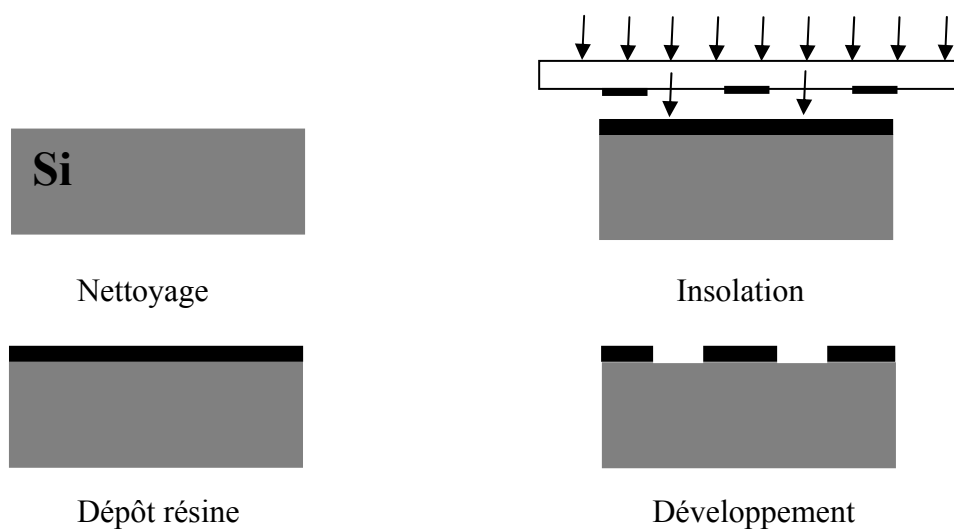
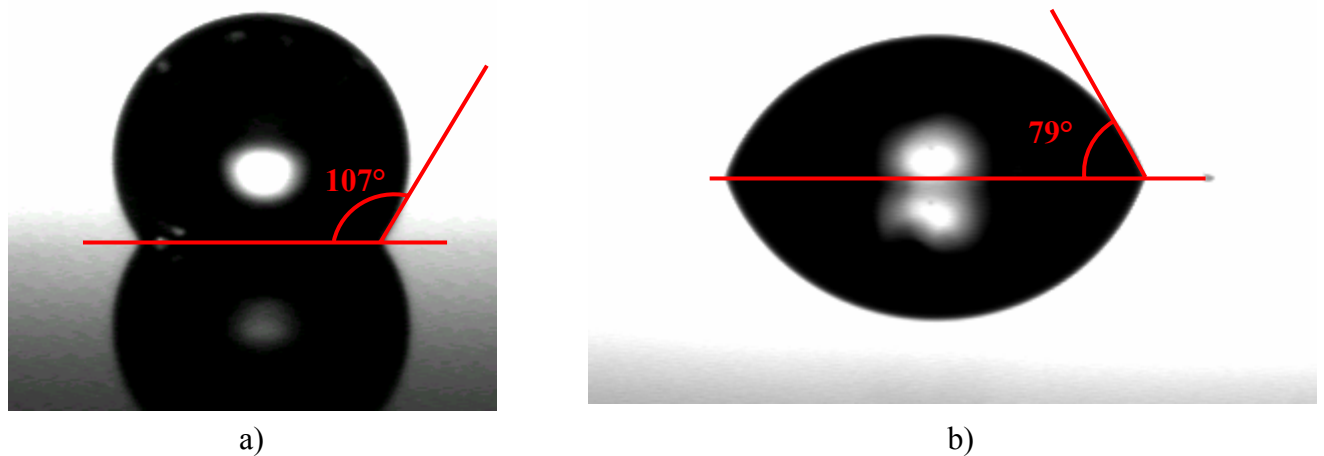


Figure 2.44 : Fabrication d'une matrice en résine SU8

### **II.1.3.3. Traitement de surface anti-adhésion**

Afin d'éviter que le PDMS n'adhère sur le silicium, il nous faut réaliser un traitement à la surface de la matrice. Parmi les traitements qui s'offraient à nous, nous avons choisi de traiter les plaques par silanisation. Cette technique consiste à greffer une monocouche auto-assemblée d'OTS (octadecyltrichlorosilane) donc la formule est  $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{17}-\text{SiCl}_3$ .

Avant tout traitement, les plaquettes sont mises à déshydrater car l'OTS est un produit qui réagit en présence d'eau en formant une fine pellicule blanchâtre. Immédiatement après, les moules sont plongés dans un bain d'OTS / trichloréthylène à 1/10 pendant 10min. Ensuite, ils sont rincés au trichloréthylène puis à l'isopropanol et pour finir à l'éthanol. Enfin, ils sont séchés sous un jet d'azote. Pour vérifier le greffage des SAMs, un test de mouillabilité est effectué sur les moules : s'il y a présence d'OTS, l'angle de contact d'une goutte d'eau doit être supérieur à  $100^\circ$  (figure 2.45).



*Figure 2.45 : angle de contact d'une goutte d'eau : a) avec OTS ; b) sans OTS*

### **II.1.4. Conclusion**

Il existe différentes façons de réaliser les moules pour la fabrication collective des microcuvés en PDMS. Le premier type de moule que nous avons réalisé, était en acier inoxydable. Ce type de moule est très robuste et donc permet une fabrication en très grand nombre de matrices de microcuvés de PDMS. De plus, la fabrication de ces moules nécessite

de faire appel à des entreprises spécialisées et donc leur prix de revient est élevé. Par conséquent, ces moules sont bien adaptés pour un usage industrielle, mais bien moins pour le domaine de la recherche. Le deuxième type de moule a été réalisé par gravure profonde DRIRE de plaquette de silicium 4 pouces. Les moules réalisés avec cette technique ont nécessité d'utiliser des plaquettes (non standard) de 1 cm d'épaisseur pour une bonne rigidité mécanique. De plus, cette technique grave plus de 90% de la surface de la plaquette, engendrant une forte rugosité de surface. Cette rugosité est reproduite sur la surface des microcuves de PDMS entraînant un mauvais état de surface de collage du PDMS. Par conséquent, un troisième type de moule a été conçu en utilisant une résine épaisse de type SU8. Cette résine a été déposée par les techniques de la micro-photolithographie. De ce fait, nous avons pu utiliser des plaquettes de silicium standard polie simple face. Cette technique permet de garder intacte la surface polie de la plaquette. Ainsi, ce dernier type de moule est bien adapté à la recherche, il est peu coûteux, rapide à fabriquer mais il est nécessaire de faire un traitement anti-adhésion afin d'éviter un collage du PDMS au moule lors de sa réticulation.

## **II.2. Dépôt des couches sensibles**

Dans le cadre de nos travaux, nous nous sommes intéressés au développement des couches polymériques photosensibles à base de polysiloxane PSX qui sont compatibles avec la fabrication collective [12]. Dans un premier temps, nous avons utilisé la méthode du dépôt à la microgoutte pour la couche à base de PSX. Ceci nous a permis de vérifier les fonctionnalités des capteurs microélectrodes et ChemFETs. Compte tenu des résultats positifs, nous avons alors mis au point la fabrication collective des membranes sensibles aux ions à l'aide des techniques de photolithographie. Une étape de silanisation est effectuée avant tout dépôt de polysiloxane. Cette étape permet au PSX d'adhérer à la surface. Pour les dépôts réalisés sur les surfaces d'or, une étape supplémentaire de pré-silanisation est nécessaire. (voir I.3.2).

### **II.2.1 Dépôt à la microgoutte**

Pour le dépôt de PSX à la microgoutte, la composition de la couche sensible est la suivante : matrice polymère en polysiloxane (PSX), photoinitiateur 2,2-diméthoxy-2-phénylacétophénone (DMPA), solvant tétrahydrofuran (THF) et ionophore avec ou non un

sel d'adhésion (tableau 2.2). La solution est mélangée à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 1 h. Le mélange est laissé au repos pendant 1 h minimum à température ambiante pour permettre le dégazage des bulles d'air formées lors de l'agitation. Afin d'augmenter la viscosité, la solution est mise sur une plaque chauffante à 80°C afin de faire évaporer les solvants.

Ions à détecter	Ionophore à incorporer dans la solution de polysiloxane
$K^+$	Valinomycine + potassium tétrakis (4-chlorophenyl) borate
$Na^+$	Nomensin
$NH_4^+$	Nonactin + potassium tétrakis (3,5-bis (trifluorométhyl phenyl) borate
$NO_3^-$	tetradodecylammonium nitrate

Tableau 2.2: Ionophore plus sel à ajouter au PSX en fonction de l'ion à détecter

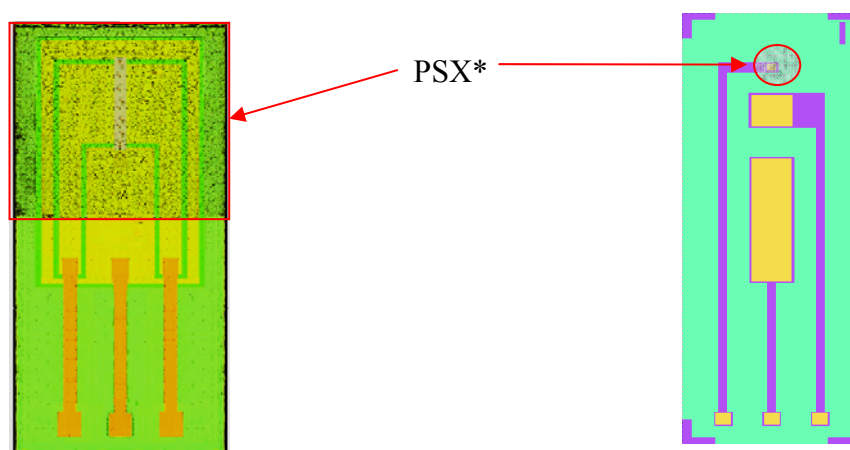
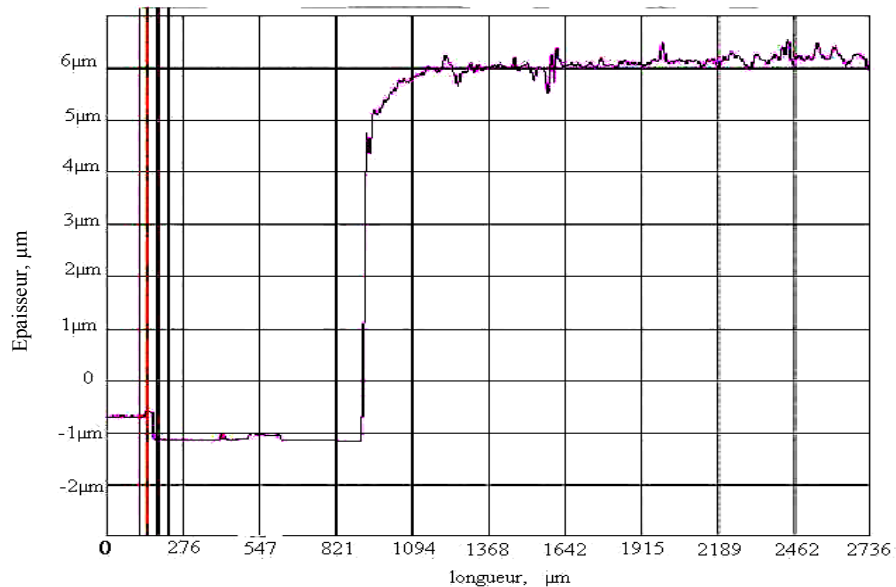


Figure 2.46 : Micro-capteur avec la couche de PSX\* déposée à la microgoutte

Une microgoutte de 10  $\mu$ L est déposée manuellement à l'aide d'une micropipette sur la grille diélectrique  $SiO_2/Si_3N_4$  ou sur l'une des électrodes d'or toutes deux précédemment silanisées. Pour polymériser la membrane photosensible, les puces ont été insolées aux rayonnements ultraviolets sur l'aligneur MA-6 (durée: 200 s, puissance: 20 mW). Notons que l'exposition s'est faite sous atmosphère non – oxydante. Après le développement au xylène, les puces avec les membranes polymérisées sont prêtes à l'encapsulation (figure 2.46).

L'épaisseur de la membrane ionosensible varie de  $\pm 5\%$  autour de la valeur moyenne qui est égale à  $6\text{ }\mu\text{m}$ . La figure 2.47 montre l'épaisseur de la couche sensible au potassium sur une électrode d'or, mesurée par profilométrie mécanique.

Après plusieurs caractérisations et plusieurs jours d'immersion dans l'eau, nous avons constaté une bonne adhérence de la couche PSX sur le nitrure de silicium et sur l'or.



*Figure 2.47: Epaisseur de la membrane en PSX mesurée par profilométrie*

A partir de ces résultats, afin de pouvoir envisager une industrialisation de ces couches à base de polymères ionosensibles, nous avons mis en place un procédé de fabrication collective à faible coût, en développant les techniques de dépôt à la tournette et de photolithographie pour ce type d'application.

### **II.2.2. Procédé de fabrication collective**

Le procédé technologique de dépôt de ces membranes ionosensibles en polysiloxane s'effectue par un dépôt classique à la tournette. Le mélange des différents composés de ces couches dépendent de l'ion à détecter (tableau 2.3).

Ion à détecter	Quantité	RMS 851	Ionophore	THF	DPMA
$K^+$		4.55 g	Valinomycine 25 mg + sel PTCB 10mg	36 ml	0.38 g
$Na^+$		4 g	Nomensin 180 mg	32 ml	0.35 g
ISFET $NH_4^+$		4 g	Nonactine 40 mg + lipophile KTFPB 25 mg	0.5 ml	40 mg

Tableau 2.3 : Epaisseur de la membrane en PSX mesurée par profilométrie

Sur les ISFETs, les mesures effectuées sont du type voltamétrique donc aucun courant ne traverse la couche ionosensible. Nous favoriserons alors une couche plutôt épaisse entre 10 et 40  $\mu m$ . Sur les microélectrodes, le type de mesure est ampérométrique ce qui induit que la couche est traversée par un courant. Par conséquent, du fait que le PDMS est un polymère isolant, nous avons réalisé des couches minces (100 nm) afin de ne pas avoir des courants trop faibles à mesurer.

Le polysiloxane n'a que peu d'adhérence sur les surfaces d'or et à base de silicium. Afin de créer des liaisons plus solides entre ces surfaces et le PSX\*, des couches atomiques auto-assemblées appelées SAMs sont déposées à la surface avant le dépôt du polymère [13]. Ces monocouches auto-assemblées sont généralement utilisées pour l'accroche ADN sur différentes surfaces métalliques ou d'oxyde [14]. La technique de dépôt des SAMs est une procédure simple et courante qui permet d'obtenir une organisation simple et une orientation régulière des molécules immobilisées à la surface.

Dans le cas de l'or, un prétraitement initial est nécessaire. Un premier dépôt de SAM est déposé sur les surfaces en or. Cette monocouche, le 3-Mercaptopropyltriméthoxysilane (MPTMS), est une molécule bi-fonctionnelle qui contient deux groupes fonctionnels, des thiols et des silanes. Les molécules de thiols fournissent un bon moyen d'accroche sur différents groupes fonctionnels, tels que les surfaces d'or, de verre, de carbone, de platine ou de cuivre [15-21]. C'est pour cela que la bicouche de titane et d'or (Ti/Au) déposée sur les plaquettes de silicium ne doit contenir à sa surface qu'un très faible pourcentage d'atomes de titane. Les molécules de silane permettent d'obtenir des groupes fonctionnels contenant des atomes de silicium.

Pour les surfaces à base de silicium, une autre monocouche auto-assemblée est déposée. Le 3-(triméthoxysilyl)propylmethacrylate (MPTS) est également une molécule bi-fonctionnelle qui possède des terminaisons silanes et méthoxysilanes. Les terminaisons silanes s'interconnectent avec les atomes de silicium à la surface de la plaquette laissant libres



les terminaisons méthoxysilanes du MPTS. Ainsi ces terminaisons méthoxysilanes permettent de créer des liaisons covalentes polyacrylamides entre les polymères et les atomes de silicium en surface [22].

Nous avons mis au point le procédé de dépôt de ces membranes qui suit les étapes suivantes:

### 1. Préparation de la solution

Tout d'abord, les ionophores, les sels et le photoinitiateur DMPA sont dissous dans le tétrahydrofur (THF). Ensuite, la solution est mélangée au polysiloxane RMS-033 à l'aide d'un agitateur magnétique. Puis, les solutions destinées à être déposées sur les ISFETs (solutions peu diluées donc très visqueuses) sont mises sur des plaques chauffantes pendant deux heures minimum afin d'évaporer au maximum le THF. Enfin la solution est laissée au repos jusqu'à la disparition des bulles d'air.

### 2. Préparation de la surface d'or (pré-silanisation)

Cette étape n'est destinée qu'aux surfaces en or [13,23].

- Plonger la plaquette dans une solution piranha ( $\text{H}_2\text{O}_2/\text{H}_2\text{SO}_4$  50/50) pendant 2min ;
- Rincer à l'eau EDI puis sécher à l'azote ;
- Plonger la plaquette dans la solution MPTMS/méthanol à 40mM/L à température ambiante pendant 3 heures ;
- Rincer à l'éthanol puis à l'EDI et sécher à l'azote ;
- Plonger la plaquette dans une solution de NaOH à 0.01M/L pendant 2H ;
- Rincer à l'eau EDI puis sécher à l'azote ;

### 3. Silanisation de la surface

- Plonger la plaquette dans la solution MPTS/toluène (10/90) et chauffer à 80°C pendant 10 minutes;
- Rincer la plaquette dans du toluène à température ambiante pendant 3 minutes;
- Rincer sous jet isopropanol puis sécher à l'azote.

### 4. Dépôt à la tournette Suss Gyrset RC-8

- Régler la tournette avec une accélération et une vitesse suivant l'épaisseur souhaitée et un temps de 20 secondes à capot ouvert ;

- Déposer 2 ml de polysiloxane au centre de la plaquette puis lancer la tournette ;
- Pré-recuit à l'étuve à 45°C pendant 5 minutes.

Remarquons que pendant cette procédure nous gaspillons une certaine quantité de la solution qui contient des ionophores assez coûteux...

### 5. Insolation sur la Karl Suss MA6

- Poser un film transparent en mylar sur le polysiloxane pour assurer l'ambiance non oxydante ;
- Régler le temps d'insolation à 180 secondes et mettre sous vide (VAC contact);
- Retirer le transparent après insolation.

### 6. Développement

- Plonger la plaque dans du xylène puis agiter pendant environ 1 minute ;
- Rincer sous un jet isopropanol puis sécher à l'azote.

Ensuite, la plaquette de silicium avec les membranes réalisées a été découpée et les puces sont montées sur les circuits imprimés.

## **II.2.3. Etude du dépôt de PSX à la tournette**

Une étude plus approfondie sur le dépôt à la tournette a été réalisée. Pour ce faire, quatre dilutions du polysiloxane dans le THF ont été faites permettant ainsi d'avoir des concentrations variant de 70 % à 95 % (tableau 2.4).

### **II.2.3.1. Epaisseur du polysiloxane en fonction du temps d'insolation**

L'analyse du temps optimum de l'insolation d'un polymère ou d'une résine se fait habituellement par la méthode du dépôt sur substrat de verre. Cette méthode consiste à mesurer le flux lumineux traversant la résine. Ce flux augmente avec le temps d'exposition pour atteindre une saturation lorsque tous les photo-initiateurs n'absorbent plus l'énergie des rayons UV ce qui signifie la fin de la réticulation. Mais les photo-initiateurs utilisés pour la réticulation du polysiloxane n'absorbent que peu d'énergie et par conséquent cette première méthode s'est avérée inexploitable. Après avoir effectué quelques insolutions, nous nous sommes aperçus que le polysiloxane réticulait en partant du substrat et que l'épaisseur du PSX réticulé croissait avec le temps d'insolation. Ce démarrage à la base du substrat peut être

expliqué par la silanisation effectuée sur la surface du substrat. Nous avons exploité cet avantage afin de pouvoir mesurer le temps optimum d'insolation. D'après la figure 2.48 le temps optimum insolation est autour de 200s quelles que soient la vitesse et la dilution du THF.

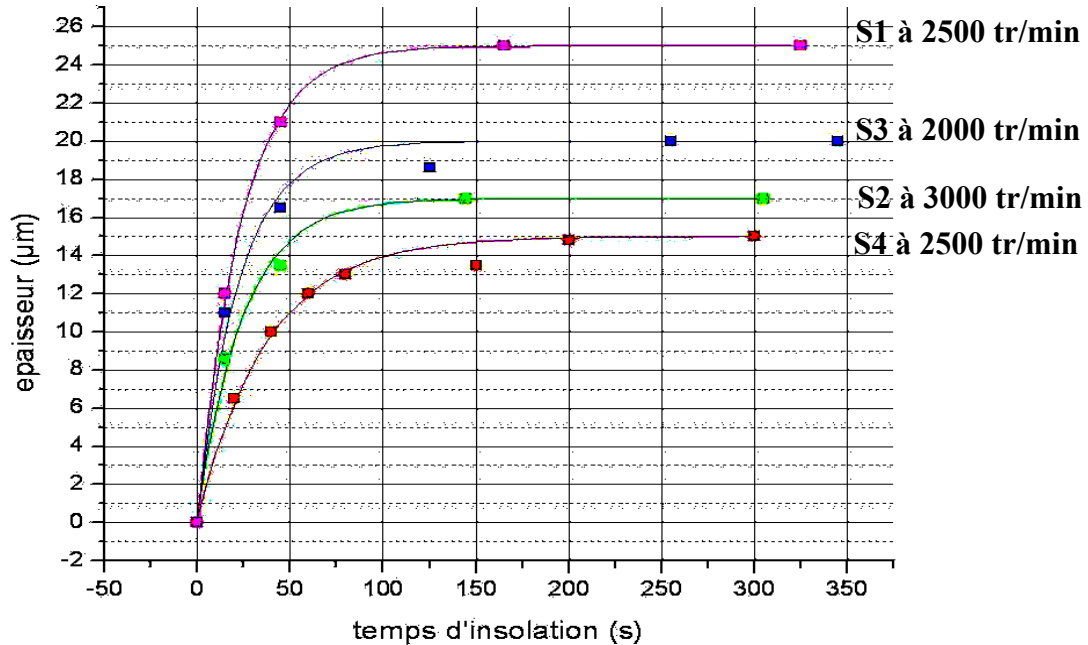


Figure 2.48 : Epaisseur du polymère en fonction du temps d'insolation

L'équation qui régit l'épaisseur en fonction du temps insolation est la suivante :

$$h(t) = h_f \left( 1 - e^{-\frac{t}{\tau}} \right) \quad (1)$$

Où  $h(t)$  est l'épaisseur du polymère réticulé,  $h_f$  est l'épaisseur maximum de polymère déposé à la tournette, et  $\tau$  une constante de temps qui dépend essentiellement de la dilution du THF.  $\tau$  augmente avec le renforcement des doses de THF dans le polysiloxane (tableau 2.4).

La masse volumique  $\rho$  de la solution totale est donnée par la relation suivante :

$$\rho = \rho_{\text{psx}} * CO + \rho_{\text{thf}} * (1 - CO) \quad (2)$$

avec  $\rho_{\text{psx}} = 0.99 \text{ kg/m}^3$  et  $\rho_{\text{thf}} = 0.881 \text{ kg/m}^3$

La viscosité dynamique  $\eta$  a été mesurée pour les 4 solutions et la viscosité cinétique  $v$

est finalement donnée par :

$$v = \frac{\eta}{\rho} \quad (3)$$

solution	dilution PSX/THF	co (en volume)	$\rho$ (kg/m <sup>3</sup> )	$\eta$ (kg/m.s)	$\nu$ (m <sup>2</sup> /s)	$\tau$ (s)
s4	15g/7ml	0.710	0.958	0.295	0.31	37
s3	15g/5ml	0.775	0.965	0.47	0.49	34
s2	15g/3ml	0.851	0.974	0.896	0.92	29
s1	15g/1ml	0.945	0.984	1.7	1.73	24

Tableau 2.4 : Valeur de  $co$ ,  $\rho$ ,  $\eta$  et  $\tau$  en fonction de différentes solutions

### II.2.3.2. Effet de la vitesse de rotation de la tournette

La figure 2.49 représente l'épaisseur maximale  $h_f$  du polysiloxane déposée en fonction de la vitesse de rotation pour différentes dilutions dans le THF. L'épaisseur est comprise entre 10 $\mu$ m et 50 $\mu$ m. Elle croît logiquement avec la diminution de la vitesse de rotation et avec la diminution de la dilution dans le solvant.

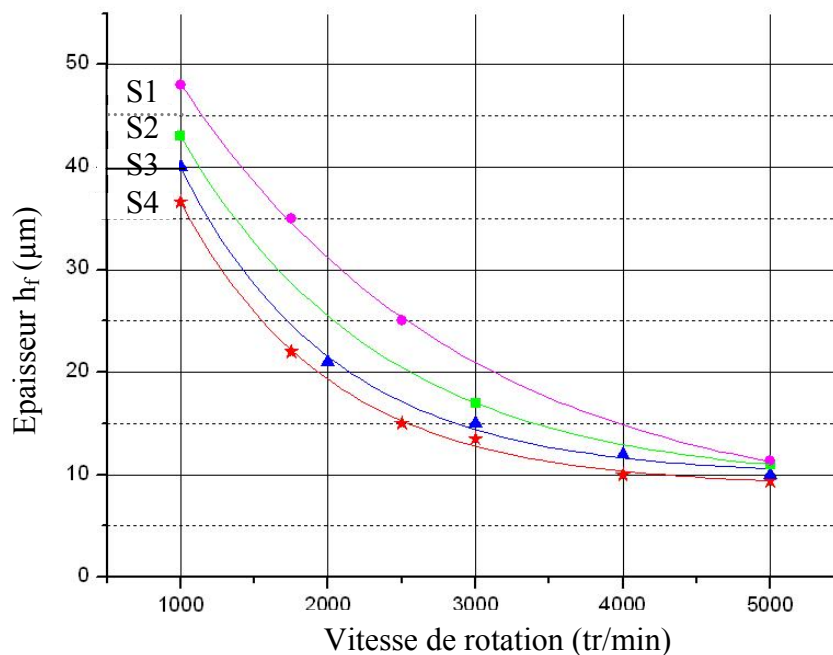


Figure 2.49 : Epaisseur  $h_d$  de polymère en fonction de la vitesse de rotation

Pour avoir une meilleure compréhension de ces résultats, nous avons repris la théorie hydrodynamique et nous l'avons appliquée au dépôt à la tournette d'un liquide incompressible maxwellien.

Ainsi, en négligeant les forces de pression du liquide liée à la masse et à la hauteur du dépôt et en appliquant le principe fondamental de la dynamique à un anneau élémentaire (dr,

## Partie II

$dz$ ,  $S$ ) représentatif des phénomènes hydrodynamiques du dépôt à la tournette (figure 2.50), nous obtenons :

$$F_f(z, dz) - F_f(z) = m.a = m.r.\omega^2 = \rho.s.dz.r.\omega^2 \quad (4)$$

Où  $z$  est l'axe de rotation,  $dz$  est la hauteur du polymère,  $r$  est le rayon,  $\omega$  est la vitesse de rotation,  $\rho$  est la masse volumique de la solution polymère,  $s$  est la surface de contact,  $F_f(z)$  est la force de viscosité du polymère :

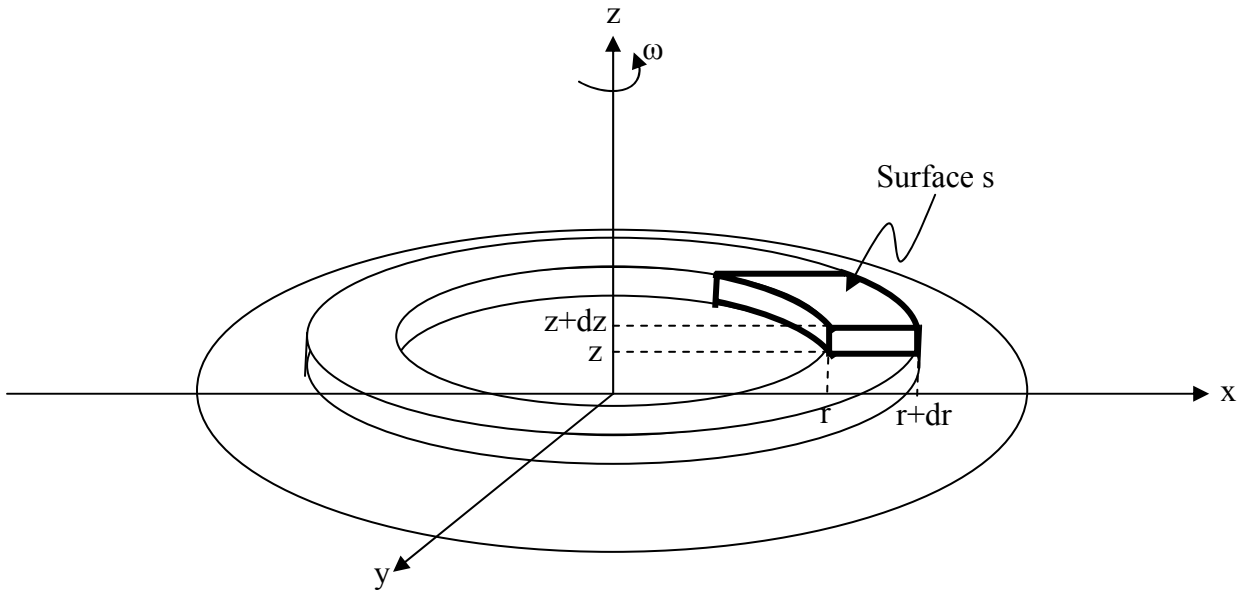


Figure 2.50 : Anneau élémentaire de polymère

$$F_f(z) = -\eta_0.s.\left(\frac{dv}{dz}\right)^n \quad n \in [0,1] \quad (5)$$

Où  $\eta_0$  est la viscosité dynamique du polymère et  $v$  est la vitesse radiale.

Loi d'Ostwald :  $n = 1$  pour un liquide newtonien  
 $n < 1$  pour un liquide maxwellien

Ainsi, on obtient :

$$\left(\frac{dv}{dz}\right)^{n-1} \cdot \left(\frac{d^2v}{dz^2}\right) = -\frac{r.\omega^2}{n.v_0} \quad (6)$$

En intégrant deux fois par rapport à  $z$ , on obtient

$$v(z) = \frac{n}{n+1} \cdot \left(\frac{r.\omega^2}{v_0}\right)^{\frac{1}{n}} \cdot \left[h^{\frac{n+1}{n}} - (h-z)^{\frac{n+1}{n}}\right] \quad (7)$$

## Partie II

Où  $\nu_0 = \eta_0/\rho$  est la viscosité cinétique du polymère et  $h$  est la hauteur du polymère.

