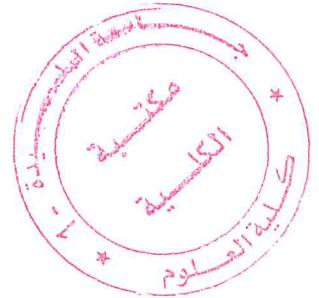


وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
 REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
 UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA 1
 جامعة سعد دحلب البليدة 1
 MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
 SCIENTIFIQUE



كلية العلوم – دائرة الفيزياء
 Faculté des Sciences
 Département de Physique



**MEMOIRE
 POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE
 MASTER EN PHYSIQUE**

Option : Physique Appliquée aux Microsystèmes

THÈME

**ETUDE ET SIMULATION DU FONCTIONNEMENT
 D'UN BIOCAPTEUR A BASE DES PHENOMENES
 ADSORPTION IMPLANTEE DANS UN
 MICROCANAL.**

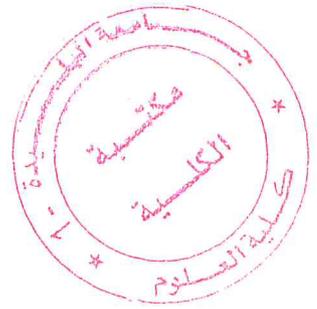
Par :

BOUZIDI Mohamed et KADOURI Mansour

Devant le jury composé de :

Dr. H. Tahy	MRB, C.D.T.A Baba Hassen	President
Mr. A. Benhaffaf	MAA, USDB 1	Examineur
Dr. A. Hassein-Bey	MCB, USDB 1	Promoteur
Dr. S. Aoudj	MCB, USDB 1	Co-Promoteur

Blida, Septembre 2017



Résumé

Ce travail de master consiste à étudier à travers des simulations caractéristiques d'un biocapteur a travers une zone active et sensible dans le développement du détecteur, et en particulier le détecteur sensible biologique dans un micro canal. Une couche mince et sensible plane a été implantée dans un micro canal sur un substrat de silicium par des techniques microfabrications. Cette couche a été conçue pour réduire autant que possible la taille de l'appareil grâce à des techniques de micro fluidiques et les méthodes des éléments finis. EN partant d'une étude préexistante d'une structure en colonne, nous avons conçus un biocapteur sur la base d'une couche sensible plane. Les résultats obtenus montrent que les propriétés biologiques en fonction de température représentent un point important. En effet, les expérimentations faites montrent que les couches déposées peuvent être utilisées dans la réalisation d'un biocapteur.

Abstract

In this work we stud the characteristics of a biosensor through a sensitive and active area in the development of the detector and in particular the biological sensitive detector in a micro-channel. Sensitive layer was placed inside a micro-channel on a wafer of silicium by micro-fabrication techniques. This layer has been designed to reduce the size of the device as much possible through microfluidics and finite element methods. The obtained results show that the biological properties in terms of temperature represent an important point. This enables the microchannels slice be to best slice for specific applications. Including the biocapteur.

ملخص

يتمثل هذا العمل في دراسة خصائص كاشف استشعاري حساس عن طريق منطقة حساسة و نشطة في سياق تطوير الجهاز الكاشف ونخص بذلك الكاشف الحساس البيولوجي الموضوع في قناة. حيث وضعت طبقة رقيقة و حساسة داخل قناة على شريحة من السليسيوم بواسطة تقنيات الصناعة المجهرية. و قد تم وضع هذه الطبقة لتقليص حجم الجهاز قدر المستطاع عن طريق تقنيات ميكانيك السوائل و العناصر المحدودة . النتائج المتحصل عليها تبين أن الخواص البيولوجية بدلالة الحرارة تمثل نقطة هامة. هذه الميزة تمكن القنوات الموضوعة على السليسيوم من أن تكون أفضل مرشح لتطبيقات معينة منها جهاز الكاشف الحساس البيولوجي .

Remerciement

Ce travail de master a été mené au niveau de l'université de Blida 1, notre profonde reconnaissance va au **Dr. A. Hassein-Bey** notre promoteur pour son soutien ainsi que pour ses précieux conseils et pour ses cours pleins d'information et de savoir et pour sa disponibilité à n'importe quel moment, sans oublier tous les professeurs du département de physique, ainsi pour le soutien permanent et les précieux conseils dont il nous on fait profiter tout au long de ces années d'étude.

On tient également à remercier **Dr. S. Aoudj** notre Co-promoteur pour le soutien permanent et pour son aide et ses précieux conseils.

Nous tenons à remercier aussi tout les professeurs de la spécialité Physique Appliquée Aux Microsystème, Nous remercions aussi le chef de département de physique **Monsieur Mouzali** et aussi l'ancienne chef département **Madame. S.Ouir** pour sa disponibilité et sa gentillesse.

Nous tenons aussi à remercier **Mademoiselle A.L.S Hassein-Bey** pour son soutien, son aide et sa présence, même pour ses conseils qu'ils nous ont facilité le travail.

Nous remercions également **Dr. H. Tah** d'avoir accepté de présider notre jury de Master.

Nous remercions également **Mr. A. Benhaffaf** d'avoir accepté d'examiner notre travail de Master.

Nous tenons aussi à témoigner notre profond respect pour toute l'équipe de recherche **Nano physique**. On remercie tous les membres pour les services qu'ils nous ont rendus, et à tous personnes qui à contribuer à rendre nos séjours agréables.

Enfin, nous remercions également ceux qui nous ont aidés de près et de loin, par leurs orientation, renseignement, information diverses, ainsi que toutes les facilités qu'ils nous ont prodigués pour accéder à l'information et de mener à bien notre étude.

Sommaire

Résumé	2
Remerciement	3
Sommaire	4
List des symboles et abreviations	6
Liste des illustrations, graphiques et tableaux	7
Chapitre 1 Les Bio-MEMS	9
1.1 Introduction	9
1.2 Les Bio-MEMS dans la vie de tout les jours	11
1.3 C'est quoi les Bio-MEMS ?	12
1.4 Marché autour des Bio-MEMS	12
1.5 Quelques dispositifs Bio-MEMS	13
1.5.1 Micropuces ou « <i>Microarrays</i> »	13
1.5.2 Biocapteurs ou « <i>Biosensors</i> »	13
1.5.3 Laboratoire sur puces ou « <i>Lab on chips, μ TAS</i> »	14
1.5.4 Dispositifs implantables ou « <i>implantable devices</i> »	15
1.5.5 Les micro/nanomachines	15
Chapitre 2 Les Biocapteurs.....	16
2.1 Introduction	17
2.2 Définition d'un Biocapteur	18
2.2.1 Historique	19
2.2.2 Classification des biocapteurs	19
2.3 Caractéristiques des biocapteurs	19
2.4 Fonctionnalisation de surface et transduction	23
2.4.1 Fonctionnalisation de surface :	23
2.4.2 Transduction	24
2.5 Biocapteurs ampérométrique	25
2.6 Biocapteur impédancemétrique.....	26
2.6 Biocapteur potentiométrique	28
2.7 Biorécepteurs	29
2.8 Méthodes d'immobilisation.....	33
2.9 Procédés de microfabrication	37

Chapitre 3 Modélisation et simulation physique du fonctionnement d'un micro biocapteur.....	45
3.1 Introduction	46
3.2 Lois de comportement.....	46
3.2.1 Nombre de Reynolds.....	47
3.2.2 Equation de Navier-Stokes.....	48
3.2.3 Résistance hydraulique	50
3.2.4 Diffusion et mélange.....	50
3.2.5 Etude d'une cinétique de réaction	52
3.2.6 Méthode séparative	52
3.3 Méthode des éléments finis.....	53
3.4 <i>Comsol Multiphysics</i>	54
3.7 Description du model.....	56
3.9 Conditions aux limites :.....	58
3.9 .1 Réactions de surface	58
3.9.2 Transport de masse dans le flux d'analyse.....	59
3.9.3 Transport massique et réactions sur les surfaces actives	60
3.10 L'écoulement de fluide	60
Chapitre 4 Résultats et discussion.....	61
4.1Introduction	62
4.2 Comparaison des amplitudes des champs de vitesse pour l'ancienne et la nouvelle géométrie.....	62
4.3 Concentration des espèces.....	63
4.4 Couverture superficielle fractionnaire moyenne de l'analyte adsorbé	65
4.5 Conclusion	67
Conclusion Générale	68
References.....	69

List des symboles et abréviations

μ -TAS	: Micro-Total-Analysis-System
ADN	: Acide DesoxyriboNucleique
Bio-MEMS	: Biologic Micro-Electro-Mechanical Systems
CAO	: Conception Assisté par Ordinateur
PDMS	: PolyDiMethylSiloxane
C-PDMS	: Conductive - PolyDiMethylSiloxane
ISFET	: Ion Sensitive Field Effect Transistor
LOC	: Lab-On-a-Chip
MEMS	: Micro-Electro-Mechanical Systems
MOEMS	: Micro-Opto-Electro-Mechanical Systems
MST	: Microsystems Technology
pH	: Potential Hydrogen
Re	: Nombre de Reynolds
R _H	: Résistance Hydraulique
SU8	: Résine Negative

Liste des illustrations, graphiques et tableaux

Figure 1. 1: Combinaison interdisciplinaire dans les bio-MEMS.	10
Figure 1. 2 « <i>Bio-Mems : Microsystems for healthcare applications</i> ».	12
Figure 1. 3: Un microarray en verre.	13
Figure 1. 4: Exemple de biocapteur microfluidique à glucose en verre.....	14
Figure 1. 5: Laboratoire sur puce « <i>lab on chip</i> »	14
Figure 1. 6: Dispositif de distribution de médicament implantable.	15
Figure 2. 1:Pluridisciplinarité du domaine des biocapteurs	17
Figure 2. 2: Représentation schématique d'un biocapteur	18
Figure 2. 3: Courbe d'étalonnage d'un capteur	20
Figure 2.4: Revêtement cicatrisant : les capsules de catalyseur (jaune) et de polymère (bleu) se brisent. Le liquide polymérise et emplit la rayure	23
Figure 2. 5: Schéma de principe des mesures impédimétrique	27
Figure 2. 6: Représentation schématique des transistors MOSFET et ISFET	29
Figure 2. 7:Représentation schématique des différents bio récepteurs	30
Figure2.8: Representation schématique des différentes méthodes d'immobilisation de l'élément biologique	34
Figure 2. 9: Le phénomène d'adsorption et l'absorption	35
Figure 2. 10: Adsorption d'enzymes sur un support.....	36
Figure 2. 11: Réticulation et Co- Réticulation des enzymes.....	37
Figure2.12 : Exemples de réalisations de canaux microfluidiques en silicium (gravure DRIE).	37
Figure 2. 13: Les différentes phases de réalisation du moule par photolithographie.	38
Figure 2. 14: Exemple d'un moule permettant la réalisation du générateur de gradient	38
Figure 2. 15: Moulage et finalisation du PDMS.....	39
Figure 2. 16:Exemple de démoulage	39
Figure 2. 17:Exemple de réalisation finalisée	39
Figure 2. 18: Courbe de température du polymère lors du gaufrage à chaud.	40
Figure 2. 19: Schéma de principe de la production par « <i>hot embossing</i> ».	40
Figure 2. 20: « <i>Hot embossing</i> » industriel.	41
Figure 2. 21: Exemples de produits réalisés.	41
Figure2.22:Evolution du nombre de publications scientifiques concernant les plasmas atmosphériques depuis l'année 2000.	44
Figure 3. 1: Générateur de gradient développé au laboratoire SATIE de l'ENS Cachan.	47
Figure 3. 2: Caractérisation du type d'écoulement en fonction du nombre de Reynolds Re	48
Figure 3. 3: Résolution de l'équation de Poiseuille dans le cas d'une canalisation circulaire.	49

Figure 3. 4:(a)Profil d'un écoulement plan,(b)Profil d'un écoulement section rectangulaire.....	49
Figure 3. 5:(a) Exemple d'un circuit microfluidique,(b) exemple d'un circuit électrique.....	50
Figure 3. 6: (a) Exemple d'un circuit en Y et (b) la simulation du transport de matière.....	50
Figure 3. 7: (a) $P_e > 1$, Convection des 2 produits, (b) $P_e < 1$, convection et diffusion des 2 produits.....	51
Figure 3. 8:Schéma de principe d'un circuit en T.....	52
Figure 3. 9: Exemple d'un filtre en H.....	53
Figure 3. 10: Principe de la Mthode des éléments finis.....	54
Figure 3. 11: profile du logiciel COMSOL Multiphysics.....	55
Figure 3. 12: La cellule d'écoulement contient différents nombres de piliers en fonction de l'entrée de l'utilisateur. La surface du pilier courbé est la seule surface qui permet l'adsorption des molécules d'analyte.....	56
Figure 3. 13: Les dimensions de la zone active.....	57
Figure 3. 14: les Conditions aux limites.....	60
Figure 4. 1:L'amplitude de la vitesse du champ d'écoulement laminaire dans la cellule d'écoulement de biocapteur.....	62
Figure 4. 2: Variation de la pression le long du microcanal.....	63
Figure 4. 3: La distribution de concentration dans le flux d'analytes et la couverture superficielle d'espèces adsorbées à $t = 35$ s.....	64
Figure 4. 4: La distribution de concentration dans le flux d'analytes et la couverture superficielle d'espèces adsorbées à $t = 35$ s.....	64
Figure 4. 5: La distribution de concentration dans le flux d'analytes et la couverture superficielle d'espèces adsorbées à $t = 75$ s.....	65
Figure 4. 6: Couverture superficielle fractionnaire moyenne de l'analyte adsorbé PS.....	66
Figure 4. 7: Couverture superficielle fractionnaire moyenne de l'analyte adsorbé....	66
Tableau 3. 1: Les Paramètres de surface reaction.....	58
Tableau 3. 2 : Les variables de surface reaction.....	58

Chapitre 1

Les Bio-MEMS

1.1 Introduction

L'évolution de la demande et de la nécessité dans des situations nombreuses, de donner une information en temps réel, pour faire face à un événement critique, a motivé la recherche de méthodes alternatives. Parmi ces méthodes et les dispositifs qui permettent de les mettre en application, les biocapteurs font partie des filières technologiques les plus prometteuses. En effet, les biocapteurs apparaissent aujourd'hui comme des outils très élégants dans différents domaines : biotechnologies, technologies biomédicales, environnement, agro- alimentaires... En particulier, des besoins réels existent pour la détermination de divers métabolites et/ou toxiques dans différents milieux complexes. Les caractéristiques et les performances de ces dispositifs biocapteurs sont très attrayantes : sensibilité, fiabilité, commodité, simplicité, rapidité (économie des réactifs) et bon marché. L'apparition de plusieurs analyseurs commercialisés par plusieurs sociétés se basant sur différents systèmes de biocapteurs en est la preuve vivante.

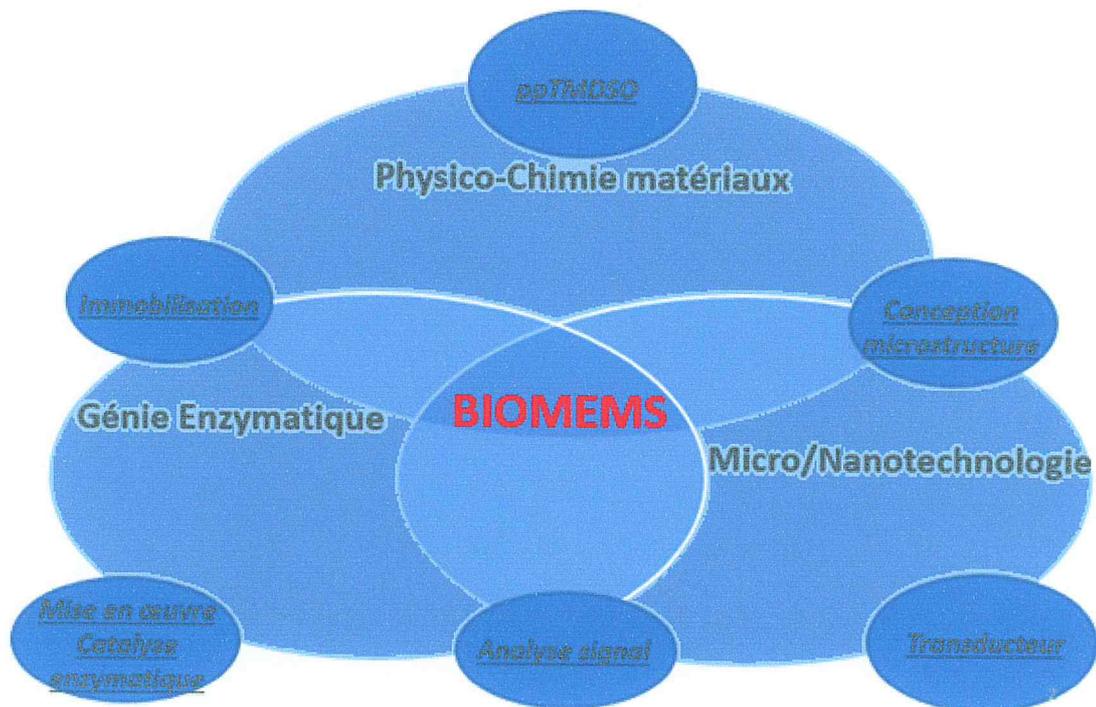


Figure 1. 1: Combinaison interdisciplinaire dans les bio-MEMS [1].

Le principe de base des biocapteurs repose sur la combinaison d'un élément biologique (cellule, enzyme, anticorps...), d'un convertisseur de signal (transducteur) et d'un appareil électrique de mesure. L'élément biologique, par exemple l'enzyme

glucose oxydase, plongé dans un milieu tel que le sang, se lie à une molécule pour laquelle il a de l'affinité, ici le glucose. La réaction qui s'ensuit s'accompagne de l'émission d'un signal qui est converti par l'appareil de mesure en une valeur de concentration. Cet exemple typique avait donné naissance au premier biocapteur et au premier analyseur de glucose utilisé par les diabétiques.

1.2 Les Bio-MEMS dans la vie de tous les jours

Au cours d'une visite médicale, votre médecin vous fait une prise de sang totalement indolore grâce à un petit patch contenant des centaines de microseringues. Il dépose le patch sur une plateforme CDLab qu'il introduit dans un analyseur qui vous rappellera le lecteur CD. En quelques minutes, il reçoit les analyses sur son ordinateur, détermine l'espèce bactérienne ou virale à l'origine de votre infection avant de vous prescrire un traitement ciblé et adéquat.

Au lieu de recourir à une chirurgie risquée, votre médecin vous injecte dans le sang une microcapsule qui va parcourir votre corps et atteindre l'organe malade. Une fois sur la cible, la capsule est activée à distance pour effectuer le traitement ou libérer les médicaments nécessaires.

Un patch ou un micro dispositif planté sur ou sous la peau qui, selon la concentration du glucose dans le sang, déclenche ou non une libération d'insuline, évitant ainsi aux diabétiques les injections régulières et la surveillance permanente de leur glycémie.

Ces possibilités ne sont qu'un exemple d'une révolution en marche grâce aux bio-microtechnologies. Il s'agit d'une miniaturisation des systèmes de détection, d'analyse et de traitement au service de la biologie, de l'environnement, de la médecine et de l'agro-alimentaire. Au cours de la dernière décennie, les premiers développements de miniaturisation ont d'abord concerné des dispositifs électromécaniques ou MEMS (pour *Micro Electro Mechanical Systems*) tels que les accéléromètres et les capteurs de pression qui ont eu un large succès commercial. Cette technologie s'est rapidement étendue aux domaines biologique et médical pour donner naissance à ce qui est connu sous les noms de "Bio-MEMS", "*biosensors*", "*lab on chips*" ou "*μ-TAS*" (pour *Micro-Total Analysis Systems*).

Ces dispositifs sont généralement composés d'une partie microfluidique incluant des microcanaux, des microvalves, des micropompes, des micromixeurs, des microréacteurs pour la manipulation des différents liquides ou objets biologiques,

d'une plateforme de détection plus au moins complexe contenant un ou plusieurs capteurs, et de la composante biologique qui peut être intégrée (biorécepteur) ou momentanément introduite pour les besoins d'analyse.

1.3 C'est quoi les Bio-MEMS ?

Dans la famille des MEMS, nous sommes intéressés aux Bio-MEMS est une abréviation pour micro électro mécaniques dans le domaine biologique. Bio-MEMS peuvent se résumer à deux sous-domaines : les laboratoires sur puce ou *lab-on-a-chip* (LOC) et les systèmes de micro-analyse totale ou *micro total analysis Systems* (μ TAS). Les Bio-MEMS sont généralement plus concentrés sur les microdispositifs destinés pour des applications biologiques. D'autre part, les LOC sont plus concentrés sur une approche de miniaturisation et d'intégration des processus d'analyse de laboratoire sur des puces la plus part du temps microfluidiques. La nature interdisciplinaire des Bio-MEMS combine les sciences des matériaux, la biologie, la médecine, la biochimie et bien d'autres domaines de base pour la détection tel que l'optique, l'électricité, etc. ... Ses principales applications comprennent la génomique, la protéomique, le diagnostic moléculaire, le diagnostic de point de soins, l'ingénierie tissulaire, et micro dispositifs d'automédication implantable.

1.4 Marché autour des Bio-MEMS

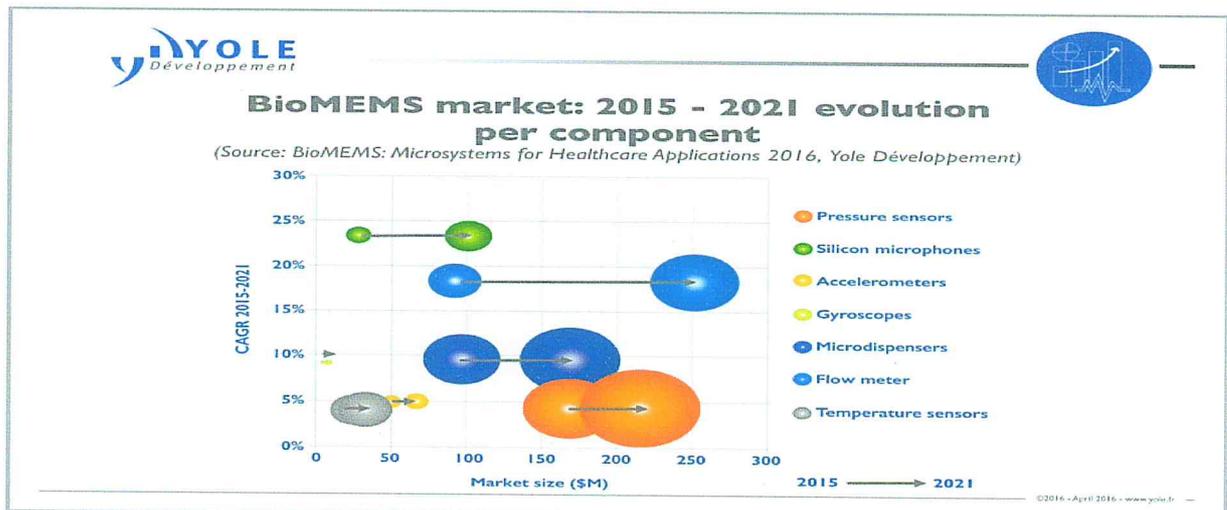


Figure 1. 2 « Bio-MEMS : Microsystems for healthcare applications » annonce que le marché des Bio-MEMS (MEMS à destination des applications de santé) passerait de 2,7 milliards de dollars en 2015 à 7,6 milliards de dollars en 2021 [2].

