



HAL
open science

Conception, réalisation et caractérisation de biocapteurs micromécaniques résonants en silicium avec actionnement piézoélectrique intégré: détection de l'adsorption de nanoparticules d'or

Matthieu Guirardel

► **To cite this version:**

Matthieu Guirardel. Conception, réalisation et caractérisation de biocapteurs micromécaniques résonants en silicium avec actionnement piézoélectrique intégré: détection de l'adsorption de nanoparticules d'or. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2003. Français. NNT: . tel-00003314

HAL Id: tel-00003314

<https://theses.hal.science/tel-00003314>

Submitted on 27 Nov 2003

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THESE

Préparée au
Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes du CNRS

En vue de l'obtention du
Doctorat de l'Université Paul Sabatier – Toulouse III

Spécialité :
Conception de Circuits Microélectronique et Microsystèmes

par
Matthieu GUIARDEL

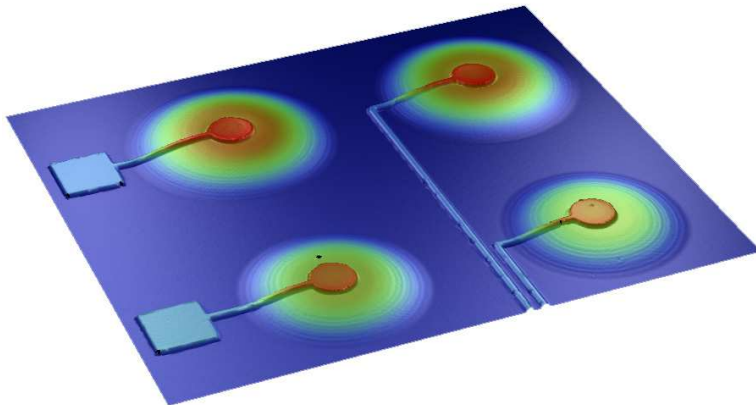
CONCEPTION, RÉALISATION ET CARACTÉRISATION
DE BIOCAPTEURS MICROMÉCANIQUES RÉSONANTS
EN SILICIUM AVEC ACTIONNEMENT PIÉZOÉLECTRIQUE INTÉGRÉ :
 DÉTECTION DE L'ADSORPTION DE NANOPARTICULES D'OR

Soutenue le 9 octobre 2003, devant le jury :

| | |
|--------------------|---|
| Président | R. Plana |
| Rapporteurs | B. Le Pioufle E. Cattan |
| Examineurs | A. Bosseboeuf T. Coleman |
| Invités | F. Vinet A. Martinez |
| Directeur de thèse | C. Bergaud |

**Conception, réalisation et caractérisation
de biocapteurs micromécaniques résonants
en silicium avec actionnement piézoélectrique intégré :
détection de l'adsorption de nanoparticules d'or**

Matthieu Guirardel



à Stéphanie

Remerciements

JE TIENS TOUT D'ABORD à remercier Jean-Claude Laprie et Malik Ghallab, directeurs du LAAS-CNRS durant ma thèse. Ils ont bien voulu me permettre de poursuivre mes travaux de thèse au sein d'un laboratoire fleuron de la recherche scientifique française dans le domaine de la microélectronique, des micro et nano-technologies. Les moyens à la fois matériels et humains de ce laboratoire ont constitué un avantage certain pour l'avancement de mes travaux de recherche.

Je remercie aussi les membres de mon jury de thèse : Robert Plana, Professeur à l'Université Toulouse III Paul Sabatier et qui a présidé le jury, Bruno Le Pioufle, Professeur à l'École Normale Supérieure Cachan à l'antenne de Bretagne et qui a accepté d'être rapporteur de ma thèse, Eric Cattan, Professeur de l'Université de Valenciennes et du Hainaut-Cambrésis qui fut aussi rapporteur de ma thèse, Alain Bosseboeuf, Directeur de recherche à l'IEF d'Orsay, Antony Coleman, Directeur de recherche à l'IBCP de Lyon, Françoise Vinet du CEA, et bien sûr Augustin Martinez, Professeur à l'INSA Toulouse et administrateur du centre universitaire de formation et de recherche Jean-François Champollion à Albi.

Je n'oublierai pas de remercier Christian Bergaud pour son accueil et la confiance qu'il m'a accordée alors que j'étais en stage de DEA à l'ESPCI Paris. Il m'a demandé de venir travailler au LAAS pour cette thèse, et je le remercie pour son encadrement libre mais sous-entendant les directions à suivre. Il m'a largement aidé dans cette aventure vers la biotechnologie, intégré dans le Génopôle Toulouse–Midi-Pyrénées que je remercie au passage son équipe de la plate-forme Transcriptome. Je tiens à saluer en particulier Véronique Leberre, Emmanuelle Trévisiol et Jean-Marie François de l'INSA/DGBA à Toulouse.

Mes pensées vont, bien entendu, vers Benoît Belier et Liviu Nicu. Tous les deux m'ont formé aux techniques de salle blanche, et m'ont initié à la vie et aux méandres du laboratoire. . . Leurs conseils et soutien furent inestimables. Mon travail au quotidien à leurs côtés m'a énormément apporté, à la fois du point de vue humain, scientifique et technique.

Un merci particulier à Pascal Belaubre, nous avons travaillé en parallèle durant ces trois années sur nos thèses connexes et dirigées par Christian. Trois années de « dur » labeur, dépendant souvent de mes réalisations, et je le remercie pour sa patience et sa persévérance.

Je souhaite aussi remercier tous les membres de l'équipe technique de salle blanche (TEAM). A leurs côtés j'ai passé de nombreuses heures de manipulations et leurs conseils et coups de mains furent toujours bienvenus et nécessaires. Un merci spécial à Christiane Duprat de l'AIME et Jacques Rayssac pour avoir réussi à connecter mes puces plutôt capricieuses.

Merci à Yannick Tauran qui à su se plier à mes exigences parfois dures ; il m'a apporté une aide précieuse en cette fin de thèse. Sa motivation, sa rapidité d'intervention et sa curiosité ont été des atouts essentiels dans son travail.

Sans oublier Laurent Jalabert, et Daisuké Saya mes deux « japonais » avec qui j'ai cohabité dans ce bureau D12. Un clin d'œil aussi à Angel Cid, catalan toujours rayonnant de bonne humeur et qui me tient au courant des nouvelles du *Barça* ! Encore une pensée pour Emmanuel Scheid, Pierre Temple, Fuccio Cristiano, Eric Campo, Patrick Austin et Jean-Pierre Laur, voisins de couloirs et commensaux.

Je regretterais d'omettre l'équipe doctorante qui n'a pas oublié d'organiser royalement les JNRDM'03 : Jérôme, Stéphanie, Laurent, Christian, William, Frédérick, Petra, Marie-Laure, Mathilde, Thomas, Emmanuel et David. L'épreuve fut fatigante, éprouvante, exténuante, mais ce fut une expérience très riche et finalement un grand plaisir partagé.

Un clin d'œil à l'équipe *Maupas* des Doctoriales 2002 avec qui j'ai passé une semaine intense autour de notre fée Anne-Claire.

Merci aussi à Christian Berty, notre *aficionado* spécialiste ès tauromachie, grand conteur et poète à ses heures. . .

Merci enfin à ma toute récente femme, *Stéphanie*, qui a su partager mes angoisses aussi bien que mes joies. Merci de m'avoir soutenu malgré la terrible tempête que tu as dû affronter.

**Conception, réalisation et caractérisation de biocapteurs micromécaniques
résonnants en silicium avec actionnement piézoélectrique intégré :
détection de l'adsorption de nanoparticules d'or**

RÉSUMÉ :

Ce travail consiste en l'étude et la réalisation d'un micro-capteur destiné à la mesure de concentration d'un composé en solution. La méthode de détection est basée sur la variation de fréquence de résonance d'un micro-dispositif mécanique dont la surface est fonctionnalisée pour adsorber le composé à mesurer. Ces biocapteurs en silicium, sous forme de micromembranes piézoélectriques, sont remarquables par leur grande sensibilité et la possibilité d'explorer en parallèle de nombreux échantillons.

Après avoir exposé les différentes technologies de biocapteurs existantes, l'étude se concentre sur l'optimisation des conditions d'élaboration de couches minces piézoélectriques pour obtenir un procédé technologique parfaitement compatible avec la technologie silicium. Une caractérisation mécanique de ces membranes a été effectuée par interférométrie optique 3D pour extraire le coefficient piézoélectrique du matériau. Les premières membranes réalisées présentent des propriétés d'actionnement excellentes. Une deuxième génération de membranes a ensuite été réalisée en modifiant les géométries des différentes couches. La sensibilité obtenue est compatible avec les seuils de détection nécessaires pour la détection de molécules biologiques.

Des protocoles chimiques permettant la fonctionnalisation de la surface des micromembranes ont ensuite été développés. L'évaluation du comportement du microdispositif en situation, c'est-à-dire en milieu liquide, a enfin été effectuée. Pour cela, une cellule fluïdique avec régulation de température a été mise au point. Les membranes piézoélectriques ont été positionnées à l'intérieur de cette cellule fluïdique pour mesurer la cinétique d'adsorption de nanoparticules d'or en solution. Dans le cadre des biopuces, des microleviers permettant le dépôt de micro-gouttes de solutions ont aussi été développés. Ils permettent notamment de fonctionnaliser individuellement chaque membrane et présentent l'avantage de ne pas endommager les microstructures.

**Design, fabrication and characterization of resonant silicon-based
micromechanical biosensors with integrated piezoelectric actuation:
gold nanoparticles detection**

ABSTRACT:

This work consists in the study and development of a microsensor assigned to measure compound concentration in solution. Detection method is based on resonance frequency shift of a mechanical microdevice whose surface has been functionalized to adsorb the compound to be measured. These silicon-based biosensors that are piezoelectric micromembranes, are remarkable for their high sensitivity and their ability to explore in parallel many samples.

After a description of the various biosensor technologies, we focus our work on the optimisation of piezoelectric thin film deposition to obtain a silicon-compatible technology. A mechanical characterization of these membranes is then performed by optical 3D interferometry to extract the piezoelectric coefficient. The first manufactured membranes show excellent actuation properties. A second generation of membranes has been next developed with modified film geometries. The obtained sensitivity is compatible with detection threshold required to detect biomolecules.

Then, chemical protocols have been developed to functionalize the micromembrane surface. Finally, the evaluation of the microdevice behaviour in actual situation, i.e. in liquid, has been carried out. For this measurement, a temperature regulated fluidic cell has been adjusted. The piezoelectric membrane has been positioned inside this fluidic cell to measure the adsorption kinetic of gold nanoparticles in solution. For biochip applications, dedicated microcantilevers for depositing liquid micro-spot have been developed. They allow in particular functionalizing individually each membrane and offer the advantage not to damage the microdevices.

| | |
|---|-----------|
| Introduction générale | 1 |
| 1 Biocapteurs et Microtechnologies | 5 |
| 1.1 Les biocapteurs | 6 |
| 1.1.1 Contexte : une histoire de puce | 6 |
| 1.1.2 Définition | 6 |
| 1.1.3 Deux types de reconnaissance d'un biocapteur | 8 |
| 1.1.4 Les méthodes de détection d'un biocapteur | 10 |
| 1.2 Les microleviers, véritables biocapteurs | 20 |
| 1.2.1 Genèse : l'AFM et ses utilisations comme biocapteur | 20 |
| 1.2.2 Evolution vers des détecteurs spécifiques | 22 |
| 1.2.3 Tension de surface et contrainte de surface | 25 |
| 1.2.4 Traitements de surface | 27 |
| 1.2.5 Méthodes de détection | 28 |
| 1.3 Conclusion : présentation des axes de recherche | 29 |
| 2 Technologies et fabrications | 31 |
| 2.1 Intégration du matériau piézoélectrique : fabrication de leviers | 32 |
| 2.1.1 Choix du matériau piézoélectrique | 32 |
| 2.1.2 Procédés de fabrication de membranes piézoélectriques | 33 |
| 2.1.3 Choix du type de structures | 33 |
| 2.1.4 Dépôt de la couche piézoélectrique après libération des leviers | 33 |
| 2.1.5 Libération de microleviers après dépôt de la couche piézoélectrique | 34 |
| 2.2 Recentrage vers les biocapteurs : fabrication de membranes piézoélectriques | 37 |
| 2.2.1 Introduction : Du levier à la membrane | 37 |
| 2.2.2 Première génération de membranes | 37 |
| 2.2.3 Deuxième génération de membranes | 43 |
| 2.3 Conclusion | 49 |
| 3 Caractérisations électromécaniques | 51 |
| 3.1 Mesure des propriétés piézoélectriques, introduction | 52 |
| 3.1.1 Effet inverse, effet direct | 55 |
| 3.1.2 Présentation du dispositif expérimental | 56 |
| 3.2 Extraction du d_{31} | 56 |
| 3.2.1 Cas des microleviers | 56 |
| 3.2.2 Cas des membranes | 59 |
| 3.3 Comportement fréquentiel de membranes | 65 |

| | | |
|----------|---|------------|
| 3.3.1 | Modélisation analytique | 65 |
| 3.3.2 | Mesures dynamiques | 70 |
| 3.4 | Conclusion | 76 |
| 4 | Application biocapteur : mesures en milieu liquide | 79 |
| 4.1 | Un système de mesure en milieu liquide | 80 |
| 4.1.1 | Préparation et traitements de surface | 80 |
| 4.1.2 | Cellule liquide thermorégulée | 84 |
| 4.2 | Détermination de la sensibilité | 86 |
| 4.2.1 | Calcul théorique de la sensibilité | 86 |
| 4.2.2 | Sensibilité expérimentale | 89 |
| 4.2.3 | Minimum de détection | 92 |
| 4.2.4 | Validation de la cinétique observée | 93 |
| 4.3 | Vers une biopuce : dépôts biologiques localisés | 96 |
| 4.3.1 | Systèmes commerciaux et leur adaptation aux microtechnologies | 96 |
| 4.3.2 | Premier essai de plumes micro-usinées | 97 |
| 4.3.3 | Deuxième génération de plumes micro-usinées | 98 |
| 4.4 | Conclusion | 101 |
| | Conclusion et perspectives | 103 |
| | Bibliographie | 105 |
| | Publications | 113 |

LE MARCHÉ ACTUEL des biopuces est en forte expansion car les premières applications industrielles dans le cadre du diagnostic pharmaceutique ont été mises sur le marché récemment (cf fig.1). Un tour d'horizon des nouveaux tests et analyses commercialisés ou en phase de l'être en 2002 montre l'effervescence du secteur au niveau international. Sont notamment attendus sur le marché des tests de susceptibilité aux infarctus du Myocarde, rupture d'anévrisme, maladie d'Alzheimer, etc. . . , domaines pharmaceutiques depuis longtemps abordés par les « big pharma ».

En 2002, un des faits marquants dans le secteur du diagnostic in vitro aura été l'approbation par la FDA¹ de la mise sur le marché d'un test génétique (Procleix HIV-1/HCV) permettant la détection des virus VIH² et HVC³ dans les dons du sang. Le kit génétique développé par l'entreprise américaine GEN-PROBE correspond aux attentes des pouvoirs publics américains qui souhaitaient un test hautement sensible et spécifique. Les laboratoires CHIRON en sont distributeurs exclusifs au niveau mondial.

En décembre 2002, la FDA a agréé le test génétique de CELERA DIAGNOSTICS Viro-Seq destiné à détecter les mutations du virus VIH pour évaluer la résistance d'un patient à une thérapie. Plus de 150 000 tests de ce type sont déjà pratiqués aux États-Unis, utilisant également le test développé par VISIBLE GENETICS TrugeneTM. Dans la même application, PRIMAGEN, société hollandaise, a également lancé en 2002 un test génétique destiné à évaluer l'efficacité de thérapies antivirales contre le VIH-1. Le marché de la détection du virus HIV attire également l'attention des leaders du secteur du diagnostic in vitro : BAYER DIAGNOSTICS a acquis la société américaine VISIBLE GENETICS, de son côté ROCHE DIAGNOSTICS a développé également son propre kit dans la détection du virus VIH-1.

La génétique des cancers connaît actuellement un important essor, notamment en ce qui concerne la détection des mutations liées aux cancers héréditaires du sein et des ovaires. La composante génétique de certains cancers devrait encore être mieux appréhendée par les pouvoirs publics dans les années à venir, au fur et à mesure du développement de tests prédictifs performants. La société américaine MYRIAD GENETICS est sans conteste leader international dans le domaine de la détection des prédispositions familiales au cancer du sein et des ovaires. Elle doit maintenant faire face à l'entrée de nouveaux acteurs en cancérologie, proposant des kits innovants ou des services d'analyses génétiques et de conseils aux oncologues.

Les évolutions des micro et nanotechnologies durant les dix dernières années ont ouvert de nouvelles perspectives pour la fabrication d'objets de petites tailles dont les applica-

¹US Food and Drug Administration

²Virus de sida ou HIV : Virus d'immuno-déficience humaine

³virus de l'hépatite C

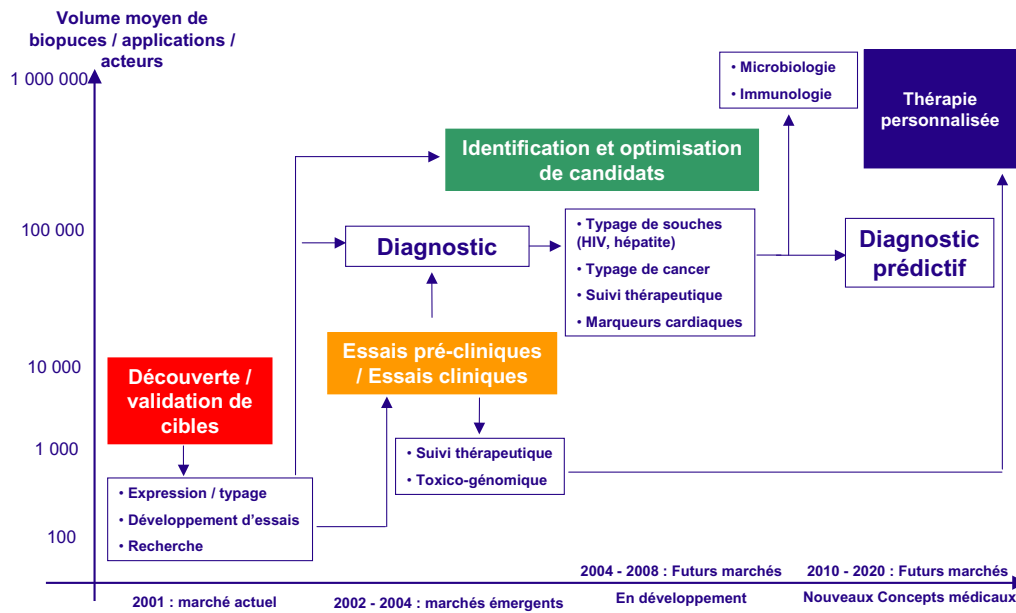


Fig. 1 : Perspectives d'évolution des applications des biopuces, Applications pharmaceutiques et diagnostiques.⁵

tions sont variées, en biologie en particulier. Elles concernent des outils pour la biologie moléculaire et la biochimie et plus particulièrement ceux qui interviennent dans le séquençage du génome et l'analyse de nucléotides (en raison de leurs applications variées dans le diagnostic clinique des pathologies) ou encore dans le domaine du criblage haut débit de molécules pharmacologiques. La grande variété des biocapteurs existants est en effet une preuve de la richesse des applications envisageables, que ce soit des capteurs de petites molécules (oxygène, glucose, nitrates...) ou de molécules de plus grand poids moléculaire dans le cas des immunocapteurs.

La mise en œuvre de ces biocapteurs n'est pas directement associée aux micro et nanotechnologies mais leur miniaturisation leur confère un grand nombre d'avantages par rapport à ceux de taille conventionnelle. Le premier d'entre eux est évidemment leur petite taille. Elle permet d'envisager de démultiplier le nombre d'objets identiques dans un espace réduit autorisant ainsi l'exploration en parallèle d'un grand nombre d'échantillons. Ceci devient capital pour l'exploration de la séquence de nucléotides, l'identification de protéines ou l'analyse au niveau d'une seule cellule. Les objets étudiés (nucléotides, protéines, cellules...) sont, de ce fait, confinés dans de petits volumes et la détection est ainsi grandement facilitée par la possibilité d'observer de grandes variations de concentrations alors même que les quantités de molécules engagées restent faibles.

Les applications à la détection (biocapteurs, outils médicaux) ont, de ce fait, vu l'émergence d'objets portables ou implantables in situ. Cette tendance est en outre renforcée par la relation étroite entre microfabrication et fabrication conventionnelle des semi-conducteurs. Elle a ainsi conduit à l'intégration de composants électroniques ou électriques dans l'élaboration de microsystèmes et il est désormais possible d'envisager une détection électrique grâce à une transduction mécanique, chimique, optique...

Le travail de recherche que nous avons effectué s'inscrit dans ce cadre, nous nous sommes donné comme objectif de réaliser de nouveaux types de biocapteurs utilisables en parallèle pour remplir le rôle de biopuces. Ce travail a été effectué en collaboration et

⁵Synthèse de l'étude sur les biocapteurs et les biopuces - Étude réalisée pour le Ministère de l'économie, des finances et de l'industrie par Yole développement - 2002

avec le soutien du Génopôle Toulouse Midi-Pyrénées. Ce nouveau type de biocapteur se base sur l'utilisation de la détection de variation de masse ou de raideur mécanique à la surface d'une membrane. Le principe de détection est similaire à celui de microbalances à quartz où une augmentation de masse induit une variation de fréquence de résonance du quartz et une variation de son impédance. Ces variations sont corrélées à l'appariement de biomolécules cibles avec des ondes pré-déposées sur la surface des microbalances.

Dans notre cas, la microbalance est constituée d'une membrane en silicium sur laquelle a été déposée une couche piézoélectrique en film mince. Cette membrane piézoélectrique est mise en vibration à sa résonance mécanique, nous suivons alors ses variations de fréquence de résonance qui traduisent une variation de masse ou de contrainte d'une réaction biomoléculaire sur sa surface.

Cette méthode présente deux principaux avantages. D'une part, la réduction en taille des dispositifs résonants permet d'obtenir des fréquences de résonances élevées (plusieurs centaines de kHz) avec de forts facteurs de qualité (de 100 à 1000) ce qui conduit à une augmentation de la sensibilité. Ce qui se traduit, grâce à la très faible masse des dispositifs, à une forte sensibilité à la moindre variation de masse induite lors d'une interaction à la surface du dispositif. D'autre part, la réduction en taille ajouté à cette sensibilité permet de limiter la quantité de produits nécessaire à la réaction et d'envisager un grand nombre de réactions en parallèle.

Nous présenterons dans un premier temps les différents types de biocapteurs existants et nous nous attarderons sur l'utilisation dans ce domaine des microleviers, structure mécanique de base, à l'origine de ce projet. Nous décrirons ensuite les technologies mises en œuvre pour la fabrication de ces membranes. Nous décrirons en détail les étapes nécessaires au bon déroulement du procédé de fabrication. Dans un troisième chapitre nous caractériserons le comportement mécanique de ces structures mécaniques, tant du point de vue des caractéristiques du matériau piézoélectrique employé que du point de vue dynamique en observant les modes de résonance. En dernière partie nous verrons comment nous intégrons nos dispositifs dans une cellule fluide simple à laquelle est associé un système de thermorégulation. Ce système nous permet de positionner nos structures vibrantes dans des solutions contenant des nanoparticules d'or en suspension. Nous évaluerons ensuite la sensibilité de nos dispositifs. Dans un dernier temps, nous exposerons un système permettant de fonctionnaliser individuellement chaque membrane. Ce système de dépôt de solutions biologiques nous permet d'envisager de fonctionnaliser nos dispositifs pour la réalisation de biopuces.

CHAPITRE 1

Biocapteurs et Microtechnologies

Sommaire

| | | |
|------------|--|-----------|
| 1.1 | Les biocapteurs | 6 |
| 1.1.1 | Contexte : une histoire de puce | 6 |
| 1.1.2 | Définition | 6 |
| 1.1.3 | Deux types de reconnaissance d'un biocapteur | 8 |
| 1.1.3.1 | Biocapteurs à affinité | 8 |
| 1.1.3.2 | Biocapteurs catalytiques | 9 |
| 1.1.4 | Les méthodes de détection d'un biocapteur | 10 |
| 1.1.4.1 | Détection optique | 10 |
| 1.1.4.2 | Détection électrochimique | 12 |
| 1.1.4.3 | Détection mécanique | 13 |
| 1.1.4.4 | Avec ou sans marquage ? | 15 |
| 1.1.4.5 | Vers les micro et nanotechnologies | 17 |
| 1.2 | Les microleviers, véritables biocapteurs | 20 |
| 1.2.1 | Genèse : l'AFM et ses utilisations comme biocapteur | 20 |
| 1.2.2 | Evolution vers des détecteurs spécifiques | 22 |
| 1.2.2.1 | Mesure dynamique | 24 |
| 1.2.2.2 | Mesure statique | 25 |
| 1.2.3 | Tension de surface et contrainte de surface | 25 |
| 1.2.4 | Traitements de surface | 27 |
| 1.2.5 | Méthodes de détection | 28 |
| 1.3 | Conclusion : présentation des axes de recherche | 29 |

1.1 Les biocapteurs

1.1.1 Contexte : une histoire de puce

EN JANVIER 1998, les puces à ADN ont sauvé de la faillite Patrick Baeuerle alors à la tête de l'entreprise californienne de biotechnologies Tularik spécialisée dans la découverte de nouveaux médicaments. En effet, il trouva, avec ses chercheurs, une substance qui, sur des cellules en culture, réduisait fortement le taux de lipoprotéines de faible densité qui provoquent le dépôt de cholestérol dans les artères. Une fois cette substance découverte, l'étape suivante consista à comprendre les mécanismes mis en jeu par cette molécule, une difficulté qui peut prendre des années. Afin de gagner du temps, Baeuerle décida de trouver dans les cellules traitées quels étaient les gènes exprimés dans ces cellules grâce à la technique des puces à ADN. La réponse de leurs puces donna un résultat totalement différent des cellules traitées par des médicaments déjà commercialisés : « cela a changé dramatiquement le profil des gènes » déclara Baeuerle [1]. Ce changement n'était pas de bon augure, il fut alors prouvé que ce qui avait fait penser à un médicament était effectivement une substance toxique pour les cellules. Même si ce résultat fut décevant, il épargna à Baeuerle de déboursier des millions de dollars en de longues études sur des animaux.

Nous avons là un exemple concret d'application d'une génération de biocapteurs apparus il y a une dizaine d'années et qui ont révolutionné la génétique.

1.1.2 Définition

Qu'entendons-nous par biocapteur ? Un biocapteur est un système qui utilise des réactions biologiques pour détecter un composé à analyser. Un tel système relie intimement l'élément de reconnaissance biologique (qui réagit avec l'analyte) à un transducteur qui transforme cette bio-reconnaissance en un signal physique utile. Les transducteurs courants possèdent des éléments optiques, électrochimiques ou mécaniques. Nous détaillerons ces diverses approches dans la partie 1.1.4.

Une mise en parallèle de biocapteur permet de définir une biopuce, dans la mesure où une bio-reconnaissance spécifique peut être associée à chacun de ces biocapteurs.

Le dispositif de bio-reconnaissance se base sur un greffage sélectif d'un analyte cible sur un ligand récepteur, cf fig.1.1. Ce dernier est immobilisé à la surface du capteur et forme une couche de molécules sélectionnées pour leur reconnaissance, citons par exemple les enzymes, les peptides, les protéines, les lectines, les anticorps ou une alternative aux anticorps : les aptamères, les acides nucléiques (ADN, ARN, ADN_c, oligonucléotides), les membranes, des cellules vivantes ou même des empreintes moléculaires [2].

Prenons l'exemple des biopuces à ADN qui ont été sans aucun doute le moteur de la recherche actuelle sur la diversification et la miniaturisation des biocapteurs. Les puces à ADN permettent à la fois le séquençage, l'étude des mutations et de l'expression des gènes. Le principe repose sur l'hybridation de sondes nucléiques généralement courtes et fixées sur une surface, avec un acide nucléique cible. La mise en présence de séquences cibles et de sondes complémentaires conduit à l'hybridation de celles-ci selon les règles d'appariement définies par Crick et Watson. L'hybridation moléculaire désigne l'association qui peut avoir lieu entre deux acides nucléiques simples brins de séquences complémentaires et qui conduit à la formation d'un double brin ou duplex. Cette association s'effectue par l'établissement de liaisons hydrogènes spécifiques : deux liaisons entre l'adénine (A) et la thymine (T) (ou l'uracile U) et trois entre la cytosine (C) et la guanine (G) (cf fig.1.2). La formation et la stabilité des duplex dépendent de nombreux facteurs en plus de la composition en bases : longueur des duplex, complexité de la séquence, taux de guanine, milieu (pH, salinité, température), etc.

Après un lavage de la surface pour enlever les cibles non hybridées, on procède à une

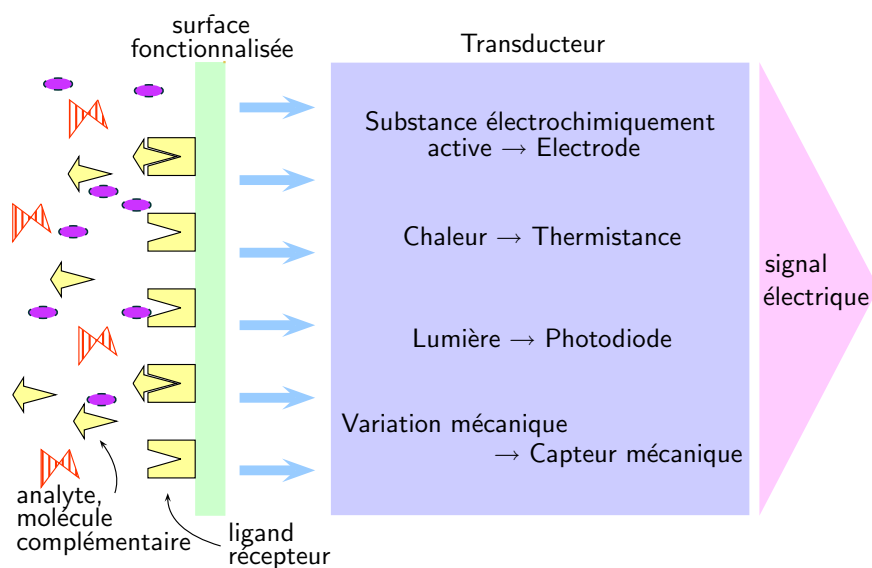


Fig. 1.1 : Schéma général d'un biocapteur partant d'une solution à analyser en contact avec la surface fonctionnalisée du biocapteur. Celle-ci reconnaît un élément spécifique, la partie transduction transforme le signal physique en un signal électrique.

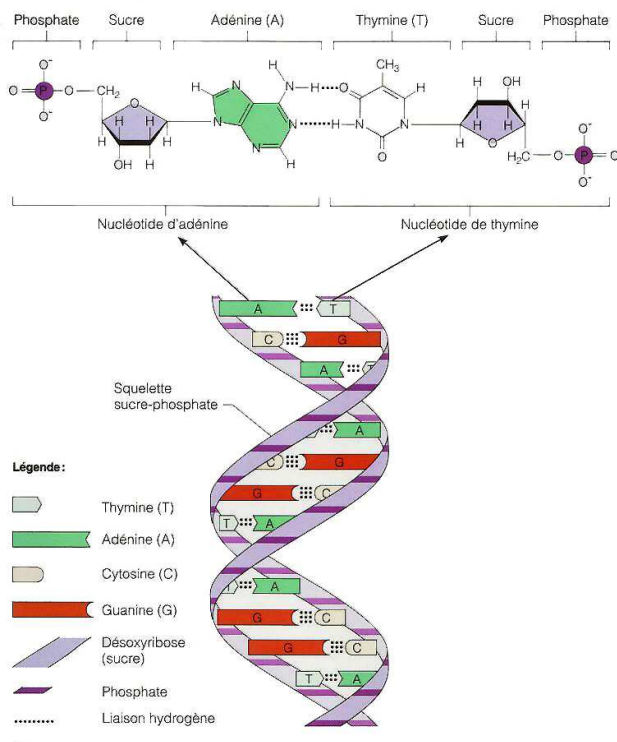


Fig. 1.2 : Schéma de l'ADN et du couplage entre deux bases

analyse de celle-ci. Cette analyse permet de comparer les sites où les sondes avaient été déposées afin de repérer les hybridations effectives grâce aux signaux émis par le marqueur étiquetant la cible. Un traitement informatique de ces données, permettra d'extraire les informations suivantes : la présence ou non de fragments particuliers dans l'échantillon, la détermination des séquences, les études des mutations... Ces puces à ADN s'inscrivent, nous le verrons dans la partie suivante, dans le cadre des biocapteurs à affinité.

Un biocapteur est souvent couplé avec des techniques analytiques telles que la chromatographie ou l'électrophorèse qui peuvent aussi réaliser la séparation des échantillons avant l'interaction spécifique du biocapteur. Une étude en parallèle par spectrométrie de masse permet d'apporter des informations complémentaires sur la composition de l'analyte. Cette technique est couramment employée par la protéomique¹ pour réaliser une identification absolue de la protéine. Mais on ne peut considérer ces techniques analytiques comme des biocapteurs. Cependant, aujourd'hui, de nombreux développements de « laboratoires sur puce » intègrent à la fois une partie analytique, des microréacteurs et enfin une partie biocapteur.

Lors de la description d'un biocapteur, l'on prendra en compte le type de reconnaissance (affinité ou catalytique), le type de transduction (optique, électrochimique, mécanique ou thermique) et enfin le type d'application (clinique, environnement, diagnostic etc.). Les applications des biocapteurs étant extrêmement nombreuses, nous ne nous attarderons pas à les développer, nous en décrirons certaines dans les développements des chapitres suivants. Voyons maintenant dans le détail les différents procédés de reconnaissance puis les modes de transduction.

1.1.3 Deux types de reconnaissance d'un biocapteur

Du point de vue réactionnel, deux types de biocapteurs peuvent être distingués selon la nature de la reconnaissance [3]. Les systèmes à affinité sont directement sensibles au greffage de l'analyte avec son ligand alors que les dispositifs catalytiques (ou métaboliques) utilisent généralement une enzyme comme réactant. Cette dernière catalyse une réaction biochimique qui sera signalée par le transducteur.

Pour les différencier correctement, nous allons détailler à travers une approche chimique, les cinétiques de réaction.

1.1.3.1 Biocapteurs à affinité

Dans le cas des biocapteurs à affinité, l'interaction simple entre le ligand L , fonctionnalisant la surface du transducteur (i.e. anticorps), et l'analyte A reconnu (i.e. antigène), conduit à la création d'un complexe AL . Nous pouvons écrire cette réaction par l'équilibre suivant :



avec la constante d'affinité caractéristique de cet équilibre :

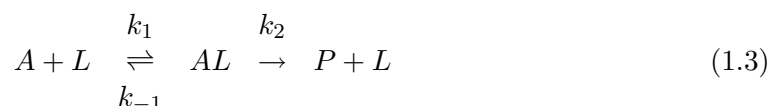
$$K = \frac{[AL]}{[A][L]} = \frac{k_1}{k_{-1}} \quad (1.2)$$

¹Discipline apparue dans la foulée de la génomique, qui regroupe les activités de recherches destinées à rassembler l'information complète sur l'expression des protéines des organismes dont le génome a été identifié. Le terme « protéomique » est dérivé du mot « protéome », inventé en 1994 par Marc Wilkins pour désigner l'ensemble des protéines exprimées par un génome (totalité des gènes d'un être vivant) à un moment précis en réponse à un environnement donné.

k_1 et k_{-1} sont respectivement les constantes cinétiques de réaction directe et inverse. Les valeurs de la constante d'affinité K sont dans la plage $10^3 L.mol^{-1}$ pour les lectines, à $10^{15} L.mol^{-1}$ pour un système avidine-biotine. La sensibilité du capteur sera d'autant plus grande que la valeur de cette constante sera élevée, cependant si l'on cherche une réversibilité rapide, un compromis devra être trouvé. C'est un problème inhérent à cette méthode, surtout dans le cadre des immunocapteurs (à base d'antigènes et d'anticorps). La difficulté de dissociation du complexe nécessitant des lavages stringents qui dégradent la surface active, on doit les faire suivre par une étape de régénération de cette surface.

1.1.3.2 Biocapteurs catalytiques

A contrario, pour les biocapteurs catalytiques (ou métaboliques), le complexe formé est dissocié pour régénérer le ligand. L'analyte est ensuite transformé en un produit P , et c'est ce produit ou cette deuxième réaction auquel est sensible le transducteur. Prenons le cas le plus courant² où la réaction lente, donc limitante, est celle de formation du produit et de dissociation du complexe, correspondant à la constante cinétique k_2 . Nous pouvons écrire cette suite de réactions comme suit :



en appliquant l'*approximation de l'état stationnaire*, la vitesse de formation du complexe AL est égale à sa vitesse de disparition :

$$\frac{d[AL]}{dt} = k_1[A][L] - (k_2 + k_{-1})[AL] = 0 \quad (1.4)$$

on en déduit ainsi la constante de Michaelis-Menten :

$$K_m = \frac{[A][L]}{[AL]} = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \quad (1.5)$$

or la conservation de la masse nous permet d'écrire, avec $[L]_0$ concentration initiale en ligand :

$$[L] = [L]_0 - [AL] \quad (1.6)$$

ce qui donne accès à la vitesse v de dissociation du complexe AL , en posant que la réaction limitante est la réaction k_2 et en utilisant (1.5) et (1.6) :

$$v = k_2[AL] = \frac{k_2[L]_0[A]}{K_m + [A]} \quad (1.7)$$

On observe alors une saturation lorsque l'analyte A est ultra-majoritaire :

$$V_{max} = k_2[L]_0 \quad (1.8)$$

d'où

$$v = \frac{V_{max}[A]}{K_m + [A]} \quad (1.9)$$

Dans ce cas, la constante K_m (dans le cas où la cinétique de saturation est observée : $k_2 \ll k_{-1}$) représente la concentration d'analyte A nécessaire pour arriver à la moitié de la vitesse maximale V_{max} ou demi-saturation du ligand. En pratique, comme à la saturation, la vitesse de disparition du complexe AL (ou la production du produit P) donc la réponse

²pour certaines réactions comme la catalase, l'acétylcholinestérase, l'anhydrase carbonique par exemple, où $k_2 \gg k_{-1}$ (cinétique de Briggs-Haldane), la vitesse de réaction enzymatique devient limitée par la fréquence des collisions entre l'analyte et l'enzyme.

du capteur, est indépendante de la concentration en analyte, seules des concentrations en analyte inférieures à K_m seront exploitables par le capteur.

Cependant pour certains capteurs catalytiques où l'enzyme (ligand) est incluse dans une membrane, la réponse est alors limitée par la diffusion de l'analyte dans la membrane et du produit vers la solution.

1.1.4 Les méthodes de détection d'un biocapteur

Nous avons distingué les capteurs selon que le principe de reconnaissance était catalytique (métabolique) ou à affinité. On les différencie aussi selon leur mode de transduction. Trois grandes catégories que nous allons détailler apparaissent alors, les méthodes optiques, électrochimiques ou mécaniques. Dans un premier temps, nous distinguerons dans ces trois catégories les voies envisagées et commercialisées. Nous ferons ensuite une première synthèse sur l'utilisation ou non de marqueurs sur les ligands, et enfin, nous détaillerons les voies récentes de miniaturisation que ces différentes techniques ont pu emprunter.

1.1.4.1 Détection optique

L'utilisation de transducteurs optiques est peut-être la plus répandue dans l'univers de la biologie. Nous envisagerons les méthodes par marquage fluorescent, par radiomarquage et par résonance de plasmons de surface.

La fluorescence

Des trois types de détection optique, nous rencontrerons le plus fréquemment dans les laboratoires de biologie des appareils de mesure de fluorescence. Les protocoles nécessitent d'incorporer à la molécule à analyser une molécule fluorescente (fluorophore ou fluorochrome). Ce type de molécule possède la propriété d'absorber de l'énergie lumineuse (lumière d'excitation) et de la restituer rapidement ($< 1ns$) sous forme de lumière fluorescente (lumière d'émission). Deux phénomènes peuvent perturber l'émission de fluorescence. Le premier, le phénomène de *quenching* provient de l'absorption d'une partie de l'énergie par d'autres molécules du milieu. Le second, le photoblanchiment (ou *photobleaching*) apparaît lorsqu'on est en présence d'une intensité très forte de lumière. Une forte proportion de molécules sont alors dans un état excité de forte énergie, et peuvent perdre des électrons donnant naissance à des radicaux libres. Ces derniers sont extrêmement réactifs, les molécules initialement fluorescentes sont alors profondément modifiées par ces réactions qui annihilent leur fluorescence de façon irréversible.

Il existe plusieurs types de fluorophores qui se distinguent par leur longueur d'onde d'excitation et d'émission. Cette variété permet d'en combiner plusieurs sur différents analytes d'une même préparation. La fluorescence peut être utilisée pour effectuer des dosages en utilisant un spectrophotomètre, mais son utilisation principale est la microscopie à fluorescence. Dans le cadre des puces à ADN, on utilise des scanners qui balayent la surface d'une lame de verre avec un laser. Ce laser excite les fluorophores à la bonne longueur d'onde et l'émission fluorescente est récupérée par des photomultiplicateurs dont la sensibilité est excellente. Actuellement, la résolution latérale des appareils commerciaux est d'environ $10\mu m$ et leur sensibilité permet de détecter jusqu'à 1 voire 0,1 molécule fluorescente par μm^2 , sur le plan biologique cette méthode permet d'aller jusqu'à la détection d'hybridation d'ADN jusqu'à une concentration de 1pM.

Le radiomarquage

Pour le radiomarquage, on substitue à un atome de la molécule à détecter un atome radioactif³, par exemple le radio-isotope du phosphore : le phosphore 32 (^{32}P). D'autres atomes sont couramment utilisés comme l'iode, le carbone ou l'hydrogène.

³par extension, nous avons classé ici le radiomarquage dans la catégorie des capteurs optiques

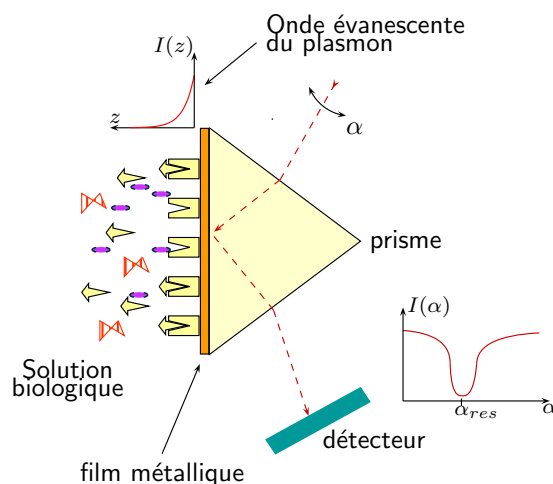


Fig. 1.3 : Schéma de principe de la résonance de plasmons.

La radiation d'un atome radioactif se caractérise par le type de particule émise (β ou γ) et par l'énergie de l'émission. Les compteurs Geigers ne sont pas sensibles à l'énergie mais comptent les particules, ils ne sont plus utilisés. Les scintillateurs modernes sont beaucoup plus performants, on peut utiliser plusieurs atomes radioactifs sur la même préparation et les différencier. Dans un scintillateur, la préparation est plongée dans un liquide sensible à la radiation : le scintillant. Lorsqu'une désintégration a lieu, les particules sont absorbées par le scintillant qui émet un photon détecté par le scintillateur. Cette technique ne permet que des dosages.

Une autre méthode de détection consiste à poser la préparation sur une pellicule photographique qui sera développée au bout d'un certain temps d'exposition, de quelques heures à quelques jours. L'autoradiographie permet de travailler sur des préparations de tailles importantes, comme des tranches de cerveau, contrairement à la fluorescence qui actuellement est limitée à des surfaces de l'ordre du centimètre carré.

L'utilisation d'isotopes radioactifs comme marqueurs des séquences cibles se révèle peu intéressante dans les systèmes de puces à ADN. Le développement d'écrans accumulateurs au phosphore et de systèmes de lecture adaptés à ces écrans (*phosphorimager*, *Molecular Dynamics*) ont longtemps été utilisés pour des hybridations semi-quantitatives sur membrane de polymère (polypropylène). Mais la diminution de la taille de ces membranes ainsi que l'augmentation de la densité en sondes a montré les limites de ces systèmes. En effet, une fois l'empreinte d'hybridation digitalisée, la définition latérale est de l'ordre de $300\mu\text{m}$. De plus, la tendance vers l'utilisation de marqueurs non radioactifs ne permettra pas à ce type de système de perdurer.

Le principal inconvénient de la radioactivité est son danger, les risques de contamination sont d'autant plus graves que les atomes sont intégrés dans des molécules biologiques et peuvent être assimilés par l'organisme humain s'ils sont ingérés.

La résonance de plasmons de surface (SPR)

La formation du complexe ligand-analyte sur la surface entraîne des modifications des propriétés physiques de celle-ci. Entre autres paramètres liés à l'optique, citons l'absorption, la diffusion, ou l'indice de réfraction. Ici, nous n'aborderons pas les techniques d'ellipsométrie, la spectroscopie infrarouge ou les guides d'ondes optiques [4] mais l'application la plus répandue qui se base sur la modification de l'indice de réfraction, la résonance de plasmons de surface [5, 6].

Lorsqu'un faisceau de lumière polarisée monochromatique illumine une interface entre deux milieux d'indice de réfraction différent, une partie de la lumière incidente est réfléchie sur l'interface et l'autre partie de la lumière est réfractée à travers la surface. Selon l'angle d'incidence du faisceau toute la lumière peut être réfléchie, une onde évanescente est alors émise. Si une fine couche de métal, riche en électrons libres est déposée à l'interface, ceux-ci entrent en résonance avec les photons du faisceau incident, ce phénomène est appelé résonance plasmonique de surface, le nuage électronique du métal est appelé plasmon. Une conséquence énergétique de cette résonance est visible dans le faisceau réfléchi qui, analysé avec une barrette de photodiodes, présente une chute d'intensité à un angle défini (voir fig.1.3). Cet angle d'intensité minimum est l'angle de résonance, ou angle de réflexion totale interne. Il varie en fonction de l'indice de réfraction et de l'épaisseur du milieu présent dans le champ évanescent. En plaçant les ligands sur la surface dorée, s'ils fixent leur complément, alors l'indice de réfraction sera perturbé modifiant l'angle de réflexion totale. Notons que ce principe ne demande pas de marquage particulier et qu'il permet aussi d'avoir accès aux cinétiques de réaction, c'est donc un capteur biologique pouvant travailler dans les deux catégories : à affinité ou métabolique.

1.1.4.2 Détection électrochimique

Les biocapteurs ont investi un autre vaste champ, celui de l'électrochimie. Les biocapteurs électrochimiques sont des capteurs d'espèces ioniques en solution, ils opèrent donc dans les milieux liquides de manière continue, c'est-à-dire qu'ils se classent dans la catégorie des biocapteurs métaboliques (dont on a accès à la cinétique). Nous allons les classer selon leur mode de transduction : potentiométrique, ampérométrique ou impédancemétrique [2, 3].

Potentiométrique

Les mesures potentiométriques sont basées sur l'équation de Nernst qui relie le potentiel d'équilibre de la réaction d'un couple rédox aux activités de ces espèces, de manière logarithmique. Une électrode mesure à courant nul ce potentiel.

Deux méthodologies sont utilisées. La première se base sur le potentiel d'électrode, cette technique se sert d'une électrode de référence, et sur la surface de l'électrode de mesure est fixé le ligand. Quand l'analyte réagit avec le ligand, cela fait varier le potentiel de l'électrode de mesure. Notons qu'une membrane imprégnée du ligand peut être insérée entre l'électrode et la solution afin de la rendre spécifique à un type d'ion (ISE *Ion Specific Electrode*) par exemple à H^+ , c'est-à-dire au pH.

L'emploi de transistors à effet de champ (FET *Field-Effect Transistor*) constitue le deuxième volet des capteurs potentiométriques. Ces transistors sont sensibles aux charges sur la surface d'une électrode, appelée grille. En modifiant cette grille en une ISE on obtient un ISFET sensible aux ions. Ce principe a été extrapolé aux capteurs biologiques avec l'intégration de couches catalytiques ou pour la formation de complexes ; ils sont alors appelés ENFETs (pour enzymes) ou IMFETs (pour immunologiques). Trente ans après les avoir inventés, P. Bergveld [7] fait un état des lieux de ces capteurs.

L'avantage de tels biocapteurs est la simplicité d'utilisation. Mis à part l'ISFET, ils souffrent d'une sensibilité faible face aux capteurs ampérométriques, et des effets de fixations ou de signaux non spécifiques (influence d'autres ions dans la solution).