En considérant un nouveau volume élémentaire représentatif des phénomènes de diffusion (figure 2.51) et en supposant que le liquide est incompressible, la conservation du volume permet d'écrire :

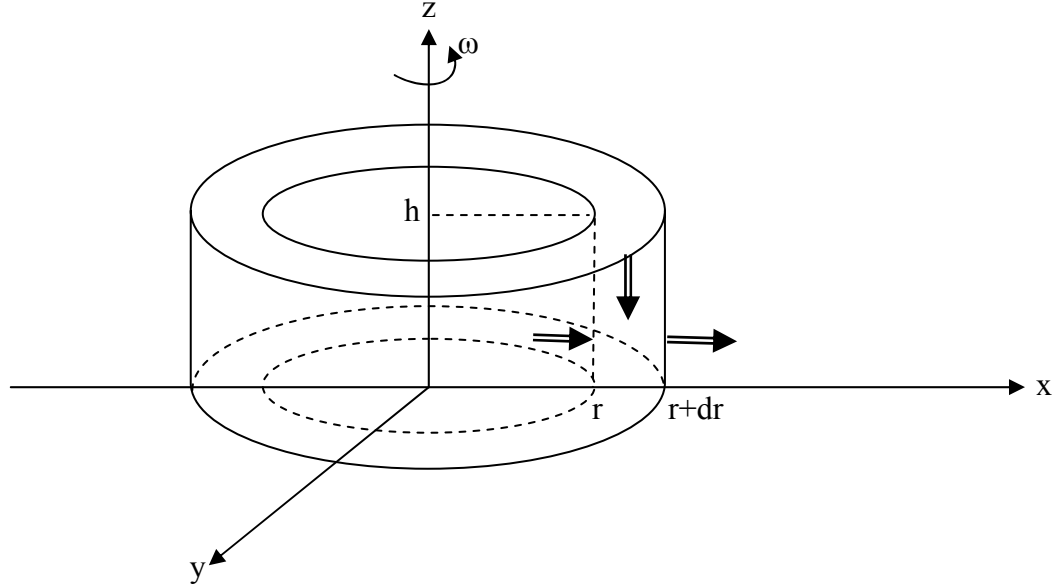


Figure 2.51 : Volume élémentaire de polymère

$$2.\pi.(r + dr). \int_0^h v(r + dr, z) dz - 2.\pi.r. \int_0^h v(r, z) dz = -2.\pi.r. \frac{dh}{dz} dr \quad (8)$$

$$\Rightarrow d \left( r. \int_0^h v(r, z) dz \right) = -r. \frac{dh}{dz} dr \quad (9)$$

$$\Rightarrow \frac{dh}{dz} = -\frac{1}{r} \cdot \frac{d(r.q(r))}{dr} \quad \text{avec} \quad q(r) = \int_0^h v(r, z) dz \quad (10)$$

Ainsi, à partir de (7), on a :

$$q(r) = \frac{n}{2.n+1} \cdot \left( \frac{r.\omega^2}{\nu_0} \right)^{\frac{1}{n}} \cdot h^{\frac{2.n+1}{n}} \quad (11)$$

et finalement, on arrive à l'équation différentielle suivante

$$\frac{dh}{dt} = -\frac{1}{2.n+1} \cdot \left( \frac{r.\omega^2}{\nu_0} \right)^{\frac{1}{n}} \cdot h^{\frac{2.n+1}{n}} \cdot \left( \frac{n+1}{r} + \frac{2.n+1}{h} \cdot \frac{dh}{dr} \right) \quad (12)$$

La résolution de cette équation va se faire en séparant les variables :

$$h(r,t) = R(r) \cdot T(t) \quad (13)$$

soit :

$$T^{\frac{-2.n+1}{n}} \cdot \frac{dT}{dt} = \frac{1}{2.n+1} \left( \frac{r\omega^2}{v_0} \right)^{\frac{1}{n}} \cdot R^{\frac{n+1}{n}} \cdot \left( \frac{n+1}{r} + \frac{2.n+1}{R} \frac{dR}{dr} \right) = K = \text{cte} \quad (14)$$

$$\text{Résolution en } T : T(t) = \left( 1 + \frac{n+1}{n} \cdot K \cdot t \right)^{-\frac{n}{n+1}} \quad (15)$$

$$\text{Résolution en } R : R(t) = \left[ K \cdot \left( \frac{v_0}{\omega^2} \right)^{\frac{1}{n}} \cdot \frac{2n+1}{3n+1} \cdot \frac{n+1}{n} \right]^{\frac{n}{n+1}} \cdot r^{\frac{n-1}{n+1}} \quad (16)$$

D'où :

$$h(r,t) = K^{\frac{n}{n+1}} \cdot \left( \frac{v_0}{\omega^2} \right)^{\frac{1}{n+1}} \cdot \left( \frac{2n+1}{3n+1} \cdot \frac{n+1}{n} \right)^{\frac{n}{n+1}} \cdot r^{\frac{n-1}{n+1}} \cdot \left( 1 + \frac{n+1}{n} \cdot K \cdot t \right)^{-\frac{n}{n+1}} \quad (17)$$

Pour éliminer la constante K, il est nécessaire de prendre une condition initiale. Nous avons ainsi supposé que :

$$h(R_0, 0) = h_0 \quad (18)$$

Où  $R_0$  est une valeur de rayon arbitraire et  $h_0$  est l'épaisseur initiale du polymère. Cette condition permet de déterminer la valeur de la constante K en fonction de l'épaisseur initiale  $h_0$ , soit :

$$h(r,t) = h_0 \cdot \left( \frac{r}{R_0} \right)^{\frac{n-1}{n+1}} \cdot \left[ 1 + \frac{3n+1}{2n+1} \cdot \left( \frac{\omega^2}{v_0} \right)^{\frac{1}{n}} \cdot R_0^{\frac{1-n}{n}} \cdot h_0^{\frac{n+1}{n}} \cdot t \right]^{-\frac{n}{n+1}} \quad (19)$$

Cette solution mathématique est néanmoins critiquable pour différentes raisons :

# 1.  $h(0, t) = +\infty \forall t$  ( $0 \leq n \leq 1$ ), cette condition n'est pas physique : la hauteur  $h$  au centre de la plaquette tend vers l'infini car nous n'avons pas pris en compte le poids du PSX dans l'équation fondamentale de la dynamique.

# 2. L'existence d'une grandeur  $R_0$  dont la valeur est arbitraire est une conséquence mathématique du # 1.

# 3.  $h(r, +\infty) = 0 \forall r$ , la hauteur  $h$  est égale à zéro pour un temps de dépôt infini, ceci est dû au fait que nous n'avons pas pris en compte l'évaporation  $e$ . Néanmoins pour prendre en compte les effets de l'évaporation nous avons repris la démonstration décrite par Meyerhoffer pour un liquide Newtonien [24].

Pour  $n = 1$  le liquide est Newtonien, on a alors :

$$h(r, t) = h(t) = h_0 \cdot \left(1 + \frac{4 \cdot \omega^2 \cdot h_0^2}{3 \cdot v_0} \cdot t\right)^{-\frac{1}{2}} \quad (20)$$

On retrouve l'équation obtenue par Meyerhoffer dans son étude des liquides Newtoniens. Ainsi par analogie, nous avons repris son approche prenant en compte les phénomènes d'évaporation du solvant et permettant l'obtention d'une épaisseur de dépôt non nulle pour les temps infinis. Pour cela, il faut considérer le polymère comme un mélange entre une solution et un solvant liquide. Pour simplifier l'étude théorique, le solvant et la solution sont caractérisés par leur épaisseur équivalente  $s(t)$  et  $l(t)$  respectivement. Avec ces définitions, on donnera l'épaisseur du polymère  $h(t)$  et la concentration de la solution  $c(t)$  :

$$h(r, t) = s(r, t) + l(r, t) \quad (21)$$

$$c(r, t) = \frac{s(r, t)}{h(r, t)} \quad (22)$$

Puisque la viscosité cinématique  $v$  dépend de la concentration de la solution  $c$ , l'équation (12) ne peut plus être résolue. Cependant, tenant compte des termes d'écoulement et d'évaporation, on donne les épaisseurs par :

$$\frac{ds}{dt} = c \cdot \frac{dh}{dt} \quad (23)$$

$$\frac{dl}{dt} = (1 - c) \frac{dh}{dt} - e \quad (24)$$

Où  $e$  est l'évaporation spécifique du solvant par unité de temps.

La résolution de ce système n'est pas possible. Cependant, D. Meyerhoffer [18] a montré numériquement que la solution exacte peut être décrite en considérant deux régimes hydrodynamiques différents.

Initialement, la solution polymère est caractérisée par son épaisseur  $h$ . Ainsi le phénomène d'évaporation peut être négligé ( $e \ll dh/dt$ ). En prenant en compte l'équation (12), les équations (23) et (24) deviennent :

$$\frac{ds}{dt} = c \frac{dh}{dt} \quad (25)$$

$$\frac{dl}{dt} = (1 - c) \frac{dh}{dt} \quad (26)$$

D'après les équations (22) et (25), la concentration  $c(t)$  est constante et égale à la concentration initiale  $C_0$ .



## Partie II

Au fur et à mesure, plus l'épaisseur  $h$  décroît, plus le terme d'écoulement devient négligeable et l'évaporation est finalement la seule responsable de cette diminution d'épaisseur ( $e \gg dh/dt$ ). Après intégration, les équations (23) et (24) donnent les épaisseurs de la solution  $s(t)$  et du solvant  $l(t)$  :

$$\begin{cases} \frac{ds}{dt} = 0 \\ \frac{dl}{dt} = -e \end{cases} \quad \begin{cases} s(t) = \text{cte} = s_i \\ l(t) = -e t + l_i \end{cases} \quad \begin{matrix} (27) \\ (28) \end{matrix}$$

Où  $s_i$  et  $l_i$  sont les constantes d'intégration relatives à la transition entre le régime initial et le régime final. L'épaisseur finale du polymère  $h_f$  est obtenue quand  $l(t) = 0$ . Donc, elle est définie par :

$$h_f = s_f + l_f = s_i = c_i h_i = c_0 h_i \quad (29)$$

D'après l'équation (21) pour avoir la transition entre le régime initial et le régime final, il faut avoir :

$$(1-c) \frac{1}{2.n+1} \cdot \left( \frac{R_0 \cdot \omega^2}{v_0} \right)^{\frac{1}{n}} \cdot h_i^{\frac{2.n+1}{n}} \cdot \frac{1}{R_0} \cdot \frac{n \cdot (3.n+1)}{n+1} = e \quad (30)$$

Donc :

$$h_i^{\frac{2.n+1}{n}} = \frac{(n+1) \cdot (2.n+1)}{n \cdot (3.n+1)} \cdot \left( \frac{v_0}{\omega^2} \right)^{\frac{1}{n}} \cdot \frac{e}{1-C_0} \cdot R_0^{\frac{n-1}{n}} \quad (31)$$

Et d'après les équations (29) et (31), l'épaisseur finale est donnée par :

$$h_f = C_0 \cdot \left[ \frac{(n+1) \cdot (2.n+1)}{n \cdot (3.n+1)} \cdot \left( \frac{v_0}{\omega^2} \right)^{\frac{1}{n}} \cdot \frac{e}{1-C_0} \cdot R_0^{\frac{n-1}{n}} \right]^{\frac{n}{2.n+1}} \quad (32)$$

La figure 2.52 représente la hauteur  $h_d$  théorique et expérimentale en fonction de la vitesse de rotation pour les quatre solutions S1 à S4. L'épaisseur totale déposée  $h_d$  varie en  $\omega^{-5/6}$  donc :

$$\frac{2}{2.n+1} = \frac{5}{6} \quad \Rightarrow \quad n = \frac{7}{10} = 0,7$$

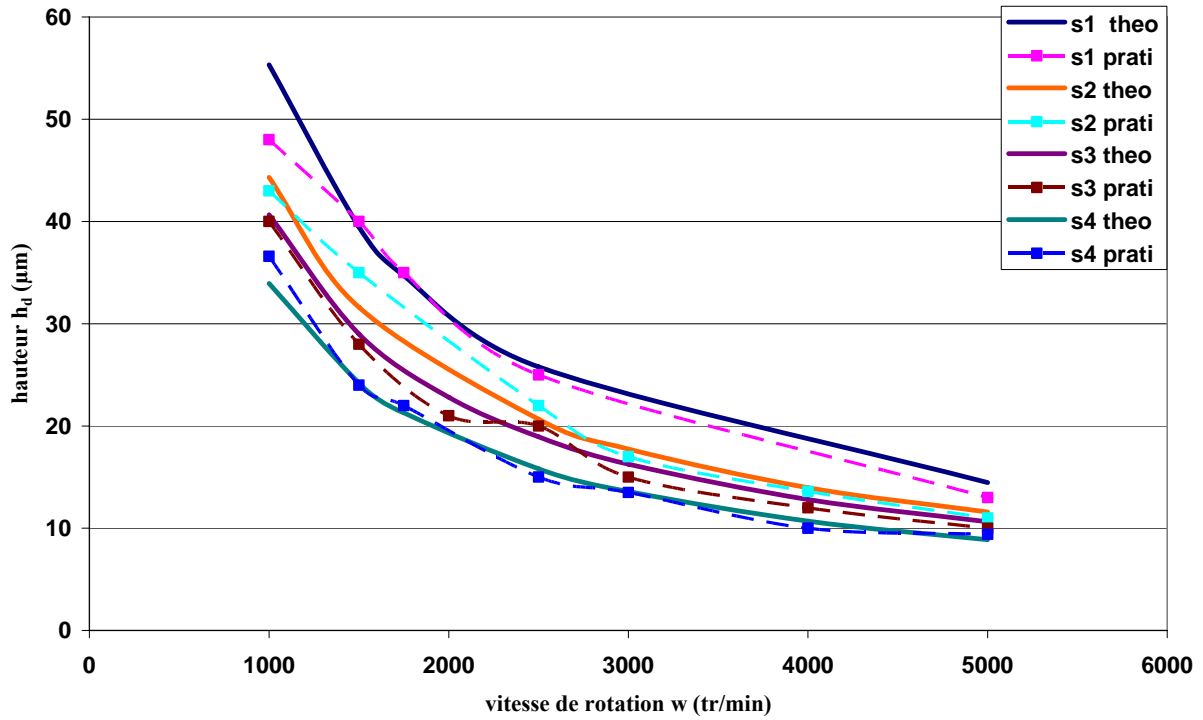


Figure 2.52: Epaisseur des membranes déposées par fabrication collective

Ainsi la hauteur  $h_d$  déterminée, nous pouvons calculer la hauteur  $h$  en fonction du temps d'exposition aux UV d'après l'équation (1) (figure 2.53).

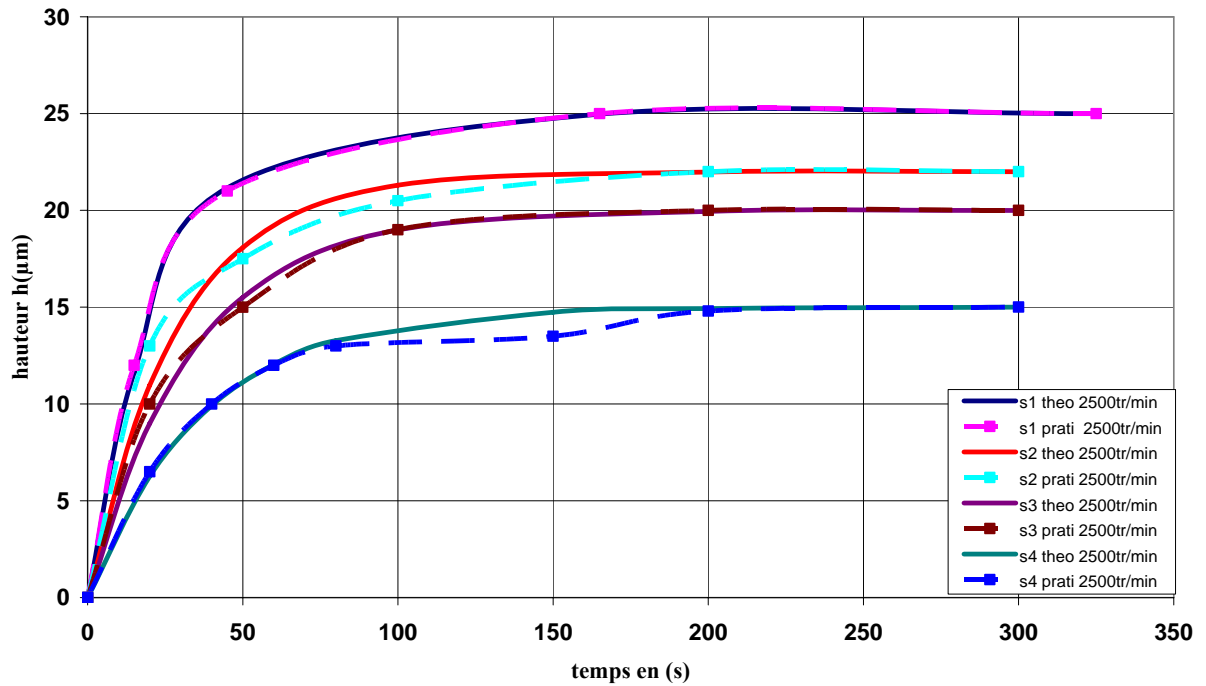


Figure 2.53: Epaisseur  $h$  des membranes en fonction du temps d'exposition aux UV

### II.2.4. Influence de l'ajout d'ionophore

Après incorporation d'ionophores dans la solution, nous obtenons des films de polysiloxane d'une épaisseur légèrement différente. En effet, l'ajout d'ionophores même à faibles doses modifie la viscosité de la solution de PSX\* et entraîne l'augmentation de l'épaisseur du film pour finalement responsable de phénomène de diffraction optique. La figure 2.54 représente l'épaisseur de la couche sensible en PSX avec de la valinomycine pour une vitesse de rotation du dépôt à 1000 tr/min. L'épaisseur que nous devions obtenir était de 25  $\mu\text{m}$  or nous avons obtenu 30  $\mu\text{m}$ . De plus, du fait de la diffraction, la résolution des motifs est moindre (figure 2.55).

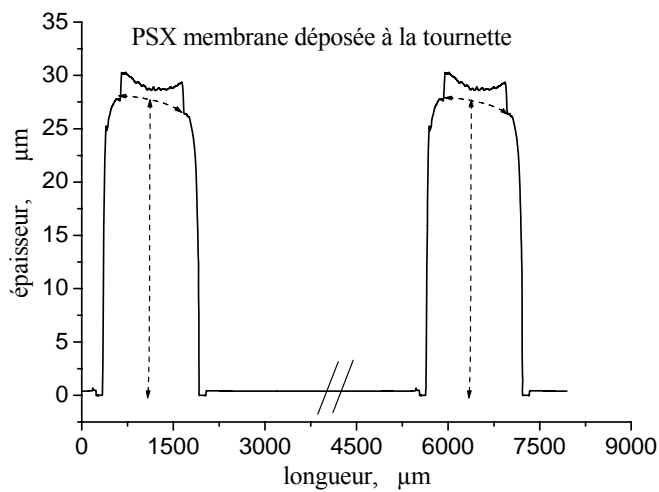


Figure 2.54: Epaisseur des membranes déposées par fabrication collective

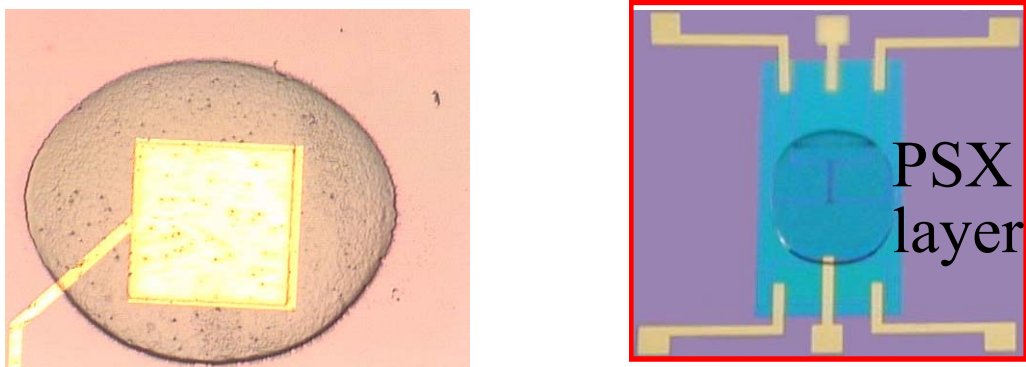


Figure 2.55 : Photographie d'un quart de la plaquette avec les membranes sensibles en PSX fabriquées collectivement

Il conviendra dans le futur d'optimiser le procédé de réalisation des couches sensibles en tenant compte des ionophores incorporés. Néanmoins, la faisabilité de la fabrication collective des couches ionosensibles pour les capteurs ChemFETs a été démontrée avec une

bonne adhérence du dépôt PSX, un faible coût de fabrication et de bonnes propriétés de détection.

### **II.2.5. Conclusion**

Dans ce paragraphe, nous avons étudié tout d'abord deux techniques de dépôt des couches ionosensibles en polysiloxane (microgoutte et dépôt à la tournette). Nous avons décrit la procédure de dépôt de ces couches. Puis, nous avons réalisé une étude théorique et expérimentale du dépôt collectif à la tournette pour un liquide maxwellien. Enfin, nous avons regardé l'influence de l'incorporation des ionophores sur l'épaisseur déposée. Nous pouvons ainsi appliqué par la suite ces études à l'intégration de couches ionosensibles pour les microcapteurs chimiques en phase liquide.

## **CHAPITRE II**

# **Caractérisations électriques et chimiques**

## **Introduction**

L'étude des caractéristiques des microcapteurs chimiques ChemFETs et des microélectrodes ne repose pas sur les mêmes outils d'analyses. C'est pour cela que nous les étudierons de façon distincte.

Dans la première partie, nous traiterons les microcapteurs ChemFETs. Tout d'abord, nous ferons une description des systèmes de mesure utilisés pour effectuer les caractérisations électriques et chimiques de ces capteurs suivant les ions à détecter. Les caractéristiques principales qui ont été étudiées expérimentalement sont la sensibilité aux ions, la dérive temporelle et le temps de réponse. Ensuite, nous présenterons les solutions chimiques que nous avons utilisées pour estimer la sensibilité des capteurs. Puis, nous décrirons les différents mécanismes biochimiques qui permettent une détection bactérienne. Enfin, nous présenterons la réponse du microcapteur ChemFET en milieu bactérien.

Dans la deuxième partie, nous analyserons les caractéristiques électrochimiques des microélectrodes. Dans un premier temps, nous nous attacherons à analyser la réponse du capteur sans couche sensible afin de mettre en évidence les effets dus aux électrodes elles-mêmes ou à la solution à analyser. Dans un second temps, nous étudierons les effets dus à la couche sensible. Ces études porteront aussi bien sur les courbes voltampérométriques par l'influence des tensions élevées et de la vitesse de balayage, que sur les courbes impédancemétriques en fonction de la tension de polarisation, mais également sur l'analyse des solutions chimiques utilisées (mesure de la résistivité).

## **I. Etude des ChemFETs**

### **I.1. Bancs de mesure**

Trois bancs de caractérisation ont été utilisés pour tester les micro-capteurs ChemFETs. L'étude des caractéristiques est réalisée à travers trois types d'ions, l'ion potassium  $K^+$ , l'ion sodium  $Na^+$  et l'ion hydrogène  $H^+$ , ainsi qu'à travers l'activité bactérienne d'une bactérie lactique (le lactobacillus acidophilus).

### • Premier banc

Ce banc de mesure comprend un pico-ampèremètre avec générateur de tension (HP4140B) piloté par un PC, une cage de Faraday et une électrode de référence (figure 2.56). Comme nous le verrons sur les deux autres bancs de caractérisation, la cage de Faraday n'est pas indispensable, elle sert plus à protéger le capteur ChemFET des variations de lumière que du bruit parasite. Ce banc permet de mesurer l'intensité du courant circulant entre le drain et la source ( $I_{ds}$ ) soit pour des variations de  $V_{gs}$  lorsque  $V_{ds}$  est constant, soit pour des variations de  $V_{ds}$  lorsque  $V_{gs}$  est constant. Ceci permet de visualiser les courbes caractéristiques du capteur chimique qui sont similaires à celles d'un transistor MOS. Pour toutes nos mesures, nous avons appliqué une rampe de tension de vitesse  $dV/dt$  constante. A travers l'analyse des courbes réalisées, nous pouvons estimer la valeur du courant de fuite  $I_{off}$  et le choix du régime de fonctionnement optimal des ChemFETs. Nous pouvons également extraire des courbes de sensibilité à partir des courbes de transfert.

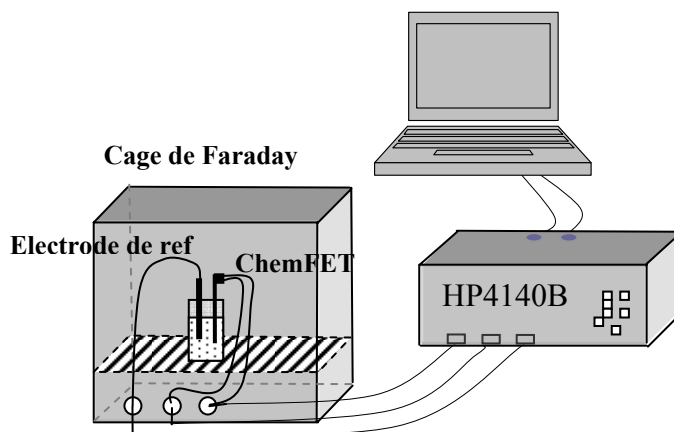


Figure 2.56 : Banc de caractérisation avec le HP4140B

L'inconvénient de ce banc de caractérisation est lié à l'impossibilité d'effectuer l'analyse du fonctionnement des ChemFETs en temps réel.

### • Deuxième banc

Ce banc de mesure nous permet donc l'étude du temps de réponse et de la sensibilité des capteurs en continu. Il est basé sur l'utilisation d'un système fluide (figure 2.57). Il est constitué de plusieurs burettes automatiques, un agitateur magnétique avec plaque chauffante,

d'une pompe, d'un débitmètre, d'une chambre spécifique et d'un ChemFET-mètre. Le tout est piloté par un PC à travers une carte RS232 qui assure la liaison vers les différents équipements. Le logiciel ainsi que le pilotage des équipements ont été réalisés au laboratoire par le service 2I (figure 2.58). Le ChemFET-mètre a été réalisé lors de la thèse de Melle Iryna HUMENYUK [14] en collaboration avec le service 2I (figure 2.59).

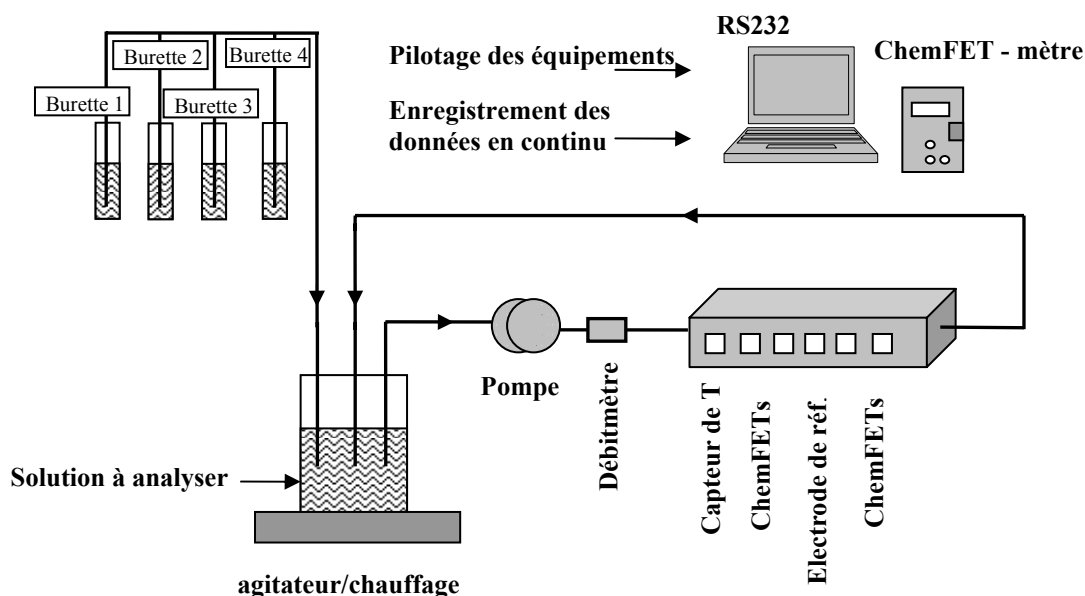


Figure 2.57 : Banc de mesure du système fluide

L'enregistrement des données se fait par voie informatique. Ce système permet d'effectuer la caractérisation des capteurs ChemFETs pendant 24H maximum. Ces données sont enregistrées dans un format compatible pour Excel. Le logiciel développé permet de visualiser en temps réel le comportement des capteurs chimiques ainsi que les paramètres extérieurs (température, débit, ...). La chambre spécifique permet de caractériser simultanément plusieurs capteurs ChemFETs, elle contient également un capteur de température et des électrodes commerciales spécifiques. Le ChemFET-mètre permet le fonctionnement des microcapteurs ChemFETs autour d'un point de polarisation. Son principe de fonctionnement est le suivant : la tension de grille est fixe et est reliée à la masse  $V_g = 0$ , le courant et la tension drain-source sont également fixés ( $I_{ds} = \text{cte}$  et  $V_{ds} = \text{cte}$ ) sur un point de polarisation, ils sont réglés manuellement à l'aide d'une résistance variable. Lors d'une variation de la concentration de l'ion à détecter dans la solution, il y a variation de la tension  $V_{gs}$  à travers la variation de la tension de source et donc également à travers la variation de la



tension de drain ( $V_{ds} = \text{cte}$ ) afin que le transistor reste au même point de polarisation. C'est finalement le relevé continu de cette tension ( $V_{gs}$ ) qui donne directement la concentration de l'ion. Le point de polarisation du ChemFET est choisi à partir des courbes  $I_{ds}(V_{gs})$  réalisées sur le premier banc de caractérisation.

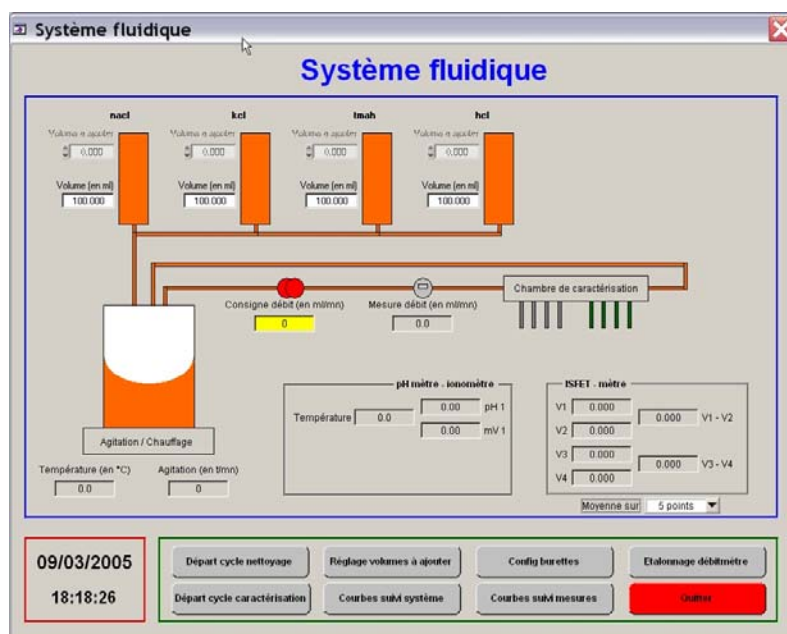


Figure 2.58 : fenêtre de commande du deuxième banc de caractérisation



Figure 2.59 : photo du ChemFET-mètre

### • Troisième banc

Ce banc est un testeur sous pointe modifié pour les systèmes de microfluidique. Il est composé d'une table XYZ, d'un support de pointe, d'un pousse-seringue, d'une caméra plus un écran (figure 2.60 et 2.61). Le tout est piloté par un PC via les ports USB et RS232 à travers un logiciel également développé au laboratoire par l'équipe 2I (figure 2.62). L'appareil de mesure utilisé peut être soit le HP4140B, soit le ChemFET-mètre. Les courbes sont tracées directement et en temps réel sur l'écran du PC. Les mesures de caractérisation peuvent être faites soit directement sur des composants non découpés d'un substrat silicium en technologie 4 pouces, soit sur des composants déjà découpés, soit sur des composants encapsulés dans le système microfluidique en PDMS. Le pas de la table XYZ est de  $1\mu\text{m}$  ce qui nous permet de réaliser des mesures matricielles afin de cartographier une plaquette ou une série de capteur avant l'encapsulation. Le système d'injection des fluides permet le dépôt d'une goutte directement sur la zone sensible du capteur d'un volume minimum inférieur au millilitre ou bien une injection continue dans le système de microfluidique en PDMS. Lors de la caractérisation des capteurs ChemFETs qui n'ont pas d'électrode de référence incorporée, celle-ci est assurée par une des aiguilles en oxyde de tungstène du testeur sous pointe qui a été métallisée à l'or.