En effet, les Bio-MEMS seront utilisés dans nombre d'applications de santé (exosquelette, implants rétiniens, alarmes en cas de chute...). Les dispositifs dont auront besoin les personnes âgées – une population conséquente, issue du Baby-boom des années 50 à 70 – dans un avenir proche, sont friands de tels MEMS (accéléromètres, capteurs de pression, de débit, de mouvement... micropompes et autres actuateurs). L'étude précise que la vedette reviendra au groupe des dispositifs microfluidiques dont le marché représenterait, en 2021, 86% du marché total des Bio-MEMS. Ce segment progresserait ainsi de 19,2% par an entre 2015 et 2021.

Le marché actuel des biocapteurs est en forte expansion, un tour d'horizon des nouveaux produits de ce type commercialise ou en phase de l'être montre l'effervescence du secteur au niveau international. En effet, le marché mondial des biocapteurs en 1985 était estimé à 5 millions de dollars alors qu'aujourd'hui il dépasse les 5 billions [0]. Les biocapteurs pour le glucose occupent encore aujourd'hui la plus grande part du marché en raison de la fréquence élevée du diabète insulino-dépendant (plus de 16 millions de diabétiques aux Etats-Unis). Le marché mondial pour les appareils portables destinés à mesurer les glycémies a été estimé en 2002 à 2,7 milliards de dollars par an.

1.5 Quelques dispositifs Bio-MEMS

1.5.1 Micropuces ou «*Microarrays*»

Elles sont basées essentiellement sur l'hybridation (brins d'ADN) ou la reconnaissance moléculaire (ligand-récepteur) qui sont généralement détectées par fluorescence sans l'intervention d'un transducteur intégré. Actuellement, beaucoup de développements se font sur des puces à protéines, à lipides ou à saccharides, qui s'ajoutent aux puces à ADN déjà commercialisées.

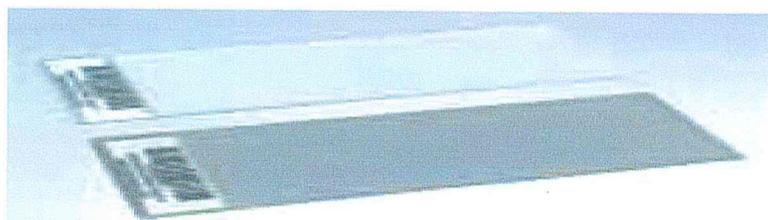


Figure 1. 3: Un *Microarrays* en verre [3].

1.5.2 Biocapteurs ou «Biosensors»

Ils sont composés de biorécepteurs immobilisés sur un transducteur qui peut être optique ou plus généralement électromagnétique, électrochimique, piézoélectrique, calorimétrique ou acoustique. Le principe de base d'un biocapteur est de transformer une propriété biochimique d'un phénomène biologique en un signal électrique. Le premier biocapteur a été développé en 1950 par Le land Clarke pour mesurer la concentration en oxygène dissout dans le sang grâce à des électrodes fonctionnalisées.

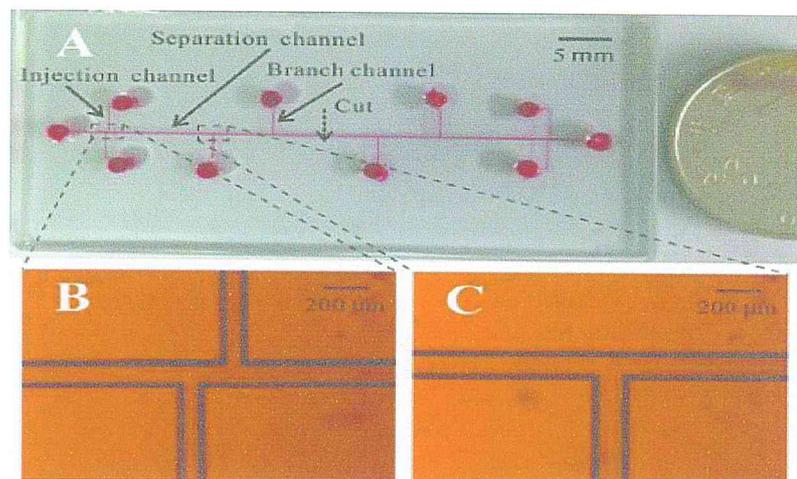


Figure 1. 4: Exemple de biocapteur microfluidique à glucose en verre [4].

1.5.3 Laboratoire sur puces ou «Lab on chips, μ TAS»

Ce sont des microdispositifs multifonctionnels et plus élaborés qui permettent, selon leur degré d'intégration, une fonction de transduction, mais surtout de préparation des échantillons, séparation, analyse, de culture cellulaire ou tissulaire. En plus du transducteur, ces composants contiennent un système microfluidique (microcanaux) pour gérer les fluides à analyser.

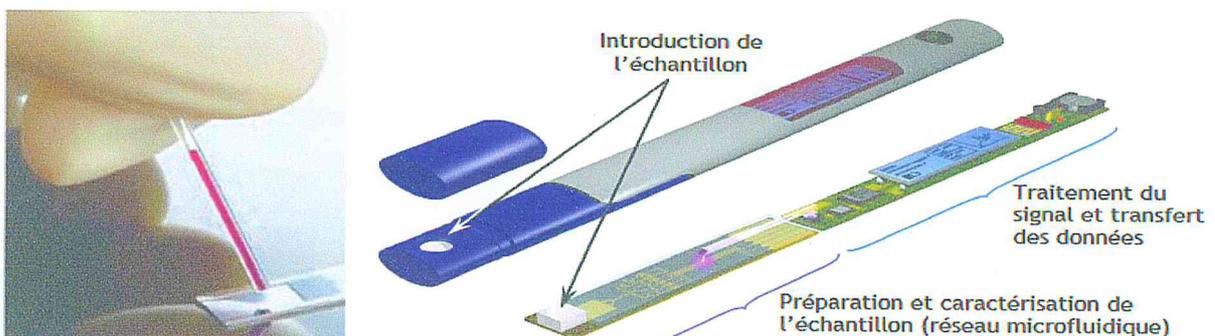


Figure 1. 5: Laboratoire sur puce « lab on chip» Image Advanced Materials [5].

1.5.4 Dispositifs implantables ou «implantable devices»

Ce sont des microsystèmes soit biohybrides soit en contact direct avec un système vivant à l'exemple des organes artificiels, les interfaces cerveau-machine et les systèmes de libération médicamenteuse.

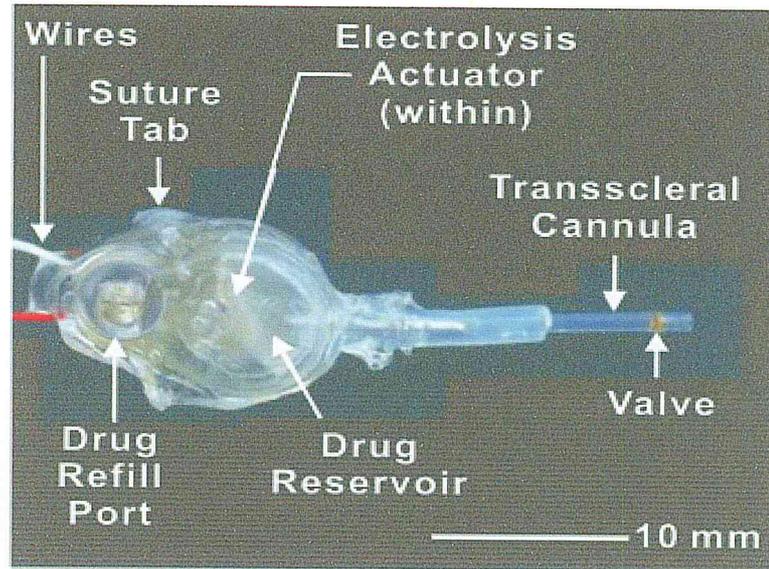


Figure 1. 6: Dispositif de distribution de médicament implantable [6].

1.5.5 Les micro/nanomachines

Ce sont des dispositifs qui peuvent être injectés dans les liquides corporels, qui n'ont pas forcément une composante biologique, mais dont la fonction est de cibler puis d'interagir avec le système vivant.

Chapitre 2

Les Biocapteurs

2.1 Introduction

Au cours des 20 dernières années, la recherche et le développement dans le domaine des biocapteurs ont augmenté de façon exponentielle que ce soit en terme d'investissements, de nombre de publications scientifiques (par exemple en effectuant une recherche sur le site Science direct avec le mot "*biosensors*" plus que 6000 articles traitant du sujet ressortent) ou de nombre de chercheurs travaillant sur la thématique dans le monde entier. Les progrès considérables des techniques mises en jeu dans des domaines aussi variés que la médecine et la biologie clinique, l'agro-alimentaire ou le contrôle de la qualité de notre environnement (surveillance des rejets industriels ou domestiques) ont nécessité la mise au point de méthodes analytiques de plus en plus précises et sélectives. Les biocapteurs constituent sans doute l'alternative la plus séduisante pour proposer des systèmes simples, fiables, rapides et sélectifs de détection

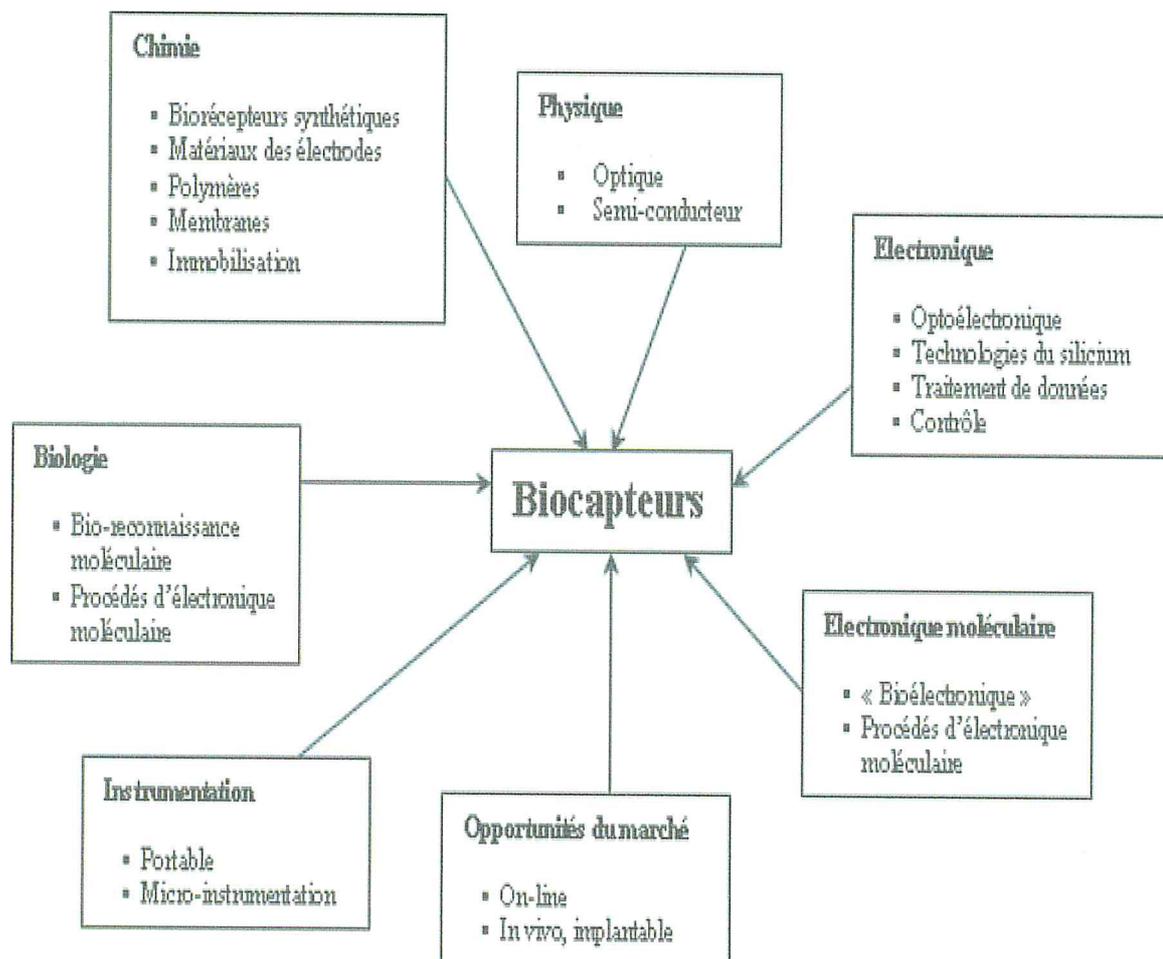


Figure 2. 1: Pluridisciplinarité du domaine des biocapteurs [29].

2.2 Définition d'un Biocapteur

Un biocapteur peut être défini comme un dispositif permettant de détecter quantitativement la présence d'une espèce chimique, appelée analyte, à l'aide d'un processus de reconnaissance biologique. Le biocapteur est composé de deux parties : le ligand et le transducteur (figure 2.2). Le ligand joue le rôle de biorécepteur : il signale la présence de l'analyte en produisant un signal physicochimique. Le transducteur détecte et convertit le signal produit par le biorécepteur en un signal électrique amplifié et quantifiable.

La fabrication d'un biocapteur est essentiellement basée sur l'immobilisation du biorécepteur sur le transducteur correspondant. En effet c'est grâce à la combinaison judicieuse d'un composant biologique et d'un transducteur qu'un biocapteur permet la détection et le dosage d'un composé d'intérêt dans un milieu complexe. Les premiers biocapteurs étudiés, puis mis sur le marché, sont des biocapteurs enzymatiques. Les enzymes constituent encore à l'heure actuelle, le composant le plus utilisé dans le développement des biocapteurs.

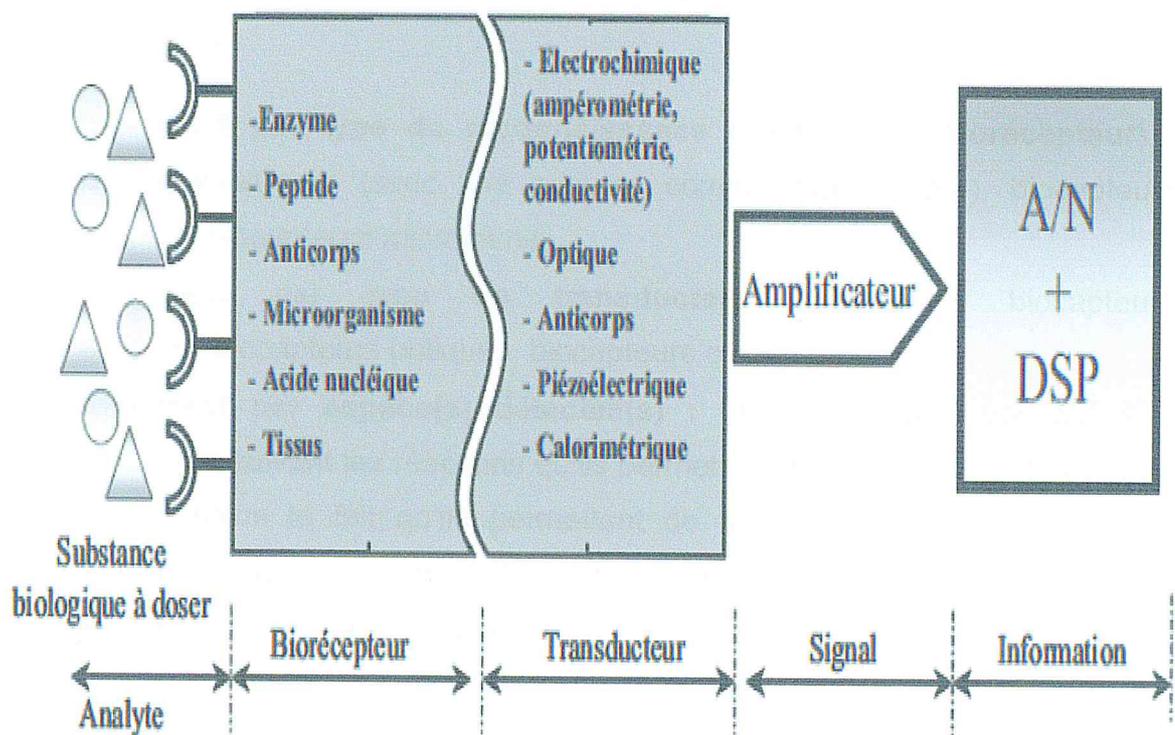


Figure 2. 2: Représentation schématique d'un biocapteur [7].

- **Étalonnage:**

L'étalonnage permet d'ajuster et de déterminer, sous forme graphique, la relation entre le mesurande et la grandeur électrique de sortie. Très souvent l'étalonnage n'est valable que pour une seule situation d'utilisation du capteur.

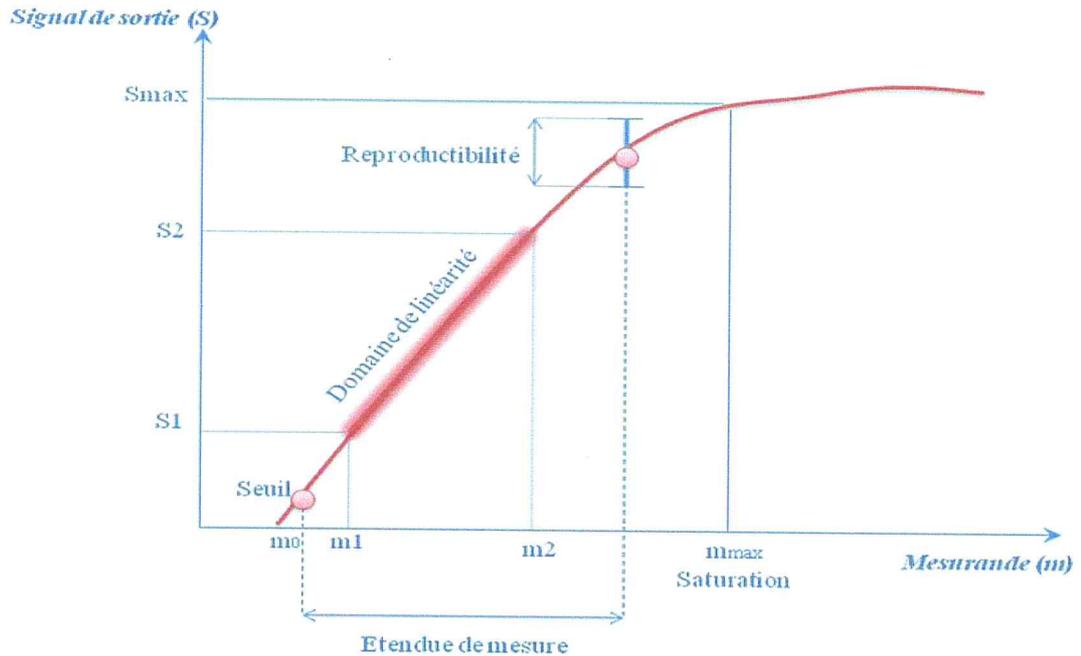


Figure 2. 3: Courbe d'étalonnage d'un capteur [30].

- **Étendue de mesure:**

L'étendue de mesure est définie sur la courbe d'étalonnage du capteur (figure 2.4). A l'extérieur de cette zone se trouvent deux valeurs particulières: le seuil et la saturation. Le phénomène de saturation est fréquemment rencontré en physique. Même si la valeur du mesurande augmente, la grandeur de sortie ne peut dépasser une valeur maximale S_{\max} :

Pour $m > m_{\max}$, $S = S_{\max}$. On ne peut donc pas effectuer de mesurage pour des valeurs au dessus de m_{\max} .

Le seuil ou limite de détection correspond à la valeur minimale du mesurande nécessaire pour obtenir une grandeur de sortie non nulle : pour $m=m_0$, S correspond au bruit de fond de la mesure.

$$S = LOD = 3.3 * SD/s \quad (1)$$

Avec SD : l'écart type de la réponse.

S : La pente.

En résumé, on ne peut mesurer que des mesurandes compris entre m_0 et m_{\max} .

- **Domaine de linéarité:**

Dans ce domaine de linéarité, la variation de la grandeur de sortie est proportionnelle à la variation du mesurande.

- **Sensibilité:**

La sensibilité (s) est une caractéristique importante pour l' exploitation et l' interprétation des mesures. Elle est définie comme étant la variation du signal de sortie (S) par rapport à la variation du mesurande (m) (pente de la portion linéaire de la courbe d'étalonnage) et s'écrit:

$$S = \frac{\Delta S}{\Delta m} \quad (2)$$

- **Temps de réponse :**

La rapidité est caractérisée par le temps que met le capteur à réagir à une variation brusque du mesurande. Cependant la valeur finale étant le plus souvent atteinte de manière asymptotique, elle correspond au temps nécessaire pour que le capteur délivre une certaine portion α de la pleine amplitude du signal. Le temps de réponse noté t_α est tel que α vaut généralement 90%. La connaissance du temps de réponse d'un capteur est un élément essentiel lors de la réalisation de mesures.

- **Résolution - Précision :**

C'est la plus petite variation de mesurande que peut détecter le capteur.

- **Reproductibilité ou répétabilité :**

Ce paramètre est probablement le plus important, tant pour les capteurs physiques que chimiques. C'est l'aptitude d'un capteur à donner, dans des conditions définies, des réponses très voisines lors de la mesure répétée d'une même valeur du mesurande. Pour une fabrication de capteurs, on définit la reproductibilité d' un capteur à l'autre.

Toute mesure sera entachée d'une erreur qu'il est important de connaître.

- **L'erreur systématique.** Elle est toujours dans le même sens et de la même amplitude. On peut la détecter en effectuant des mesures avec un autre appareillage.

- **L'erreur accidentelle.** possède une amplitude et un sens aléatoires. Ses causes peuvent être variées.

Les outils mathématiques qui permettent de déterminer l'erreur sont:

la valeur moyenne de m mesures est :

$$\langle m \rangle = \frac{\sum_{i=1}^n m_i}{n} \quad (3)$$

L'amplitude de la dispersion est donnée par l'écart type:

$$\sigma = \frac{\sqrt{\sum_{i=1}^n (m_i - \langle m \rangle)^2}}{n-1} \quad (4)$$

Loi de Gauss : La probabilité d'obtenir comme résultat d'une mesure une valeur comprise entre m_1 et m_2 est : Où $p(m)$ est la densité de probabilité

$$p(m_1 - m_2) = \int_{m_1}^{m_2} p(m) dm \quad (5)$$

Où $p(m)$ est la densité de probabilité :

$$p(m) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{(m_i - \langle m \rangle)^2}{2\sigma^2}\right) \quad (6)$$

- **Sélectivité :**

Un capteur est dit sélectif, si la variation du signal de sortie est due uniquement à la seule grandeur (physique, chimique, biologique...) qu'on veut mesurer.

- **Grandeurs d'influence :**

Les grandeurs d'influence sont les paramètres qui influent sur le signal de sortie du capteur. On retrouve les grandeurs de type mécanique (variations de pression, les forces qui provoquent des déformations...) ou thermique (variation de température qui engendre la dilatation des corps et la modification des propriétés électriques tels que le changement de conductibilité et de caractéristiques diélectriques) mais aussi des grandeurs électriques (paramètres électriques, tels que courant, tension, fréquence, des circuits d'alimentation du capteur).

Dans le cas des capteurs chimiques et des biocapteurs, la présence d'espèces différentes de l'espèce cible peuvent influencer le signal de sortie du capteur.

2.4 Fonctionnalisation de surface et transduction

2.4.1 Fonctionnalisation de surface :

2.4.1.1 Définition

Optimisation et/ou ajout de caractéristiques de surface sur une pièce métallique ou polymère pour en améliorer les propriétés et les performances ou lui conférer de nouvelles fonctions. Les technologies de fonctionnalisation de surface se répartissent en trois grandes familles :

- Revêtements, traitements de surface et fonctionnalisation par voie liquide, traitement chimique, procédés électrolytiques en milieux aqueux ou en liquides ioniques, électrophorèse, dépôts électrochimiques composites, sol-gel chargés...
- Revêtements, films minces, traitements de surface et fonctionnalisation par voie sèche : Plasma, vapeur (PVD, CVD, CVI, ...), rayonnements ionisants, traitements thermiques, traitements thermochimiques (nitruration, cémentation, carbonituration), projection de poudre (Cold Spray)...
- Micro-nanostructuration de surface par voie physique : texturation et structuration à différentes échelles par laser, grenailage, micro-usinage, etc.