Ampérométrique

Les capteurs ampérométriques mesurent le courant issu de l'électrolyse d'une espèce électro-active en fixant le potentiel de l'électrode à une tension constante [8]. Le courant est directement relié à la concentration dans la solution des espèces électro-actives ou à leur vitesse de production. Les réactions choisies sont souvent telles que les courants mesurés sont proportionnels à la concentration en analyte.

Peu d'applications sont directement sensibles et on utilise donc les propriétés catalytiques d'enzymes pour capter des espèces agissant comme le partenaire du couple rédox.

Le plus gros désavantage de la mesure ampérométrique pour les biocapteurs est qu'elle est la plupart du temps indirecte. Cependant elle est compensée par une bonne sensibilité qui est due à la réponse linéaire en fonction de la concentration comparée à la réponse logarithmique de la mesure potentiométrique. Il faut aussi remarquer que contrairement aux systèmes potentiométriques, la méthode ampérométrique ne travaille intrinsèquement qu'en dehors de l'équilibre réactionnel et nécessite donc l'apport de nouveaux éléments actifs. Il peut donc apparaître des limitations dues au transport des espèces.

Impédancemétrie

La méthode impédancemétrie est surtout basée sur la mesure de conductivité ou de capacité entre des électrodes interdigitées. La conductivité peut être mesurée en solution à tension constante, elle dépend alors des concentrations en ions. Il est aussi possible de mesurer une conductivité de surface entre électrodes en ayant immobilisé les ligands à la surface des électrodes.

Enfin, avec une tension alternative, il est possible de mesurer l'épaisseur diélectrique formée par une monocouche auto-assemblée sur laquelle est greffé le ligand [9]. Lorsque le complexe est réalisé, l'impédance électrique de cette couche s'en trouve modifiée. Cette méthode capacitive permet deux applications : la mesure de la qualité de la couche de ligand fixée au-dessus des électrodes, et la mesure d'épaisseur effective du diélectrique due à la fixation de l'analyte.

1.1.4.3 Détection mécanique

Enfin, les derniers types de caractéristiques modifiées par une interaction moléculaire sont les caractéristiques mécaniques. De nombreuses investigations sont apparues récemment avec le développement des microsystèmes. En effet, la réduction en taille, nous le verrons, va dans le sens d'une augmentation de la sensibilité, car le rapport surface/volume augmentant, les phénomènes situés en surface ont tendance à devenir prépondérants.

Thermométrie

Les réactions induites par la formation du complexe ligand-analyte peuvent être endo- ou exothermiques, ces types de biocapteurs sont donc uniquement sensibles aux réactions biométaboliques. Un capteur calorimétrique tel qu'une thermistance permet de quantifier la variation de température, cependant la nécessité de concentrations et volumes suffisants pour dépasser les seuils de détection n'a donné que très peu d'applications.

Microbalance à quartz

Le premier paramètre auquel on peut penser en imaginant l'interaction entre deux molécules, est l'augmentation de la masse du système transducteur-ligand qu'elle implique dans la fixation de l'analyte. De cette constatation est née la microbalance à quartz⁴ : une fine pastille de quelques millimètres d'épaisseur et de quelques centimètres de diamètre d'un matériau piézoélectrique. On met en vibration le quartz dans son premier mode de vibration transversal, sa fréquence de résonance est comprise entre 5 et 25 MHz. Du fait d'un excellent facteur de qualité aux alentours de 10^5 , la fréquence est très sensible à la masse totale en vibration.

Ainsi, en immobilisant à la surface d'un tel quartz les ligands, et en réalisant un suivi de cette fréquence de résonance lors de la réaction, on peut avoir accès à une variation de masse. Notons qu'il n'est pas aisé d'appliquer cette méthode en milieu liquide du fait

⁴QCM : Quartz Crystal Microbalance

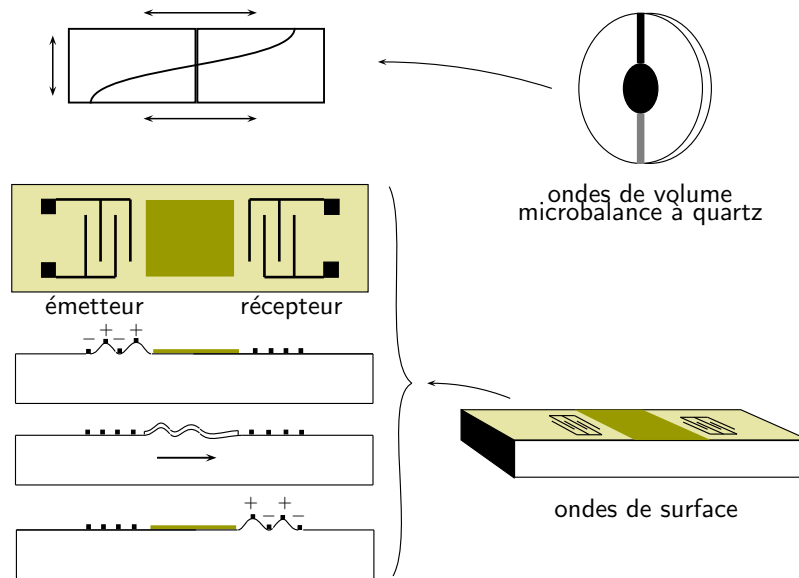


Fig. 1.4 : Schéma de principe d'un capteur à ondes acoustiques de surface.

de la forte sensibilité du facteur de qualité à la viscosité du fluide, mais des améliorations techniques récentes permettent d'obtenir d'excellents résultats⁵.

Un tel biocapteur est issu d'une application datant d'une cinquantaine d'année et qui est courante en micro-électronique pour quantifier l'épaisseur de dépôts métalliques sous vide réalisés sur les plaquettes de silicium.

Ondes de surface

L'approche précédente utilisait les ondes stationnaires de volume dans le quartz. Ici, on utilise des ondes acoustiques de surface progressives [10] (*SAW Surface Acoustic Wave*). Des électrodes interdigitées (cf. fig.1.4) excitent un matériau piézoélectrique créant une onde de surface (par exemple de Rayleigh ou de Love). Cette onde se propage à la surface du matériau, elle est ensuite détectée par de nouvelles électrodes interdigitées en forme de peigne. Cette technique est très employée pour réaliser des filtres hautes fréquences utiles en traitement du signal, pour la télévision ou la téléphonie mobile par exemple.

Dans le cadre des biocapteurs, on regardera comment la propagation de l'onde de surface sera atténuée selon des paramètres sensibles aux caractéristiques mécaniques de la surface, entre autres la masse ajoutée sur cette surface de propagation. Du fait des fréquences très élevées des ondes (30-500MHz) l'utilisation en milieu liquide est compromise par l'absorption considérable de l'onde par le liquide.

Microleviers

Comme nous le verrons en partie suivante (§1.2), les microleviers sont des microstructures très polyvalentes à double titre. Premièrement, selon la méthode de détection, que l'on travaille sur la déformation statique ou à la résonance en suivant la variation de la fréquence de résonance, les paramètres mécaniques intervenant dans la sensibilité ne sont pas les mêmes. Et deuxièmement, selon la fonction intégrée sur le levier (piézorésistance par exemple) ou selon les marqueurs sur les molécules à détecter, les méthodes de détection peuvent être très diverses. Ces diverses approches seront discutées en partie §1.2. Nous pouvons néanmoins observer figure 1.5⁶ les sensibilités comparées dans le cadre des puces

⁵voir <http://www.q-sense.com/> pour une application commerciale

⁶Modifiée à partir de la veille stratégique de l'Observatoire des Micro et Nanotechnologies, Synthèse de l'année 2002, l'Instrumentation pour la biologie

à ADN. En mode statique, l'équipe de R.J. Colton [11] a pu, grâce à une amplification par une particule superparamagnétique, détecter une hybridation à une concentration de 10^{-18} M. En travaillant à la résonance, V.P. Dravid *et al* [12] ont montré qu'ils pouvaient facilement atteindre la détection d'une hybridation à concentration d'environ 20pM.

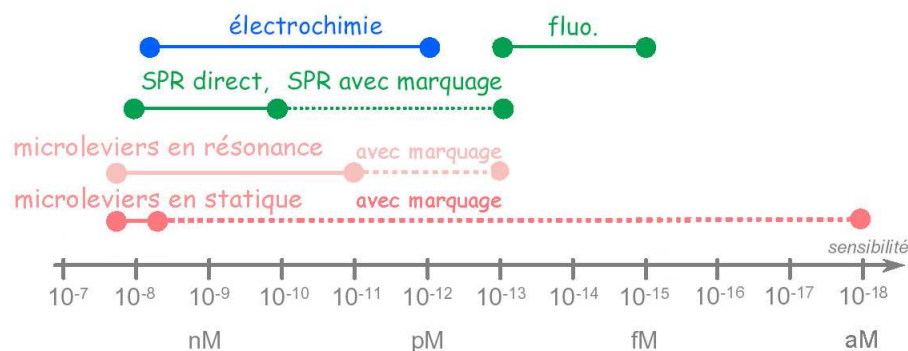


Fig. 1.5 : Sensibilités comparées des différentes méthodes proposées dans le cadre des puces à ADN. (en abscisse apparaît la concentration d'ADN minimale détectable)

1.1.4.4 Avec ou sans marquage ?

Nous avons déjà vu que le marquage des espèces biologiques pouvait être une méthode pour détecter la fixation du ligand avec l'analyte. Faisons un bref résumé des techniques sus-citées afin de faire ressortir les points forts du marquage, ou de la détection directe.

Dans les méthodes de détection optique, nous avons entrevu l'utilisation de la fluorescence pour réaliser l'imagerie de la surface du biocapteur. Les marqueurs fluorescents peuvent être par exemple un dérivé de la Rhodamine⁷ ou de la fluorescéine⁸ pour les peptides ou les protéines, les dérivés de la cyanine (Cy3 ou Cy5) pour les puces à ADN, etc. L'utilisation simultanée de plusieurs molécules fluorescentes différentes ajoute un gain du point de vue méthodologique. En réalisant l'imagerie à différentes longueurs d'onde, on peut mesurer simultanément plusieurs fluorophores. Cette méthode permet donc de visualiser plusieurs interactions coexistantes et de mettre ainsi en compétition plusieurs espèces.

Les fluorochromes choisis doivent être compatibles avec la source lumineuse utilisée pour les exciter. Expliquons nous, en cas d'utilisation simultanée de plusieurs fluorochromes, ils doivent être choisis de façon à pouvoir être distingués les uns des autres (spectres d'émission différents) mais si possible pouvoir être excités par la même source lumineuse (spectres d'absorption proches).

Nous avons parlé de *photobleaching* dans la partie 1.1.4.1, de nouvelles techniques dites FRAP⁹ utilisent justement cet effet pour mesurer la mobilité de protéines dans des cellules vivantes [13]. Après un éclairage impulsif créant du photoblanchiment, seules les molécules mobiles entrant dans les zones « irradiées » seront visibles par leur fluorescence.

Une autre amélioration des techniques de fluorescence permet de mesurer les changements de conformation d'une protéine [14, 15] (voir fig.1.6). Cette technique utilise l'effet FRET¹⁰ qui est le transfert d'énergie d'un fluorophore à un autre. Cet effet est extrêmement

⁷TRITC : Tetra methyl Rhodamine Iso Thio Cyanate

⁸FITC : Fluorescéine Iso Thio Cyanate

⁹FRAP : Fluorescence Recovery After Photobleaching

¹⁰FRET : Fluorescence Resonance Energy Transfert

sensible à la distance, la réaction se faisant aux alentours de quelques nanomètres (l'efficacité est inversement proportionnelle à la distance puissance six $E = 1/(1 + (R/R_0)^6)$). Tomasz et Ewa Heyduk [16] ont mis au point une nouvelle méthode de détection d'interaction ADN-protéine par l'action de l'effet FRET (voir fig.1.7). Ici la longueur du débord des fragments d'ADN et leur concentration ont été choisis pour le faible appariement qu'ils provoquent. C'est la présence de la protéine et de sa forte affinité pour la zone de couplage qui induit un appariement des deux fragments. A cet instant, les deux fluorophores (donneur et accepteur) se trouvent à proximité immédiate et développent l'effet FRET.

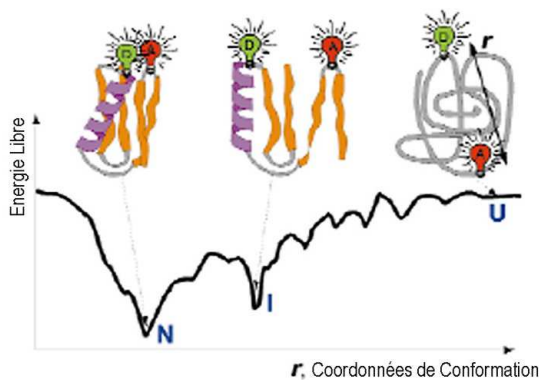


Fig. 1.6 : Forme de l'énergie en fonction des replis d'une protéine. L'effet fret dépend de la conformation de la protéine [14].

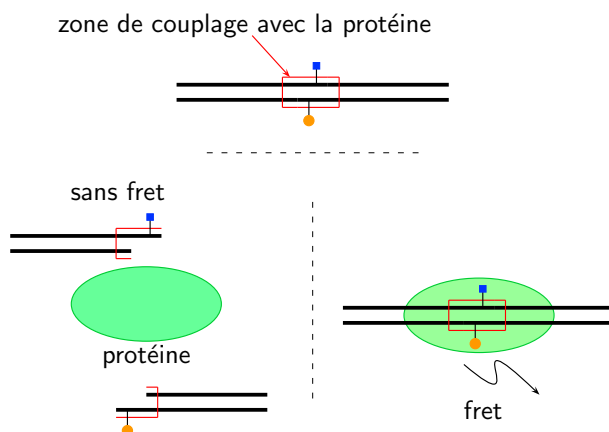


Fig. 1.7 : Effet fret sur sur un double brin d'adn grâce à un couplage avec une protéine [16]

Les biocapteurs à radiomarquages sont eux aussi par essence utilisateurs de marqueurs. Nous avons vu le ^{31}P pour les puces à ADN, pour les peptides et les protéines, deux isotopes radioactifs couramment utilisés pour la fabrication de ligands radiomarqués sont l'iode 125 (^{125}I) et le tritium (3H). Cette technique ne peut donc se passer des étapes de marquage.

La résonance de plasmon, elle, ne nécessite pas de marqueur, et nous l'avons vu, se positionne à la fois dans les biocapteurs à affinité et les métaboliques. Cependant, il est possible d'incorporer au ligand des molécules favorisant l'apparition de plasmon qui vont permettre d'améliorer la sensibilité.

Dans le domaine électrochimique, il existe aussi un marquage électro-actif (ferrocène ou sels d' In^{2+}) ou GABA¹¹ pour les capteurs ampérométriques.

¹¹GABA : γ -amino-4-butyrac amid

Notons que nous pouvons aussi trouver des marquages enzymatiques (peroxydase, phosphatase alcaline, glucose oxydase, β -galactosidase). Ici, c'est l'activité biologique du marqueur qui est mise en évidence. En effet, ce marqueur est une enzyme, elle est donc douée d'activité catalytique. La plupart des enzymes sont spécifiques d'une seule réaction dans la cellule, mais il existe des molécules artificielles qui peuvent être métabolisées par certaines enzymes, la spécificité n'est alors pas absolue. En choisissant un produit de réaction coloré, l'enzyme est mise en évidence par une tache sombre à l'endroit où elle s'est fixée. L'enzyme la plus couramment utilisée est la peroxydase du raifort qui transforme l'eau oxygénée en eau et en oxygène. L'oxygène dégagé va réagir avec une molécule qui devient noire et insoluble sous sa forme oxydée. De nombreuses autres enzymes sont utilisées.

Revenons au cas des biocapteurs mécaniques. Les microbalances à quartz, n'ont pas de référence permettant d'éviter tout signal parasite issu d'un dépôt non spécifique, leur utilisation n'est pertinente que pour mesurer une cinétique de réaction.

Il est possible d'utiliser des colloïdes d'or ou de métaux nobles, cela améliore nettement les techniques se basant sur la variation de masse, la microscopie électronique à balayage ou la résonance de plasmons [17].

Il faut souligner que pour tout système sans marqueur, il faut s'affranchir au préalable des phénomènes d'interactions non spécifiques. En effet, il n'est pas possible de distinguer un signal non spécifique d'une molécule cible. Ainsi les biocapteurs utilisant une méthode indirecte sont nettement plus sensibles, mais les techniques directes restent pertinentes par leur simplicité et rapidité d'utilisation, la non-modification des molécules n'altère pas leurs fonctions chimiques, et perturbent moins l'interaction. Pour ces diverses raisons, ils offrent donc d'intéressantes perspectives pour l'avenir.

1.1.4.5 Vers les micro et nanotechnologies

Les évolutions des micro et nanotechnologies dans la dernière décennie, ont conduit les chercheurs à explorer de nouvelles voies dans les applications, et en particulier en biologie.

Nous l'avons vu, une grande diversité de biocapteurs coexistent et sont, pour la plupart, déjà commercialisés. Voyons maintenant leur évolution possible vers la miniaturisation à l'échelle des micro ou des nanotechnologies.

En premier lieu, voyons l'évolution des biocapteurs optiques. Pour les puces à détection par fluorescence, l'intégration à la fois de l'excitation (par des VCSEL¹²) et de la détection (par des photodiodes) sur la surface du capteur a déjà été entreprise. Il est ainsi possible de suivre la cinétique de réactions d'hybridation avec une forte parallélisation possible de chaque plot.

Les biocapteurs à base de plasmons de surface possèdent aussi des possibilités d'intégration grâce à un greffage direct sur une cavité ou un guide d'onde couplé à une photodiode. Seule une excitation externe permet de détecter sur chaque photodiode la création ou non d'un plasmon. Cependant, le frein principal à la miniaturisation réside dans la configuration optique nécessaire pour générer le faisceau incident. Il existe aussi des systèmes d'imagerie de plasmons permettant de suivre des matrices de spots et non simplement des canaux. Dans ce type de configuration, la détection reste encore externe.

Dans la catégorie des capteurs électrochimiques, les avancées technologiques des transistors utilisés dans la microélectronique traditionnelle ont largement favorisé la miniaturisation des ISFETs. Or la taille actuelle de tels capteurs permet depuis longtemps déjà, une forte intégration. Les difficultés rencontrées dans le domaine des ISFETs se situent dans l'amélioration des couches sensibles de la grille et au niveau des méthodologies de mesure.

¹²VCSEL : Vertical Cavity Surface Emitting Laser

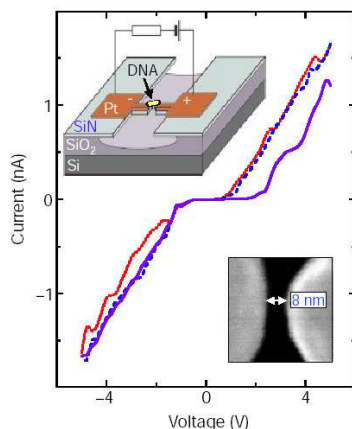


Fig. 1.8 : Caractéristiques I-V d'une molécule d'ADN de $10,4\text{nm}$ de long entre des électrodes séparées de 8nm [18]

Dans ce dernier cas, l'ISFET différentiel améliore nettement la sensibilité et protège des réactions non-spécifiques.

Nous avons aussi parlé des méthodes impédancemétriques, ces approches possèdent actuellement un fort attrait auprès des chercheurs car il est possible de miniaturiser de tels systèmes jusqu'à l'ultime : l'objectif visé étant de mesurer le comportement d'une molécule unique. La première expérimentation sur une molécule individuelle d'ADN permettant d'en extraire une caractéristique courant-tension (voir fig.1.8), fut réalisée avec des électrodes coplanaires séparées de quelques nanomètres [18]. A partir de ce type d'approche, des biocapteurs à nano-électrodes interdigitées ont également été étudiés [19]. Les possibilités de réduction de taille sont énormes, que ce soit par lithographie électronique, par lithographie dite douce (ou *soft lithography*, ce sont des tampons en polymère que l'on met en contact avec la surface pour déposer des espèces chimiques servant ensuite de masque), ou encore par micromoulage de polymère (*nano-imprint*).

Il est possible d'améliorer la technique de mesure de conductance (voir fig.1.9) en développant autour du complexe analyte-ligand couplé avec des colloïdes d'or, une couche de colloïdes d'argent modifiés par des hydroquinones [20]. Les propriétés conductrices de cette couche conduisent ainsi à un court circuit entre les deux électrodes, signature du phénomène de reconnaissance. Cette technique est aussi utilisée dans le cadre de microscopie électrochimique¹³ [21]; cette microscopie dérivée de la microscopie à effet tunnel, mesure dans des solutions et de manière extrêmement locale, des courants ou potentiels issus de réactions ou couples redox. Nous le verrons plus loin, les colloïdes peuvent aussi être utiles pour l'amélioration de la sensibilité en masse des capteurs gravimétriques.

Parmi les capteurs résonants mécaniques, la microbalance à quartz présente une surface utile de l'ordre du centimètre carré. Son utilisation n'est possible que pour une seule réaction et de plus sans témoin, elle n'est donc pas appropriée à des détections parallèles. Ce genre de capteur à onde transversale stationnaire de volume a été miniaturisé [22] en gravant dans le cristal six épaisseurs différentes (Cf. fig.1.10), on obtient ainsi six fréquences de résonance différentes pour la même électrode. Le problème essentiel de ce genre d'approche est que les phénomènes surfaciques deviennent prépondérants lors de la miniaturisation du fait de l'augmentation du rapport surface/volume, or ce type de capteur se basant sur des ondes de volume, et donc sur des phénomènes volumiques, n'augmenteront pas leur sensibilité par des réductions de dimensions.

¹³SECM : Scanning ElectroChemical Microscopy

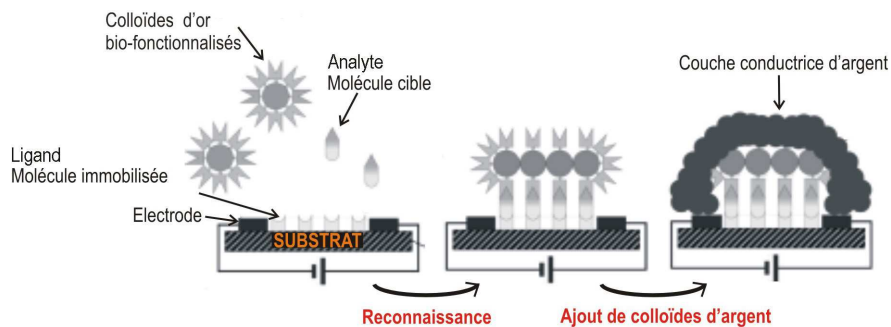


Fig. 1.9 : Détection des variations localisées de conductance. L'ajout de colloïdes d'or favorise l'agrégation d'une couche conductrice de colloïdes d'argent fonctionnalisés. Le court circuit qui en résulte est enregistré au niveau de l'électrode [20]

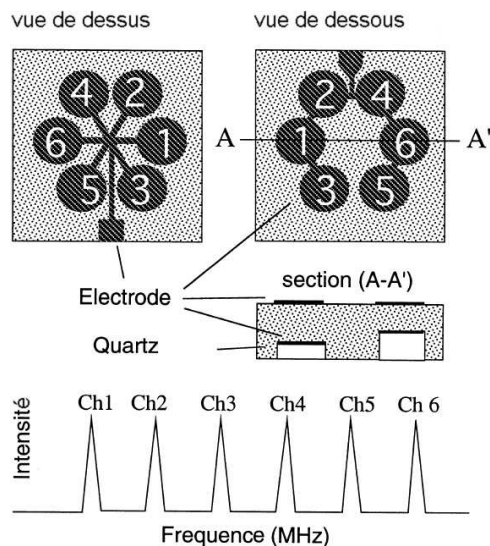


Fig. 1.10 : Miniaturisation de microbalances à quartz par gravure ionique profonde dans le quartz.

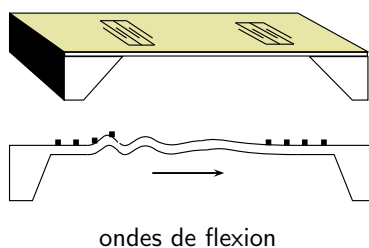


Fig. 1.11 : Capteur à ondes de flexion

Une technique plus exotique, se basant sur la magnétorésistance a permis le développement de biocapteurs originaux [23]. Le marquage par des billes magnétiques sur les molécules à détecter faisant varier la magnétorésistance, cela a permis de suivre une réaction d'hybridation d'ADN [24].

Pour les biocapteurs à ondes de surface, l'intégration de tels systèmes ne pose pas de réels problèmes technologiques. L'inconvénient majeur réside dans la complexité de l'électronique à mettre en œuvre pour effectuer la détection, les fréquences utilisées étant dans la bande 30-500MHz.

Signalons l'existence de capteurs à ondes de flexion¹⁴ (cf. fig.1.11). Ce concept est dérivé des capteurs à ondes de surface. Cependant pour éviter les pertes dans le substrat, on le grave par l'arrière pour ne laisser qu'une fine épaisseur de matériau [25]. C'est toute cette membrane¹⁵, et pas seulement la surface, qui se met à vibrer sous l'effet de l'excitation. La fréquence de propagation s'en trouve diminuée (1-20MHz), l'électronique est de ce fait plus aisée à développer. Notons que cette technologie de capteur s'intègre totalement dans le cadre des microtechnologies, et des applications ont été développées à la fois en phase liquide et gazeuse. A.M.Wang et al [26] par exemple, ont réalisé un dosage d'antigènes du cancer du sein avec de tels capteurs et en phase liquide. Ils ont, pour augmenter la sensibilité en masse, utilisé la technique décrite précédemment d'agrégation de colloïdes d'argent sur des colloïdes d'or.

Nous avons vu que la miniaturisation des biocapteurs a tendance à se généraliser sous la pression de la production de masse. Une conséquence de cette miniaturisation est la diminution des volumes d'échantillons nécessaires pour réaliser une analyse, réduisant par la même les temps de préparations et bien sûr les coûts d'analyses. Le deuxième aspect essentiel qui attire les chercheurs en direction des nouvelles technologies est la quête de l'accroissement de sensibilité et des cinétiques de réaction, et ainsi la possibilité de pouvoir faire des dosages ou d'arriver à détecter d'infimes concentrations.

S.W. Wenzel [27] a déterminé les paramètres dont dépend la sensibilité des capteurs gravimétriques ultrasonores. La conclusion est que les capteurs à ondes de flexion sont sensibles en $1/(2\rho d)$, d étant l'épaisseur de la membrane et ρ la densité du matériau. La diminution des dimensions va donc de pair avec l'augmentation de sensibilité.

Par la suite, nous étudierons des microstructures mécaniques s'intégrant entièrement dans cette évolution vers la miniaturisation. Nous avons vu les microbalances à quartz qui utilisent les ondes de volume, puis les systèmes à onde progressives de surface et enfin les capteurs à ondes de flexion. Les microstructures que nous étudierons sont utilisées avec une approche comparable à l'utilisation des ondes de flexion mais avec un mode stationnaire et non progressif de l'onde sur la structure. L'objectif ultime de ce genre de capteur est assurément la détection de la molécule unique.

1.2 Les microleviers, véritables biocapteurs

Parmi les méthodes de détection, nous avons vu que l'approche mécanique permettait d'apprécier divers paramètres. Nous allons montrer comment des microstructures, briques de base des microtechnologies telles que les leviers, permettent de répondre à ces attentes.

1.2.1 Genèse : l'AFM et ses utilisations comme biocapteur

A la suite de l'invention du microscope à effet tunnel (STM) en 1981 par Gerd Binnig et Heinrich Rohrer [28] mesurant un courant tunnel entre une pointe et une surface

¹⁴FPW : Flexion Plate Wave

¹⁵jusqu'à présent nous désignons une membrane dans son sens biologique de paroi poreuse, ici le terme désigne un diaphragme, une couche mince de matériau supportée par un substrat.

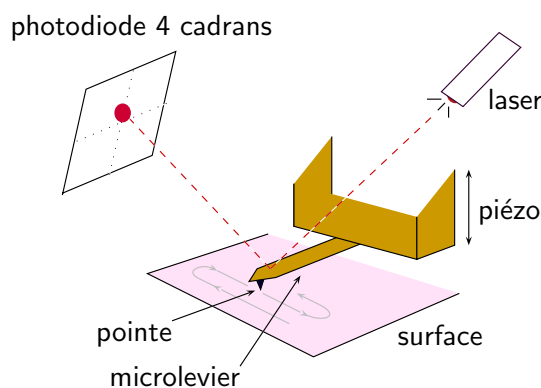


Fig. 1.12 : Schéma de principe du fonctionnement d'un microscope à force atomique.

conductrice, G. Binnig, C.F. Quate et C. Gerber [29] inventèrent en 1986 le microscope à force atomique (AFM). Son principe consiste à mesurer les forces d'interactions entre les atomes de l'extrémité d'une pointe et les atomes de la surface à analyser. Ici la pointe est solidaire d'un bras de levier (ou microlevier¹⁶) permettant de traduire cette interaction en une déflexion d'un faisceau laser focalisé sur l'extrémité du levier (cf. fig.1.12). La position du faisceau laser est alors mesurée par une photodiode afin de traiter un signal électrique. Cette technique permet d'imager la topographie de tout type de matériau alors que l'imagerie à effet tunnel se restreint aux matériaux conducteurs et semi-conducteurs. Les deux principales méthodes d'accès à la topographie sont le mode *contact* où la pointe reste continuellement en interaction avec la surface, et le mode *tapping* ou *contact intermittent* où le levier est excité à sa fréquence de résonance, ne plaçant la pointe en interaction avec la surface que périodiquement suivant l'oscillation du levier.

Les deux paramètres fondamentaux alors nécessaires à la conversion de l'interaction pointe-surface sont la raideur k du microlevier et sa fréquence de résonance f_0 . Ces paramètres sont, pour un microlevier parallélépipédique de section droite et vibrant dans le vide (ou dans l'air) :

$$k = \frac{Eh^3w}{4L^3} \quad (1.10)$$

$$f_0 = \frac{1.875^2}{2\pi} \frac{h}{L^2} \sqrt{\frac{E}{12\rho}} \quad (1.11)$$

avec E et ρ respectivement le module d'Young et la masse volumique du matériau constitutif du levier, w sa largeur, L sa longueur et h son épaisseur. très simplement, la raideur k représente la sensibilité du levier et la fréquence de résonance f_0 la rapidité de la réponse. En se plaçant à la résonance, nous pouvons réduire sensiblement le bruit dû aux vibrations des différents éléments mécaniques.

Pour conserver une force constante entre la pointe et l'échantillon, une contre-réaction est créée entre la détection au niveau de la photodiode et la commande du déplacement vertical effectuée généralement par un actionneur piézoélectrique externe au levier. Le tube piézoélectrique permettant d'assurer les mouvements verticaux du levier est un organe limitant pour la vitesse de réaction du système. Ainsi l'acquisition d'une image complète peut prendre jusqu'à trente minutes. L'intégration de couches piézoélectriques sur le levier permet d'accélérer le système [30]. Une autre technique permet, lorsque l'on travaille en milieu liquide, d'exciter à la fréquence de résonance du levier par ondes acoustiques [31].

¹⁶on parlera aussi de poutre ou de micropoutre

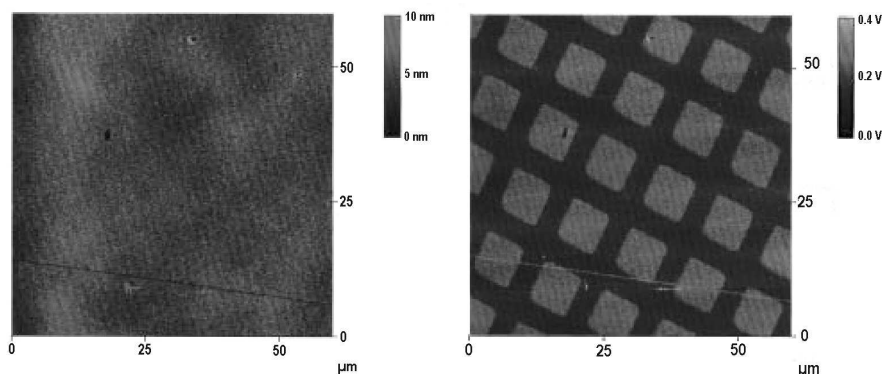


Fig. 1.13 : Visualisation par AFM de forces de frictions par détection de la déflexion latérale. Une surface d'or a été recouverte d'alcanes-thiols [33] selon un quadrillage (ODT sur la grille et DSU sur les carrés). (A gauche, l'image de la topographie, à droite l'image de la force latérale).

Rudnitsky et al. [32] ont utilisé un AFM avec une pointe magnétique¹⁷, pour visualiser des interactions dont le ligand était marqué par une microbille magnétique. Cette application permet par exemple la lecture de puces avec marquage magnétique en remplacement de la fluorescence. Les quantités de produit à extraire et à synthétiser sont alors extrêmement faibles.

Nous l'avons vu, en mode *tapping*, la pointe n'est en contact avec la surface seulement pendant un bref instant à chaque période. Cette méthode permet d'annuler les forces latérales qui peuvent fortement endommager la pointe. Ces forces latérales de friction peuvent aussi être visualisées en mesurant la torsion du levier. Pour ce faire, on mesure la déviation latérale du faisceau laser. Ce mode dit de *forces latérales*, en mode contact, permet donc d'avoir accès aux forces de friction. Cette technique est largement employée pour caractériser des surfaces biologiques, car elle permet d'avoir un contraste même si le relief est nul. Par exemple, nous pouvons distinguer sur une surface d'or (cf. fig.1.13), des zones ayant subi un traitement de surface avec des molécules auto-assemblées [33]. Il est même possible, en fixant un ligand à l'extrémité de la pointe, de scanner la surface quadrillée d'une matrice de molécules à tester¹⁸, pour trouver où se trouve la molécule complémentaire. Nous pouvons voir figure 1.14 une image de topographie apparente d'une zone quadrillée par des oligonucléotides, selon que la pointe est fonctionnalisée ou pas [34].

Enfin, voyons une dernière utilisation de l'AFM en tant que biocapteur. Si, comme dans le cas précédent, on fixe une molécule sur la pointe du levier AFM, et que l'on réalise juste une opération d'approche et de rétraction de ce levier au dessus d'un échantillon, on peut observer ce que l'on appelle une caractéristique force-distance. Cette courbe de l'interaction pointe-matière fait apparaître plusieurs paramètres [35], dont la force d'adhésion (cf. fig.1.15). Lee et al. [36] ont montré avec cette technique l'hybridation de monobrins d'ADN fixés sur une pointe sphérique sous le levier, avec les monobrins complémentaires sur la surface balayée.

1.2.2 Evolution vers des détecteurs spécifiques

A partir de ces approches se sont développées plusieurs autres techniques permettant de transformer un microlevier en un véritable capteur de force. Ces techniques n'utilisent plus l'interaction d'une pointe avec une surface mais se basent sur les caractéristiques

¹⁷MFM : Magnetic Force Microscopy

¹⁸la *matrice de molécules à tester* est ce que l'on nomme une biopuce, outil d'analyse ou de d'identification de protéines ou de gènes.

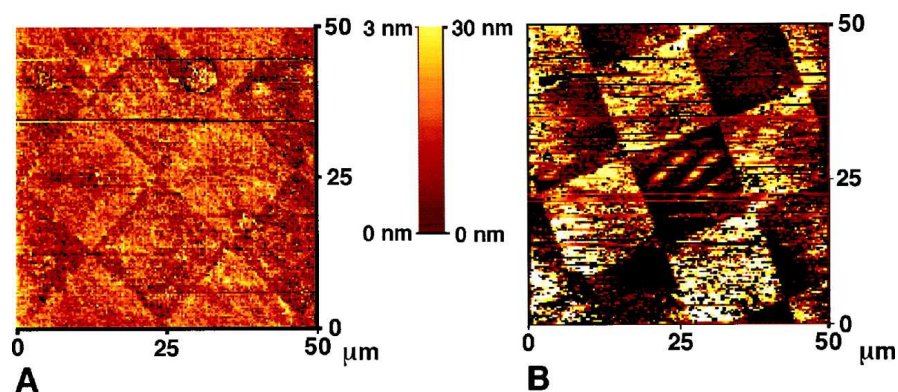


Fig. 1.14 : Topographies apparentes d'une zone quadrillée par des oligonucléotides. En *A*, la pointe utilisée est standard, en *B* elle est modifiée avec le brin d'ADN complémentaire [34].

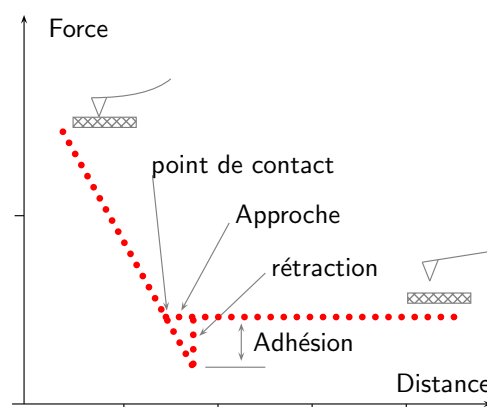


Fig. 1.15 : Exemple de courbes force-distance permettant d'accéder à la valeur de la force d'adhésion pointe-surface.

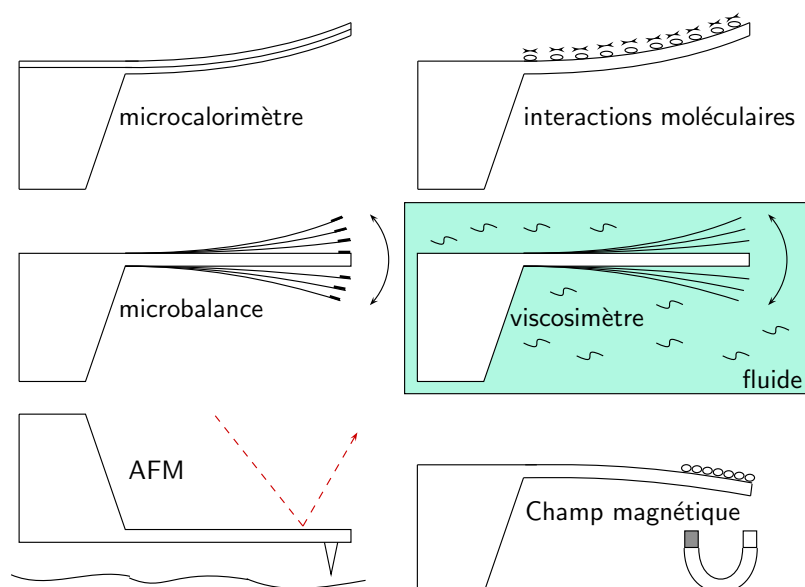


Fig. 1.16 : Différents modes d'utilisation des microleviers. Ces six exemples montrent la diversité du champ d'application de ces structures.

mécaniques intrinsèques au levier. C'est ainsi qu'avec la technologie issue de l'AFM se sont développées de nombreuses techniques permettant d'extraire différents paramètres¹⁹ tels que la mesure locale de forces électrostatiques ou magnétiques. Le champ d'application des microleviers s'est alors ouvert à une large variété d'investigations, voir fig.1.16. Prenons pour exemple un levier constitué de deux matériaux à coefficients de dilatation thermique différents, il aura un comportement de type bilame, permettant de l'utiliser comme microcalorimètre.

Essayons de faire un inventaire des différentes approches. Nous pouvons tout d'abord distinguer, comme pour l'AFM, les mesures en mode statique et dynamique.

1.2.2.1 Mesure dynamique

Rappelons nous l'équation (1.11) qui exprime la fréquence de résonance f_0 du microlevier en fonction de ses paramètres. En faisant un suivi de cette fréquence, ce dernier peut être utilisé en microbalance, c'est-à-dire donner accès à sa variation de masse. Par exemple, Thundat et al. [37] ont révélé l'adsorption de molécules de vapeur de mercure dans l'air sur des microleviers recouvert d'un film d'or. P.I.Oden [38] a également pu montrer qu'il pouvait mesurer une variation de masse jusqu'à environ $10^{-15}g$. B.Ilic [39, 40] a lui réussi à mesurer la masse d'une seule bactérie d'*Escherichia Coli* fixée sur une micropoutre, il a ainsi estimé sa masse à $665fg$. Boisen et al. ont modifié la configuration du levier pour le faire vibrer dans le plan grâce à des forces électrostatiques [41].

Dans une autre configuration, la variation de fréquence de résonance peut être due à une variation de raideur, comme dans l'exemple d'un levier enduit de gélatine captant l'humidité. Dans ce cas, le levier voit sa fréquence de résonance augmenter alors que sa masse aussi augmente [42, 43]. Les mesures à la résonance peuvent aussi donner accès à la viscosité ou à la densité du fluide dans lequel il oscille [44, 45].

Cependant, dans les liquides, le coefficient de qualité de la résonance est fortement diminué — de l'ordre de l'unité — limitant d'autant la sensibilité d'une méthode de suivi de fréquence de résonance. Dans ce cas, il est possible de suivre simplement le bruit thermo-

¹⁹Le site internet de Digital Instrument donne une liste de ces paramètres avec un court descriptif : <http://www.di.com/AppNotes/AmLab/AL-SPMmain.html>

mécanique qui présente un pic au niveau de la fréquence de résonance. Une autre stratégie a été proposée pour résoudre cette complication. Tamayo et al. [46, 47, 48] et Mehta et al. [49] ont conçu un système électronique d'amplification du coefficient de qualité global. L'apport de ces techniques permet par exemple d'avoir accès, en temps réel, à des cinétiques de réactions.

Des mesures ont aussi été réalisées sous vide, les coefficients de qualité de l'ordre de 10^4 peuvent être atteints, donnant à ces dispositifs une excellente sensibilité. Le revers de cette approche est qu'il n'est pas possible de mesurer une cinétique de réaction.

1.2.2.2 Mesure statique

Outre ces mesures en dynamique, les microleviers sont également employés en statique. Par statique, on entend la mesure de leur déflexion. Cette technique permet d'extraire la contrainte générée en surface par des molécules. Cette application est une extension du bilame vu précédemment. Nous verrons dans la partie suivante (§1.2.3), comment on peut relier les notions de tension de surface et de contrainte surfacique.

La micropoutre est une structure utilisée pour mesurer des variations de contraintes à sa surface. Voyons comment on peut relier analytiquement la déflexion de la poutre et cette contrainte surfacique. D'une équation démontrée par Stoney en 1909 [50], nous pouvons relier les contraintes surfaciques de chaque face d'un levier (σ_1 et σ_2) avec sa déflexion Δd . Cette équation modifiée s'écrit :

$$\sigma_1 - \sigma_2 \approx \frac{Et^2}{3(1-\nu)L^2} \Delta d \quad (1.12)$$

ν étant le coefficient de poisson du matériau.

Ainsi, des expériences ont montré par simple effet bilame, qu'un microlevier pouvait être sensible à une variation thermique issue d'un rayonnement infrarouge [51], ou d'une réaction chimique [52], ou même à la variation d'enthalpie d'un changement de phase [53].

Par ailleurs, H.F. Ji [54] a montré que les microleviers pouvaient aussi servir à la détection du pH grâce à cette déflexion.

La transduction, à travers la variation de contrainte, d'une hybridation d'ADN en une réponse mécanique de microleviers, a été montré par J.Fritz et al. [55]. Le principe reste le même que pour le bilame et est schématisé figure 1.17. K.M.Hansen et al.²⁰ [56] ont même montré qu'ils pouvaient discerner plusieurs hybridations suivant que le nombre de mésappariements dans le double brin d'ADN était nul, égal à 1 ou égal à 2 (pour une sonde de 25 mers²¹ et une cible de 10 ou 25 mers). Cette étude a aussi montré la différence de contrainte induite suivant la longueur des fragments, car le sens de la déflexion pouvait varier suivant la longueur de l'oligonucléotide ou le nombre de mésappariements (cf fig.1.18). G.Wu et al.[57] n'ont pu clarifier l'origine du sens de déflexion des microleviers suivant certains paramètres lors d'hybridation d'ADN ou d'interaction protéine-ligand. Cependant, ils ont pu réaliser [58] des dosages d'antigènes spécifiques à la prostate, voir fig.1.19.

Pour conclure sur les deux méthodes statique et dynamique, Battiston et al. [59] ont combiné les deux méthodes de suivi de la déflexion et de la fréquence de résonance, leur permettant de découpler la variation de masse et la variation de contrainte de surface.

1.2.3 Tension de surface et contrainte de surface

Nous allons dans cette partie expliquer les origines et les relations qui existent entre contrainte de surface, énergie libre de surface et tension de surface. Définissons tout d'abord les termes.

²⁰cf. <http://www.nano.me.berkeley.edu/research/nano-bio/biocom.htm>

²¹monomeric unit

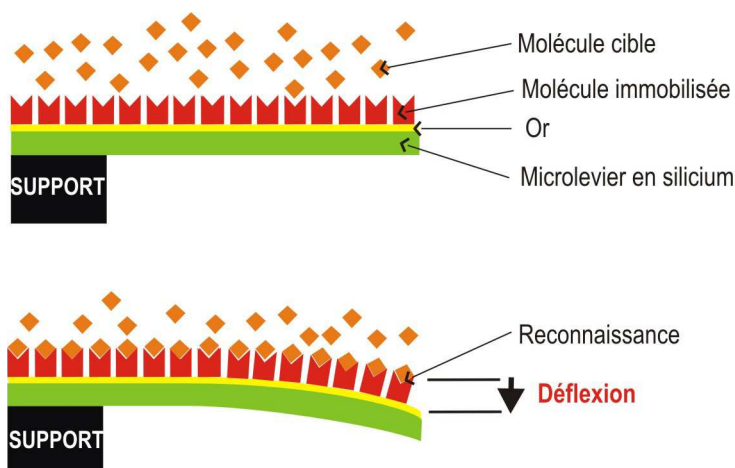


Fig. 1.17 : Déflexion due à des variations des propriétés mécaniques lors d'une interaction de surface [58]

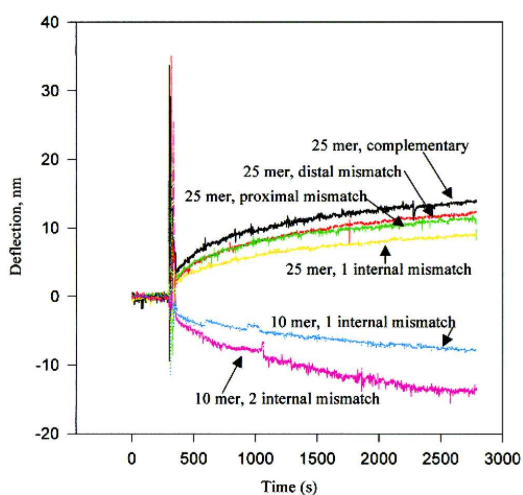


Fig. 1.18 : Cinétiques de déflexions de leviers. Cette courbe [56] correspond à une hybridation avec une cible de 25-mer thiolée fixée sur un levier, avec des oligonucléotides de différentes tailles et différents types de mésappariements.

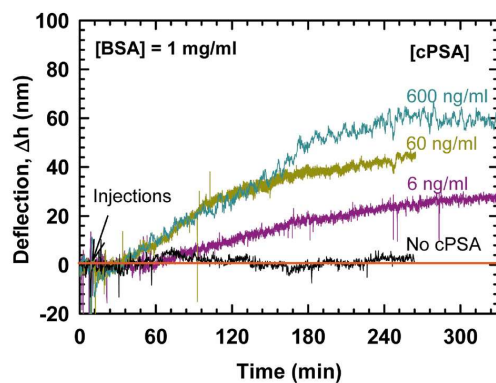


Fig. 1.19 : Cinétiques de déflexions de leviers. Cette courbe [58] correspond à la déflexion mesurée pour un dosage de complexe de PSA (prostate-specific antigen) cPSA, sur un levier fonctionnalisé par des anticorps de PSA.

L'adsorption de molécules sur une surface change la valeur de son énergie libre de surface (aussi appelée tension de surface), la conséquence mécanique observée est bien une flexion due à la contrainte en surface. Cependant, ces deux notions d'énergie libre de surface et de contrainte surfacique sont bien distinctes [60]. Il nous faut donc différencier l'énergie libre de surface (γ) qui est le travail réversible par unité d'aire nécessaire pour créer de manière *plastique* une nouvelle surface — c'est-à-dire exposer de nouveaux atomes en surface — et la contrainte de surface (σ), travail réversible par unité d'aire nécessaire pour créer par une déformation *élastique* une nouvelle surface — c'est-à-dire changer la densité d'atomes en surface. Pour un fluide, quand il est étiré, de nouveaux atomes ou molécules arrivent de telle manière que le nombre d'atomes par unité d'aire demeure constant. De ce fait, pour un fluide, l'énergie libre de surface est égale à sa contrainte de surface, on la nomme alors aussi tension de surface.