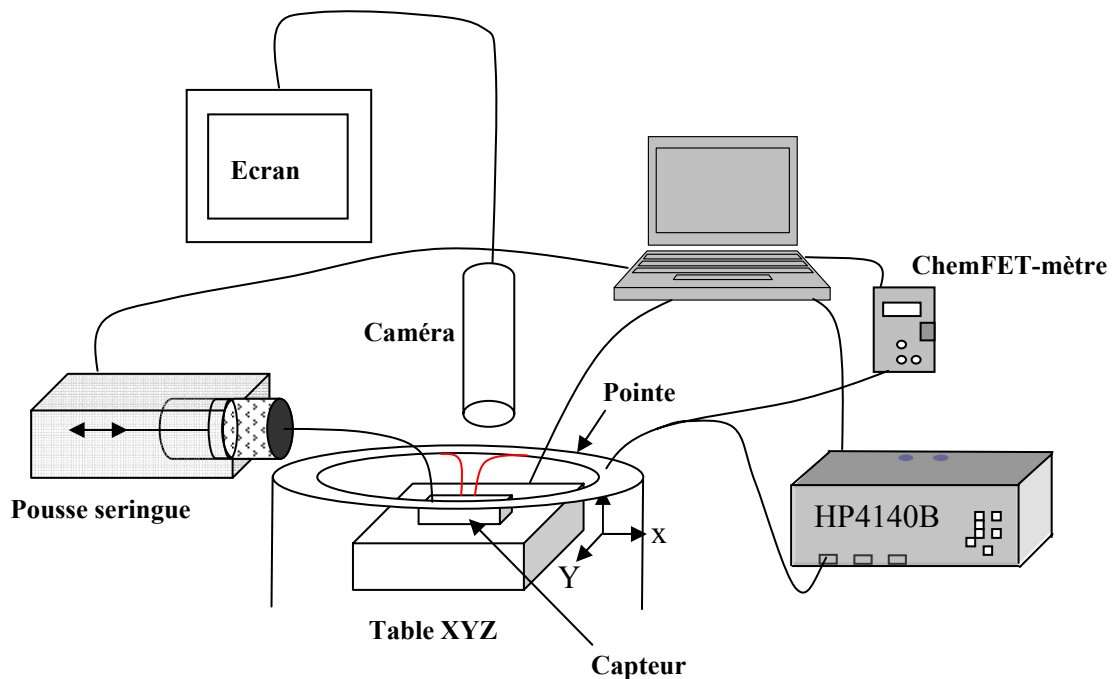


Figure 2.60 : Banc de caractérisation sous pointe

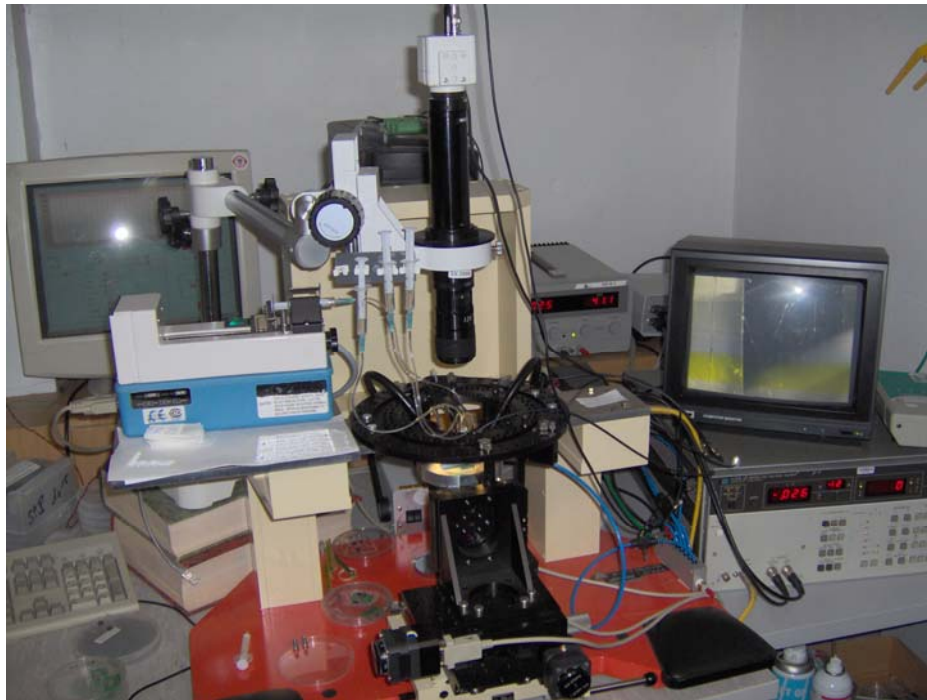


Figure 2.61 : photo du banc de mesure sous pointe

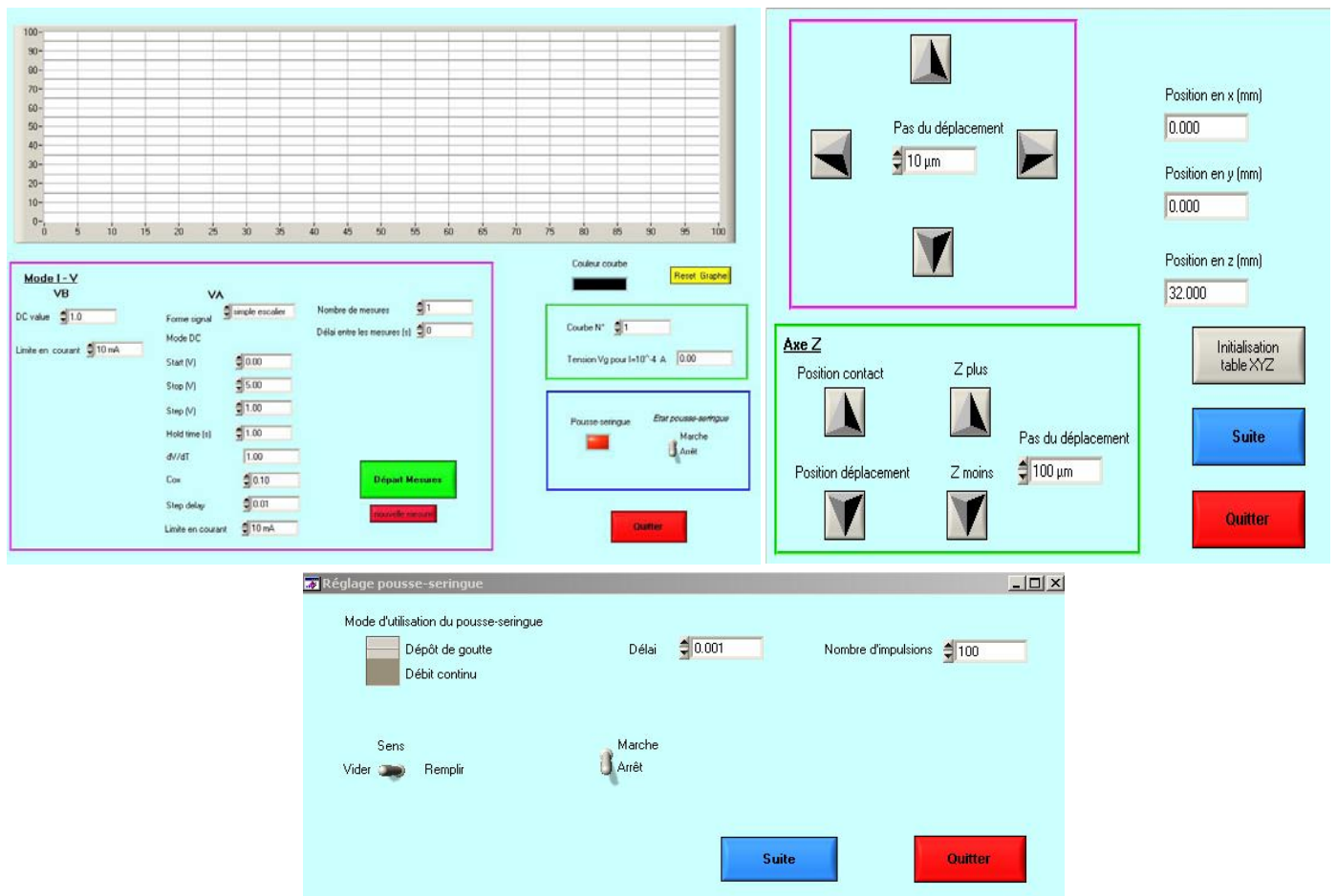


Figure 2.62 : Fenêtre de commande du troisième banc de caractérisation

## **I.2. Préparation des échantillons**

### **• Solutions pH**

Afin de déterminer les caractéristiques de détection des capteurs ChemFETs à l'ion hydrogène, nous avons utilisé dans un premier temps des solutions tampons standards de pH = [4, 7, 10]. Ces solutions sont composées de nombreux sels afin de garantir des valeurs de pH stables au cours du temps. Cette stabilité du pH permet d'estimer proprement la sensibilité des ChemFETs aux ions  $H^+$ . Afin, d'élargir la gamme de pH = [2, 3, 4, ..., 10, 11], nous avons également préparé plusieurs solutions à partir d'un acide et d'une base : l'acide chlorhydrique HCl (37%) et le TMAH (Tétra Méthyl Ammonium Hydroxyde). Avant tout, nous diluons l'acide chlorhydrique HCl dans de l'eau déionisée (EDI) pour obtenir une solution d'acide décimolaire (pH = 1). Nous faisons de même avec le TMAH pour obtenir une solution de base (pH = 12).

Pour faire varier le pH dans la gamme de 2 à 11, on rajoute de petites quantités de base dans la solution d'acide et inversement. Afin d'estimer les quantités qu'il faut rajouter à partir d'une solution de base, un petit programme a été réalisé sous Matlab (annexe I). Ce dosage est effectué automatiquement avec les burettes dans le système fluide (banc de caractérisation 2) pour suivre en temps réel le comportement du pH-ISFET en fonction du pH.

De plus, il est préférable de ne pas utiliser des bases telles que la soude (NaOH) ou la potasse (KOH) qui contiennent respectivement des ions  $Na^+$  et  $K^+$  car ces ions perturbent les sites de piégeage de la couche sensible  $Si_3N_4$  du capteur comme nous le verrons plus loin (chapitre II I.4.4).

### **• Solutions de potassium et de sodium**

La caractérisation des capteurs pK-ISFETs et pNa-ISFETs a été réalisée dans des solutions supports de concentration décimolaire (0.1 M/L) qui assurent une force ionique stable. En effet la variation de la force ionique a pour effet de faire également fluctuer le coefficient d'activité. Par conséquent, il y a une grande différence entre la concentration et l'activité des ions dans la solution [25]. La solution support que nous avons utilisée est

## Partie II

l'acétate de lithium ( $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Li}$ ) car les couches ionosensibles sont très peu sensibles à l'ion Lithium ( $\text{Li}^+$ ) [22].

Les solutions de potassium sont préparées à partir de sel de potasse ( $\text{KOH}$ ), de chlorure de potassium ( $\text{KCl}$ ) ou de l'hypophosphite de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_2$ ) dissous dans l'électrolyte support. Nous préparons tout d'abord une solution à 0,1 mol, puis nous la diluons d'un rapport dix à chaque fois, toujours dans l'électrolyte support dans le but d'obtenir des concentrations à  $\text{pK} = [1, 2, 3, 4, \dots]$ .

Nous faisons de même pour les solutions à base de sodium avec de la soude ( $\text{NaOH}$ ) ou du chlorure de sodium ( $\text{NaCl}$ ). Cependant, en utilisant le système fluide, il est plus approprié de faire varier la concentration des ions  $\text{K}^+$  et  $\text{Na}^+$  en continu. Pour cela, il a été établi une procédure à suivre présentée dans le tableau 2.5. Dans ces conditions, nous démarrons d'une faible concentration en ions à détecter en rajoutant périodiquement le volume donné de la solution à  $\text{pK} = 1$  ou  $\text{pNa} = 1$ .

Solution support	Volume à rajouter en ml de la solution $\text{pK} = 1$ ou $\text{pNa} = 1$	$\text{pK}$ ou $\text{pNa}$	$\text{pNa} = -\log\left(\frac{C_{\text{Na}} \cdot V_{\text{rajouté}}}{V_{\text{init}} + V_{\text{rajouté}}}\right)$
Volume initiale	+0.01	5	
$V_{\text{init}} = 100\text{ml}$	+ 0.1	4	
	+ 1	3	
Concentration en lithium	+ 10	2	
$C_{\text{Li}} = 0.1\text{M/L}$	+ 100	1	

Tableau 2.5 : Procédure pour la détection des ions  $\text{K}^+$  et  $\text{Na}^+$

### • Solutions bactériennes

Avant toutes caractérisations, nous devons mettre en culture les bactéries afin d'en avoir un nombre suffisant de bactéries. Les bactéries que nous avons choisies sont des bactéries lactiques : les ***Lactobacillus acidophilus*** (figure 2.63).

Les lactobacilles sont des bacilles gram positifs réguliers de culture difficile. Ils sont non sporulés. Habituellement aérobies (anaérobies facultatifs), il existe des souches ou des variantes des souches anaérobies stricts. Les lactobacilles sont immobiles. Ce sont des bactéries classiques de la fermentation lactique (en association avec *Lactococcus*) dénuées de pouvoir pathogène. Ces bactéries interviennent d'ailleurs dans d'autres produits alimentaires

comme le saucisson, la choucroute... On rencontre des lactobacilles dans la flore intestinale et la flore vaginale. Les souches que nous avons utilisées sont issues de la flore vaginale (flore de Döderlein). Elles nous ont été gracieusement fournies par le docteur Jean-Pierre Lepargneur du laboratoire d'analyses biomédicales CEDIBIO, Toulouse.



Figure 2.63 : *Lactobacillus Acidophilus* [26]

Le protocole que nous avons adopté pour cultiver et prélever les bactéries (qui sera le même pour toutes les expérimentations) est le suivant :

- Préparer une zone stérile avec un bec bunsen
- Ensemencer 2 tubes contenant 10 ml de milieu MRS (milieu de culture sélectif utilisé pour la culture des lactobacilles à 55 g.L<sup>-1</sup>) avec une souche de lactobacilles congelée conservée à -70°C
- Incuber pendant 24 h à 37°C
- Répartir dans 8 tubes de type eppendorffs
- Centrifuger
- Séparer le milieu des bactéries en conservant le culot dans le tube
- Rincer avec de l'eau distillée
- Centrifuger
- Séparer le milieu des bactéries en conservant le culot dans le tube
- Conserver le culot dans un bain de glace jusqu'à prélèvement

Une fois les bactéries cultivées et centrées dans le culot des tubes, elles sont prélevées à l'aide d'un outil stérile et mises dans un électrolyte adapté aux éléments biologiques. Nous avons choisi une solution tampon à pH = 7.4 d'EDTA (acide éthylène-diamino-tétra-

acétique). A ce mélange sont rajoutés ou non différents sucres comme nous le verrons dans le paragraphe I.7.

### I.3. Caractérisation des MOSFETs

Afin de valider le procédé technologique, nous avons caractérisé des composants dits de "test" dont la grille a été totalement métallisée. Ces composants sont de type MOSFET. Nous pouvons donc déterminer l'influence des paramètres technologiques et obtenir les caractéristiques du transistor MOS.

La caractérisation des propriétés électriques des transistors MOSFETs a été réalisée à température ambiante (ce sera le cas pour toutes nos mesures). Ces composants sont des transistors à enrichissement par conséquent ils sont "normalement fermés" et ils ont une tension de seuil  $V_t$  positive. La longueur du canal est ici de  $10\mu\text{m}$ .

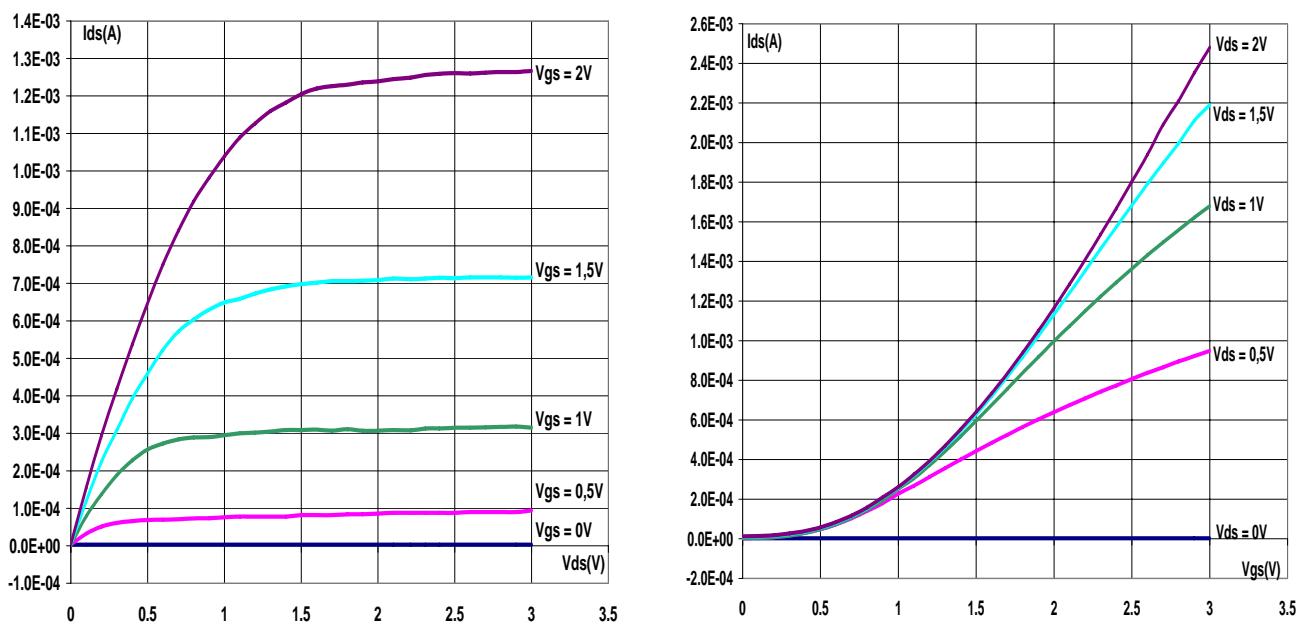


Figure 2.64 : Les courbes caractéristiques du MOSFET

a)  $I_{ds}$  de  $V_{ds}$  à  $V_{gs}$  constant ;

b)  $I_{ds}$  de  $V_{gs}$  à  $V_{ds}$  constant ;

Nous pouvons voir que ces courbes sont en accord avec les équations électriques d'un transistor à effet de champ. De plus, ces courbes nous permettent de définir simplement la frontière entre le mode saturé et le mode linéaire caractérisé par la relation :  $V_{ds} = V_{gs} - V_t$  (figure 2.64). Nous pouvons également en tirer le courant de fuite  $I_{fuite} < 1 \mu\text{A}$  et la tension de

seuil  $V_t \approx 0,7V$ . Malgré un courant de fuite relativement important, comparé à un transistor MOS conventionnel, celui-ci ne dégrade en aucun cas le fonctionnement du transistor et est tout à fait acceptable.

## **I.4. Caractérisation des pH-ISFETs**

### **I.4.1 Caractéristique de fonctionnement**

Dans un premier temps, nous avons vérifié le bon fonctionnement électrique des capteurs pH-ISFETs. Les courbes  $I_{ds}$  de  $V_{ds}$  pour différentes valeurs de  $V_{gs}$  (figure 2.65.a) et  $I_{ds}$  de  $V_{gs}$  pour différentes valeurs de  $V_{ds}$  (figure 2.65.b) ont été tracées. L'électrolyte utilisé a été une solution tampon neutre pH = 7. L'électrode utilisée a été un fil d'or. Les mesures ont été effectuées dans la cage de Faraday et à l'abri de la lumière. Les caractéristiques sont similaires à celles obtenues précédemment sur les transistors de type MOSFETs. La longueur de ce capteur pH-ISFET est de  $40\mu m$ . La tension de seuil  $V_t$  est autour de  $0,6 V$  et le courant de fuite  $I_{fuite} \approx 5 \mu A$ . Pour la suite des caractérisations, nous prendrons une tension de seuil  $V_{gs}$  pour un courant  $I_{ds}$  de  $0,1mA$ .

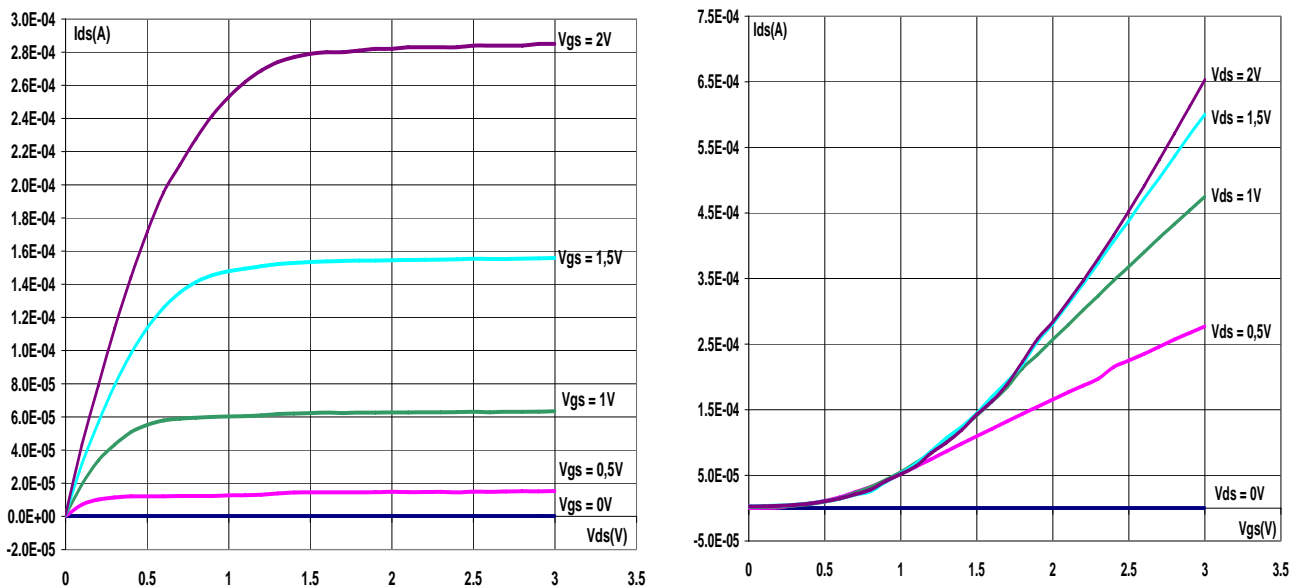


Figure 2.65 : Les courbes caractéristiques du pH-ISFET

a)  $I_{ds}$  de  $V_{ds}$  à  $V_{gs}$  constant

b)  $I_{ds}$  de  $V_{gs}$  à  $V_{ds}$  constant



### I.4.2 Dérive temporelle

La dérive temporelle varie en fonction de nombreux paramètres (solution analysée, tensions appliquées en continu, intensité du courant, température, lumière, ...) (voir partie 1 chapitre II). Dans nos conditions de mesure, le capteur était placé dans la cage de Faraday à l'abri de la lumière dans une solution tampon neutre  $\text{pH} = 7$  à  $25^\circ\text{C}$ , nous avons mesuré la tension de sortie du capteur sur environ 4h (figure 2.66). Nous avons fixé la tension  $V_{\text{ds}}$  à 1V et le courant  $I_{\text{ds}}$  à 0,1 mA et utilisé un fil d'or comme électrode de référence. La tension de sortie a été autour de 0,75 V avec une dérive estimée en moyenne à 1,8mV/h. Cette dérive est tout à fait acceptable au vu de la sensibilité des capteurs en fonction du pH. La longueur du canal du pH-ISFET est de  $10\mu\text{m}$ .

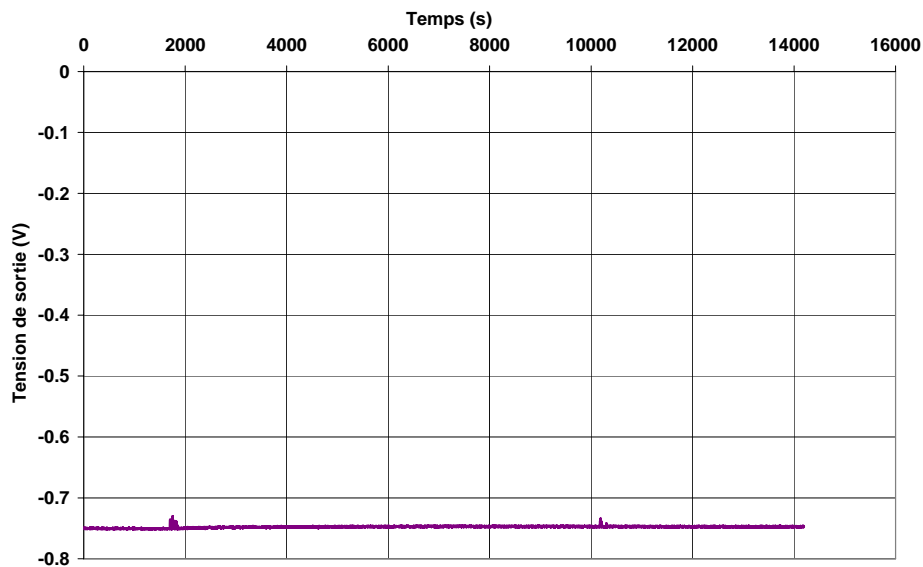


Figure 2.66 : Dérive temporelle d'un pH-ISFET

### I.4.3 Détection du pH

Afin d'estimer la sensibilité du capteur à l'ion  $\text{H}^+$ , nous avons effectué une analyse dans trois solutions tampons avec des  $\text{pH} = [4, 7, 10]$ , à l'abri de la lumière et à température ambiante. Les caractéristiques que nous avons tracées sont des courbes  $I_{\text{ds}}(V_{\text{gs}})$  pour une tension  $V_{\text{ds}} = 1\text{V}$  (figure 2.67a). La détermination de cette sensibilité se fait pour des valeurs fixes du courant  $I_{\text{ds}} = 0,1\text{ mA}$  et de la tension  $V_{\text{ds}} = 1\text{V}$ . La valeur de la tension  $V_{\text{gs}}$  qui en résulte donne alors la mesure du pH. Cette valeur est ensuite reportée sur un graphe en

## Partie II

fonction du pH (figure 2.67.b). Cette sensibilité a été obtenue avec un fil d'or en guise d'électrode de référence. Les sensibilités mesurées sont linéaires en fonction du pH et sont aux alentours de 55 mV/pH. La longueur de canal du capteur est de 20µm.

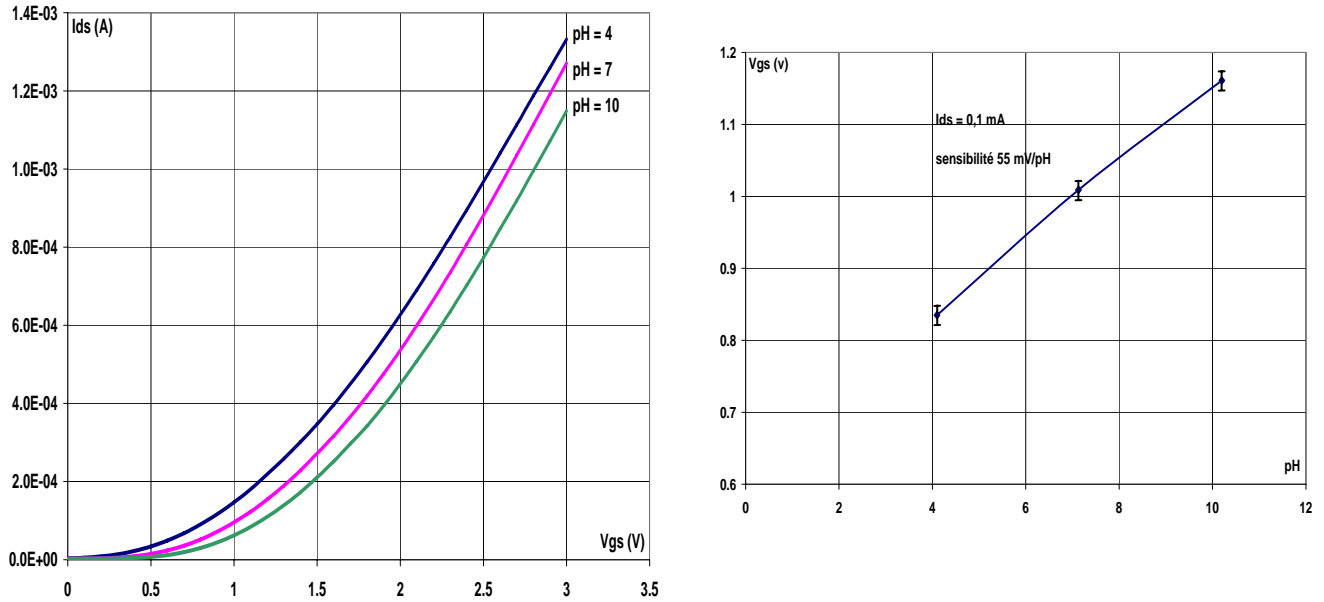


Figure 2.67 : Réponse d'un capteur pH-ISFET dans trois solutions tampon de pH

a)  $I_{ds}$  de  $V_{gs}$  à  $V_{ds} = 1V$

b)  $V_{gs}$  en fonction du pH pour  $I_{ds} = 0,1mA$

Une fois cette première ébauche faite, nous avons effectué une mesure en continu pour une gamme du pH = [2 ... 11]. Pour ce faire, nous avons utilisé le deuxième banc de mesure (voir paragraphe I-1) qui est dédié à ce type de caractérisation. La variation du pH est réalisée avec le couple acido-basique HCl et TMAH (voir paragraphe I-2) que nous injectons par petites doses régulières dans la solution initiale grâce aux burettes automatiquement. La caractérisation du capteur a été effectuée à l'aide du ChemFET-mètre avec un  $I_{ds} = 0,1$  mA et un  $V_{ds} = 1V$  à température ambiante. De plus, une électrode pH commerciale a été utilisée au cours des mesures pour une comparaison avec les capteurs pH-ISFETs. Un calcul théorique de la variation du pH au cours du temps a également été effectué sous Matlab (annexe I).