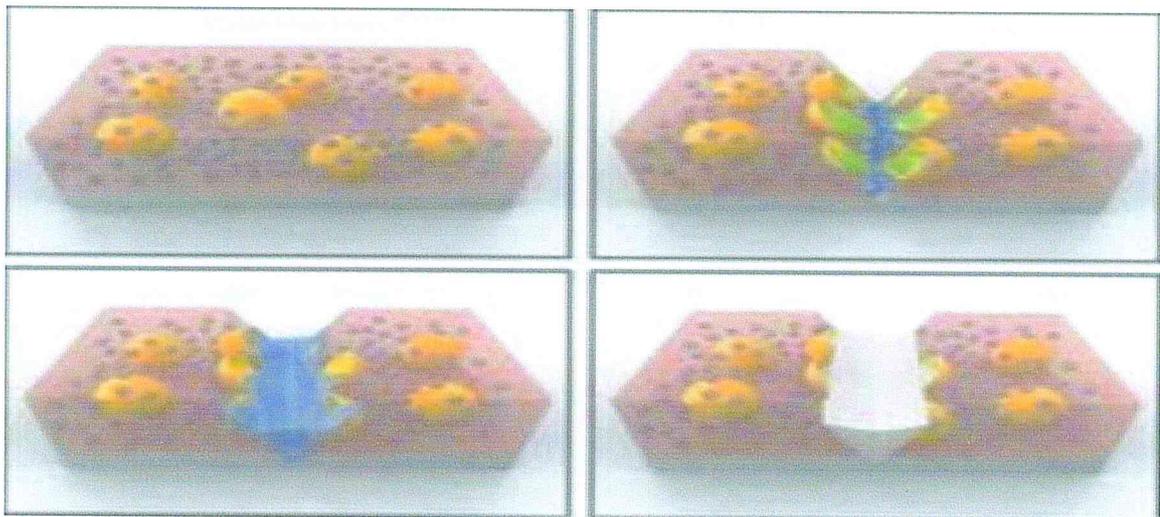


Figure 2. 4: Revêtement cicatrisant : les capsules de catalyseur (jaune) et de polymère (bleu) se brisent. Le liquide polymérise et emplit la rayure [31].

2.4.1.2 Avantages

- **Sur le plan économique :**

- ✓ Elargir l'offre industrielle par des produits novateurs et différenciateurs
- ✓ Possibilité de « reconverter » des produits en leur donnant une autre fonction et s'ouvrir ainsi de nouveaux marchés.
- ✓ Limiter l'usure, et par voie de conséquence la chaleur à évacuer, réduit considérablement les coûts de maintenance.
- **Sur le plan technologique :**
 - ✓ Doter de nouvelles fonctions aux matériaux, pour répondre à des objectifs multiples. d'utilisation (frottement, étanchéité, design esthétique, électrique, optique, hydrophobie et oléophobie, antireflet, adhérence, antibactérien, anti-contrefaçon, anticorrosion, antigivrage, anti-grafti, anti-rayure, ignifugation, nettoyabilité,...).
 - ✓ Possibilité de combiner des fonctions.
 - ✓ Augmenter la durabilité de l'intégrité des surfaces vis-à-vis des sollicitations de service.
 - ✓ Diminuer le coût énergétique de fonctionnement par des caractéristiques tribologiques maîtrisées. Un tiers de la consommation d'énergie des transports sert à vaincre les frottements.

2.4.2 Transduction

2.4.2.1 Définition

Le transducteur représente l'élément physique du biocapteur. Il sert à exploiter la modification biochimique issue d'une interaction entre un analyte et le biorécepteur pour la transformer en signal électrique. Suivant le type de modification biochimique, on choisira le type de transducteur approprié pour exploiter au mieux l'effet créé par le biorécepteur en présence de l'espèce cible et obtenir un signal sensible, facilement exploitable et avec un minimum de bruit de fond. Un faible bruit de fond au niveau du transducteur assurera un seuil de détection plus bas et améliorera les performances du biocapteur.

Différents systèmes de transduction, basés sur des principes différents, sont généralement utilisés afin de convertir la reconnaissance moléculaire en un signal électrique exploitable. D'une part, des transducteurs non spécifiques et applicables peuvent être employés, indiquant des paramètres généraux tels que l'enthalpie de réaction (thermistance), le changement de la masse (cristal piézoélectrique), ou l'épaisseur de couche (réflectométrie).

2.4.2.2 Transducteur électrochimique

Les capteurs électrochimiques sont classés selon leur mode de transduction (potentiométrique, ampérométrique, conductimétrique ou impédimétrique). Le principe de base d'une mesure électrochimique repose sur le fait que certaines substances électroactives en solution (molécules ou ions) peuvent échanger des électrons avec une électrode, ceci dans des conditions analytiques bien définies en particulier par le potentiel auquel cet échange a lieu. Les différents principes exigent toujours une conception spécifique de la cellule électrochimique.

2.5 Biocapteurs ampérométrique

Les biocapteurs ampérométriques consistent généralement en une électrode dont la surface est recouverte d'un bio-film dans lequel sont immobilisées des biomolécules. Dans ce système, l'électrode est maintenue à un potentiel constant permettant d'obtenir l'électro-oxydation (ou la réduction) de l'un des produits de la réaction enzymatique à la surface de cette dernière générant ainsi un courant électrique dont l'intensité, dans certaines conditions, est proportionnel à la concentration en solution de l'espèce à doser. L'ampéremètre est parmi les modes de transduction les plus utilisés pour la mise en œuvre de biocapteurs. La plupart des travaux publiés sur les biocapteurs ampérométriques à base d'enzymes concernent le dosage du glucose dans le sang. Les biocapteurs ampérométriques ont été divisés en trois générations :

Les biocapteurs de première génération ont été proposés par Clark et Lyon [19] et mis en application par Updike et Hicks, qui ont développé une électrode enzymatique permettant le dosage de glucose dans une solution biologique [20](La diminution de la concentration d'oxygène mesurée était proportionnelle à la concentration en glucose). Les idées de *Clark* sont devenues réalité commerciale en 1975 avec la relance réussie (premier lancement 1973) de l'analyseur de glucose par *Yellow Springs Instrument Company (Ohio)* basé sur la détection ampérométrique du peroxyde d'hydrogène.

Les biocapteurs de seconde génération emploient un médiateur permettant le transfert d'électrons, qui remplace l' O_2 . Différents médiateurs ont été employés comme le ferrocène, les quinones, colorants de *quinoidlike*, sels organiques conducteurs, et les viologènes... L'élimination de la dépendance par rapport à

l'oxygène de la première génération, a permis de mieux contrôler la réaction enzymatique et les performances du capteur.

Les biocapteurs ampérométriques de troisième génération sont marqués par la progression d'un système où le médiateur est libre vers un nouveau où l'enzyme et le médiateur sont Co-immobilisés sur la surface de l'électrode. La Co-immobilisation de l'enzyme et du médiateur peut être accomplie par l'immobilisation préalable du médiateur de l'enzyme suivie de l'immobilisation de l'enzyme : l'immobilisation des enzymes dans un polymère redox, ou l'immobilisation de l'enzyme et du médiateur dans un polymère conducteur. Ces biocapteurs de troisième génération offrent tous les avantages des capteurs de seconde génération, avec de nouvelles caractéristiques. En effet, ces nouveaux biocapteurs présentent une nouvelle autonomie puisque ni l'enzyme ni le médiateur ne doivent être ajoutés dans le milieu de mesure ce qui facilite la réalisation de mesures répétées.

2.6 Biocapteur impédancemétrique

Le principe de ce type de capteur électrochimique repose sur la mesure de l'impédance d'une cellule électrochimique par la technique de spectroscopie d'impédance. Cette technique permet de contrôler le processus de transfert de charge à l'interface électrode / électrolyte. Pratiquement, la mesure de l'impédance effectuée dans une cellule à trois électrode, une électrode indicatrice sur laquelle est déposé l'élément sensible (biorécepteur), une électrode de référence et une électrode auxiliaire (figure 2. 5). En effet, un potentiel imposé avec une perturbation sinusoïdale de faible amplitude, entre l'électrode de référence et l'électrode indicatrice, permet la mesure d'un courant, de la même forme, généré entre l'électrode indicatrice et l'électrode auxiliaire. Le rapport de la tension appliquée à l'intensité du courant mesuré définit l'impédance du système électrochimique. Cette impédance peut être représentée par un circuit électrique équivalent selon le type du système (système faradique ou système non faradique). Ce circuit permet d'exprimer les paramètres électriques qui définissent le phénomène de transfert de charge qui se produit à l'interface électrode/ électrolyte. Dans un système de biocapteur ces paramètres varient lorsqu'il y aura des changements inter faciaux provenant des interactions biomoléculaires à la surface de l'électrode indicatrice.

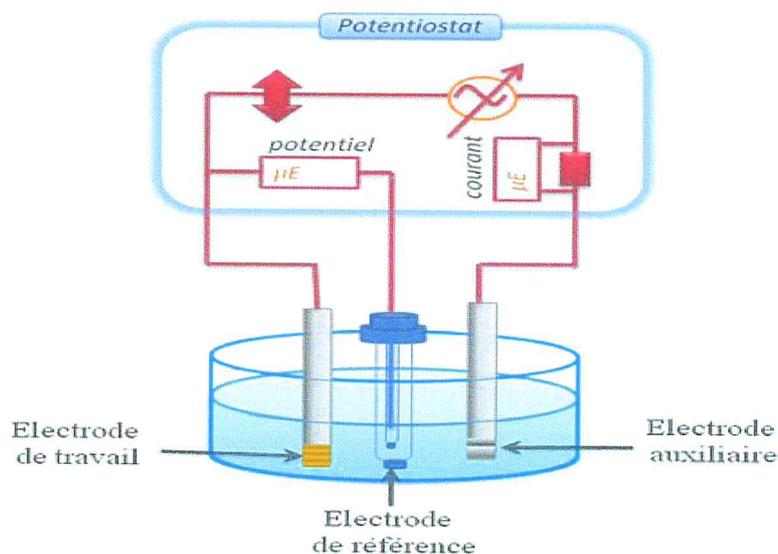


Figure 2. 5: Schéma de principe des mesures impédimétriques [9].

Les biocapteurs impédimétriques s'appliquent avantageusement aux réactions mettant en jeu des phénomènes d'affinité moléculaire de type antigène-anticorps ou chémorécepteurs membranaires car de faibles variations de conductance et de capacitance peuvent être décelées à l'interface entre l'électrode et le substrat immobilisé.

Pour des applications immunologiques, selon la nature du signal de mesure, l'impédance des immunocapteurs peut être classifiée en deux catégories principales :

Impédance capacitive où la surface de l'électrode est complètement couverte par une couche diélectrique et l'électrode entière se comporte comme isolant plus ou moins parfait. Dans ce type de capteur, aucun couple redox n'est présent dans la solution de mesure. Dans ce cas les interactions antigène-anticorps causent une diminution de la capacité selon l'équation suivante :

$$C = \frac{A\epsilon\epsilon_0}{d} \quad (7)$$

Avec ϵ la permittivité relative du diélectrique, ϵ_0 permittivité diélectrique du vide, A l'aire de l'électrode et d est l'épaisseur de la couche isolante.

Impédance faradique où la surface de l'électrode, qui est partiellement ou complètement couverte par une couche non isolante, ou partiellement couverte par une couche isolante capable de réagir avec les couples redox, qui existent dans la solution de mesure. Dans ce cas-ci, le paramètre mesuré est la résistance de

transfert de charge, les interactions antigène- anticorps causent une augmentation de sa valeur. En général, les immunocapteurs impédimétrique faradiques montrent une sensibilité plus élevée à l'interaction antigène- anticorps. Cependant, l'espèce redox peut avoir un effet sur la stabilité et l'activité de l'électrode assemblée.

Comme application, ce type de capteur a été employé pour les capteurs de gaz, et dans le domaine biologique, il a été largement appliqué dans les immunocapteurs et les capteurs génétiques. Dans le domaine immunologique, on trouve par exemple des immunocapteurs, basés sur des électrodes de niobium, pour la détection de l'atrazine [38]. Récemment, des immunocapteurs ont été développés pour la détection de l'aflatoxine B.

2.6 Biocapteur potentiométrique

Le potentiomètre est une méthode électrochimique basée sur la mesure de la différence de potentiel entre une électrode de mesure et une électrode de référence. La détermination des potentiels des électrodes permet de mesurer directement la concentration de l'analyte à doser [12]. Dans ce type de système, un équilibre local est établi à la surface du capteur et conduit à la génération d'un potentiel proportionnel au logarithme de la concentration (activité) de l'échantillon selon la loi de Nernst (voir équation ci-après) :

$$E = E_0 + \frac{RT}{zF} \ln a \quad (8)$$

Ou :

E : Différence de potentiel qui s'établit, à l'équilibre à l'interface entre le capteur et la solution de mesure.

E_0 : Potentiel standard de l'espèce considérée.

R : Constante des gaz parfaits.

a : Activité de l'ion à mesurer.

T : Température absolue en Kelvin.

z : Valence de l'ion.

F : Constante de Faraday.

Les premiers transducteurs potentiométriques utilisés sont : les électrodes de verre pour la mesure du pH ou des ions monovalents, les électrodes spécifiques sensibles aux anions et aux cations et les électrodes à gaz telles que l'électrode à

CO_2 ou NH_3 . Ces électrodes se prêtent facilement à la réalisation de biocapteurs. La mesure du potentiel se fait par l'intermédiaire d'une électrode de référence dont le potentiel est constant et pris comme origine. En général, c'est l'électrode au calomel qui est utilisée. Elle est plongée dans la solution et disposée à côté du biocapteur. Le deuxième type de capteurs potentiométriques sont les transistors à effet de champ (*FET-Field-Effect Transistor*). La méthodologie d'*ISFET* (transistor à effet de champ sélectif aux ions) (figure 2.6) pour la mesure d'ions s'est développée sur la base du transistor MOSFET (transistor à effet de champ à base de métal/oxyde/silicium). Et c'est grâce à ce transistor que *Bergveld* a montré que l'utilisation de dispositifs dont le principe repose sur l'effet de champ est possible en milieu électrolytique [13]. L'isolante silice est alors directement au contact de la solution électrolytique et une chute de potentiel à sa surface devient témoin de modifications à l'interface isolant/solution. L'*ISFET* est donc, de par la nature de la surface de l'isolant, sensible au pH. Très vite, des efforts ont été concentrés afin de développer des membranes pouvant couvrir l'isolant et ainsi obtenir des capteurs sensibles à d'autres ions [14].

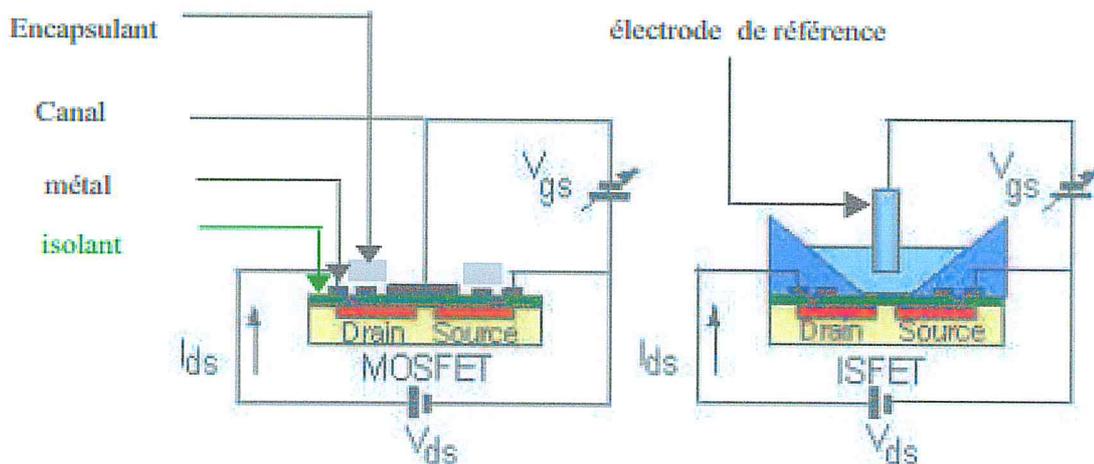


Figure 2. 6: Représentation schématique des transistors MOSFET et ISFET [10].

2.7 Biorécepteur

Plusieurs biorécepteurs ont été utilisés comme élément de reconnaissance moléculaire pour le développement de divers biocapteurs.

L'élément de reconnaissance biologique (ou biorécepteur) peut être :

✓ Un élément de reconnaissance biocatalytique : dans ce cas, la réponse du biocapteur est basée sur une réaction catalysée par les macromolécules qui sont

présents dans leur environnement biologique naturel, qui ont été préalablement extraits ou qui ont été produits dans des microorganismes. Ainsi, la consommation continue du (des) substrat(s) est assurée par le biocatalyseur immobilisé à la surface du transducteur. Des réponses dynamiques ou après que l'état stationnaire du signal soit atteint, sont enregistrées à l'aide du transducteur intégré.

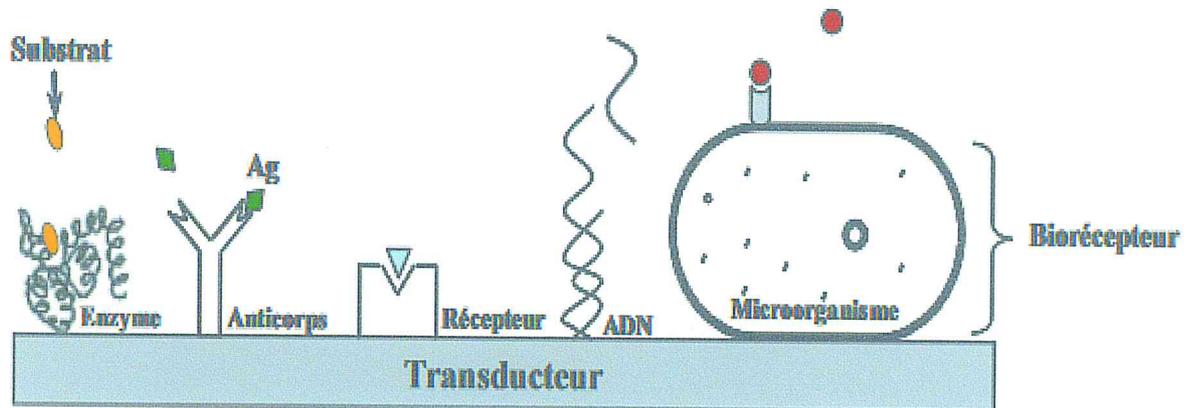


Figure 2. 7: Représentation schématique des différents bio récepteurs [11].

Trois types de biocatalyseurs sont généralement utilisés : (a) Les enzymes : le bio-récepteur le plus utilisé et le mieux développé à l'échelle industrielle. (b) Cellules entières (micro-organismes, tels que les bactéries, *mycètes*, levures, ou cellules eucaryotes) ou organelles de cellules ou particules (mitochondries, paroi cellulaire). (c) Partie de tissu (tissu végétal ou animal). Les biocapteurs faisant intervenir un élément de reconnaissance biocatalytique sont les plus utilisés et seront le type de biocapteurs auxquels on s'est intéressé dans ce travail.

- Un élément d'affinité biologique ou de bio-complexations : dans ce cas la réponse du biocapteur est basée sur l'interaction de l'analyte avec des macromolécules. Ainsi, un équilibre est généralement atteint et il n'y a aucune autre consommation nette d'analyte par l'agent complexant immobilisé. Ces réponses à l'équilibre sont aussi suivies par le transducteur qui est en contact étroit avec le bio-récepteur. La plupart des biocapteurs se basant sur ce type de reconnaissance utilisent des systèmes anticorps/antigènes [15]. Cependant, plus récemment, des biocapteurs utilisant des systèmes récepteurs/antagoniste ont été développés (ex les chémorécepteurs).

Les Anticorps :

Les anticorps sont généralement immobilisés chimiquement à la surface du transducteur. L'immobilisation doit être judicieusement contrôlée afin d'assurer une orientation uniforme des sites récepteurs pour une réaction d'affinité optimale. L'interaction avec un antigène ou haptène est spécifique et sa détection peut être amplifiée à l'aide de marqueurs fluorescents ou enzymatiques. Les immunocapteurs résultants ont été notamment appliqués pour la détection de plusieurs pathogènes : Le *gionellapneumophila* à l'aide d'un biocapteur se basant sur la résonance plasmatique de surface *Amylobacters jejuni* à l'aide d'un immunocapteurs ampérométrique, *Salmonella* à l'aide d'un biocapteur ampérométrique comme dans les travaux de Gehring et al. [16] ou d'un immunocapteur optique comme dans les travaux de Kim et al [17].

Les récepteurs :

Les différentes cellules de l'organisme reçoivent les informations nécessaires à la modulation de leur activité par l'intermédiaire de signaux et de molécules extracellulaires. Ces dernières, que ce soient des hormones, des neurotransmetteurs, des molécules d'odorants ou bien des facteurs de croissance, viennent la plupart du temps se lier à des protéines réceptrices qui font partie intégrante de la membrane plasmique de la cellule cible, et qui vont permettre la transmission de l'information à l'intérieur de la cellule. Les récepteurs membranaires, eux, constituent l'interface entre un stimulus extracellulaire et sa perpétuation dans le cytosol. Ces récepteurs appartiennent à plusieurs classes de protéines, que l'on peut différencier selon leur mode d'action et leur structure moléculaire :

✓ Une première classe de récepteurs comprend les canaux ioniques actives par un ligand, comme par exemple les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine, les récepteurs de la glycine et les canaux P2X activés par l'ATP.

✓ Une deuxième classe regroupe les récepteurs comportant une activité enzymatique associée, activable par la liaison du ligand. Cette activité enzymatique, de type tyrosine-phosphorylase, serine/thréonine-phosphorylase ou encore guanylate cyclase, peut être intrinsèque ou bien directement associée à la protéine réceptrice. Les récepteurs de l'insuline, du facteur de croissance des

fibroblastes(EGF), du facteur de croissance des neurones (NGF) ou encore du peptide na-triur étique atrial (ANP), en font partie.

✓ Enfin, la troisième grande classe aux nombreux représentants, est composée de récepteurs transfusant le signal par l'intermédiaire de protéines hétérotrimériques, les protéines-G, donc l'activation par la liaison du ligand à son récepteur va entraîner la modulation de l'activité de différents effecteurs intracellulaires. Ces derniers peuvent être des enzymes (adénylate cyclase, GMPc phospho-di estérase, phospholipides...), des canaux ou des échangeurs ioniques. Les récepteurs olfactifs appartiennent à cette classe.

Un grand nombre de travaux de recherche dans le domaine des récepteurs concerne les neurotransmetteurs, les antagonistes et les neurotoxines. Les neurotransmetteurs (ou chémorécepteurs), les récepteurs hormonaux et les récepteurs olfactifs sont les plus utilisés pour le développement de biocapteurs

Les cellules animales et végétales :

Certains biocapteurs ont été réalisés à partir de cellules animales et végétales (issues de cultures cellulaires) dont l'immobilisation sur des transducteurs potentiométriques (ISFET sensibles au pH) ou optiques (fibre optique) peut avantageusement être exploitée pour l'étude de l'influence de paramètres exogènes sur l'activité cellulaire [18].

Les enzymes :

Les enzymes sont des protéines globulaires qui jouent le rôle de catalyseurs biologiques, c'est-à-dire qu'elles règlent et accélèrent la vitesse des réactions biochimiques sans toutefois être modifiées ou détruites au cours de ces réactions. Les enzymes accélèrent 10³ à 10⁶ fois la réaction correspondante qui se déroulerait sans catalyseur.