L'équation de Suttleworth [61] relie mathématiquement ces deux concepts :

$$\sigma = \gamma + \left. \frac{\partial \gamma}{\partial \epsilon_e} \right|_{T, \mu_i, \varphi} \quad (1.13)$$

avec ϵ_e déformation élastique de la surface (μ_i et φ sont respectivement le potentiel thermodynamique chimique et la phase) :

$$\epsilon_e = \frac{\Delta S_e}{S} \quad (1.14)$$

et ΔS_e variation de la surface S due à la déformation élastique. Nous l'avons vu, le terme de droite de l'équation (1.13) est nul pour les liquides. Dans le cas des solides, le lien entre l'énergie libre de surface γ et la déformation élastique n'est pas trivial du fait des multiples possibilités de reconstruction de la surface. Et il n'est pas aisé d'estimer la contrainte générée par la variation de la tension de surface [62, 63].

Un degré supplémentaire de complexité intervient avec l'adsorption de molécules plus complexes telles que les protéines. D'autres origines d'interactions sont sources de contraintes, notons entre autres les interactions électrostatiques, Van der Waals ou stériques dues aux conformations des protéines. Par exemple Wu et al. [57] ont montré comment l'adsorption d'un monobrin complémentaire d'ADN sur la surface d'un microlevier pouvait induire soit une contrainte compressive, soit une contrainte extensive selon la stringence du tampon dans lequel est réalisé l'hybridation. Ils interprètent ce phénomène par la compétition entre la répulsion électrostatique des brins d'ADN créant une contrainte compressive, et la réduction de l'entropie de configuration tendant à rapprocher les brins. La répulsion est en fait due à ce que l'on nomme forces d'hydratation.

Moulin et al. [64] ont par exemple montré, sur 12 heures, de lentes variations des propriétés de l'immunoglobuline et de l'albumine, qui pourraient être dues aux réarrangements des protéines sur la surface.

En découplant les mesures de variation de fréquences de résonance et de déflexion, il est alors possible d'obtenir une sensibilité d'adsorption d'une seule couche de molécules [65, 66]. Cette méthode de détection de contrainte de surface est sans doute la manière la plus sensible d'utiliser les microleviers.

Cependant, plusieurs chercheurs [67, 68] ont montré que l'adsorption de molécules à la surface d'un levier pouvait modifier la raideur k du levier, induisant des erreurs dans la mesure par suivi de la fréquence de résonance de la variation de masse.

1.2.4 Traitements de surface

Dans la plupart des biocapteurs abordés ici, la zone active dans la transduction est une surface sur laquelle est fixé le ligand. Plusieurs types de liaisons chimiques sont alors possibles entre le matériau constitutif de la surface et ce ligand : liaison covalente, liaison

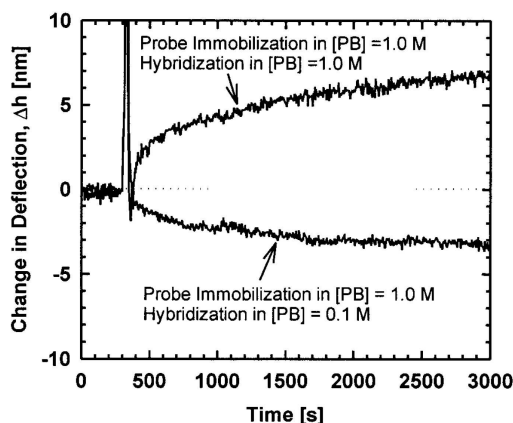


Fig. 1.20 : Variation de la déflexion d'un levier au cours d'une hybridation, en fonction de la concentration en tampon.

hydrogène. Dans la majeure partie des cas, on insère entre ces deux parties une couche d'interface. Cette interface joue à la fois le rôle de modification des propriétés physico-chimiques de la surface — mouillabilité, hydrophilie/hydrophobie, groupements fonctionnels apparents — et d'espaceur afin d'éloigner le ligand de la surface permettant de libérer les sites actifs de la molécule et de s'affranchir des effets parasites dus à la surface (*quenching* : extinction de la fluorescence, effets de charges électriques...).

Un autre objectif de la fonctionnalisation de la surface peut être de faciliter la régénération du récepteur immobilisé en vue de réutiliser le biocapteur.

Suivant le type de matériau constituant la surface, la fonctionnalisation peut être effectuée sur de la silice (SiO_2) ou de l'or par exemple. Il existe alors la possibilité d'insérer des monocouches auto-assemblées²² de chaînes carbonées comprenant des fonctions silanes ($-SiH_3$) qui se greffent sur l'oxyde de silicium, ou de chaînes à fonction thiol ($-SH$) pour l'or. On peut aussi recouvrir la surface d'une couche de polymère retenant le ligand, telle que la poly-L-lysine ou le Dextran. Le polyéthylène glycol (PEG) peut aussi jouer le rôle d'inhibiteur d'adsorption des protéines.

Nous verrons plus concrètement nos solutions envisagées au cours de notre développement.

1.2.5 Méthodes de détection

Un atout de l'emploi d'une microstructure du type microlevier réside dans la polyvalence de son emploi. Nous l'avons vu, une micropoutre peut mesurer aussi bien des forces magnétiques qu'une monocouche moléculaire adsorbée. Outre la polyvalence de cette approche, la multitude des techniques de mesures de déflexion ou de résonance associée à cette structure en est une autre particularité. Voyons les diverses techniques ou approches possibles.

La technique la plus répandue et dérivée de l'AFM utilise la déflexion d'un faisceau laser focalisé sur l'extrémité du levier et réfléchi sur un capteur de position qui transforme la position de ce faisceau en un signal électrique (cf. fig.1.12). Cette méthode nécessite à la fois la focalisation du faisceau afin d'obtenir une tache la plus réduite possible sur la surface de la structure, et le positionnement du point d'impact (*spot*) du faisceau laser sur la structure. Cette nécessité de positionner et de focaliser le spot laser ne permet pas d'automatiser les mesures sur différentes puces, sauf en passant par des traitements

²²SAM : Self-Assembled Monolayer

vidéo et informatique complexes supplémentaires pour assurer ces étapes. Cependant, utilisée en manuel, cette méthode a l'avantage d'être efficace et de mettre en œuvre une instrumentation relativement simple.

Une approche alternative se base sur la diffraction d'un faisceau laser sur un réseau de leviers interdigités [69, 70]. L'intensité de la figure de diffraction dépend alors de la déflexion des leviers. Cette technique ne nécessite pas forcément de modification de la chaîne de mesure équipant le banc de déflexion laser vu précédemment.

Une autre méthode optique utilise l'interférométrie laser ou optique pour déterminer la position du levier. Cette méthode permet d'obtenir une mesure directe et absolue du déplacement du levier [71, 72, 73]. La mesure peut être effectuée sur une matrice de leviers et permet aussi l'automatisation de la mesure²³.

Quittons le domaine optique pour des systèmes plus proches de la micro-électronique. L'intégration d'une couche de matériau piézoélectrique sur la poutre permet la mesure et même l'actionnement de sa déflexion [74].

La mesure de la variation de capacité entre le levier et une électrode fixe donne aussi de bons résultats [75]. Nonobstant, il n'est pas possible d'utiliser cette méthode dans les liquides et elle est surtout sensible aux grands déplacements.

Terminons enfin par l'incorporation de piézorésistances qui agissent comme des jauges de contraintes. Cette technique est une excellente manière d'intégrer la mesure sur le microlevier [76, 77]. Les avantages d'une telle technique par rapport à la déflexion laser sont que l'on peut suivre plusieurs leviers en parallèle, au lieu d'un seul faisceau, et sans avoir à le positionner sur le levier ; on peut aussi travailler en milieu liquide non transparent, et enfin l'encombrement est alors fortement réduit par l'intégration de la détection dans le levier. Signalons ici que l'avantage d'utiliser plusieurs leviers en parallèle permet d'utiliser un levier comme référence. Cette technique différentielle permet de s'affranchir des variations de températures et aussi des interactions parasites. Baselt et al. [11] ont montré qu'ils pouvaient mesurer des greffages biologiques sur des microleviers piézorésistifs, grâce à des microbilles magnétiques se fixant sur le ligand. La déflexion du levier dans un champ magnétique est ici détectée par les piézorésistances intégrées dans le levier.

1.3 Conclusion : présentation des axes de recherche

Nous avons présenté les différents types de détections possibles de biocapteurs, et nous l'avons vu, la détection mécanique permet la détection de réactions sur des structures microscopiques, la sensibilité augmentant avec la miniaturisation.

Notre objectif est de réaliser un biocapteur sensible à plusieurs réactions simultanées et dont la transduction ou la mesure du phénomène est intégrée au support. Pour cela, nous nous sommes orientés vers la détection mécanique. Elle permet de travailler sur plusieurs réactions en parallèle par l'intermédiaire de dispositifs mécaniques placés en matrice.

L'utilisation des technologies de fabrication issues de la microélectronique va nous permettre de concevoir en parallèle des dispositifs micromécaniques dont l'application est la détection d'interactions biomoléculaires spécifiques. On se basera sur la variation de fréquence de résonance de ces structures pour quantifier l'interaction. Il est nécessaire d'étudier la sensibilité du capteur pour savoir si ce type de capteur pourra donner une information complémentaire sur le niveau d'interaction, ou le nombre de molécules ayant interagi.

Pour arriver à une bonne sensibilité, il est indispensable d'intégrer la source de vibration sur les structures. Polla [78] a pu montrer l'avantage inhérent à l'intégration d'une couche de matériau piézoélectrique, par rapport à une excitation externe, source de nombreux effets parasites. Le matériau piézoélectrique se contracte sous l'effet du champ électrique,

²³Fogale Nanotech : <http://www.fogale.fr>

induisant une déformation de la structure mécanique. En déformant le dispositif à certaines fréquences particulières, appelées fréquences de résonance, l'oscillation passe alors à une amplitude facilement détectable.

Nous fabriquerons dans nos travaux à la fois des leviers et des membranes. Les leviers, plus complexes à réaliser que les membranes, permettent à partir de modèles analytiques simples de remonter facilement à divers paramètres mécaniques. Ils seront donc utilisés pour la caractérisation mécanique. Les membranes seront quant à elles utilisées dans le cadre de la détection pour leur simplicité d'utilisation lors des protocoles biologiques. Le chapitre 2 présentera les techniques de fabrication mises en œuvre pour réaliser ces dispositifs à actionnement piézoélectrique intégré.

Nous présenterons ensuite les caractérisations électromécaniques dans le chapitre 3. Nous montrerons tout d'abord avec des leviers comment retrouver les caractéristiques piézoélectriques du matériau utilisé. Une extension de cette méthode pour les membranes réalisées sera ensuite exposée. Le comportement fréquentiel des membranes sera également abordé.

Nous l'avons déjà souligné, un facteur important pour obtenir une bonne sensibilité pour ce genre de capteur est d'avoir un coefficient de qualité à la résonance le plus élevé possible. Ici, ces coefficients seront bien sûr plus faibles que pour les microbalances à quartz, mais la masse intrinsèque de la structure vibrante sera bien plus faible que pour un quartz, ramenant la masse à détecter à des ordres de grandeurs plus proches, d'où une sensibilité accrue. De plus, nous l'avons noté en partie 1.2.2.1, une boucle de contre réaction peut être rajoutée dans les liquides augmentant ainsi le coefficient de qualité de la résonance et, de fait, la sensibilité.

Pour terminer par une approche englobant le système intégré, le chapitre 4 présentera le dispositif dans son application de biocapteur. Nous présenterons son adaptation au milieu liquide par l'intermédiaire d'une cellule liquide thermorégulée et nous calculerons la sensibilité du système. L'utilisation de nanoparticules a été privilégiée dans cette étude pour augmenter l'effet de masse lors de l'interaction.

Cette approche de biocapteurs en parallèle à base de microstructures mécaniques n'ont de raison d'être que si il est possible d'effectuer un adressage des espèces biologiques à immobiliser en surface. Cet adressage peut être réalisé soit par une voie microfluidique, procédé complexe et posant de nombreux problèmes nourrissant la recherche actuelle, soit par dépôt, technique plus simple que nous avons privilégiée. En deuxième partie du chapitre 4, nous présenterons un système robotisé de dépôt de liquides biologiques que nous avons développé permettant de réaliser des microgouttes de quelques picolitres.

Voyons maintenant quelles sont les technologies de fabrication employées pour concevoir ces microcapteurs. Nous présenterons la maturation du projet avec les divers problèmes rencontrés qui ont orienté son évolution.

CHAPITRE 2

Technologies et fabrications

Sommaire

| | | |
|------------|--|-----------|
| 2.1 | Intégration du matériau piézoélectrique : fabrication de leviers | 32 |
| 2.1.1 | Choix du matériau piézoélectrique | 32 |
| 2.1.2 | Procédés de fabrication de membranes piézoélectriques | 33 |
| 2.1.3 | Choix du type de structures | 33 |
| 2.1.4 | Dépôt de la couche piézoélectrique après libération des leviers | 33 |
| 2.1.5 | Libération de microleviers après dépôt de la couche piézoélectrique | 34 |
| 2.2 | Recentrage vers les biocapteurs : fabrication de membranes piézoélectriques | 37 |
| 2.2.1 | Introduction : Du levier à la membrane | 37 |
| 2.2.2 | Première génération de membranes | 37 |
| 2.2.2.1 | Introduction | 37 |
| 2.2.2.2 | Oxydation | 38 |
| 2.2.2.3 | Gravure des motifs d'alignement | 39 |
| 2.2.2.4 | Dépôt de l'électrode inférieure | 39 |
| 2.2.2.5 | Dépôt de la couche piézoélectrique et de l'électrode supérieure | 39 |
| 2.2.2.6 | Libération face arrière | 40 |
| 2.2.2.7 | Commentaires | 42 |
| 2.2.3 | Deuxième génération de membranes | 43 |
| 2.2.3.1 | Introduction | 43 |
| 2.2.3.2 | Déroulement du procédé de fabrication | 44 |
| 2.2.3.3 | Commentaires | 47 |
| 2.3 | Conclusion | 49 |

2.1 Intégration du matériau piézoélectrique dans la filière technologique silicium : fabrication de leviers

2.1.1 Choix du matériau piézoélectrique

NOUS L'AVONS VU, il est nécessaire d'intégrer l'actionnement piézoélectrique sur les dispositifs mécaniques si on désire privilégier une bonne efficacité d'actionnement. La piézo-électricité est un phénomène propre à certains types de cristaux (le quartz est le plus connu) ou de céramiques anisotropes. Il apparaît des charges électriques (effet « direct ») à la surface de ces corps quand on les soumet à une pression. Inversement, l'application d'une tension électrique sur ces mêmes surfaces donne lieu à une modification des dimensions des cristaux (effet « inverse »). Il y a là un moyen de transformer un signal électrique en déformation mécanique et réciproquement.

Divers matériaux piézoélectriques compatibles avec la filière silicium existent. Citons par exemple l'oxyde de zinc (ZnO) ou le nitrure d'aluminium (AlN) qui est même compatible avec les technologies MOS. Ces matériaux souffrent cependant de faibles coefficients piézoélectriques, ils ne possèdent donc pas une forte efficacité d'actionnement. Nous pouvons voir dans le tableau 2.1 les différentes propriétés de matériaux piézoélectriques. Les coefficients d_{33} et d_{31} seront expliqués dans la partie 3.1 page 52.

| Matériau | Constante piézoélectrique (pC/N) | Permittivité relative | Densité (g/cm ³) | Module d'Young (GPa) |
|--------------------------------|----------------------------------|-----------------------|------------------------------|----------------------|
| Quartz | $d_{33}=2.31$ | 4.5 | 2.65 | 107 |
| Polyvinylidene-fluoride (PVDF) | $d_{31}=23$ | 12 | 1.78 | 3 |
| LiNbO ₃ | $d_{33}=23$ $d_{31}=-4$ | 28 | 4.6 | 245 |
| BaTiO ₃ | $d_{33}=78$ $d_{31}=190$ | 1400 | 5.7 | |
| PZT | $d_{33}=300$ $d_{31}=-171$ | 1400 | 7.7 | 53 |
| ZnO | $d_{33}=12$ $d_{31}=-5.2$ | 11 | 5.7 | 123 |
| AlN | $d_{33}=4$ | 10 | | |

Tab. 2.1 : Table des propriétés de différents matériaux piézoélectriques [1, 2].

Nous avons choisi comme matériau piézoélectrique le titanate de plomb et de zirconium (PZT : $Pb(Zr_xTi_{1-x})O_3$). Le PZT peut être déposé par sol-gel, par pulvérisation ou encore par ablation laser ou MOCVD¹. Le sol-gel est une méthode de dépôt en phase liquide. Partant d'une solution, certaines réactions de précipitation conduisent à des gels dont on évapore le solvant par chauffage modéré par chauffage modéré. On obtient un matériau cristallin en plaçant l'échantillon à haute température.

Ce matériau présente de meilleures caractéristiques électro-mécaniques lorsqu'il est obtenu par pulvérisation cathodique ou « sputtering ». Une cible classiquement frittée — dans notre cas elle est simplement pressée — constitue la cathode du dispositif. Sous l'effet du bombardement d'un faisceau d'ions positifs, des particules sont arrachées du matériau et vont se déposer sur le support anodique où se trouve le substrat, formant une couche mince non cristalline. Un recuit à haute température permet d'obtenir un film cristallisé.

Une collaboration avec l'équipe MIMM² du DOAE³ de l'ITEMN⁴ à Maubeuge (équipe de D. Rémiens et E. Cattan) maîtrisant ce dernier type de PZT a donc été mise en place.

¹MOCVD : Metal Organic Chemical Vapor Deposition

²équipe de recherche de l'université de Valenciennes, matériaux pour l'intégration en micro-électronique et dans les micro-systèmes

³département opto-acousto-électronique

⁴Institut d'électronique, de microélectronique et de nanotechnologies, unité mixte du CNRS

2.1.2 Procédés de fabrication de membranes piézoélectriques

Le procédé de fabrication de dispositifs à actionnement intégré est basé sur les techniques de fabrication collective de la microélectronique. Le matériau de base est bien entendu le silicium ainsi que ses dérivés tels que l'oxyde de silicium (SiO_2) le nitrure de silicium (Si_3N_4) et ses oxy-nitrures (SiN_xO_y). Divers métaux servent aussi aux liaisons électriques ou comme surface d'accroche biochimique : l'or, l'aluminium, le titane ou le platine.

Dans les étapes et les techniques de fabrication des microsystèmes, nous pouvons distinguer les dépôts, les gravures, les implantations et les recuits thermiques. Chaque définition d'un motif se réalise par photolithographie, comprenant une étape d'enduction de résine sur la plaquette de silicium, puis un pré-recuit de celle-ci pour la polymériser et éliminer les solvants, l'exposition aux ultraviolets, une révélation (ou développement) pour enlever les zones exposées (ou inversement suivant le type de résine), et enfin un post-recuit afin d'accroître la résistance de la résine aux agents chimiques. Nous décrirons les étapes nécessaires à la réalisation de nos structures piézoélectriques au fur et à mesure de leur apparition en insistant plus particulièrement sur la compatibilité entre la filière technologique silicium développée au LAAS-CNRS et les procédés de dépôt de couches minces piézoélectriques étudiés au MIMM.

2.1.3 Choix du type de structures

Nous avons maintenant fixé notre matériau piézoélectrique, reste à choisir le type de structure à réaliser. Dans les structures de base, nous avons le choix entre les leviers, les ponts ou les membranes.

Les leviers possèdent l'avantage d'être faciles à utiliser pour extraire les paramètres mécaniques comme nous le verrons au chapitre 3, ou pour extraire la masse ajoutée dans la variation de fréquence de résonance. Ils auront aussi une forte amplitude de vibration à la résonance, comparée aux autres structures de dimensions comparables. Cette amplitude peut être amortie par un effet dit de *squeeze film* lorsque les microleviers sont réalisés par micro-usinage de surface, c'est-à-dire qu'ils se trouvent à proximité du substrat, entraînant le confinement d'un film d'air à l'origine de cet amortissement. L'analyse de la déflexion statique donnera quant à elle une indication de la contrainte en surface. Ils ont donc l'avantage de pouvoir découpler les phénomènes de contraintes des phénomènes de variation de masse. Ils présentent cependant l'inconvénient d'être plus complexes à réaliser que les autres structures.

Pour les ponts, ils sont sensibles en même temps à la contrainte et à la masse ajoutée dans leur fréquence de résonance. Ils sont aussi complexes à réaliser que les leviers. Pour ce type de structure, l'extraction de paramètres mécanique n'est pas très aisée.

Quant aux membranes, elles sont elles aussi sensibles à la fois aux variations de masse et de contraintes. C'est pour ce type de structure que l'extraction de paramètres mécaniques est la plus complexe. Elles sont cependant plus faciles à fabriquer car elles ne nécessitent aucune gravure face avant, et elle permettent d'avoir une surface plane. Cette dernière caractéristique présente bien des avantages lors de l'utilisation de ces dispositifs comme des capteurs biologiques.

2.1.4 Dépôt de la couche piézoélectrique après libération des leviers

Abordons tout d'abord l'historique de la mise au point de la réalisation de cette intégration. Les essais préliminaires furent réalisés sur des leviers en oxyde de silicium préalablement libérés par une gravure humide face avant au TMAH⁵. L'électrode de platine

⁵tetramethyl ammonium hydroxide : $(CH_3)_4NOH$ dilué entre 20 et 30% en masse dans l'eau et chauffé aux alentours de 70°C

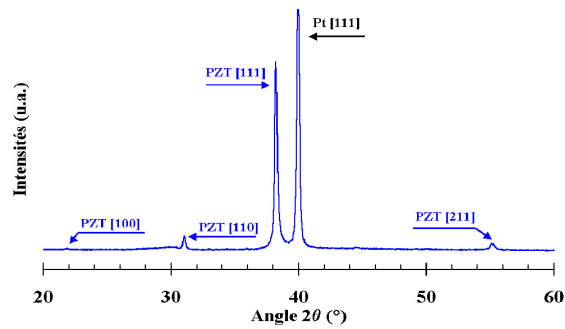


Fig. 2.1 : Diagramme de diffraction RX d'un film de PZT polycristallin présentant une orientation préférentielle suivant les plans $\langle 111 \rangle$.

inférieure puis le PZT et enfin électrode supérieure en platine ont été déposés ensuite sur l'ensemble de l'échantillon. Cet essai nous a permis de confirmer que les caractéristiques étaient identiques aux dépôts pleine plaque. En effet, après recuit, et analyse au voisinage des poutres par diffraction aux rayons X, l'orientation préférentielle est $\langle 111 \rangle$ (cf fig.2.1). Les photographies 2.2 montrent aussi une forte déflexion des leviers après dépôt et recuit thermique. Ces déflexions montrent les contraintes en tension existantes dans le film de PZT.

Le problème essentiel de cet essai est l'impossibilité de réaliser une photolithographie sur des structures libérées. En effet, l'enduction de résine se réalisant « à la tournette », les structures seraient irrémédiablement brisées. Nous avons cependant réussi, pour certaines poutres, à déposer de la résine sous microscope pour réaliser l'électrode supérieure. Ceci nous a permis de vérifier que les caractéristiques ferroélectriques étaient comparables à d'autres échantillons réalisés au MIMM (polarisation max $35\mu\text{C}/\text{cm}^2$, polarisation rémanente $10\mu\text{C}/\text{cm}^2$, champ coercitif $30\text{kV}/\text{cm}$ cf fig.2.3 et permittivité relative de 750).

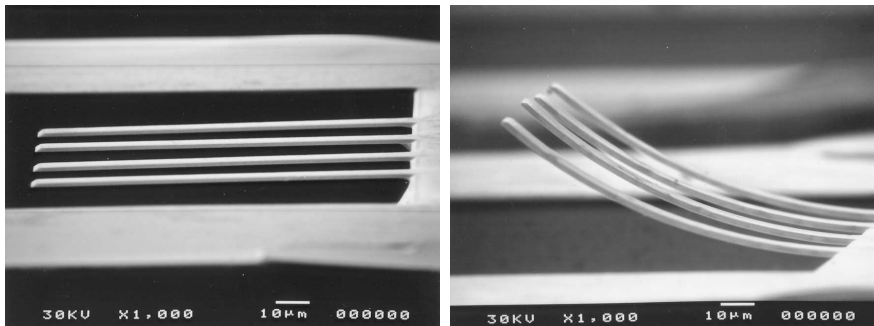


Fig. 2.2 : Essai préliminaire : dépôt sur structures préalablement libérées.

2.1.5 Libération de microleviers après dépôt de la couche piézoélectrique

Nous avons ensuite entamé un premier essai, complet, de fabrication de bras de leviers à actionnement piézoélectrique. Afin de rendre le procédé de fabrication compatible avec les technologies silicium, nous avons voulu débiter par le dépôt du PZT et des électrodes avant les gravures des profils des structures et leur libération. Le protocole mis en œuvre fut le suivant : sur une plaquette oxydée, on commence par un dépôt pleine plaque puis un recuit de l'électrode inférieure en titane/platine, puis dépôt et recuit du PZT, et dépôt puis recuit de l'électrode supérieure en platine seulement. Il faut ensuite faire une ouverture pour atteindre l'électrode inférieure pour pouvoir prendre les contacts électriques, puis

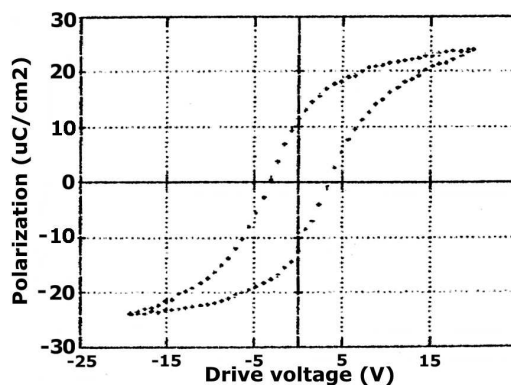


Fig. 2.3 : Cycle d'hystérésis typique obtenu pour le PZT.

dégager les leviers.

Même si la technique de *lift-off* fut envisagée dès le départ, elle nécessite à la fois une maîtrise des techniques d'utilisation des résines photosensibles afin d'obtenir des profils « en casquette » permettant un retrait facile de la résine, et un contrôle de la température des dépôts n'altérant pas cette résine. Pour ces raisons, nous avons choisi la technique de gravure sèche par faisceau d'ions d'argon qui permet directement de structurer le volume par la gravure physique qu'elle réalise.

Là, nous fûmes confrontés à la maîtrise des temps de gravure nécessaire pour s'arrêter sur l'électrode inférieure. La sélectivité quasi nulle de la gravure physique ne nous permet pas de jouir de couches d'arrêt, et nous nous sommes souvent arrêtés de graver dans le PZT, c'est-à-dire avant le platine de l'électrode inférieure. Dès lors, nous avons essayé de graver le PZT par une solution de *buffer HF* mais cette attaque sous-grave le PZT sous le conducteur supérieur (servant ici de masque) et décolle le PZT (cf fig.2.4). Ensuite, lors de l'attaque du silicium dans le bain de TMAH ou lors de la gravure de l'oxyde dans l'acide fluorhydrique, nous fûmes confrontés au problème de la protection du PZT car il ne résiste pas à ces bains provoquant ici aussi le décollement de l'électrode supérieure.

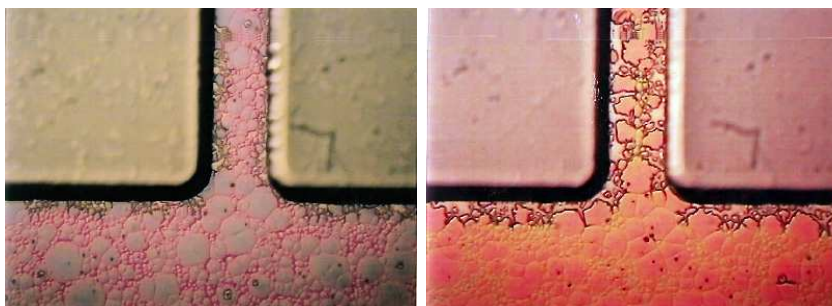


Fig. 2.4 : Sous gravure du PZT après attaque chimique. En bordure de la couche de PZT les joints de grains sont préférentiellement attaqués provoquant la séparation des grains.

Un dernier problème rencontré avec la gravure du PZT provient de dépôts résiduels sur les flancs de gravures entraînant des courts-circuits.

Des évolutions de ce procédé ont été mises en place pour maîtriser la gravure sèche⁶, mais le problème essentiel réside dans l'attaque du PZT par le TMAH lors de la gravure du silicium pour libérer les structures.

Par ailleurs, le fait de fabriquer des leviers par gravure face avant possède l'inconvénient

⁶thèse de Caroline Soyer au MIMM

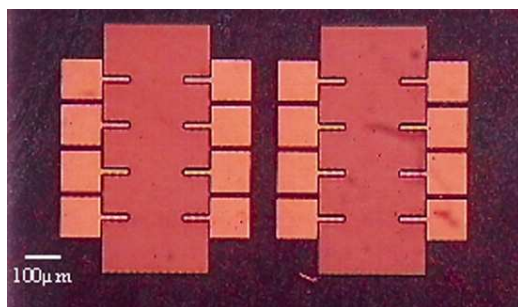


Fig. 2.5 : Gravure physique des électrodes et du PZT et une partie de l'oxyde pour définir les leviers

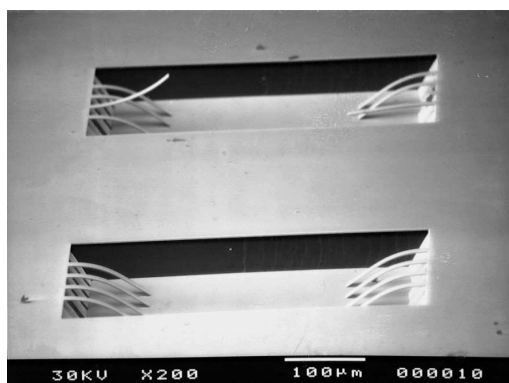


Fig. 2.6 : Exemple de collage de leviers

de présenter une cavité sous la structure qui peut induire des phénomènes de collage entre le fond de la cavité et le bas de la structure (voir fig.2.6). Ce genre de comportement apparaît fréquemment lors des étapes de nettoyage et séchage. Deux phénomènes doivent apparaître pour que cet effet se manifeste, tout d'abord un effondrement de la structure (souvent par capillarité), puis le collage qui lui dépend des tensions de surface et de l'aire de la surface de contact. En pratique, une goutte se forme entre le fond et la poutre, la force de capillarité due au séchage de la goutte attire le levier vers le bas jusqu'au collage. Pour remédier à ce problème, plusieurs solutions sont réalisables : supprimer le confinement entre le levier et le fond, c'est-à-dire avoir une cavité assez profonde, et avoir les flancs de cette ouverture assez abrupts. Une deuxième solution est de réaliser des poutres de raideur suffisantes. Ce dernier point est essentiel, car une raideur trop faible peut aller jusqu'au contact des structures même sur une paroi verticale. Une autre façon d'éviter l'apparition du collage est de rendre la surface de la cavité fortement rugueuse diminuant ainsi la surface de contact [3]. Enfin, on peut travailler sur les tensions de surface en utilisant des solutions différentes pour le séchage (CO_2 supercritique, solutions de d'alcane-silanes), ou encore en jouant sur la température qui diminue les tensions de surface. On peut aussi penser à des gravures par voies sèches...

Pour contourner ce problème, nous avons alors envisagé de libérer les structures par gravure ionique réactive profonde en face arrière. Nous avons aussi préféré nous tourner vers des structures de type membrane pour réaliser ce changement de technologie. De plus, afin de faciliter l'intégration de ce procédé dans la filière technologique, nous nous sommes dirigés vers le *lift-off* des dépôts de PZT.

2.2 Recentrage vers les biocapteurs : fabrication de membranes piézoélectriques

2.2.1 Introduction : Du levier à la membrane

Nous avons vu dans les paragraphes précédents que la fabrication de leviers piézoélectriques soulevait des problèmes technologiques : gravure de la couche piézoélectrique et libération des leviers.

Expliquons les raisons du choix de membrane comme forme de dispositif mécanique. Le premier argument en faveur des membranes est la simplicité du procédé technologique à mettre en œuvre comparé à celui nécessaire pour la réalisation de ponts ou de leviers. En effet, aucune gravure face avant de la plaquette n'est nécessaire. Nous l'avons dit, nous avons choisi comme matériau piézoélectrique le PZT pour ses fortes propriétés piézoélectriques si on les compare à celles du *ZnO*. Cependant, le plomb contenu dans le PZT, si on ne le protège pas lors des étapes de gravures sèches, peut s'avérer être un polluant pour le bâti et les gravures ultérieures. Le fait de ne réaliser que des membranes supprime donc les étapes de gravures face avant, la gravure face arrière ne voyant pas de plomb.

Un autre problème auquel nous aurons à fournir une réponse est la source de pollution que représente le PZT vis-à-vis des molécules biologiques. Il sera donc nécessaire de protéger les surfaces présentant du plomb pour éviter toute contamination.

Ensuite, un avantage que présente un dispositif de type membrane, est la possibilité d'y intégrer un adressage pour les espèces biologiques à déposer ou à faire interagir. On peut penser, par exemple, à disposer sur la puce un adressage diélectrophorétique ou électrochimique pour des applications respectivement de type puces à cellules ou puces à ADN (pyrolles).

Enfin, un argument plus pragmatique que technique, en observant les biologistes travailler sur les protocoles de puces à ADN, on peut s'apercevoir que le substrat standard utilisé est la lame de verre, couramment employée avec les microscopes optiques. Ce support n'est pas fragile, simple d'utilisation et de très faible coût. Des trois microstructures de base, c'est-à-dire des leviers, des ponts ou des membranes, la forme se rapprochant le plus de la lame de verre est la membrane. En effet les membranes présenteront une surface plane comparable à la lame de verre ; les ponts et leviers exposent nécessairement un flanc qui les fragilisent lorsqu'on les manipule.

2.2.2 Première génération de membranes

2.2.2.1 Introduction

Au vu des considérations évoquées précédemment, nous avons initié notre étude en réalisant des dispositifs de type membrane, simples, réalisables en trois niveaux de masques (voir fig.2.7). Le premier masque sert à placer les mires d'alignement à la fois pour le niveau 2 et pour l'alignement de la face arrière. Le deuxième masque définit les formes des actionneurs piézoélectriques, ils sont de forme carrée ou circulaires (50 - 75 - 100 μ m de diamètre ou côté). Le niveau 3 définit les ouvertures face arrière pour la libération des membranes. Les ouvertures sont carrées ou circulaires (300 - 400 - 500 - 600 μ m de diamètre ou côté).

Le déroulement du procédé de fabrication est schématisé sur la figure 2.8. La plaquette de silicium de départ est un SOI⁷. Ce type de plaquette possède une couche d'oxyde de silicium enterrée qui servira de couche d'arrêt lors de la gravure de la face arrière pour la réalisation de la membrane. La justification de l'utilisation d'un tel type de substrat par rapport à un dépôt de silicium polycristallin sur un film d'oxyde est simple. Les propriétés mécaniques du polysilicium sont bien moins bonnes que celles du silicium monocristallin ;

⁷SOI : Silicon On Insulator

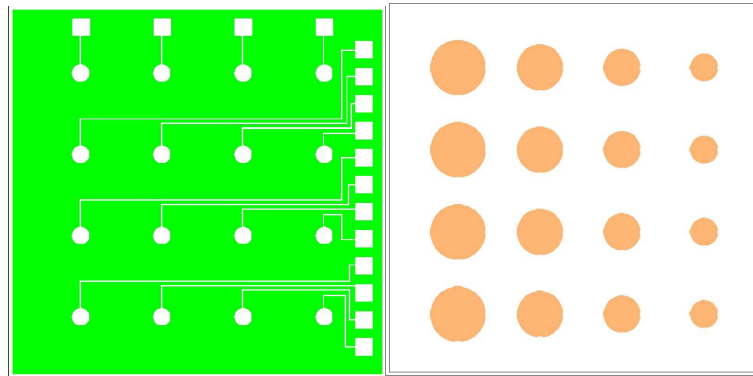


Fig. 2.7 : Masques nécessaires à la réalisation des membranes de première génération. Ici pour des formes circulaires. A gauche le niveau 2, définitions du *lift-off* du PZT et électrode supérieure. A droite le niveau 3 de l'ouverture face arrière.

en effet, la présence des grains génère des pertes mécaniques qui diminueraient les coefficients de qualité des fréquences de résonance. De même, les nitrures de silicium de forme polycristallines ou amorphes généreront des pertes énergétiques aux encastremements lors des oscillations mécaniques.

Nous avons tout d'abord commencé en utilisant des SOI dont l'épaisseur de la couche supérieure de silicium était de $15\mu\text{m}$ puis de $5\mu\text{m}$, la couche d'oxyde enterrée mesurait $1\mu\text{m}$, et le substrat inférieur $525\mu\text{m}$.

Nous allons pour ce premier procédé de fabrication essayer de détailler au maximum les étapes. Par la suite, les descriptions seront plus brèves et ne comporteront que les étapes essentielles du procédé de fabrication.

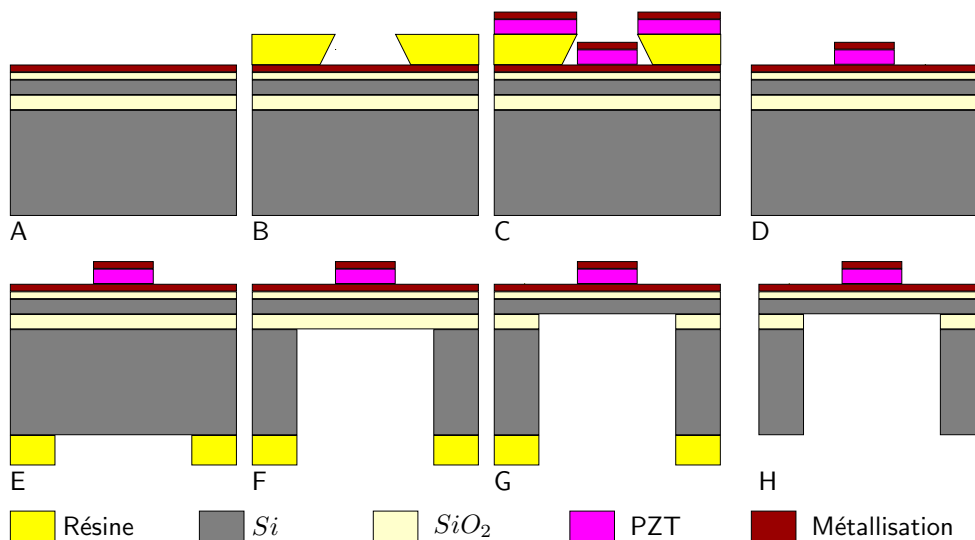


Fig. 2.8 : Étapes technologiques nécessaires à la réalisation des membranes de première génération

2.2.2.2 Oxydation

La première étape consiste en la croissance d'un oxyde de silicium, il servira à isoler l'électrode inférieure du substrat de silicium. Pour préparer la plaquette à cette oxydation, il est nécessaire de la nettoyer correctement et d'enlever la couche d'oxyde natif. Ce net-

toyage consiste en un passage dans un premier bain de H_2O_2 et H_2SO_4 . Ce bain acide et oxydant enlève tout dépôt organique, il oxyde aussi légèrement la surface de la plaquette. Après rinçage et séchage de la plaquette, nous retirons la fine couche d'oxyde présente sur la plaquette en la plongeant dans un bain tamponné d'acide fluorydrique (*buffer HF*). Une fois rincée et séchée, on place directement la plaquette dans le four d'oxydation pour éviter toute croissance non contrôlée d'oxyde. Après une rampe sous azote pour monter le four à la température de palier, la phase d'oxydation à proprement parler est réalisée sous atmosphère sèche (le gaz oxydant n'est pas de la vapeur d'eau mais du dioxygène). Nous avons ici réalisé des couches de SiO_2 d'épaisseur $0,45\mu m$.

2.2.2.3 Gravure des motifs d'alignement

Après cette étape de préparation de la plaquette, nous allons procéder à la première étape de photolithographie. Nous allons dessiner les mires d'alignement servant à la fois au niveau 2 et au niveau 3. La résine utilisée est ici une AZ1529, déposée à la tournette, dont les paramètres sont les suivants : vitesse 5000tr/min, accélération 5000tr/min/s et de durée 30s. Un premier recuit sur plaque chauffante à $105^\circ C$ pendant 1min permet d'éliminer les solvants et de polymériser la résine. Ensuite, vient la phase d'insolation où nous utilisons une Karl-Suss MA150.

L'exposition dure 12s en mode contact, ce qui veut dire que le masque vient se plaquer directement en contact sur la résine. Après, nous révélons les zones exposées en plaçant la plaquette dans un mélange eau et AZ-Developer (mélange 1 : 1 en volume) pendant 30s. Puis, après rinçage et séchage, pour rendre la résine plus résistante au bain d'attaque chimique, nous procédons à un post-recuit sur une plaque chauffante à $115^\circ C$ pendant 1min. Enfin, après avoir vérifié que la photolithographie s'est bien déroulée, nous passons à l'attaque chimique de l'oxyde de silicium dans un bain de *buffer HF*. Cette solution grave l'oxyde thermique⁸ à une vitesse de $700\text{Å}/\text{min}$. Pour rendre les motifs bien visibles, un court passage (2min) en gravure ionique profonde (DRIE-ICP) permet de graver environ 5 microns dans le silicium.

2.2.2.4 Dépôt de l'électrode inférieure

L'étape suivante (**A**), réalisée au MIMM, est un dépôt de titane/platine réalisant l'électrode inférieure. Le titane permet l'adhésion du métal sur l'oxyde. Sans cette couche d'accroche, le platine se décollerait. Ces métaux sont déposés par pulvérisation cathodique DC, les épaisseurs sont de $100/1200\text{Å}$. Plus précisément, on dépose un oxyde de titane (TiO_x) pour éviter la diffusion du titane dans le platine puis le PZT. Le platine sert de support au dépôt du matériau piézoélectrique. Ce matériau, le PZT ($Pb(Zr_x, Ti_{1-x})O_3$), pour obtenir sa forme cristalline demande que la surface sous-jacente soit structurée et possède un paramètre de maille proche du PZT. Il a donc été montré qu'il est nécessaire que le platine soit orienté $\langle 111 \rangle$, orientation qu'il prend naturellement dans les conditions de dépôt utilisées. Pour stabiliser mécaniquement et surtout thermiquement l'ensemble électrode (TiO_x, Pt), nous réalisons un recuit pendant 1h au palier de $650^\circ C$, température supérieure à celle qui sera réalisée pour le PZT.

2.2.2.5 Dépôt de la couche piézoélectrique et de l'électrode supérieure

Ensuite, la partie novatrice du procédé concerne l'étape de dépôt du PZT, il est réalisé à température ambiante. De cette façon nous pouvons réaliser un *lift-off* du PZT et de l'électrode supérieure pour définir les motifs. En effet la résine ne supportant pas des températures supérieures à $180^\circ C$, un refroidissement du porte substrat à $10^\circ C$ a donc été

⁸oxyde thermique, se dit lorsque l'oxyde est réalisé par oxydation thermique, par opposition aux oxydes déposés par CVD

mis en place, et une amélioration du contact thermique entre celui-ci et le substrat. La température atteinte alors par la plaquette au cours du dépôt du fait de l'échauffement dû au bombardement ne dépasse pas les 130°C. Notons que cette étape remplace des essais qui avaient été réalisés auparavant en gravure ionique réactive ou gravure par faisceau d'ions qui nécessitaient des étapes de masquages supplémentaires. Ces méthodes posaient aussi des problèmes de résidus de gravure (cf fig.2.9).

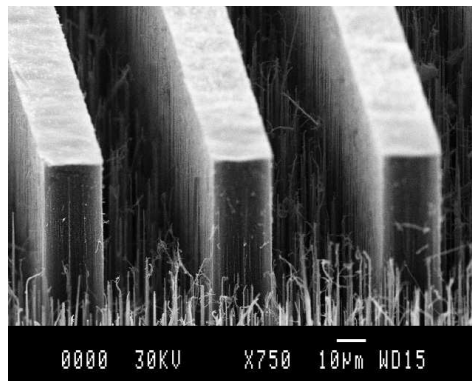


Fig. 2.9 : Exemple de problème de micromasquage issu du dépôt de résidus de gravure, suite à une RIE de silicium avec lignes en or.

Détaillons cette étape de *lift-off* (cf fig.2.8). Nous commençons tout d'abord par une photolithographie (**B**), comme précédemment : enduction de résine, recuit, exposition, et révélation selon le masque niveau 2 (cf fig.2.7). Ici aucun post-recuit n'est effectué ce qui aurait tendance à arrondir les flancs de la résine, rendant plus difficile son retrait après le dépôt de PZT.

La composition morphotropique du PZT [54/46] a été choisie car elle donne les propriétés piézoélectriques optimum dans le système $PbZrO_3 - PbTiO_3$. On procède alors (**C**) à la pulvérisation magnétron RF du PZT (cible de $\phi=75\text{mm}$ de poudres pressées de PbO , ZrO_2 et TiO_2 dans les proportions stoechiométriques). Suite à ce dépôt, on change de bâti pour déposer par dessus le platine de l'électrode supérieure. Les épaisseurs déposées peuvent varier de 600nm à 1200nm sur une même plaquette de 4 pouces. Cette forte inhomogénéité de l'épaisseur du dépôt obtenu est due à la taille de la cible (diamètre 75mm), bien inférieure à la taille de la plaquette (diamètre 100mm).

Puis vient l'étape réelle du *lift-off* (**D**) dans un bain d'acétone et à l'aide d'ultrasons, le solvant arrive à retirer la résine sous le dépôt.

Ensuite, on procède à un recuit thermique (à 625°C, durée 30min). Notons que le PZT ainsi que l'électrode supérieure ont été réalisés successivement, avec le même masque de résine, et qu'un seul recuit permet la cristallisation du PZT dans la bonne phase pérovskite, et le recuit de contact de l'électrode supérieure.

2.2.2.6 Libération face arrière

Enfin, vient l'étape de libération des membranes (LAAS). La gravure durant au moins trois heures, la résine qui sert de masque pour cette gravure profonde devra être assez épaisse. Nous avons choisi une AZ4562 assez visqueuse pour obtenir des épaisseurs élevées — environ $15\mu\text{m}$ sont nécessaires pour graver au moins $525\mu\text{m}$ de silicium avec une sélectivité de 1 pour 50 face à la résine. La phase de photolithographie (**E**) est assez critique. En effet, l'épaisseur importante de résine pose des problèmes de tenue mécanique lors des recuits. Pour une résine juste déposée et étalée à la tournette, encore liquide, le choc thermique lors de la mise en place de la plaquette sur la plaque chauffante contracte la résine qui concentre alors au centre de la plaquette. Lors de la révélation, peuvent survenir

des problèmes dus aux chocs thermiques sur de fortes épaisseurs de résine. Si le bain de révélation ou de rinçage est trop froid, des craquelures apparaissent. Nous avons donc mis au point une rampe de température pour réticuler la résine ($1^{\circ}\text{C}/20\text{s}$ jusqu'à 115°C puis palier 10min à 115°C). Malgré la bonne tenue de la résine pendant la rampe, la durée de la rampe provoque une déshydratation de la couche de résine. Il est alors nécessaire de bien contrôler les paramètres de réhydratation avant l'insolation (1h à $20^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ et humidité à $50\%\pm 5\%$). L'insolation est réalisée en mode contact pendant 40s . Le bain de révélation (ici AZ400K 1 : 3) doit être préparé à 40°C . La révélation dure alors environ $2\text{min}30\text{s}$; il est préférable de la fractionner (rinçages intermédiaires) afin d'obtenir des flancs de résine plus droits.

La gravure face arrière (**F**) se déroule en plusieurs étapes. Tout d'abord on grave en gravure ionique réactive profonde (ICP-RIE, gaz CF_4 , SF_6 et O_2) pendant 1h . Cette durée écoulée, la résine est durcie par le plasma. On sort la plaquette et on la colle sur une autre plaquette afin de protéger les motifs de la face avant car, en fin de gravure, la différence de pression entre les deux faces de la plaquette⁹ peut provoquer le déchirement des membranes. La colle utilisée est une pâte thermique que l'on dépose sur une plaquette chauffée à 70°C avec quelques points seulement sur la périphérie, afin de ne pas en mettre sur les structures. Puis on presse l'assemblage sous vide afin d'assurer un bon contact thermique. On reprend alors la gravure pendant $2\text{h}-2\text{h}30$. La fin de gravure, c'est-à-dire l'arrivée sur l'oxyde, se visualise bien par l'éclaircissement des trous.