L'équation théorique donnant la variation du pH est :

$$[H^+]^3 + \left(\frac{c \cdot v - c_0 \cdot v_0}{v + v_0} + k_a\right) \cdot [H^+]^2 - \left(\frac{c_0 \cdot v_0}{v + v_0} \cdot k_a + k_e\right) \cdot [H^+] - k_a \cdot k_e = 0$$

Où  $[H^+]$  est la concentration molaire d'ion hydrogène

$c_0$  et  $v_0$  sont respectivement la concentration et le volume initiaux

$c$  et  $v$  sont la concentration et le volume rajouté

## Partie II

$k_e$  est la constante d'équilibre  $k_e = [H^+] \cdot [OH^-] = 10^{-14}$

$k_a$  est la constante d'acidité  $k_a = [AOH] \cdot [H^+] / [A^+] = 4,5 \cdot 10^{-12}$

avec  $A = N(CH_3)_4$

Le calcul du pH de l'ISFET est régi par l'équation suivante :

$$pH = pH_{init} - \left( \frac{V_{gs} - V_{gs0}}{S} \right)$$

Avec  $S$  : Sensibilité du capteur pH ( $S=53\text{mV/pH}$ )

$V_{gs0}$  : Valeur de la tension de sortie du capteur pour le pH initial de la solution  
( $pH_{init} = 2,07$  et  $V_{gs0} = -0,896\text{V}$ )

$V_{gs}$  : Tension de sortie du capteur

Comme le montre la figure 2.68, la réponse du capteur  $V_{gs}$  au cours du temps est correcte. Avec ce mode de mesure en polarisation continu, la sensibilité des capteurs pH est autour de  $54 \text{ mV/pH}$  pour une longueur de canal de  $10\mu\text{m}$ . Il apparaît des petites variations de la tension de sortie des capteurs dans la gamme de pH autour de  $pH = 7$ . Ces variations sont dues à une mauvaise homogénéité de la solution dans tout le système fluide. De plus, la durée de caractérisation dure 24H et les mesures ne sont pas réalisées à l'abri de la lumière, par conséquent la réponse du capteur est légèrement perturbée par la variation de lumière entre le jour et la nuit.

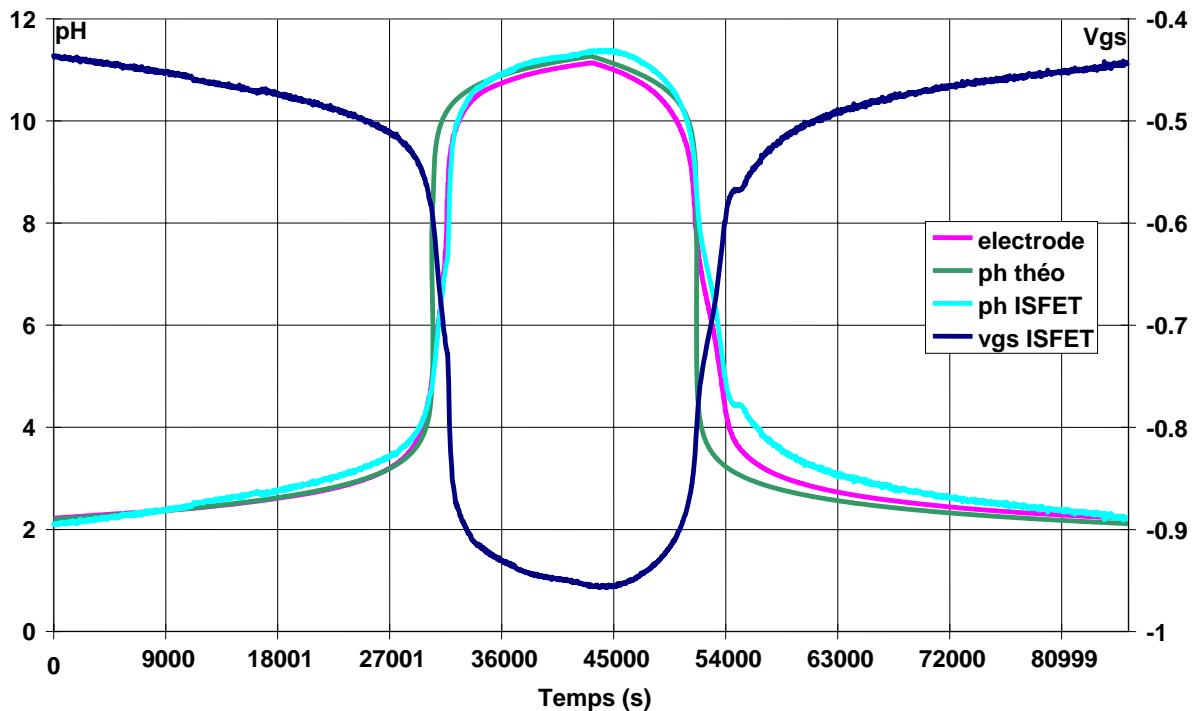


Figure 2.68 : Réponse d'un capteur pH-ISFET pour une variation continue du pH

Ainsi, ce comportement des capteurs pH-ISFETs valide le procédé de fabrication des capteurs. Par conséquent, les capteurs pH sont fonctionnels et prêts à être utilisés comme un support actif pour le dépôt de membranes en polymère ou pour recevoir les microcuvettes en PDMS. Néanmoins, avant de déposer ces couches ionosensibles, nous avons analysé la réponse des pH-ISFETs aux ions auxquels ces couches déposées doivent être sensibles.

### **I.4.4 Effet des ions potassium et sodium**

La couche de nitrure de silicium  $\text{Si}_3\text{N}_4$  qui est la couche sensible de nos capteurs pH-ISFETs, est sensible dans une moindre mesure aux ions tels que le sodium ou le potassium. Et donc, afin de définir la sélectivité des capteurs pH-ISFETs, nous avons caractérisé ceux-ci dans des solutions dont la concentration en ions sodium ou potassium varie. La sélectivité représente la capacité du capteur à pouvoir détecter un élément bien déterminé parmi d'autres espèces présentes dans la solution à analyser. La longueur des canaux des capteurs utilisés pour ces caractérisations sont de 20  $\mu\text{m}$ .

#### **Le sodium**

Nous avons caractérisé ces capteurs pH-ISFETs dans deux types d'électrolytes. Tout d'abord dans des solutions dont la valeur du pH est restée constante et dont la concentration en ion sodium a varié de 0,1 mol/L à 1 mmol/L ( $\text{pNa} = [1, 2, 3]$ ), et ceci pour différentes valeurs de pH ( $\text{pH} = [1,8, 4, 7, 10]$ ) (figure 2.69.a). Puis inversement, dans des solutions dont cette fois-ci c'est la valeur du sodium ( $\text{pNa} = [1, 2, 3]$ ) qui est restée constante, la concentration en ion hydrogène a varié entre  $\text{pH} = 2$  et  $\text{pH} = 12$ , (figure 2.69.b). Les mesures ont été réalisées dans la cage de Faraday à 25°C. La tension de sortie  $V_{\text{gs}}$  a été extraite des caractéristiques  $I_{\text{ds}}$  de  $V_{\text{gs}}$  pour  $V_{\text{ds}} = 1\text{V}$ , pour un courant  $I_{\text{ds}} = 0,1\text{mA}$ .

La sensibilité des capteurs pH-ISFETs aux ions sodium est de 17mV/pNa. De plus, nous avons constaté que la présence d'ions interférents sodium même à forte concentration dans une solution n'altère en rien la sensibilité du capteur aux ions hydrogène.

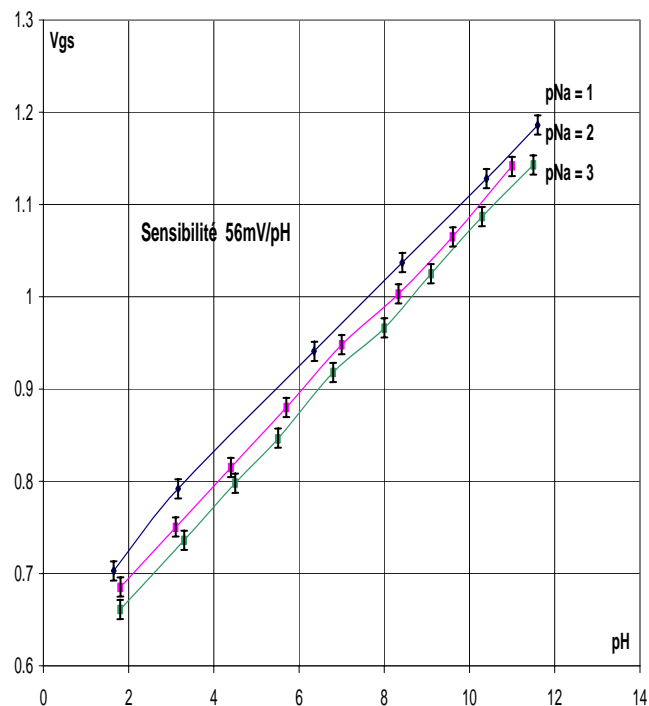
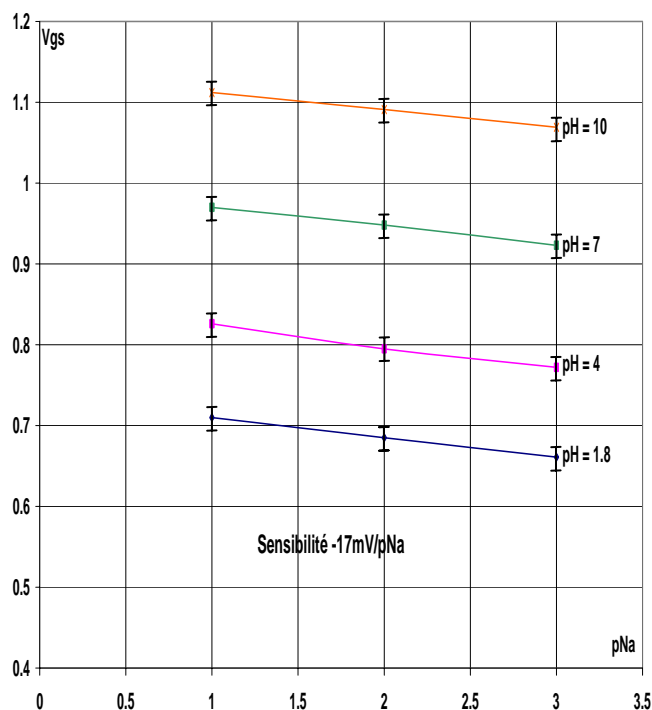


Figure 2.69 : Réponse d'un capteur pH-ISFET aux ions sodium

a)  $V_{gs}$  en fonction du  $pNa$  pour différents pH

b)  $V_{gs}$  en fonction du pH pour différents  $pNa$

## Le potassium

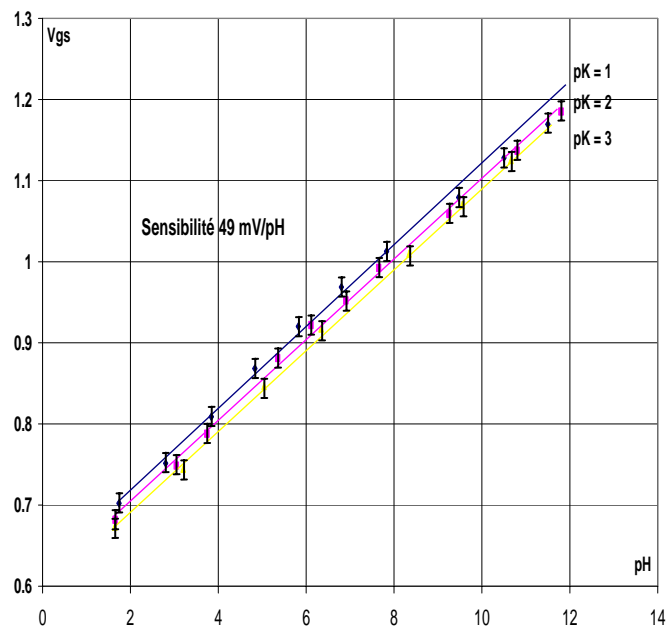
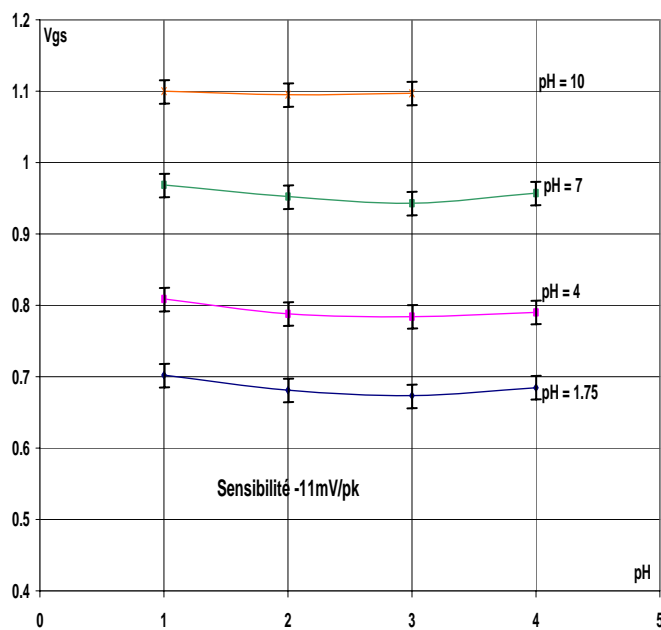


Figure 2.70 : Réponse d'un capteur pH-ISFET aux ions potassium

a)  $V_{gs}$  en fonction du  $pK$  pour différents pH

b)  $V_{gs}$  en fonction du pH pour différents  $pK$

Nous avons fait de même pour les ions potassium (figure 2.70). La sensibilité des capteurs pH-ISFETs aux ions potassium est de 11 mV/pK. De même, la présence d'ions potassium même à forte concentration en solution n'altère en rien la sensibilité du capteur pH aux ions hydrogène.

Les capteurs pH-ISFETs ainsi caractérisés sont prêts à réservoir les couches sensibles en polymère.

### **I.5. Caractérisation des pK-ISFETs**

Les membranes ionosensibles que nous avons réalisées (voir partie II chapitre I) sont à base de polysiloxane (PSX) qui constitue une matrice dans laquelle nous avons incorporé un ionophore. La valinomycine est l'ionophore qui permet la détection du potassium en créant des sortes de tunnels sélectifs dans le PSX donnant ainsi les propriétés de sensibilité et de sélectivité aux capteurs pK-ISFETs.

#### **I.5.1 Détection du potassium**

Les caractéristiques que nous avons réalisées portent sur des capteurs pK-ISFETs avec la membrane de PSX déposée à l'aide d'une micropipette (voir partie II chapitre I). Nous avons utilisé cette technique de dépôt car lors d'un dépôt à la tournette la quantité de l'élément à déposer est importante au vu du volume final utile. En effet, la valinomycine qui est l'ionophore qui interagit avec le potassium, est un produit très coûteux. Par conséquent, il ne peut être gaspillé avec un dépôt à la tournette où plus de 95% de la solution est jetée. L'épaisseur de la membrane est de 15  $\mu\text{m}$ . Au vu des applications pour laquelle ces capteurs sont dédiés (mesure au cours du temps lors d'une hémodialyse), nous nous sommes donc limités à des concentrations en pK inférieures à pK = 3. Les tensions  $V_{gs}$  des figures III-14 et III-15 sont extraites des courbes  $I_{ds}$  de  $V_{gs}$  pour  $V_{ds} = 1\text{V}$  pour un courant  $I_{ds} = 0,1\text{ mA}$  à 25°C dans la cage de Faraday. Les solutions dans lesquelles les capteurs pK-ISFETs ont été plongés sont à base de TMAH, de HCl qui permettent de définir le pH des solutions et de KCl qui, variant de 0,1 mol/L à 1 mmol/L, permet d'ajuster la concentration de l'ion  $\text{K}^+$ .

Les temps de stabilisation du capteur sont relativement élevés, en moyenne autour de 15 min. Cette durée avant stabilisation est due essentiellement à la diffusion des ions  $\text{K}^+$  dans

la couche ionosensible. Cet effet de diffusion n'apparaît pas pour la détection du pH car la détection des ions  $H^+$  par la couche sensible  $Si_3N_4$  est surfacique (les ions restent en surface). Les mesures de la tension  $V_{gs}$  de la figure 2.71.a ont été prises toutes les 45s jusqu'à la stabilisation. Les tensions  $V_{gs}$  de la figure 2.71.b sont prélevées une fois que celles-ci sont stables dans le temps. La réponse des capteurs aux ions potassium montre bien une sensibilité mais celle-ci n'est pas linéaire pour des concentrations en pK entre 1 à 3. La sensibilité est inférieure à 43 mV/pK. Le capteur utilisé ici a une longueur de canal de  $10\mu m$ .

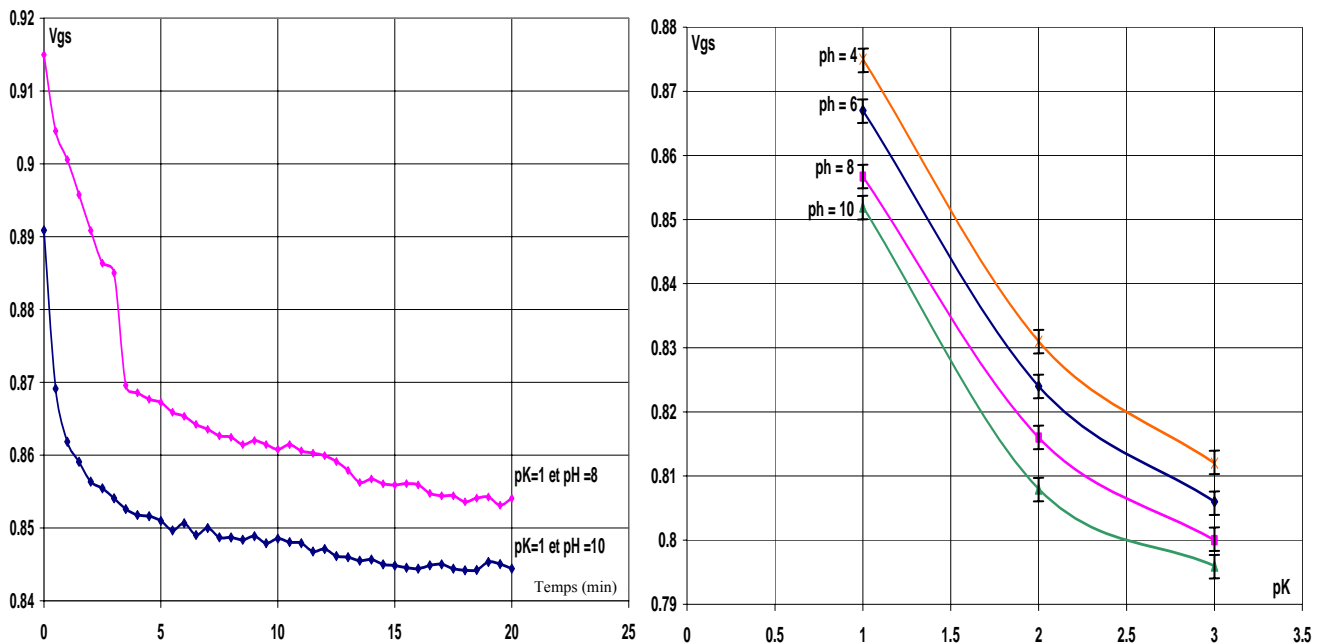


Figure 2.71 : Réponse d'un capteur pK-ISFET aux ions potassium

a) Temps de stabilisation

b)  $V_{gs}$  en fonction du pK

Nous pouvons voir sur les courbes que les capteurs sont sensibles dans une moindre mesure aux ions hydrogène. Par conséquent, nous avons réalisé des mesures supplémentaires.

### I.5.2 L'effet du pH

Afin d'estimer l'influence sur la réponse d'un capteur pK-ISFET de la concentration en ions interférents hydrogène dans une solution, nous avons réalisé des mesures dans des solutions dont la concentration en ions potassium est restée constante mais dont le pH varie.

Les valeurs de  $V_{gs}$  sont extraites des courbes  $I_{ds}(V_{gs})$  pour  $I_{ds} = 0,1 \text{ mA}$ . La sensibilité du capteur est différente suivant la gamme de pH. Si la concentration en ion  $H^+$  est dans le plateau pH compris entre  $pH = 4$  et  $pH = 10$ , la sensibilité du capteur pK-ISFET vis-à-vis de l'ion hydrogène est faible, de l'ordre de  $4 \text{ mV/pH}$ . Par contre, si la valeur du pH est en dehors du plateau pH soit un  $pH < 4$ , soit un  $pH > 10$ , la réponse du capteur aux ions  $H^+$  devient très importante, avec une sensibilité de  $75 \text{ mV/pH}$ . Cette forte sensibilité peut-être expliquée par le piégeage dans la couche sensible des ions  $H_3O^+$  pour des  $pH < 4$  ou des complexes d'hydroxyde  $OH^-$  pour des  $pH > 10$  [27, 28, 29] (figure 2.72).

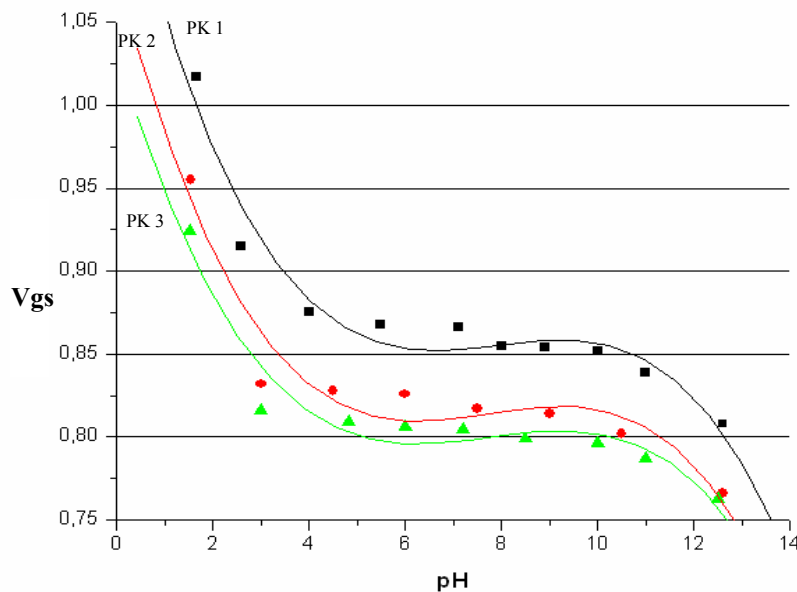


Figure 2.72 : Réponse d'un capteur pK-ISFET au pH pour différentes concentrations d'ion  $K^+$

Par conséquent ces capteurs pK-ISFETs ont une bonne sensibilité aux ions  $K^+$ ,  $S = 43 \text{ mV/pK}$ , néanmoins ils doivent être utilisés dans une gamme de pH comprise entre 4 et 10.

## **I.6. Caractérisation des $pNH_4$ -ISFETs**

Les capteurs  $pNH_4$ -ISFETs ont été développés lors de la thèse de Mlle Iryna Humenyuk dans le cadre du projet européen SEWING dédié à l'analyse de l'eau. La couche sensible en PSX avec de la nonactine en tant qu'ionophore a été déposée à la tournette (voir chapitre II). L'épaisseur de la couche obtenue est de  $30\mu\text{m}$ . Les mesures de la tension de sortie ont été réalisées avec le ChemFET-mètre ( $I_{ds} = 0,1\text{mA}$  et  $V_{ds} = 1\text{V}$ ) à température



ambiante dans la cage de Faraday. Comme le montre la figure 2.73.a, la tension de sortie du capteur est stable dans le temps pour une concentration en  $\text{pNH}_4$  donnée. La réponse du capteur est quasi linéaire pour une gamme de concentration comprise entre  $\text{pNH}_4 = 1$  et 4 (figure 2.73.b). La sensibilité dans cette gamme est de  $S = 45 \text{ mV/pNH}_4$ . Pour des concentrations plus faibles  $\text{pNH}_4 > 5$ , la sensibilité du capteur diminue progressivement car le capteur atteint sa limite de détection.

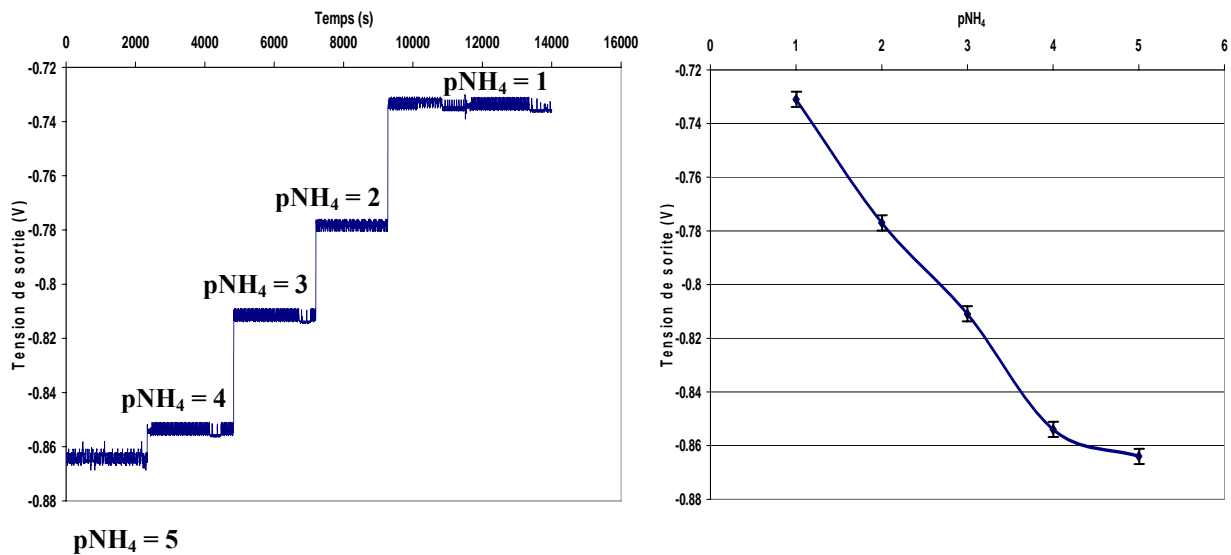


Figure 2.73 : Réponse d'un capteur  $\text{pNH}_4$ -ISFET aux ions ammonium

a) Tension de sortie en fonction du temps pour des concentrations de  $\text{NH}_4$  croissantes

b) Tension de sortie en fonction du  $\text{pK}$

Finalement, ces capteurs ammonium se caractérisent par une bonne sensibilité, une bonne adhérence de la couche sensible déposée à la tournette et une bonne stabilité dans le temps.

## I.7. Caractérisation des pH-ISFETs en microvolume

Toutes les mesures en microvolume ont été effectuées sur le testeur sous pointe avec des composants avec microcuvette en PDMS reportée (voir partie II chapitre I). Les caractérisations ont été faites via le HP4140B. Rappelons que les bactéries utilisées sont des *Lactobacillus acidophilus*, qui sont des bactéries non pathogènes que nous avons nous-mêmes mises en culture.

### I.7.1 Principe de mesure biologique

Le principe de la mesure que nous avons effectuée est basé sur une lecture directe de la variation du pH lors d'une réaction particulière.

Le métabolisme des *Lactobacillus acidophilus* est uniquement fermentaire : on distingue les homofermentaires fabriquant seulement de l'acide lactique (R ou S - D ou L), des hétérofermentaires (plusieurs produits de fermentation avec éventuellement du dioxyde de carbone). Les souches dont nous avons disposé suivent la voie homofermentaire (figure 2.74) et il n'y a donc aucun autre produit que de l'acide lactique issu de la dégradation d'un hexose (sucre comportant 6 atomes de carbone).

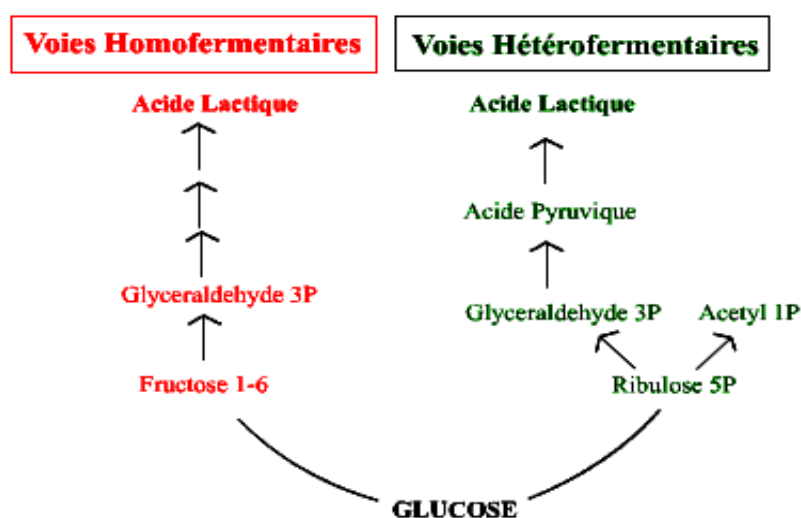


Figure 2.74 : Voies fermentaires lactiques [30]

Le tableau 2.6 exprime le degré d'affinité de *Lactobacillus acidophilus* pour différents sucres.

Amygdaline	+	Mannose	+
Arabinose	-	Mélézitose	-
Cellobiose	+	Mélibiose	<b>d</b>
Esculine	+	Raffinose	<b>d</b>
Fructose	+	Rhamnose	-
Galactose	+	Ribose	-
Glucose	+	Salicine	+
Gluconate	-	Sorbitol	-
Lactose	+	Sucrose	+
Maltose	+	Tréhalose	<b>d</b>
Mannitol	-	Xylose	-

+ : 90 % d'affinité au minimum      - : 90 % de répulsion au minimum

**d** : 11-89 % d'affinité

Tableau 2.6 : Degré d'affinité de *Lactobacillus Acidophilus* pour différents sucres

La détection de l'activité des lactobacilles s'effectue à travers la mesure de la variation de pH induite par l'apparition d'acide lactique issue de la voie homofermentaire des lactobacilles. Cette détection peut être résumée par le schéma de principe de la figure 2.75.