En abaissant l'énergie d'activation de la réaction qu'elle catalyse, une enzyme abaisse le niveau énergétique de l'état de transition et accélère ainsi la réaction. Les enzymes ont une stéréospécificité tellement forte qu'elles effectuent des réactions leur permettant de choisir parmi différents énantiomères ou de discriminer d'autres groupes pratiquement identiques entre eux.

Certaines enzymes sont de nature purement protéique. D'autres sont formées de deux parties : une protéine et un cofacteur. Le cofacteur peut être l'ion d'un métal, notamment du cuivre ou du fer, ou une molécule organique nécessaire à la réaction. La plupart des cofacteurs organiques sont des dérivés des vitamines (surtout des vitamines du complexe B). Etant donné qu'ils travaillent en synergie avec les enzymes, ces cofacteurs sont appelés coenzymes.

Les microorganismes :

Après le développement considérable observé dans le domaine des capteurs enzymatiques depuis la première électrode mise en place par Clark et Lyon en 1962 [19], l'extension du développement de ces biocapteurs vers l'utilisation d'autres espèces biologiques actives tels que les microorganismes est naturelle. En effet, l'utilisation de cellules entières présente plusieurs avantages [20] :

- La bio sélectivité et la réactivité additionnelle de la membrane cellulaire peuvent être exploitées avantageusement.
- Possibilité de régénérer le biocatalyseur in situ sans nécessité de reconstruire le biocapteur.
- Avec l'avancement considérable dans les techniques de biologie moléculaire et de l'ADN recombinant, d'extraordinaires possibilités de transformer génétiquement des microorganismes en vue d'améliorer leurs activités enzymatiques ou de leur permettre d'exprimer de nouvelles activités ont amélioré davantage les performances des microorganismes.

2.8 Méthodes d'immobilisation

Dans un biocapteur, l'élément biologique est fixé au proche contact du transducteur ce qui permet une détection immédiate et très sensible du processus de reconnaissance moléculaire. De plus, l'immobilisation du bio-composé augmente sa stabilité et permet une réutilisation éventuelle du biocapteur. Plusieurs modes d'immobilisation de l'élément biologique peuvent être envisagés (figure 2.8).

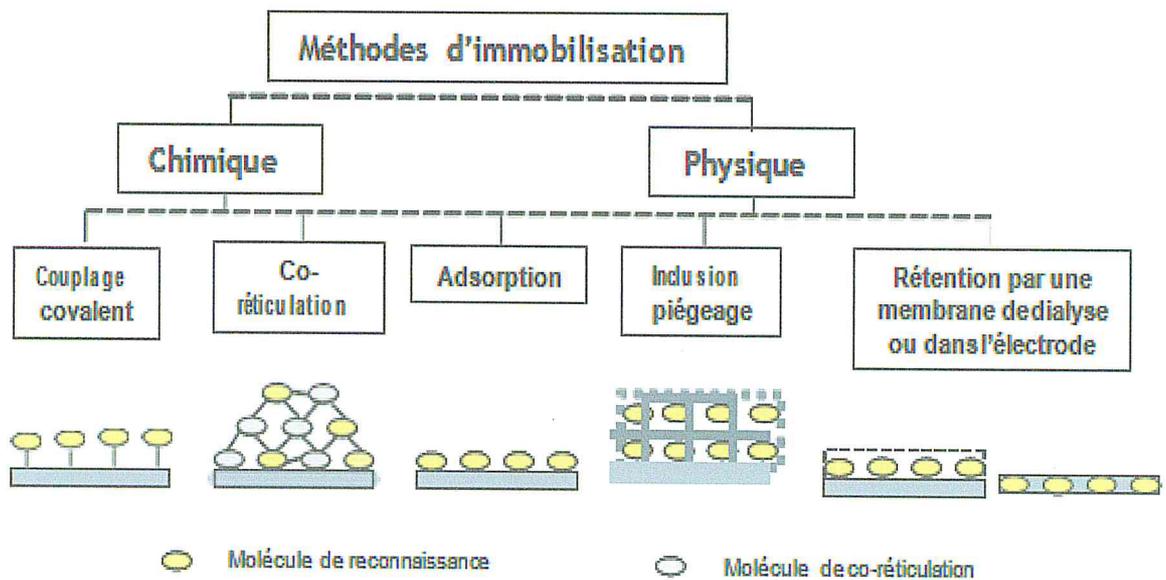


Figure 2. 8: Représentation schématique des différentes méthodes d'immobilisation de l'élément biologique [23].

Emprisonnement physique :

Les méthodes d'emprisonnement physique sont généralement utilisées pour immobiliser les cellules entières et notamment les micro-organismes en raison de leur taille relativement grande en comparaison des protéines. On peut les retenir dans des gels d'agar ou de *polyacrylamide*, mais également par l'intermédiaire des membranes de dialyse ou de filtration, telles que les membranes Millipore 0,22µm en ester cellulosique. On peut citer aussi l'immobilisation des cellules entières dans une suspension de collagène traitée par du *glutaraldéhyde* [12].

Adsorption :

L'adsorption est un phénomène de surface par lequel des atomes, des ions ou des molécules (adsorbats) se fixent sur une surface solide (adsorbant) depuis une phase gazeuse, liquide ou une solution solide [32]. Dans le cas d'un atome adsorbé, on parle d'adatome. Ce phénomène ne doit pas être confondu avec l'absorption dans lequel un fluide ou le composant d'une solution solide est absorbé dans le volume d'une autre phase liquide ou solide [33].

Ce processus est donc basé sur l'interaction de l'adsorbat avec une surface, ce qui peut faire intervenir divers processus plus ou moins intenses comme les

interactions de *Van der Waals*, les interactions dipolaires, ou les liaisons chimiques covalentes ou ioniques [34].

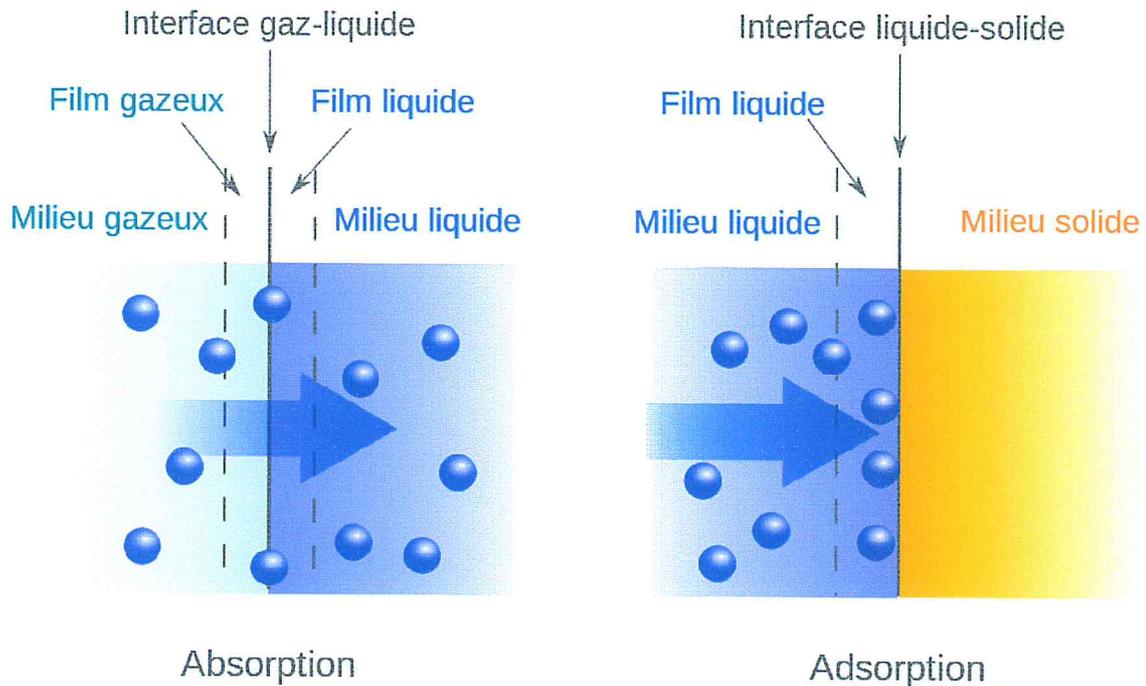


Figure 2. 9: Le phénomène d'adsorption et l'absorption [35].

L'adsorption repose sur la capacité de certains corps minéraux ou organiques à fixer une molécule donnée à leur surface. Elle est due à des interactions de type ionique, hydrophobe ou encore des liaisons hydrogène entre l'enzyme et la surface du transducteur, par l'intermédiaire d'un matériau actif. Les matériaux actifs peuvent être des résines échangeuses d'ions anionique ou cationique, du charbon de bois actif, des gels de silice, de l'argile, de l'oxyde de l'aluminium, du verre poreux ou des céramiques. Cette technique permet une immobilisation simple et non dénaturante de l'enzyme. Elle présente plusieurs avantages. C'est une méthode très simple à mettre en œuvre nécessitant seulement de mettre en contact l'enzyme et le support dans des conditions de pH, température et de force ionique données. De plus elle est facilement réversible, économique et ne requiert aucun réactif chimique pouvant dénaturer l'enzyme. Cependant, elle présente un inconvénient majeur puisque, du fait des interactions faibles liant l'enzyme au support, ces systèmes sont peu stables, l'enzyme se désorbant au cours du temps. La stabilité et la durée de vie des biocapteurs sont donc diminuées.

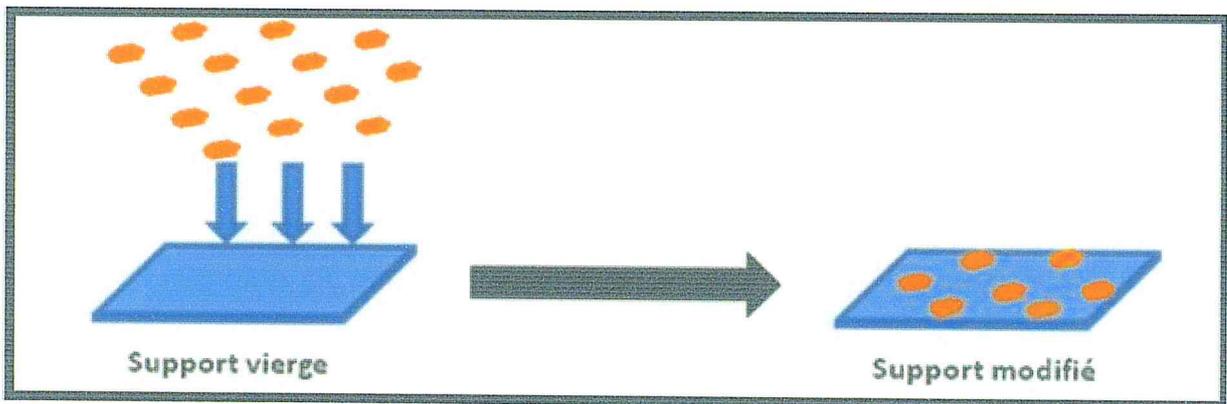


Figure 2. 10: Adsorption d'enzymes sur un support [24].

Liaison Covalente :

Cette méthode a été surtout utilisée avec les enzymes. Le couplage covalent pour l'immobilisation des enzymes se base sur la formation de liaison covalente entre les molécules d'enzymes et le support. Il est important que les acides aminés essentiels à l'activité catalytique de l'enzyme (notamment ceux du site actif) ne soient pas impliqués dans le couplage covalent au support. Étant donné la difficulté de réaliser ceci, les enzymes immobilisées par cette méthode perdent généralement une partie de leurs activités. Ce problème peut être évité si l'enzyme est immobilisée en présence de son substrat, une étape du procédé qui tendrait à avoir un effet protecteur sur le site catalytique de l'enzyme pendant l'immobilisation. Avant le couplage covalent de l'enzyme sur le support, ce dernier doit être activé. Une fois activé, le support peut alors réagir avec les groupes réactifs de l'enzyme [25].

Réticulation :

La réticulation repose sur l'utilisation d'agents dit réticulant qui va permettre de lier les enzymes entre elles par des liaisons chimiques. Il existe deux méthodes de réticulation, soit les enzymes sont reliées entre elles par des agents réticulant de façon directe, soit en plus de l'agent réticulant une protéine inerte peut être utilisée afin de faciliter ou améliorer la réticulation, on parle alors de Co-réticulation (figure 2.11). L'utilisation de cette protéine permet, par une meilleure répartition des masses des différentes protéines, une meilleure maîtrise de l'activité enzymatique sans altérer les propriétés mécaniques des membranes obtenues. Cependant, à cause de la réaction chimique, une perte d'activité enzymatique de la membrane Co-réticulée peut être observée pendant les mesures. Cette méthode d'immobilisation présente

l'avantage d'être assez simple à mettre en œuvre et de plus de par les liaisons chimiques, elle offre une bonne stabilité au système. Néanmoins les propriétés physiques du système sont modifiées, leur donnant des propriétés mécaniques médiocres.

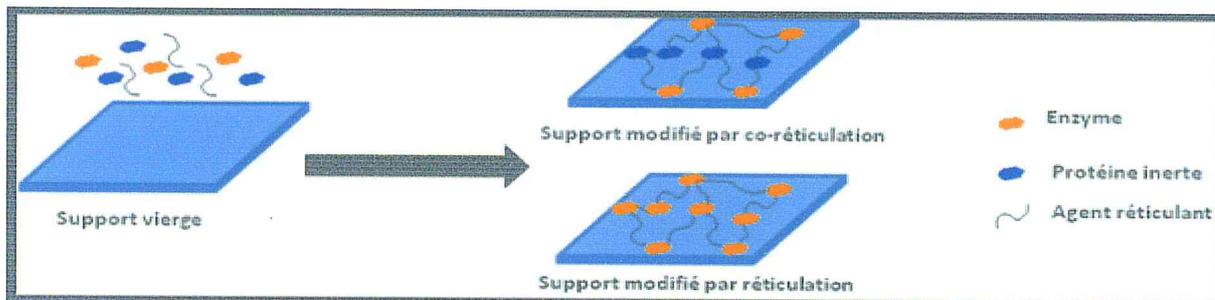


Figure 2. 11: Réticulation et Co- Réticulation des enzymes [24].

2.9 Procédés de microfabrication

- Gravure Silicium: RIE / DRIE + assemblage avec substrat.

Il est possible de graver le silicium (matériau de la micro-électronique) de manière à obtenir des canaux microfluidique, qu'il faut ensuite refermer. Les principes technologiques de la gravure du silicium sont le procédé RIE (gravure ionique réactive) et le procédé DRIE (gravure réactive profonde) [51].

L'utilisation de silicium permet d'avoir un réseau qui puisse supporter une pression importante (>5 bars) et véhiculer des liquides dits corrosifs (acide...).

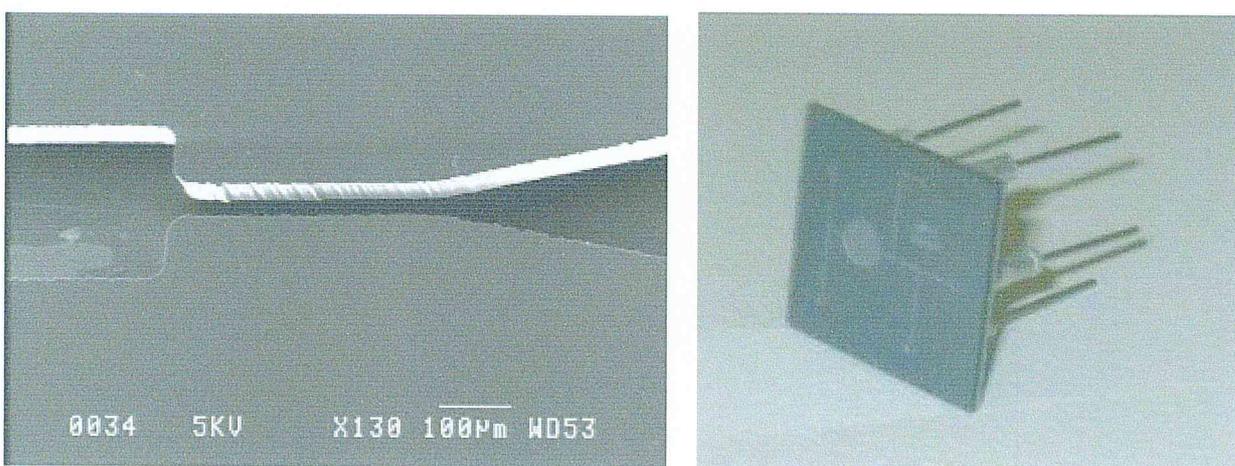


Figure 2. 12 : Exemples de réalisations de canaux microfluidique en silicium (gravure DRIE) [26].

- Moulage de Polymère : cas d'un élastomère.

Un élastomère est un polymère qui après réticulation (polymérisation) se comporte comme un élastique. En microfluidique, on utilise principalement du *PolyDiMéthylSiloxane* (PDMS) pour ses propriétés de transparence, de facilité de

mise en forme et de biocompatibilité (forte porosité à l'air). On exploite son élasticité pour intégrer des éléments flexibles au sein des canaux. Pour sa mise en forme, on réalise un moule obtenu par photolithographie, à l'aide de résine épaisse (jusqu'à 200 microns –résine type SU8).

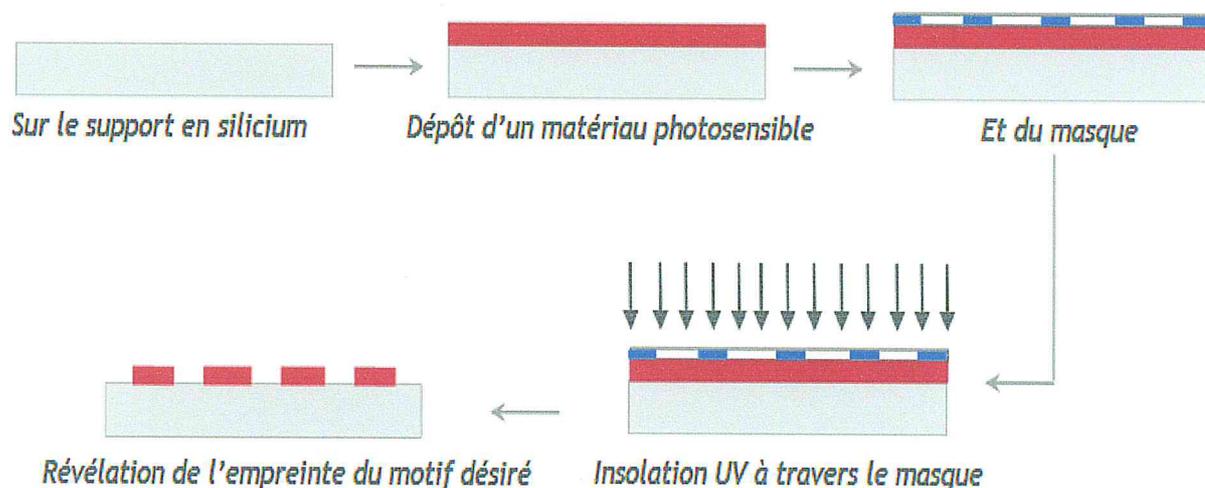


Figure 2. 13: Les différentes phases de réalisation du moule par photolithographie [27].

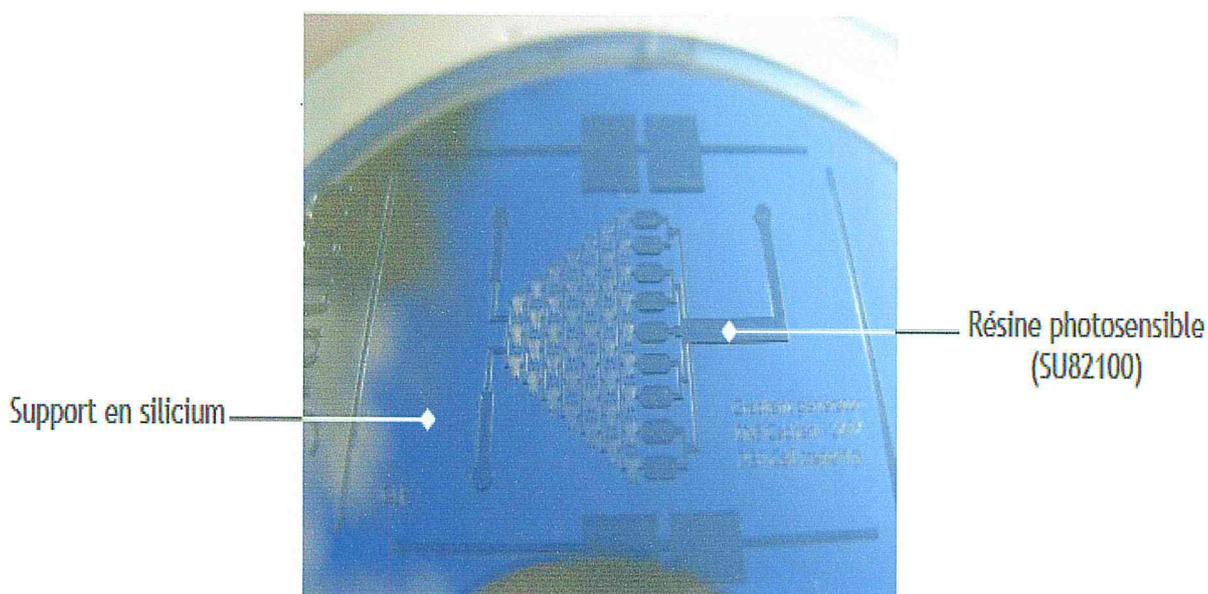


Figure 2. 14: Exemple d'un moule permettant la réalisation du générateur de gradient [27].

Le PDMS (élastomère) est alors «coulé» sur les motifs du moule et, en réticulant, on obtient une empreinte dans le PDMS (figure 2.15 et figure 2.16). Après perçage des trous d'accès fluide, le PDMS est collé sur une plaque de verre afin

de refermer les canaux (figure 2.17). Il ne reste plus qu'à placer des tubes pour y injecter les liquides à l'aide soit de pousse-seringues, ou sous pression contrôlée.

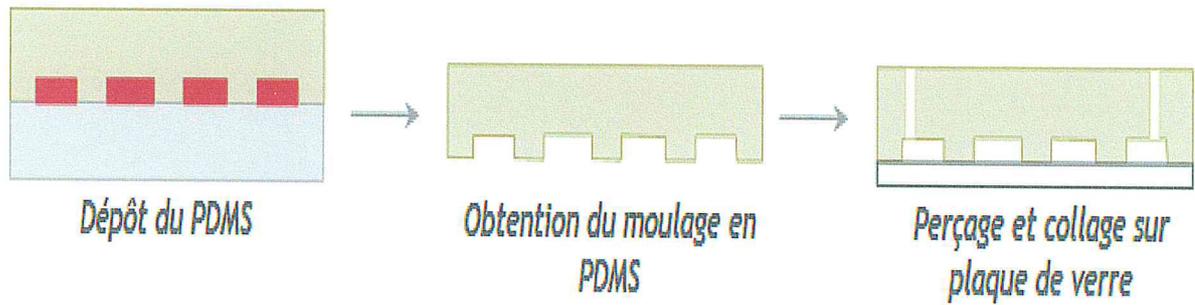


Figure 2. 15: Moulage et finalisation du PDMS [27].