Nous terminons la libération des membranes par la gravure (**G**) de la couche intermédiaire d'oxyde ($1\mu\text{m}$) par une gravure ionique réactive (RIE) CF_4 , 80W , pendant 45min . Enfin, nous séparons délicatement la plaquette support de la plaquette gravée en chauffant à 70°C , nous nettoyons alors à l'acétone pour supprimer la résine (**H**) et la pâte thermique. Un plasma O_2 peut aussi être réalisé pour retirer les résidus organiques et une RIE O_2 pour les résidus téflonés issus des gravures plasma.

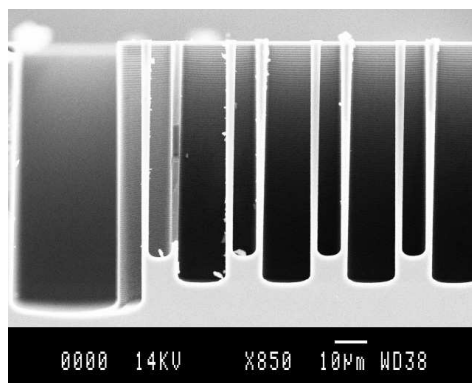


Fig. 2.10 : Mise en évidence de la dépendance de la vitesse de gravure en DRIE en fonction de la surface d'ouverture.

Notons ici que la vitesse de gravure en DRIE dépend de l'ouverture à graver. Plus l'ouverture est grande, plus la gravure est rapide (voir fig.2.10). Dans notre cas, les membranes ont des ouvertures de différentes tailles, la fin de gravure doit donc être calée sur les membranes les plus petites. Nous aurons alors une surgravure au niveau des membranes de grande taille. La fin de gravure est décidée en regardant à travers le hublot du bâti le fond de la cavité, il devient plus lumineux lorsqu'on arrive sur l'oxyde. Ce changement de luminosité est dû au changement de matériau et à la couche métallique sous l'oxyde qui reflète l'éclairage. Nous pouvons voir sur les photographies figure 2.11 l'évolution de

⁹dans le bâti de la STS ICP-RIE, une face est exposée au plasma alors que l'autre subit un jet d'hélium pour refroidir la plaquette

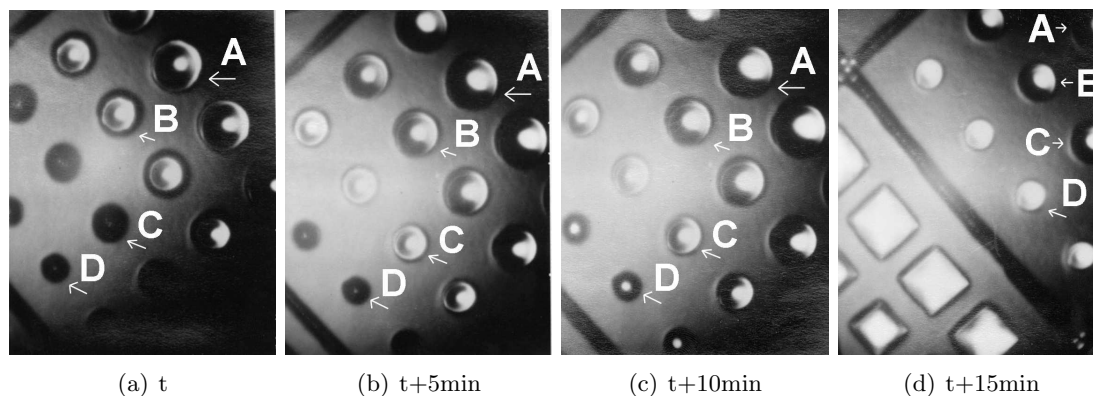
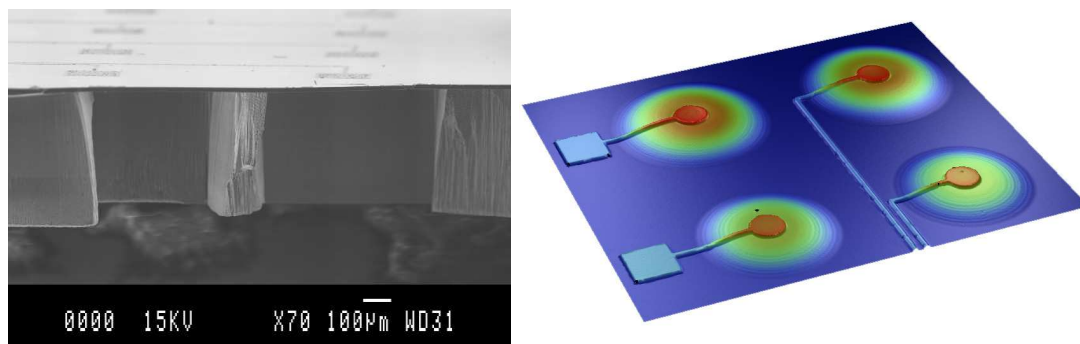


Fig. 2.11 : Fin de gravure profonde face arrière pour des membranes d'ouvertures différentes, 5 minutes séparent chaque photographie.

la gravure lors de l'arrivée sur la couche d'oxyde. Les ouvertures signifiées par les lettres A, B, C et D sont respectivement de 600, 500, 400 et 300 microns de diamètre. Les membranes carrées visibles sur la photographie d) ont aussi des ouvertures de 300, 400, 500 et 600 μm de côté. Les quatre photographies montrées sont prises à 5 minutes d'intervalle. La première (a) montre la gravure de A terminée et B quasiment achevée, les ouvertures C et D ne sont pas arrivées jusqu'à l'oxyde. Dans l'image b), les ouvertures A et B sont achevées et C se termine. Sur c) D commence à être gravée. Enfin, sur d), tout est terminé. Au total, vingt minutes se sont écoulées entre la fin de la première ouverture, du plus gros carré qui est la surface la plus grande, et l'ouverture la plus petite qui correspond aux ouvertures circulaires de 300 μm .

Des photographies de membranes sont présentées figure 2.12. La coupe a) montre aussi pour une ouverture de 600 μm un léger évasement. La topographie de droite montre une légère déflexion des membranes de quelques microns, due à la structure multicouche de la membrane et des diverses contraintes dans les films d'oxyde, de titane/platine et de PZT.



(a) Photo MEB d'une coupe de membranes (b) Mesure de topographies de membranes de 5 μm d'épaisseur réalisée par un profilomètre optique

Fig. 2.12 : Membranes de première génération.

2.2.2.7 Commentaires

Ce deuxième essai a été concluant du point de vue technologique car toutes les étapes ont été maîtrisées. Pour le *lift-off*, nous avons dans un premier temps, entre le LAAS et l'équipe du MIMM à Maubeuge, procédé à de nombreux envois de plaquettes avec résine

insolée et révélée, et dont le transport n'arrangeait guère l'état de la résine. Le procédé de photolithographie a ensuite été contrôlé à Maubeuge, ne nécessitant plus aucun transfert de plaquettes enduites de résine. De plus, l'adaptation du procédé de sputtering par le refroidissement du porte-plaquette a maintenant fait ses preuves. Enfin, la mise en place du protocole complet permettant de réaliser une résine épaisse nous a permis d'effectuer les libérations face arrière de manière reproductible.

Cependant, une équivoque au niveau du sens d'alignement des masques entre Toulouse et Maubeuge nous a conduit à obtenir sur les premières plaquettes des motifs face avant excentrés par rapport aux ouvertures face arrière, voir fig.2.13.

Nous verrons toutefois dans le chapitre 3 que malgré l'excentration des motifs piézo-électriques, ces membranes ont pu être utilisées pour extraire des paramètres électromécaniques du PZT, et une bonne efficacité d'excitation a été observée.

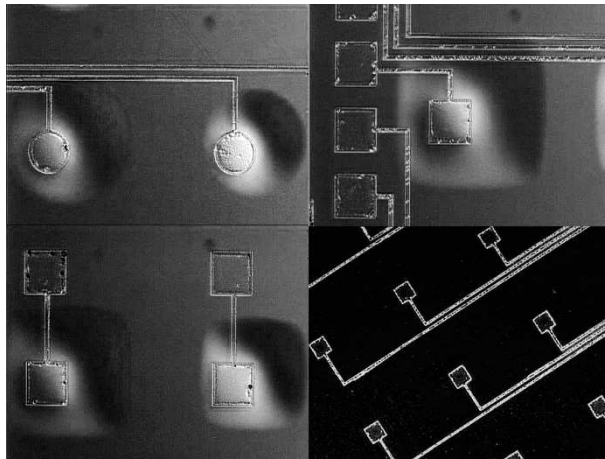


Fig. 2.13 : Membranes de première génération. Photographies optiques des différentes formes de membranes et pastilles d'excitation.

2.2.3 Deuxième génération : réduction des capacités de ligne et optimisation de la géométrie des électrodes

2.2.3.1 Introduction

Une deuxième génération de membranes et de structures à actionnement piézoélectrique a été réalisée dans le but de diminuer les capacités des plots de contact et des lignes. En effet, si nous voulons utiliser le matériau piézoélectrique à la fois pour son effet inverse (actionnement) et pour son effet direct (capteur), il est nécessaire de limiter la capacité à la zone active, c'est-à-dire à la zone créant le mouvement.

Précédemment, les deux électrodes étaient en vis-à-vis depuis le plot de contact jusqu'à la microstructure mécanique. Il nous faut maintenant réduire à la zone active la capacité créée entre les deux électrodes. Ici, nous ne voulions déposer du PZT que sur les zones à actionner, et non pas tout le long de l'électrode supérieure, c'est-à-dire qu'il faut dissocier l'électrode supérieure de la couche de PZT. Fort de notre expérience sur le *lift-off* du PZT mis en place précédemment, nous avons opté pour un procédé nécessitant trois *lift-off* au lieu d'un seul. Le premier définira l'électrode inférieure, le second la couche active de PZT et le troisième définira l'électrode supérieure.

Nous avons profité de ce nouveau dessin de masque pour redéfinir la forme de la partie piézoélectrique afin d'optimiser l'excitation mécanique. Nous apercevons figure 2.14 et 2.15 les masques puis les photographies des réalisations de ces électrodes. Plusieurs formes d'électrodes ont été dessinées, afin de pouvoir initier une étude systématique sur l'efficacité

d'actionnement. Nous nous sommes basés sur des travaux réalisés sur des structures de type ponts [4, 5] et en passant à une symétrie polaire, nous nous ramenons à une membrane circulaire. La première forme est annulaire, mais nous avons aussi réalisé des géométries d'actionneurs plus complexes (annulaire interrompue, croix, barre), inspirées d'études par éléments finis [6] qui montrent l'influence de cette géométrie sur la fréquence des modes de résonance. Ils montrent aussi l'effet de raideur induit par la polarisation du matériau piézoélectrique sur ces modes.

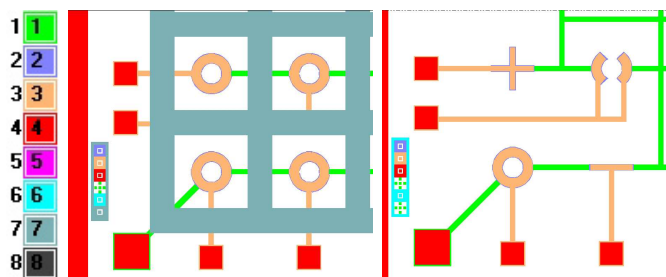


Fig. 2.14 : Masques pour la réalisation de la deuxième génération de structures. Membranes à actionnement annulaire et autres types d'actionnement sur membranes circulaires.

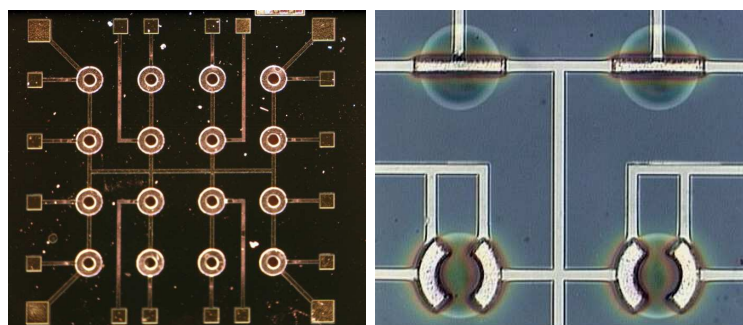


Fig. 2.15 : Photographies des membranes avec actionnement annulaire à gauche, et autres formes de types d'électrodes sur membranes circulaires à droite.

Ce procédé d'une bien plus grande complexité, nous permet de fabriquer en parallèle, sur la même plaquette des structures de type leviers, ponts et membranes. Toutes ces structures comportent des couches piézoélectriques permettant de les actionner indépendamment. Par rapport à la première génération de membranes, nous avons rajouté une couche de passivation afin d'encapsuler le PZT pour qu'il ne voie ni le plasma ni les espèces biologiques. Cette fabrication comporte six niveaux de masques, auxquels nous ajoutons deux niveaux facultatifs, niveaux 5 et 7 sur le synoptique 2.16 que nous détaillerons dans la partie suivante.

2.2.3.2 Déroulement du procédé de fabrication

Le synoptique du déroulement du procédé de fabrication est présenté en figure 2.16, nous pouvons voir les masques utilisées sur les figures 2.14, 2.18, 2.19, et 2.20. Enfin, une schématisation en trois dimensions de l'évolution de la plaquette au cours du procédé de fabrication est présenté en figure 2.17, les lettres signalées dans le descriptif suivant font référence à ce schéma. Signalons ici que la différence essentielle avec le procédé précédent est l'ajout des deux *lift-off* de l'électrode inférieure (**b**) et supérieure (**d**), permettant d'insérer aussi la gravure face avant définissant des structures ponts ou leviers (non représenté sur la figure 2.17).

| <u>DIMENSIONS :</u> | | | |
|--|---------------------|-----------|------------------|
| SOI : épaisseurs 340nm – 1.3 μ m – 2 μ m – 5 μ m | | | |
| Structure | longueurs | largeurs | |
| Membranes rondes | 300 | idem | avec PZT |
| Membranes carrées | 300 | idem | avec PZT |
| Leviers | 100-200-300-400-500 | 30-50 | avec et sans PZT |
| Ponts | 200-300-400-600-700 | 30-50-100 | avec et sans PZT |
| Capa test | 200-300-400 | idem | avec PZT |

| <u>ETAPES DE FABRICATION :</u> | | |
|--------------------------------|-------------|---|
| Etape 1 : | <i>LAAS</i> | Oxydation thermique ~20nm à 50nm. |
| Etape 2 : | <i>MIMM</i> | Masque niv. 1 lift-off <i>Ti/Pt</i> – épaisseur 120nm (<i>lift-off résine > 0, motifs d'alignement + électrode inf</i>). |
| Etape 3 : | <i>MIMM</i> | Recuit thermique <i>Ti/Pt</i> . T= 650°C, durée=1h au pallier. |
| Etape 4 : | <i>MIMM</i> | Masque niv. 2 lift-off <i>PZT</i> – épaisseur max=2 μ m. |
| Etape 5 : | <i>MIMM</i> | Recuit thermique du <i>PZT</i> . T= 625°C; durée=30min. |
| Etape 6 : | <i>MIMM</i> | Masque niv. 3 lift-off <i>Pt</i> – épaisseur= 120nm. |
| Etape 7 : | <i>MIMM</i> | Recuit de contact <i>Pt</i> . T= 500°C, durée=1h au pallier. |
| Etape 8 : | <i>LAAS</i> | Passivation par dépôt d'oxyde LTO. |
| Etape 9 : | <i>LAAS</i> | Masque niv. 4 gravure RIE ou BHF <i>SiO₂</i> face avant des contacts. |
| Etape 10 : | <i>LAAS</i> | Masque niv. 5 lift-off <i>Au</i> pour plots d'interactions bio-moléculaires. |
| Etape 11 : | <i>LAAS</i> | Masque niv. 6 gravure RIE <i>SiO₂</i> face avant puis DRIE <i>Si</i> face avant des profils des leviers et ponts. |
| Etape 12 : | <i>LAAS</i> | Masque niv. 7 pour parois en PDMS. |
| Etape 13 : | <i>LAAS</i> | Masque niv. 8 gravure face arrière <i>Si</i> par DRIE puis <i>SiO₂</i> par RIE, libération des structures. |

Fig. 2.16 : Synoptique du déroulement du procédé de fabrication de la deuxième génération de structures à actionnement piézoélectrique.

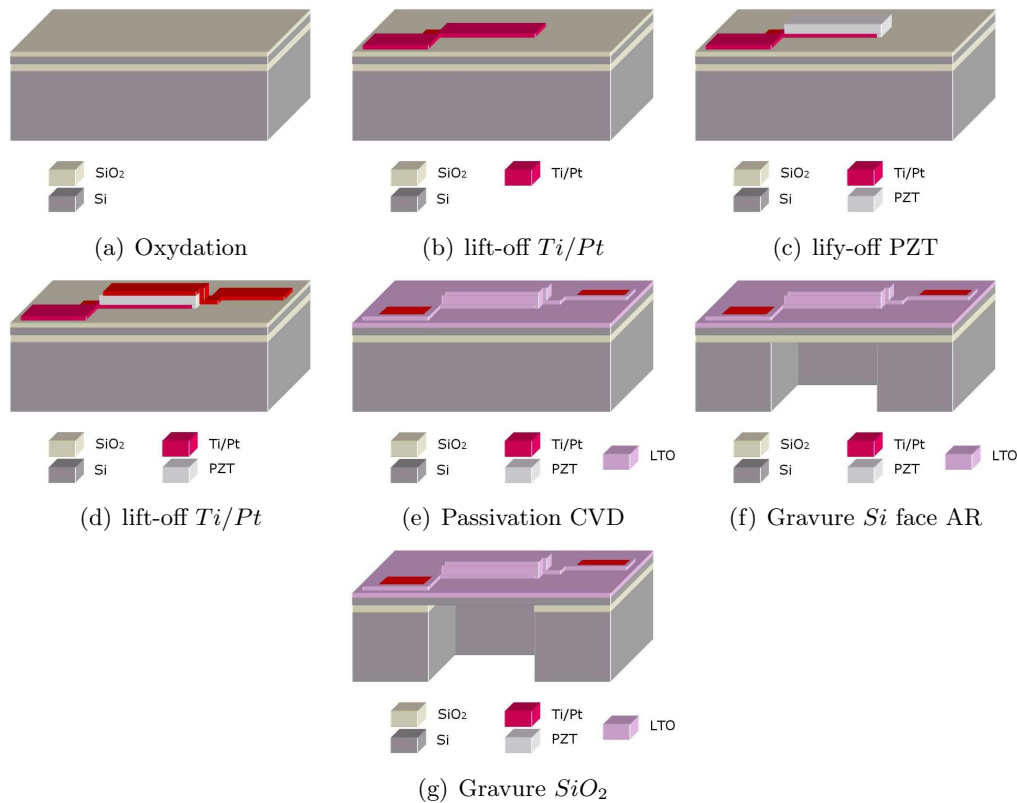


Fig. 2.17 : Déroulement du procédé de fabrication des membranes avec actionnement intégré.

La plaquette de départ est ici un substrat de type SOI beaucoup plus fin que précédemment, l'épaisseur de silicium monocristallin supérieur est de $1,3\mu\text{m}$ ($525\text{-}1\text{-}1,3\mu\text{m}$), le but étant bien sûr de diminuer au maximum les dimensions, et ainsi la masse intrinsèque de nos capteurs, afin d'augmenter leur sensibilité. La fabrication de ces structures débute par une oxydation thermique (a) d'environ 500\AA (45min au palier de 900°C).

La première photolithographie du niveau 1 (MIMM) définit les motifs d'alignement et le *lift-off* du dépôt de la métallisation de l'électrode inférieure Ti/Pt (b) d'épaisseur 1200\AA . Ce *lift-off* est suivi d'un recuit thermique de Ti/Pt à 650°C , 1h au palier.

Le PZT est ensuite déposé après photolithographie du niveau 2 (c). Après *lift-off*, un recuit thermique du PZT est effectué à 625°C pendant 30min. L'épaisseur du PZT est comprise entre 600nm et 800nm (entre la périphérie et le centre).

Enfin, l'électrode supérieure (Ti/Pt) est également déposée (d) après la photolithographie du niveau 3 et un *lift-off* (épaisseur= 120nm). Un recuit thermique pour l'activation des contacts est réalisé à 500°C pendant une durée de 1h au palier.

A partir de cette étape la suite du processus de fabrication est réalisé au LAAS. On procède tout d'abord à la passivation (e) par dépôt d'oxyde PECVD ou LTO (épaisseur 3000\AA). Puis il faut ouvrir les plots de contact. On réalise alors la photolithographie du niveau 4 (résine AZ1529), puis une gravure plasma RIE ou chimique au *buffer HF* du SiO_2 face avant.

A ce niveau, toute la partie électrique est terminée et nous passons au micro-usinage des surfaces. En premier lieu, nous définissons par la photolithographie du niveau 6 les profils des leviers et des ponts. Cette étape ne modifie rien aux membranes. La gravure RIE du SiO_2 face avant, suivie de la gravure DRIE-ICP du Silicium en s'arrêtant sur la couche d'oxyde enterrée, définissent leurs contours.

Enfin, la photolithographie du niveau 8 face arrière alignée sur les motifs d'alignement générés au cours de l'étape 1 permet de définir les ouvertures pour la libération des struc-

tures. Les ouvertures pour les membranes circulaires font $300\mu\text{m}$ de diamètre ou $300\mu\text{m}$ de côté pour les membranes carrées. On utilise alors les étapes décrites précédemment avec la résine AZ4562 ($12\mu\text{m}$) (insolation en mode contact). On procède ensuite à la gravure face arrière avec la gravure ICP-DRIE pendant 1h (environ $3\mu\text{m}/\text{min}$), puis on colle sur une plaquette pour protéger les structures, et on poursuit cette gravure jusqu'à l'oxyde enterré (f). Enfin, pour supprimer cette couche d'oxyde, on poursuit par une gravure RIE de cette couche intermédiaire de SiO_2 ($1\mu\text{m}$) (g).

Nous avons vu que nous avons inséré deux autres niveaux de masques (5 et 7). Le niveau 5, à l'étape 10 permet de déposer par évaporation et *lift-off* une couche d'or (avec couche d'accroche en titane). Cette métallisation nous permettra de fixer des molécules avec des fonctions thiol ($-\text{SH}$) qui se fixeront spécifiquement sur l'or et pas sur l'oxyde de silicium. Un autre avantage de cette métallisation est sa réflectivité élevée permettant de faire des mesures peu bruitées au profilomètre optique ou en déflexion de faisceau laser.

Le niveau 7, à l'étape 12 du synoptique 2.16, a été dessiné pour réaliser des parois en PDMS¹⁰, un polymère biocompatible transparent, avec lequel on peut facilement réaliser des moulages. Ces parois forment des cavités dans lesquelles nous pouvons confiner un liquide pour réaliser des réactions bio-chimiques indépendantes sur chacune des membranes.

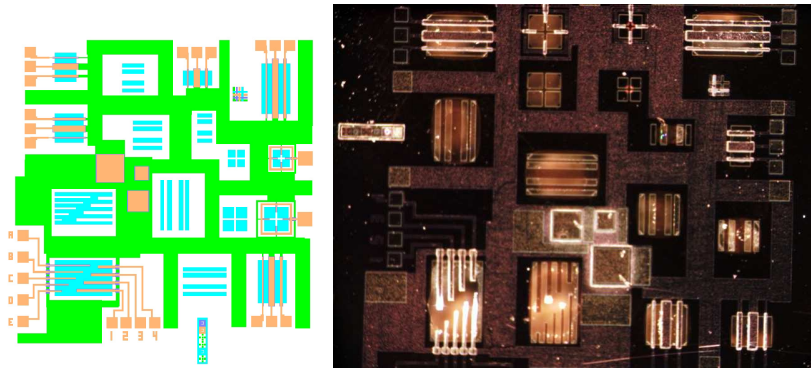


Fig. 2.18 : Masques pour la réalisation de la deuxième génération de structures. Autres types de dispositifs : leviers et ponts avec et sans actionnement intégré.

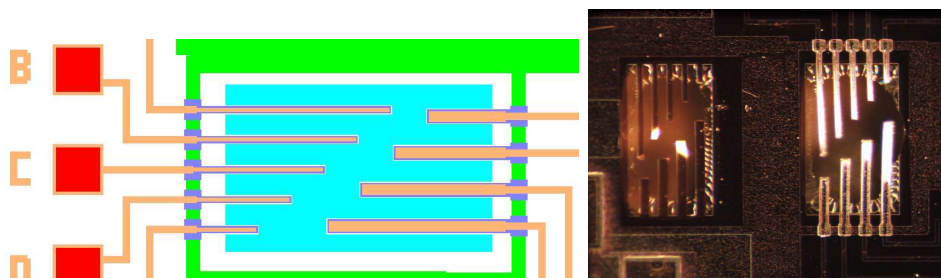


Fig. 2.19 : Masques pour la réalisation de la deuxième génération de structures. Autres types de dispositifs : détails des leviers avec actionnement intégré.

2.2.3.3 Commentaires

Sur les figures 2.14, 2.15, 2.18, 2.19 et 2.20, nous pouvons voir le masque et le résultat de chaque type de structure. Les membranes sont pour cette deuxième génération, toutes

¹⁰polydiméthylsiloxane

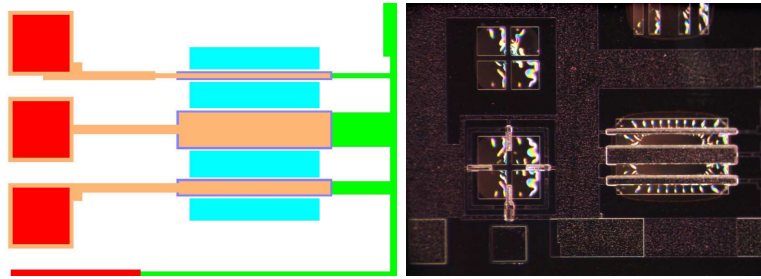
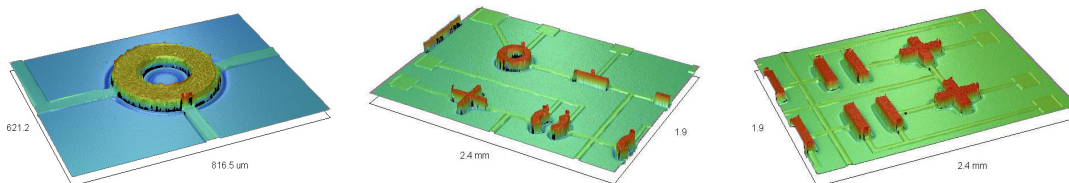


Fig. 2.20 : Masques pour la réalisation de la deuxième génération de structures. Autres types de dispositifs : détails des ponts avec actionnement intégré.

de la même dimension ($300\mu\text{m}$ de côté ou diamètre). Les dimensions de 300 à $600\mu\text{m}$ de la première génération posaient le problème de la non simultanée de la fin de gravure de chaque dimension. Ici, ce problème ne se posera plus pour les membranes, seules les ouvertures des structures de type ponts ou leviers étant plus grandes, seront un peu surgravées.

Nous pouvons voir sur les photographies 2.19 et 2.20 que le film d'oxyde enterré, qui est gravé en RIE n'est pas non plus attaqué en totalité, pourtant la durée de la gravure (50min) est largement suffisante pour graver $1\mu\text{m}$ en surface. Dans notre cas, l'oxyde étant accessible seulement au fond de la cavité, le plasma n'a pas la même réactivité, et nous pouvons nettement voir les effets de bords dus aux parois verticales de la cavité.

Sur les topographies de la figure 2.21, nous pouvons mesurer les diverses épaisseurs des métallisations et du PZT. Les métallisations sont d'une épaisseur de 110nm pour l'électrode inférieure et 130nm pour l'électrode supérieure. L'épaisseur totale est de 850nm soit pour le PZT une épaisseur de 615nm . Cette épaisseur est plus faible que pour la première génération de membrane, car nous voulions diminuer la masse globale du système. Ces 600nm ramènent l'épaisseur de PZT à environ un tiers de l'épaisseur totale de la membrane.



(a) Actionneur en anneau sur membrane circulaire (b) Autres formes d'actionneurs sur membrane circulaire (c) Divers actionneurs sur membranes carrées

Fig. 2.21 : Mesures de topographies avant dépôt d'oxyde et gravure des membranes.

La figure 2.22 présente une topographie des ponts mesurée par profilométrie optique après libération.

Voyons les problèmes technologiques restant à résoudre. Tout d'abord, la résistance parallèle vue aux bornes du PZT est trop faible, elle peut aller jusqu'à moins de 50Ω . Ce problème de résistance de fuite, généré aux joints de grains, peut être diminué en augmentant l'épaisseur du film de PZT. Cette résistance parallèle nous empêche de travailler en mode piézoélectrique direct, en d'autres termes, il ne nous permet pas de travailler en capteur.

Même si nous avons diminué, par la géométrie des actionneurs, les déformations dues à cette couche de PZT, il serait intéressant de diminuer encore les contraintes globales, en compensant avec des matériaux en compression, tels que l'oxyde de silicium. Pour aller dans ce sens nous avons inséré le film d'oxyde servant à la passivation des structures, il

serait avantageux d'augmenter l'épaisseur de ce film.

Le dernier défaut de cette fabrication vient du fait que la première photolithographie n'est pas réalisée au LAAS. L'équipement de l'équipe MIMM de Maubeuge ne permet pas un positionnement centré du premier niveau de masque sur la plaquette. Une incapacité à réaliser l'alignement face arrière pour la libération des structures peut résulter de cette excentration. En effet, la MA150 utilisée pour cet alignement, possède deux fenêtres de seulement 2cm de côté de part et d'autre de la plaquette pour visualiser les motifs d'alignement. Si au premier niveau, le positionnement est trop décentré, l'alignement face arrière ne sera pas possible.

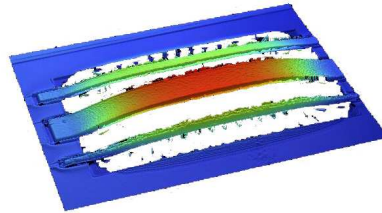


Fig. 2.22 : Mesures de topographies de ponts de $700\mu\text{m}$ de long et 30, 50 et $100\mu\text{m}$ de large.

2.3 Conclusion

Nous venons de montrer comment, en partant d'un matériau piézoélectrique et de son mode de dépôt choisi — le PZT déposé par pulvérisation RF magnétron — nous avons pu procéder à son intégration dans le procédé de fabrication de microstructures.

Dans un premier temps, nous avons essayé de fabriquer des leviers afin de caractériser facilement les propriétés du matériau. Face aux difficultés rencontrées lors de leur fabrication, nous nous sommes recentrés vers la fabrication de membranes, nécessaires pour l'application biocapteur grâce à leur grande souplesse d'utilisation vis-à-vis des protocoles biologiques.

Deux générations de membranes ont été réalisées, la première sur des SOI $15\mu\text{m}$ puis $5\mu\text{m}$ et la deuxième sur des SOI $1,3\mu\text{m}$. La première génération plus simple présentait de grandes capacités de ligne, la seconde nous a permis une plus grande liberté sur la géométrie des électrodes. La maturité de ce dernier procédé de fabrication nous a permis également de fabriquer d'autres types de structures comme des leviers et des ponts.

Nous allons maintenant voir comment nous allons extraire les propriétés piézoélectriques du PZT ainsi déposé sur nos dispositifs afin de pouvoir conclure sur la bonne qualité de l'intégration du matériau. Pour cela, nous montrerons comment il est assez facile de les extraire à partir de microleviers, puis nous montrerons comment nous nous approchons de ces paramètres pour des membranes.

La suite de l'étude portera sur le comportement dynamique des membranes dans le but de mieux l'appliquer à la détection biologique envisagée. Nous étudierons les modes de résonance, et l'influence de la tension de polarisation du PZT sur les divers paramètres d'oscillation de la structure.

CHAPITRE 3

Caractérisations électromécaniques

Sommaire

| | | |
|------------|---|-----------|
| 3.1 | Mesure des propriétés piézoélectriques, introduction | 52 |
| 3.1.1 | Effet inverse, effet direct | 55 |
| 3.1.2 | Présentation du dispositif expérimental | 56 |
| 3.2 | Extraction du d_{31} | 56 |
| 3.2.1 | Cas des microleviers | 56 |
| 3.2.2 | Cas des membranes | 59 |
| 3.2.2.1 | Profilométrie | 59 |
| 3.2.2.2 | Calcul du coefficient | 61 |
| 3.2.2.3 | Commentaires et discussion | 61 |
| 3.3 | Comportement fréquentiel de membranes | 65 |
| 3.3.1 | Modélisation analytique | 65 |
| 3.3.1.1 | Membrane circulaire | 65 |
| 3.3.1.2 | Membrane carrée | 67 |
| 3.3.2 | Mesures dynamiques | 70 |
| 3.3.2.1 | Visualisation et mesure des modes de résonance | 71 |
| 3.3.2.2 | Influence de la tension d'excitation sur la réponse dynamique | 72 |
| 3.4 | Conclusion | 76 |

3.1 Mesure des propriétés piézoélectriques, introduction

NOUS VENONS DE VOIR l'évolution des procédés de fabrication et leur déroulement. Une fois les dispositifs réalisés, il nous faut caractériser le comportement piézoélectrique du PZT et caractériser le comportement mécanique des structures. Nous allons voir dans un premier temps la caractérisation piézoélectrique à travers l'utilisation de microleviers puis de membranes. Nous verrons ensuite une étude du comportement dynamique des membranes, par une modélisation fréquentielle des résonances ainsi que les mesures associées. Pour poursuivre cette étude, nous verrons l'influence de la tension de polarisation du film piézoélectrique sur l'actionnement et les résonances, et enfin nous aborderons l'incidence du positionnement de l'électrode sur les modes de résonance et quelques non-linéarités rencontrées.

La caractérisation piézoélectrique des films minces est autrement moins aisée que celles des matériaux massifs. La structure composite (substrat-film) est à l'origine de ces difficultés [1]. En effet, la présence du substrat va engendrer des modifications du matériau déposé en film mince. Ce dernier se comportera dès lors différemment du matériau équivalent sous forme massive. La méconnaissance des propriétés intrinsèques (compliance, coefficient de raideur. . .) du matériau en film mince est un autre handicap majeur.

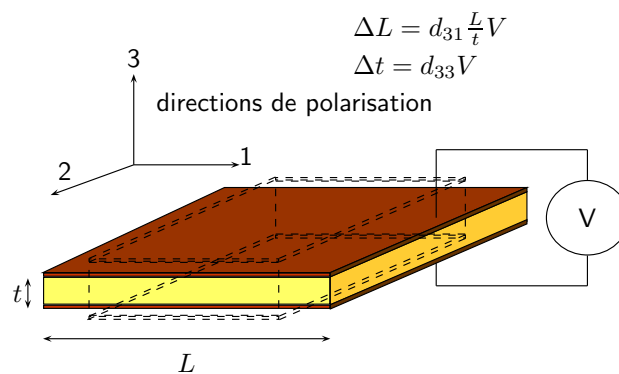


Fig. 3.1 : Actionnement piézoélectrique, relations entre les dimensions et les coefficients piézoélectriques

Les différents coefficients piézoélectriques (d_{31} et d_{33} , ou e_{31} et e_{33} que nous définissons dans l'encadré page 53) mesurés sur des films minces de PZT, ou autres, ne correspondent pas aux valeurs mesurées sur le matériau massif correspondant. Les coefficients d_{31} et d_{33} correspondent aux coefficients d'électrostriction, c'est-à-dire qu'ils traduisent la capacité du matériau à se déformer sous l'effet du champ électrique. Respectivement d_{31} et d_{33} correspondent à la déformation perpendiculaire au champ (transversale) et parallèle (ou longitudinale) cf fig.3.1.

La caractérisation piézoélectrique peut exploiter soit l'effet piézoélectrique direct soit l'effet inverse. Nous utiliserons l'effet inverse dans le cas de l'actionnement des dispositifs, et l'effet direct sera utilisé dans le cadre de capteurs.

Loi de Hooke

Abordons la loi de base des matériaux, la loi de Hooke. Cette loi relie pour un solide élastique la déformation ($S_{kl} = \partial u_i / \partial x_k$) à la contrainte (T) [2, 3] :

$$T_{ij} = c_{ijkl} S_{kl} \quad (3.1)$$

$$S_{ij} = s_{ijkl} T_{kl} \quad (3.2)$$

avec c et s respectivement le tenseur de rigidité élastique et son inverse le tenseur de flexibilité (ou compliance). Du fait des symétries ($T_{ij} = T_{ji}$ et $S_{kl} = S_{lk}$) on peut poser α et β variant de 1 à 6, d'où l'utilisation dans la suite de $c_{\alpha\beta}$. Nous pouvons alors définir le module de Young et le coefficient de Poisson d'un matériau isotrope comme :

$$E = c_{11} - \frac{2c_{12}^2}{c_{11} + c_{12}} \quad (3.3)$$

$$\nu = \frac{c_{12}}{c_{11} + c_{12}} \quad (3.4)$$

Pour un matériau piézoélectrique, la loi précédente n'est plus valable. L'ajout de l'effet piézoélectrique reliant le champ électrique à la déformation et la contrainte, nous donne la loi de Hooke généralisée (ici E_i correspond au champ électrique dans la direction i) :

$$T_\alpha = c_{\alpha\beta}^E S_\beta - e_{i\alpha} E_i \quad (3.5)$$

$$S_\alpha = s_{\alpha\beta}^E T_\beta - d_{i\alpha} E_i \quad (3.6)$$

avec $c_{\alpha\beta}^E = \left(\frac{\partial T}{\partial S} \right)_E$ à champ électrique E constant. Ici aussi des considérations de symétries ($e_{jkl} = e_{jlk}$) nous poussent à écrire le tenseur piézoélectrique de la forme $e_{j\alpha}$, de même pour $d_{i\alpha}$.

| Méthode | Principe / mode opératoire | Résolution / Fiabilité | Avantages / inconvénients | Réf. |
|--|--|--|---|-----------|
| Pression normale | Effet piézo direct : charge induite par force. Mesure directe /avec contact | $\pm 20 \text{pCN}^{-1}$, faible | Direct et simple, Données efficaces et avec encastrement, faible résolution | [4] |
| Microlevier | Effet piézo direct : charge ou tension induite par la déformation. Mesure directe /contact doux, e_{31} dynamique | $\pm 0.6 \text{Cm}^{-1}$, moyenne | simple et direct, bonne sensibilité, erreur due à la flexion, supposition de contrainte uniforme | [5, 6, 7] |
| Anneau à pression pneumatique | Effet piézo direct : charge induite par une force. Mesure directe /sans contact, d_{31} et d_{33} statique et dynamique | $\pm 5 \text{pCN}^{-1}$, moyenne | Simple et direct, bonne fiabilité des données, résolution relativement basse | [8, 9] |
| Interférométrie optique à simple faisceau | Effet piézo inverse : déplacement induit par un champ. Mesure directe /sans contact, d_{33} dynamique. | 10^{-1}nm (déplacement), 0.1pCN^{-1} , haute | Direct, résolution extrêmement bonne, Données encastrees, Erreur due à la flexion du substrat | [10] |
| Interférométrie optique à double faisceau | Effet piézo inverse : déplacement induit par un champ. Mesure directe /sans contact, d_{33} dynamique. | $10^{-1}-10^{-3} \text{nm}$ (déplacement), 0.1pCN^{-1} , haute | Direct, résolution extrêmement bonne, Données avec encastrement | [11, 12] |
| Microlevier | Effet piézo indirect : déformation du levier par le déplacement du point de contact avec le matériau sur lequel on applique une tension. Mesure indirecte /contact doux, d_{33} statique | $\pm 5 \text{pCN}^{-1}$, bonne | bonne sensibilité, nécessite une calibration de la déflexion | [13, 14] |
| Ondes acoustiques de volume, impédance et pertes en réflexion | Effet piézo direct : signal induit par des vibrations ultrasoniques. Mesure indirecte /sans contact, d_{33} dynamique | N.C., faible | Relativement basse résolution, faible fiabilité, dépendant de la fréquence et de la géométrie, Effet des électrodes | |
| Ondes acoustiques de surface, impédance et pertes en réflexion | Effet piézo direct : signal induit par des vibrations ultrasoniques. Mesure indirecte /sans contact, d_{31} dynamique | N.C., faible | Relativement basse résolution, faible fiabilité, dépendant de la fréquence et de la géométrie, Effet des électrodes | |

Tab. 3.1 : Etat de l'art des différentes techniques de mesure des coefficients piézoélectriques [15].

Nous allons maintenant faire une brève revue des méthodes de détermination des coefficients piézoélectriques. Contrairement aux caractérisations diélectriques qui utilisent des montages et des appareillages électroniques standards, les caractérisations piézoélectriques font appel à une grande variété de systèmes de mesure, y compris des mesures mécaniques.

3.1.1 Effet inverse, effet direct

L'utilisation de l'effet inverse sous-entend la mesure d'un déplacement ou d'une déformation sous l'effet d'un champ électrique appliqué. Dans le cas des couches minces, les déplacements à mesurer varient de l'ångström à quelques nanomètres.

Des méthodes de détermination optique du d_{33} existent soit par simple interférométrie type Michelson ou par double faisceau (montage du type Mach-Zehnder) qui permet de s'affranchir de la flexion du substrat sur lequel est déposé le film mince ; la précision est alors de l'ordre de 10^{-3} nm. Les valeurs maximales de d_{33} mesurées pour des films minces de PZT varient de 50 à 100pm/V.

J.T. Dawley et al.[16] mesurent quant à eux des déplacements avec une précision de l'ordre du dixième de nanomètre à l'aide d'un produit commercial, le MTI-Fotonic sensor basé sur l'émission réception de fibres optiques.

J.A. Christman et al. présentent une méthode de détermination du d_{33} dans laquelle la mesure de déplacement est effectuée par un microscope à force atomique [13], c'est-à-dire par déflexion optique. J. Chu et al. utilisent le même type de montage[14], les déplacements piézoélectriques du film mince sont enregistrés par un microlevier lui-même piézoélectrique, en regardant la variation du courant image de l'amplitude de l'oscillation du levier à sa résonance. Les valeurs de d_{33} maximales relevées varient de 85 à 100pm/V avec une précision de l'ordre de 10%.

Ces montages sont dans l'ensemble très performants, mais ils nécessitent un matériel important et une mise en œuvre lourde et complexe.

L'utilisation de l'effet piézoélectrique direct nécessite quant à elle la mesure de charges ou de variations de charges sous l'effet d'une contrainte appliquée. La mesure ne concerne donc plus un déplacement mais une tension ou un courant. Les mesures par effet direct sont limitées à de faibles fréquences de quelques centaines de hertz et nécessitent souvent des forces appliquées significatives.

K. Lefki et al. proposent une méthode simple pour le calcul du coefficient d_{33} [4]. Par le biais d'une pointe conductrice, ils appliquent une force connue au film de PZT. Cette méthode est analogue à l'appareil Berlincourt Meter pour la mesure du d_{33} sur les matériaux massifs. Les charges électriques qui apparaissent sont alors mesurées sous la forme d'une tension aux bornes d'un condensateur branché en parallèle avec le ferroélectrique. Les valeurs mesurées pour les films de PZT oscillent entre 35 et 400pm/V.

J.F. Shepard et al. utilisent quant à eux une chambre cylindrique dans laquelle la plaquette à caractériser est soumise à une pression uniforme et connue [8]. Cette méthode permet le calcul du coefficient d_{31} , qui varie entre 36 et 46pm/V pour des films de PZT. F. Xu et al. ont repris ce montage et l'ont adapté pour le calcul du coefficient d_{33} [9].

Une autre méthode simple a été initiée par J.L. Deschanvres et al. pour l'évaluation des propriétés piézoélectriques du *ZnO* en films minces [5] par l'intermédiaire d'un microlevier. Ce montage a également été repris et amélioré par d'autres équipes [6, 7].

D'autres méthodes de mesures indirectes de l'effet piézoélectrique direct en utilisant des capteurs à ondes de surface ou de volumes — par l'analyse de l'impédance et des pertes en réflexions — ont aussi été proposées.

Nous nous reporterons au tableau 3.1 pour un comparatif des différentes techniques de détermination des coefficients piézoélectriques. Nous avons privilégié l'effet piézoélectrique inverse du type microlevier, nous mesurerons alors le d_{31} et pas le d_{33} .

3.1.2 Présentation du dispositif expérimental

Dans notre démarche, nous allons regarder comment extraire les propriétés piézoélectriques en mesurant l'effet inverse, c'est-à-dire en mesurant la déformation des structures par l'application d'un champ électrique. Pour mesurer ces déformations nous utiliserons une méthode d'imagerie 3D plein champ. Cette technique est basée sur de la microscopie optique interférométrique à décalage de phase¹ avec utilisation de lumière blanche ou monochrome (cf fig.3.2).

Une évolution de la méthode d'imagerie interférométrique permet d'obtenir une enveloppe de la forme de la structure en résonance. Le principe est le même que pour l'imagerie statique sauf que l'éclairage de la structure est stroboscopique à la fréquence d'oscillation de celle-ci. On réalise alors deux images, une, lorsque la structure est au plus haut de sa vibration, l'autre, quand elle est au plus bas (décalage de 180°). En réalisant la soustraction de ces deux images, on obtient la forme de la déformée dynamique ôtée de la déformée statique commune aux deux images.

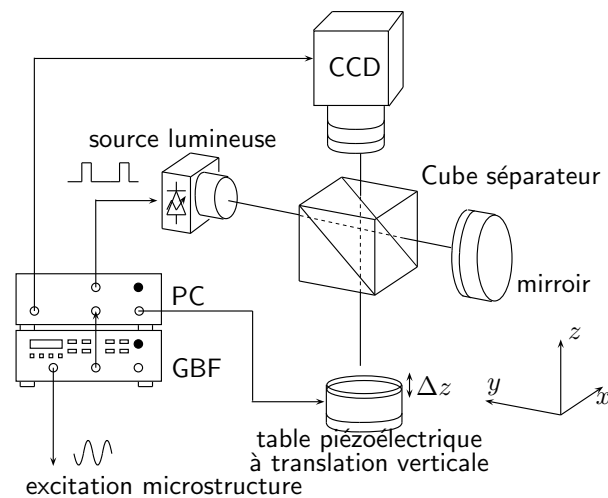


Fig. 3.2 : Schéma de fonctionnement de l'interférométrie optique pour la topographie 3D plein champ.

Nous mesurerons aussi les fréquences de résonance de nos structures par la méthode de déflexion de faisceau laser. Cette méthode est ponctuelle du fait de la focalisation d'un faisceau laser fixe, elle ne permet donc de mesurer qu'un spectre fréquentiel d'oscillation. Nous pouvons voir figure 3.3 le dispositif expérimental de ce type de mesure. L'oscillation de la structure modifie l'angle de réflexion du faisceau laser, induisant une variation de position sur la photodiode 4 cadrans.

3.2 Extraction du d_{31}

3.2.1 Cas des microleviers

Nous allons, à partir d'équations simples, extraire le coefficient piézoélectrique à partir de la mesure de la courbure du levier. Toutefois, le levier étant une structure multicouches, nous allons en extraire la rigidité flexionnelle via la mesure de la fréquence de résonance.

Partons du comportement simple d'un levier de largeur b , et regardons quelle force F résulte de l'électrostriction transversale sous une tension V . Nous avons alors l'équation

¹voir aussi Fogale Nanotech : <http://www.fogale.fr>

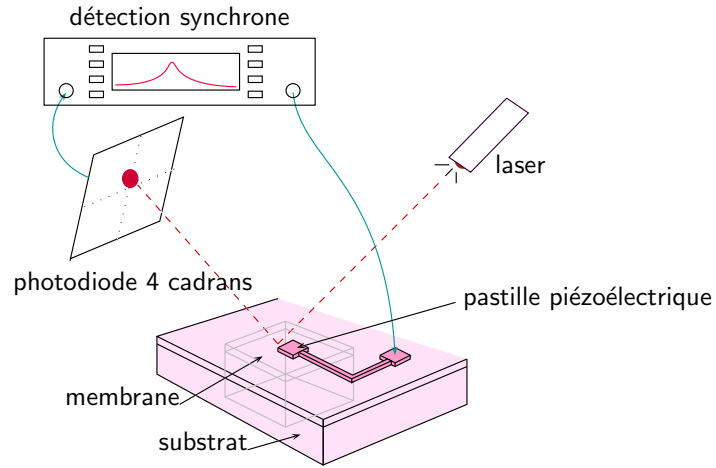


Fig. 3.3 : Schéma de fonctionnement du banc de déflexion de faisceau laser.

suivante² :

$$F = \frac{d_{31} b}{s_{11}^E} V \quad (3.7)$$

Il apparaît alors un moment M à l'extrémité du levier [18, page 40]

$$M = F z_n \quad (3.8)$$

avec z_n la distance à l'axe neutre. Or la courbure κ du levier peut s'écrire :

$$\kappa = \frac{1}{R} = \frac{M}{EI} \quad (3.9)$$

où R est le rayon de courbure, E le module de Young et I le moment d'inertie de la section du levier et z_n vérifie l'équation :

$$\int_0^h \frac{E(z)(z - z_n)}{1 - \nu(z)^2} dz = 0 \quad (3.10)$$

avec h correspondant à l'épaisseur totale du levier.