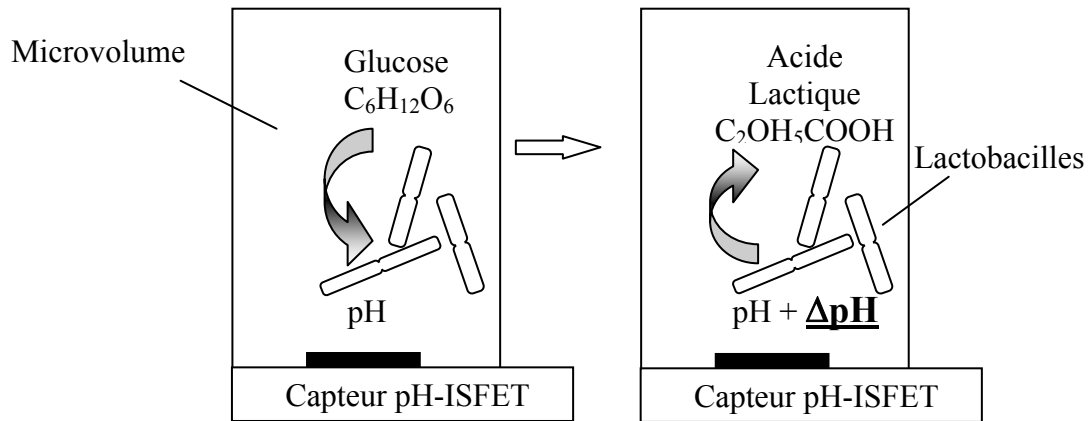


Figure 2.75 : Schéma de principe de la détection de l'activité des lactobacilles grâce à un pH-ISFET

Le fait de travailler dans des volumes de l'ordre du microlitre, permet d'avoir une concentration de bactéries suffisamment importante pour créer une variation de pH conséquente. De plus, le fait de travailler en microvolume implique un nombre plus restreint de bactéries pour des concentrations dans la solution d'analyse plus importante. Au final, cela permet des temps de mise en culture plus courts et une réponse du capteur plus rapide.

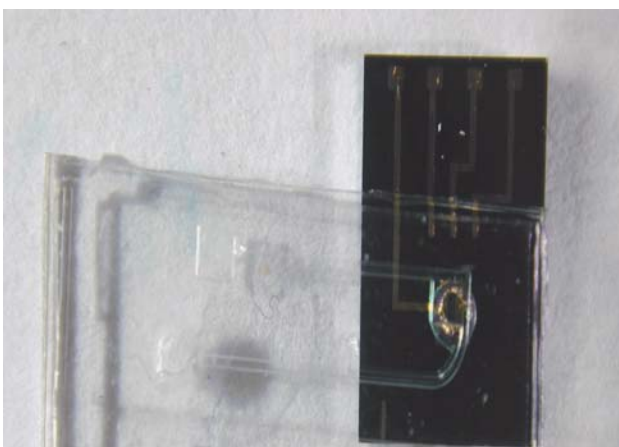


Figure 2.76 : Photo d'une microcuve en PDMS reporté sur un capteur pH-ISFET

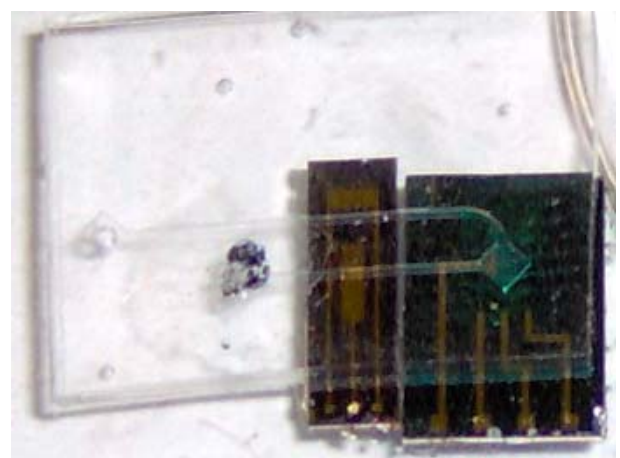


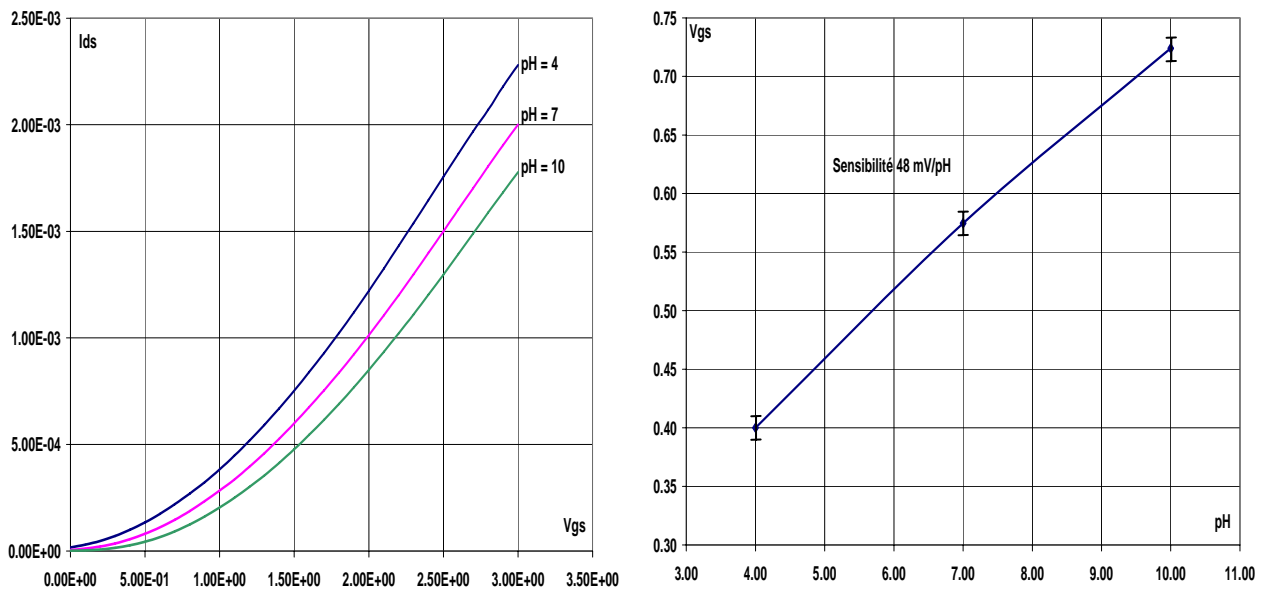
Figure 2.77 : Photo d'une microcuve en PDMS reportée sur un pH-ISFET + une microélectrode

Comme le montre les figures 2.76 et 2.77, la cuve est placée au niveau de la grille du pH-ISFET et les micro-canaux passent au-dessus de l'électrode de référence en or ou/et des microélectrodes d'or.

### **I.7.2 Mesure du pH en microvolume**

Afin de vérifier le bon fonctionnement du capteur pH-ISFET ainsi que la bonne prise de contact des différentes pointes, nous effectuons dans un premier temps une série de mesures dans des solutions pH à différentes concentrations  $\text{pH} = [4, 7, 10]$  à  $25^\circ\text{C}$ . Entre chaque mesure, la microcuve est rincée abondamment à l'eau déionisée pour éviter un mélange entre deux solutions. Comme le montre la figure 2.78.a, les mesures  $I_{ds}$  ( $V_{gs}$ ) ont été effectuées grâce au HP4140B. La longueur du canal du capteur est ici de  $10\text{ }\mu\text{m}$ . La tension  $V_{gs}$  qui en résulte en fonction du pH (figure 2.78.b) a été prise pour un courant  $I_{ds} = 0,1\text{ mA}$ . La sensibilité obtenue est de  $48\text{ mV/pH}$  avec comme électrode de référence la microélectrode d'or.

Une fois cette étape de validation du capteur pH-ISFET établie, nous pouvons passer aux mesures en milieu bactérien.



*Figure 2.78 : Réponse d'un capteur pH-ISFET en microvolume*

*a)  $I_{ds}$  de  $V_{gs}$  à  $V_{ds} = 1\text{ V}$*

*b)  $V_{gs}$  en fonction du pH pour  $I_{ds} = 0,1\text{ mA}$*

### I.7.3 Détection bactérienne

Afin d'éviter d'avoir une valeur de pH finale trop faible, nous avons choisi de travailler dans un milieu tamponné. Pour cela, nous avons utilisé de l'EDTA tamponnée à pH = 7,4. La première série de mesures qui a été effectuée a consisté à vérifier l'effet dû à la solution d'EDTA sans sucre. Pour ce faire, nous avons mesuré la réponse du capteur dans la solution d'EDTA seul puis dans une solution d'EDTA avec des bactéries. Ces mesures ont été caractérisées à l'aide du ChemFET-mètre. La tension de sortie a été prise pour toutes les mesures qui suivent avec une tension  $V_{ds} = 1V$  et un courant  $I_{ds} = 0,1\text{ mA}$  à température ambiante. Entre chaque mesure nous rinçons le système fluide à l'eau déionisée afin qu'il n'y ait pas mélange entre les solutions et que la grille sensible du pH-ISFET soit nettoyée d'un éventuel dépôt de bactéries. Nous pouvons constater qu'après une demi-heure, la réponse du capteur est identique dans les deux solutions. L'effet tampon de la solution est bien visible sur la courbe EDTA+bactérie de la figure 2.79, car les lactobacilles relarguent toujours dans un premiers temps un peu d'acide lactique dans les solutions résultant de la métabolisation des sucres présents dans le milieu de culture. Cet acide lactique est vite neutralisé par les sels de tamponnage de l'EDTA ainsi le pH de la solution se stabilise autour de pH = 7,4.

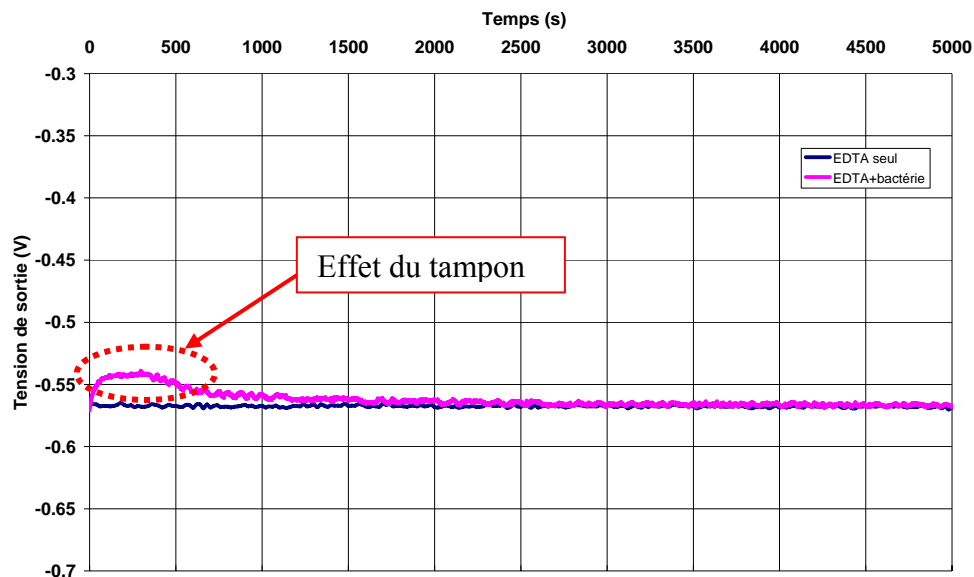


Figure 2.79 : Réponse d'un capteur pH-ISFET dans le temps avec des solutions d'EDTA sans sucre avec et sans lactobacilles.

Après avoir vérifié la réponse du capteur à une solution d'EDTA seul puis avec des bactéries montrant ainsi que le pH de la solution ne variait pas lors de la présence des bactéries, nous pouvons donc mettre les solutions bactériennes en présence de différents sucres. Dans un premier temps, nous avons mis le sucre le plus apprécié par nos bactéries, le glucose (20g/L). Sur la figure 2.80, nous pouvons constater que très rapidement la tension de sortie augmente, i.e. le pH chute de manière importante lorsque du glucose est ajouté dans la solution bactérienne. La création d'acide correspondant à la consommation du glucose par les bactéries est telle que l'effet tampon de la solution ne peut tout absorber. La différence de tension de sortie entre les courbes 2.79 et 2.80 est due au fait que le capteur utilisé est différent.

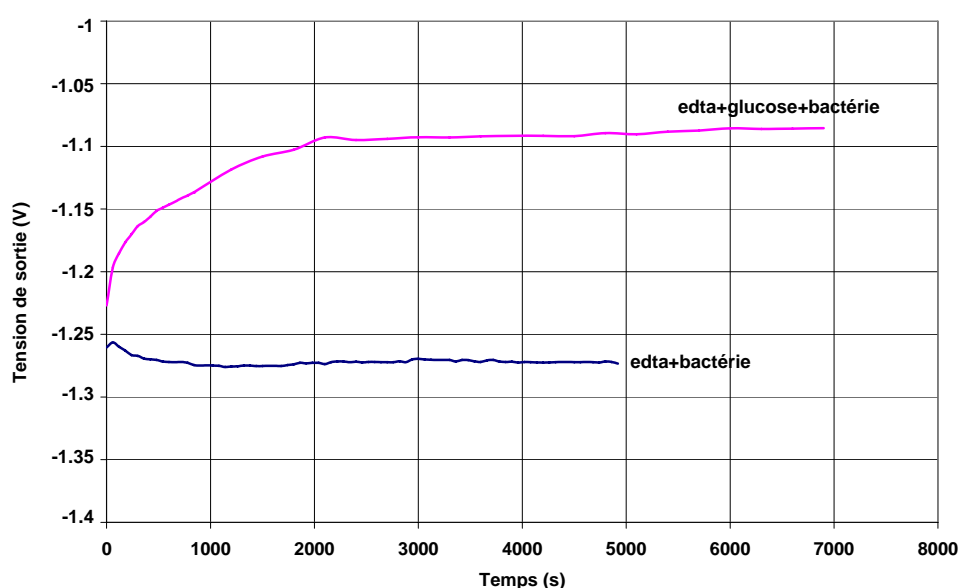


Figure 2.80 : Réponse d'un capteur pH-ISFET (20 $\mu$ m) dans le temps pour des solutions avec des lactobacilles en présence ou non de sucre.

Ce type de mesure ne nous permet pas de quantifier l'activité bactérienne car nous utilisons des solutions tampon d'EDTA qui amoindrissent fortement la variation du pH. Mais, ici notre but est de déterminer assez simplement et rapidement l'activité des lactobacilles en présence d'un sucre qu'ils sont capables de métaboliser. Nous pouvons revoir sur cette même figure l'effet tampon sur la courbe EDTA+bactérie.

Dans un deuxième temps, nous avons également testé la réaction des lactobacilles en présence d'autres sucres. Les sucres qui ont été choisis peuvent ou non être métabolisés par les bactéries suivant l'affinité (voir tableau 2.6) avec celles-ci. Lorsque qu'il n'y a pas d'affinité les bactéries ne consomment pas le sucre et par conséquent relarguent uniquement

un peu d'acide lactique dû aux sucres présents dans le milieu de culture. Ainsi le pH de la solution doit rester stable dans le temps. Inversement, si le sucre est consommé, le pH doit devenir acide. Nous avons donc injecté successivement les solutions d'EDTA+bactérie avec des sucres différents. Entre chacune de ces mesures, nous avons réalisé des mesures avec les mêmes solutions sans sucre afin de vérifier que les variations de la tension de sortie étaient bien dues à des variations de pH et non à une dérive du capteur. Comme on peut le voir sur la figure 2.81, les sucres comme le glucose et le fructose qui ont une forte affinité avec les lactobacilles acidophilus ont bien été métabolisés, la tension a augmenté par rapport à la solution EDTA+bactérie donc les solutions sont plus acides. Par contre, le xylose qui est un sucre sans affinité avec nos bactéries n'a pas été métabolisé, au bout de 2h la tension de sortie est similaire à la tension de la solution EDTA + bactérie. Lorsque les temps de stabilisation sont longs comme ici pour la courbe avec la solution contenant du xylose, ceci est souvent dû à un mauvais rinçage du système fluide (mélange de plusieurs solutions).

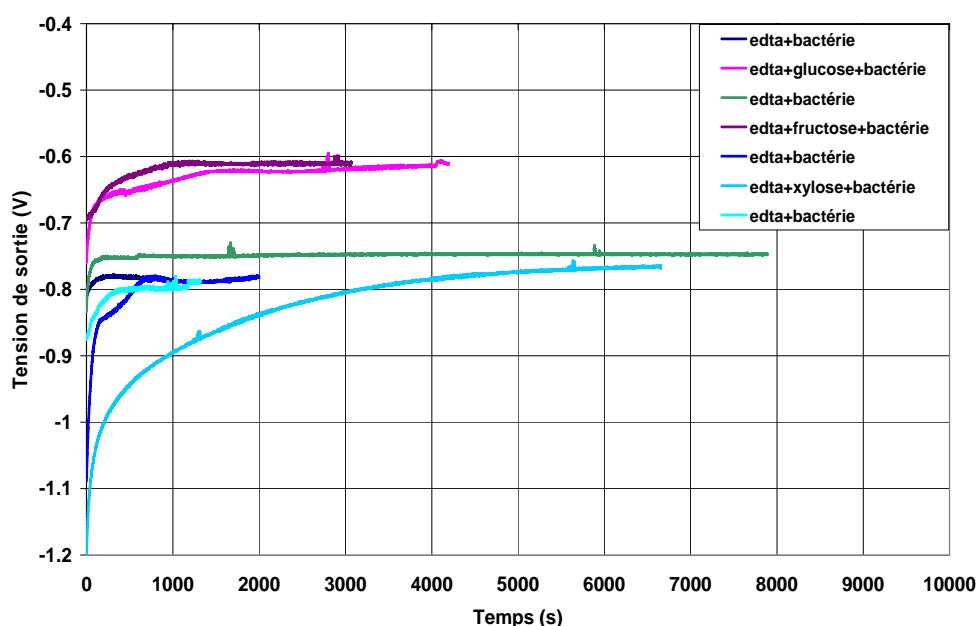


Figure 2.81 : Réponse d'un capteur (10 $\mu$ m) dans le temps avec des solutions contenant des lactobacilles en présence de différents sucres.

Le but final de ces caractérisations est de pouvoir identifier la bactérie présente dans une solution suivant les sucres qui sont ou non métabolisés. Ce type de détection bactérienne est couramment utilisé dans l'industrie à la différence que la détection de la variation de pH est réalisée par colorimétrie (les kits galerie API). Ces kits industriels nécessitent un grand nombre de bactéries du fait que le volume de solution à analyser est plus grand et donc il faut

des temps de culture importants. De plus, ces tests colorimétriques prennent du temps (minimum 18h).

Donc l'avantage principal des microcuves par rapport aux techniques classiques réside dans un gain de temps qui est dû essentiellement à une diminution du volume d'analyse. Le tableau 2.7 synthétise quelques-uns des points de comparaison que nous avons pu établir.

	Cuve (Galerie API)	Micro-cuves
Volume nécessaire par test	150 $\mu\text{L}$	1 $\mu\text{L}$
Temps de culture nécessaire	18 à 24 heures	< 18 heures
Temps d'incubation du test	18 à 24 heures	< 1 heure

Tableau 2.7 : Comparaison des critères de détection de la réactivité des lactobacilles en fonction du procédé utilisé.

## **I.8. Conclusion**

Les propriétés des capteurs pH-ISFETs ont été étudiées, mettant en évidence une sensibilité quasi-nerstienne aux ions hydrogènes (autour de 55mV/pH) et des sensibilités moindres aux principaux ions interférents sodium (17mV/pNa) et potassium (11mV/pK). Cette technologie de capteurs ont ensuite été utilisés pour la détection d'une bactérie (*Lactobacillus Acidophilus*) via les variations du pH de la solution support grâce au relargage ou non d'acide lactique suivant leur degré d'affinité le sucre présent en solution. Ainsi, nous avons mis en évidence le bon comportement des pH-ISFETs en présence de bactéries avec différents sucres. Par ailleurs, des capteurs pK-ISFETs ont été réalisés avec les couches ionosensibles en PSX\*. La sensibilité des capteurs pK-ISFETs suit une loi non linéaire en fonction du pK et est autour de 43mV/pK pour des concentrations de pK = [1 à 3] et la sensibilité aux ions interférents hydrogène est inférieure à 4mV/pH pour des pH compris entre pH = 4 à 10.



## II. Etude des microélectrodes

### II.1. Bancs de mesure

Le banc de caractérisation qui a été utilisé pour tester les microélectrodes est constitué d'un AUTOLAB PGSTAT30 et d'une cage de Faraday. Le PGSATAT30 est un appareil dédié aux études électrochimiques. Il peut soit générer une tension (continue, rampe ou alternative) et mesurer le courant et le déphasage qui en résultent, soit générer un courant (continu, rampe ou alternative) et mesurer la tension et le déphasage qui en découlent. Il est piloté par un PC par port USB grâce à deux logiciels, le premier pour les études en tension et courant continu ou rampe donnant ainsi des courbes voltampérométriques, chrono-ampérométriques et chrono-voltamétriques, le second pour les études en fréquence donnant des courbes impédancemétriques. Le schéma de principe simplifié de l'appareil est donnée figure 2.82.

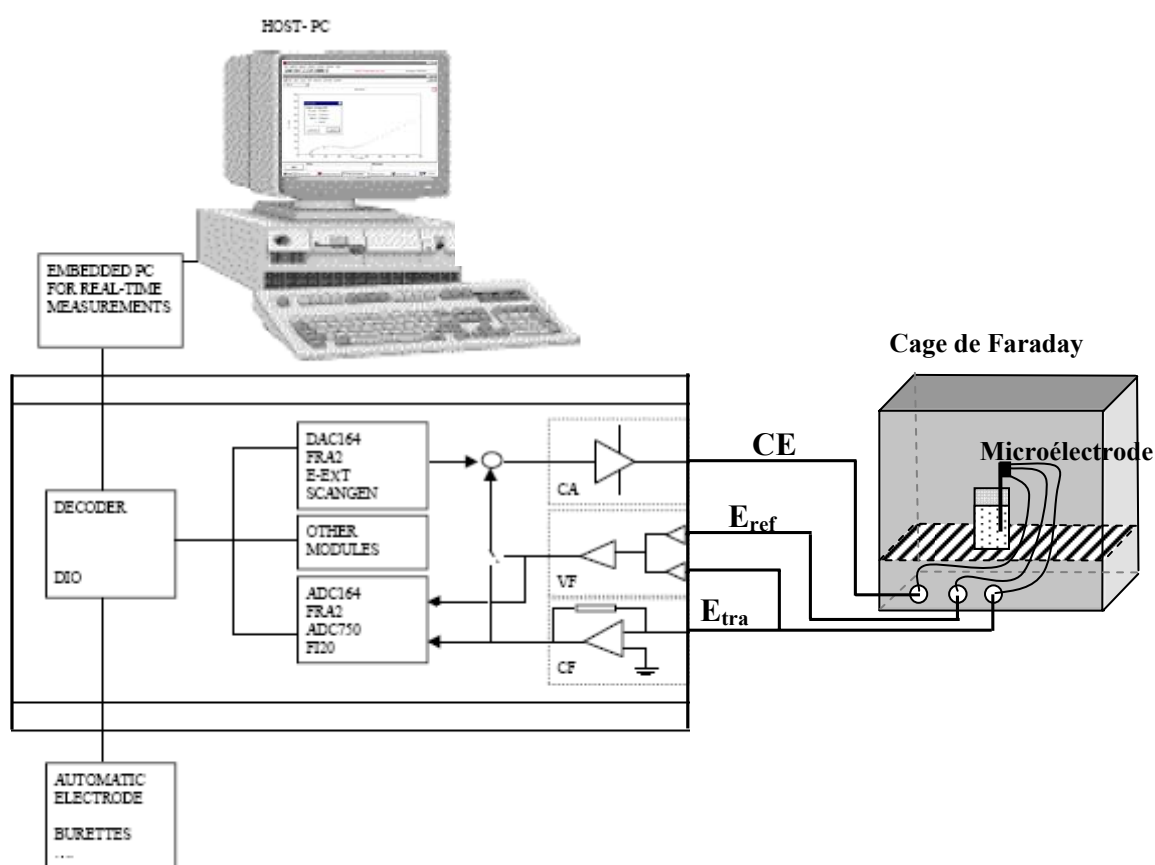


Figure 2.82 : Banc de caractérisation des microélectrodes

## **II.2. Caractérisation des microélectrodes d'or**

Tout d'abord, dans un but de compréhension et d'identification des mécanismes réactionnels se produisant lors d'une mesure électrochimique, nous avons caractérisé les microélectrodes sans couche sensible à deux puis à trois électrodes. Ces caractéristiques, qu'elles soient de types voltampérométrique ou impédancemétrique, nous ont permis de distinguer les réactions se produisant aux interfaces et les mécanismes dus à la solution elle-même.

### **II.2.1 Caractérisation de l'électrolyte**

La première étude que nous avons choisie de faire, a consisté à mesurer la résistivité d'une solution par spectroscopie d'impédance. Cette caractérisation a été réalisée avec les microélectrodes de type carré (voir partie II chapitre I) dont la surface des deux électrodes est identique. Les électrolytes que nous avons choisis sont des solutions d'hypophosphite de potassium ( $\text{KH}_2\text{PO}_2$ ) et d'acétate de lithium ( $\text{LiCH}_3\text{CO}_2$ ) variant de 0,1 mol/L à  $10^{-7}$  mol/L. Le schéma de câblage est représenté figure 2.83.

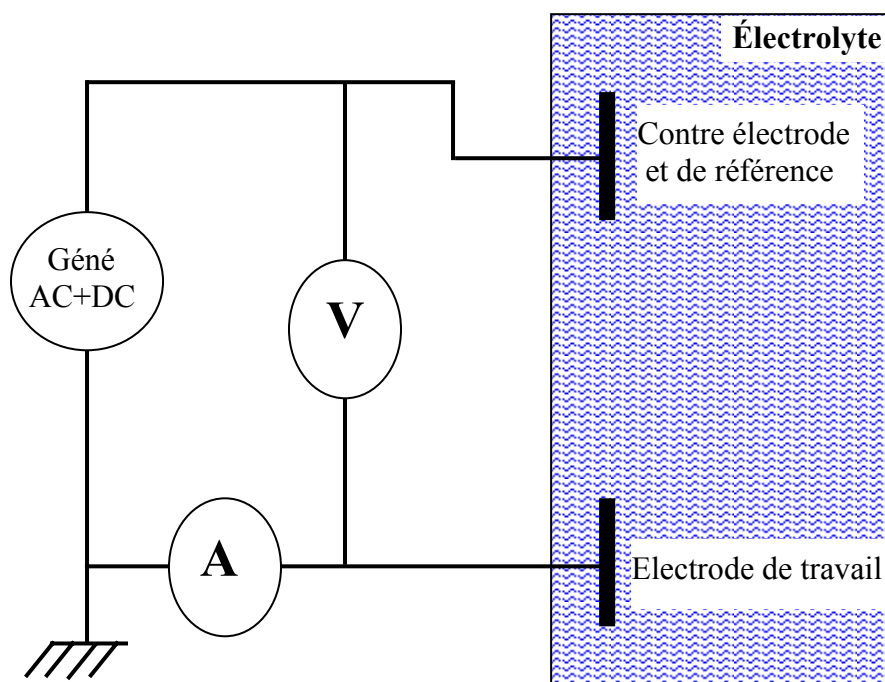


Figure 2.83 : schéma de câblage à deux électrodes

La gamme de fréquence utilisée va de un mégahertz à cent millihertz (des hautes fréquences vers les basses fréquences). L'amplitude de la tension alternative a été fixée à 10mV, et la tension continue est nulle. A partir du graphe d'impédancemétrie (diagramme de Nyquist figure 2.84 et diagramme de Bode figure 2.85), nous avons réalisé un schéma équivalent constitué de trois modules identiques en série (figure 2.86). Ce module est constitué d'une résistance en parallèle avec une impédance  $Z_Q$ .

L'impédance  $Z_Q$  est un élément à constante de phase (CPE) et représente une diffusion imparfaite.

$$Z_Q = \frac{1}{Q.(j\omega)^n} \quad \text{avec } 0 < n < 1$$

Lorsque  $n = 1$ , l'impédance  $Z_Q$  est équivalente à une capacité et lorsque  $n = 0,5$ , l'impédance  $Z_Q$  est équivalente à une impédance de Warburg.

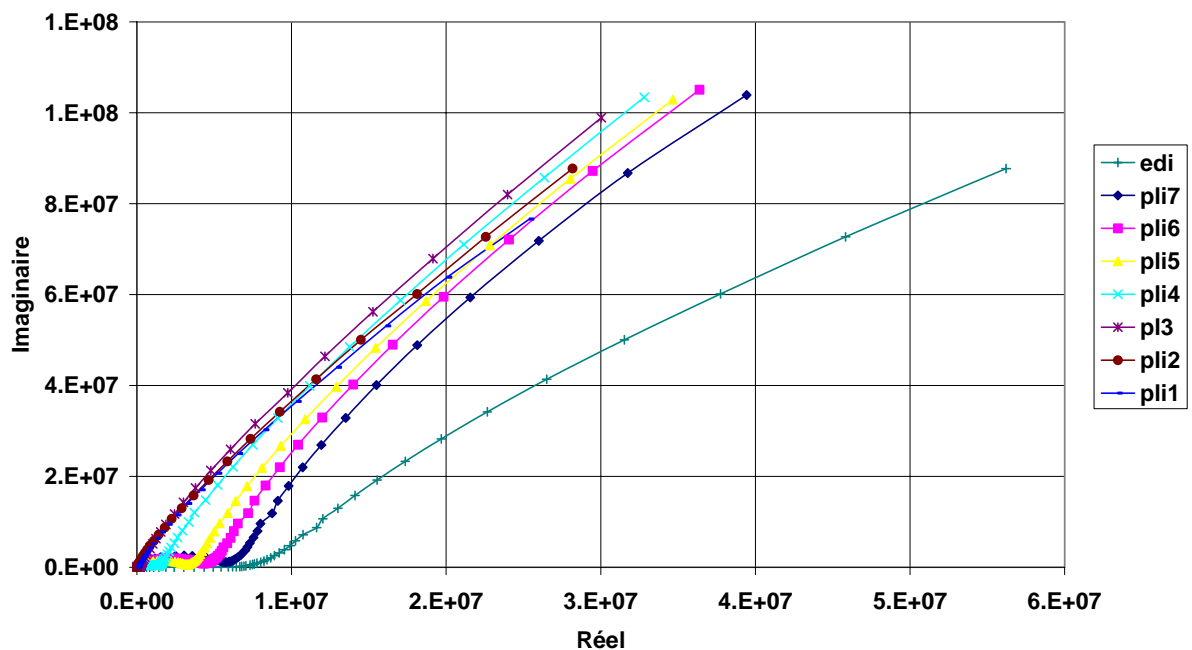


Figure 2.84 : Diagramme de Nyquist d'une cellule à deux électrodes d'or dans différentes concentrations d'acétate de lithium

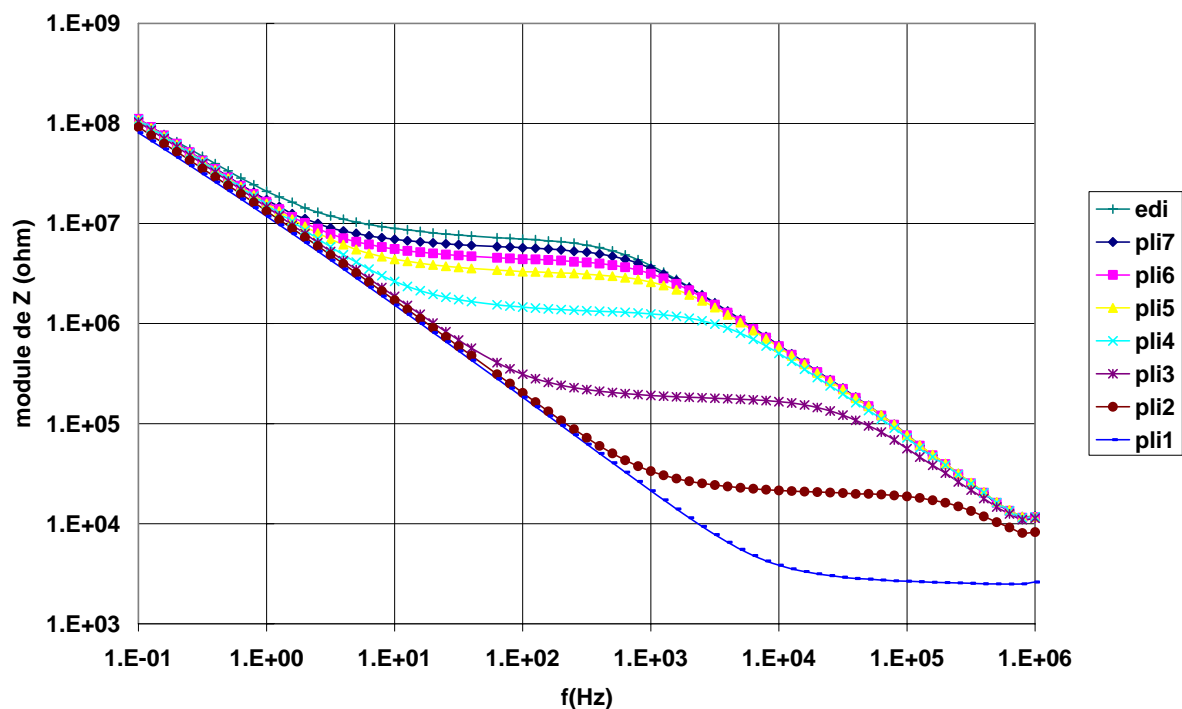


Figure 2.85 : Diagramme de Bode d'une cellule à deux électrodes d'or dans différentes concentrations d'acétate de lithium

Les valeurs des différents composants du circuit équivalent ont été calculées à l'aide du logiciel ZsimpWin. Deux de ces modules  $[R_{\text{int}}, Z_{\text{Qint}}]$  ont des valeurs de composants qui restent quasiment constantes quelle que soit la concentration de la solution. Ces deux modules  $[R_{\text{int}}, Z_{\text{Qint}}]$  équivalents correspondent aux interfaces entre l'électrolyte et les électrodes d'or. De plus, la surface des deux électrodes étant identique et étant constitué du même matériau, les valeurs pour ces deux modules sont proches (figure 2.87). La légère différence entre les deux interfaces est due au fait que l'une des électrodes est reliée à la masse alors que l'autre reçoit la tension alternative (figure 2.83). Du fait que la concentration ionique n'est pas constante aux interfaces, les valeurs des coefficients  $n$  sont légèrement différentes de 1. La résistance  $R_{\text{élec}}$  correspond à la résistance du liquide et donc varie en fonction de la concentration en ions dans le liquide (figure 2.87.c). L'impédance  $Z_{\text{Qélec}}$  a une valeur  $Q$  très faible et ne varie que très peu suivant la concentration en ion  $\text{Li}^+$  car les solutions d'analyse sont conductrices. Le tableau 2.8 donne les valeurs des composants du schéma équivalent pour les différentes concentrations en ion lithium dans une solution.