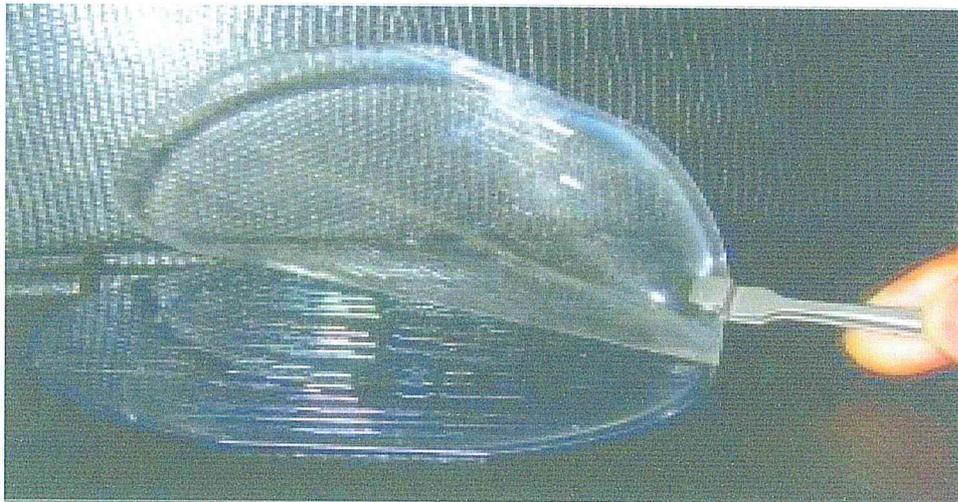


Figure 2. 16:Exemple de démoulage [27].

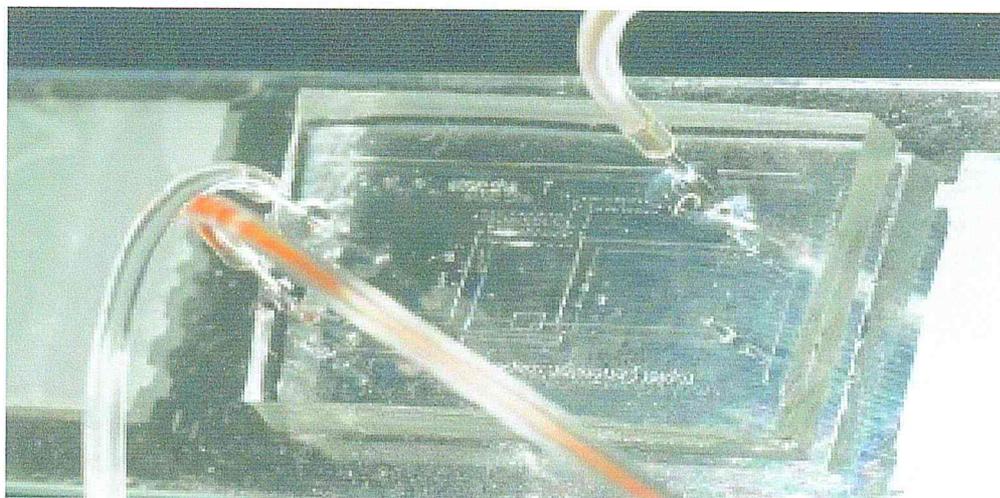


Figure 2. 17:Exemple de réalisation finalisée [27].

- Cas de thermoplastique – Hot embossing ou gaufrage à chaud

L'utilisation de thermoplastique est un procédé que l'on retrouve dans l'industrie de part son fort potentiel de production en volume. Un thermoplastique (rigide à température ambiante) voit son module de Young chuter très fortement au delà d'une température dite «vitreuse», il devient alors viscoélastique. On exploite ce phénomène pour imprimer en relief un motif (canal microfluidique) sur la surface d'un polymère thermoplastique.

Le polymère est chauffé au-delà de sa température vitreuse afin qu'il soit dans sa phase viscoélastique. Le motif, en relief et en négatif est alors appliqué sous pression sur le polymère et y est transféré. En maintenant la pression, on rabaisse la température sous la température vitreuse, le polymère garde alors le relief une fois refroidi.

Le procédé peut s'industrialiser très facilement : un film polymère circule entre deux rouleaux presseurs chauffés, l'un des deux comportant le motif en relief .

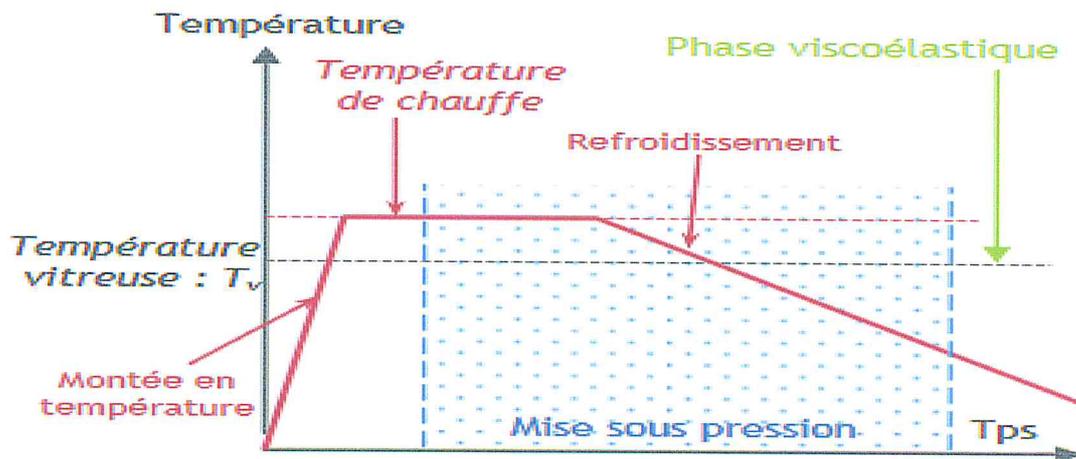


Figure 2. 18: Courbe de température du polymère lors du gaufrage à chaud [27].

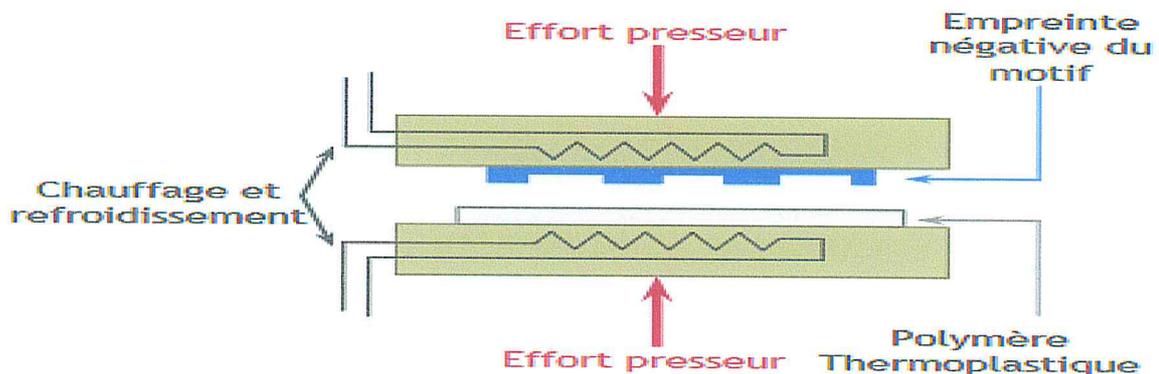


Figure 2. 19: Schéma de principe de la production par «hot embossing » [27].

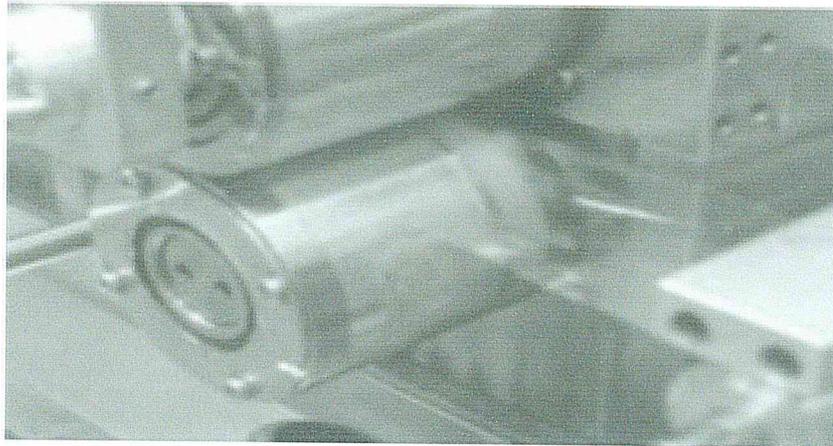


Figure 2. 20: «Hot embossing» industriel [27].

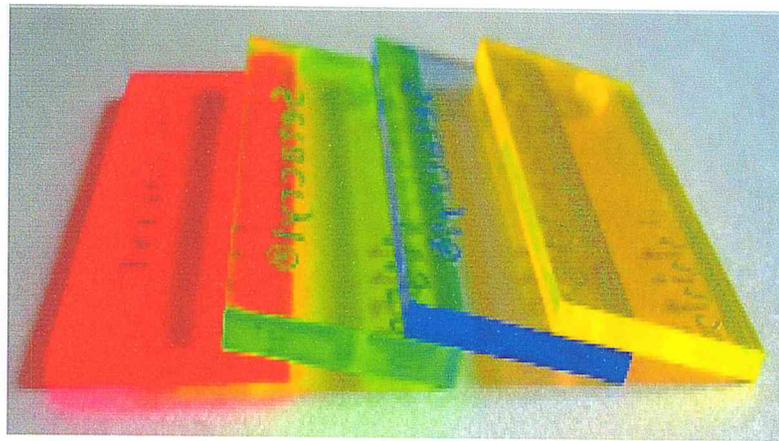


Figure 2. 21: Exemples de produits réalisés [27].

- Microfabrication par plasma froid :
Polymérisation plasma : un nouvel outil de microfabrication :

La polymérisation plasma pour l'amino-fonctionnalisation de la surface des Bio-MEMS. Ces derniers ont été cependant fabriqués par les procédés classiques disponibles en salle blanche (dépôt de résine par tournette «*spin coating*», photolithographie, gravure humide ou sèche, collage des différents substrats). Dans l'objectif de réaliser le maximum d'étapes avec les procédés plasma et éviter l'étape de collage très onéreuse, il y a une nouvelle méthode de fabrication des systèmes microfluidique appelée PPSL (*plasma polymérisation on sacrificiel layer*) ou PPMS (*plasma polymérisation on micropatterned surfaces*). Cette méthode consiste à réaliser des microcanaux par une polymérisation plasma d'un monomère organosilicié directement sur une surface micro-structurée (par dépôt de couche sacrificielle ou par simple gravure).

Applications du plasma froid en bio-microtechnologies :

L'industrie microélectronique est plus généralement micro-technologique est basée en grande partie sur des plasmas à température de gaz relativement élevée (>300 °C). Les procédés de microfabrication contiennent souvent une ou plusieurs étapes de gravure ou de dépôt par plasma [36]. La gravure plasma (dite sèche) est réalisée grâce à des ions accélérés à des énergies de 50 à 1000 eV. Les exemples les plus courants sont les procédés RIE (*reactive ion etching*), ICP (*inductive coupled plasma*) et l'usinage ionique. Les dépôts par plasma peuvent se faire selon différentes approches incluant l'épithaxie par jets moléculaires (MBE ; *molecular beam epitaxy*), l'épithaxie en phase liquide (LPE; *liquid phase epitaxy*), le dépôt chimique en phase vapeur (CVD; *chemical vapor deposition*), et le dépôt par pulvérisation cathodique ou magnétron. En plus de ces procédés automatisés, la fabrication de bio-MEMS nécessite d'autres étapes pour la micro-structuration, le collage et la fonctionnalisation de surface. Autant d'étapes qui restent en grande partie manuelles et requièrent le plus souvent l'usage de solvants organiques et halogéniques.

Au cours de cette dernière décennie, les plasmas froids à température ambiante, particulièrement la polymérisation plasma ont rejoint les procédés de fabrication en salle blanche pour apporter de nouvelles alternatives à travers un procédé sec, rapide et facilement maîtrisable [37]. La polymérisation plasma est actuellement utilisée pour déposer des films minces ou des polymères organiques, organométalliques ou organosiliciés à des fins très variées. Les films peuvent assurer une fonction de support pour des circuits électriques ou électromagnétiques [38], de collage ou de protection. D'autres applications plus élaborées sont également rapportées, telles que la fonctionnalisation chimique de surface [39], et l'usage des films polymères comme élément de détection. Cette dernière application est l'une des plus récentes et se base sur les différentes capacités de ces films: sensibilité spécifique, caractéristique redox ou réactivité électronique ou électromagnétique [40].

En perspective pour la décennie prochaine, nous estimons que l'évolution des applications du plasma froid en bio-microtechnologie va se faire sur trois axes importants et très dépendants.

Le développement de nouvelles applications: le besoin de production à l'échelle industrielle pousse la recherche à trouver des moyens d'intégrer toutes les étapes de microfabrication dans un procédé automatisé avec le minimum d'intervention humaine. Après le traitement de surface et le dépôt de polymères par plasma, d'autres étapes commencent à intégrer les procédés plasma. L'une des deux applications les plus récentes concerne le dépôt d'entités biologiques (protéines, ADN) directement par plasma sur des surfaces préalablement activées [41]. La première start-up technologique vient d'ailleurs d'être créée dans ce domaine [42]. La seconde application est la microfabrication de circuits microfluidique par un dépôt plasma sur une surface micro-structurée.

Le basculement vers les plasmas atmosphériques: le plus grand handicap de l'application des plasmas en industrie des Bio-MEMS est le travail sous vide. Ce dernier augmente le temps de fabrication, les coûts, et empêche un traitement de surfaces en chaîne. Cette situation est en voie de changement grâce à l'orientation de plusieurs équipes de recherche vers les plasmas atmosphériques [43]. Cette orientation a commencé à partir des années 90, mais s'est accentuée à partir de l'année 2004. A l'avenir, les plasmas sous vide ne seraient utilisés que lorsque les plasmas à pression atmosphérique s'avèrent incapable de réaliser les mêmes performances. Plusieurs réalisations avec ce type de plasma sont déjà rapportées. Elles concernent généralement la micro-structuration et le traitement de surface par polymérisation [44].

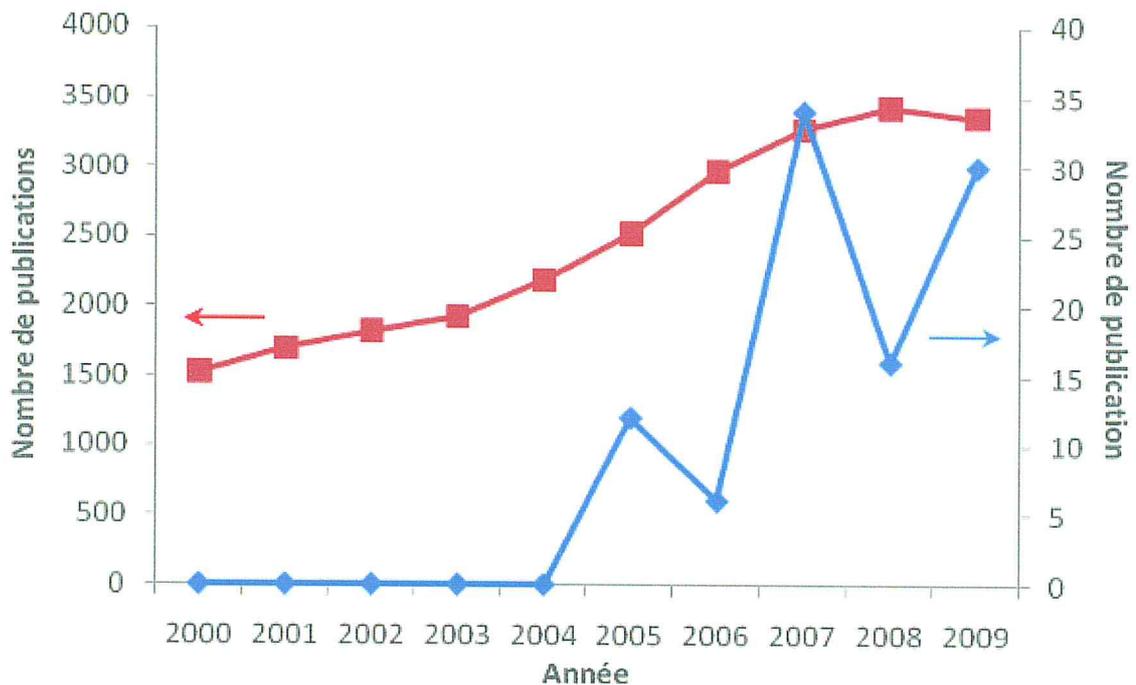


Figure 2. 22: Evolution du nombre de publications scientifiques concernant les plasmas atmosphériques depuis l'année 2000. La recherche a été réalisée séparément sur la banque de données Science Direct(axe de gauche) et sur le journal Plasma Prouesses and Polymère (axe de droite), pour tous les articles dont le titre contient le mot «plasma» [28].

L'exploration et la maîtrise des micros plasmas : les micros plasmas représentent le cas typique du mariage des micros technologies avec la technologie des plasmas [45]. Le procédé consiste à créer des plasmas dans des microenvironnements (microcanaux, microcavités) pour un objectif de gravure, de fonctionnalisation par polymérisation ou d'analyse chimique [46]. En termes anecdotiques, au lieu de mettre un bio-MEMS dans un réacteur plasma pour un éventuel traitement, c'est le réacteur plasma miniaturisé qui serait intégré dans les Bio-MEMS. Le processus d'intégration des fonctions semble être sans limites.

Chapitre 3

Modélisation et simulation physique du fonctionnement d'un micro biocapteur.

3.1 Introduction

La microfluidique concerne l'étude des écoulements et leur mise en œuvre dans des réseaux de microcanaux ayant des dimensions à l'échelle du micron. Son essor est considérable dans un grand nombre de domaines industriels comme l'alimentaire, les biotechnologies, l'analyse chimique... La microfluidique est à la croisée des chemins de la biologie, de la physique, de la chimie et de l'ingénierie. Elle tire profit des progrès concernant la micro-électronique pour sa réalisation, et des phénomènes physiques qui ont lieu à ces échelles par la réduction de taille des géométries.

Grâce à la microfluidique, on peut envisager l'arrivée prochaine de systèmes d'analyse complets qui, à partir d'une simple goutte d'échantillon, véhiculeront les liquides vers des capteurs pour en extraire des informations sur leur contenu.

3.2 Lois de comportement

Aux dimensions micrométriques, les lois d'écoulement restent celles de la fluidique classique et peuvent être étudiées avec l'équation de Navier-Stokes dans le cas de liquide incompressible dont les termes inertiels peuvent être ici négligés. Le régime d'écoulement est majoritairement laminaire, caractérisé par un faible nombre de Reynolds ($Re < 1$). Les phénomènes de diffusion au sein de ces écoulements sont bien maîtrisés et permettent le développement d'applications associées telles que des micro-mélangeurs ou des générateurs de gradient de concentration.

Les microsystèmes développés en microfluidique s'appuient sur les procédés des micro-technologies propres aux MEMS et doivent offrir aux applications microscopiques, les mêmes fonctionnalités que les applications macroscopiques. La technologie autour de la microfluidique, associée à la maîtrise comportementale des écoulements fluidiques, a permis très naturellement son application en direction des sciences du vivant. En étant à des échelles dimensionnelles physiologiques de la circulation sanguine (du micron à quelques dizaines de microns) il est possible de reproduire des environnements mimétiques dont les conditions expérimentales sont contrôlées et évolutives.

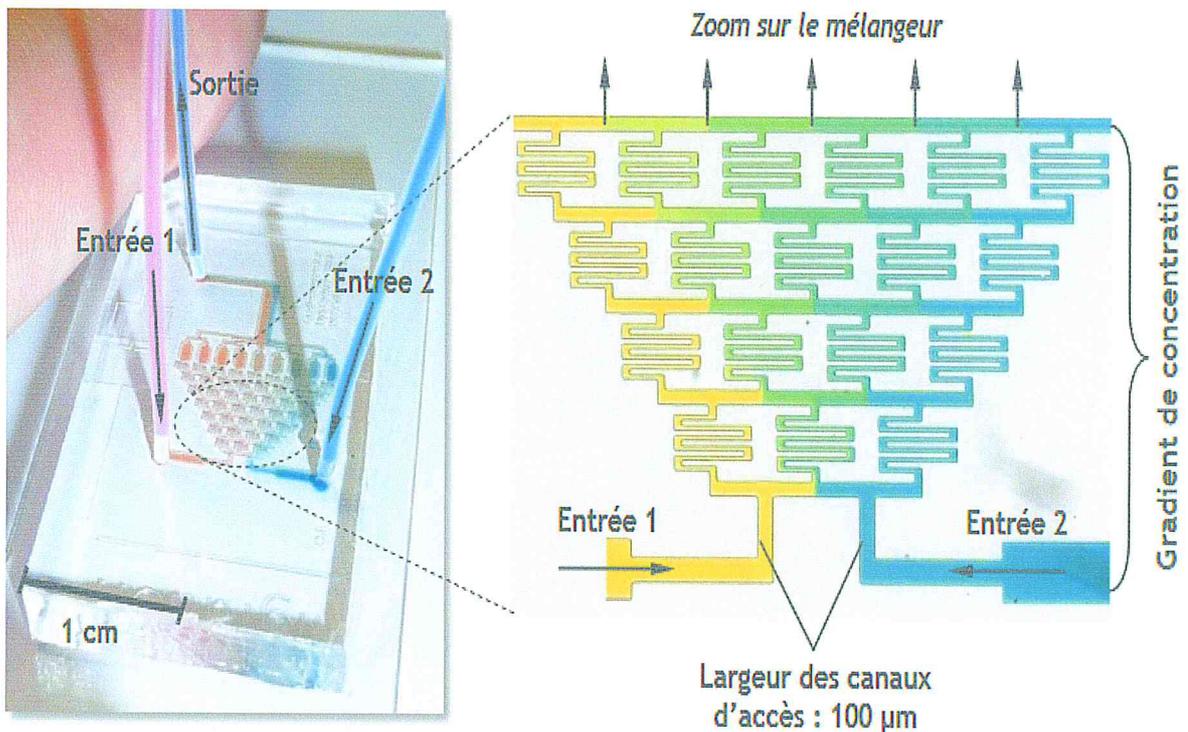


Figure 3. 1: Générateur de gradient développé au laboratoire SATIE de l'ENS Cachan [47].

3.2.1 Nombre de Reynolds

Le nombre de Reynolds R_e est défini par le rapport entre les forces d'inertie et les forces visqueuses au sein d'un fluide en mouvement. Il permet de caractériser la nature du régime d'écoulement (figure 3.2): si R_e est supérieur à 2300, on parle d'écoulement turbulent, si R_e est inférieur à 2000, on parle alors d'écoulement laminaire. Le nombre de Reynolds s'exprime de la manière suivante:

$$R_e = \frac{\text{force d'inertie}}{\text{force de viscosité}} = \frac{\rho v L}{\eta} \quad (9)$$

Où ρ est la masse volumique du fluide, v est la vitesse caractéristique de l'écoulement, L est la longueur caractéristique de l'écoulement et η est la viscosité (dynamique) du fluide.