En utilisant les trois équations précédentes, on peut enfin exprimer le coefficient d_{31} :

$$d_{31} = \frac{\kappa s_{11}^E}{V b z_n} EI \quad (3.11)$$

Nous avons donc ici la relation entre le coefficient piézoélectrique, la tension appliquée et la forme du levier par l'intermédiaire de κ . Pour mesurer ce coefficient, il est donc nécessaire de mesurer la courbure et de connaître la rigidité flexionnelle EI . Ce produit EI peut être complexe à calculer pour un levier multicouches, et l'imprécision sur les modules d'Young des matériaux induirait des erreurs dans l'estimation de cette rigidité.

Nous allons alors extraire de la mesure de la fréquence de résonance, une rigidité équivalente notée \widetilde{EI} . La fréquence de résonance, nous l'avons vu avec l'équation 1.11, peut être aussi écrite de la forme pour un levier multicouches :

$$f_0 = \frac{1,875^2}{2\pi} \frac{1}{L^2} \sqrt{\frac{\widetilde{EI}}{\sum_i \rho_i S_i}} \quad (3.12)$$

² s_{11}^E est défini dans l'encadré page 53, et les directions 1,2 et 3 sont indiquées sur le schéma figure 3.1 page 52

avec L la longueur du levier et S_i et ρ_i respectivement les sections et les masses volumiques de chaque matériau constituant chaque couche du levier. D'où l'extraction de la rigidité flexionnelle \widetilde{EI} équivalente :

$$\widetilde{EI} = \sum_i \rho_i S_i f_0^2 \frac{(2\pi)^2}{1,875^4} L^4 \quad (3.13)$$

Passons à l'application numérique. En pratique, nous mesurons la fréquence de résonance qui nous donne accès à la rigidité (\widetilde{EI}). On injecte cette rigidité dans la formule 3.11 en ayant mesuré la courbure du levier. Nous avons pris la courbure du levier égale à deux fois la valeur du coefficient correspondant au second ordre de l'approximation de la déformée du levier par une parabole ($\kappa = 2a$ avec $y = ax^2 + bx + c$), cette déformée étant obtenue par une mesure interférométrique au profilomètre optique. Nous pouvons voir en figure 3.4 la flexion d'un levier de $500\mu\text{m}$ de longueur pour une tension de 5V appliquée. C'est de ce type de courbe dont nous avons extrait les courbures κ . Un effet de contrainte résiduel dans le levier induisant une courbure au repos, nous avons effectué une mesure différentielle de la courbure sous l'effet d'une tension de polarisation par rapport à cette courbure initiale.

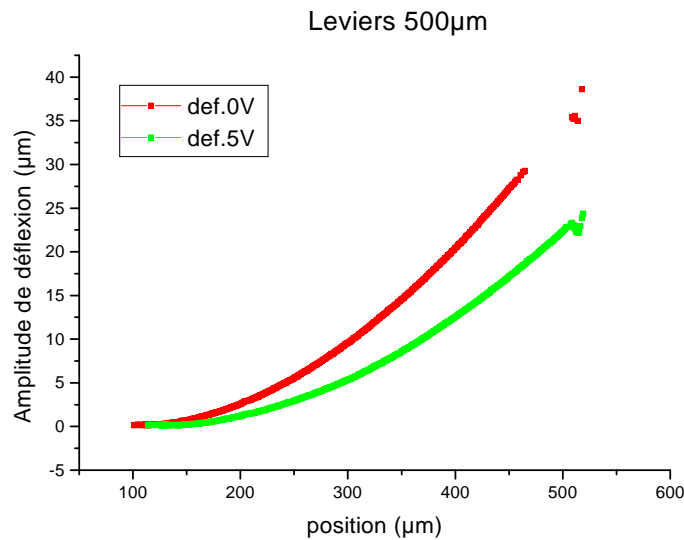


Fig. 3.4 : Mesure de la forme de la déflexion d'un levier de $500\mu\text{m}$ de longueur. Ici on mesure $15\mu\text{m}$ de déflexion entre 0V et 5V de tension de polarisation.

Ainsi, pour un levier dont les dimensions sont $50 \times 500\mu\text{m}$, on mesure une fréquence de résonance de $7,77\text{kHz}$, ce qui donne $\widetilde{EI} = 1,82 \cdot 10^{-11} \text{ N.m}^2$, on en déduit ainsi le tableau suivant pour chaque valeur de tension :

| V (V) | κ (m^{-1}) | d_{31} (pm.V^{-1}) |
|---------|------------------------------|---------------------------------|
| -1 | 376,0 | 66,4 |
| -2 | 349,0 | 62,0 |
| -3,5 | 325,0 | 50,0 |
| -5 | 291,4 | 49,3 |

Ces valeurs de d_{31} sont conformes à ce que nous attendions, ceci valide donc notre approche. Comme nous le verrons sur les figures 3.11 et 3.10 (page 63), le coefficient d_{31} dépendant de la valeur de la tension de polarisation [19], deux zones sont à distinguer : la première autour de 0V, est une zone où le coefficient varie linéairement avec la tension. La

seconde zone correspond à des valeurs de tension plus élevées pour lesquelles on observe une saturation du d_{31} . Dans le tableau précédent, nous remarquons une baisse du d_{31} en fonction de la tension appliquée, ceci est dû au fait que nous nous trouvons dans la zone de saturation du d_{31} . Le sens de parcours (nous diminuons la tension en provenance d'une tension de +5V) et l'hystérésis font qu'à -1V nous nous retrouvons déjà dans la zone de saturation.

3.2.2 Cas des membranes

3.2.2.1 Profilométrie

Nous avons déterminé, à partir de profilométries de structures, le coefficient piézoélectrique d_{31} du PZT. Nous l'avons vu, il est possible d'extraire ce coefficient piézoélectrique par l'exploitation de l'effet piézoélectrique inverse sur les microleviers. Les topographies mesurant les déformations dues à l'action du champ électrique et l'effet piézoélectrique nous permettent également pour une membrane de trouver le coefficient piézoélectrique d_{31} . Grâce à la relation proposée par Steel et al [20], nous pouvons relier la topographie — par l'extraction de la courbure κ de la membrane à l'emplacement du film piézoélectrique — au coefficient d_{31} pour une tension appliquée V :

$$d_{31} = \frac{1}{2} \frac{\Delta\kappa}{\Delta V} h_{PZT}^2 \frac{1 + k^2 r^4 + 2k(2r + 3r^2 + 2r^3)}{3kr(1 + r)} \quad (3.14)$$

avec $\Delta\kappa$ la variation entre la courbure au repos κ_0 et la courbure κ pour une tension de polarisation donnée; ΔV la variation de tension de polarisation, $k = E_{Si}/E_{PZT}$ et $r = h_{Si}/h_{PZT}$. E_{Si} , E_{PZT} sont respectivement le module de Young du silicium et du PZT, et h_{Si} et h_{PZT} leur épaisseur.

Cette équation suppose des conditions aux limites libres, donc une relaxation des contraintes. Dans notre cas, la structure de type membrane ne permet pas de considérer cette hypothèse comme vérifiée. Cependant, nous allons voir comment nous pouvons accéder à une bonne approximation de la valeur du d_{31} [21], sans avoir recours à des structures spécifiques dédiées à l'extraction des paramètres piézoélectriques tels que des leviers.

Regardons en premier lieu l'influence de la polarisation électrique sur la déformation statique de nos structures. Nous avons tout d'abord étudié des membranes de première génération. Les profils en trois dimensions de la déformation statique ont été mesurés par interférométrie optique. Deux appareils ont été utilisés. Le premier, développé par Sylvain Petitgrand et Alain Bosseboeuf à l'IEF³ et maintenant commercialisé par Fogale, permet à la fois de faire des topographies statiques ou dynamiques, c'est-à-dire à une fréquence de résonance de la membrane (en réalité à n'importe quelle fréquence). Le deuxième est le produit commercialisé par Veeco sous le nom de Wyko NT3000, qui ne permet qu'une analyse statique de la déformation. Un exemple de topographies issues d'un de ces appareils est visible figure 3.5.

Expliquons le déroulement du raisonnement pour arriver à la détermination du coefficient piézoélectrique d_{31} .

Si nous regardons, figures 3.6 et 3.7, l'évolution des coupes transversales réalisées sur ces topographies en fonction du champ électrique dans la couche piézoélectrique, nous pouvons voir nettement l'effet global de la contraction du film piézoélectrique sur l'ensemble de la membrane. Sur ces images, la marche due à l'électrode supérieure et le PZT n'est pas représentée. Ce phénomène est dû à la méthode de mesure en lumière monochromatique et de l'algorithme de reconstruction qui ne permettent pas de reconstituer les discontinuités supérieures à $\lambda/4$ et cette condition n'est pas vérifiée aux frontières de l'électrode

³Institut d'Électronique Fondamentale, Université Paris Sud, Orsay

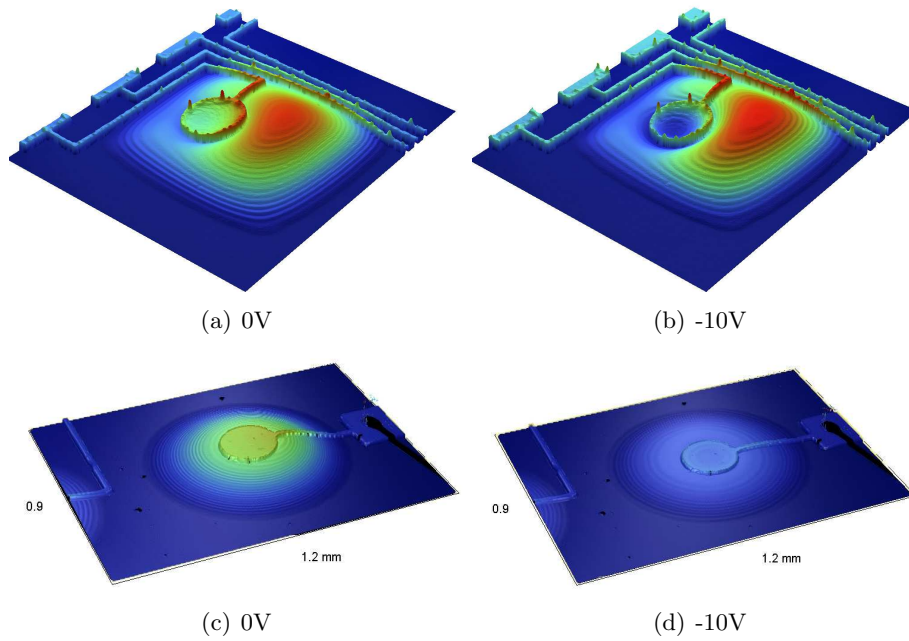


Fig. 3.5 : Mesures des topographies statiques de membranes. En a) et c) au repos (0V), et en b) et d) on applique -10V

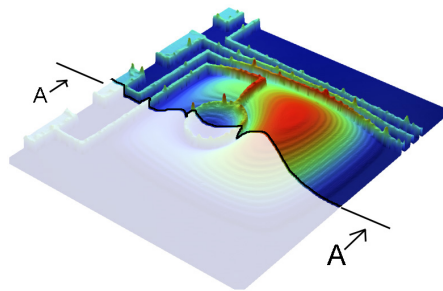


Fig. 3.6 : Schématisation des coupes suivant A-A visibles en figure 3.7.

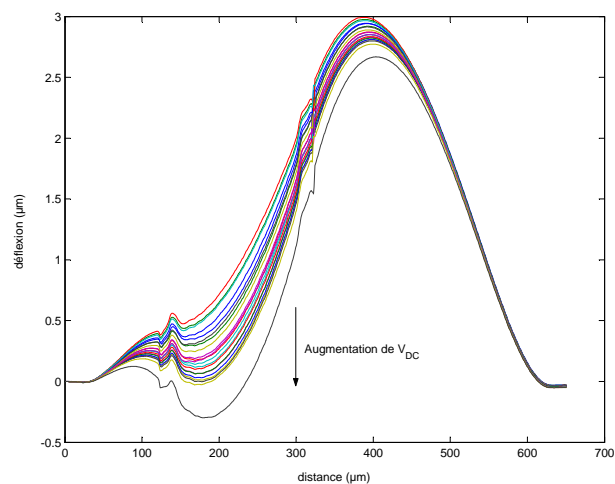


Fig. 3.7 : Coupes des topographies statiques de la fig.3.5 pour différentes valeurs de tension de polarisation.

supérieure. Cependant, cet artefact ne posera pas de problème dans la détermination du coefficient piézoélectrique. Nous avons pu le vérifier en confrontant ces résultats à des mesures en lumière blanche. Nous pouvons remarquer de ces mesures que plus la tension augmente, plus la membrane a tendance à s'abaisser.

A partir de ces mesures absolues, regardons seulement les variations relatives en soustrayant à toutes les topographies la topographie initiale sans champ électrique (figure 3.8). On voit alors nettement la déformation due à la pastille piézoélectrique. Ces déformations relatives vont nous permettre d'estimer, pour chaque valeur du champ électrique, la valeur du coefficient d_{31} .

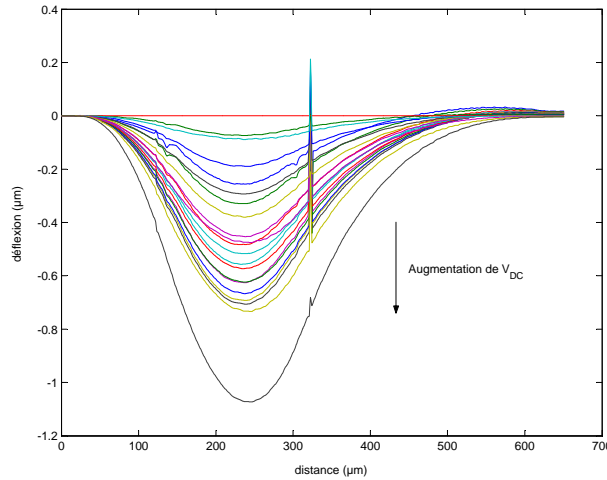


Fig. 3.8 : Coupes des topographies statiques auxquelles on a soustrait la topographie au repos, pour différentes valeurs de tension de polarisation.

3.2.2.2 Calcul du coefficient

En utilisant l'équation 3.14 et des coupes des topographies statiques obtenues à différentes tensions de polarisation, nous avons pu procéder à l'extraction du coefficient d_{31} . Cependant, plutôt que de mesurer des déplacements aux extrémités de la pastille, il était plus aisé, et plus logique de mesurer le rayon de courbure sous le matériau piézoélectrique. De plus, la mesure du rayon de courbure permet de s'affranchir de mesures de longueurs, seules les épaisseurs sont nécessaires.

Pour calculer les courbures κ en fonction du champ DC appliqué, nous avons effectué une interpolation de la zone active de la membrane — c'est-à-dire sous la pastille piézoélectrique — avec une parabole d'équation $ax^2 + bx + c$. Comme la courbure κ (le rayon de courbure étant l'inverse de la courbure) est égale à la dérivée seconde, nous avons directement $\kappa = 2a$. Ces valeurs de courbures sont visualisées sur la figure 3.9.

Soulignons que seules les variations de la courbure ($\Delta\kappa = \kappa_0 - \kappa$) avec le champ électrique sont nécessaires pour le calcul de l'équation 3.14. Ainsi, nous aurions pu choisir tout autre profil (ou aucun) comme référence lors de la soustraction du profil au repos. A partir de la figure 3.9 nous exportons enfin $\Delta\kappa$ et ΔV afin de déterminer les variations du coefficient d_{31} . Ici, nous avons pris comme valeur de $E_{PZT} \approx 80\text{GPa}$, c'est-à-dire que nous considérons $k = E_{Si}/E_{PZT} \approx 2$.

3.2.2.3 Commentaires et discussion

Commentaires

Cette méthode utilisée pour mesurer le coefficient d_{31} est purement statique et les résultats que nous pouvons en tirer sont sûrement sous-estimés du fait de l'effet de l'en-

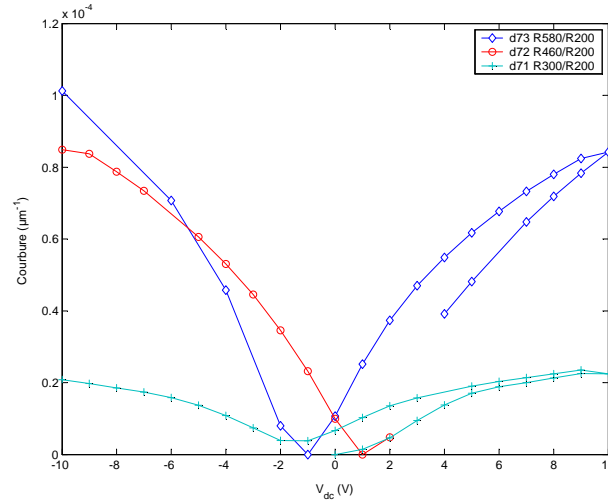


Fig. 3.9 : Extraction de la courbure pour des membranes de 300-460-580 μm de diamètre pour un diamètre de pastille de 200 μm .

castrement à la circonférence de la membrane. Toutefois en utilisant cette méthode nous obtenons des valeurs de d_{31} d'environ 40pm/V, ce qui est en conformité avec des résultats de la littérature (par exemple [22, 23]). Nous pouvons voir sur la figure 3.10, cette membrane dont l'actionnement est centré cette fois-ci. Nous pouvons voir ici des courbes de courbure et du d_{31} parfaitement représentative de leur évolution en fonction de la tension de polarisation [24].

Dans cette méthode, le calcul est basé sur des conditions aux limites de bords libres, hypothèse qui n'est pas vérifiée dans notre cas. Nous présentons sur la figure 3.11, les valeurs de d_{31} obtenues en utilisant la méthode développée par Steel et al. Comme nous pouvons le voir, même si ces valeurs sont comprises entre 50 et 150pm/V et restent comparables avec les résultats déjà publiés, elles varient en fonction du diamètre des membranes. Ces résultats montrant les variations du coefficient avec la taille de la membrane confirment l'influence de l'encastrement et de la rigidité de flexion de la membrane et traduisent les limites de notre approximation concernant les conditions aux limites.

De plus, dans notre cas nous sommes en présence d'une flexion des structures due à la fois à un gradient de contrainte provenant des différentes couches, et à une contrainte moyenne compressive qui peut provoquer, nous le verrons, le flambement de la structure. Un calcul rapide de la contrainte critique de flambement [25] donne pour une membrane circulaire de rayon r et d'épaisseur h :

$$\sigma_{cr} = 14,68 \frac{D}{r^2} h$$

soit pour une membrane bicouche silicium-oxyde, de 600 μm de diamètre une contrainte moyenne résiduelle de -7MPa ou dans le film d'oxyde de -50MPa. Pour une même membrane de 300 μm de diamètre il faut alors -24MPa de contrainte moyenne résiduelle ou -200MPa dans l'oxyde. Ces calculs minorent la réalité car ils ne prennent pas en compte les couches métalliques en tension qui compensent la compression de l'oxyde. Nous sommes donc, pour les membranes de grande dimension, dans des plages de contraintes proches du flambement.

Pour prendre en compte l'effet de ces contraintes, comme nous l'avons fait avec les leviers, P. Muralt [26] utilise une mesure dynamique pour extraire la contrainte résiduelle afin de la réinjecter dans la formule de détermination statique du coefficient piézoélectrique. Sa méthode est plus appropriée pour déterminer ce coefficient, car il permet de prendre en compte l'effet réel de l'encastrement et des contraintes dans les films.

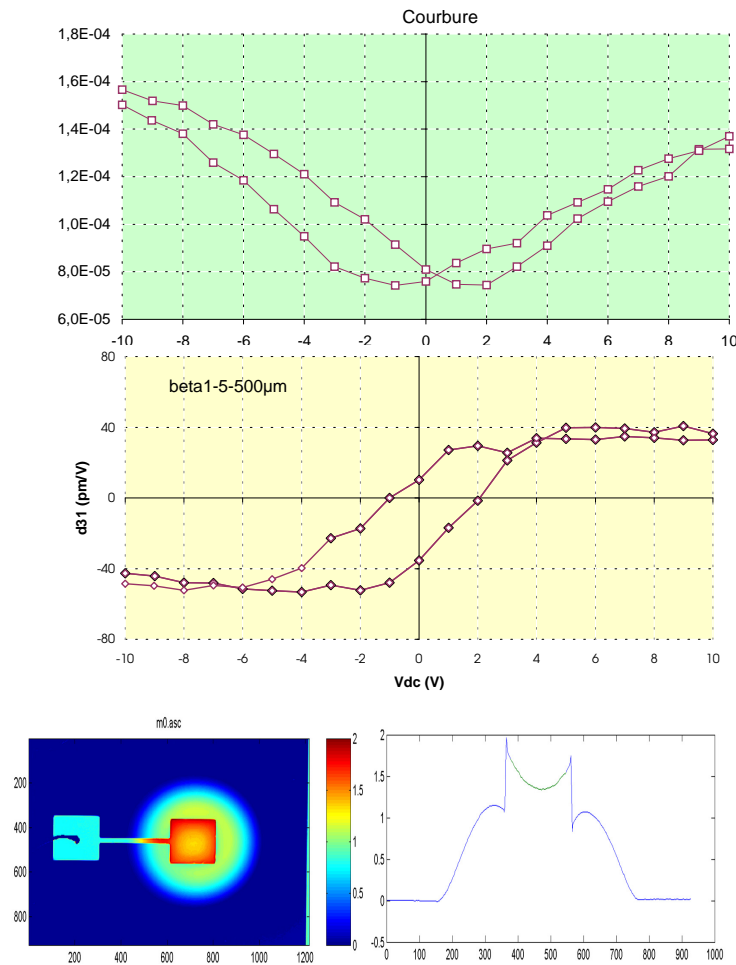


Fig. 3.10 : Extraction pour une membrane de $500\mu\text{m}$ de diamètre avec actionnement centré. Le profil visualisé en bas est réalisé au repos.

Nous sommes en effet en présence d'une membrane multicouches fortement contrainte (en flexion voire flambée) dont la géométrie de la couche piézoélectrique est à prendre en considération. Cependant, dans ce cas particulier, l'extraction du d_{31} grâce à cette méthode est loin d'être triviale. C'est pour ces raisons que nous n'avons pas développé cette approche pour nos dispositifs.

D'un point de vue purement piézoélectrique, Kholkin et al [24] expliquent la diminution du d_{31} à la saturation pour de grandes valeurs de champ électrique par la compétition entre la polarisation du matériau et sa permittivité diélectrique. Cet effet a aussi été observé par Roytburd [22] et Seungbum [27].

Une autre caractéristique intéressante est l'asymétrie avec le champ électrique, le coefficient étant plus élevé du côté des tensions de polarisation négatives. Ceci peut être expliqué par des variations d'efficacité de retournement des domaines ferroélectriques non orientés à 180° avec le champ électrique. En d'autres termes, ces domaines non orientés dans l'axe de la polarisation, n'ont pas la même capacité à se retourner selon que le champ est dans un sens ou dans l'autre.

Cas particuliers

Sur la figure suivante 3.12 nous pouvons voir un cas particulier où la membrane ne répond pas comme les autres. On peut s'apercevoir que le coefficient d_{31} devient linéaire,

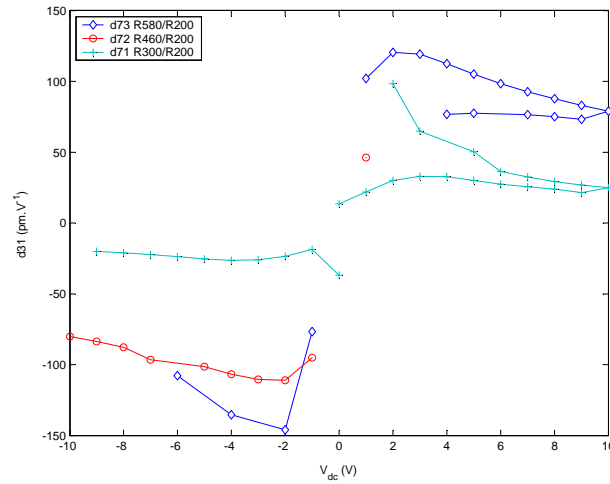


Fig. 3.11 : Calcul du d_{31} , extraction pour des membranes de 300-460-580 μm de diamètre pour un diamètre de pastille de 200 μm .

la courbure possède une forme inversée par rapport à la forme habituelle. Nous avons également observé le claquage électrique du film piézoélectrique lors de l'application d'une tension de polarisation de +10V.

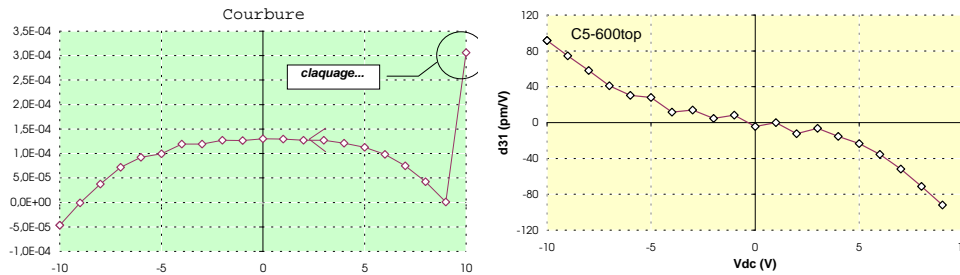


Fig. 3.12 : Cas particulier, pour une membrane de 600 μm de diamètre avant claquage

Enfin, un cas intéressant fut celui de la membrane visualisable figure 3.13. Au repos sa position d'équilibre était vers le bas et non vers le haut comme les autres et après quelques cycles d'hystéresis réalisés lentement, la membrane a basculé vers le haut sous fort champ (-10V). Après extinction de la tension, la membrane est revenue à sa position initiale. Ce phénomène confirme le fait que nous sommes en présence d'un gradient de contrainte et que nous pouvons arriver jusqu'à un régime de flambement de la membrane.

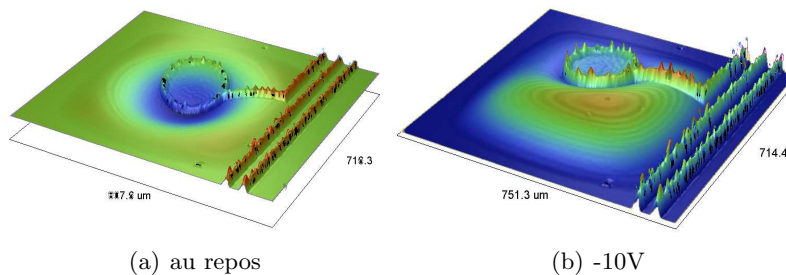


Fig. 3.13 : Passage d'un état de flambement à l'autre

Ces derniers résultats même s'ils ne sont pas représentatifs de l'ensemble de nos ob-

servations, montrent que la maîtrise technologique de notre procédé de fabrication n'est pas parfaite, tant d'un point de vue de l'élaboration des couches piézoélectriques (uniformité de l'épaisseur, joints de grains, contraintes résiduelles) que du point de vue de la conception et de la fabrication des structures micromécaniques (géométrie de la pastille piézoélectrique et positionnement par rapport à la structure, contraintes résiduelles).

3.3 Comportement fréquentiel de membranes

Nous avons vu que nous pouvions caractériser sous couvert d'hypothèses simplificatrices le film piézoélectrique intégré sur nos structures. Les valeurs des coefficients extraits correspondent à des valeurs usuelles, ce qui prouve la bonne intégration de ce film dans le procédé de fabrication.

Rappelons que nous désirons utiliser ces structures dans le cadre de biocapteurs en mesurant la variation de fréquence de résonance due à une interaction biomoléculaire. Afin de mieux comprendre le comportement fréquentiel, voyons tout d'abord une modélisation analytique classique de membranes circulaires et carrées. Nous verrons ensuite les mesures montrant une bonne cohérence avec l'analyse théorique. Nous verrons enfin l'influence de la tension de polarisation du film sur différentes caractéristiques de résonance.

3.3.1 Modélisation analytique

3.3.1.1 Membrane circulaire

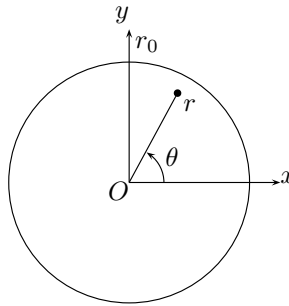


Fig. 3.14 : Membrane circulaire en coordonnées polaires

Nous présentons ici une modélisation simple de membrane libre monocouche non contrainte. Deux formes de membranes ont été utilisées, des membranes carrées et circulaires. Pour modéliser ce mouvement libre d'une membrane dont l'épaisseur est négligeable devant les dimensions latérales, et quelle que soit sa géométrie, nous pouvons écrire, avec Δ l'opérateur Laplacien :

$$\Delta(D\Delta(w)) + \rho h \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = 0 \quad (3.15)$$

En coordonnées cartésiennes, on peut développer de la sorte :

$$D \left(\frac{\partial^4 w}{\partial x^4} + 2 \frac{\partial^4 w}{\partial x^2 \partial y^2} + \frac{\partial^4 w}{\partial y^4} \right) + \rho h \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = 0 \quad (3.16)$$

où D est la rigidité flexionnelle qui est pour un monomorphe :

$$D = \frac{Eh^3}{12(1 - \nu^2)}$$

et E , ν , h , ρ et w sont respectivement le module de Young, le coefficient de Poisson, l'épaisseur, la masse volumique et la déflexion transverse de la membrane. x et y sont les variables spatiales et t est la variable temporelle.

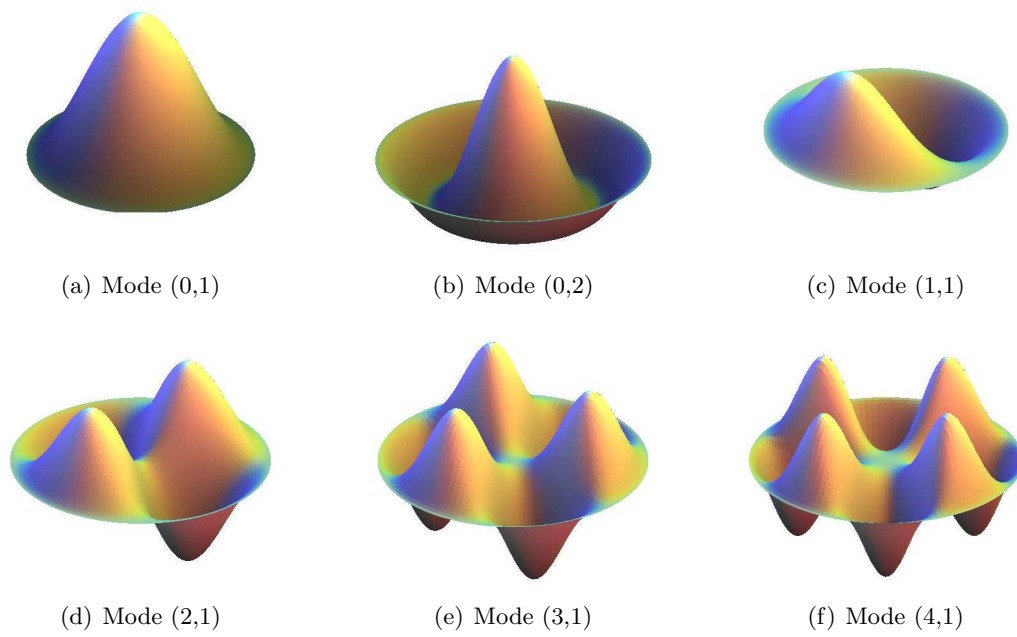


Fig. 3.15 : Modes de résonance simulés d'une membrane circulaire encadrée

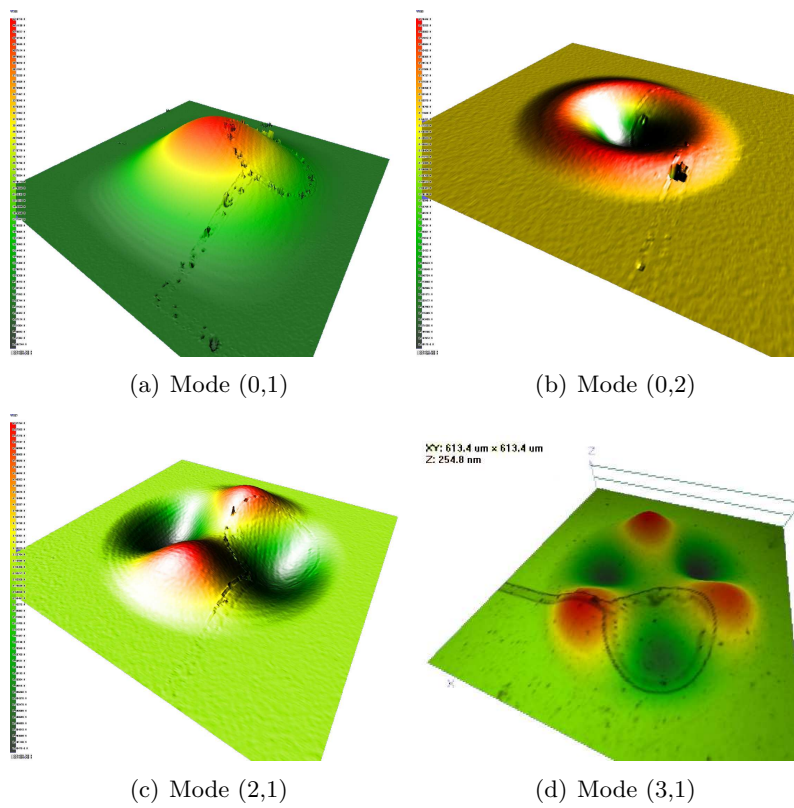


Fig. 3.16 : Exemples de modes de résonance mesurés par profilométrie optique d'une membrane circulaire

Dans le cas d'une membrane circulaire, l'équation de mouvement (3.15) peut être reformulée en coordonnées polaires (r, θ) :

$$D \left(\frac{\partial^2}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} + \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2}{\partial \theta^2} \right) \times \left(\frac{\partial^2 w}{\partial r^2} + \frac{1}{r} \frac{\partial w}{\partial r} + \frac{1}{r^2} \frac{\partial^2 w}{\partial \theta^2} \right) + \rho h \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = 0 \quad (3.17)$$

Nous pouvons voir la schématisation de la membrane en coordonnées polaires sur la figure 3.14.

Posons les conditions aux limites de la membrane, c'est-à-dire encadrée sur son pourtour :

$$w(r_0, \theta) = \left. \frac{\partial w(r, \theta)}{\partial r} \right|_{r=r_0} = 0 \quad (3.18)$$

avec r_0 le rayon de la membrane. Considérons maintenant le mouvement de la membrane comme ayant une forme purement sinusoïdale, nous faisons l'hypothèse d'une séparation des variables espace et temps :

$$w_{mn} = w_{mn}(r, \theta, t) = e^{i\lambda_{mn}t} \phi_{mn}(r, \theta) \quad (3.19)$$

où λ_{mn} est une valeur propre fixant les valeurs de fréquences de résonance et $\phi(r, \theta)$ est la fonction propre correspondant à la forme du mode de résonance. En substituant l'équation (3.19) dans l'équation (3.17), et en résolvant l'équation (3.18) on trouve l'équation caractéristique :

$$\begin{aligned} J_m(\lambda_{mn})I_{m+1}(\lambda_{mn}) + I_m(\lambda_{mn})J_{m+1}(\lambda_{mn}) &= 0 \\ m = 0, 1, 2, \dots \text{ et } n = 1, 2, 3, \dots \end{aligned} \quad (3.20)$$

avec J_m et I_n respectivement la fonction de Bessel de premier type et d'ordre m et la fonction modifiée de Bessel de second type et d'ordre n . Les solutions de cette équation peuvent être résolues numériquement. Les trois premières valeurs de λ_{mn} sont, d'après [28], $\lambda_{01}^2 = 10, 22$ $\lambda_{11}^2 = 21, 26$ et $\lambda_{21}^2 = 34, 88$. Les pulsations de résonance s'écrivent alors :

$$\omega_{mn} = \left(\frac{\lambda_{mn}}{r_0} \right)^2 \sqrt{\frac{D}{\rho h}} \quad (3.21)$$

et la fonction propre de la forme du mode de résonance s'écrit :

$$\begin{aligned} \phi_{mn}(r, \theta) &= \left[J_m \left(\frac{\lambda_{mn}}{r_0} r \right) - \frac{J_m(\lambda_{mn})}{I_m(\lambda_{mn})} I_m \left(\frac{\lambda_{mn}}{r_0} r \right) \right] \cos m\theta \\ m = 0, 1, 2, \dots \text{ et } n = 1, 2, 3, \dots \end{aligned} \quad (3.22)$$

Nous pouvons voir différentes formes des modes de résonance issus de l'équation 3.22 sur la figure 3.15. Nous noterons le numéro du mode de résonance par (m, n) , avec $m = 0, 1, 2, \dots$ et $n = 1, 2, 3, \dots$ correspondant à λ_{mn} , valeur propre de l'équation 3.20.

3.3.1.2 Membrane carrée

L'approche pour une membrane carrée se base sur le comportement d'un pont encadré-encadré par la séparation des variables x et y . Cette approximation [28] suppose qu'il n'y a aucun déplacement dans le plan $x-y$. Récrivons les équations différentielles de l'oscillation libre :

$$\Delta(D\Delta(w)) + \rho h \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = 0 \quad (3.23)$$

en coordonnées cartésiennes, on peut développer de la sorte :

$$D \left(\frac{\partial^4 w}{\partial x^4} + 2 \frac{\partial^4 w}{\partial x^2 \partial y^2} + \frac{\partial^4 w}{\partial y^4} \right) + \rho h \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = 0 \quad (3.24)$$

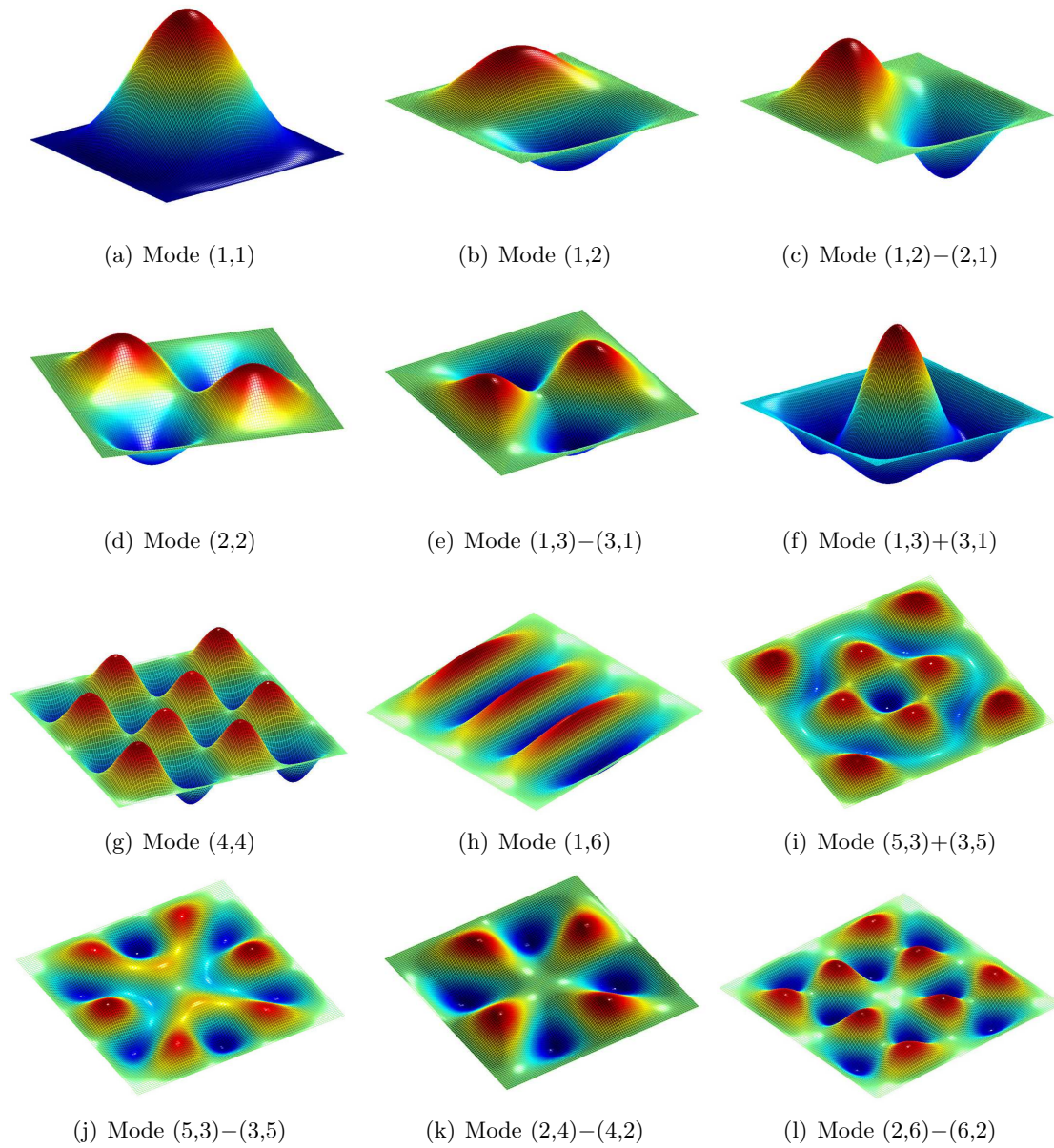


Fig. 3.17 : Modes propres de résonance simulés d'une membrane carrée encastée sur son pourtour

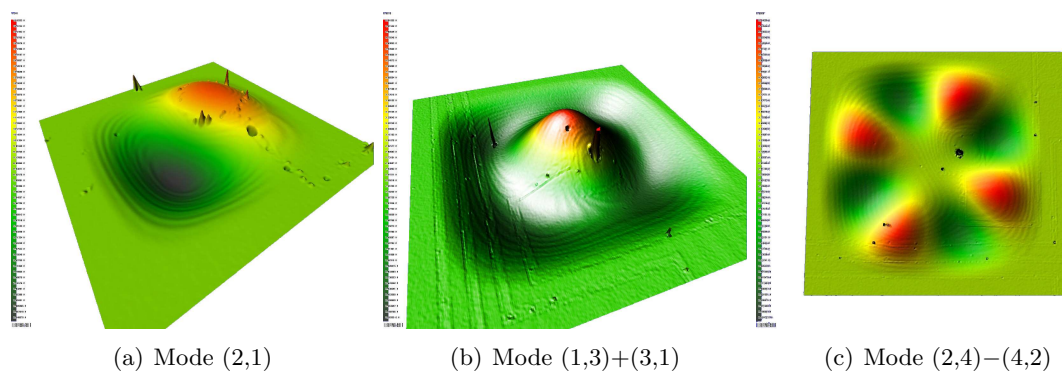


Fig. 3.18 : Exemples de modes de résonance mesurés par profilométrie optique d'une membrane carrée.

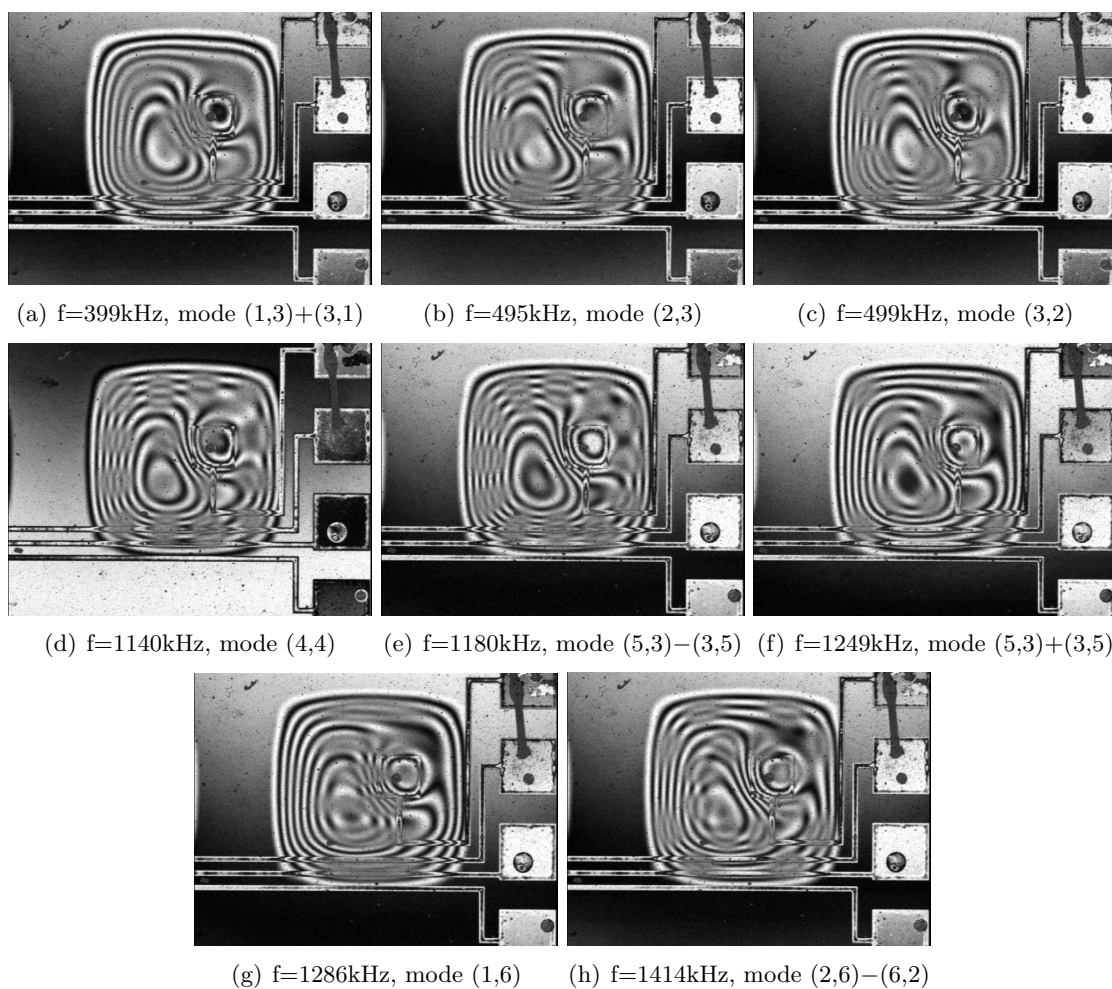


Fig. 3.19 : Visualisation de modes de résonance d'une membrane carré de $700\mu\text{m}$ de côté et $5\mu\text{m}$ d'épaisseur en moyennant les franges d'interférences.

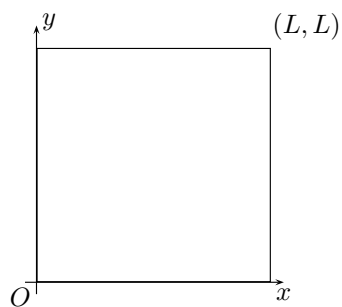


Fig. 3.20 : Membrane carrée en coordonnées cartésiennes

Nous pouvons voir la schématisation de la membrane en coordonnées cartésiennes sur la figure 3.20.

Comme pour la membrane circulaire, nous faisons l'hypothèse d'une séparation des variables espace et temps, ici nous ferons de plus l'hypothèse de la séparation des variables x et y . Ceci nous ramène alors à l'étude d'une poutre encastree-encastree (que nous appellerons aussi pont).

Ainsi, pour une poutre encastree-encastree non contrainte de longueur L et de largeur négligeable devant la longueur et en plaçant l'origine des coordonnées (x,y) de la membrane dans un coin, l'équation caractéristique est

$$\cos(k_m L) \cosh(k_m L) = 1 \quad (3.25)$$

Les solutions k_m de cette équation donnent les formes des modes selon l'équation normalisée suivante :

$$\phi_m(x) = (\cosh(k_m x/L) - \cos(k_m x/L)) - \alpha_m (\sinh(k_m x/L) - \sin(k_m x/L)) \quad (3.26)$$

avec

$$\alpha_m = \frac{\cosh(k_m) - \cos(k_m)}{\sinh(k_m) - \sin(k_m)} \quad (3.27)$$

Les premières valeurs de k_m sont $k_1 = 4,73$ $k_2 = 7,85$ $k_3 = 11,00 \dots$

Pour obtenir la forme des modes de résonance de la membrane carrée, on écrit :

$$w_{mn}(x, y, t) = \phi_m(x)\phi_n(y)e^{i\lambda_{mn}t} \quad (3.28)$$

Quant aux pulsations de résonance, elles s'écrivent :

$$\omega_{mn} = \left(\frac{\lambda_{mn}}{L} \right)^2 \sqrt{\frac{D}{\rho h}} \quad (3.29)$$

avec : $\lambda_{11}^2 = 35,99$ $\lambda_{12}^2 = \lambda_{21}^2 = 73,41$ $\lambda_{22}^2 = 108,3$ $\lambda_{13}^2 = 132,2$ [28].