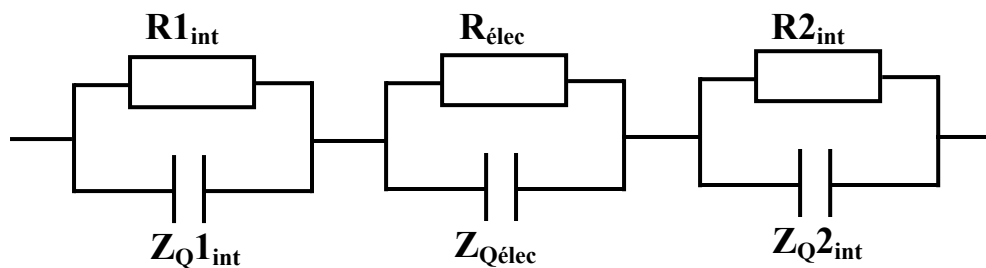


Figure 2.86 : schéma équivalent d'une microélectrode à deux électrodes d'or

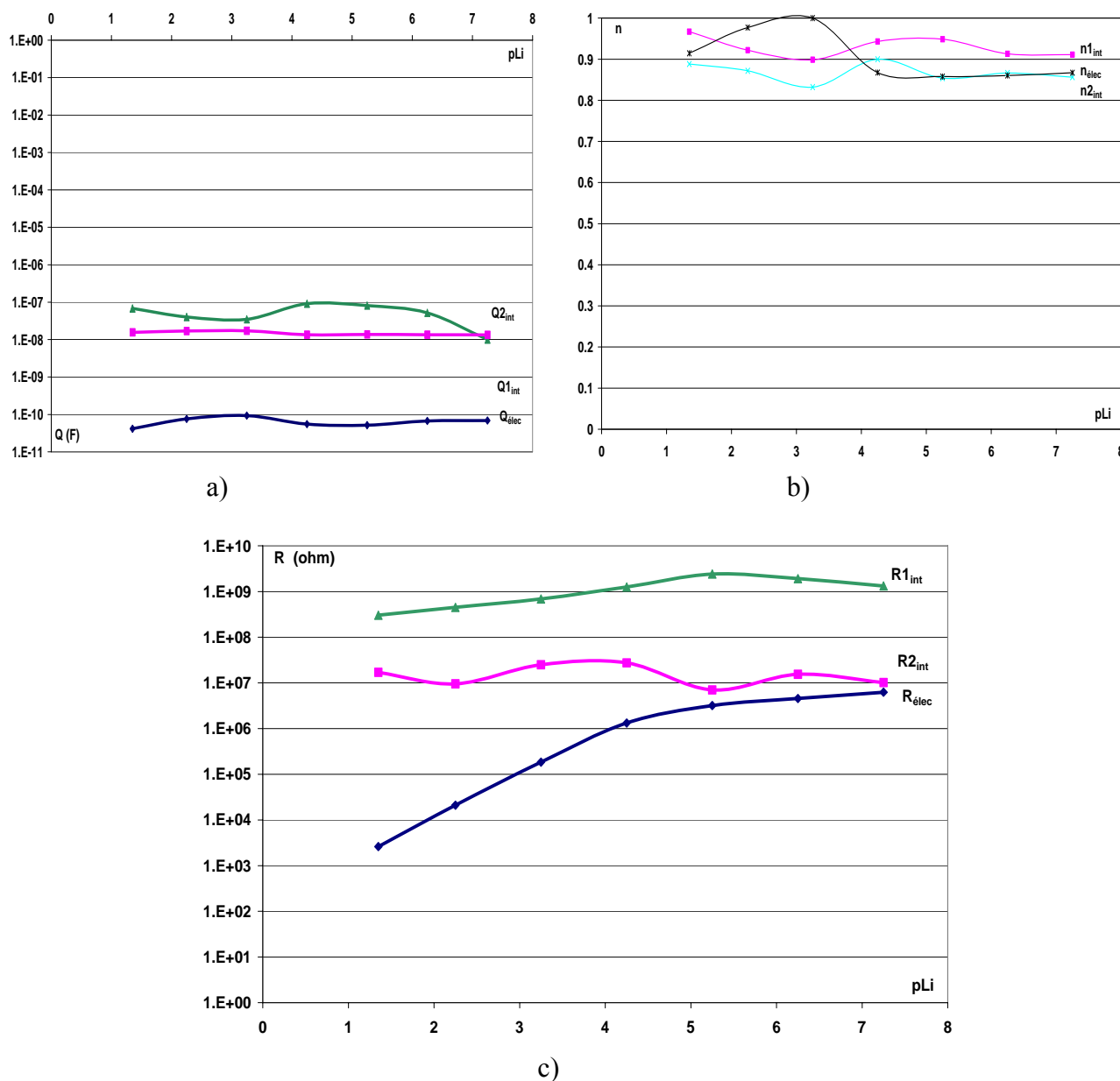


Figure 2.87 : a) valeur des impédances  $Q$  en fonction de la concentration  
 b) valeur des coefficients  $n$  en fonction de la concentration  
 c) valeur des résistances  $R$  en fonction de la concentration

P <sub>Li</sub>		1,35	2,25	3,25	4,25	5,25	6,25	7,25
R <sub>1int</sub>		1.70E+07	9.54E+06	2.50E+07	2.74E+07	7.02E+06	1.54E+07	1.02E+07
Z <sub>Q1int</sub>	Q	6.82E-08	4.02E-08	3.49E-08	9.12E-08	8.11E-08	5.19E-08	1.00E-08
	n	0.8884	0.8718	0.8321	0.9	0.854	0.86629	0.8562
R <sub>élec</sub>		2603	2.11E+04	1.84E+05	1.32E+06	3.20E+06	4.56E+06	6.23E+06
Z <sub>Qélec</sub>	Q	4.16E-11	7.62E-11	9.32E-11	5.52E-11	5.16E-11	6.70E-11	6.89E-11
	n	0.9671	0.922	0.8987	0.9431	0.9486	0.9132	0.9111
R <sub>2int</sub>		3.02E+08	4.52E+08	6.86E+08	1.26E+09	2.41E+09	1.91E+09	1.32E+09
Z <sub>Q2int</sub>	Q	1.57E-08	1.69E-08	1.71E-08	1.35E-08	1.38E-08	1.35E-08	1.34E-08
	n	0.9144	0.9769	1	0.8674	0.8578	0.8602	0.8672

Tableau 2.8 : schéma équivalent d'une microélectrode à deux électrodes d'or

### Calcul théorique de la résistance R<sub>élec</sub> :

La résistance R d'une solution est proportionnelle à la longueur inter électrode L et inversement proportionnelle à la surface S de la plus petite des deux électrodes. L'homogénéité des formules oblige alors à introduire une caractéristique intrinsèque de la solution, la résistivité  $\rho$  de la solution qui admet un inverse, la conductivité  $\sigma$ .

On aura alors :

$$R = \frac{\rho \cdot L}{S} = \frac{K}{\sigma}$$

Le rapport  $\frac{L}{S}$  est désigné par K, constante de cellule. Elle caractérise la forme intrinsèque de la cellule de mesure. La conductivité  $\sigma$  est fonction des espèces en solution, ainsi que de leur concentration. La contribution d'un ion de charge z et de concentration  $C_i$ , à la conductivité globale d'une solution ionique, est égale à :

$$\sigma_i = \lambda_i^0 \cdot C_i$$

Le terme  $\lambda_i^0$  est la conductivité molaire limite, à dilution infinie, de l'ion considéré. Il exprime en S.m<sup>2</sup>.mol<sup>-1</sup>.

Ion	$\lambda_i^\circ$ ( S.m <sup>2</sup> .mol <sup>-1</sup> )
H <sub>3</sub> O <sup>+</sup>	3,5.10 <sup>-2</sup>
HO <sup>-</sup>	1,99.10 <sup>-2</sup>
K <sup>+</sup>	7,35.10 <sup>-3</sup>
H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> <sup>-</sup>	3,6.10 <sup>-3</sup>
Li <sup>+</sup>	3,87.10 <sup>-3</sup>
CH <sub>3</sub> CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	4,09.10 <sup>-3</sup>

Tableau 2.9 : Conductivité molaire limite pour un ion donné.

La conductivité totale d'une solution est la somme des conductivités de chaque ion.

$$\sigma = \sum_i \lambda_i^\circ \cdot C_i$$

La solution d'acétate de lithium (LiCH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>) a une concentration qui varie de 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-7</sup> mol/l dans de l'eau à pH =5,3 avec une surface d'électrode de 1.10<sup>-6</sup>m<sup>2</sup> et une distance inter-électrode de 1mm.

Les concentrations des ions Li<sup>+</sup> et CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub><sup>-</sup> sont identiques et varient de 100mol/m<sup>3</sup> à 10<sup>-4</sup> mol/m<sup>3</sup>. De même les concentrations des ions H<sub>3</sub>O<sup>+</sup> et HO<sup>-</sup> sont égales à :

$$C_{\text{H}_3\text{O}^+} = 10^{-\text{ph}} \times 1000 = 5.10^{-3} \text{ mol/m}^3$$

$$C_{\text{OH}^-} = 10^{-(14+\text{ph})} \times 1000 = 2.10^{-6} \text{ mol/m}^3$$

$$10^{-4} \text{ mol/m}^3 \leq C_{\text{Li}^+} = C_{\text{CH}_3\text{CO}_2^-} \leq 100 \text{ mol/m}^3$$

On définit pX comme le cologarithme décimal de la concentration C<sub>X</sub> (en mol/l) de l'ion X considéré par :  $\text{pX} = -\log(C_X)$

La conductivité de chaque ion sera :

$$\sigma_{\text{Li}^+} = \lambda_{\text{Li}^+}^\circ \cdot C_{\text{Li}^+} = 3,87.10^{-3} \times C_{\text{Li}^+}$$

$$\sigma_{\text{CH}_3\text{CO}_2^-} = \lambda_{\text{CH}_3\text{CO}_2^-}^\circ \cdot C_{\text{CH}_3\text{CO}_2^-} = 4,09.10^{-3} \times C_{\text{CH}_3\text{CO}_2^-}$$

$$\sigma_{\text{H}_3\text{O}^+} = \lambda_{\text{H}_3\text{O}^+}^\circ \cdot C_{\text{H}_3\text{O}^+} = 3,5.10^{-2} \times 5.10^{-3} = 1,75.10^{-4} \text{ mol/m}$$

$$\sigma_{\text{OH}^-} = \lambda_{\text{OH}^-}^\circ \cdot C_{\text{OH}^-} = 1,99.10^{-2} \times 2.10^{-6} = 4.10^{-8} \text{ mol/m}$$

## Partie II

Nous pouvons négliger la conduction due aux ions  $\text{OH}^-$  par rapport aux ions  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Donc pour la conductivité de la solution on aura :

$$\sigma_{\text{totale}} = \sigma_{\text{Li}^+} + \sigma_{\text{CH}_3\text{CO}_2^-} + \sigma_{\text{H}_3\text{O}^+}$$

La constante de la cellule K vaut :

$$K = \frac{L}{S} = \frac{1.10^{-3}}{1.10^{-6}} = 1.10^3 \text{ m}^{-1}$$

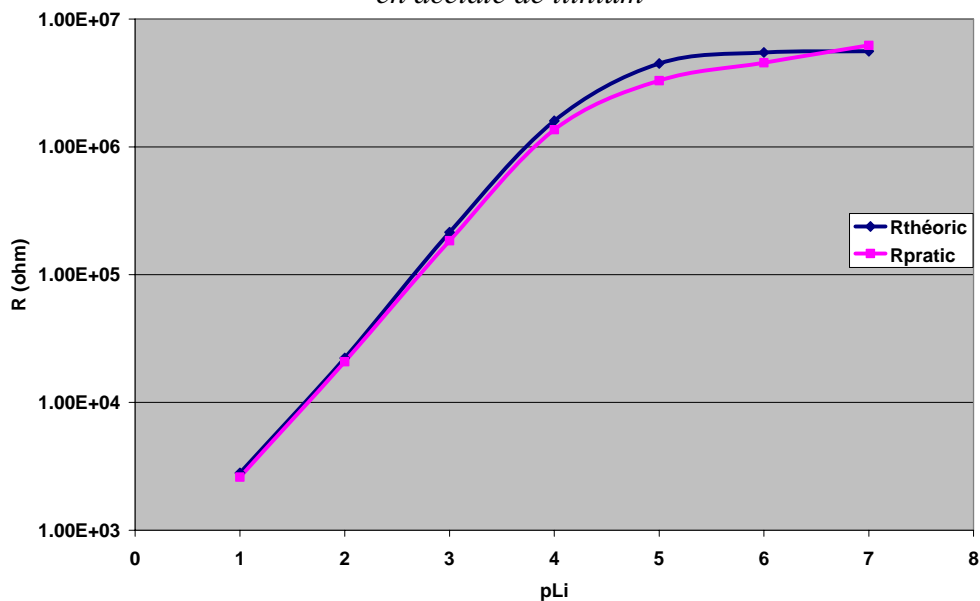
Donc la résistance de la solution sera :

$$R = \frac{L}{\sigma_{\text{totale}} \cdot S} = \frac{K}{\sigma_{\text{totale}}} = \frac{1.10^3}{\sigma_{\text{totale}}}$$

Le tableau 2.10 et la figure 2.88 représentent la résistance  $R_{\text{elec}}$  théorique et pratique en fonction de la concentration en ions lithium.

pLi	C(mol/l)	C(mol/m <sup>3</sup> )	$\sigma$ (S/m)	K(m <sup>-1</sup> )/30	$R_{\text{théoric}}$ (ohm)	$R_{\text{pratic}}$ (ohm)
7.25	5.62E-08	5.62E-05	1.78E-04	1000	5.61E+06	6.23E+06
6.25	5.62E-07	5.62E-04	1.82E-04	1000	5.48E+06	4.56E+06
5.25	5.62E-06	5.62E-03	2.23E-04	1000	4.49E+06	3.20E+06
4.25	5.62E-05	5.62E-02	6.26E-04	1000	1.60E+06	1.32E+06
3.25	5.62E-04	5.62E-01	4.65E-03	1000	2.15E+05	1.84E+05
2.25	5.62E-03	5.62E+00	4.49E-02	1000	2.23E+04	2.11E+04
1.25	5.62E-02	5.62E+01	3.56E-01	1000	2.81E+03	2.6 E+03

Tableau 2.10 : Résistance de la solution en fonction de la concentration en acétate de lithium





*Figure 2.88 : Résistance  $R_{\text{elec}}$  de la solution en fonction de la concentration en acétate de lithium*

La résistance  $R_{\text{elec}}$  varie linéairement en fonction de la concentration en ion  $\text{Li}^+$  pour des concentrations fortes ( $\text{pLi} < 4$ ) du fait que la conduction dans le liquide est assurée majoritairement par les ions  $\text{Li}^+$  et  $\text{CH}_3\text{CO}_2^-$ . Pour des concentrations plus faibles ( $\text{pLi} > 4$ ), la conduction du courant n'est plus due uniquement au ion  $\text{Li}^+$  car la concentration des ions  $\text{H}_3\text{O}^+$  est constante ( $\text{pH} = 5,3$ ) dans toutes les solutions et donc le courant engendrée par ces ions ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ) n'est plus négligeable. Par conséquent au fur et à mesure de la diminution de la concentration des ions  $\text{Li}^+$  dans la solution, la conduction du courant est due peu à peu uniquement aux ions  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Ainsi la résistance  $R_{\text{elec}}$  tend vers une valeur fixe donnée par le pH de la solution.

### **II.2.2 Choix de l'électrode de référence**

Dans un deuxième temps, nous avons rajouté une troisième électrode faisant office d'électrode de référence. Pour cela, nous avons comparé deux types d'électrode, une étant une électrode de référence commerciale classique Ag/AgCl, l'autre étant le troisième plot d'or de la microélectrode (voir partie II chapitre I). Comme le montre la figure 2.90, les améliorations apportées par une troisième électrode de référence sont négligeables tant que les tensions restent faibles. Par contre, dès que la tension est supérieure à 1 V, le courant devient conséquent, due à un transfert de charge important faisant fluctuer le potentiel de la solution au niveau des deux électrodes. Le potentiel de l'électrode de travail étant fixé à la masse, c'est le potentiel autour de la contre électrode qui n'est plus fixe. Cette troisième électrode qui n'est pas traversée par un courant, permet de fixer le potentiel de la solution par rapport à l'électrode de travail (figure 2.89).

Afin de vérifier le comportement du capteur avec cette troisième électrode en or, nous avons effectué une mesure comparative en spectroscopie d'impédance et en voltampérométrie cyclique. C'est pour cela, nous avons comparé la réponse du capteur sans électrode de référence (système à deux électrodes), avec une électrode de référence commerciale Ag/AgCl et avec la troisième électrode en or. Les mesures ont été réalisées dans des solutions de  $\text{KH}_2\text{PO}_2$  décimolaire ( $\text{pK} = 1$ ) [31].

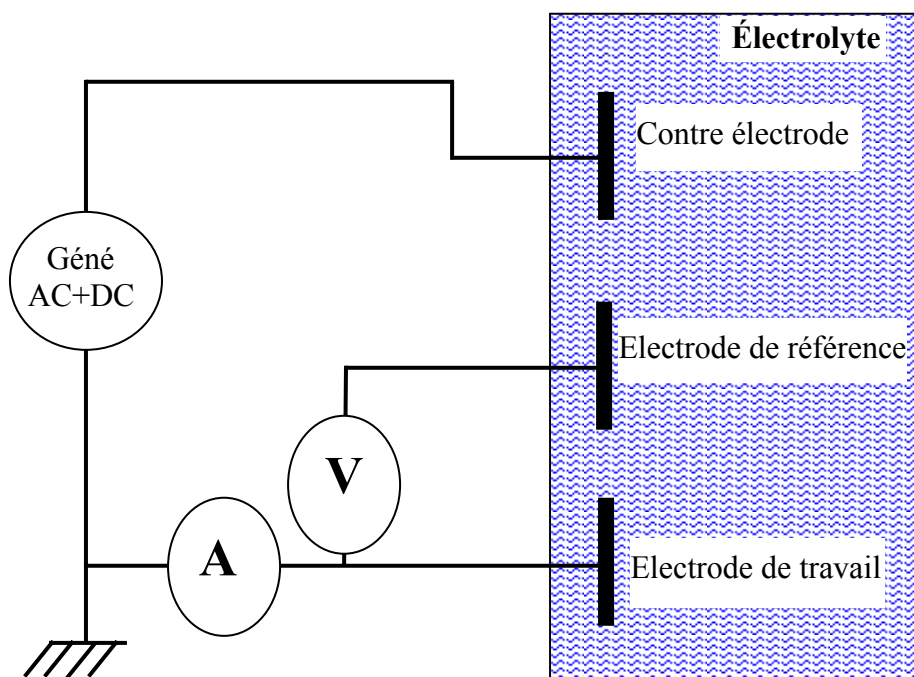


Figure 2.89 : Schéma de câblage à trois électrodes

Les fréquences vont de 1MHz à 10 Hz avec une tension alternative de 10 mV et une tension continue nulle (figure 2.90).

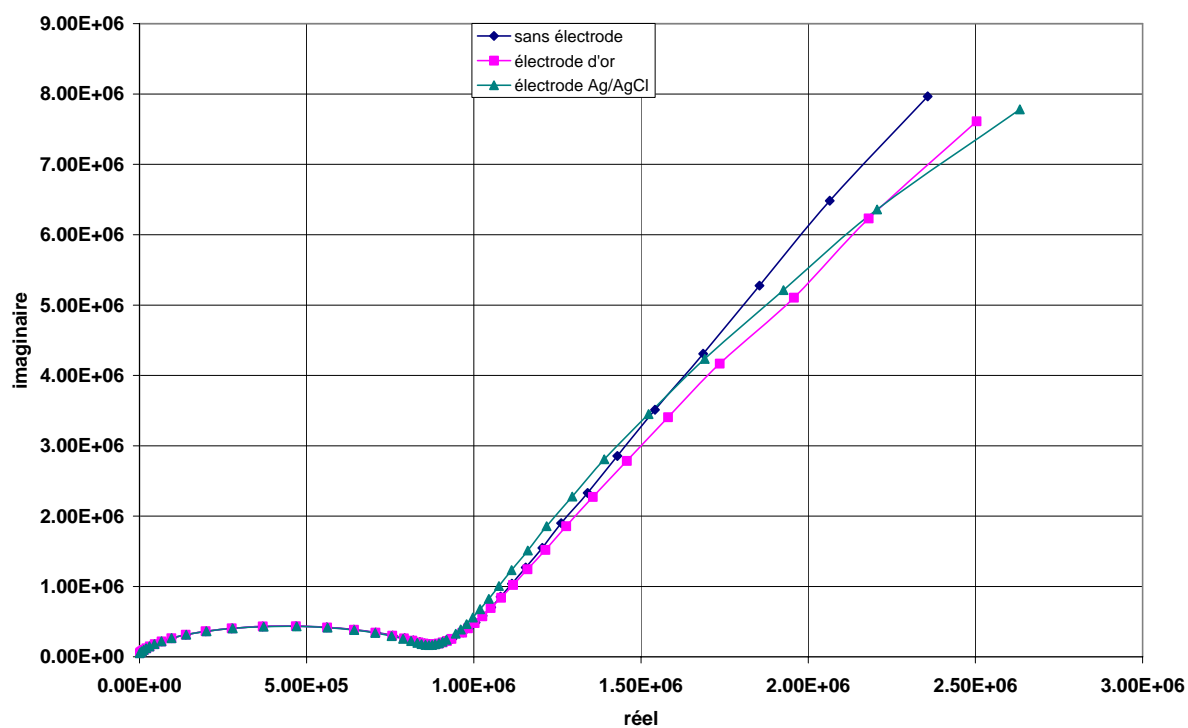
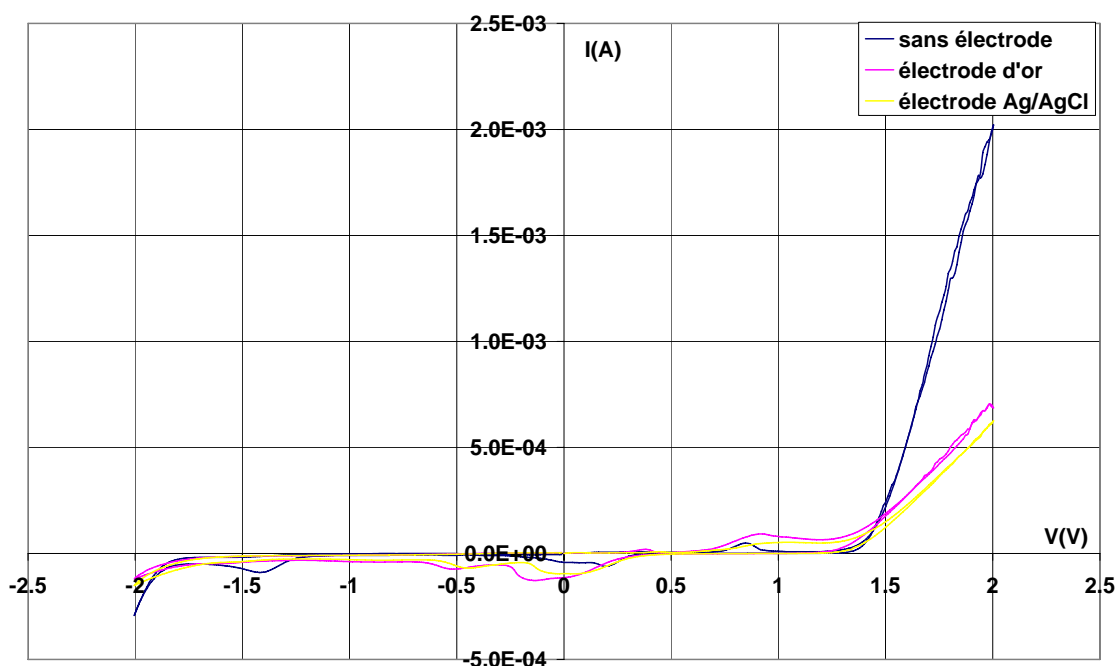


Figure 2.90 : Effet de l'électrode de référence sur les caractéristiques d'impédances ( $V_{cont}=0$ )

La réponse de la microélectrode avec et sans électrode de référence spécifique est identique car les tensions mises en jeu (10mV) restent faibles. Par conséquent, les courants traversant la contre électrode ont une influence très faible à l'interface électrode/électrolyte permettant ainsi à la contre électrode de pouvoir agir simultanément comme une électrode de référence et une contre électrode.

Pour le diagramme de voltampérométrie cyclique, la rampe de tension balaye les potentiels de -2 V à +2 V en démarrant et finissant à 0V avec une vitesse de 200 mV/s (figure 2.91).



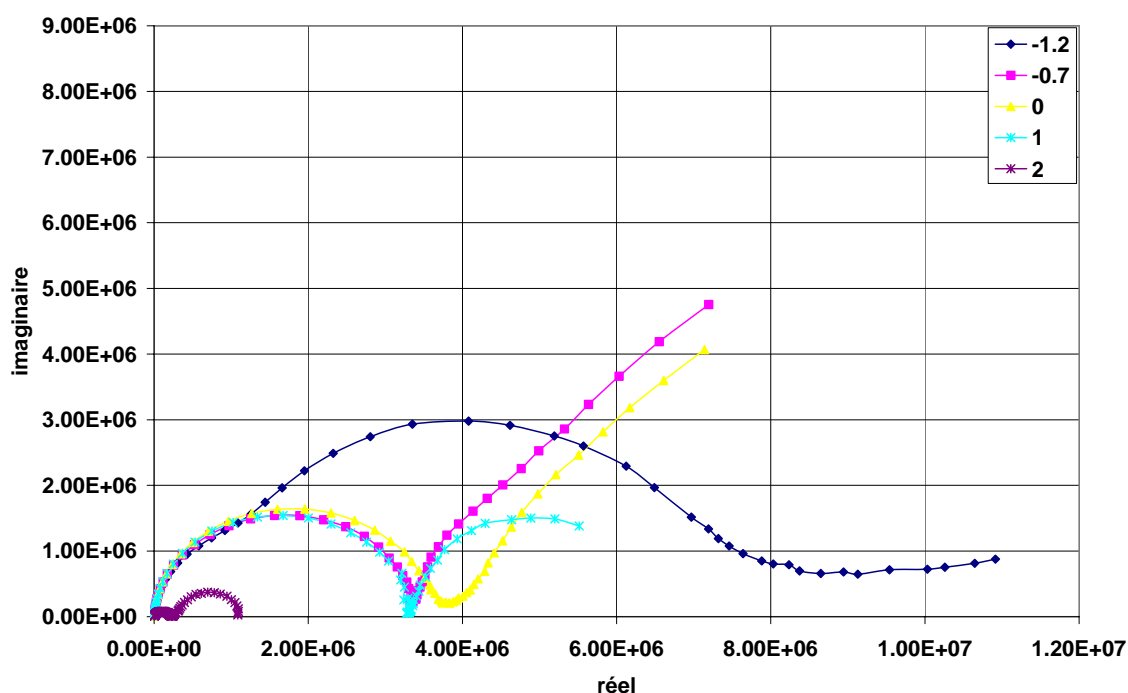
*Figure 2.91 : Effet de l'électrode de référence sur les caractéristiques de voltampérométrie cyclique*

Les réponses de la microélectrode avec une électrode de référence Ag/AgCl ou en or sont quasiment identiques. Par contre, la réponse sans électrode de référence spécifique engendre des courants beaucoup plus importants à partir du potentiel d'oxydation du solvant (eau) avec l'or. L'oxydation de l'eau en  $O_2$  est amplifiée par le passage du courant dans cette électrode rendant ainsi la solution plus conductrice. Par conséquent l'utilisation d'une électrode de référence est nécessaire pour la suite des caractérisations [32]. En outre, vu les résultats similaires entre l'électrode Ag/AgCl et notre électrode en or, nous pouvons valider notre électrode d'or comme électrode de référence.

De plus, afin de confirmer ces résultats en impédance et en voltamétrie, nous avons effectué des mesures similaires avec des concentrations différentes et dans d'autres solutions ( $\text{LiCH}_3\text{CO}_2$ ,  $\text{KCl}$ ,  $\text{KOH}$ ).