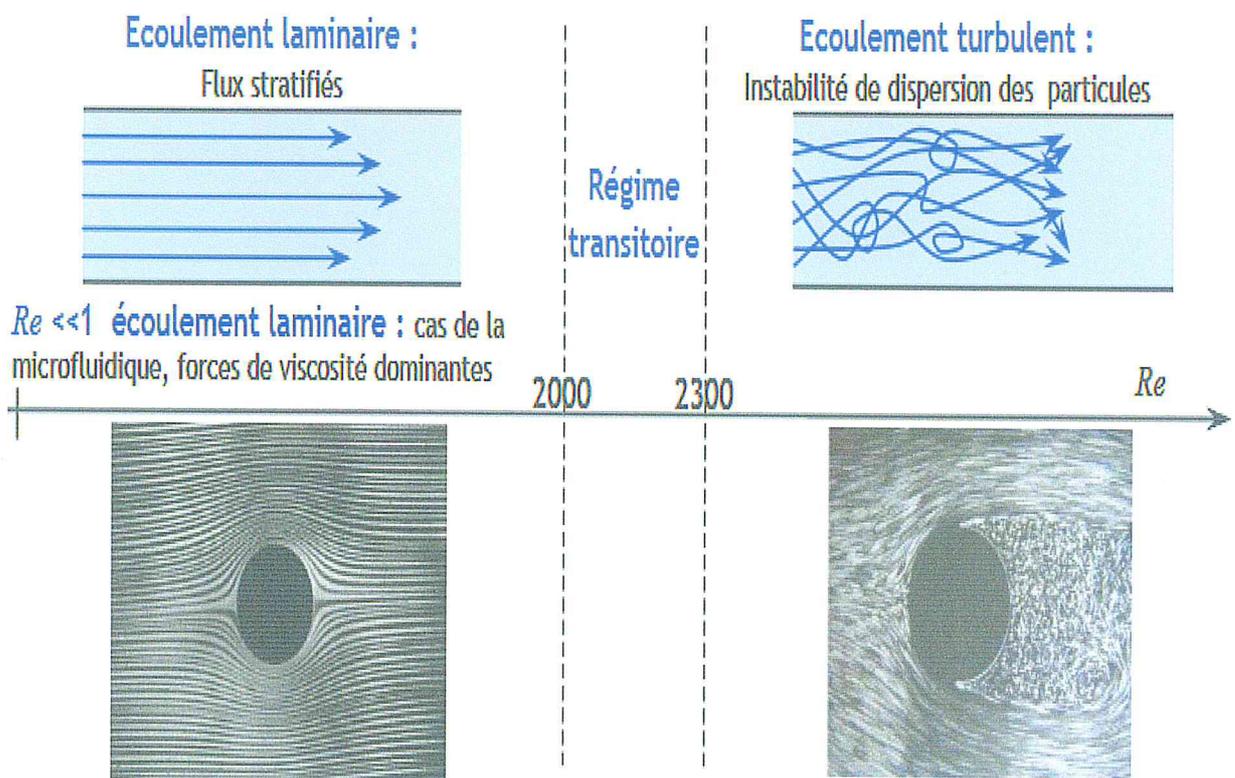


Figure 3. 2: Caractérisation du type d'écoulement en fonction du nombre de Reynolds Re [48].

Considérant un écoulement liquide type eau, les valeurs typiques rencontrées sont:

- Dimension caractéristique du microsystème: de 1 à 500 μ m.
- Vitesse de l'écoulement V : de 100 μ m/s à 1mm/s.
- Viscosité dynamiques du fluide η : 1x10⁻³Pa.s.
- Masse volumique du fluide ρ : 1000kg/m³.
- Longueur caractéristique de l'écoulement: $L = 100\mu$ m.

Si l'on calcule le nombre de Reynolds en microfluidique, il varie tel que:

$$0.0001 < Re < 0.5$$

Ainsi, les écoulements dans le domaine de la microfluidique sont majoritairement laminaire, les forces visqueuses dominant les effets inertiels.

3.2.2 Equation de Navier-Stokes

L'hydrodynamique des écoulements liquides reste fluide jusqu'à quelques nanomètres. Ainsi à l'échelle du micron, on peut appliquer l'équation constitutive d'un fluide newtonien incompressible qui est décrite par l'équation de Navier-Stokes :

$$\rho \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} = -\rho \vec{u} \nabla \vec{u} - \vec{\nabla} P + \eta \Delta \vec{V} \quad (10)$$

← Terme visqueux

← Terme convectif

En régime établi, dans le cadre de la microfluidique où l'on peut négliger les termes d'inertie, cette équation se réduit à la loi suivante:

$$\Delta p = \eta \Delta \vec{u} \quad (11)$$

C'est l'équation de Poiseuille qui peut se résoudre selon la géométrie du canal. Ici la résolution est donnée pour une canalisation circulaire de rayon R (figure 3.3), le profil de l'écoulement est alors de nature parabolique. La vitesse (v_{max}) de ce profil dépend directement de la pression appliquée:

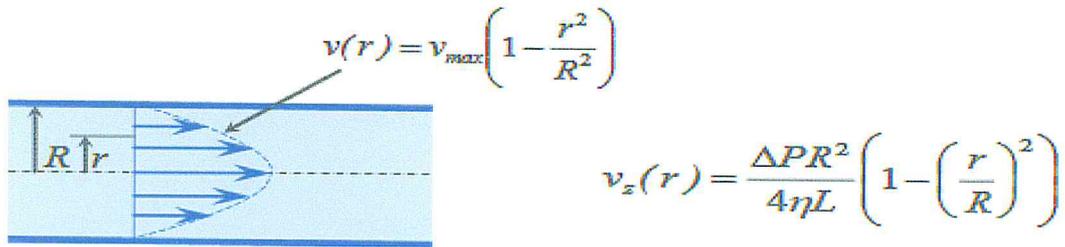


Figure 3. 3: Résolution de l'équation de Poiseuille dans le cas d'une canalisation circulaire [52].

En microfluidique en lien avec les procédés de microfabrication Capteurs en technologie MEMS les sections de canalisation sont plutôt de nature rectangulaire (figure 3.4).

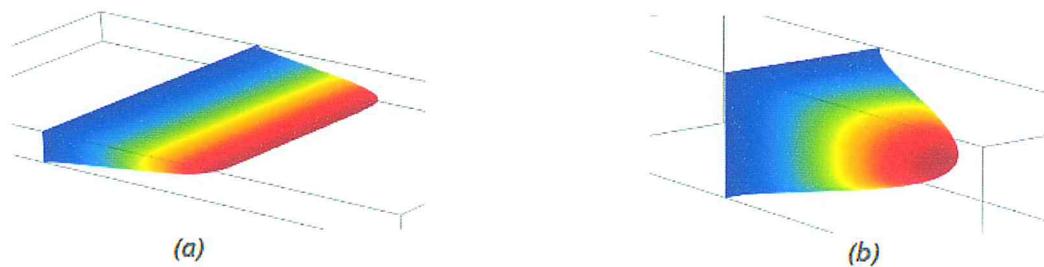


Figure 3. 4:(a)Profil d'un écoulement plan,(b)Profil d'un écoulement section rectangulaire [52].

Il y a un comportement linéaire entre la différence de pression ΔP et le débit Q au sein du canal. Dans le cas d'un canal circulaire, on obtient classiquement:

$$Q = \int_0^R 2\pi r dr = \frac{\pi \Delta P R^4}{8\eta L} \quad (12)$$

Soit la relation entre le débit et la différence de pression appliquée:

$$\Delta P = \left(\frac{8\eta L}{\pi R^4} \right) Q \quad (13)$$

3.2.3 Résistance hydraulique

En reprenant l'équation précédente, les écoulements dans un réseau microfluidique peuvent se modéliser en utilisant la notion de «résistance hydraulique», par analogie directe avec un réseau électrique de résistance. La pression est associée à la tension, le débit au courant électrique.

Ainsi, la résistance hydraulique est définie par le rapport entre la différence de pression appliquée et le débit.

D'un point de vue micro-technologique, il est compliqué de réaliser des canaux avec des sections circulaires, les sections sont plutôt de type rectangulaire de hauteur h et de largeur w .

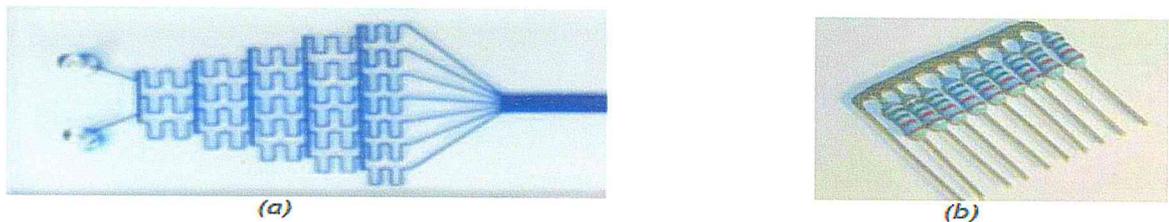


Figure 3. 5:(a) Exemple d'un circuit microfluidique,(b) exemple d'un circuit électrique [52].

3.2.4 Diffusion et mélange

Les écoulements à l'échelle de la microfluidique étant laminaire, il en résulte que la mise en contact de deux milieux se traduit par un écoulement qui sera «bidimensionnel», l'absence de turbulence n'entraînant un mélange que par diffusion.

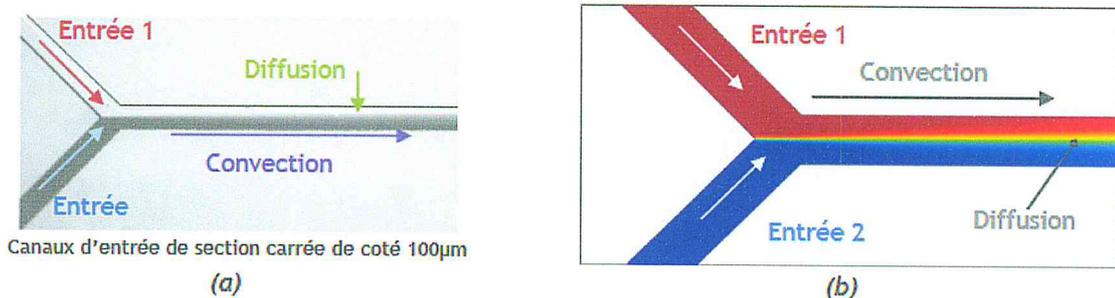


Figure 3. 6: (a) Exemple d'un circuit en Y et (b) la simulation du transport de matière [52].

C'est à la fois une force et une faiblesse pour la microfluidique. Faiblesse car le mélange n'est que diffusif, force car on peut alors tirer avantage de ce profil de diffusion pour analyser des réactions en écoulement ou séparer les particules de tailles différentes entre elle.

Le nombre de Peclet permet de caractériser la nature du transport de matière. Il est défini par le rapport entre le temps de diffusion et le temps de convection:

$$\text{Nombre de Peclet} = \text{temps de diffusion} / \text{temps de convection}, \quad P_e = \frac{T_D}{T_C} \quad (14)$$

Avec le temps de diffusion: $T_D = \frac{L_D^2}{2D}$ (14), D est le coefficient de diffusion, et le

temps de convection : $T_C = \frac{L_C}{v}$ (15)

- Si $P_e > 1$: l'écoulement est convectif la matière est principalement transporté par l'écoulement (figure 3. 7 (a)).
- Si $P_e < 1$: c'est la diffusion qui domine (figure 3. 8 (b)) permettant un «mélange» entre les deux liquides.

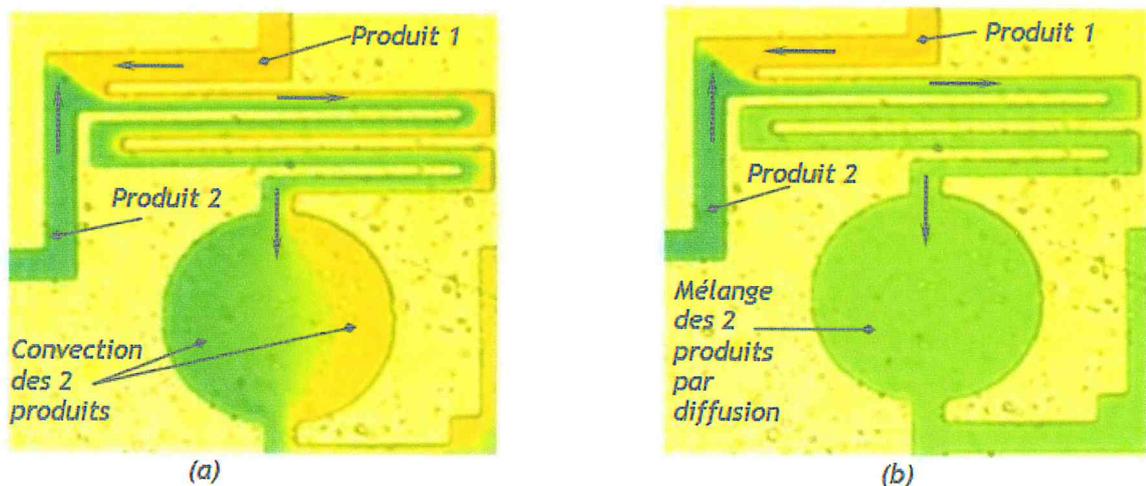


Figure 3. 9: (a) $P_e > 1$, Convection des 2 produits, (b) $P_e < 1$, convection et diffusion des 2 produits [49].

Pour effectuer un mélange en microfluidique, on peut agir simplement sur la taille des canaux de manière à se mettre dans une configuration $P_e < 1$ (par exemple, on allonge le canal pour augmenter le temps de convection).

3.2.5 Etude d'une cinétique de réaction

Si l'on suit l'écoulement, la position le long de la zone de contact entre les deux liquides (réactifs) devient le temps de réaction. En plaçant une série de capteurs (zones de détection) on peut suivre en «temps figé», la cinétique de réaction entre les deux liquides. On dit alors que le position est l'image du temps de réaction.

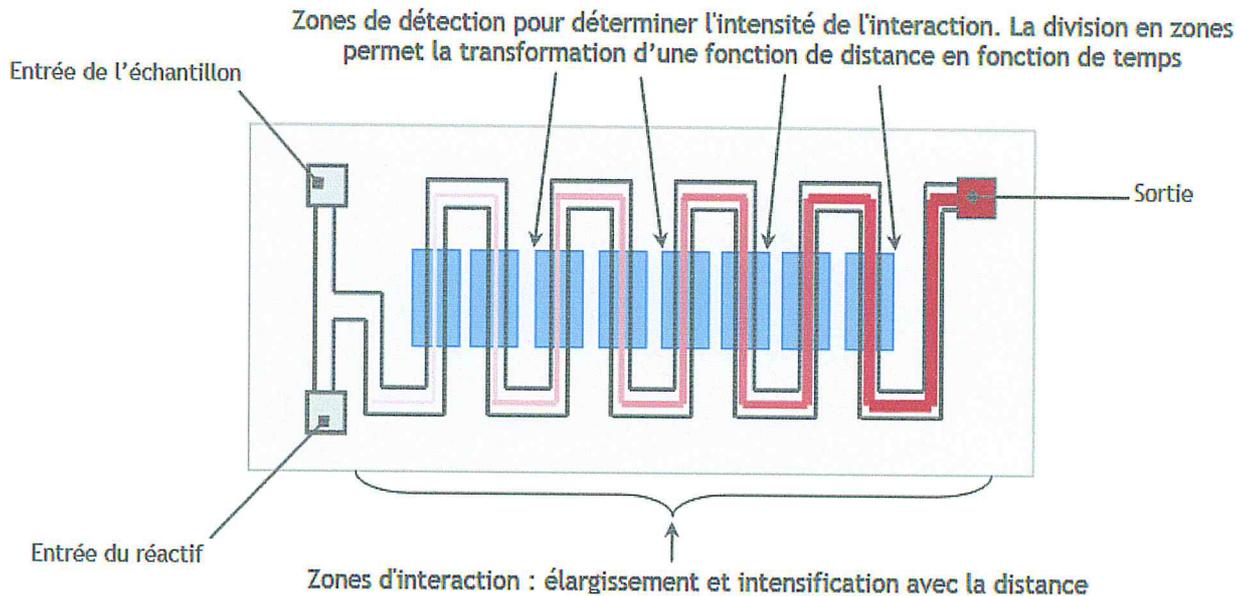


Figure 3. 10:Schéma de principe d'un circuit en T [52].

3.2.6 Méthode séparative

Avec la géométrie dite «filtre en H», on opère un tri en fonction de la taille des particules via la dépendance du coefficient de diffusion avec le rayon des particules (Supposées sphériques).L'échantillon contient deux types de particules de tailles différentes qui vont avoir des nombres de «Peclet» différents. Les petites particules (figure 3.9 en bleu) ont un nombre de Peclet plus faible, elles diffusent alors plus rapidement dans le réactif : les particules peuvent être ainsi triées et séparées. Ce principe a un intérêt si les particules à trier présentent un rapport d'au moins 10 entre leurs rayons.

Comme nous l'avons vu le nombre de Peclet dépend du rapport temps de diffusion sur temps de convection ; le temps de diffusion est $T_D = \frac{L_D^2}{2D}$ avec D , le coefficient de diffusion dans le cas de particules sphériques : $D = \frac{K_B T}{6 \pi \eta a}$ où a représente le rayon de la particule.

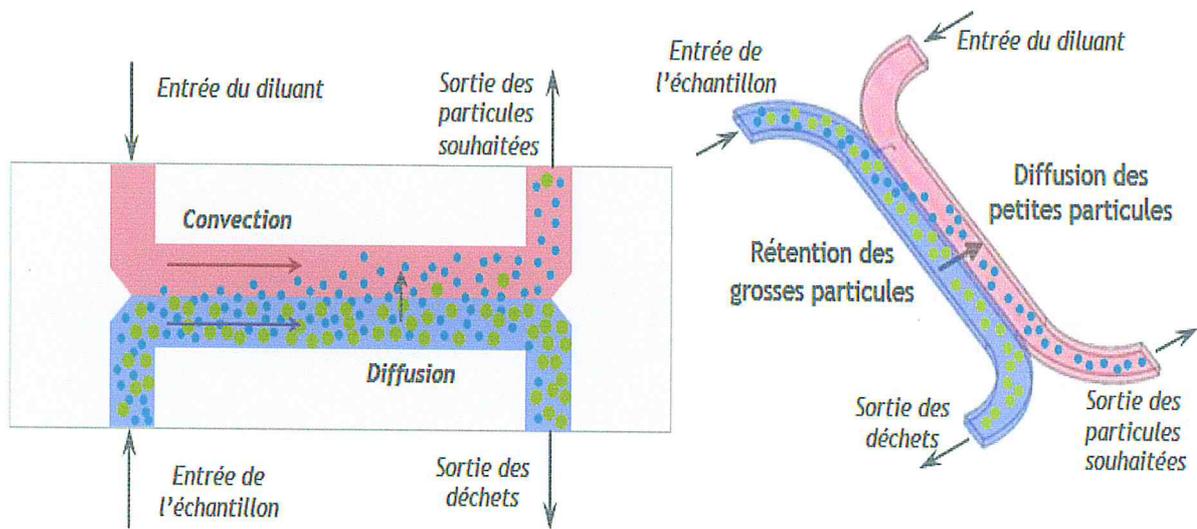


Figure 3. 11: Exemple d'un filtre en H [50].

En réduisant les dimensions permet d'effectuer des analyses simples avec un volume d'échantillon très fortement réduit. La physique associée peut s'aborder de manière simple à l'aide de l'équation de Navier-Stokes, le nombre de Reynolds étant faible. En jouant avec les dimensions, on peut régler la nature du transport de matière et l'adapter au besoin. Il faut désormais voir la microfluidique comme un outil technologique à même de mettre en œuvre des laboratoires sur puces révolutionnaires. Dans les années à venir, il faut s'attendre à les voir envahir les systèmes d'analyses médicales.

3.3 Méthode des éléments finis

La méthode des éléments finis, apparue dans les années 50 pour traiter des problèmes de mécanique des structures, a connu depuis lors un développement continu et est présente, aujourd'hui, dans tous les domaines d'applications : mécanique, physique, chimie, économie, finance et biologie. Elle est maintenant utilisée dans la plupart des logiciels de calcul scientifique, et de nombreux ingénieurs y sont confrontés dans le cadre de leur activité de modélisation et de simulation numérique.

Les éléments essentiels de la méthode : les fondements théoriques (formulations variationnelles d'équations aux dérivées partielles, principes généraux et analyse numérique de la méthode), les considérations pratiques de mise en œuvre (structure creuse des matrices, principe d'assemblage), les algorithmes (en

particulier ceux relatifs à la résolution des systèmes linéaires) et enfin des illustrations numériques.

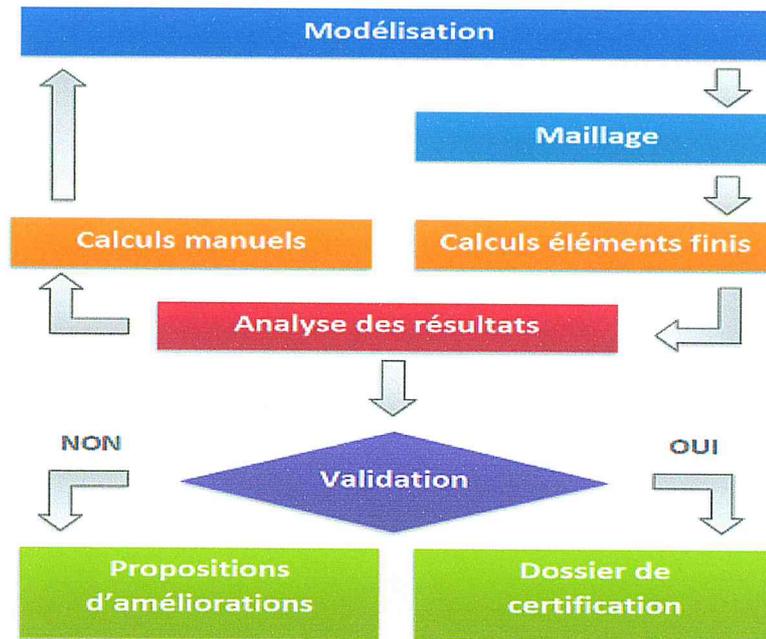


Figure 3. 12: Principe de la *Méthode* des éléments finis [53].

3.4 Comsol Multiphysics

Ce logiciel a d'abord été une boîte à outil dans Matlab. Ensuite, il a été vendu séparément de Matlab sous le nom Femlab. Ce logiciel utilisait un langage de script très proche du langage de Matlab. Depuis la version 4, Comsol Multiphysics a complètement évolué sous une nouvelle forme. Le langage de script est maintenant Java. Ce logiciel est avant tout un logiciel de résolution de système d'équations différentielles algébriques. Il présente l'avantage d'être un environnement de modélisation intégrée avec une approche semi-analytique : l'utilisation spécifie ses équations ce qui rend son utilisation très flexible. Afin de répondre à des problèmes plus spécifiques, des modèles sont déjà construits pour étudier par exemple la mécanique des structure, la mécanique des fluides, les transferts de chaleur, l'électromagnétisme. La dernière particularité de ce logiciel est de pouvoir coupler des phénomènes physiques entre eux. *Comsol Multiphysics* intègre l'ensemble des outils à la réalisation d'une simulation : le prétraitement, la résolution et le post-traitement. Le prétraitement consistera à construire la géométrie du problème considéré, indiquer les matériaux, décrire les équations, imposer les conditions aux

limites et mailler le domaine. La résolution est le calcul de la solution avec le solveur intégré. Le post-traitement permet de visualiser les résultats et sauvegarder la solution.