Nous pouvons voir la forme de ces modes sur les figures 3.17 en prenant comme appellation de mode (m,n) comme dans les formules précédentes. Ceci correspond aussi aux nombres de ventres dans la direction x et y .

L'utilisation de ces calculs est aussi possible en transposant à une structure multicouches en calculant une rigidité flexionnelle équivalente (\tilde{D}) telle que nous l'avons calculée pour le levier dans la partie 3.2.1. La deuxième hypothèse qui a été faite suppose une structure non contrainte, dans le cas réel, avec des contraintes, la forme des modes sont toujours valables, nous allons le voir, et seules les fréquences sont décalées selon le signe de la contrainte.

Toutefois, plus que la valeur de la fréquence de résonance, c'est identifier le mode de résonance de nos membranes qui nous importe. En effet, pour la plupart de nos applications, nous travaillerons en variation de fréquence sur le mode fondamental. Il était donc primordial de pouvoir l'identifier sans ambiguïté.

3.3.2 Mesures dynamiques, et influence de la tension de polarisation

Comme pour l'extraction du coefficient piézoélectrique, les fréquences de résonance théoriques calculées précédemment (par ex. eq.3.29) ne correspondent pas à la réalité du fait de la présence d'une contrainte interne. Ajoutons à cette remarque que du fait que les membranes ont une légère flexion voire en flambement dans certaines configurations, des effets non-linéaires peuvent apparaître modifiant la fréquence de résonance. Rappelons enfin que le modèle précédent supposait un régime d'oscillation libre, nous avons ici des oscillations forcées internes aux couches constituant la membrane.

En outre, la tension continue appliquée au film piézoélectrique modifie la contrainte globale de la membrane. L'étude du comportement dynamique des membranes à actionnement piézoélectrique intégré constitue cette deuxième partie consacrée à la caractérisation mécanique. Nous verrons tout d'abord l'influence de la composante continue du signal d'excitation sur la vibration de la membrane puis l'influence de la position de l'électrode sur celle-ci.

Les résultats expérimentaux présentés dans les passages suivants ont été obtenus en appliquant une tension continue comprise entre -10V et $+10\text{V}$ ainsi qu'une composante alternative inférieure à $1V_{pp}$. Nous présenterons une étude plus détaillée concernant leur influence sur le comportement dynamique des membranes piézoélectriques dans la partie 3.3.2.2.

Quoi qu'il en soit, les formes de modes de résonance sont toujours valables et nous allons tout d'abord le montrer.

3.3.2.1 Visualisation et mesure des modes de résonance

Visualisation des modes de résonance

Grâce à l'interférométrie stroboscopique, on réalise deux mesures consécutives telles que l'éclairage stroboscopique illumine la structure lorsque celle-ci est au plus haut pour la première puis lorsqu'elle est au plus bas pour la seconde. De cette manière, on peut, en faisant la soustraction de ces deux topographies, supprimer la forme statique de la membrane. Nous pouvons voir sur les figures 3.16 et 3.18 quelques modes mesurés selon la forme de la membrane.

Lorsque la fréquence devient trop élevée, le système d'éclairage ne répond plus assez vite pour obtenir des franges contrastées. Il devient alors difficile de réaliser des mesures de topographie correctes. Nous pouvons cependant visualiser quels modes sont excités en regardant les franges d'interférences. Elles se brouillent au niveau des ventres des modes de résonance. Nous pouvons voir divers exemples de modes sur les figures 3.19. Les correspondances avec les modes déterminés à partir de la théorie précédente sont notées en légende. De manière générale, un résultat très intéressant est que la forme des modes de résonance reste inchangée même dans le cas où la pastille piézoélectrique est fortement excentrée. Ceci apparaît très clairement en comparant les simulations analytiques avec les mesures expérimentales figures 3.15 et 3.16 dans le cas de membranes circulaires, ainsi que les figures figure 3.17, 3.18 et 3.19 pour les carrées.

Cependant, une très légère différence peut apparaître dans les modes présentés page 68 figure 3.17 (par exemple le mode (1,6)) provenant du fait que les membranes ne sont pas parfaitement carrées, ce qui souligne l'influence des conditions d'encastrement sur la forme des modes.

Spectre de résonance par mesure ponctuelle

Le système de déflexion de faisceau laser décrit précédemment figure 3.3 page 57, permet d'obtenir des spectres de résonance tel que celui présenté figure 3.21. Comme nous l'avons déjà souligné, deux problèmes se posent ; d'une part, cette technique ne permet pas d'accéder à la forme du mode en résonance, et d'autre part, le modèle utilisé ne prend pas en compte les contraintes, d'où une prédiction impossible des fréquences des modes.

Cependant, la visualisation préalable de la forme des modes nous a permis de montrer d'une part que les résonances étaient bien distinctes les unes des autres et d'autre part que les mesures effectuées étaient parfaitement reproductibles. Ceci nous autorise finalement à employer cette technique pour un suivi de la fréquence de résonance pour l'application biocapteur visée (cf chap.4).

Typiquement, la résonance visible à environ 110kHz (fig.3.21) correspond ici à un mode (1,1) d'une membrane carrée de $600\mu\text{m}$ de côté.

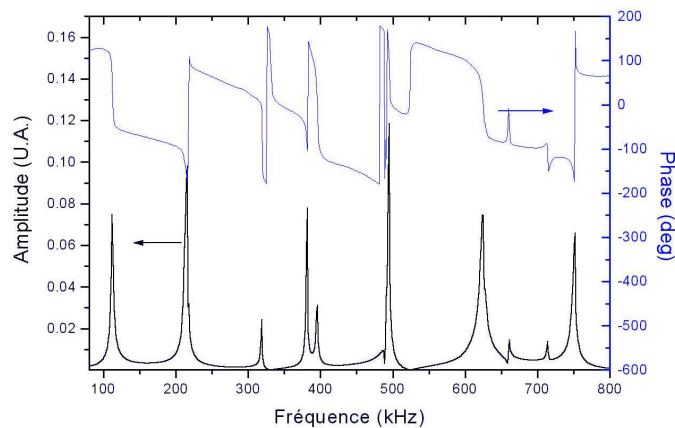


Fig. 3.21 : Exemple de spectre de résonance d'une membrane carrée de $600\mu\text{m}$ de côté et d'épaisseur $5\mu\text{m}$.

3.3.2.2 Influence des composantes continue et alternative de la tension d'excitation sur la réponse dynamique

En toute rigueur, d'un point de vue géométrique, la position et la forme de la pastille piézoélectrique sont à prendre en considération. Par exemple, la forme de la pastille peut être optimisée pour exciter sélectivement certains modes, comme le montrent Prak et al [29].

Nous venons de montrer que dans le cas d'une pastille circulaire, son excentration ne modifie pas la forme des modes de résonance. En revanche, des effets dus au positionnement de la pastille sur la dégénérescence des modes peuvent être observés, et nous le verrons pour conclure ce chapitre. Dans un premier temps, nous aborderons, pour les structures considérés, les deux paramètres prépondérants que sont la tension de polarisation et la tension alternative.

Efficacité d'actionnement

Nous avons tout d'abord étudié l'influence de la tension de polarisation sur l'amplitude de résonance. Pour cela, nous avons utilisé un banc de déflexion de faisceau laser (Cf. fig.3.3) en insérant entre la détection synchrone et la puce une alimentation continue.

La variation de l'amplitude d'oscillation avec la tension continue, visualisée figure 3.22(a), a été obtenue en mesurant les maxima des spectres de résonance en fonction de la tension continue appliquée. Nous pouvons nettement voir l'hystérésis de l'effet piézoélectrique et la perte d'efficacité d'actionnement mécanique lorsque la tension est nulle. En réalité, deux phénomènes peuvent expliquer cette tendance. La première raison, comme nous pouvons le voir sur la figure 3.22(b), provient de l'effet redresseur de la couche piézoélectrique : la déflexion due à la tension continue appliquée entre les électrodes n'est pas linéaire, mais du type « valeur absolue » autour du minimum de l'hystérésis, ici vers $+2\text{V}$.

Ceci veut dire qu'en excitant la pastille avec une tension alternative autour de ce minimum, on obtient un effet redresseur, et au lieu d'exciter avec une sinusoïde de fréquence f , on excite avec une sinusoïde redressée à la fréquence $2f$. Cette excitation à une fréquence double de la référence est la deuxième explication de la très forte perte de signal observée sur la courbe 3.22(a). En effet, la détection synchrone, par définition, se synchronise sur la fréquence de référence, et lors de cette expérience, le passage à une fréquence double n'est pas détectable avec la détection synchrone.

Remarquons que si le PZT était déjà polarisé, nous pourrions nous trouver dans les zones latérales des graphes et donc nous pourrions nous contenter d'exciter sans composante continue. Les tensions ici appliquées (10V max) pour une épaisseur de PZT d'environ

$1\mu\text{m}$ donne un champ électrique de $100\text{kV}/\text{cm}$ largement suffisant pour polariser les domaines ferroélectriques.

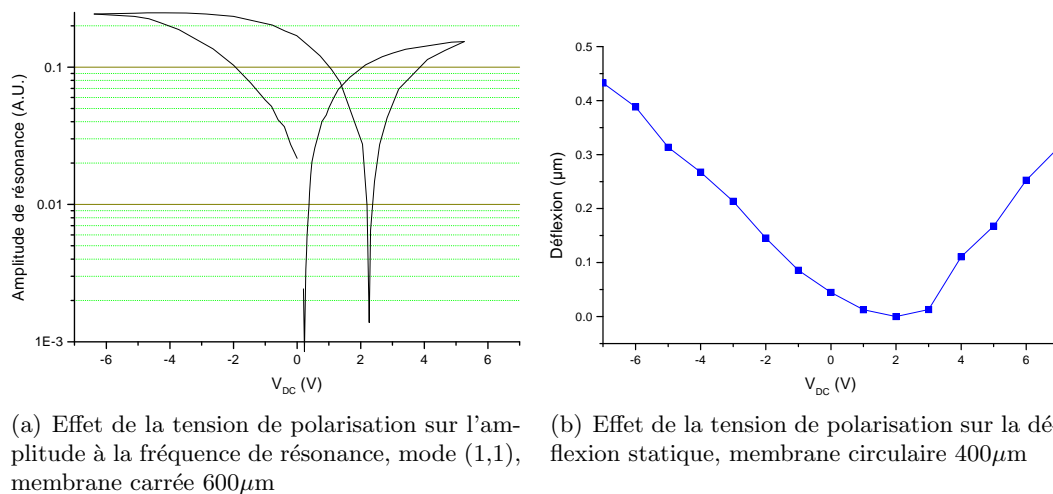


Fig. 3.22 : Influence de la polarisation sur l'amplitude d'oscillation à la résonance et sur la déflexion statique de la membrane

Nous avons ensuite regardé l'efficacité d'actionnement, c'est-à-dire, pour une valeur fixée de tension continue, nous avons augmenté la partie alternative du signal d'excitation. Des topographies dynamiques, c'est-à-dire des mesures de cartographie d'amplitudes de vibration, ont été réalisées par interférométrie stroboscopique à balayage de phase, à l'IEF d'Orsay. Ces mesures ont été effectuées à diverses tensions continues en faisant varier l'amplitude de l'excitation alternative.

Nous avons tracé figure 3.23, l'amplitude d'oscillation en fonction de la tension alternative pour chaque tension continue appliquée. En récupérant les pentes de ces droites, nous pouvons extraire l'efficacité d'actionnement en fonction de la tension de polarisation (voir figure 3.24). L'efficacité d'actionnement est maximale aux alentours de $-5V_{DC}$ et au-delà. Ce résultat est à comparer à la diminution du d_{31} (fig3.11) et pourrait être attribué à la saturation de la polarisation [24].

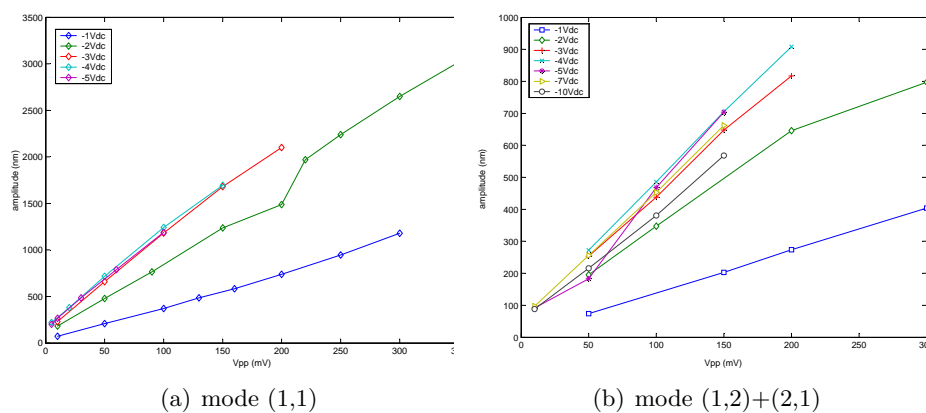


Fig. 3.23 : Efficacité d'actionnement pour deux modes de résonance d'une membrane carrée avec pastille excentrée

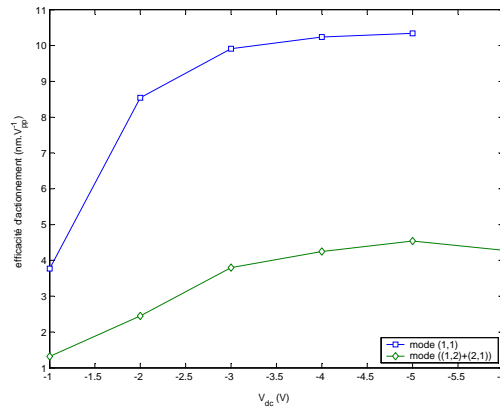


Fig. 3.24 : Efficacité d'actionnement pour deux modes de résonance d'une membrane carrée avec pastille excentrée

Variation des fréquences de résonance

Un autre point intéressant est la variation des fréquences de résonance avec la tension continue. Nous avons déjà vu que l'application de cette tension continue provoquait une contrainte mécanique dans le film de PZT. Cette variation de contrainte fait donc varier les fréquences de résonance, car contrairement aux leviers où la contrainte moyenne est libérée, pour une membrane — et c'est aussi le cas pour un pont — la contrainte moyenne joue directement sur la raideur effective du dispositif.

Sur la figure 3.25 sont représentés pour les modes (1,1) et (1,2)+(2,1) les variations des fréquences de résonance pour une variation de la tension d'offset de -10V à +10V pour une tension alternative de 300mV crête à crête. Un résultat étonnant est la différence de comportement entre ces deux modes : alors que le mode (1,1) présente une diminution de sa fréquence de résonance avec la valeur absolue de la polarisation, le deuxième mode présente l'effet inverse. En d'autres termes, si pour le second mode, on a une augmentation de la raideur apparente, pour le premier mode, elle diminue.

Une explication plausible est l'influence du positionnement de la pastille piézoélectrique (excentrée ici) sur la membrane de silicium qui induit une déformation asymétrique. Cette déformation présente en effet une forme comparable à la forme du mode (1,2)+(2,1) (voir fig 3.5), et en augmentant la tension d'offset, la déformation s'amplifie pouvant donner lieu à un comportement similaire à l'effet d'augmentation de raideur apparente dynamique⁴. Au contraire, pour le premier mode l'effet de la compression du film piézoélectrique est bien ressenti dans un premier temps puis compensé par la forte déformation de la membrane.

Non-linéarités

Nous avons ensuite regardé l'efficacité d'actionnement, pour une valeur fixée de tension continue, nous avons augmenté la partie alternative du signal d'excitation. Nous avons tracé les courbes des spectres autour d'une résonance en figure 3.26. Comme nous pouvions nous y attendre, des phénomènes non-linéaires apparaissent aux fortes amplitudes. Lorsque l'amplitude d'oscillation devient trop grande, la déformation de la membrane augmente sa raideur apparente, ce qui explique la tendance des pics à s'incliner vers les hautes fréquences, allant même jusqu'à des décrochages voir fig. 3.27. Ces phénomènes non-linéaires sont décrit par Bouwstra et al [30] par l'équation suivante pour une membrane carré de côté a et d'épaisseur t :

$$f = C_1 \sqrt{\frac{E}{\rho(1-\nu^2)}} \frac{t}{a^2} \sqrt{1 + C_2(1+\nu)\varepsilon_0 \left(\frac{a}{t}\right)^2 + C_3 \left(\frac{w}{t}\right)^2} \quad (3.30)$$

⁴cet effet sera décrit dans le paragraphe suivant

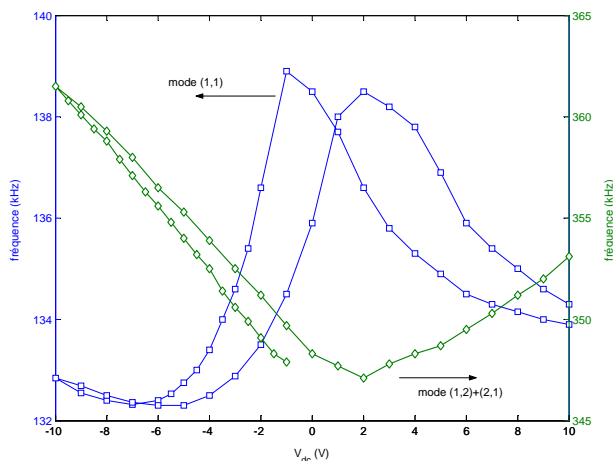


Fig. 3.25 : Variation de la fréquence de résonance en fonction de la composante continue de l'excitation pour les modes (1,1) et (1,2)+(2,1) d'une membrane carrée $600\mu\text{m}$

avec $C1$, $C2$, et $C3$ des constantes, w représentant l'amplitude d'oscillation et ε_0 est la déformation relative ($\frac{\Delta L}{L}$) dans le plan (x, y) de la membrane, générée par une contrainte. Cette équation est à comparer à l'équation 3.29 qui ne prenait pas en compte ni la contrainte ni l'amplitude de la vibration.

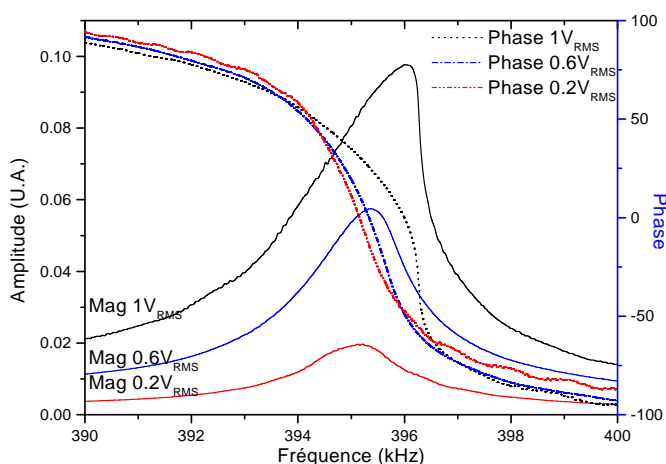


Fig. 3.26 : Visualisation de non-linéarités dues à une trop forte amplitude d'excitation, mode (1,2)+(2,1) sur membrane carrée de $600\mu\text{m}$ de côté et d'épaisseur $5\mu\text{m}$.

Modes dégénérés

Enfin, certains modes ont des formes de résonance différentes mais possèdent théoriquement la même fréquence de résonance. Ces modes dits dégénérés, sont donc théoriquement excités à la même fréquence. Par exemple, les modes (1,2) et (2,1) pour une membrane carrée, sont identiques suivant une rotation de 90° , il n'est donc pas possible de les séparer. Cependant, lorsqu'on réalise les expériences, on s'aperçoit que généralement, un mode l'emporte sur l'autre, par le fait de très faibles asymétries, aux encastresments par exemple. Dans notre cas où les électrodes sont excentrées, nous pouvons, en jouant sur la tension de polarisation, choisir entre un mode ou l'autre (cf fig.3.28). Nous pouvons voir, par exemple dans la figure 3.29, une séquence montrant la rotation de la figure d'interférence du fait de l'excitation simultanée des deux modes. En changeant un peu la tension d'offset, on peut arrêter ce phénomène tournant.

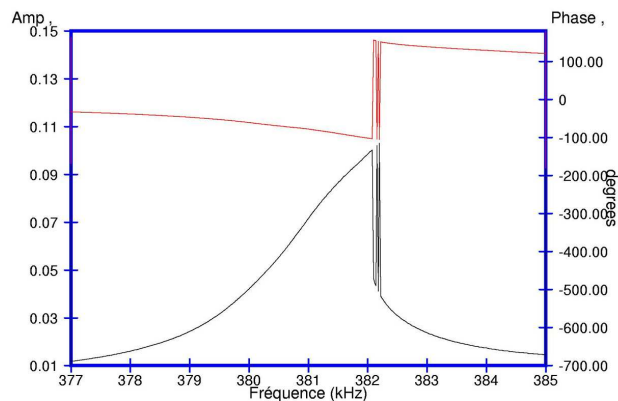


Fig. 3.27 : Décrochage à $1V_{RMS}$ pour un pic voisin au précédent

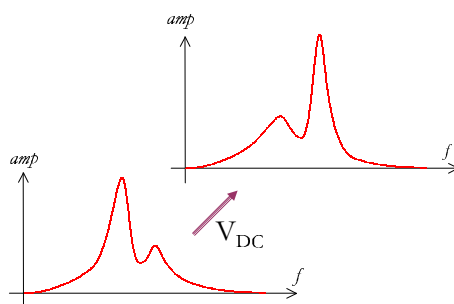


Fig. 3.28 : Sélection d'un des modes dégénérés par l'application d'une tension de polarisation.

Vu que ces modes sont extrêmement sensibles à des imperfections localisées de contraintes, ce phénomène pourrait être utilisé pour traduire des interactions localisées pour une application biocapteur.

3.4 Conclusion

Nous avons vu que nous pouvons effectuer une extraction du coefficient d_{31} traduisant des propriétés piézoélectriques du PZT cohérentes à partir d'hypothèses simplificatrices.

Nous avons ensuite observé les propriétés mécaniques des membranes afin de pouvoir définir des conditions d'utilisation optimales ($V_{DC}=5V$, $V_{pp}=500mV$) avec lesquels nous nous affranchissons des phénomènes non-linéaires. Nous avons aussi répertorié les fréquences de résonance ainsi que leur mode de résonance associé.

Ces travaux étaient un passage obligé pour utiliser nos dispositifs en tant que capteurs. Cependant, une étude rigoureuse devrait être menée sur le vieillissement et la fatigue tant électrique que mécanique du PZT en film mince.

Dans le dernier chapitre, nous allons mettre à profit cette étude dans le but de réaliser un système global dédié au suivi de la cinétique d'adsorption de particules en milieu liquide. Nous restreindrons notre étude aux nanoparticules d'or.

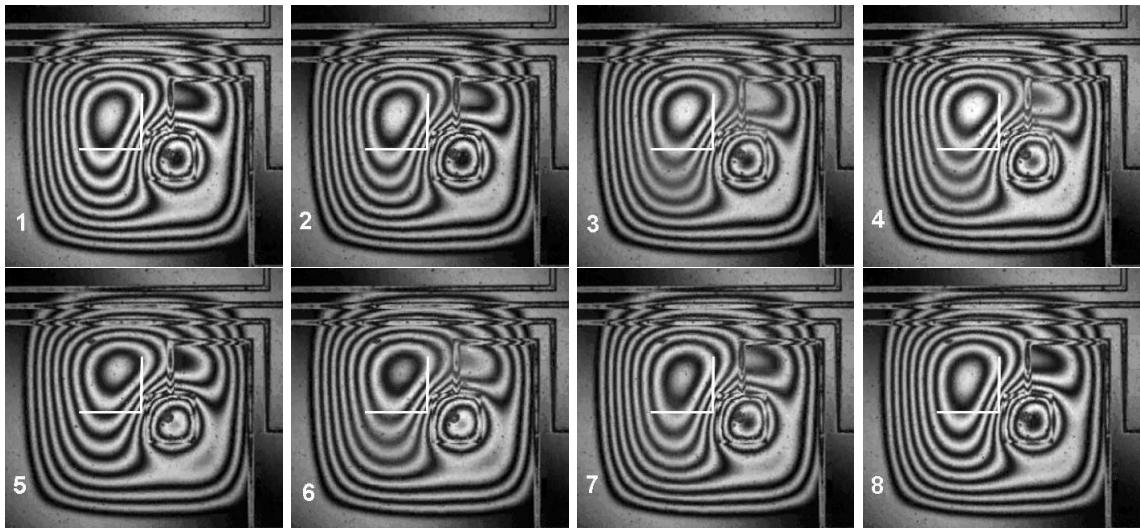


Fig. 3.29 : Sequence d'une résonance dégénérée — modes (1,2) et (2,1) simultanés — pour une membrane carrée $600\mu m$ à $215kHz$

CHAPITRE 4

Application biocapteur : mesures en milieu liquide

Sommaire

| | | |
|------------|---|------------|
| 4.1 | Un système de mesure en milieu liquide | 80 |
| 4.1.1 | Préparation et traitements de surface | 80 |
| 4.1.1.1 | Préparation des membranes | 80 |
| 4.1.1.2 | Préparation des puces | 82 |
| 4.1.1.3 | Préparation des colloïdes | 83 |
| 4.1.2 | Cellule liquide thermorégulée | 84 |
| 4.1.2.1 | Aspect fluïdique | 84 |
| 4.1.2.2 | Thermorégulation et influence de la température | 84 |
| 4.2 | Détermination de la sensibilité | 86 |
| 4.2.1 | Calcul théorique de la sensibilité | 86 |
| 4.2.1.1 | Analyse modale | 86 |
| 4.2.1.2 | Sensibilité théorique | 88 |
| 4.2.2 | Sensibilité expérimentale | 89 |
| 4.2.2.1 | Expérience | 89 |
| 4.2.2.2 | Calculs | 89 |
| 4.2.2.3 | Commentaires | 91 |
| 4.2.3 | Minimum de détection | 92 |
| 4.2.4 | Validation de la cinétique observée | 93 |
| 4.3 | Vers une biopuce : dépôts biologiques localisés | 96 |
| 4.3.1 | Systèmes commerciaux et leur adaptation aux microtechnologies | 96 |
| 4.3.2 | Premier essai de plumes micro-usinées | 97 |
| 4.3.3 | Deuxième génération de plumes micro-usinées | 98 |
| 4.3.3.1 | Pourquoi une deuxième génération ? | 98 |
| 4.3.3.2 | Protocole de fabrication. | 98 |
| 4.3.3.3 | Expérimentations réalisées. | 100 |
| 4.4 | Conclusion | 101 |

4.1 Un système de mesure en milieu liquide

NOUS AVONS DÉFINI dans le chapitre précédent une plage d'utilisation de nos dispositifs dans le but de les utiliser en milieu liquide pour des applications biocapteurs. Nous avons tout d'abord mis au point un protocole de fonctionnalisation de surface sur oxyde de silicium. Nous avons également conçu un système complet comprenant : la puce avec les membranes, une cellule fluïdique et un contrôle de température. Sur la base d'une étude concernant l'adsorption de nanoparticules d'or sur des membranes résonantes, nous avons ensuite déterminé la sensibilité de notre système que nous avons comparée à des résultats expérimentaux. Enfin, pour véritablement aborder le domaine des biopuces, nous devons associer à notre biocapteur un système de dépôt dédié permettant de fonctionnaliser individuellement chaque membrane de notre puce. Le développement de ce système sera décrit dans une dernière partie.

4.1.1 Préparation et traitements de surface

Avant de détailler la procédure expérimentale mise au point pour détecter l'adsorption de nanoparticules sur des membranes piézoélectriques, nous allons décrire brièvement les procédures permettant de préparer chimiquement ces membranes. L'utilisation de ces nanoparticules nous permet d'obtenir une variation uniquement de masse et non pas de contrainte, car la densité surfacique des couches de colloïdes que nous déposerons ne sera pas assez élevée. Nous l'avons vu, les membranes sont sensibles à ces deux paramètres, il était donc nécessaire de réaliser une première expérience ne modifiant qu'un seul de ces paramètres.

L'utilisation de colloïdes permet de plus, une observation aisée soit par microscopie électronique, soit par microscopie à force atomique sans avoir recours au marquage par fluorescence. Nous allons voir dans cette partie comment préparer les échantillons pour réaliser cette expérience.

Les colloïdes d'or en solution que nous avons utilisés sont des sphères dont la surface est chargée négativement. La suspension de ces colloïdes dans le liquide est assurée par les répulsions électrostatiques (voir l'encadré page 81). Si nous voulons adsorber ces colloïdes à la surface des membranes, il est nécessaire de la rendre chargée positivement. Pour cela, nous utiliserons des amino-silanes dont la fonction silane va se fixer sur l'oxyde de silicium et la fonction amine va se protoner sous l'effet d'un pH acide. Cependant, nous verrons qu'il faudra trouver un compromis dans le pH pour éviter qu'à pH trop faible, par l'écrantage des charges des colloïdes par les ions H_3O^+ , les colloïdes ne s'agrègent entre eux.

4.1.1.1 Préparation des membranes

Un silane a pour formulation $R - Si(O Me)_3$ où R est le groupement qui va donner la fonctionnalisation à la puce. Dans notre cas R sera un groupement à terminaison amine NH_2 . Pour greffer ce groupement R à une surface d'oxyde de silicium, il faut mettre en place une suite de réactions qui sont :

- a) Hydrolyse du silane
- b) Condensation du silane hydrolysé sur la surface de silice
- c) Formation de liaisons covalentes entre les deux composés, par action de la chaleur.

Protocole :

Avant toutes choses, il est nécessaire de nettoyer la surface de silice en immergeant la puce dans une solution contenant un mélange 1 : 1 d'acide sulfurique H_2SO_4 et d'eau oxygénée H_2O_2 pendant 10 minutes. L'acide précipite tous les composés organiques supposés présents à la surface de silice, puis un rinçage à l'eau désionisée permettra de les éliminer.

Que sont les colloïdes ? [1]

On entend en général par colloïdes une dispersion de particules solides de taille submicronique dans un solvant. Un exemple simple pourrait être une dispersion de particules d'oxyde de titane dans de l'eau, dispersion servant de base pour une peinture blanche.

Taille limite colloïdale Considérons une suspension de petites billes de rayon R dans un liquide : celles-ci, soumises à la gravité, vont sédimenter avec une vitesse

$$v_s = \frac{2}{9} R^2 \frac{\Delta \rho g}{\eta}$$

avec $\Delta \rho$ différence de masse volumique entre une bille et le liquide, g accélération due à la pesanteur, η viscosité du liquide.

Comparons cette vitesse avec la vitesse caractéristique v_b due au mouvement brownien, donnée par :

$$\frac{1}{2} m v_b^2 = \frac{1}{2} kT$$

où m est la masse de la particule, et kT l'énergie thermique. Tant que $v_b > v_s$, nous considérons nos objets comme browniens, tandis que pour $v_b < v_s$, les propriétés du système ne seront plus déterminées par l'agitation thermique.

Cela définit une limite de taille pour les objets, appelée limite colloïdale R_c ; en négligeant la masse volumique du liquide par rapport à celle des billes, il vient :

$$R_c = \left(\frac{kT\eta^2}{\rho^3 g^2} \right)^{1/7}$$

Ce terme est d'environ un micromètre pour des valeurs courantes de masse volumique et de viscosité. Pour réaliser des systèmes colloïdaux, il faut empêcher les molécules de s'agréger (ce qui provoquera un phénomène de floculation) sous l'effet de l'interaction de Van der Waals ; cette interaction, pour deux particules sphériques de rayon R et distantes de d est donnée, quand $d < R$, par :

$$-\frac{A}{12} \frac{R}{d}$$

Avec A , constante de Hamaker dont l'ordre de grandeur est de 10^{-20} J. Cette protection peut être obtenue par différents moyens :

Protection électrostatique Si les particules sont chargées et que leur solvant est de l'eau, les particules se repoussent naturellement tant que l'eau n'est pas trop chargée en ions qui vont venir écranter les charges. La théorie traitant de la stabilité de particules chargées est appelée théorie DLVO du nom de ses pères Deryaguin, Landau, Verwey et Overbeek. Dans notre cas des colloïdes d'or, c'est cette force électrostatique qui est mise en œuvre.

Protection par des tensioactifs On peut faire adsorber des molécules tensioactives sur la surface de particules dissoutes dans de l'eau. La composante répulsive de l'interaction est alors fournie par la répulsion entropique des chaînes hydrophobes qui agissent (schématiquement) comme autant de petits ressorts lorsqu'elles sont comprimées. Un exemple de ce type de particules est bien illustré par les micelles.

Protection par des polymères adsorbés et en bon solvant La composante répulsive est due au même phénomène que pour les tensioactifs adsorbés, mais elle est de portée bien plus grande avec des macromolécules adsorbées. On peut estimer facilement la force de la répulsion : lorsque deux particules couvertes de polymères se rapprochent, les couches diffuses de polymère s'interpénètrent. La concentration en polymère entre les deux particules augmente donc et avec elle la pression osmotique. Cette dernière repoussera les deux objets.

Protection par des polymères greffés La protection par polymères greffés repose sur le même principe que celle par polymères adsorbés mais elle présente le grand avantage d'éviter les phénomènes de pontage entre particules en prévenant l'adsorption d'une même chaîne polymère sur plusieurs particules simultanément. Ce phénomène de pontage conduirait alors au contraire de l'effet désiré et ferait flocculer la dispersion de particules.

Protection par des copolymères Il est souvent difficile de greffer chimiquement des chaînes de polymères sur une surface. On peut alors utiliser un copolymère séquencé qui est composé de deux sous-chaînes d'affinités différentes : une partie, « l'ancre », vient s'accrocher à la surface de la particule tandis que l'autre partie, « la bouée », se développe dans le solvant et vient protéger la particule.

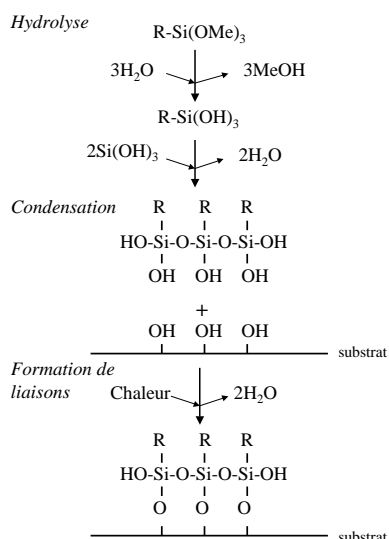


Fig. 4.1 : Réactions mises en jeu lors de la silanisation de la surface d'oxyde de silicium.

- a) En parallèle, nous préparons une solution de 50 mL à 95% d'éthanol et 5% d'eau désionisée. On ajoute ensuite 1 mL d'aminosilane, puis on laisse reposer la solution 5 minutes le temps que l'hydrolyse se termine.
- b) Ensuite, on plonge la puce nettoyée dans la solution obtenue, en agitant doucement pendant 3 à 4 minutes. La puce est alors rincée, en la baignant 5 à 10 secondes dans de l'éthanol.
- c) Enfin, on laisse sécher la puce fonctionnalisée sur du papier Joseph, puis on la dépose sur une plaque chauffée à 130°C durant 10–15 minutes.

4.1.1.2 Préparation des puces

Une fois que la puce est fonctionnalisée par une couche amine, on passe à l'étape du microcâblage. Cette étape consiste à relier par soudure de fils les électrodes qui serviront à polariser les membranes piézoélectriques via les broches du support TO8.

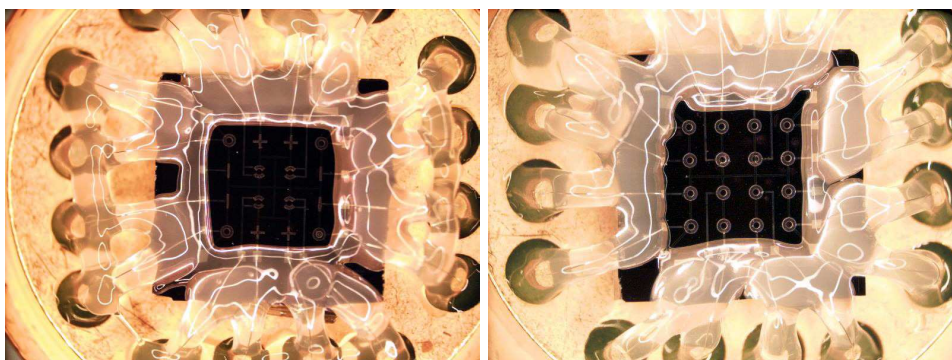


Fig. 4.2 : Protection de la connectique et des plots de contact par un gel de silicone biocompatible

Après cette étape, il faut terminer cette préparation par une enduction de gel de silicone biocompatible¹. Cette dernière étape va permettre d'isoler toutes les électrodes entre elles, en enrobant de silicone à la fois les fils de câblage et les plots de contact de la puce et du

¹Loctite® 5248

boîtier. Ceci est impératif car en milieu liquide, sans isolation électrique réalisée par le gel de silicone, il y aurait apparition de phénomènes d'électrolyse. Nous pouvons voir figure 4.2 deux photographies de puces préparées ainsi sur les supports TO8 16 broches.

4.1.1.3 Préparation des colloïdes

Les colloïdes que l'on utilise sont des particules de forme sphérique et ayant un diamètre de 40 nm. Ils sont composés d'atomes d'or et sont complexés à des molécules de citrate possédant 3 groupements acide carboxylique $COOH$ et un groupement alcool OH . Il est important de noter qu'à pH 7 ces particules se trouvent sous forme négative. La conséquence de cette association sera une répulsion de nature électrostatique entre ces particules.

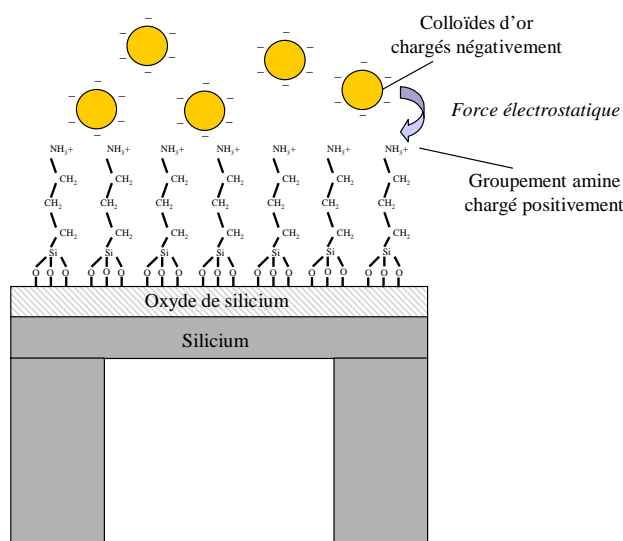


Fig. 4.3 : Réaction d'adsorption des colloïdes

Protocole :

On prélève 1 mL de solution de colloïdes dans un tube Eppendorf. On centrifuge ensuite à 45 rpm pendant 12 minutes de sorte à faire dédimer les particules au fond du tube. On récupère alors 900 μL d'eau du tube Eppendorf pour obtenir une solution de colloïdes concentré 10 fois.

On rajoute alors 10 μL d'une solution d'acide acétique à 99% dilué 100 fois à pH 3,2 aux 100 μL restant pour obtenir une solution de colloïdes concentrée 10 fois à pH final 3,7. On peut remarquer qu'à ce pH les colloïdes ne s'agrègent pas (répulsions électrostatiques toujours présentes) grâce à la couleur rose de la solution (elle deviendrait gris-bleu foncé). Nous pouvons voir figure 4.4 une image MEB montrant à la fois le phénomène de floculation et d'adsorption dû à un pH trop faible de la solution comportant les colloïdes. De plus il est à noter que les aminosilanes ont un pK de l'ordre de 5 lorsqu'ils sont ordonnés sur la surface en une monocouche autoassemblée (SAM²), donc à pH 3,7 on les trouvera sous la forme chargée NH_3^+ . Pour finir, on dépose une goutte de 50 μL de la solution de colloïdes sur la puce fonctionnalisée.

²SAM : self-assembled monolayer

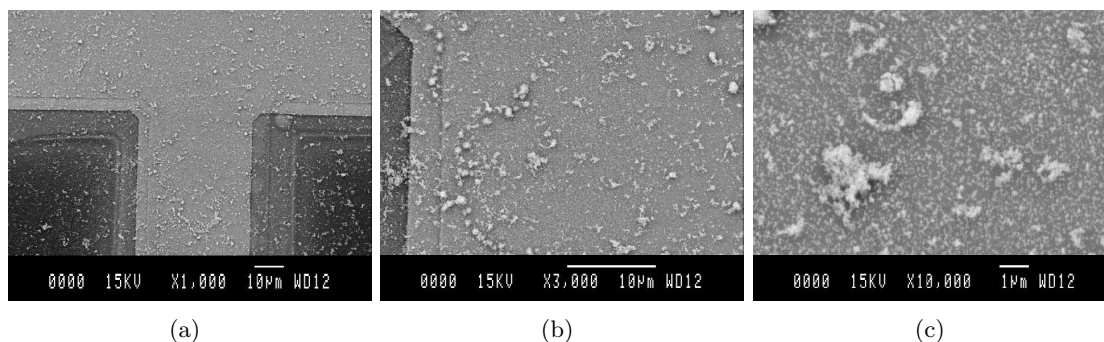


Fig. 4.4 : Images MEB mettant en évidence une flocculation de colloïdes d'or due à un pH trop faible (pH= 3,2) sur une surface d'oxyde fonctionnalisée amine.

4.1.2 Cellule liquide thermorégulée

4.1.2.1 Aspect fluidique

La mesure de cinétiques de réactions chimiques ou biologiques impose de pouvoir travailler en milieu liquide. Les boîtiers standards utilisés pour les composants électroniques n'assurent pas cette fonction. Nous l'avons vu, nous utilisons des boîtiers TO8 à 16 broches dont nous n'utilisons pas la capsule de fermeture. Le méplat que présente le TO8 nous a permis de concevoir une cellule en Teflon que l'on pose sur la puce puis que l'on fixe par l'intermédiaire de deux vis (cf fig.4.5). Cette cellule permet d'immerger les structures dans un liquide. On ferme l'ouverture en plaquant sur la partie supérieure une lame de verre (par exemple une lame de microscope) ou de borosilicate (plus fine). Grâce à cette cellule, nous pouvons faire circuler le liquide par l'intermédiaire des deux canules métalliques sur lesquels on peut glisser des tuyaux flexibles. Soulignons que lors de la procédure expérimentale, nous n'avons pas utilisé ce circuit fluidique, la cellule jouant plutôt le rôle de réservoir fermé.

4.1.2.2 Thermorégulation et influence de la température

Thermorégulation

Pour permettre la thermorégulation, nous avons usiné un support en aluminium servant de support au boîtier TO8. Ce support fait l'interface entre le module Peltier et le boîtier. Un module Peltier est une pompe à chaleur fonctionnant grâce à un courant électrique traversant des jonctions dites Peltier. Il y a deux faces sur un module, une chauffante, l'autre refroidissante et si on change le sens du courant, le rôle de ces faces s'inverse aussi. C'est pour cette raison que nous avons choisi un module Peltier pour modifier et stabiliser la température du boîtier.

Un thermocouple glissé à l'intérieur de l'enceinte permet de mesurer la température du liquide. Par cette mesure, nous pouvons créer une contre-réaction sur la valeur du courant de thermorégulation traversant le module Peltier.

Nous présentons figure 4.6 un schéma électrique d'une carte de régulation simplifiée. Cette carte a été réalisée au laboratoire et permet d'obtenir une stabilisation de la température sur une plage d'environ 5°C à 60°C. La stabilité constatée est inférieure à 0,5°C et suivant la finesse des réglages on peut descendre au dixième de degré.

Influence de la température

Afin d'observer la sensibilité de nos structures à la température, nous avons regardé la variation de fréquence de résonance engendrée par une variation de température. Pour cela, nous avons immergé la puce dans de l'eau désionisée et nous avons fait varier la

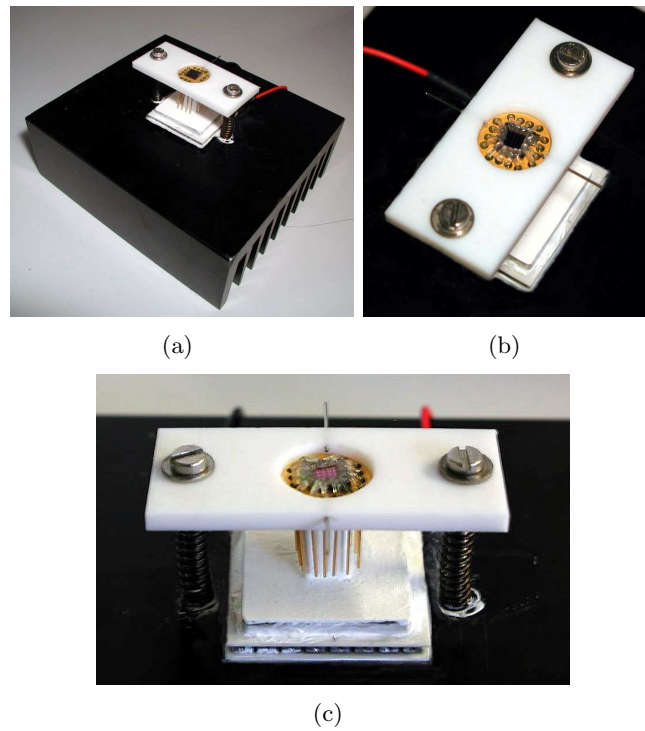


Fig. 4.5 : Cellule fluide avec régulation de température par effet Peltier intégrant un boîtier TO8

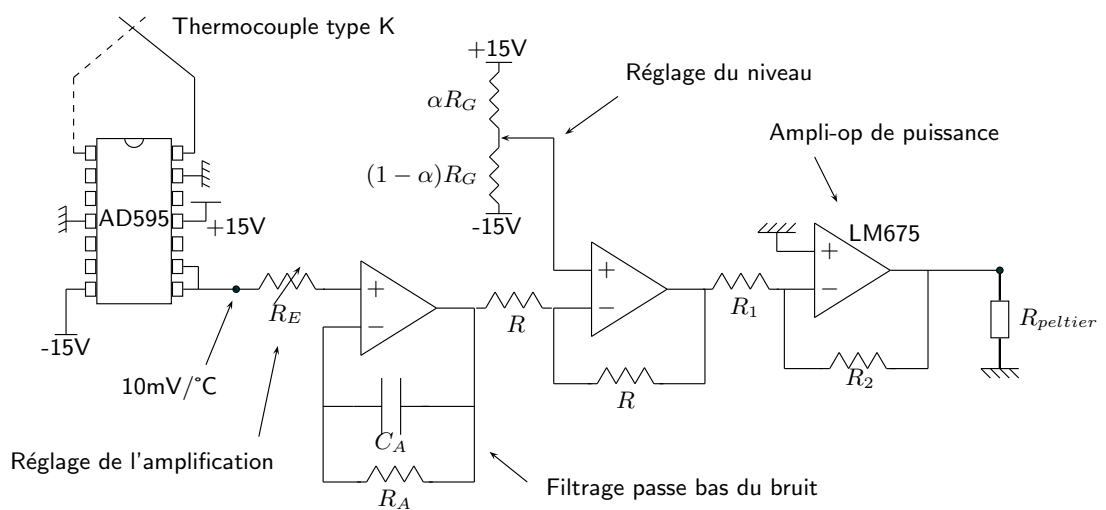


Fig. 4.6 : Schéma électrique de la thermorégulation

température par le module Peltier. Un thermocouple plongé dans le liquide permet de mesurer la température.

Les figures 4.7 présentent, pour trois températures (17,5°C ; 22,5°C ; 27,5°C) autour de la température ambiante, les formes mode fondamental. Nous pouvons voir que le mode fondamental est peu sensible aux variations de températures (10°C dans ce cas) par rapport à l'influence des phénomènes que nous allons étudier. De plus notre système de thermorégulation nous permet d'assurer un contrôle de la température de 0,5°C ce qui permet de s'affranchir d'effets parasites liés à des variations de température.