### II.2.3 Effet de la tension de polarisation

Afin de déterminer l'influence de la tension de polarisation sur les réponses fréquentielles des microélectrodes, nous avons balayé la tension continu de +2 V à -2 V.



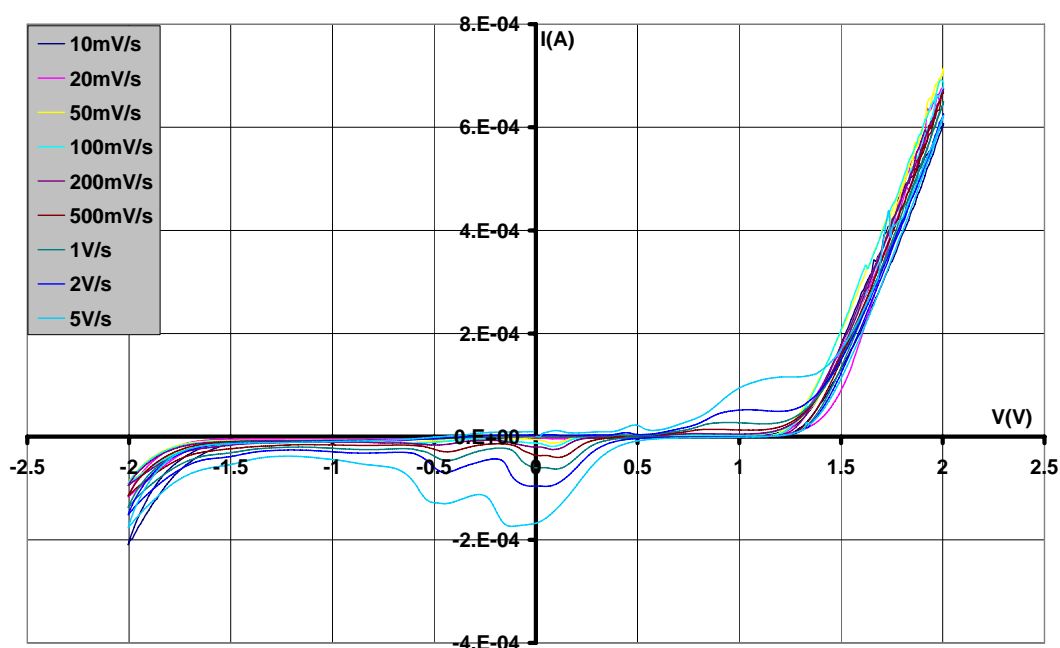
*Figure 2.92 : Effet de la tension de polarisation sur la réponse des microélectrodes*

La solution utilisée ici est de l'acétate de lithium ( $\text{pLi} = 3$ ). Les fréquences vont de 1 MHz à 10 Hz avec une tension alternative de 10 mV. Comme le montre la courbe de réponse des microélectrodes (figure 2.92), les effets de la tension continue sur la réponse fréquentielle du capteur ne sont pas négligeables. Cette disparité en fonction de la tension est due aux effets d'oxydoréduction qui sont exacerbés pour certaines tensions. A +2 V, nous sommes au-delà de la barrière de potentiel d'oxydation du solvant rendant la solution bien moins résistive. Par conséquent, la solution à + 2V est plus conductrice, de ce fait l'impédance du système est plus faible. Inversement à - 1,2V, nous sommes à un potentiel où il n'y a que peu de réactions aux électrodes ainsi l'impédance du système est plus grande. Des mesures similaires ont été

réalisées dans les solutions ayant des concentrations différentes et dans des solutions de  $\text{KH}_2\text{PO}_2$ .

### II.2.4 Effet de la vitesse de balayage

Le fait de travailler à des vitesses de balayage en tension différentes permet d'amplifier ou d'atténuer certains pics de courants. La solution utilisée lors de cette caractérisation est une solution saturée en  $\text{LiCH}_3\text{CO}_2$  ( $5 \cdot 10^{-1} \text{ mol/L}$ ) dans laquelle la concentration en  $\text{KH}_2\text{PO}_2$  varie de  $\text{pK} = 1$  à  $\text{pK} = 7$  (ici  $\text{pK} = 3$ ). Les vitesses de balayage vont de  $10 \text{ mV/s}$  à  $5 \text{ V/s}$ .



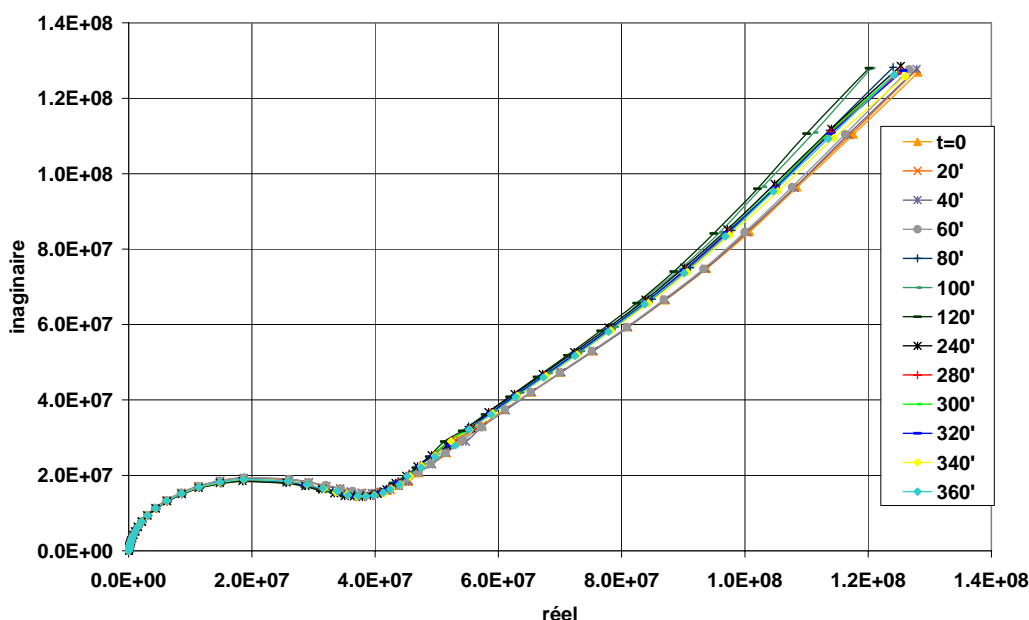
*Figure 2.93 : Courbe voltampérométrique, effet de la vitesse de balayage en tension sur la réponse des microélectrodes*

Ces pics sont dus à une oxydation ou à une réduction des éléments électroactifs contenus dans la solution [33]. Comme le montre la figure 2.93, plus la vitesse de balayage est importante, plus les pics de courant le sont aussi. Le pic à  $-0,5\text{V}$  correspond à la réduction de l'oxygène dissous, alors que les pics à  $+1,1\text{V}$  et à  $0\text{V}$  correspondent à l'oxydoréduction du lithium. Ces deux substances électroactives sont des systèmes réactionnels relativement lents lorsque la vitesse de balayage devient conséquente. De plus l'amplitude de ces pics de courant est proportionnelle à la racine carrée de la vitesse de balayage en tension (voir partie I chapitre I équation 29). C'est pour cela que le courant des pics augmente fortement avec la

vitesse de balayage en tension. Les pics de courant dus à l'oxydoréduction du potassium ne sont pas visibles ici car ils sont au-delà de la barrière de potentiel du solvant.

### II.2.5 Dérive temporelle

Lors des études fréquentielles avec des électrodes en métal inoxydable fixe, le courant de conduction est essentiellement dû à la diffusion. Une fois la couche de diffusion (couche de Nernst) établie, le système se trouve en régime de diffusion stationnaire. Ces mesures ont été réalisées dans une solution saturée d'acétate de lithium avec de l'hypophosphite de potassium à  $pK=5$ . La tension continue est nulle et la tension alternative a été fixée à 10 mV pour des fréquences qui varient de 1 MHz à 0,1Hz.



*Figure 2.94 : Courbe d'impédancemétrie, effet de la vitesse de balayage en tension sur la réponse des microélectrodes*

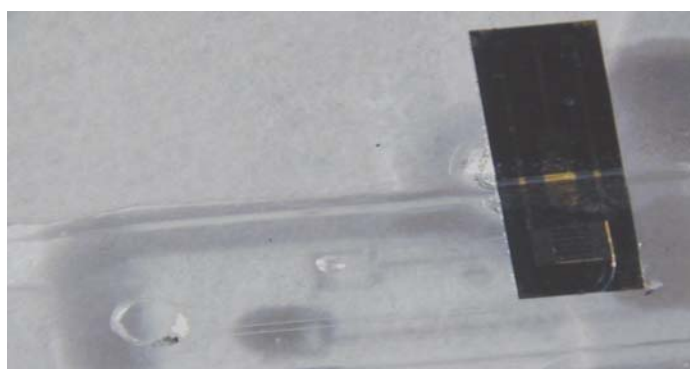
Le temps d'établissement de cette couche de diffusion est assez court (inférieur à 20 min), par conséquent le système devient stable rapidement. Comme le montre la figure 2.94, la dérive du système sur une durée de 6 heures est très faible. Le calcul des différentes valeurs des éléments du schéma équivalent électrique (figure 2.86) ainsi que les écarts types de valeurs sont donnés dans le tableau 2.11. Les écarts types sont au maximum de 1 % au bout de 6 heures.

		A $t = 0$	Au bout de 6H	Ecart type
$R1_{int}$		$4,16.10^8$	$4,17.10^8$	0,24 %
$Z_{Q1_{int}}$	Q	$1,29.10^{-8}$	$1,31.10^{-8}$	0,8 %
	n	1	1	
$R_{elec}$		$7,63.10^7$	$7,61.10^7$	0.4 %
$Z_{Qelec}$	Q	$4,46.10^{-9}$	$4,48.10^{-9}$	0.94 %
	n	0,85	0,88	
$R2_{int}$		$6,36.10^7$	$6,41.10^7$	0.73 %
$Z_{Q2_{int}}$	Q	$8,65.10^{-11}$	$8,58.10^{-11}$	0.81 %
	n	0.956	0.9	

Tableau 2.11 : les valeurs des composants du schéma équivalent électrique à  $t = 0$  et au bout de 6H

### **II.2.6 Effet du travail en microvolume**

Afin de voir les effets dus au travail avec des petites quantités de liquides, nous avons caractérisé les microélectrodes dans des microvolumes. Pour ce faire, nous avons reporté les microcuvettes en PDMS sur les microélectrodes (figure 2.95). L'encapsulation des microélectrodes dans le PDMS a été faite de la même manière que pour les ChemFETs (voir partie II chapitre I). Ces mesures ont été effectuées sur le banc de mesure sous pointe auquel il a été connecté l'impédancemètre PGSTAT30. Les premiers résultats des caractéristiques en impédance ont été similaires aux résultats trouvés pour des volumes plus importants. Néanmoins le fait de travailler avec le testeur sous pointe ne nous permet pas de travailler dans une cage de Faraday. Par conséquence, à base fréquence ( $f < 100$  Hz) les résultats sont très bruités, dû au fait que l'impédance globale du système devient importante. Ainsi les courants mesurés sont faibles et donc nous ne mesurons plus que des courants du bruit. Des mesures plus précises devront être réalisées avec des composants reportés sur des circuits imprimés.



*Figure 2.95 : Photo d'une microélectrode avec la microcuve en PDMS*

### **II.3. Caractérisation des microélectrodes or-PSX\***

Après avoir étudié la réponse des microélectrodes avec des électrodes uniquement en or, nous pouvons venir déposer à la surface de l'électrode de travail une couche de polysiloxane dans laquelle a été incorporée de la valinomycine (ionophore sensible aux ions potassium). Le fait de venir fonctionnaliser une des électrodes doit permettre au capteur d'être sélectif à un seul élément contenu dans la solution à analyser (ici aux ions potassium). Dans un premier temps, le dépôt a été réalisé par dépôt à la tournette afin obtenir des couches ionosensibles aux ions  $K^+$  identiques à celles déposées sur les ChemFETs. Ces couches sensibles, qui ont une épaisseur de 10  $\mu m$ , sont bien adaptées pour les ChemFETs car aucun courant n'y circule. Néanmoins pour les microélectrodes dont le principe de détection est régi par des réactions d'oxydoréduction dues au passage du courant, ces couches sensibles épaisses de polysiloxane deviennent isolantes ( $R > 10\ G\Omega$ ) pour des fréquences inférieures à 1 KHz. Ainsi, les courants qui en découlent sont très faibles et sont difficilement mesurables par l'impédancemètre. A partir de ce constat, nous avons diminué l'épaisseur des couches sensibles jusqu'à une centaine de nanomètres toujours par dépôt à la tournette. Afin d'atteindre ces épaisseurs, nous avons dilué progressivement le PSX\* dans du THF (tétrahydrofur) jusqu'à obtenir une concentration volumique  $C_0 = 11\ \%$ . Cette concentration  $C_0$  est la dilution maximum du polysiloxane dans le THF pour laquelle la couche de polymère reste homogène sur la plaquette après réticulation. La figure 2.96 représente l'épaisseur déposée sur une plaquette de PSX\* avec une concentration de polymère dans le THF de  $C_0 = 11\ \%$  en fonction du temps d'insolation pour différentes vitesses de dépôt. Nous pouvons voir que le temps d'insolation pour une réticulation totale de la couche de PSX déposée sur la plaquette est de 80s au lieu des 200s pour les couches épaisses.



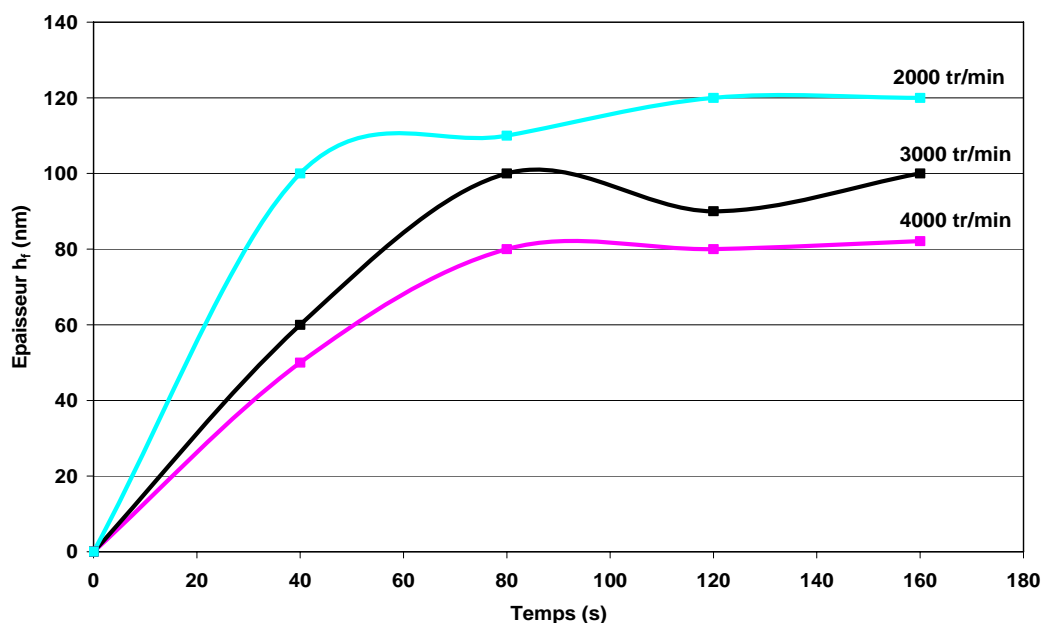


Figure 2.96 : Epaisseur  $h_f$  en fonction du temps d'insolation pour différentes vitesses de dépôt

Après avoir réalisé ces couches fines, nous avons caractérisé ces microélectrodes- $K^+$  avec ces couches minces de PSX\* dans des solutions de  $KH_2PO_2$  pour des concentrations de  $10^{-1}$  mol/L à  $10^{-7}$  mol/L (figure 2.97). Toujours pour ne pas avoir des mesures d'impédance trop importantes, nous nous sommes limités à des fréquences qui vont de 1 MHz à 100 Hz avec une tension alternative de 10 mV. De plus, nous avons comparé ces caractéristiques à celles obtenues sans les couches ionosensibles (or-or) dans la même gamme de fréquence.

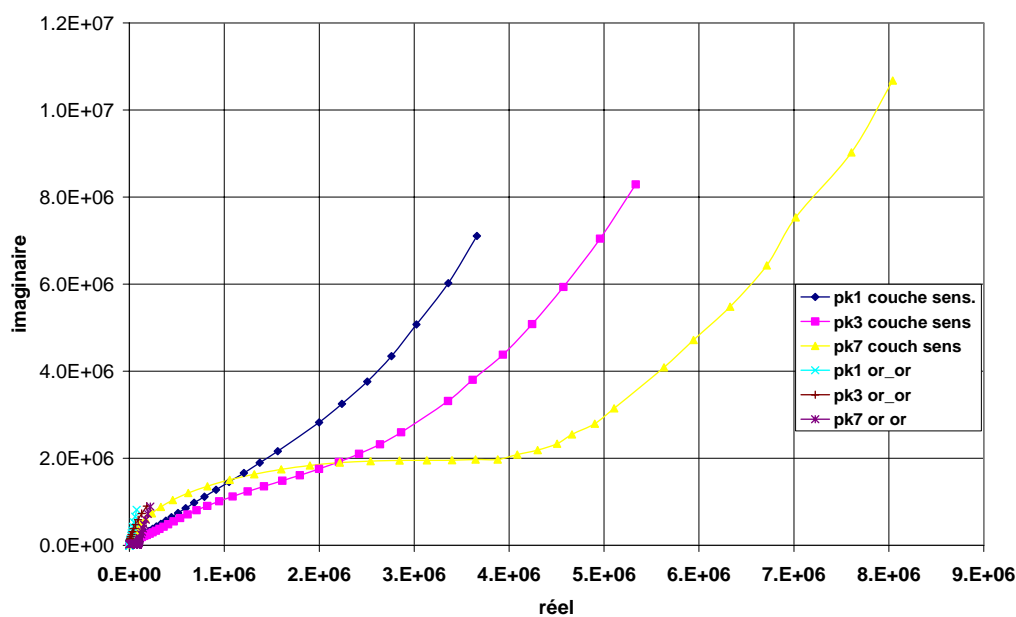


Figure 2.97 : réponse d'une microélectrode sensible aux ions  $K^+$  dans différentes solution de  $KH_2PO_2$  et comparaison avec la réponse sans couche sensible.

Ensuite afin de vérifier la sélectivité des microélectrodes- $K^+$  aux ions potassium, nous avons comparé la réponse en présence d'autres ions tels que les ions lithium pour lesquels la valinomycine a très peu d'affinité. Ainsi, nous avons mis la microélectrode dans des solutions de  $LiCH_3CO_2$  et de  $KCl$  dont les concentrations respectives en ion  $Li^+$  et  $K^+$  varie de  $10^{-1}$  à  $10^{-6}$  (figure 2.98 et 2.99). Les fréquences vont de 1MHz à 10Hz avec une amplitude de 10mV.

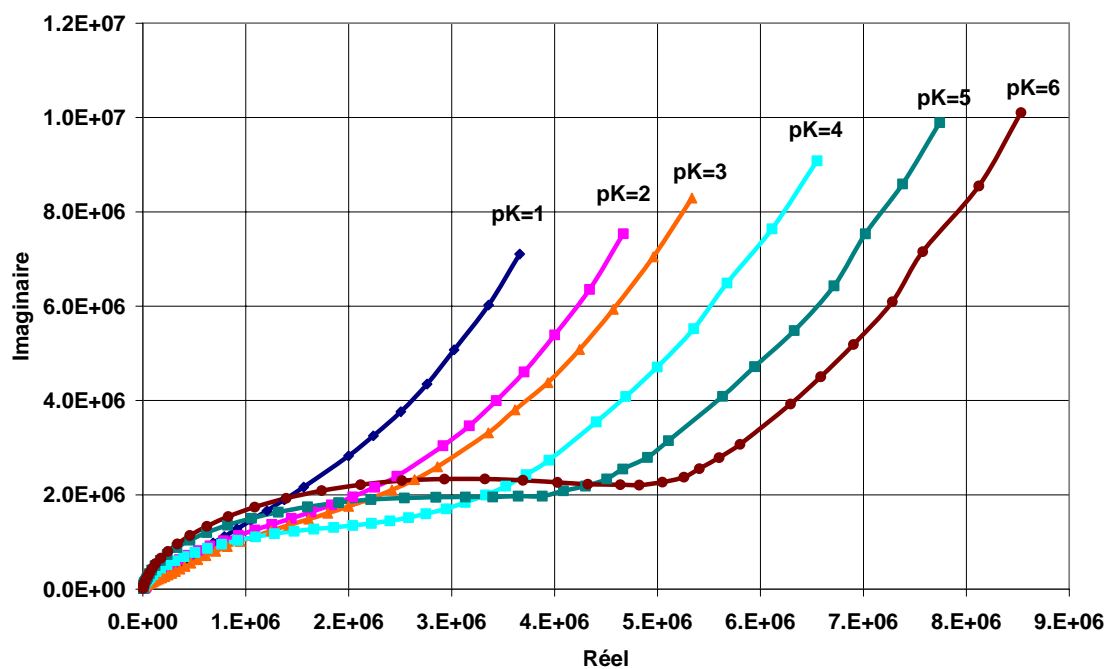


Figure 2.98 : réponse d'une microélectrode- $K^+$  pour différentes concentrations de potassium.

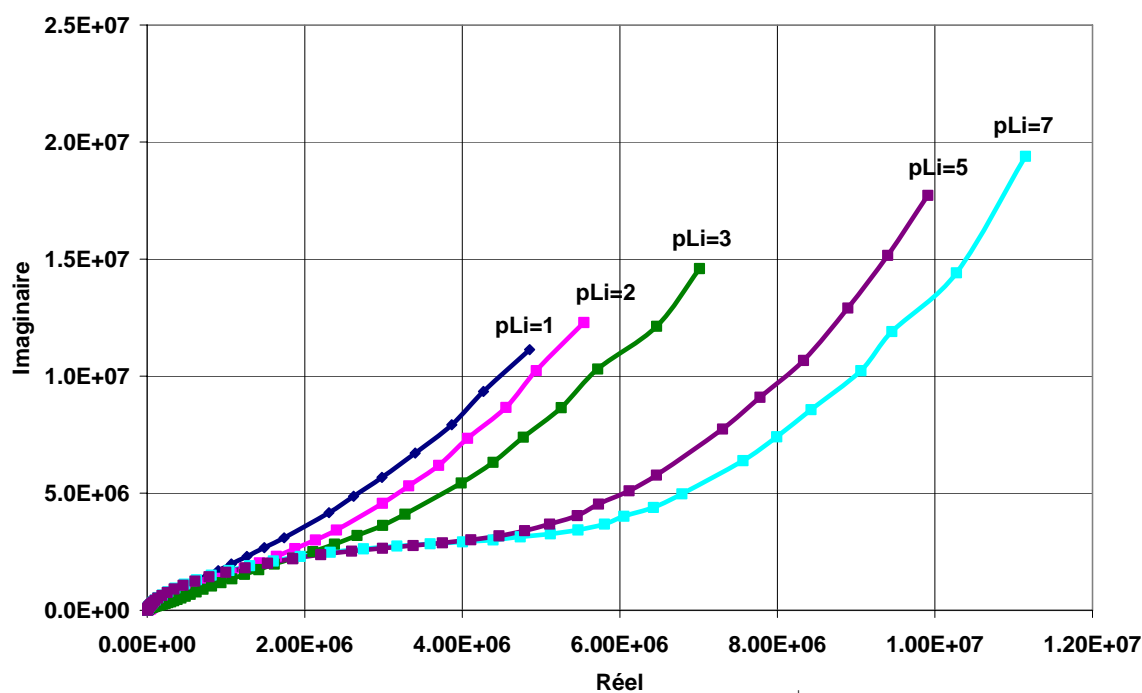


Figure 2.99 : réponse d'une microélectrode- $K^+$  pour différentes concentrations de lithium

L'analyse des résultats nous a conduit au schéma équivalent électrique donné figure 2.100. La sensibilité du capteur est régie par la conductance  $Y_{psx} = 1/R_{psx}$  qui varie en fonction de la concentration en ions. La sensibilité aux ions  $K^+$  et  $Li^+$  est similaire. La faible sélectivité du capteur entre ces deux ions peut s'expliquer par le fait que le PSX\* est traversé par un courant, celui-ci atténuant les effets de la valinomycine.

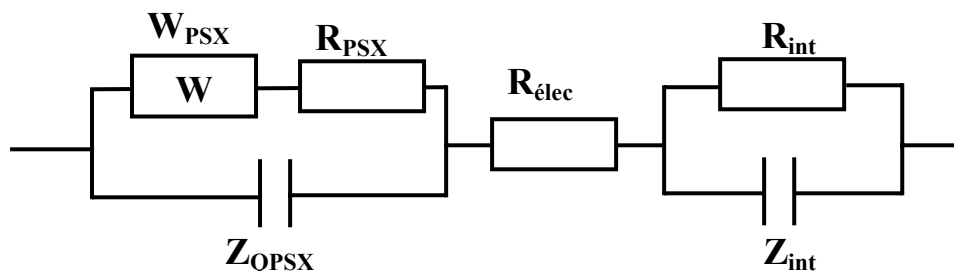


Figure 2.100 : Schéma électrique équivalent des microélectrodes- $K^+$

- $R_{psx}$ ,  $Z_{QPSX}$ ,  $W_{psx}$  sont la résistance, l'élément à constante de phase et l'élément de Warburg de la couche de polysiloxane.
- $R_{int}$ ,  $Z_{Qint}$  sont la résistance et l'élément à constante de phase de l'interface Or-électrolyte.
- $R_{élec}$  est la résistance de l'électrolyte.

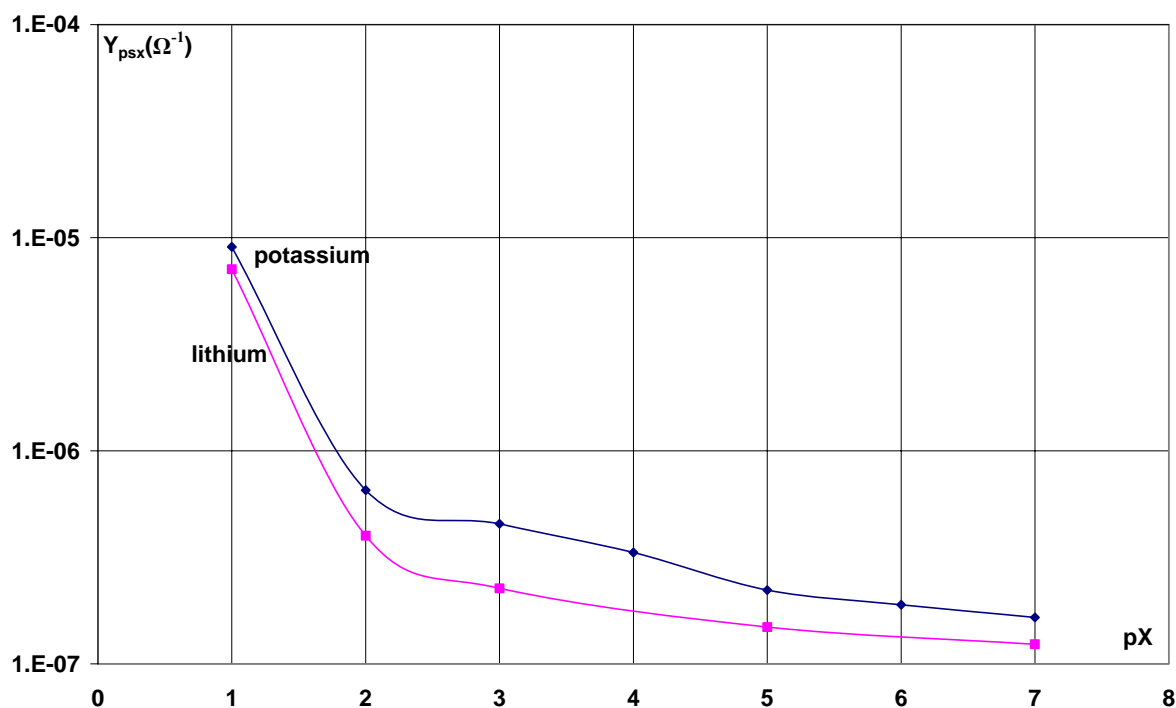


Figure 2.101 : conductance  $Y_{psx}$  en fonction de la concentration en ions  $K^+$  et  $Li^+$

## **II.4. Conclusion**

Dans ce paragraphe, nous avons analysé dans un premier temps la réponse des microélectrodes câblées à deux électrodes. De ces résultats, nous avons déduit un schéma électrique équivalent et ainsi nous avons pu analyser la variation de la résistance de l'électrolyte suivant la variation de la concentration en acétate de lithium dans la solution et nous l'avons comparée à la théorie. Dans un deuxième temps, nous avons étudié la réponse des microélectrodes câblées à trois électrodes par comparaison des courbes d'impédance et des courbes  $I(V)$ . Nous avons donc analysé les réponses pour différentes électrodes de référence, différentes tensions continues, différentes vitesses de balayage ( $I(V)$ ) et dérives temporelles (impédance). Enfin, nous avons caractérisé les microélectrodes fonctionnalisées avec du PSX\* pour la détection des ions potassium. Ainsi, après réalisation d'un schéma électrique équivalent, nous avons montré la variation de la résistance de la couche ionosensible en PSX\* en fonction de la variation en ions  $K^+$  dans la solution. Nous avons montré également que l'effet de sélectivité de ces couches dû aux ionophores était fortement atténué.

## **II.5. Autres caractérisations des microélectrodes**

Les microélectrodes ont été utilisées pour d'autres applications via des collaborations avec d'autres laboratoires. Ces collaborations ont porté sur la détection d'ions lourds avec le laboratoire de chimie inorganique de Toulouse (LCI-UPS) et sur le diagnostic du paludisme avec le laboratoire de pharmacie de Toulouse (UMR 152). La réalisation de ces capteurs à base de microélectrodes s'est effectuée en répartissant les différentes étapes suivant les compétences de chacun. Les étapes de fonctionnalisation et de caractérisation ont été réalisées par les laboratoires de chimie et de pharmacie, et, pour notre part, nous avons procédé à la fabrication des microélectrodes et au traitement des données.

### **II.5.1 Détection d'ions lourds**

Les microélectrodes utilisées pour ces applications sont celles dont les électrodes en or sont recouvertes par un oxyde de silicium ( $SiO_2$ ) de 22 nm déposé par LPCVD (voir partie II chapitre I). Cette couche est nécessaire par l'accroche des couches sensibles. Elle est

volontairement très fine pour éviter d'avoir une résistance globale équivalente du système trop importante qui entraînerait des courants trop faibles difficilement exploitables. Les couches sensibles ont été greffées selon la méthode de Walcarius par le LCI-UPS [34]. Ces couches sont des groupes amines complexant les ions métalliques d'argent ( $\text{Ag}^+$ ). Le principe de détection est le suivi de la variation de l'impédance en fonction de la concentration d'ion  $\text{Ag}^+$  car les amines forment des complexes stables avec les ions  $\text{Ag}^+$ . Les solutions utilisées pour la caractérisation sont préparées avec du  $\text{KNO}_3$  à 0,1 mol/L dans laquelle sont ajoutés les ions  $\text{Ag}^+$  ( $\text{AgNO}_3$ ) à des concentrations croissantes de  $10^{-6}$  mol/L à  $10^{-3}$  mol/L. Les mesures sont de type impédancemétrique réalisées avec un micro-Autolab. L'analyse des courbes d'impédance (figure 2.103) a conduit à un schéma équivalent suivant (figure 2.102).