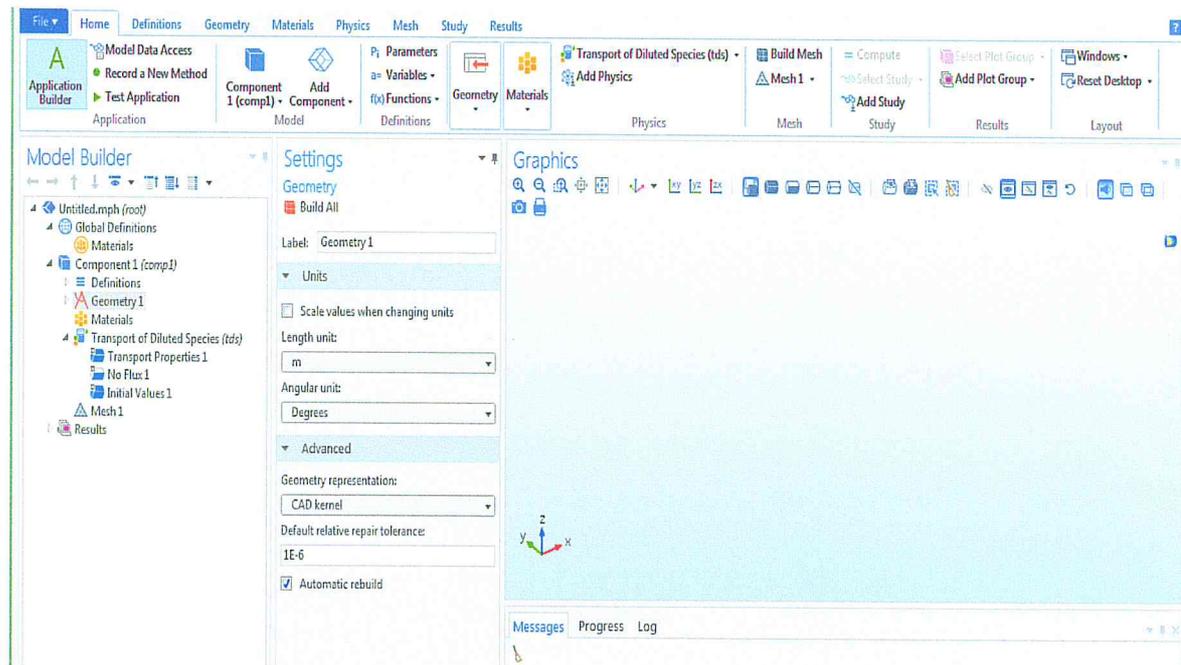


Figure 3. 13: Profil du logiciel *COMSOL Multiphysics*.

COMSOL Multiphysics est un environnement de simulation et de modélisation de presque toutes les physiques. Son point fort : le couplage entre différents phénomènes. Des modules optionnels offre des interfaces spécialisées en acoustique, génie chimique, géophysique, électromagnétisme, transfert de chaleur, MEMS et mécanique des structures.

3.5 À Propos de l'ancienne conception du biocapteur :

Une cellule d'écoulement dans un biocapteur contient une série de *micropillars* utilisés pour détecter les biomolécules, par exemple des anticorps dans des solutions aqueuses. Les piliers sont revêtus d'un matériau actif qui adsorbe sélectivement les biomolécules dans le flux d'échantillons. Ces biomolécules réagissent alors à la surface. Un signal proportionnel à la couverture de surface peut être détecté dans un capteur, par exemple par chimiluminescence. Cette application permet à l'utilisateur de modifier la conception du capteur en modifiant les paramètres tels que le diamètre du pilier, l'espacement de la grille et la vitesse d'entrée pour déterminer comment la conception affecte les résultats de la

détection. La géométrie et les conditions de fonctionnement ont un impact sur la puissance du signal et la diffusibilité visualisée dans les parcelles. En outre, les contraintes de fabrication, définies par une distance minimale entre les piliers, sont signalées dans l'application.

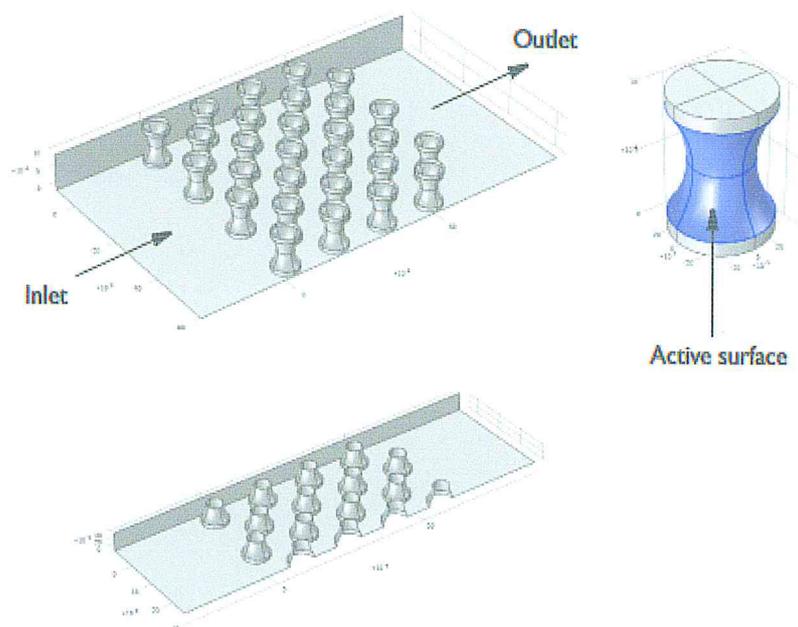


Figure 3. 14: La cellule d'écoulement contient différents nombres de piliers en fonction de l'entrée de l'utilisateur. La surface du pilier courbé est la seule surface qui permet l'adsorption des molécules d'analyte.

3.6 Notre amélioration sur l'ancienne conception :

Le changement que nous avons fait était destiné à modifier la surface de réaction où nous avons remplacé la série des *micropillars* par une surface simple parce que les microstructures est compliqué pour nos et on peut faire des dépôts facile et ces plus facile de fabriqué donc nous somme entraine de préparé une étude par exemple pour élicites oxyde de vanadium.

3.7 Description du model

3.7.1 Choix du physique :

Dans cette étape nous avons fait un mélange de deux physiques :

1. la physique de l'écoulement laminaire monophasique dans le domaine de l'écoulement de fluide.

2. La physique Transport des espèces diluées dans le domaine de Transport d'espèces chimiques.

3.7.2 Géométrie :

Nous proposons une géométrie de forme de bloc :

($12000\mu\text{m} \times 6900\mu\text{m} \times 1000\mu\text{m}$) qui représente la cellule d'écoulement, cette cellule contient un rectangle ($6000\mu\text{m} \times 6900\mu\text{m}$) positionné au centre de plan (yx) définie la surface active pour adsorber les molécules d'analyte.

La cellule d'écoulement comporte deux plans de symétrie permettant de réduire le domaine de la modélisation à un quart de la géométrie complète du modèle sous-jacent.

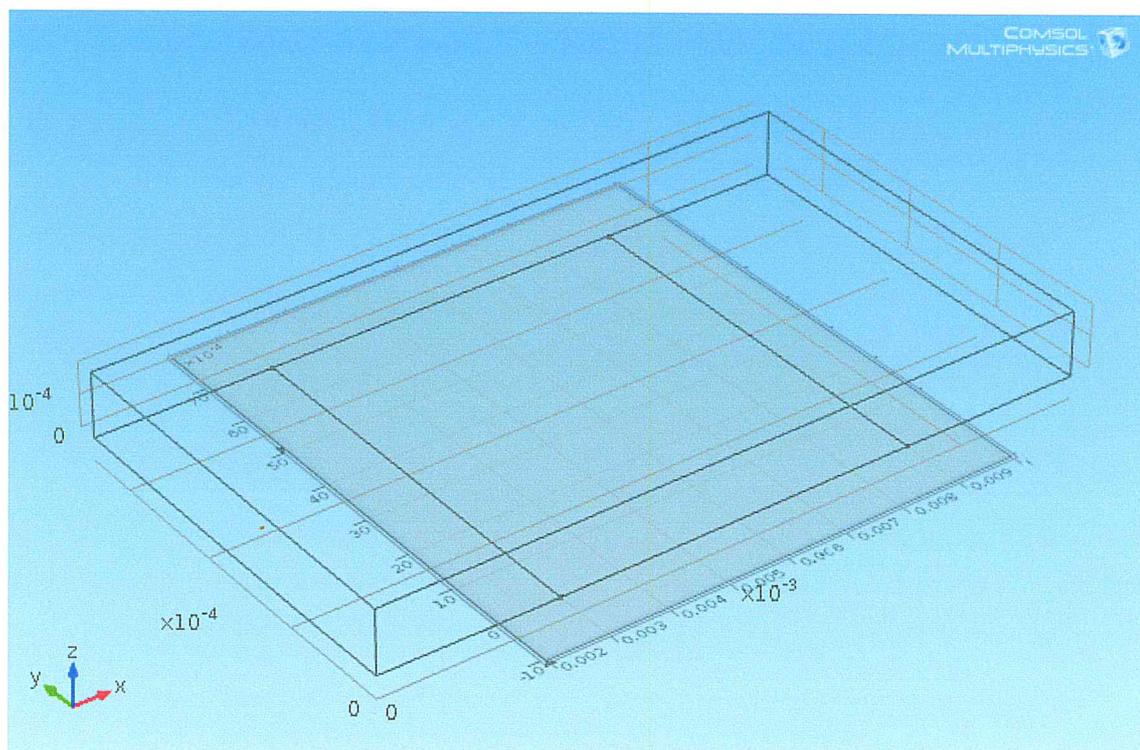


Figure 3. 15: Les dimensions de la zone active.

3.7.3 Paramètres de surface réaction :

Nous portons dans le tableau 3.1 les valeurs des constantes chimique de surface reaction utilisée dans la simulation.

Tableau 3.1: Les Paramètres de *surface reaction*.

Nom	Valeur	Description
k_{ads}	1e-2[m/s]	Constance de vitesse avant
k_{des}	0.5[mol/m ² /s]	Constance de taux en arrière
D	5e-9[m ² /s]	Diffusivité du gaz
K_f	2e-7[mol/m ² /s]	Constance de vitesse avant
K_r	4e-8[mol/m ² /s]	Inverse constante
u_{in}	2e-4[m/s]	Vitesse d'entrée

3.7.4 Variables de surface reaction :

Nous donnons dans le tableau les variables de surface reaction.

Tableau 3. 2 : Les variables de surface reaction.

Nom	Expression	Description
c_0	400[mol/m ³]*gp1(t[1/s])	Concentration d'entrée
r_{ads}	$k_{ads} * c_p * sr.theta_free$	Taux d'adsorption
r_{des}	$k_{des} * sr.theta_i_csp$	Taux de désorption
r_{quench}	$k_f * sr.theta_i_cs_P - k_r * sr.theta_i_cs_Q$	Taux de refroidissement

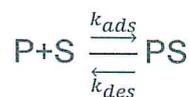
3.8 Définition du matériau :

Le fluide utilisé dans cette simulation est supposé l'eau, avec une masse volumique $\rho = 1000 \text{ kg.m}^{-3}$ et la viscosité dynamique $\eta = 0.001 \text{ Pa.s}$

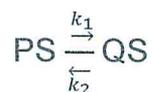
3.9 Conditions aux limites :

3.9 .1 Réactions de surface

Les molécules d'analyse (P) peuvent adsorber et se désorber des sites de surface (S) sur les surface plane selon :



L'analyte adsorbé (PS) peut se transformer en un état éteint (QS) qui ne contribue pas au signal du capteur. La réaction de trempe est réversible:



Le taux d'adsorption est: $r_{ads} = k_{ads} c_p$ (16)

Où c_p est la concentration de P dans le flux. Le taux de désorption est linéaire dans la concentration d'espèces adsorbées en surface, c_{ps}

$$r_{des} = k_{des} c_{ps} \quad (17)$$

Le taux de réaction de trempe réversible est donné par :

$$r_{quench} = -k_1 c_{ps} + k_2 c_{qs} \quad (18)$$

3.9.2 Transport de masse dans le flux d'analyse

Les équations dans l'interface Transport des espèces diluées décrivent le transport de l'espèce "P" dans le flux d'analytes selon :

$$\frac{\partial c_p}{\partial t} + \nabla \cdot (-D_p \nabla c_p) + \mathbf{u} \cdot \nabla c_p = 0 \quad (19)$$

D_p : Coefficient de diffusion (unité SI: m^2 / s).

c_p : Concentration de l'espèce (unité SI: mol / m^3).

\mathbf{U} : vecteur vitesse (unité SI: m/s).

La concentration de l'échantillon injecté est donnée par l'utilisateur et est de $400 \text{ moles} / m^3$ par défaut pendant 2,5 ms. En raison de l'étalement diffusif juste avant la section d'entrée, une impulsion douce entre dans le capteur, qui est décrite par une distribution gaussienne à l'entrée de la cellule d'écoulement avec une concentration maximale de $80 \text{ mol} / m^3$ (aux réglages d'entrée par défaut) et un écart-type de 2).

L'adsorption et la désorption de l'analyte sur la surface plane actif donnent lieu à un flux net aux limites correspondantes:

$$N_p = -r_{ads} + r_{des} \quad (20)$$

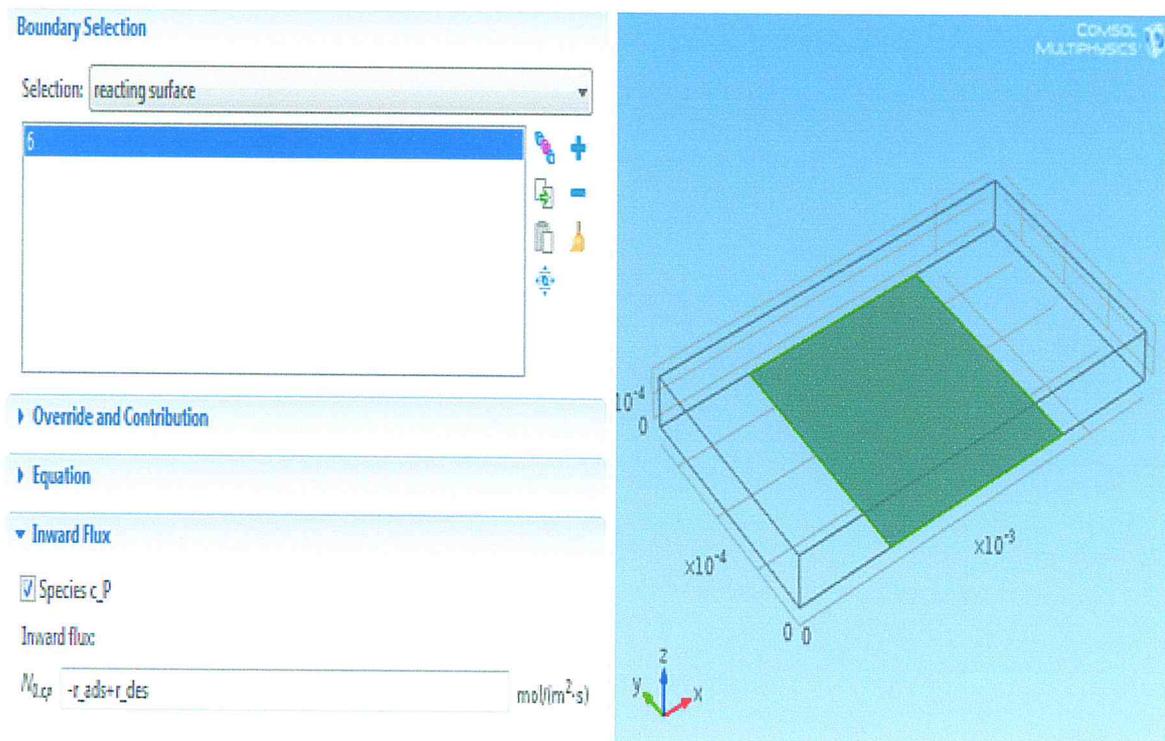


Figure 3. 16: les Conditions aux limites.

3.9.3 Transport massique et réactions sur les surfaces actives

Dans cet exemple, la diffusion de surface est ignorée sur les surfaces actives. Par conséquent, en utilisant les réactions décrites par l'eq (16),(18)et(19) les équations d'équilibre pour les espèces de surface P et Q seront:

$$\frac{dc_{sp}}{dt} = r_{ads} - r_{des} - r_{quench} \quad (21)$$

$$\frac{dc_{sQ}}{dt} = r_{quench} \quad (22)$$

Le taux d'adsorption dépend de la concentration des espèces P dans le flux d'analyte et, par conséquent, les équations décrivant les réactions de surface (ci-dessus) sont couplées à celles du flux d'analyte libre, l'équation (22).

3.10 L'écoulement de fluide

Le régime d'écoulement est laminaire dans la cellule. Le champ d'écoulement calculé sert d'entrée à l'équation (22) pour décrire le transport de masse convectif.

Chapitre 4

Résultats et discussion

4.1 Introduction

Dans ce chapitre on va présenter les résultats et les discussions relatives aux simulations faites pour la nouvelle géométrie, en comparant les amplitudes des champs de vitesse pour l'ancienne et la nouvelle géométrie puis on donne la variation de pression le long du microcanal, ainsi on va évaluer l'évolution de la concentration d'analyte au cours de l'écoulement.

4.2 Comparaison des amplitudes des champs de vitesse pour l'ancienne et la nouvelle géométrie

Nous montrons dans la figure 4.1 une comparaison de l'amplitude du champ de vitesse laminaire dans la cellule d'écoulement entre l'ancienne géométrie et notre géométrie, en remarquant que le profil de vitesse dans notre simulation est varié selon le plan (xz) elle est nulle sur les parois et elle est maximum au milieu du plan par contre elle est variée dans l'autre simulation suivant le plan (yz).

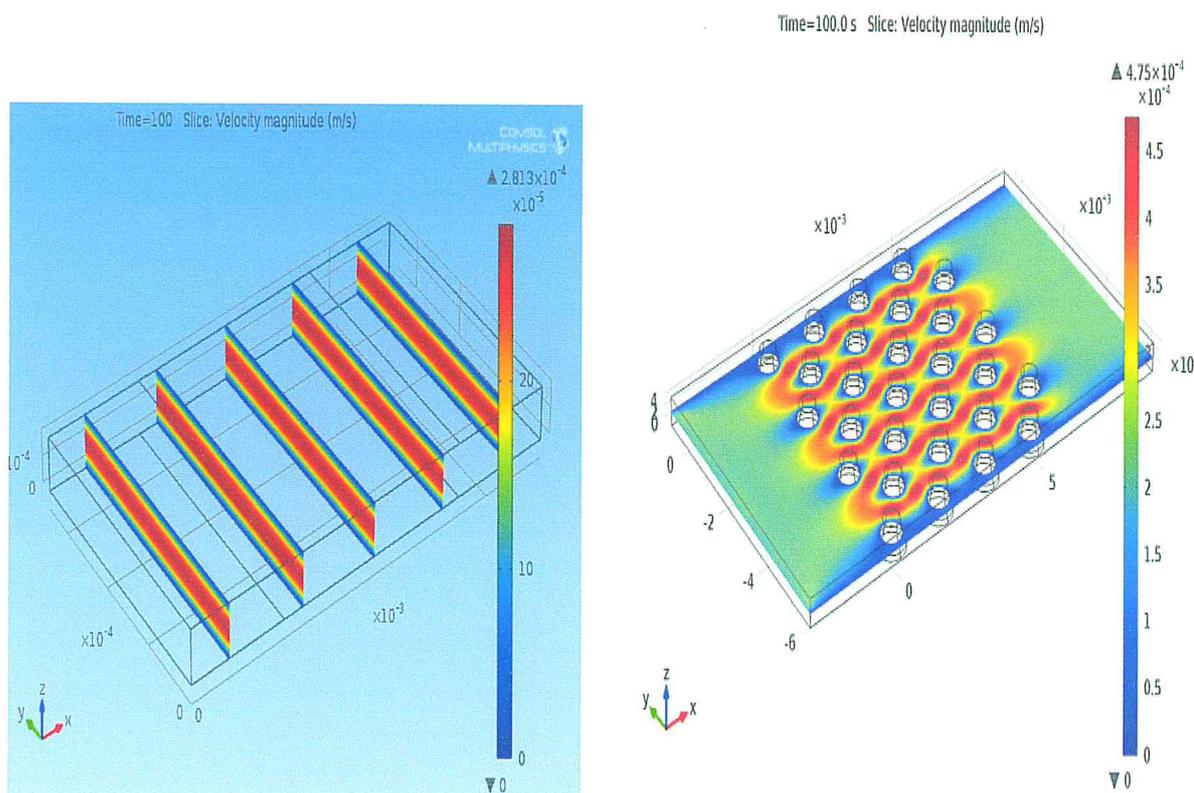


Figure 4. 1: L'amplitude de la vitesse du champ d'écoulement laminaire dans la cellule d'écoulement de bioacteur.

La figure 4.2 présente la variation de pression le long de microcanal elle est diminuée lorsqu'on se déplace dans le même sens que l'écoulement.

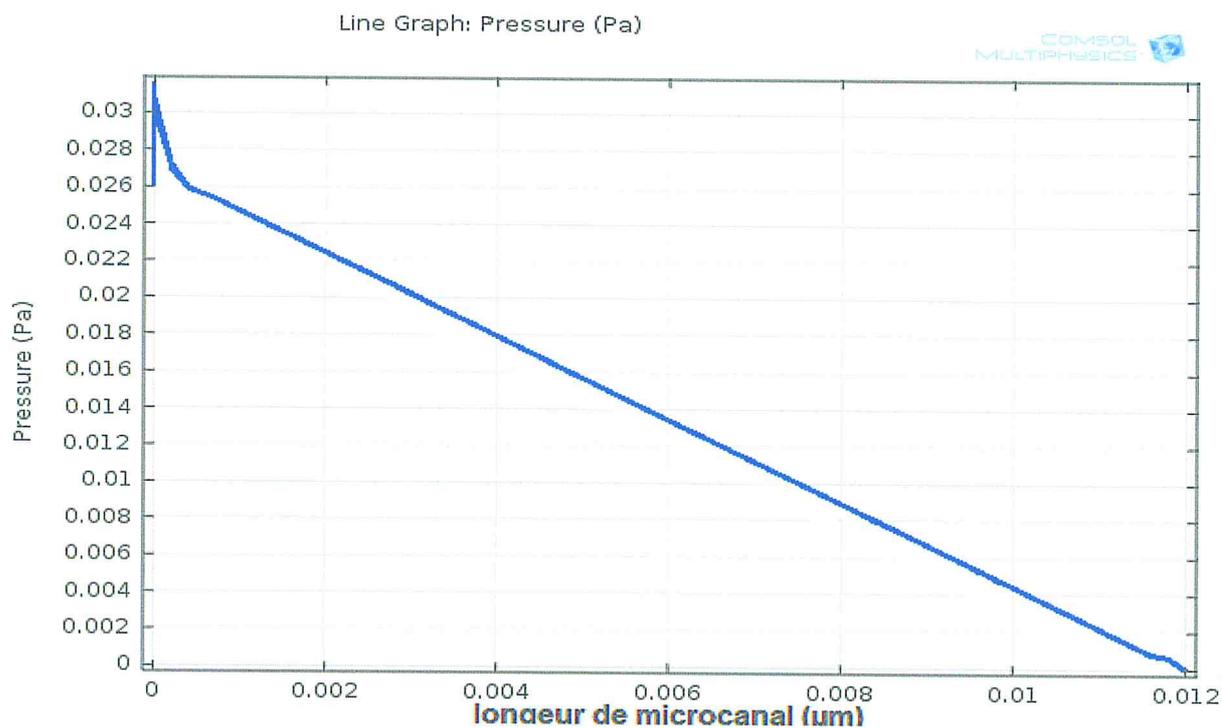


Figure 4. 2: Variation de la pression le long du microcanal.

4.3 Concentration des espèces

La figure 4.3 à la figure 4.5 montre la concentration de l'espèce, P, dans le flux ainsi que la couverture relative des espèces adsorbées en surface, PS, lorsque l'impulsion d'analyte traverse la cellule d'écoulement.