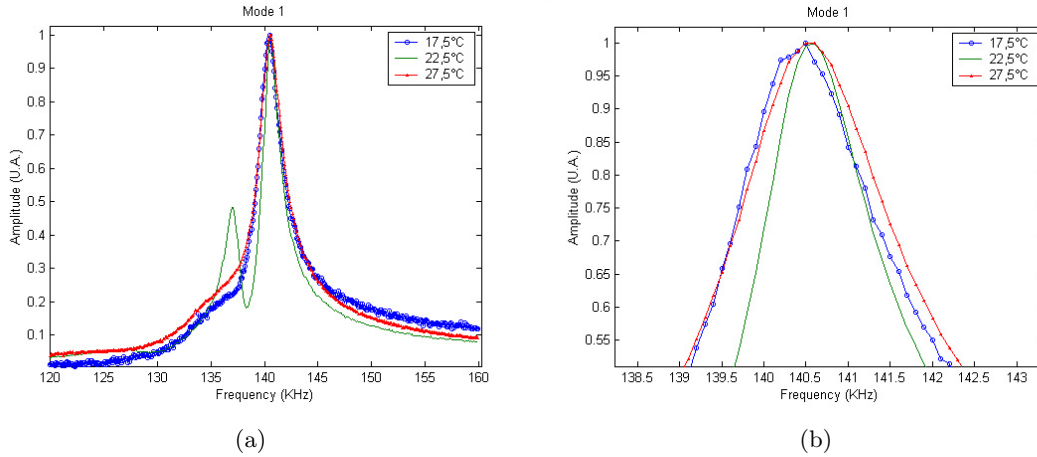


Fig. 4.7 : Mesures de variations de fréquences de résonance avec la température pour le mode fondamental dans le cas d'une membrane circulaire avec actionnement en anneau interrompu.

4.2 Détermination de la sensibilité

Nous allons débiter cette partie par le calcul de la sensibilité théorique des membranes. Nous décrirons ensuite la procédure expérimentale permettant de mesurer cette sensibilité grâce à l'adsorption de colloïdes d'or à la surface d'une membrane.

4.2.1 Calcul théorique de la sensibilité

Pour calculer la sensibilité intrinsèque de nos structures, nous devons effectuer une analyse modale de leur oscillation. L'analyse modale décrit le comportement dynamique des structures en terme de fréquences de résonance associées à des déformées modales (ou modes de résonance). Le problème étudié consiste à faire l'analogie entre le comportement d'un système vibrant simple (masse et ressort) et un système vibrant complexe (ici une membrane vibrante).

4.2.1.1 Analyse modale

Prenons l'exemple d'une membrane carrée avec la couche de PZT de forme annulaire. Considérons les oscillations libres de cette membrane, non amortie.

$$D \left(\frac{\partial^4 w}{\partial x^4} + 2 \frac{\partial^4 w}{\partial x^2 \partial y^2} + \frac{\partial^4 w}{\partial y^4} \right) + \rho h \frac{\partial^2 w}{\partial t^2} = 0 \quad (4.1)$$

Comme pour l'étude des modes de résonance, nous considérerons que nous pouvons faire les séparations des variables x , y et t . L'oscillation de la membrane peut être aussi considérée

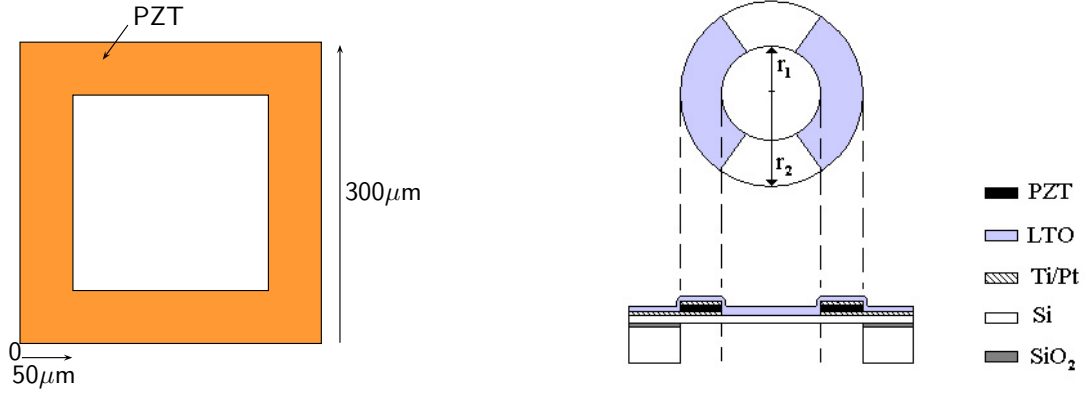


Fig. 4.8 : Calcul de sensibilité. Schématisation des membranes pour l'intégration de la masse modale. A gauche pour une membrane carrée, à droite pour une membrane circulaire avec électrodes en anneau interrompu : $r_1 = 85\mu\text{m}$ $r_2 = 150\mu\text{m}$.

comme la somme infinie de tous les modes de résonance. Pour plus de facilité de lecture, nous noterons ϕ_n et χ_m respectivement les fonctions propres d'ordre n et m selon l'axe x et y . Nous pouvons donc écrire :

$$w(x, y, t) = \sum_{n,m} \phi_n(x) \chi_m(y) q_{nm}(t) \quad (4.2)$$

Nous pouvons donc récrire l'équation différentielle comme :

$$\sum_{n,m} \left(D \frac{\partial^4 \phi_n}{\partial x^4} \chi_m q_{nm} + D \frac{\partial^4 \chi_m}{\partial y^4} \phi_n q_{nm} + \rho h \phi_n \chi_m \ddot{q}_{nm} \right) = 0 \quad (4.3)$$

Pour étudier un mode de résonance particulier (n, m) , nous multiplierons cette équation par la forme du mode considéré $(\phi_n \chi_m)$ et nous intégrerons sur la surface de la membrane. Les fonctions propres étant orthogonales entre elles, il ne reste dans la somme de l'équation précédente que les produits du mode (n, m) considéré :

$$\left(\iint_{x,y} \rho h (\phi_n \chi_m)^2 dx dy \right) \ddot{q}_{nm} + \left(\iint_{x,y} D \frac{\partial^4 \phi_n}{\partial x^4} \phi_n \chi_m^2 dx dy + \iint_{x,y} D \frac{\partial^4 \chi_m}{\partial y^4} \chi_m \phi_n^2 dx dy \right) q_{nm} = 0 \quad (4.4)$$

La multiplication et l'intégration servent à isoler le mode en question et à le rendre indépendant de la position. Nous pouvons simplifier le second membre de l'équation en réalisant une intégration par partie :

$$\left(\iint_{x,y} \rho h (\phi_n \chi_m)^2 dx dy \right) \ddot{q}_{nm} + \left(\iint_{x,y} D \left(\frac{\partial^2 \phi_n}{\partial x^2} \right)^2 \chi_m^2 dx dy + \iint_{x,y} D \left(\frac{\partial^2 \chi_m}{\partial y^2} \right)^2 \phi_n^2 dx dy \right) q_{nm} = 0 \quad (4.5)$$

En identifiant à la forme simple d'une équation différentielle d'un système masse-ressort, en posant $M_{\text{eff } nm}$ la masse équivalente et $K_{\text{eff } nm}$ la raideur effective du ressort équivalent :

$$M_{\text{eff } nm} \ddot{q}_{nm} + K_{\text{eff } nm} q_{nm} = 0 \quad (4.6)$$

on trouve alors :

$$M_{eff\ nm} = \iint_{x,y} \rho h (\phi_n \chi_m)^2 dx dy \quad (4.7)$$

$$K_{eff\ nm} = \iint_{x,y} \left(D \left(\frac{\partial^2 \phi_n}{\partial x^2} \right)^2 \chi_m^2 + \left(\frac{\partial^2 \chi_m}{\partial y^2} \right)^2 \phi_n^2 \right) dx dy$$

On appelle alors $M_{eff\ nm}$ la masse modale et $K_{eff\ nm}$ la raideur modale de la membrane pour le mode (n, m) considéré. La réponse de ce système simple du second ordre est bien connu. La pulsation de résonance d'un tel système, et bien sûr du mode analysé est

$$\omega_{nm} = \sqrt{\frac{K_{eff\ nm}}{M_{eff\ nm}}} \quad (4.8)$$

Notons que l'équation propre du mode de résonance doit être normalisée, c'est-à-dire que son maximum doit être égal à 1 dans les calculs d'intégration des équations (4.7). Par exemple, pour une membrane circulaire, la fonction propre (équation (3.22) page 67) doit vérifier

$$\phi(0, 0) = 1 \quad (4.9)$$

Cette équation 3.22 devient alors pour le premier mode de résonance (0,1) (ici $\lambda_{01} = \sqrt{10, 22}$) :

$$\phi_{(0,1)}(r, \theta) = \frac{1}{1.056} \left[J_0 \left(\frac{\lambda_{01}}{r_0} r \right) - \frac{J_0(\lambda_{01})}{I_0(\lambda_{01})} I_0 \left(\frac{\lambda_{01}}{r_0} r \right) \right] \cos \theta \quad (4.10)$$

Cependant, pour appliquer les équations (4.7) pour des membranes circulaires, il est nécessaire de faire le changement de variable en coordonnées polaires qui nous donne :

$$M_{eff\ nm} = \iint_{r,\theta} \rho h (\phi_{nm}(r, \theta))^2 r dr d\theta \quad (4.11)$$

4.2.1.2 Sensibilité théorique

La sensibilité est définie comme étant le rapport entre la variation de la fréquence de résonance induite par une variation de masse, et cette variation de masse à raideur constante :

$$S_M = \frac{df}{dM} \quad (4.12)$$

Or la fréquence de résonance, en utilisant la masse modale et la raideur modale définies précédemment, se met sous la forme :

$$f_{res} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K_{eff}}{M_{eff}}} \quad (4.13)$$

En écrivant les dérivées logarithmiques de cette équation, et en considérant toujours que K_{eff} est constant durant la réaction, on trouve

$$\frac{df}{f_{res}} = -\frac{1}{2} \frac{dM}{M_{eff}} \quad (4.14)$$

d'où la sensibilité intrinsèque de la membrane pour une résonance, qui ne dépend que de sa fréquence de résonance et de sa masse modale associée :

$$S_M = -\frac{1}{2} \frac{f_{res}}{M_{eff}} \quad (4.15)$$

Par la suite, nous noterons M_0 la masse modale associée au premier mode de résonance vibrant à la fréquence f_0 .

Nous avons calculé numériquement cette sensibilité pour deux types de membranes, une carrée avec actionnement annulaire continu et l'autre circulaire avec actionnement annulaire interrompu. Nous voyons figure 4.8 la schématisation des membranes utilisée pour l'intégration par parties de la masse modale. La masse modale calculée pour la membrane carrée s'élève à $M_0 = 5,79 \cdot 10^{-11}$ kg pour une fréquence de résonance mesurée pour le premier mode dans l'air de $f_{0,air} = 285$ kHz, la sensibilité est donc de $S_M = -2,5 \cdot 10^{15}$ Hz/kg.

En appliquant l'équation (4.11) à nos structures circulaires, nous trouvons une masse modale $M_0 = 5,70 \cdot 10^{-11}$ kg pour des épaisseurs de PZT de 800 nm, d'oxyde de 300 nm et 1,3 μ m de silicium.

Dans l'eau, nous mesurons avec la déflexion laser une fréquence de résonance de $f_{0,air} = 141,5$ kHz, ce qui abaisse la sensibilité intrinsèque à $S_M = -1,24 \cdot 10^{15}$ Hz/kg.

Pour pouvoir comparer à d'autres types de capteurs que nous avons abordés lors du premier chapitre (microbalances à quartz, capteurs à ondes de surface et à ondes de flexion) nous ramenons cette sensibilité à une sensibilité par unité de surface et par unité de fréquence, nous trouvons alors une sensibilité de $6,20$ (Hz/MHz)(ng/cm²)⁻¹. Comparons aux autres capteurs qui existent par ailleurs [2] :

| Résonateur | f [MHz] | Sensibilité [(Hz/MHz)(ng/cm ²) ⁻¹] |
|--------------------------------|-----------|---|
| QCM | 4 – 30 | 0,014 (6 MHz) |
| SAW | 30 – 500 | 0,20 (158 MHz) |
| FPW | 2 – 7 | 0,38 (20 MHz) |
| membrane à ondes stationnaires | 0,01 – 1 | 6,20 (142 kHz) |

Nous voyons dans ce tableau que notre sensibilité est largement supérieure aux dispositifs existants (quasiment 20 fois supérieure). Ceci traduit l'intérêt de la réduction en taille des dispositifs.

4.2.2 Sensibilité expérimentale

4.2.2.1 Expérience

Nous allons pouvoir extraire la sensibilité de nos structures en réalisant le suivi cinétique d'une adsorption de colloïdes d'or sur la surface des membranes au travers du suivi de la fréquence de résonance. La masse ajoutée sera quant à elle mesurée par comptage de la densité de colloïdes sur la surface au microscope électronique.

Les fréquences de résonance des membranes à actionnement piézoélectrique sont mesurées par l'utilisation du banc optique externe de déflexion de faisceau laser et de la détection synchrone (fig.3.3 page 57).

Après avoir déposé sur la cellule préparée et fonctionnalisée, la solution contenant les colloïdes d'or, nous plaçons une lame de verre sur la cellule pour deux raisons. La première est d'obtenir une surface plane pour que le faisceau laser ne soit pas défocalisé, la seconde pour limiter au maximum l'évaporation du liquide durant le temps de l'expérience.

Nous pouvons voir figure 4.9 pour différents instants de la réaction, l'évolution du pic de résonance fondamental.

4.2.2.2 Calculs

La membrane utilisée est une membrane circulaire de rayon égal à 150 μ m. Après analyse des images MEB de la membrane après deux heures d'immersion en solution conte-

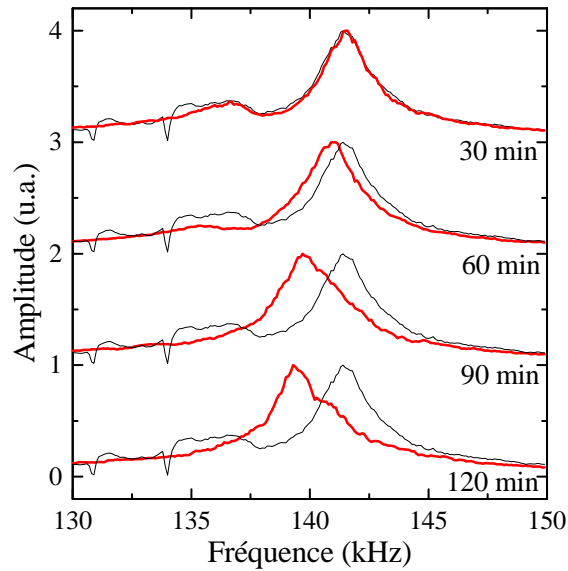


Fig. 4.9 : Spectres de résonance du premier mode de résonance, normalisés, à différents instants de la cinétique.

nant des colloïdes, on compte environ $110 \text{ colloïdes}/\mu\text{m}^2$ (cf fig.4.10). En multipliant cette valeur par la surface totale de la membrane et par l'intégrale double du carré de la fonction propre normalisée de la résonance, on obtient la masse totale distribuée de colloïdes (996 pg) déposée après deux heures de réaction :

$$M_{col\text{eff}} = d_{col}\pi r_2^2 \iint_{r,\theta} (\phi_{11}(r,\theta))^2 r dr d\theta = 996\text{pg}$$

avec d_{col} la densité surfacique de colloïdes, et r_2 le rayon total de la membrane.

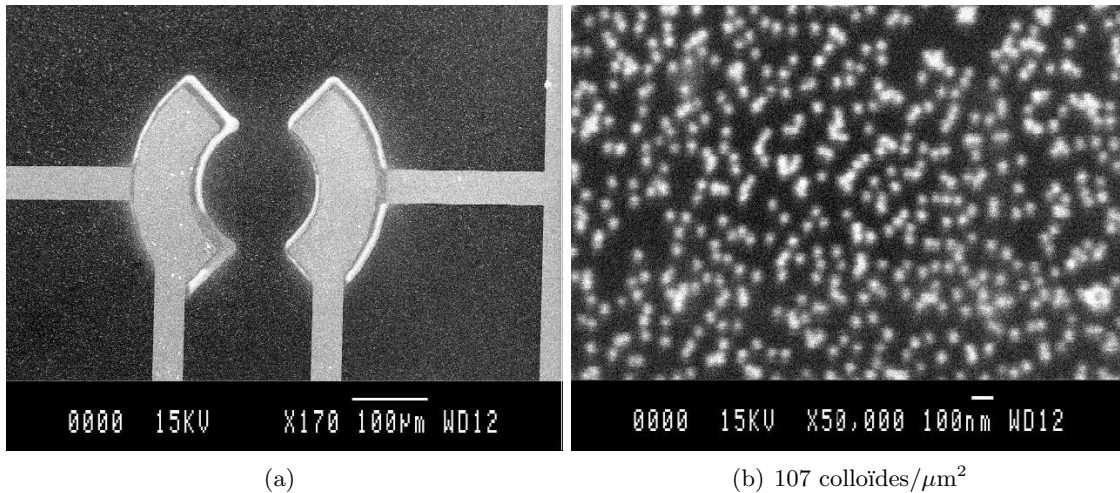


Fig. 4.10 : Images MEB d'une membrane circulaire à excitation annulaire interrompue couverte de colloïdes d'or de 40 nm de diamètre après 2 heures d'adsorption à pH 3,7.

Nous pouvons multiplier cette masse par la sensibilité théorique calculée de la membrane ($-1,24 \text{ Hz/pg}$) on obtient alors un déplacement théorique du pic de résonance de 1,24 kHz. Nous avons tracé, figure 4.11, la courbe de la cinétique de réaction d'adsorption durant 125 minutes. Nous pouvons constater que nous avons mesuré une variation de 2 kHz entre 15 min et 120 min. Notons que sur cette courbe nous ne disposons pas de la mesure

de l'instant initial t_0 mais seulement de l'instant $t = 15$ min. Cette durée correspond au temps nécessaire pour sceller la cellule fluïdique, puis pour régler le faisceau laser avant d'effectuer la première mesure. Remarquons cependant qu'en remontant vers les premiers instants, la forme de la courbe se stabilise, nous assurant que la variation durant les quinze premières minutes est négligeable devant la suite du phénomène. Cette durée pourrait être réduite en faisant circuler dans la cellule fluïdique une solution tampon pour étalonner la mesure, puis la solution contenant les colloïdes.

D'autre part, on calcule à partir de la Figure 4.11 une variation moyenne, sur deux heures, du dépôt de colloïdes de l'ordre de -16 Hz/min. En divisant cette variation par la sensibilité théorique de la membrane ($-1,24$ Hz/pg) et par la masse distribuée d'une seule particule (densité de l'or multipliée par le volume d'un colloïde multiplié par l'intégrale double du carré de la fonction propre du mode de résonance), on obtient la densité surfacique de colloïdes déposés par minute ($1,42$ col. $\mu\text{m}^{-2}\text{min}^{-1}$).

En multipliant cette valeur par le temps total d'observation de la cinétique (120 min), on obtient une densité de surface finale de dépôt de 170 colloïdes/ μm^2 (à comparer avec le comptage initial sur la photo MEB 4.10).

$$d_{col} = \frac{\Delta f / \Delta t}{S_{M_{th}} m_{col} \iint_{r,\theta} (\phi_{11}(r,\theta))^2 r dr d\theta} \Delta t = 170 \text{ colloïdes} / \mu\text{m}^2$$

Calculons la sensibilité expérimentale à partir de cette variation de fréquence et de cette masse distribuée de colloïdes :

$$S_{M_{exp}} = \frac{\Delta f}{\Delta M} = -2,01 \text{ Hz/pg}$$

à comparer avec la sensibilité intrinsèque théorique calculée ($-1,24$ Hz/pg), cela fait une différence de 38% (cf tableau 4.1).

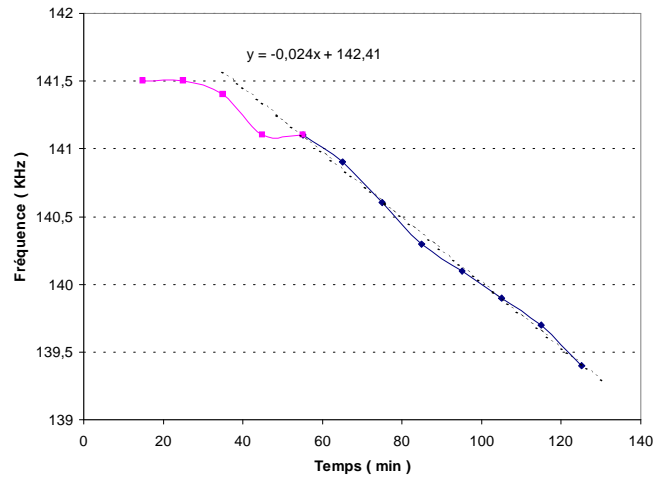


Fig. 4.11 : Évolution de la fréquence de résonance en fonction du temps lors de l'adsorption de colloïdes à la surface de la membrane.

4.2.2.3 Commentaires

Nous venons de voir que nous avons une différence de 38% entre la sensibilité mesurée et théorique, et que la sensibilité expérimentale était plus élevée que la sensibilité théorique. Examinons les sources possibles d'incertitude sur la mesure de la sensibilité.

Tout d'abord, une marge d'erreur due au comptage des colloïdes sur la photographie MEB (fig.4.10) permettrait de justifier une variation de 10% entre la mesure de la sensibilité expérimentale et le calcul de la sensibilité théorique.

| Théorique | Expérience |
|---|---|
| $S_{M_{th}} = -\frac{1}{2} \frac{f_0}{M_0}$ | $S_{M_{exp}} = \frac{\Delta f}{\Delta M}$ |
| -1,24 Hz/pg | -2,01 Hz/pg |

Tab. 4.1 : Tableau récapitulatif sur la sensibilité

Mais d'autres paramètres peuvent intervenir, comme une désorption (ou un décrochage) de colloïdes au moment du rinçage et séchage des colloïdes en surface. Cet effet aurait effectivement pour conséquence une surévaluation lors du suivi fréquentiel (fig.4.11) du nombre de colloïdes réellement adsorbés et comptés par la photographie MEB. Cependant, nous avons réalisé des expériences pour voir si les colloïdes peuvent être facilement désorbés. Des échantillons avec colloïdes déjà adsorbés que nous avons visualisés au MEB, ont été placés en solution à pH basique et avec sonication. Après rinçage et séchage, nous avons pu observer que les colloïdes n'étaient pas désorbés. Ceci montre qu'une fois les colloïdes adsorbés et séchés, il n'est pas possible de les désorbés.

Enfin, une dernière explication concerne l'oscillation de la membrane d'une amplitude de quelques centaines de nanomètres qui génère une longueur caractéristique de détection plus élevée par exemple qu'une onde évanescente d'un système de type plasmons de surface (cf chapitre 1.1.4.1). L'oscillation de la membrane pourrait donc ainsi être à l'origine d'une détection de masse parasite de colloïdes en suspension se trouvant dans cette longueur caractéristique mais qui ne sont pas adsorbés (cf fig.4.12). Nous voyons ici l'intérêt de travailler avec un système fluïdique où une circulation de liquides permettrait de rincer en continu avec une solution tampon et permettrait ainsi de s'affranchir de ce biais.

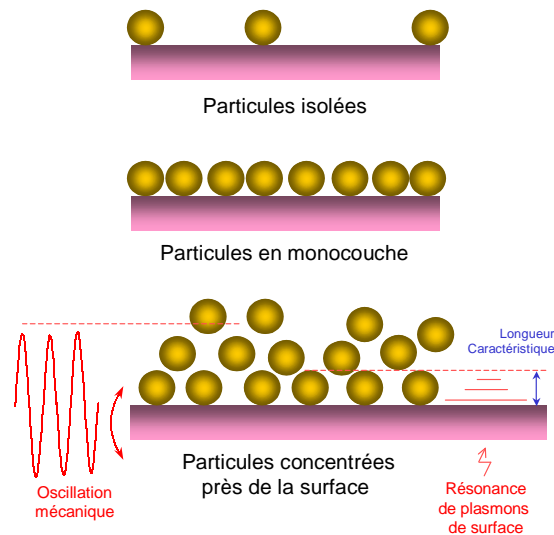


Fig. 4.12 : Schématisation de l'évolution de l'adsorption des colloïdes sur la surface de la membrane et présentation des longueurs caractéristiques.

4.2.3 Minimum de détection

La sensibilité étant calculée, il est nécessaire de déterminer le minimum détectable ou détectivité. Lavrik et al [3] donnent un ordre de grandeur de $\frac{\Delta f_{min}}{f_0} = 10^{-4}$ pour l'instabilité de fréquence de résonance de microleviers lorsque le coefficient de qualité de la résonance est faible ou modéré (inférieur à 1000).

Nous prendrons ici le cas défavorable d'une variation minimum de 100 Hz pour une fréquence de 150 kHz, ce qui donne $\frac{\Delta f_{min}}{f_0} = 6 \cdot 10^{-4}$, d'où

$$\Delta M_{min} = 2M_0 \frac{\Delta f_{min}}{f_0} = 68 \text{ pg}$$

soit une densité surfacique minimum détectable de 5,3 ng/mm², ce qui correspond à une densité de colloïdes sur la surface de la membrane de 7 colloïdes par μm².

Si nous comparons ces résultats à des résultats obtenus sur des FPW (5,5MHz) ou SAW (300MHz), les minima de détection relevés [4] sont de l'ordre de 8 pg/mm². Cette différence est essentiellement due au coefficient de qualité qui est, dans notre cas, de l'ordre de la dizaine en milieu liquide, alors que pour des résonateurs de type FPW ou SAW il est 10000 fois plus élevé (pour ce type de résonateur, il est possible de prendre comme $\frac{\Delta f_{min}}{f_0}$ une valeur de l'ordre de 10⁻⁸). L'intégration de systèmes électronique d'amplification du facteur de qualité permettrait d'améliorer ce seuil de détection.

4.2.4 Validation de la cinétique observée

Nous avons pu, par la mesure de la variation de fréquence du premier pic de résonance, mesurer une cinétique d'adsorption de colloïdes sur une surface d'oxyde de silicium fonctionnalisée par des aminosilanes. Lors de cette expérience, il n'est pas possible d'interrompre le phénomène pour réaliser une image de l'état de la surface à un instant donné.

Essayons néanmoins de valider cette cinétique en observant des échantillons tests placés dans une même solution de colloïdes à divers instants. Si les protocoles expérimentaux restent similaires à l'expérience précédente, l'environnement quant à lui n'est pas comparable dans la mesure où les échantillons n'ont pas été positionnés à l'intérieur de la cellule fluide. Les observations au microscope électronique à balayage de la figure 4.13 permettent cependant de voir cette augmentation du nombre de colloïdes au cours du temps, et de valider la tendance visualisée par le suivi cinétique.

Nous venons d'observer la cinétique d'adsorption de colloïdes d'or chargés négativement sur une surface d'oxyde de silicium fonctionnalisée par des aminosilanes (fonction amine chargée positivement). Cette adsorption se déroule dans un premier temps avec une surface homogène positive vierge vers laquelle sont attirés les particules chargées négativement. Au fur et à mesure que se déroule cette adsorption, la surface se remplit de colloïdes, modifiant par conséquent l'attraction initiale de la surface, en effet un colloïde est repoussé par les autres colloïdes mais est attiré par la surface, il se positionne donc dans les interstices vacants. C'est ce phénomène qui explique le remplissage uniforme de la surface.

Nous avons calculé et mesuré la sensibilité de nos membranes, voyons maintenant comment une réduction des dimensions d'un facteur 6 modifierait cette sensibilité. Les nouvelles dimensions des membranes seraient de 50μm de diamètre et de 210nm d'épaisseur. Ces dimensions sont encore réalisables en utilisant des substrats SOI et la photolithographie classiques. Cette simple homothétie nous permet de conserver la proportionnalité entre les fréquences actuelles mesurées et extrapolées en considérant les contraintes constantes. En effet, nous l'avons déjà aperçu, la fréquence de résonance d'une membrane d'épaisseur h et de rayon r en fonction de la contrainte σ peut être mise sous la forme :

$$f = f_0 \left(1 + C\sigma \frac{r}{h}\right) \quad (4.16)$$

Si on garde le même rapport de proportionnalité pour r et h , la fréquence de résonance sous l'effet d'une contrainte peut alors s'écrire :

$$f = kf_0 \quad (4.17)$$

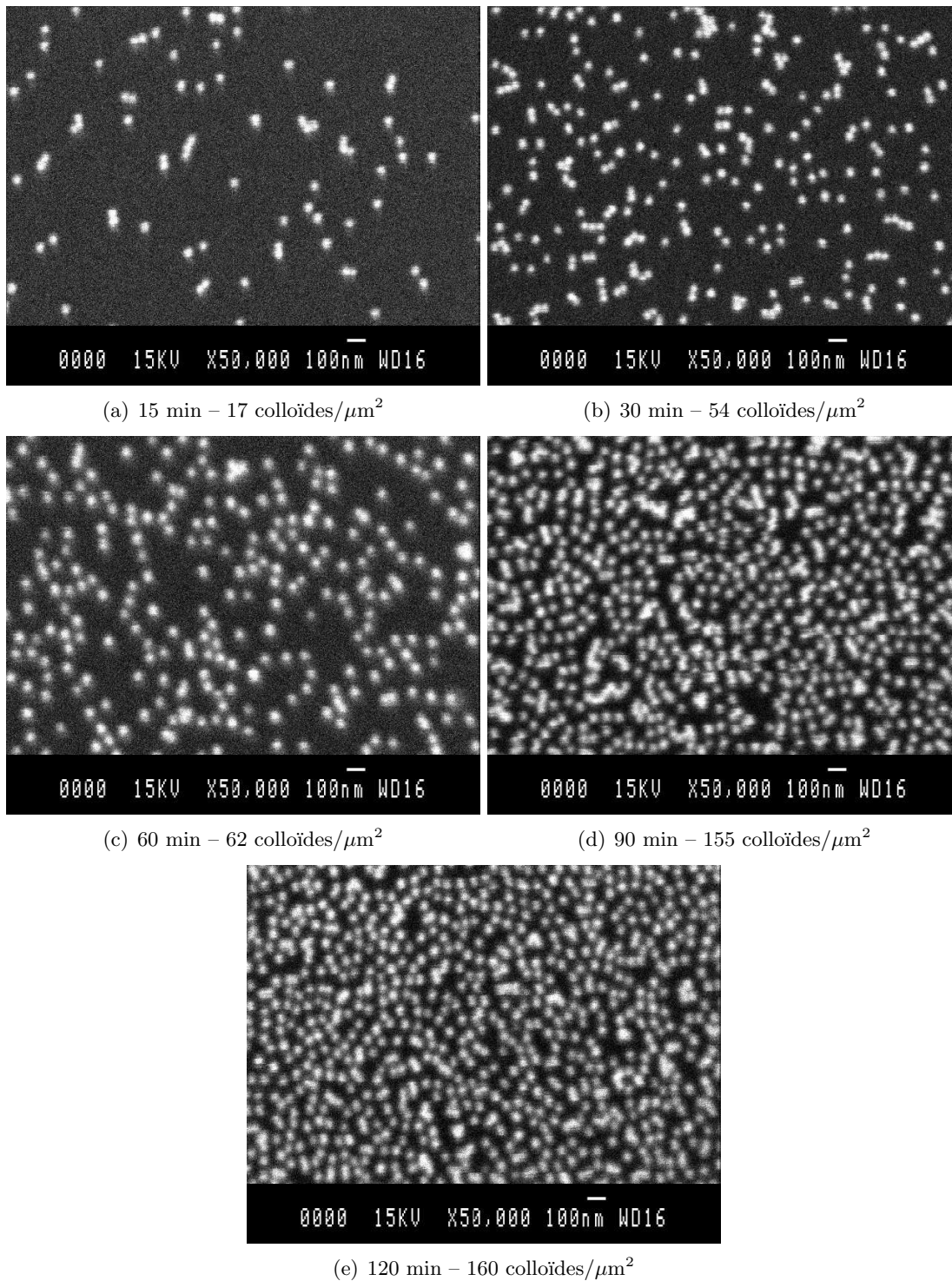


Fig. 4.13 : Images MEB d'échantillons après immersion dans une solution à pH 3,7 de colloïdes après différentes durées d'incubation.

avec k indépendant du facteur d'échelle choisi. Ici, nous avons choisi un facteur d'échelle égal à $1/6$, sachant que f_0 est proportionnel à $\frac{h}{\tau^2}$, la fréquence de résonance serait donc multipliée par 6.

La masse effective, selon le même modèle qu'au paragraphe 4.2.1.2, est diminuée selon un facteur 167. La nouvelle sensibilité est donc $S' = 6 \times 167 S$, d'où ;

$$S' = 1000 S$$

Cette constatation montre bien l'intérêt de la réduction en taille des dispositifs actuels et leur conséquences sur leur sensibilité. Cela nous laisse entrevoir la possibilité de mesurer des réactions sans marquage avec des nanoparticules d'or.

Quoi qu'il en soit, avec les dimensions actuelles, les résultats obtenus concernant les mesures de cinétiques d'adsorption de nanoparticules d'or sur la surface de membranes piézoélectriques sont très concluants. Ces résultats ouvrent des perspectives très prometteuses car une grande variété de nanoparticules fonctionnalisées avec des biomolécules est proposée sur le marché. Nous pouvons ainsi véritablement parler de biocapteur en utilisant ce type de nanoparticules et en fonctionnalisant la surface de la membrane piézoélectrique avec des biomolécules permettant d'envisager une reconnaissance type récepteur–ligand comme le montre la figure 4.14.

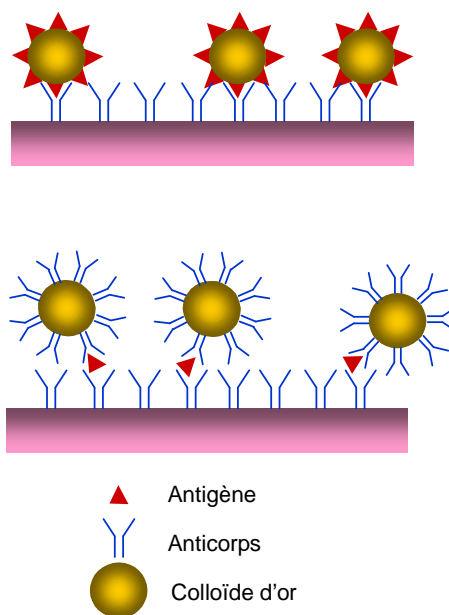


Fig. 4.14 : Deux types de bioreconnaitances type Antigène–Anticorps mettant en œuvre des colloïdes d'or pour augmenter la sensibilité.

4.3 Vers une biopuce : fabrication de leviers pour des dépôts biologiques localisés sur membranes piézoélectriques

Comme nous l'avons souligné, la fonctionnalisation de la surface de membranes piézoélectriques revêt un caractère primordial pour fabriquer un biocapteur. De plus, pour véritablement envisager de parler de biopuces, nous devons être capables d'utiliser un ensemble de biocapteurs — des membranes piézoélectriques dans notre cas — dont la surface aura été fonctionnalisée avec une couche biomoléculaire différente.

Il s'agit donc de mettre en place un système de dépôt performant et non destructif vis-à-vis de nos dispositifs. Le travail de thèse de Pascal Belaubre porte précisément sur la mise en place d'un système robotisé de dépôts d'espèces biologiques. Dans ce travail, nous avons collaboré pour fabriquer des structures de type microleviers dans une filière technologique basée sur les techniques de fabrication collective issues de la microélectronique sur silicium [5].

De plus, les techniques actuelles de fabrication de biopuces ne permettent pas de descendre en dessous du picolitre pour le volume de liquide déposé. En outre, au niveau de la densité d'intégration, seule la technique brevetée par Affymetrix permet de fabriquer des puces comprenant plus de 10 000 spots. Les autres techniques avec ou sans contact sont réservées à des puces de faibles et moyennes densités. Rares sont celles qui permettent de déposer des liquides avec ou sans contact avec le même système. Les méthodes de dépôt par jet d'encre sont limitées quant au nombre de solutions pouvant être déposées en même temps. Les techniques de dépôt par contact sont arrivées à leur limite en ce qui concerne le volume minimum pouvant être déposé avec une micro-aiguille en métal. Pour descendre en dessous, il faut utiliser d'autres types de microstructures.

Le système nous avons développé est parfaitement compatible avec les techniques de fabrication de biopuces que ce soit des puces à ADN, puces à protéines, puces à cellules. . .

Nous proposons ici de décrire les deux évolutions, basées sur la réduction en dimension du principe des systèmes commerciaux.

4.3.1 Description des systèmes commerciaux, et adaptation aux microtechnologies

Les pointes commerciales sont des cylindres généralement en acier inoxydable usinés par électro-érosion. Ces pointes sont montées sur des robots pour la fabrication de puces à ADN de type « Pat Brown »³ sur lames de verre. Nous pouvons voir une plume en action figure 4.15. Les flancs du cylindre sont érodés selon une forme pyramidale. Une tranchée part depuis le sommet de cette pyramide, c'est cette fente qui recevra le liquide à déposer.

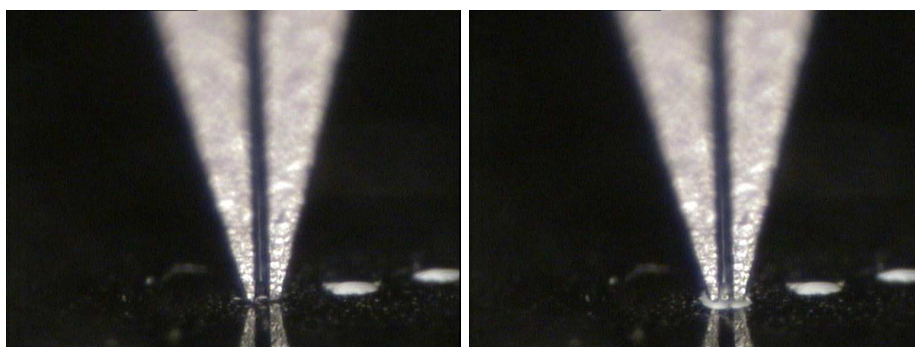


Fig. 4.15 : Plume commerciale en action.

³<http://cmgm.stanford.edu/pbrown/>

Le fonctionnement de ce type de pointe est similaire à celui d'une plume d'écolier. La fente retient le liquide par capillarité. On trempe la pointe directement dans le liquide pour la charger. Lorsque la plume touche la lame de verre, une goutte se forme à l'extrémité et diffuse le temps que la plume reste en contact avec le verre. Lors du retrait de la pointe, la goutte reste en partie sur la lame de verre, constituant le dépôt désiré.

Ce système de plume est relativement simple à adapter pour les microtechnologies. Nos dessins s'approchent plus d'une plume d'écriture : plate et fendue à la place d'un cylindre fendu. Une réduction de l'échelle est simplement mise en œuvre. La plume en elle-même sera un microlevier en silicium. Son extrémité comportera la fente. Pour la taille de cette fente, afin de travailler « confortablement » en photolithographie, nous prendrons une dimension de $5\mu\text{m}$.

4.3.2 Premier essai de plumes micro-usinées

Les premiers dessins de plumes micro-usinées ont été réalisés par Benoît Belier⁴ (cf fig.4.16). Elles comportent un réservoir rectangulaire (largeur $40\mu\text{m}$ longueur $250\mu\text{m}$) à l'extrémité de la fente. La fente est assez courte ($50\mu\text{m}$ et $5\mu\text{m}$ de largeur). La configuration retenue fut de 4 leviers en parallèle, l'espacement entre chaque levier est de $900\mu\text{m}$, la longueur d'un levier étant de $500\mu\text{m}$, sur $120\mu\text{m}$ de large.

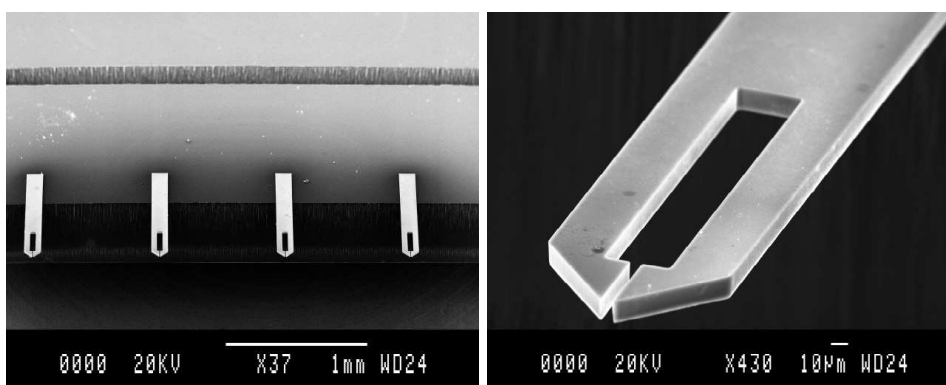


Fig. 4.16 : Photographies MEB de plumes de première génération.

Le déroulement de la microfabrication est le suivant. Le substrat de base est un substrat classique oxydé (6000\AA) sur lequel on dépose 9000\AA de nitrure de silicium (SiN_x) par LPCVD⁵, la stoechiométrie et les conditions de dépôts ont été optimisées pour minimiser les contraintes de ce film.

Deux étapes de photolithographies suffisent. La première est utilisée pour graver les profils des leviers. La gravure est réalisée par gravure ionique réactive (DRIE-ICP), le film d'oxyde de silicium servant de couche d'arrêt à la gravure. Enfin, une photolithographie en face arrière suivie d'une gravure profonde du silicium et de l'oxyde sont réalisées pour libérer les leviers.

Les essais réalisés alors ont démontré la possibilité de réaliser des dépôts, voir figure 4.17. L'utilité du réservoir n'a pu être cependant montré car si nous arrivions à faire tenir un film de liquide, ce film avait une durée de vie trop faible (moins de 5 secondes). La principale raison provient des parties anguleuses qui rendent le film instable. Deuxième enseignement, avec ces dimensions, le réservoir présentait peu d'intérêt car les leviers étant assez courts, on pouvait bloquer une goutte entre le flanc du substrat et la face arrière des leviers, créant ainsi une grosse réserve de liquide.

⁴Post-doc au LAAS-CNRS 2000–2001

⁵Low Pressure Chemical Vapor Deposition

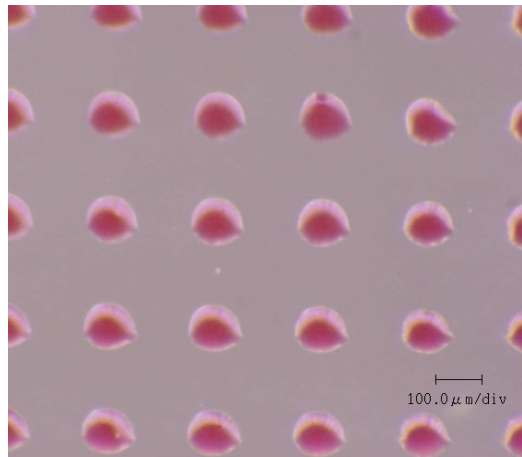


Fig. 4.17 : Dépôts réalisés avec des plumes de première génération : distance interspot $200\mu\text{m}$, diamètre moyen des spots $80\mu\text{m}$.

Fort de ces enseignements, nous avons pensé qu'il serait intéressant de réaliser de nouvelles générations de leviers afin de déterminer si le réservoir avait une réelle utilité.

4.3.3 Deuxième génération de plumes micro-usinées

4.3.3.1 Pourquoi une deuxième génération ?

Les questions qui se posaient suite à la fabrication de la première génération de leviers étaient « comment faire tenir le liquide dans le réservoir ? », « le réservoir est-il réellement utile ? », « Comment agir sur le liquide pour aider la capillarité ? »

Pour répondre à ces questions, nous avons décidé de réaliser 4 types de leviers : avec réservoir ou sans réservoir, et avec la fente (et le réservoir) débouchante ou non-débouchante cf fig.4.18. Nous avons, pour répondre à la dernière question, intégré une électrode métallique longeant le canal et le réservoir. Cette électrode sera passivée par un film d'oxyde de silicium et permettra de modifier les propriétés de mouillabilité de la surface en vis-à-vis.

4.3.3.2 Protocole de fabrication.

Par rapport au procédé précédent, les étapes technologiques sont ici réalisées sur des substrats SOI ($525\text{-}1\text{-}5\mu\text{m}$) (à suivre sur la figure 4.19).

La première étape (**A**) est un dépôt (épaisseur 1000\AA) d'oxyde de silicium par LPCVD, servant d'isolant entre le substrat et les métallisations suivantes. En (**B**), on réalise un *lift-off* des pistes métalliques ($AlSi$, 8000\AA) suivi d'un recuit (450°C 20min). La dernière étape (**C**) de la partie élaborations de couches minces est un deuxième dépôt LPCVD d'oxyde de silicium (4000\AA) pour isoler les métallisations du liquide. Ce dépôt est suivi d'une photolithographie pour accéder aux plots de contacts des métallisations par attaque chimique de l'oxyde de silicium.

Pour débiter le micro-usinage, une photolithographie suivie d'un gravure RIE détermine les contours des leviers (**D**) dans l'oxyde puis le silicium. Lors de la gravure des profils des leviers, plusieurs possibilités sont envisageables selon le profil désiré. Pour des leviers à canal débouchant (traversant toute l'épaisseur du levier) avec ou sans réservoir, une seule étape de gravure suffit en arrêtant la gravure du silicium sur la couche d'oxyde du SOI. Cependant, pour la gravure de structures non-débouchantes, deux gravures doivent être réalisées consécutivement.

Enfin, une photolithographie en face arrière suivie d'une gravure profonde du silicium et de l'oxyde enterré sont réalisées pour libérer les leviers.

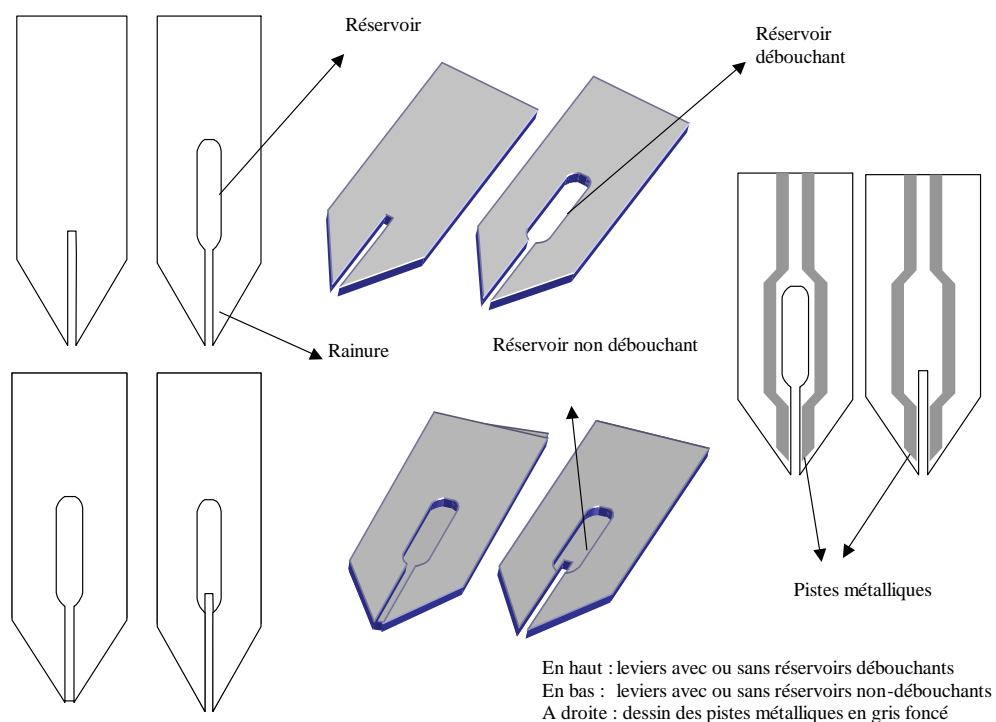


Fig. 4.18 : Différents types de microleviers pour dépôt de produits biologiques.