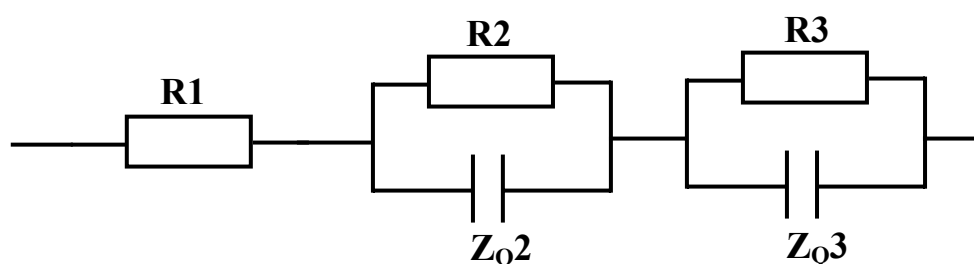


Figure 2.102 : Schéma équivalent des microélectrodes  $\text{Ag}^+$

- $R1$  est la résistance de l'électrolyte. Elle est faible (autour du kilo ohm) car nous travaillons en solution saturée en  $\text{KNO}_3$ .
- $R2$ ,  $Z_{Q2}$  sont la résistance et l'élément à constante de phase de la bicouche (couche d'amine et couche de diffusion)
- $R3$ ,  $Z_{Q3}$  sont la résistance et l'élément à constante de phase de la couche de  $\text{SiO}_2$ .

La résistance  $R2$  varie proportionnellement avec la concentration d'ion  $\text{Ag}^+$  (figure 2.104). En effet plus la concentration de l'ion  $\text{Ag}^+$  est élevée, plus la bicouche est chargée. Il en résulte que sa conductivité augmente. La résistance  $R3$  varie également en fonction de la concentration mais dans une moindre mesure, ce qui implique donc que la couche de  $\text{SiO}_2$  est poreuse aux ions  $\text{Ag}^+$ .

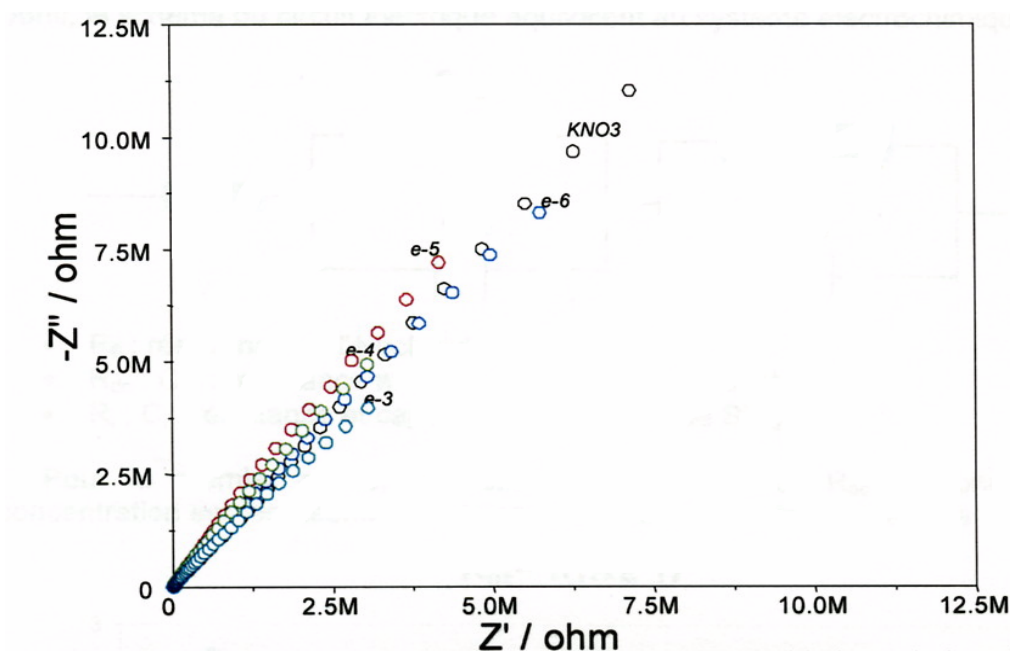


Figure 2.103 : Diagramme d'impédance en fonction de la concentration d'ions  $\text{Ag}^+$

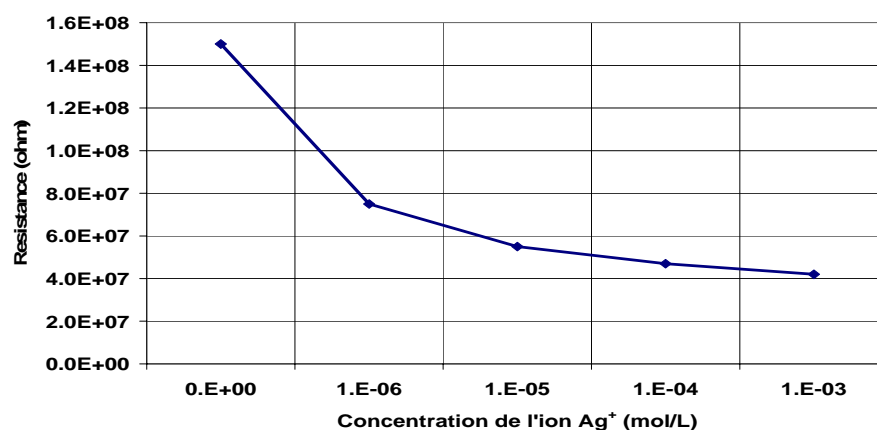


Figure 2.104 : Résistance  $R_2$  en fonction de la concentration d'ions  $\text{Ag}^+$

### II.5.2 Détection du paludisme

Les microélectrodes utilisées pour cette application ont été réalisées sur substrat de pyrex. Le dépôt de la double couche Ti/Au a été optimisé pour être semi-transparente permettant ainsi de compter sous microscope le nombre de globules rouges fixés à la surface de la microélectrode. La surface d'analyse des microélectrodes a été délimitée par la réalisation de cavités en PSX de hauteur 100  $\mu\text{m}$  (voir partie II chapitre I). La fonctionnalisation des surfaces d'or qui consiste à venir déposer une couche de thiols est réalisée par les techniques de dépôt Langmuir-Blodgett à la faculté de pharmacie de Toulouse (UMR 152). Ces thiols permettent d'établir une monocouche auto-assemblée servant

d'accroche à la couche sensible de polylysine déposée à la microgoutte. La polylysine réticule à l'air ambiant par évaporation du solvant. La mesure est ensuite réalisée dans un milieu biologique contenant des globules rouges.

La détection du paludisme dans le sang se fait par la détection du stress oxydant du globule rouge parasité par le *Plasmodium falciparum*. Ce stress se traduit par le gonflement de la cellule parasité puis par un déchirement de la membrane cellulaire créant ainsi une variation de l'impédance à la surface de l'électrode fonctionnalisée. Comme le montre la figure 2.105, la variation de l'impédance est très significative. L'analyse des résultats nous a conduit au même schéma électrique équivalent que pour la détection d'ions  $Ag^+$ . Ainsi la résistance  $R_2$  varie d'un rapport 20 entre les milieux d'analyses contenant des globules rouges parasités et non parasités.

- $R_1$  est la résistance de l'électrolyte. Sa valeur est faible (quelques kilo-ohms) car nous travaillons dans des solutions biologiques qui contiennent de nombreux sels qui permettent de garder les globules rouges en bon état par conséquent, la solution est peu résistive.
- $R_2$ ,  $Z_{Q2}$  sont la résistance et l'élément à constante de phase de la couche de polylysine
- $R_3$ ,  $Z_{Q3}$  sont la résistance et l'élément à constante de phase de la monocouche de thiol.

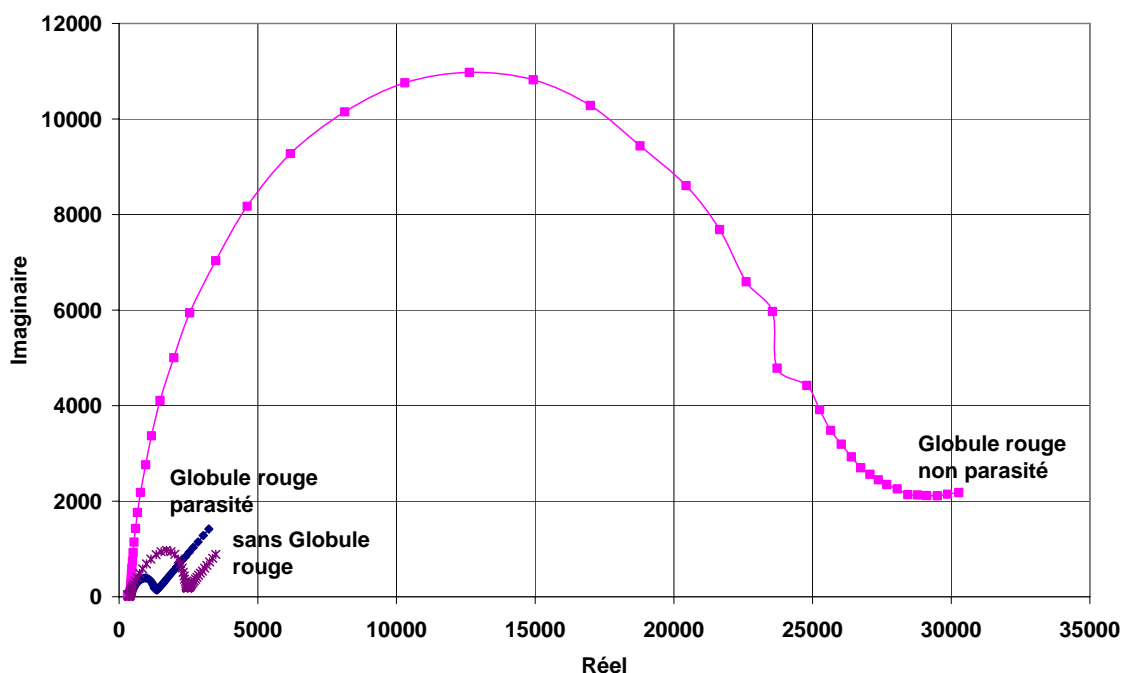


Figure 2.105 : réponse d'une microélectrode au *plasmodium falciparum*

### **II.5.3 Conclusion**

Les travaux réalisés dans ce dernier paragraphe sont dans leur phase initiale. Les microélectrodes fonctionnalisées avec des amines nous ont permis la détection des ions lourds  $\text{Ag}^+$ , à travers la variation de la résistance équivalente de la couche d'amine. Néanmoins, le relargage des ions piégés par les amines pose des problèmes qui devraient être résolus par l'utilisation de couches sensibles à base d'éther-couronne. Les microélectrodes fonctionnalisées par la bicouche thiol/polylysine ont montré une grande sensibilité aux globules rouges parasités par le Plasmodium Falciparum. Des études complémentaires vont être réalisées afin de pouvoir quantifier le nombre de globules rouges parasités dans un échantillon donné.

## **III. Conclusion**

Dans ce chapitre nous avons présenté les principales caractérisations des microcapteurs ChemFETs et microélectrodes. Tout d'abord nous avons caractérisé électriquement et chimiquement les structures pH-ISFETs. Leur sensibilité est quasi nernstienne autour de 50 mV/pH. Nous avons également montré la potentialité des ChemFETs à fonctionner dans un système fluide en créant des variations de pH.

Nous avons intégré ces différents microcapteurs dans un pseudo système microfluidique permettant des mesures en microvolume. De plus, nous avons mis en évidence le bon comportement des pH-ISFETs en présence de bactéries avec différents sucres. A partir de cela, nous avons comparé notre dispositif expérimental aux tests habituellement utilisés pour l'identification de souches bactériennes. Nous avons mis en évidence les principaux avantages des microcuvettes par rapport aux techniques classiques qui portent essentiellement en un gain de temps.

Nous avons montré les possibilités d'adaptation des ChemFETs à la détection des ions potassium. Nous avons effectué la caractérisation de ces pK-ISFETs avec des membranes déposées par les techniques de photolithographie et par microgoutte. Les résultats montrent la faisabilité du procédé de la fabrication collective des membranes ionosensibles. La sensibilité est autour de 43 mV/pK.



Nous avons de plus montré les potentialités des capteurs microélectrodes pour différentes applications. Egaleme nt nous avons présenté des couches sensibles en PSX\* qui sont bien adaptées pour les ChemFETs et qui le sont moins pour les microélectrodes. Enfin nous avons démontré à travers des schémas équivalents électriques que certains composants variaient avec la concentration de l'éléme nt à détecter permettant aussi d'obtenir de bonnes sensibilités de détection.

## Références bibliographiques

- [1] I. Humenyuk  
“Développement des microcapteurs CHEMFETs pour l’analyse de l’eau”, *Thèse INSA Toulouse*, 2005
- [2] W.Sant  
“Développement des microcapteurs chimiques CHEMFETs pour des applications à l’hémodialyse”, *Thèse Université Paul Sabatier Toulouse*, 2003
- [3] B. Hajji  
“Réalisation technologique des capteurs chimiques ISFET : étude des oxynitrures de silicium en tant que grille ionosensible”, *Thèse Université Paul Sabatier Toulouse*, 1999
- [4] Enju Wang, Lin Zhu, Leanne Ma, Hema Patel  
“Optical sensor for sodium, potassium and ammonium ions based on lipophilic fluorescein anionic dye and neutral carriers”, *Analytica Chimica Acta*, 357, 1997, Pages 85-90
- [5] [http://www.mst.dk/udgiv/publications/2005/87-7614-756-8/html/helepubl\\_eng.htm](http://www.mst.dk/udgiv/publications/2005/87-7614-756-8/html/helepubl_eng.htm)
- [6] SARA THORSLUND  
“Microfluidics in Surface Modified PDMS”, *Acta Universitatis Upsaliensis, Digital Comprehensive Summaries of Uppsala dissertations from the Faculty of Science and Technology* 241
- [8] M.L. Pourciel-Gouzy, W. Sant, I. Humenyuk, L. Malaquin, X. Dollat, P. Temple-Boyer  
“Development of pH-ISFET sensors for the detection of bacterial activity”, (2004), *In Press, Corrected Proof, Sens. Actuators B*
- [9] M-L. Pourciel-Gouzy  
“Développement d’interfaces adaptées aux analyses biochimiques et biologiques – Application aux capteurs chimiques CHEMFETs”, *Thèse INSA Toulouse*, 2004
- [10] A.M. Hynes, H. Ashraf, J.K. Bhardwaj, J. Hopkings, I. Johnston, J.N. Shepherd.  
“Recent advances in silicon etching for MEMS using the ASE process”, *Sensors and Actuators, Volume 74, Issue 1-3*, 1999
- [11] J.K. Bhardwaj, H. Ashraf.  
“Advances silicon etching using high density plasmas”, *Proceeding SPIE Micromachining and Microfabrication Process Technology, Volume 2639*, 1995, Pages 224-233
- [12] B.Torbiero  
“Développement des capteurs chimiques à effet de champ : études des techniques de photolithographie pour la fabrication des couches ionosensibles”, *Rapport DEA INP Toulouse*, 2003
- [13] Yingzi Fu, Ruo Yuan, Lan Xu, Yaqin Chai, Xia Zhong and Dianping Tang  
“Indicator free DNA hybridization detection via EIS based on self-assembled gold nanoparticles and bilayer two-dimensional 3-mercaptopropyltrimethoxysilane onto a gold substrate”, *Biochemical Engineering Journal, Volume 23, Issue 1*, 2005, Pages 37-44

- [14] J.J. Gooding, F. Mearns, W. Yang and J. Liu  
“Self-Assembled Monolayers into the 21st Century: Recent Advances and Applications”, *Electroanalysis*, Volume 15, Issue 2, Pages 81-96
- [15] Marin Gheorghe and Anthony Guiseppi-Elie  
“Electrical frequency dependent characterization of DNA hybridization”, *Biosensors and Bioelectronics*, Volume 19, Issue 2, Novembre 2003, Pages 95-102
- [16] Rosa Brito, V. A. Rodríguez, Janet Figueroa and Carlos R. Cabrera  
“Adsorption of 3-mercaptopropyltrimethoxysilane and 3-aminopropyltrimethoxysilane at platinum electrodes”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Volume 520, Issues 1-2, Février 2002, Pages 47-52
- [17] D. R. Blasini, R. J. Tremont, N. Batina, I. González and C. R. Cabrera  
“Self-assembly of (3-mercaptopropyl)trimethoxysilane on iodine coated gold electrodes”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Volume 540, Janvier 2003, Pages 45-52
- [18] Joseph Wang, Prasad V. A. Pamidi, and Dilson R. Zanette  
“Self-Assembled Silica Gel Networks”, *Journal of the American Chemical Society*, volume 120, Issue 23, Mai 1998, Pages 5852 -5853
- [19] Stéphanie Sayen and Alain Walcarius  
“Electro-assisted generation of functionalized silica films on gold”, *Electrochemistry Communications*, Volume 5, Issue 4, Avril 2003, Pages 341-348
- [20] S. Bharathi, M. Nogami, and S. Ikeda  
“Novel Electrochemical Interfaces with a Tunable Kinetic Barrier by Self-Assembling Organically Modified Silica Gel and Gold Nanoparticles”, *Langmuir*, Volume 17, Issue 1, Décembre 2001, Pages 1 -4
- [21] Rolando J. Tremont, Daniel R. Blasini and Carlos R. Cabrera  
“Controlled self-assembly of mercapto and silane terminated molecules at Cu surfaces”, *Journal of Electroanalytical Chemistry*, Volume 556, Septembre 2003, Pages 147-158
- [22] Stellan Hjertén  
“High-performance electrophoresis Elimination of electroendosmosis and solute adsorption”, *Journal of Chromatography A*, Volume 34, 1985, Pages 191-198
- [23] Zai-Sheng Wu, Ji-Shan Li, Ming-Hui Luo, Guo-Li Shen and Ru-Qin Yu  
“A novel capacitive immunosensor based on gold colloid monolayers associated with a sol-gel matrix”, *Analytica Chimica Acta*, Volume 528, Issue 2, 2005, Pages 235-242
- [24] D. Meyerhofer  
“Characteristics of resist films produced by spinning”, *J. Appl. Phys.*, Volume 49, 1978, Pages 3993-3997
- [25] [www.nico2000.net/datasheets/ammopaper.html](http://www.nico2000.net/datasheets/ammopaper.html)
- [26] <http://www.probiotics.com/html/ProbioticProducts/PicturesofProbiotics.htm>

- [27] M. Reza Ganjali, F. Faridbod, P. Norouzi, M. Adib  
“A novel Er(III) sensor based on a new hydrazone for the monitoring of Er(III) ions”, *Sensors and Actuators B* (2006)
- [28] M. B. Saleh, E. M. Soliman, A. A. Abdel Gaber, S. A. Ahmed  
“Novel PVC membrane uranyl ion-selective sensor”, *Sensors and Actuators B*, 114, 2006, Pages 199–205
- [29] M. Hossein Mashhadizadeh, A. Mostafavi, H. Allah-Abadi, I. Sheikhshoai  
“New Schiff base modified carbon paste and coated wire PVC membrane electrode for silver ion”, *Sensors and Actuators B*, 113, 2006, Pages 930–936
- [30] C. Beal, I. Sodini  
“Fabrication des yaourts et des laits fermentés”, technique de l’ingénieur ref : F6315
- [31] H. Tap  
“Conception et réalisation de biocapteurs électrochimiques en technologie microsysteme”, *Thèse UPS Toulouse*, 1999
- [32] [www.unige.ch/cabe/wojciechowski/TP\\_VOLTA\\_05\\_06.pdf](http://www.unige.ch/cabe/wojciechowski/TP_VOLTA_05_06.pdf)
- [33] B. Trémillon  
“Electrochimie analytique et réactions en solution”, *Tome 2 édition Masson*
- [34] Stéphanie Sayen, Alain Walcarius  
“Electro-assisted generation of functionalized silica on gold”, *Electrochemistry communications* 5, 2003, Pages 341 -348



## **Conclusion générale**

L'objectif de notre étude était de réaliser des microcapteurs génériques que nous pourrions fonctionnaliser suivant les applications.

Ainsi les travaux présentés dans ce mémoire ont consisté aux développements de deux types de capteurs électrochimiques : les microélectrodes et les ChemFETs, et surtout en une étude de l'adaptation des polymères sous deux aspects : soit en tant que couches chimiquement sensibles, soit en tant que matériaux de conditionnement à la phase liquide. Tous nos développements ont gardé un même fil conducteur lié à l'utilisation des microtechnologies, i.e. à la mise en place de procédés de fabrication collective et/ou en grande série.

La réalisation des différents microcapteurs a fait l'objet dans un premier temps d'une étude théorique des mécanismes réagissant aux interfaces conducteur/électrolyte et isolant/électrolyte. L'utilisation des polymères a fait également l'objet d'études nous permettant ainsi d'utiliser au mieux leurs propriétés suivant nos applications.

L'utilisation du polydiméthylsiloxane (PDMS) pour la réalisation de microvolumes a ainsi montré l'importance et l'intérêt que peut représenter la réduction des volumes dans les processus de détection biologique. Un protocole de réalisation et de report des structures en PDMS a été mis à place. Le transport et l'analyse de milieux biologiques vers des microcapteurs ChemFETs ont été démontrés. Ainsi, au travers de l'étude du métabolisme du *Lactobacillus Acidophilus*, nous avons effectué des suivis d'activités bactériennes en réduisant de manière significative les délais de détection par rapport aux techniques classiques d'analyses médicales.

L'utilisation du polysiloxane (PSX) pour la réalisation de couches ionosensibles a permis de fonctionnaliser les microcapteurs. Ce polymère a été utilisé en tant que matrice de support pour les ionophores afin de lui conférer ces propriétés de détection (sélectivité, sensibilité). La fabrication collective de ces couches nous a amené à une étude théorique du dépôt à la tournette de liquides maxwelliens permettant ainsi de contrôler tous les paramètres technologiques et les caractéristiques du dépôt (épaisseur, surface). De plus, des protocoles technologiques ont été mis au point suivant les surfaces de dépôt (silicium ou or).

## Conclusion générale

A travers nos différentes études, nous avons démontré les potentialités des capteurs chimiques ChemFETs pour les détections biochimiques et biologiques à travers des variations du pH dans les solutions d'analyses en microvolumes. Les premières études sur le suivi des réactions bactériennes en présence de différents sucres ont été réalisées. Néanmoins des études complémentaires sur le panel de tests à effectuer sur la bactérie *Lactobacillus Acidophilus* devront être réalisées afin de déterminer sa propre signature de la même façon que dans les techniques classiques utilisées. Ces études devront également être effectuées sur des bactéries pathogènes dans des laboratoires avec des normes d'hygiène et de sécurité appropriées. De plus, des systèmes d'analyses fluidiques contenant plusieurs cellules d'analyses (4, 6, 8 capteurs) devront être mis en place. Mais également, des études sur le transport des fluides dans ces systèmes fluidiques (capillarité, force centrifuge, micro-injection) devront faire l'objet de travaux. Tout ceci pour nous amener vers des laboratoires sur puces et ainsi pouvoir effectuer des analyses médicales au plus près des patients.

Le caractère générique de nos capteurs nous a permis de les adapter à la détection de différents types d'ions. Les ChemFETs ont ainsi été fonctionnalisés avec les membranes ionosensibles de PSX pour la détection des ions potassium pK-ISFETs. La sensibilité de ces capteurs est autour de 43 mV/pK. Des études complémentaires devront être réalisées pour incorporer d'autres ionophores dans la matrice de polysiloxane afin d'augmenter le panel de détections ioniques de ces capteurs. La modélisation mathématique du dépôt à la tournette nous a permis une bonne compréhension du dépôt mais une modélisation numérique devra être réalisée pour prendre en compte les influences des différents agents en jeu notamment celle des ionophores. Ainsi, il sera possible de mettre en place de nouveaux protocoles du procédé technologique.

Les microélectrodes ont tout d'abord fait d'objet d'une étude poussée à deux et trois électrodes d'or afin d'étudier leurs comportements. Ensuite une fonctionnalisation de ces microélectrodes a été réalisée avec les membranes en PSX pour la détection des ions potassium. Cette fonctionnalisation a montré la faisabilité du dépôt de polysiloxane mais n'a pas permis la sélectivité des microélectrodes. Ainsi, d'autres polymères comme le PVC pourront être utilisés comme matrice support pour les ionophores. Néanmoins, ces études nous ont permis d'acquérir une nouvelle expérience sur les microélectrodes, de prendre connaissance de la théorie électrochimique et de mettre en place des procédés technologiques

## Conclusion générale

de fabrication. De plus, un nouveau banc de caractérisation électrochimique a été mis en place. Enfin, des modèles électriques équivalents ont pu être établis.

Au travers de nos travaux de thèse, nous avons étudié les potentialités des polymères siloxanes pour le développement des microcapteurs chimiques en phase liquide. Ils rentrent au niveau du laboratoire LAAS-CNRS dans un axe plus général lié à la mise au point d'une intégration hybride "polymère/silicium" afin d'établir des liens entre la Microtechnologie, la Fluidique, la Chimie, la Biochimie et la Biologie.





# **ANNEXE**

## Annexe

### Annexe I : programme Matlab pour le calcul du pH d'une solution à partir de HCL et TMAH

```
close all
clear all

co=10^-1.85      %concentration HCL
vo=250           %volume initiale de la solution (HCL)
c=0.1            %concentration du TMAH

ke=10.^-14       % constante de dissolution
ka=4.5*10.^-12   % constante d'acidité

for i=1:1:1440
    v(i,1)=(i-1)*0.03475;
    c3=1;
    c2=(c*v(i,1)-co*vo)/(v(i,1)+vo)+ka;
    c1=-ke-ka*co*vo/(v(i,1)+vo);
    c0=ka*ke;
    p=[c3 c2 c1 c0]
    r=roots(p)
    for j=1:3
        f=imag(r(j))
        if f~=0
            r(j)=0
        end
    end
    h(i,1)=max(r)
end

ve=v;
c11=0.15;
v=ve(1440);
c=0.1;

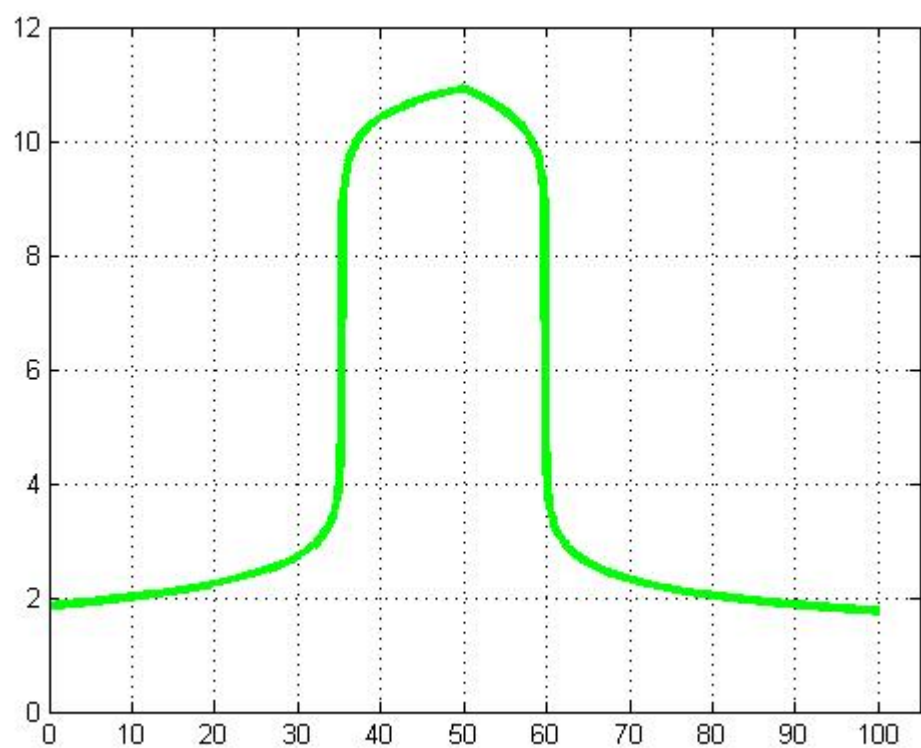
for i=1:1:1440
    v1(i,1)=(i-1)*0.03475;
    c3=1;
    c2=(c*v-c11*v1(i,1)-co*vo)/(v+v1(i,1)+vo)+ka;
    c1=-ke-ka*(c11*v1(i,1)+co*vo)/(v+v1(i,1)+vo);
    c0=ka*ke;
    p=[c3 c2 c1 c0]
    r=roots(p)
    for j=1:3
        f=imag(r(j))
        if f~=0
            r(j)=0
        end
    end
    h(i+1440,1)=max(r)
end
```

## Annexe

```
v1=v1+50
v2=[ve;v1]           %volume finale

ph=-log10(h)
plot(v2,ph,'-g',...
      'LineWidth',3)

grid;
axis([0 105 0 12]);
```



Les techniques d'analyses chimiques et biologiques nécessitent le développement à faible coût de capteurs chimiques fiables. Dans ce contexte, les transistors chimiques à effet de champ ChemFETs et les microélectrodes offrent des solutions innovantes à condition d'optimiser l'interface entre les différents domaines que sont les microtechnologies, la biologie et la chimie. Au cours de cette thèse, nous nous sommes attachés à développer des techniques permettant de coupler des agents chimiques au silicium. Deux approches ont été étudiées, toutes les deux basées sur l'utilisation de polymère.

La première approche a été centrée sur le développement des techniques d'encapsulation avec réalisation de microcuve et micro-canaux d'analyse en PDMS. Le suivi de l'activité bactérienne à l'aide de pH-ISFETs a été optimisé dans le cadre de l'étude des *Lactobacillus acidophilus*.

La deuxième approche s'est intéressée à l'adaptation des ChemFETs et des microélectrodes d'or à la détection d'ions telles que le potassium et le sodium. L'utilisation des techniques de photolithographie a ainsi permis la fabrication collective de couches ionosensibles en PSX (polysiloxane).

Mots clés : ChemFET, PDMS, micro-volumes, bactérie, polysiloxane, microélectrode.

The chemical and biological analysis techniques require the low cost development of reliable chemical sensors. In this context, the chemical field effect transistors ChemFETs and the microelectrodes offer innovating solutions but this will require between microtechnology, biology and chemistry the optimizing interface. During this thesis, we endeavoured to develop techniques allowing to couple chemical agents with silicon. Two approaches were studied, both based on the polymer use.

First approach was centred on the encapsulation techniques development with realization of analysis microcuve and micro-canals in PDMS. The bacterial activity monitoring with pH-ISFETs was optimized within the framework study of the *Lactobacillus acidophilus*.

The second approach relies on ChemFETs adaptation and gold microelectrodes to ions detection such as potassium and sodium. The photolithography technique allows us to make ionosensible layers using PSX (polysiloxane) in order to realize ion detection.

Keywords : ChemFET, PDMS, micro-volumes, bacteria, polysiloxane, microelectrode.