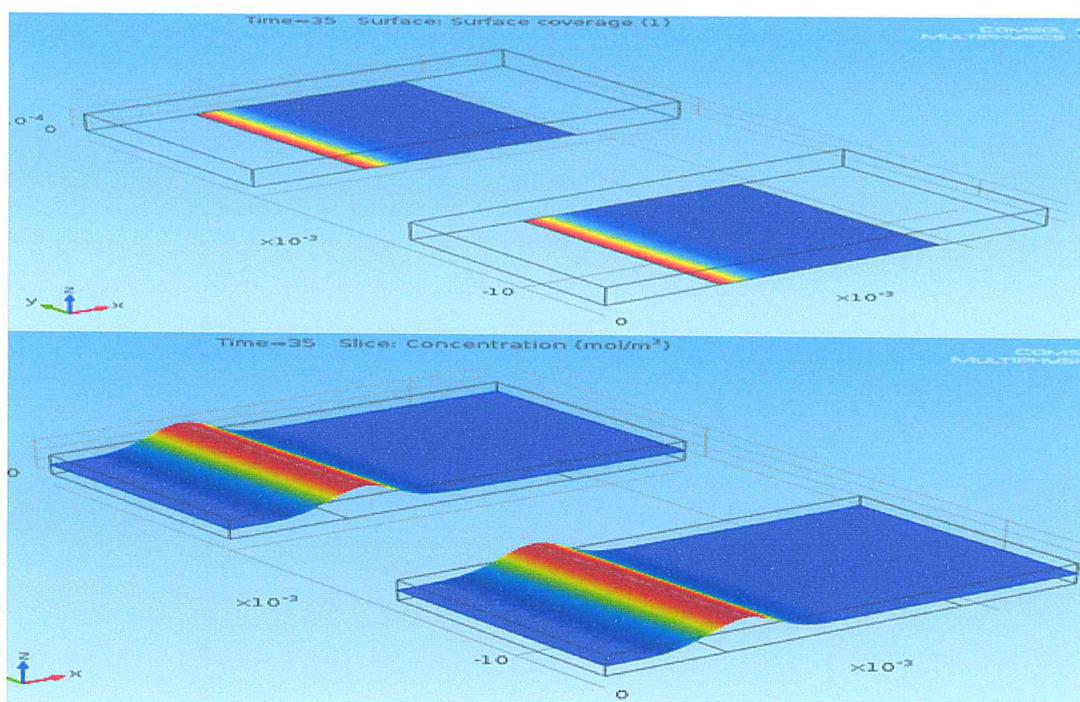


Figure 4. 3: La distribution de concentration dans le flux d'analytes et la couverture superficielle d'espèces adsorbées à $t = 35$ s.

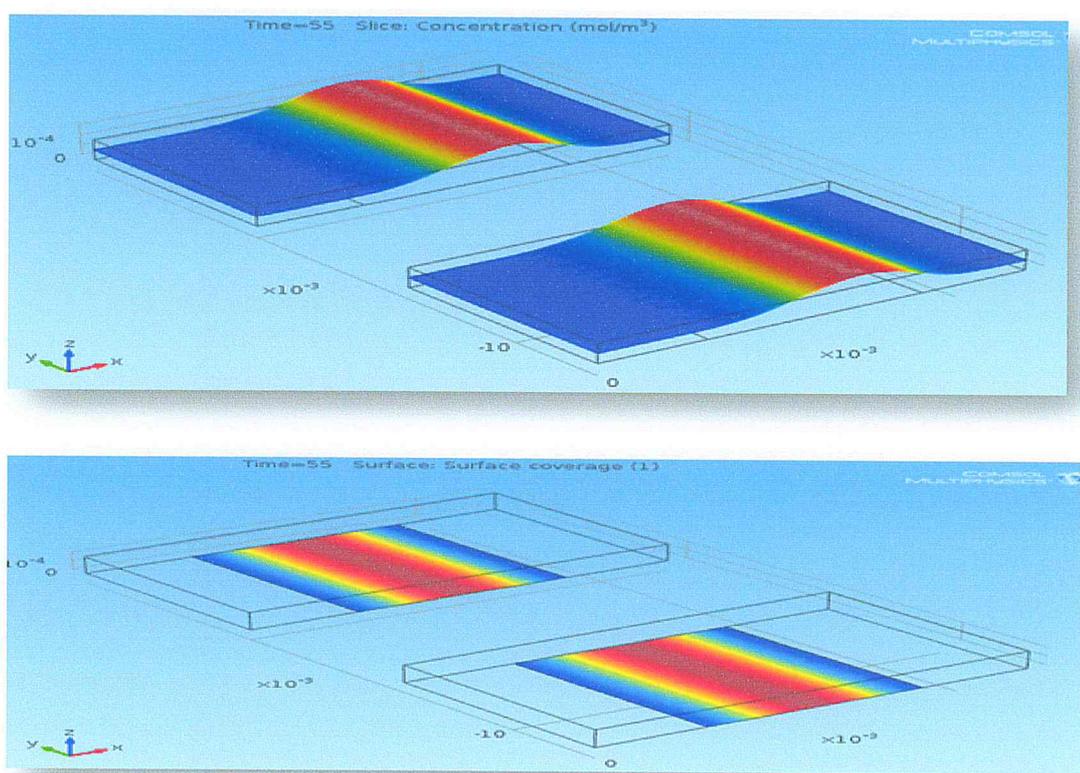


Figure 4. 4: La distribution de concentration dans le flux d'analytes et la couverture superficielle d'espèces adsorbées à $t = 35$ s.

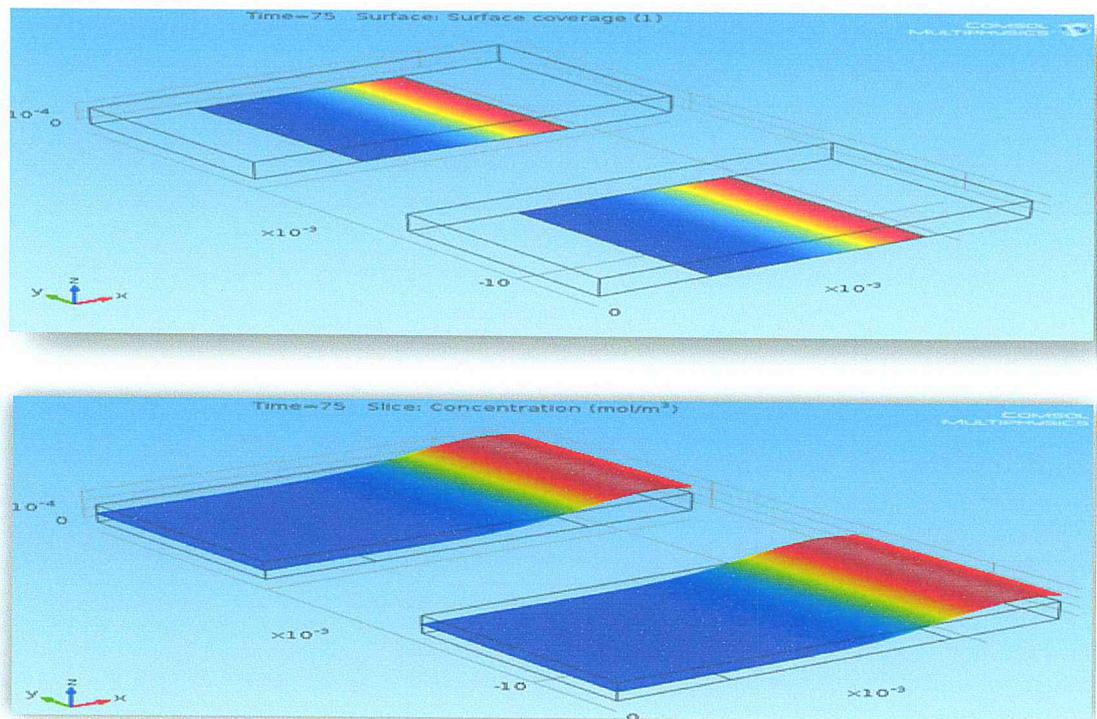


Figure 4. 5: La distribution de concentration dans le flux d'analytes et la couverture superficielle d'espèces adsorbées à $t = 75$ s.

4.4 Couverture superficielle fractionnaire moyenne de l'analyte adsorbé

Compte tenu du travail effectué dans la littérature, nous dessinons La distribution de la vitesse du champ d'écoulement amènera des piliers près de la paroi à atteindre leur niveau d'adsorption maximum plus tard par rapport aux piliers au centre du flux. Les piliers près du mur prendront plus de temps pour libérer de l'analyte adsorbé. La position d'un pilier dans une rangée a également un effet sur le niveau maximal d'adsorption et l'heure à laquelle il est atteint. Cet effet est mis en surbrillance sur la figure 4.5. Ces effets géométriques feront en sorte que le signal du capteur devienne relativement différent.

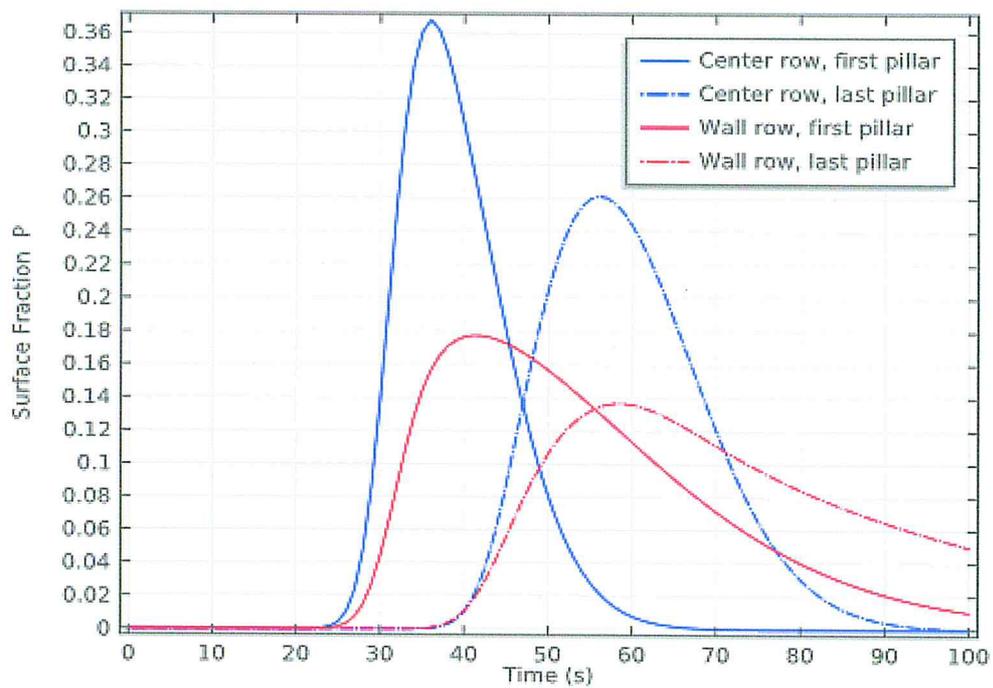


Figure 4. 6: Couverture superficielle fractionnaire moyenne de l'analyte adsorbé PS.

Lorsque nous adoptons les mêmes mesures sur notre application, nous obtenons le graphe joint dans la figure 4.6. La distribution de la vitesse du champ d'écoulement est uniforme sur toute la surface active, cette géométrie provoquera un signal du capteur relativement stable.

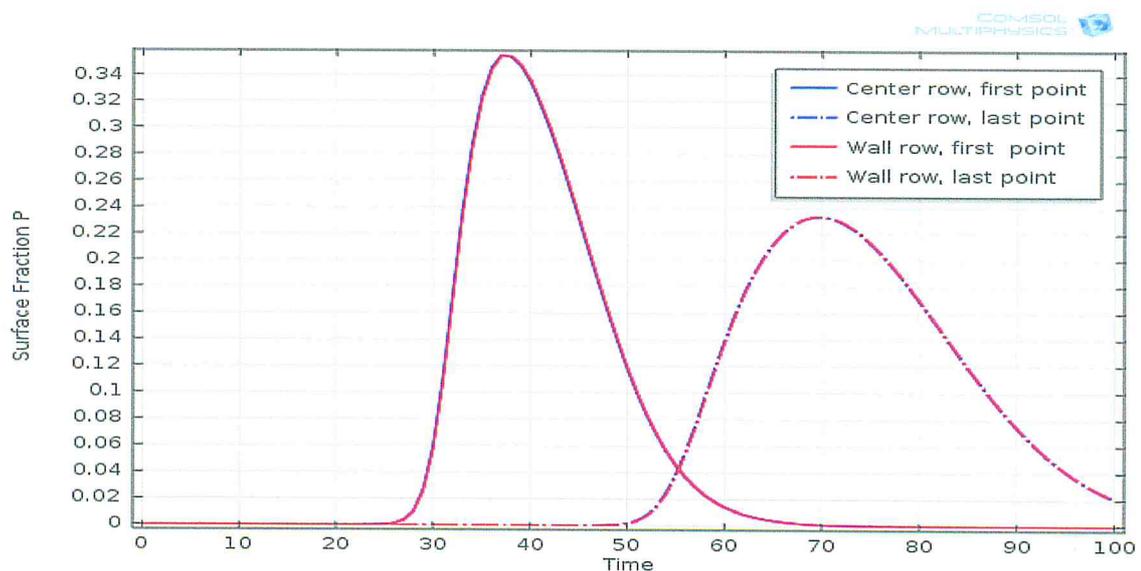


Figure 4. 7: Couverture superficielle fractionnaire moyenne de l'analyte adsorbé (cas simulé) .

4.5 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons présenté les résultats et les discussions afin d'optimiser et prédire le fonctionnement d'un biocapteur a base des phénomènes d'adsorption qui peuvent être implanté dans un microcanal.

Dans cette étude on peut remarquer que la dimension du plot affecte d'une manier accentuer la sensibilité du capteur .Donc la surfaces de contact est un paramètre important pour l'efficacité du biocapteur.

Dans notre travail on a étalé la zone active sur toute la surface de contacte affin d'augmenter la sensibilité du capteur en surface de contacte. cette étude peut être très utile dans le domaine des bio-MEMS.

Conclusion Générale

Ce travail de master consiste à étudier le fonctionnement d'un biocapteur à base des phénomènes d'adsorption implantée dans un microcanal dans le but de développer une application de biocapteur MEMS.

Tout d'abord, nous avons commencé par une étude bibliographique illustrant les progrès réalisés dans la bio-MEMS au cours des dernières décennies ainsi que le domaine de la microfluidique et aussi les biocapteurs, évoquant les différents types des biocapteurs.

Puis, nous avons passés à l'étude bibliographique concernant la fonctionnalisation de surface et transduction dans le cas du biocapteur ainsi que les propriétés biologique, électrique et à la possibilité de modifier la surface de réactions. Puis nous avons décrit quelques types des biocapteurs et les mécanismes d'adsorptions. Nous avons également évoqué la nature du mécanisme. Enfin, nous avons présenté les nouveaux outils de microfabrication.

En utilisant le logiciel de simulation numérique COMSOL *Multiphysics* basé sur la méthode des éléments finis. A partir d'une conception préexistante difficilement réalisable pour les procédés du microfabrication, nous avons proposé une conception planaire beaucoup plus facile à réaliser.

En perspectives, on se propose d'optimiser les paramètres géométriques de la structure afin d'améliorer ses performances, et enfin, de voir l'influence des autres configurations des transducteurs sur une des caractéristiques de notre biocapteur.

En dernier nous avons remarqué la faisabilité de réaliser un biocapteur à base des phénomènes d'adsorption implantée dans un microcanal.

REFERENCES

[0] Turner A.P.F., «Biosensors and Bioelectronics 20 years on», *Bio-sensors and Bioelectronics*, 20 :2387–2387. 2005.

[1]. <https://en.wikipedia.org/wiki/Diagram>.

[2] FROM EXOSKELETONS TO RETINAL IMPLANTS AND GAS SENSORS, NEW PROMISING APPLICATIONS ARE EMERGING THANKS TO BIOMEMS Yole Développement, April 2016.

[3] Janathan T.W.KUO; Lawrence YU, Ellis Meng, (2012); *Micro-machined thermal flow sensors- a Review*.

[4] Meng Xiong, Bing Jia, Dong Zhang, Jing Juanxu, Hong Yuanchen, Hui Zhong, «Glucose microfluidic biosensors based on reversible enzyme immobilization on photopatterned stimuli-responsive polymer», *Biosensors and Bioelectronics*, 50, 2013, 229–234

[5] *Advanced materials*, Volume 23, Issue 24, pages H151-H176, 13 MAY 2011 DOI : 10.1002/adma.201100464. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/adma.201100464/full>

[6] Ellis Meng, Tuan Hoang, «MEMS-enabled implantable drug infusion pumps for laboratory animal research, preclinical, and clinical applications», *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 2012, 1628–1638.

[7] Tran-Minh, C. (1991). "Les biocapteurs. Principes, construction et applications." Paris, Masson.

[8] Kuo, J.T.W.; Chang, L.-Y.; Li, P.-Y.; Hoang, T.; Meng, E. A microfluidic platform with integrated flow sensing for focal chemical stimulation of cells and tissue. *Sens. Actuat. B* 2011, 152, 267–276.

[9] Etudes physico-chimique de capteurs à base de nanomatériaux pour des applications biomédicales.

[10] Développement et optimisation de biocapteur sa base de biomolécules et de micro-organismes sur microélectrodes interdigitées préparée au sein du laboratoire CEGELY.

[11] <https://en.wikipedia.org/wiki/Diagram>.

[12] Minh C.T. *Les biocapteurs : principes, construction et applications*, Masson. 1991.

[13] Bergveld P., «Development of an Ion-sensitive Solid State Device for Neurophysiological Measurements», *IEEE Trans, Biomed. Eng.*, 17 :70–71. 1970.

[14] Bergveld P., «Thirty years of ISFETOLOGY : What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years», *Sensors and actuators B*, 88 :1–20. 2003.

[15] Lippa P.B., Sokoll L.J., Chan D.W., «Immunosensors principles and applications to clinical chemistry», *Clinica chimica acta*, 314 :1–26. 2001.

[16] Gehring A.G., Crawford C.G., Mazonko R.S., Houten L.J.V., Brewster J.D., «Enzyme-linked immunomagnetic electrochemical detection of Salmonella typhimurium», *Journal of Immunological Methods*, 195(1-2) :15–25. 1999.

[17] Kima N., Park I.S., Kim W.Y., «Salmonella detection with a direct-binding optical grating coupler immunosensor», *Sensors and Actuators B : Chemical*, in press. 2006.

[18] Kauffmann J.M., «Les biocapteurs dans le domaine pharmaceutique», *Ann Pharm Fr*, 60 :28–37. 2002.

[19] Clark L.C., Lyon C., «Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery», *Ann. NY Acad. Sci.*, 102 :29–45. 1962.

[20] Ampion J., Tampion M.D., *Immobilized cells : principles and applications*, Press Syndicate of the University of Cambridge. 1987.

[21] Lei Y., Chen W., Mulchandani A., «Microbial biosensors», *Analytica Chimica Acta*, 568(1-2) :200–210. 2006.

[22] Urdike S.J., Hicks G., «The enzyme electrode» *Nature*, 214 :986–988. 1967.

[23] Mouna MARRAKCHI Développement et optimisation de biocapteurs à base de biomolécules et de micro-organismes sur microélectrodes interdigitées Ecole Centrale de Lyon.

[24] SIMON DELVARRE, NICOLAS WITCZAK Biocapteurs électrochimiques pour le dosage du glucose université de Lille1.

[25] Woodward J., *Immobilised Cells and enzymes : a practical approach*, chapitre Immobilised Enzymes : Adsorption and covalent coupling, pp. 3–17, IRL Press. 1985.

[26] Images O. Français/ESIEE.

[27] Olivier FRANÇAIS –Hélène HORSIN MOLINARO La microfluidique: principes physiques et mise en œuvre d'écoulements continus université de paris-saclay.

[28] Abdenmour ABBAS Fabrication et Fonctionnalisation de BioMEMS par Plasma Froid pour l'Analyse de la Biocatalyse en Spectroscopie TeraHertz UNIVERSITE LILLE 1 .

[29] Mouna MARRAKCHI Développement et optimisation de biocapteurs à base de biomolécules et de micro-organismes sur microélectrodes interdigitées Ecole Centrale de Lyon.

[30] Hafaid Imen Etudes physico-chimique de capteurs à base de nanomatériaux pour des applications biomédicales, insa Lyon.

[31] Guide pratique de l'Usine du Futur – Enjeux et panorama de solutions p 130.

[32] "Absorption" IUPAC. *Compendium of Chemical Terminology*, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997).

[33] F. Rouquerol, J. Rouquerol, K. S. W. Sing et coll. "Adsorption by powders and porous solids: principles, methodology and applications" Academic Press 2nd edition (2014).

[34] L-M Sun, F. Meunier, N. Brodu, M-H Manero "Adsorption - Aspects théoriques" techniques de l'ingénieur J2730 V2 (2016).

[35] Daniele Pugliesi — File:Absorbimento e adsorbimento.svg.

[36] Weston D.F., Smekal T., Rhine D.B., Blackwell J., "Fabrication of microfluidic devices in silicon and plastic using plasma etching", J. Vac. Sci. Technol. B, 19, 2001, 2846-2851.

[37] Rossi F., Bretagnol F., Valsesia A., Colpo P., "Application of plasma processes in NanoBiotechnology", Eur. Phys. J. Appl. Phys., 43, 2008, 277-281.

[38] Mille V., Bourzgui N., Vivien C., Supiot P., Bocquet B., "ppTMDS as a new polymer technology for a high throughput bio-MEMS design", J. micromech. Microeng., 18, 2008, 125026.1.

[39] Kampfrath G., Hintsche R., "Plasma-Polymerized Thin Films for Enzyme Immobilization in Biosensors", Anal. Lett., 22, 1989, 2423-2431.

[40] Hiratsuka A., Kojima K.-i., H. Murguruma, Lee K.-H., Suzuki H., Karube I., "Electron transfer mediator micro-biosensor fabrication by organic plasma process", Biosens. Bioelectron., 21, 2005, 957-964.

[41] Storey D. M., McGrath T. S., Shimpi T. M., "Molecular plasma deposition of colloidal materials", 31 Jul. 2007, United States Patent 7250195 B1.

[15] Heyse P., Roeffaers M. B. J., Paulussen S., Hofkens J. Jacobs P. A., Sels B. F., "Protein immobilization using atmospheric-pressure dielectric barrier discharges: a route to a straightforward manufacture of bioactive films", Plasma process. Polym., 5, 2008, 186-191.

[42] VITO plasma technology, <http://www.vitoplasma.com/en/66>.

[43] Tsuchiya Y., Akutu K., Iwata A., "Surface modification of polymeric materials by atmospheric plasma treatment", Prog. Org. Coat., 34, 1997, 100-107.

[44] Chen G., Chen S., Zhou M., Chen W., Yang S., "Organic nanocones fabricated by atmospheric plasma polymerization for immobilizing bioprobes", Nanotechnology, 19, 2008, 075504.

[45]Foest R., Schmidt M., Becker K., "Microplasmas, an emerging field of low-temperature plasma science and technology", Intern. J. Mass Spectr.248, 2006, 87-102.

[46]Ideno T., Ichiki T., "Maskless etching of microstructures using a scanning microplasma etcher", Thin Solid Films, 506-507, 2006, 235-238.

[47] Werts, M. H. V, Raimbault, V., Texier-Picard, R., Poizat, R., Français, O., Griscom, L., & Navarro, J. R. G. (2012). Quantitative full-colour transmitted light microscopy and dyes for concentration mapping and measurement of diffusion coefficients in microfluidic architectures. Lab on a Chip,12(4), 808–20. doi:10.1039/c2lc20889j.

[48] <http://images.math.cnrs.fr/>.

[49] Microsystèmes utilisant des fluides, tome microfluidique du traité «Electronique, génie Electrique et Microsystèmes», S. Colin, Edition Hermes, Chapitre 8, 2004.

[50] Brody and Yager Sens.Actuators A 1997; Schilling et Al. Anal.Chem.2002.

[51]. «Capteurs résonants en technologie MEMS: principes et procédés de fabrication».

[52] Olivier FRANÇAIS –Hélène HORSIN MOLINARO La microfluidique: principes physiques et mise en œuvre d'écoulements continus.

[53] <http://www.ingedys.com/calculs-elements-finis.html>.