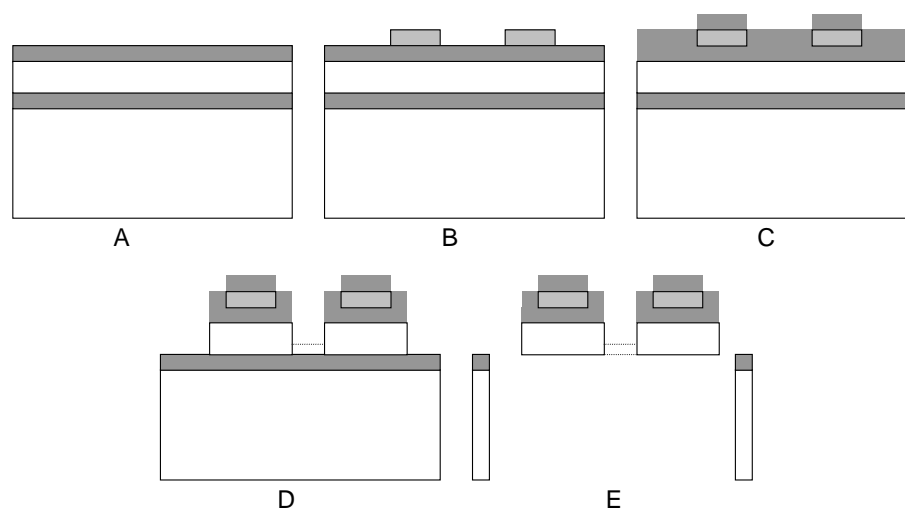


Fig. 4.19 : Étapes technologiques nécessaires à la réalisation des microleviers pour dépôt de produits biologiques.

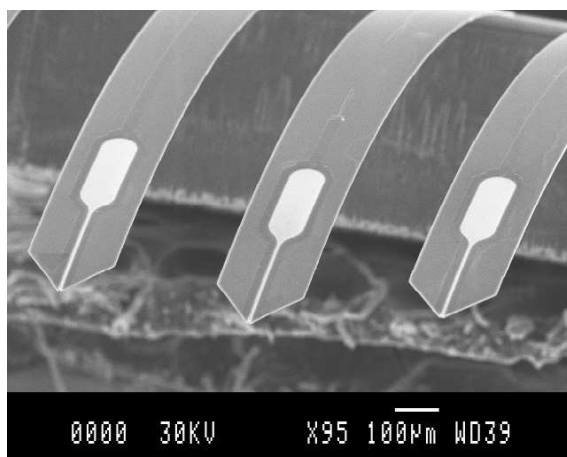


Fig. 4.20 : Image MEB de plumes avec réservoir et canal non débouchants.

4.3.3.3 Expérimentations réalisées.

Ce système doit permettre de déposer de manière automatisée (sous forme de matrice le plus souvent) des solutions contenant des biomolécules (brins d'ADN, produits de PCR, protéines, cellules...) plus ou moins visqueuses sur des surfaces telles que du verre, du propylène, du nylon, du silicium, de l'or...

La deuxième étape était donc l'utilisation de nos leviers, de nos pointes, bien moins onéreuses et dont les dimensions laissaient entrevoir la possibilité de réaliser des dépôts plus petits que ceux que l'on peut trouver aujourd'hui.

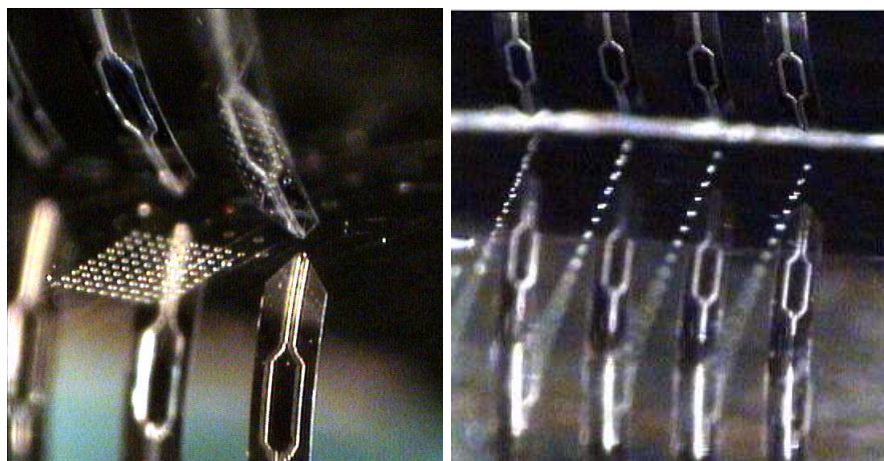


Fig. 4.21 : Dépôts réalisés avec les plumes de deuxième génération.

Les résultats obtenus par contact sont visibles sur les figures 4.21. La taille des spots obtenus (5 à 30 microns) est donc très satisfaisante car bien en deçà de l'état de l'art actuel.

Une deuxième étude sur le temps de contact (cf fig.4.22) montre que plus la durée du contact est importante, plus la taille du spot augmente. La loi empirique extraite de ces mesures montre que le diamètre augmente de manière linéaire avec la racine carrée du temps.

Enfin, comme nous pouvons le voir en figure 4.23, nous sommes capables de déposer des gouttes sur des microleviers. Les membranes étant moins fragiles que les leviers, nous montrons figure 4.24 que nous pouvons aussi déposer individuellement sur chaque

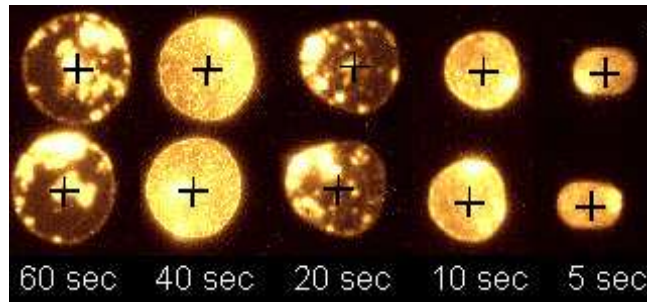


Fig. 4.22 : Étude de l'effet du temps de contact sur la taille des spots, l'intervalle inter-spot est de $70\mu\text{m}$.

membrane de notre puce des solutions biologiques.

Les développements en cours portent d'une part sur l'intégration de jauges de contraintes piézorésistives sur les microleviers afin de déterminer l'instant, la force et la durée de contact, et d'autre part sur des travaux dirigés vers le remplissage des quatre leviers de manière indépendante afin de fonctionnaliser chaque membrane d'une matrice 4×4 .



Fig. 4.23 : Dépôts réalisés sur des microleviers de $50\mu\text{m}$ de largeur.

4.4 Conclusion

Nous venons de décrire l'intégration de nos dispositifs dans un environnement fluide thermorégulé simple. Ce système nous permet de placer nos structures vibrantes dans un liquide. Nous avons ensuite calculé puis déterminé expérimentalement la sensibilité de nos dispositifs. Pour ce faire nous avons visualisé la cinétique d'adsorption de nanoparticules d'or chargées négativement sur nos membranes fonctionnalisées (chargées positivement). Les résultats de cette réaction donnent une sensibilité aux alentours de -2Hz/pg avec un minimum détectable d'environ 100pg/cm^2 . Ce résultat, ramené par unité de surface et de fréquence est 20 fois supérieur à celui obtenu généralement avec les autres types de capteurs piézoélectriques acoustiques (microbalances à quartz, capteurs à ondes de surface ou de flexion).

Dans un deuxième temps, nous avons proposé un système permettant de fonctionnaliser individuellement chaque membrane. Ce système de dépôt de solutions biologiques nous permettra à terme de finaliser ce projet concernant la conception et la fabrication de biopuces. Nous avons aussi montré qu'il était possible avec ce système, de déposer des liquides sur des structures extrêmement fragiles de type microleviers et micromembranes sans les détériorer.

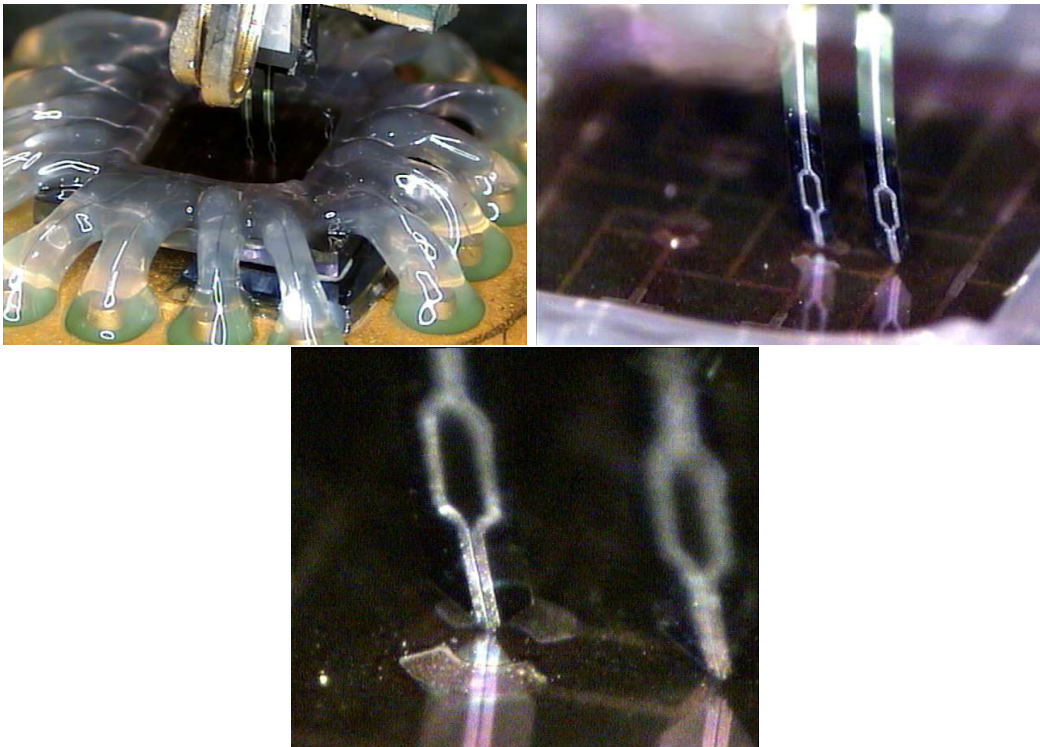


Fig. 4.24 : Utilisation des microleviers de dépôt sur les micromembranes à actionnement piézoélectrique.

Nous avons présenté les différents types de détections possibles de biocapteurs, et nous l'avons vu, la détection mécanique permet le suivi d'adsorption de nanoparticules d'or sur des structures microscopiques, leur sensibilité augmentant avec la miniaturisation. Notre objectif était de réaliser un biocapteur sensible à plusieurs réactions simultanées et dont la transduction ou la mesure du phénomène est intégrée au support. Pour cela, nous nous sommes orientés vers la détection mécanique et plus précisément vers une matrice de membranes à actionnement intégré piézoélectrique. Ce type de structure donne une grande souplesse d'utilisation vis-à-vis des protocoles biologiques.

Les technologies de fabrication issues de la microélectronique sur silicium nous permettent de concevoir en parallèle nos dispositifs micromécaniques. Nous avons montré comment, en partant d'un matériau piézoélectrique et son mode de dépôt choisi — le PZT déposé par pulvérisation RF magnétron — nous avons pu procéder à son intégration dans le procédé de fabrication des microstructures. L'évolution et la maturation des procédés technologiques utilisés nous a permis de modifier avec une plus grande liberté la géométrie des électrodes et également de fabriquer d'autres types de structures comme des leviers et des ponts utiles pour la caractérisation mécanique.

Nous avons ensuite vu que nous pouvions effectuer une extraction du coefficient d_{31} traduisant des propriétés piézoélectriques du PZT cohérentes à partir d'hypothèses simplificatrices. Nous avons ensuite observé les propriétés mécaniques des membranes afin de pouvoir définir des conditions d'utilisation optimales avec lesquelles nous nous affranchissons des phénomènes non-linéaires. Nous avons également répertorié les modes de résonance ainsi que leur fréquence de résonance associée. Ces travaux étaient complémentaires pour utiliser nos dispositifs en tant que capteurs, cependant, une étude rigoureuse devrait être menée sur le vieillissement et la fatigue tant électrique que mécanique du PZT en film mince.

Nous avons finalement décrit l'intégration de nos dispositifs dans un environnement fluide thermorégulé simple. Ce système nous permet de positionner nos structures vibrantes dans des solutions biologiques. Nous avons déterminé la sensibilité de nos dispositifs. Pour ce faire nous avons visualisé la cinétique d'adsorption de nanoparticules d'or sur nos membranes fonctionnalisées. Les résultats de cette réaction donnent une sensibilité de l'ordre de 2Hz/pg avec un minimum détectable d'environ 5ng/cm². Cette sensibilité, ramenée par unité de surface et de fréquence est 20 fois supérieure à celle obtenue pour d'autres types de capteurs piézoélectriques acoustiques (microbalances à quartz, capteurs à ondes de surface ou de flexion). Nous avons ensuite présenté un système permettant de fonctionnaliser individuellement chaque membrane. Nous avons aussi montré qu'il était possible avec ce système, de déposer des liquides sur des structures extrêmement fragiles sans les détériorer. Ce système de dépôt de solutions biologiques nous permettra à court terme de finaliser le projet de réalisation de biopuces.

Nos dispositifs présentent donc des caractéristiques encourageantes, même si des améliorations sont envisageables. En premier lieu, nous devons intégrer la détection de la résonance sur les membranes pour nous affranchir de la détection optique externe. Pour cela, il faut, sur une même membrane, dédier des pastilles piézoélectriques à l'actionnement et d'autres à la détection. Une autre approche consisterait à intégrer, au niveau des encastrements de la membrane, des piézorésistances, véritables jauges de contraintes.

L'aspect fabrication est aussi un point sur lequel des travaux restent à accomplir. Nous pensons à la compensation des contraintes, l'augmentation de la résistance de fuite du PZT, l'optimisation des géométries des électrodes, une étude sur la fatigue et le vieillissement du PZT...

Nous avons aussi vu qu'en diminuant d'un facteur 6 les dimensions des membranes nous devrions gagner un facteur 1000 sur la sensibilité. La miniaturisation est donc à envisager, toutefois elle nous conduira à recourir à d'autres techniques de fabrication qui ont véritablement trait aux nanotechnologies (masqueurs électroniques, faisceaux d'ions...), mais nous imposera de maîtriser de manière plus fine la qualité des couches minces déposées (contraintes, résistivité, piézoélectricité...). Elle aurait aussi peut-être pour conséquence de fragiliser les structures, cependant pour la fonctionnalisation des structures, le système de dépôt par microleviers resterait approprié par sa faible force de contact.

Enfin, on peut aussi envisager d'intégrer un système d'adressage, de type électrochimique ou diélectrophorétique sur les membranes, soit pour fonctionnaliser les surfaces, soit pour concentrer localement au niveau de la membrane les molécules à détecter, augmentant de ce fait la sensibilité du capteur. Et en poussant la réflexion, on peut aussi imaginer un système à « double détente » combinant les deux derniers procédés sur chaque membrane : un adressage mécanique (fluidique) grossier suivi d'une concentration électrochimique dans un deuxième temps.

Bibliographie : Chapitre 1

- [1] Robert F. SERVICE. Microchip arrays put DNA on the spot. *Science*, 282(5538):396–399, 1998.
- [2] P. B. LUPPA, L. J. SOKOLL, et D. W. CHAN. Immunosensors - principles and applications to clinical chemistry. *Clin. Chim. Acta*, 314(1-2):1–26, 2001.
- [3] D.R. THEVENOT, K. TOTH, R.A. DURST, et G.S. WILSON. Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification. *Biosensors and Bioelectronics*, 16(1-2):121–131, 2001.
- [4] S. OTSUKI, k. ADACHI, et T. TAGUCHI. A novel fiber-optic gas sensing arrangement based on an air gap design and an application to optical detection of humidity. *Analytical Sciences*, 14(3):633–635, 1998.
- [5] Peter SCHUCK. Use of surface plasmon resonance to probe the equilibrium and dynamic aspects of interactions between biological macromolecules. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 26:541–546, 1997.
- [6] J. HOMOLA, S.S. YEE, et G. GAUGLITZ. Surface plasmon resonance sensors: Review. *Sensors and Actuators B*, 54:3–15, 1999.
- [7] P. BERGVELD. 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):1–20, 2003.
- [8] Adam HELLER. Amperometric biosensors. *Current Opinon in Biotechnology*, 7:50–54, 1996.
- [9] V. M. MIRSKY, C. KRAUSE, et K. D. HECKMANN. Capacitive sensor for lipolytic enzymes. *Thin Solid Films*, 284-285:939–941, 1996.
- [10] D ROYER et E DIEULESAINT. *Ondes elastiques dans les solides*, volume 1-2. Masson, 1999.
- [11] D.R. BASELT, G.U LEE, et R.J. COLTON. Biosensor based on force microscope technology. *J. Vac. Sci. Technol. B*, 14(2):789–793, 1996.
- [12] M. SU, S. LI, et V.P. DRAVID. Microcantilever resonance-based adn detection with nanoparticle probes. *Applied Physics Letters*, 82(20):3562–3564, 2003.
- [13] E.A.J. REITS et J.J. NEEFJES. From fixed to FRAP: measuring protein mobility and activity in living cells. *Nature Cell Biology*, 3(6):E145–E147., 2001.
- [14] Shimon WEISS. Measuring conformational dynamics of biomolecules by single molecule fluorescence spectroscopy. *Nature Structural Biology*, 7(9):724–729, 2000.
- [15] Paul R. SELVIN. The renaissance of fluorescence resonance energy transfert. *Nature Structural Biology*, 7(9):730, 2000.
- [16] T. HEYDUK et E. HEYDUK. Molecular beacons for detecting DNA binding proteins. *Nature Biotechnology*, 20:171–176, 2002.

- [17] L. Andrew LYON, Michael D. MUSICK, et Michael J. NATAN. Colloidal au-enhanced surface plasmon resonance immunosensing. *Analytical Chemistry*, 70:5177–5183, 1998.
- [18] D. PORATH, A. BEZRYADIN, S. de VRIES, et C. DEKKER. Direct measurement of electrical transport through DNA molecules. *Nature*, 403:635–638, 2000.
- [19] W. LAUREYN, D. NELIS, P. Van GERWEN, K. BAERT, L. HERMANS, R. MAGNÉE, J.-J. PIREAUX, et G. MAES. Nanoscaled interdigitated titanium electrodes for impedimetric biosensing. *Sensors and actuators B*, 68:360–670, 2000.
- [20] Christof M. NIEMEYER. Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: Biotechnology meets materials science. *Angewandte Chemie International Edition*, 40(22):4128–4158, 2001.
- [21] J. WANG, F. SONG, et F. ZHOU. Silver-enhanced imaging of DNA hybridization at DNA microarrays with scanning electrochemical microscopy. *Langmuir*, 18:6653–6658, 2002.
- [22] T. ABE et M. ESASHI. One-chip multichannel quartz crystal microbalance (QCM) fabricated by deep RIE. *Sensors and Actuators A*, 82:139–143, 2000.
- [23] D. R. BASELT, G. U. LEE, M. NATESAN, S. W. METZGER, P. E. SHEEHAN, et R. J. COLTAN. A biosensor based on magnetoresistance technology. *Biosensors and Bioelectronics*, 13:731–739, 1998.
- [24] M. M. MILLER, P. E. SHEEHAN, R. L. EDELSTEIN, C. R. TAMANAHA, L. ZHONG, S. BOUNNAK, L. J. WHITMAN, et R. J. COLTON. A DNA array sensor utilizing magnetic microbeads and magnetoelectronic detection. *J. Magn. Magn. Mater.*, 225(1-2):138–144, 2001.
- [25] B. CUNNINGHAM, M. WEINBERG, J. PEPPER, C. CLAPP, R. BOUSQUET, B. HUGH, R. KANT, C. DALY, et E. HAUSER. Design, fabrication and vapor characterization of a microfabricated flexural plate resonator sensor and application to integrated sensor arrays. *Sensors and Actuators B*, B73(2):112–123, 2001.
- [26] A. WANG, R. KIWAN, R. WHITE, et R. CERIANI. A silicon-based ultrasonic immunoassay for detection of breast cancer antigens. *Sensors and Actuators B*, 49:13–21, 1998.
- [27] S.W. WENZEL et R.M. WHITE. Analytic comparison of the sensitivities of bulk-, surface-, and flexural plate-mode ultrasonic gravimetric sensors. *Applied Physics Letters*, 54(20):1976–1978, 1989.
- [28] G. BINNING, H ROHER, C GERBER, et E. WEIBEL. Surface studies by scanning tunneling microscopy. *Physical Review Letters*, pages 49–57, 1982.
- [29] G. BINNING, C. F. QUATE, et Ch. GERBER. Atomic force microscope. *Physical Review Letters*, 56(9):930–933, 1986.
- [30] S. R. MANALIS, S. C. MINNE, A. ATALAR, et C. F. QUATE. High speed atomic force microscopy using an integrated actuator and optical lever detection. *Rev. Sci. Instrum.*, 67(9):3294, 1996.
- [31] A. G. ONARAN, F. L. DEGERTEKIN, et B. HADIMIOGLU. Tapping mode and elasticity imaging in liquids using an atomic force microscope actuated by acoustic radiation pressure. *Applied Physics Letters*, 80(21):4063–4065, 2002.
- [32] R. G. RUDNITSKY, E. M. CHOWB, et T. W. KENNY. Rapid biochemical detection and differentiation with magnetic force microscope cantilever arrays. *Sensors and Actuators A*, 83(1-3):256–262, 2000.
- [33] V. W. JONES, J. R. KENSETH, M. D. PORTER, C. L. MOSHER, et E HENDERSON. Microminiaturized immunoassays using atomic force microscopy and compositionally patterned antigen arrays. *Analytical Chemistry*, 70(7):1233–1241, 1998.
- [34] L.T. MAZZOLA, C.W. FRANK, S.P.A. FORDOR, C. MOSHER, R. LARTIUS, et E HENDERSON. Discrimination of DNA hybridization using chemical force microscopy. *Biophysical Journal*, 76:2922–2933, 1999.
- [35] Deborah LECKBAND. Measuring the forces that control protein interactions. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, 29:1–26, 2000.
- [36] G.U. LEE, L.A. CHRISEY, et R.J. COLTON. Direct measurement of the forces between complementary strands of DNA. *Science*, 266:771–773, 1994.
- [37] T. THUNDAT, E. A. WACHTER, S. L. SHARP, et R. J. WARMACK. Detection of mercury vapor using resonating microcantilevers. *Applied Physics Letters*, 66(13):1695–1697, 1995.

- [38] P. I. ODEN. Gravimetric sensing of metallic deposits using an end-loaded microfabricated beam structure. *Sensors and Actuators B*, 53(3):191–196, 1998.
- [39] B. ILIC, D. CZAPLEWSKI, H. G. CRAIGHEAD, P. NEUZIL, C. CAMPAGNOLO, et C. BATT. Mechanical resonant immunospecific biological detector. *Applied Physics Letters*, 77:450, 2000.
- [40] B. ILIC, D. CZAPLEWSKI, M. ZALALUTDINOV, H. G. CRAIGHEAD, P. NEUZIL, C. CAMPAGNOLO, et C. BATT. Single cell detection with micromechanical oscillators. *J. Vac. Sci. Technol. B*, 19(6):2825–2828, 2001.
- [41] Z. J. DAVIS, G. ABADAL, B. HELBO, O. HANSEN, F. CAMPABADAL, F. PÉREZ-MURANO, J. ESTEVE, E. FIGUERAS, R. RUIZ, N. BARNIOL, et A. BOISEN. High mass and spatial resolution mass sensor based on resonating nano-cantilevers integrated with CMOS. Dans *Transducers'01 Euroensors XV*, Munich, June 2001.
- [42] T. THUNDAT, R. J. WARMACK, G. Y. CHEN, et D. P. ALLISON. Thermal and ambient-induced deflections of scanning force microscope cantilevers. *Applied Physics Letters*, 64(21):2894–2896, 1994.
- [43] T. THUNDAT, G. Y. CHEN, R. J. WARMACK, D. P. ALLISON, et E. A. WACHTER. Vapor detection using resonating microcantilevers. *Analytical Chemistry*, 67(3):519–521, 1995.
- [44] P. I. ODEN, G. Y. CHEN, R. A. STEELE, R. J. WARMACK, et T. THUNDAT. Viscous drag measurements utilizing microfabricated cantilevers. *Applied Physics Letters*, 68:3814–3816, 1996.
- [45] John Elie SADER. Frequency response of cantilever beams immersed in viscous fluids with applications to the atomic force microscope. *Journal of Applied Physics*, 84(1):64–76, 1998.
- [46] A. D. L. HUMPHRIS, J. TAMAYO, et M. J. MILES. Active quality factor control in liquids for force spectroscopy. *Langmuir*, 16(21):7891–7894, 2000.
- [47] J. TAMAYO, A. D. L. HUMPHRIS, R. J. OWEN, et M. J. MILES. High-Q dynamic force microscopy in liquid and its application to living cells. *Biophysical Journal*, 81(1):526–537, 2001.
- [48] J. TAMAYO, A. D. L. HUMPHRIS, A. M. MALLOY, et M. J. MILES. Chemical sensors and biosensors in liquid environment based on microcantilevers with amplified quality factor. *Ultramicroscopy*, 86(1-2):167–173, 2001.
- [49] A. MEHTA, S. CHERIAN, D. HEDDEN, et T. THUNDAT. Manipulation and controlled amplification of brownian motion of microcantilever sensors. *Applied Physics Letters*, 78(11):1637–1639, 2001.
- [50] G.G. STONEY. The tension of metallic films deposited by electrolysis. *Proceedings of the Royal Society London A*, 82:172–175, 1909.
- [51] P. G. DATSKOS, P. I. ODEN, T. THUNDAT, E. A. WACHTER, R. J. WARMACK, et S. R. HUNTER. Remote infrared radiation detection using piezoresistive microcantilevers. *Applied Physics Letters*, 69(20):2986–2988, 1996.
- [52] J. K. GIMZEWSKI, Ch. GERBER, E. MEYER, et R. R. SCHLITTLER. Observation of a chemical reaction using a micromechanical sensor. *Chemical Physics Letters*, 217(5-6):589–594, 1994.
- [53] R. BERGER, Ch. GERBER, J. K. GIMZEWSKI, E. MEYER, et H. J. GÜNTHERODT. Thermal analysis using a micromechanical calorimeter. *Applied Physics Letters*, 69:40–42, 1996.
- [54] H. F. JI, K. M. HANSEN, Z. HU, et T. THUNDAT. Detection of pH variation using modified microcantilever sensors. *Sensors and Actuators B*, 72(3):233–238, 2001.
- [55] J. FRITZ, M. K. BALLER, H. P. LANG, H. ROTHUIZEN, P. VETTIGER, E. MEYER, H.-J. GÜNTHERODT, Ch. GERBER, et J. K. GIMZEWSKI. Translating biomolecular recognition into nanomechanics. *Science*, 288:316–318, 2000.
- [56] K. HANSEN, H.-F. JI, G. WU, R. DATAR, R. COTE, A. MAJUMDAR, et T. THUNDAT. Cantilever-based optical deflection assay for discrimination of DNA single nucleotide mismatches. *Analytical Chemistry*, 73, 2001.
- [57] G. WU, H. F. JI, K. HANSEN, T. THUNDAT, R. DATAR, R. COTE, M. F. HAGAN, A. K. CHAKRABORTY, et A. MAJUMDAR. Origin of nanomechanical cantilever motion generated from biomolecular interactions. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 98(4):1560–1564, 2001.

- [58] Guanghua WU, Ram H DATAR, Karolyn M HANSEN, Thomas THUNDAT, Richard J COTE, et Arun MAJUMDAR. Bioassay of prostate-specific antigen (PSA) using microcantilevers. *Nature Biotechnology*, 19(9):856–860, 2001.
- [59] F. M. BATTISTON, J. P. RAMSEYER, H. P. LANG, M. K. BALLER, C. GERBER, J. K. GIMZEWSKI, E. MEYER, et H. J. GUNTHERODT. A chemical sensor based on a microfabricated cantilever array with simultaneous resonance-frequency and bending readout. *Sensors and Actuators B*, 77(1-2):122–131, 2001.
- [60] R. RAITERI, M. GRATAROLA, H. J. BUTT, et P. SKLADAL. Micromechanical cantilever-based biosensors. *Sensors and Actuators B*, 79(2-3):115–126, 2001.
- [61] R. SUTTLEWORTH. The surface tension of solids. *Proc. Phys. Soc. A*, 63:444, 1950.
- [62] H. IBACH. The role of surface stress in reconstruction, epitaxial growth and stabilization of mesoscopic structures. *Surface Science Reports*, 29(5-6):195–263, 1997.
- [63] K. DAHMEN, S. LEHWALD, et H. IBACH. Bending of crystalline plates under the influence of surface stress — a finite element analysis. *Surface Science*, 446:161–173, 2000.
- [64] A. M. MOULIN, S. J. O'SHEA, R. A. BADLEY, P. DOYLE, et M. E. WELLAND. Measuring surface-induced conformational changes in proteins. *Langmuir*, 15(26):8776–8779, 1999.
- [65] G. Y. CHEN, T. THUNDAT, E. A. WACHTER, et R. J. WARMACK. Adsorption-induced surface stress and its effects on resonance frequency of microcantilevers. *Journal of Applied Physics*, 77(8):3618–3622, 1995.
- [66] R. BERGER, E. DELAMARCHE, H.P. LANG, Ch. GERBER, J.K. GIMZEWSKI, E. MEYER, et H.-J. GÜNTHERODT. Surface stress in the self-assembly of alkanethiols on gold. *Science*, 276:2021, 1997.
- [67] P.G. DATSKOS et I. SAUERS. Detection of 2-mercaptoethanol using microcantilevers,. *Sensors and Actuators B*, 61:75–82, 1999.
- [68] Suman CHERIAN et Thomas THUNDAT. Determination of adsorption-induced variation in the spring constant of a microcantilever. *Applied Physics Letters*, 80(12):2219–2221, 2002.
- [69] S. R. MANALIS, S. C. MINNE, A. ATALAR, et C. F. QUATE. Interdigital cantilevers for atomic force microscopy. *Applied Physics Letters*, 69(25):3944–3946, 1996.
- [70] G. G. YARALIOGLU, A. ATALAR, S. R. MANALIS, et C. F. QUATE. Analysis and design of an interdigital cantilever as a displacement sensor. *Journal of Applied Physics*, 83(12):7405–7415, 1998.
- [71] J.P. ROGER, A.C. BOCCARA, M.-C. POTIER, M. GUIRADEL, et C. BERGAUD. Parallel optical reading of micromechanical sensor arrays for biology and environmental studies. *Proc.of SPIE*, 4434:138–141, 2001.
- [72] J.P. ROGER, M. GUIRADEL, M.C.POTIER, A.C.BOCCARA, et C.BERGAUD. Lecture optique en parallèle de la résonance mécanique de microleviers en matrice pour la détection différenciée de variations de masse. *Nano et Micro Technologies*, 1(3-4):287–303, 2001.
- [73] S. PETITGRAND, R. YAHIAOUI, K. DANAIE, A. BOSSEBOEUF, et J. P. GILLES. 3D measurement of micromechanical devices vibration mode shapes with a stroboscopic interferometric microscope. *Optics and Lasers in Engineering*, 36(2):77–101, 2001.
- [74] C. LEE, T. ITOH, et T. SUGA. Self-excited piezoelectric PZT microcantilevers for dynamic SFM—with inherent sensing and actuating capabilities. *Sensors and Actuators A*, 72(2):179–188, 1999.
- [75] N. BLANC, J. BRUGGER, N. F. de ROOIJ, et U. DÜRIG. Scanning force microscopy in the dynamic mode using microfabricated capacitive sensors. *J. Vac. Sci. Technol. B*, 14(2):901–905, 1996.
- [76] M. TORTONESE, R. C. BARRETT, et C. F. QUATE. Atomic resolution with an atomic force microscope using piezoresistive detection. *Applied Physics Letters*, 62(8):834–836, 1993.
- [77] J. THAYSEN, A. BOISEN, O. HANSEN, et S. BOUWSTRA. Atomic force microscopy probe with piezoresistive read-out and a highly symmetrical Wheatstone bridge arrangement. *Sensors and Actuators A*, 83(1-3):47–53, 2000.
- [78] D.L. POLLA et L.F. FRANCIS. Processing and characterization of piezoelectric materials and integration into microelectromechanical systems. *Annu. Rev. Mater. Sci.*, 28:563–597, 1998.

Bibliographie : Chapitre 2

- [1] Nadim MALUF. *An Introduction to Microelectromechanical Systems Engineering*. Artech House Mems Library, 2000.
- [2] Marc-Alexandre DUBOIS et Paul MURALT. Stress and piezoelectric properties of aluminum nitride thin films deposited onto metal electrodes by pulsed direct current reactive sputtering. *Journal of Applied Physics*, 89(11):6389–6395, 2001.
- [3] Patrick ATTIA. *Fabrication et caractérisation de microdispositifs mécaniques à déflexion électrostatique*. Thèse de doctorat, Univ. Paris-Sud, Orsay, 1997.
- [4] Albert PRAK, Miko ELWENSPOEK, et Jan H.J. FLUITMAN. Selective mode excitation and detection of micromechanical resonators. *Journal of MicroElectroMechanical Systems*, 1(4):179–186, 1992.
- [5] Don L. DEVOE. Piezoelectric thin film micromechanical beam resonators. *Sensors and Actuators A*, 88:263–272, 2001.
- [6] J. A. HERNANDES, S. F. M. ALMEIDA, et A NABARRETE. Stiffening effects on the free vibration behavior of composite plates with PZT actuators. *Composite Structures*, 49(1):55–63, 2000.

Bibliographie : Chapitre 3

- [1] P. MURALT. Ferroelectric thin films for micro-sensors and actuators: a review. *Journal of Micromechanics and Microengineering*, 10:136–146, 2000.
- [2] D. ROYER et E. DIEULESAINT. *Ondes élastiques dans les solides*, volume 1-2. Masson, 1999.
- [3] E. DIEULESAINT et D. ROYER. Propagation et génération des ondes élastiques. *Techniques de l'ingénieur*, E3(210):1–25, 2001.
- [4] K. LEFKI et G. J. M. DORMANS. Measurement of piezoelectric coefficients of ferroelectric thin films. *Journal of Applied Physics*, 76(3):1764–1967, 1994.
- [5] J. L. DESCHANVRES, P. REY, G. DELABOUGLISE, M. LABEAU, J. C. JOUBERT, et J. C. PEUZIN. Characterization of piezoelectric properties of zinc oxide thin films deposited on silicon for sensors applications. *Sensors and Actuators A*, 33:43–45, 1992.
- [6] M.-A. DUBOIS et P. MURALT. Measurement of the effective transverse piezoelectric coefficient e_{31} of AlN and Pb(Zr_xTi_{1-x})O₃ thin films. *Sensors and Actuators A*, 77:106–112, 1999.
- [7] M. TOYAMA, R. KUBO, E. TAKATA, K. TANAKA, et K. OHWADA. Characterization of piezoelectric properties of PZT thin films deposited on Si by ECR sputtering. *Sensors and Actuators A*, 45:125–129, 1994.
- [8] Jr. SHEPARD, J. F., P. J. MOSES, et S. TROLIER MCKINSTRY. The wafer flexure technique for the determination of the transverse piezoelectric coefficient (d_{31}) of PZT thin films. *Sensors and Actuators A*, 71:133–138, 1998.
- [9] F. XU, F. CHU, et S. TROLIER MCKINSTRY. Longitudinal piezoelectric coefficient measurement for bulk ceramics and thin films using pneumatic pressure rig. *Journal of Applied Physics*, 86(1):588–594, 1999.
- [10] K.F.ETZOLD, R.A.ROY, K.L.SAENGER, et J.J.CUOMO. Electrical and mechanical properties of PZT films. *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.*, 200:297–302, 1990.
- [11] A. L. KHOLKIN, Ch WUTCHRICH, D. V. TAYLOR, et N. SETTER. Interferometric measurements of electric field-induced displacements in piezoelectric thin films. *Review of Scientific Instruments*, 67(5):1935–1941, 1996.
- [12] H. MAIWA, J.A. CHRISTMAN, S.-H. KIM, D.-J. KIM, J.-P. MARIA, B. CHEN, S.K. STREIFFER, et A.I. KINGON. Measurement of piezoelectric displacements of Pb(Zr, Ti)O₃ thin films using a double-beam interferometer. *Jpn. J. Appl. Phys. Part1*, 38(9B):5402–5405, 1999.
- [13] J. A. CHRISTMAN, Jr. WOOLCOTT, R. R., A. I. KINGON, et R. J. NEMANICH. Piezoelectric measurements with atomic force microscopy. *Applied Physics Letters*, 73(26):3851–3853, 1998.

- [14] J. CHU, Z. WANG, et R. MAEDA. Measurements of piezoelectric coefficient of $\text{Pb}(\text{Zr,Ti})\text{O}_3$ thin film using a piezoelectric microcantilever. *Jpn. J. Appl. Phys. Part2*, 38(12A):1482–1484, 1999.
- [15] J.-M. LIU, B. PAN, H. L. W.S. CHAN, N. ZHU, Y. Y. ZHU, et Z. G. LIU. Piezoelectric coefficient measurement of piezoelectric thin films: an overview. *Materials Chemistry and Physics*, 75(1-3):12–18, 2002.
- [16] J.T. DAWLEY, G. TEOWEE, B.J.J. ZELINSKI, et D.R. UHLMANN. Piezoelectric characterization of bulk and thin film ferroelectric materials using fiber optics. *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.*, 433:317–323, 1996.
- [17] S. PETITGRAND, R. YAHIAOUI, K. DANAIE, A. BOSSEBOEUF, et J. P. GILLES. 3D measurement of micromechanical devices vibration mode shapes with a stroboscopic interferometric microscope. *Optics and Lasers in Engineering*, 36(2):77–101, 2001.
- [18] Vincent PIERFORT. *Finite element modelling of piezoelectric active structures*. Thèse de doctorat, Active Structure Laboratory, Université Libre de Bruxelles, 2001.
- [19] Ph. LUGINBUHL, G.-A. RACINE, Ph. LERCH, B. ROMANOWICZ, K.G. BROOKS, N.F. de ROOIJ, Ph. RENAUD, et N. SETTER. Piezoelectric cantilever beams actuated by PZT sol-gel thin film. *Sensors and Actuators A*, A 54:530–535, 1996.
- [20] M.R. STEEL, F. HARRISSON, et P.G. HARPER. The piezoelectric bimorph: An experimental and theoretical study of its quasistatic response. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 11:979–989, 1978.
- [21] M. GUIARDEL, C. BERGAUD, E. CATTAN, D. REMIENS, B. BELIER, S. PETITGRAND, et A. BOSSEBOEUF. PZT polarization effects on off-centered PZT patch actuating silicon membrane. *Sensors and Actuators A*, A paraître.
- [22] A.L. ROYTBURD, S.P. ALPAY, V. NAGARAJAN, C.S. GANOULE, et S. AGGARWAL. Measurement of internal stresses via the polarization in epitaxial ferroelectric films. *Physical Review Letters*, 85(1):190–193, 2000.
- [23] Jr. SHEPARD, J. F., Chu FAN, I. KANNO, et S. TROLIER MCKINSTRY. Characterization and aging response of the d31 piezoelectric coefficient of lead zirconate titanate thin films. *Journal of Applied Physics*, 85(9):6711–6716, 1999.
- [24] A. L. KHOLKIN, E. K. AKDOGAN, A. SAFARI, P.-F. CHAUVY, et N. SETTER. Characterization of the effective electrostriction coefficients in ferroelectric thin film. *Journal of Applied Physics*, 89(12):8066–8073, 2001.
- [25] Stephen P. TIMOSHENKO et James M. GERE. *Theory of elastic stability*. McGraw-Hill Int. Ed., 1961.
- [26] P. MURALT, A. KHOLKIN, M. KOHLI, et T. MAEDER. Piezoelectric actuation of PZT thin-film diaphragms at static and resonant conditions. *Sensors and Actuators A*, 53:398–404, 1996.
- [27] H. SEUNGBUM, E.L. COLLA, K. EUNAH, D.V. TAYLOR, A.K. TAGANTSEV, P. MURALT, N. KWANGSOO, et N. SETTER. High resolution study of domain nucleation and growth during polarization switching in $\text{Pb}(\text{Zr,Ti})\text{O}_3$ ferroelectric thin film capacitors. *Journal of Applied Physics*, 86(1):607–613, 1999.
- [28] Robert D. BLEVINS. *Formulas for natural frequency and mode shape*. Van Nostrand Reinhold Co., New York, 1979.
- [29] Albert PRAK, Miko ELWENSPOEK, et Jan H.J. FLUITMAN. Selective mode excitation and detection of micromechanical resonators. *Journal of MicroElectroMechanical Systems*, 1(4):179–186, 1992.
- [30] J. JONSMANN et S. BOUWSTRA. On the resonance frequencies of membranes. Dans *MME'95 Micro-Mechanics Europe Workshop*, pages 225–229, Copenhagen, Sept. 1995.

Bibliographie : Chapitre 4

- [1] Jean-Marc di MEGLIO. La matière molle. *Techniques de l'ingénieur*, A1(195):1–9.
- [2] A. JANSHOFF, H.-J. GALLA, et C. STEINEM. Piezoelectric mass-sensing devices as biosensors. an alternative to optical biosensors? *Angew. Chemie. Int. Ed.*, 39:4004–4032, 2000.
- [3] N.V. LAVRIK et P.G. DATSKOS. Femtogram mass detection using photothermally actuated nanomechanical resonators. *Applied Physics Letters*, 82(16):2697–2699, 2003.

-
- [4] Jay W. GRATE, Stuart W. WENZEL, et Richard M. WHITE. Flexural plate wave devices for chemical analysis. *Analytical Chemistry*, 63(15):1552–1561, 1991.
- [5] P. BELAUBRE, M. GUIARDEL, V. LEBERRE, A. DAGKESSAMANSKAIA, E. TRÉVISIOL, J.M. FRANÇOIS, J.B. POURCIEL, G. GARCIA, et C. BERGAUD. Fabrication of biological microarrays using microcantilevers. *Applied Physics Letters*, 82(18):3122–3124, 2003.

Publications : Journaux

- [1] M. GUIARDEL, L. NICU, D. SAYA, Y. TAURAN, E. CATTAN, D. REMIENS, et C. BERGAUD. Detection of gold colloid adsorption at a solid/liquid interface using micromachined piezoelectric resonators. *Japanese Journal of Applied Physics Part 2*, 43(1AB), 2004.
- [2] M. GUIARDEL, C. BERGAUD, E. CATTAN, D. REMIENS, B. BELIER, S. PETITGRAND, et A. BOSSEBOEUF. PZT polarization effects on off-centered PZT patch actuating silicon membrane. *Sensors and Actuators A: Physical*, A paraître.
- [3] P. BELAUBRE, M. GUIARDEL, V. LEBERRE, J.B. POURCIEL, et C. BERGAUD. Cantilever-based microsystem for contact and non-contact deposition of picoliter biological samples. *Sensors and Actuators A: Physical*, A paraître.
- [4] P. BELAUBRE, M. GUIARDEL, V. LEBERRE, A. DAGKESSAMANSKAIA, E. TRÉVISIOL, J.M. FRANÇOIS, J.B. POURCIEL, G. GARCIA, et C. BERGAUD. Fabrication of biological microarrays using microcantilevers. *Applied Physics Letters*, 82(18):3122–3124, may 2003.
- [5] J.P. ROGER, M. GUIARDEL, M.C.POTIER, A.C.BOCCARA, et C.BERGAUD. Lecture optique en parallèle de la résonance mécanique de microleviers en matrice pour la détection différenciée de variations de masse. *Nano et Micro Technologies*, 1(3-4):287–303, 2001.
- [6] Jean-P. ROGER, Albert C. BOCCARA, Marie-Claude POTIER, Matthieu GUIARDEL, et Christian BERGAUD. Parallel optical reading of micromechanical sensor arrays for biology and environmental studies. *Proc.of SPIE*, 4434:138–141, 2001.

Publications : Congrès internationaux avec actes et comité de lecture

- [1] P. BELAUBRE, M. GUIARDEL, V. LEBERRE, A. DAGKESSAMANSKAIA, E. TRÉVISIOL, J.M. FRANÇOIS, J.B. POURCIEL, G. GARCIA, et C. BERGAUD. Silicon-based microcantilevers for multiple biological sample deposition. Dans *IEEE Transducers'03, 12th International Conference on Solid State Sensors, Actuators and Microsystems*, pages 1816–1819, Boston, June 8-12 2003.
- [2] D. SAYA, M. GUIARDEL, et C. BERGAUD. Detection of gold colloid monolayers using microcantilevers as mass detectors. Dans *Nanobiotechnologies II*, page PO2.7, Grenoble, 22-24 April 2003.
- [3] P. BELAUBRE, M. GUIARDEL, V. LEBERRE, A. DAGKESSAMANSKAIA, E. TRÉVISIOL, J.M. FRANÇOIS, J.B. POURCIEL, G. GARCIA, et C. BERGAUD. Silicon-based micropins for multiple biological sample deposition. Dans *Nanobiotechnologies II*, page PO2.3, Grenoble, 22-24 April 2003.

- [4] M. GUIARDEL, C. BERGAUD, E. CATTAN, D. REMIENS, B. BELIER, S. PETITGRAND, et A. BOSSEBOEUF. PZT polarization effects on off-centered PZT patch actuating silicon membrane. Dans *Euroensors XVI, 16th European Conference on Solid-State Transducers*, pages 697–700, Prague, 15-18 sept. 2002.
- [5] P. BELAUBRE, M. GUIARDEL, V. LEBERRE, J.B. POURCIEL, et C. BERGAUD. Cantilever-based microsystem for contact and non-contact deposition of picoliter biological samples. Dans *Euroensors XVI, 16th European Conference on Solid-State Transducers*, pages 541–544, Prague, 15-18 sept. 2002.
- [6] C. BERGAUD, E. COCHETEAU, M. GUIARDEL, L. NICU, et B. BELIER. Design and fabrication of nanoelectromechanical resonators for parallel detection of biomolecular interactions. Dans *IEEE ETFA, 8th International Conference on Emerging Technologies and Factory Automation*, volume 2, pages 305–308, Antibes Juan-Les-Pins, 15-18 octobre 2001.
- [7] J.P. ROGER, A.-C. BOCCARA, M. HENNION, M. GUIARDEL, et C. BERGAUD. Novel approach for parallel reading of resonating micromechanical sensors arrays. Dans *SPIE Photonics Boston, Environmental and Industrial Sensing II*, Boston, 31 October – 1 November 2001. SPIE #4576-22.
- [8] J.P. ROGER, A.-C. BOCCARA, M.C. POTIER, M. GUIARDEL, et C. BERGAUD. Parallel optical reading of micromechanical sensor arrays for biology and environmental studies. Dans *SPIE/OSA ECBO'01, European Conferences on Biomedical Optics*, Munich, Germany, 17-21 June 2001.

Publications : Autres

- [1] M. GUIARDEL, L. NICU, D. SAYA, Y. TAURAN, E. CATTAN, D. REMIENS, et C. BERGAUD. Biocapteurs micromécaniques résonants à actionnement piézo-électrique intégré. Application à la mesure de la cinétique d'adsorption de nanoparticules d'or. Dans *JCF 2003, Journées Couches Ferroélectriques*, Bordeaux, 18-19 sept 2003.
- [2] M. GUIARDEL. Microstructures à actionnement piézoélectrique pour capteurs d'interactions biomoléculaires. Dans *Séminaire école doctorale GEET*, Toulouse, 11-13 mars 2003.
- [3] P. BELAUBRE, M. GUIARDEL, V. LEBERRE, A. DAGKESSAMANSKAIA, E. TREVISIOL, J.M. FRANCOIS, J.B. POURCIEL, G. GARCIA, et C. BERGAUD. Cantilever-based microsystem for contact and non-contact deposition of picoliter biological samples. Dans *SITTEF 2002, Salon International de l'Innovation et de la Prospective, Technologies et Sciences du Vivant*, Toulouse, Oct. 2002.
- [4] M. GUIARDEL et C. BERGAUD. Reconnaissance bio-moléculaire sur des membranes en silicium actionnées par un film piézoélectrique. Dans *Journée intra-Génopôle 2002*, Toulouse, 24 Juin 2002.
- [5] M. GUIARDEL et C. BERGAUD. Caractérisations de membranes à actionnement piézoélectrique pour capteurs d'interactions bio-moléculaires. Dans *JNRDM'02, Journées Nationales du Réseau Doctoral Microélectronique*, Grenoble, 23-25 avril 2002.
- [6] M. GUIARDEL, C. BERGAUD, L. NICU, B. BELIER, E. CATTAN, et D. REMIENS. Comportement dynamique de membranes piézoélectriques. Dans *JCF 2001, Journées Couches Ferroélectriques*, Maubeuge, 26-27 nov. 2001.
- [7] J.P. ROGER, M. GUIARDEL, L. BAÏT, et M.C. POTIER. Détection optomécanique pour matrices de capteurs biologiques et chimiques. Dans *VIM 2001, Visualisation Image Modélisation*, Nancy, 15-17 mai 2001.
- [8] J.P. ROGER, M. GUIARDEL, M.C. POTIER, A.C. BOCCARA, et C. BERGAUD. Lecture optique en parallèle de la résonance mécanique de microleviers en matrice pour la détection différenciée de variations de masse. Dans *C2I 2001, Colloque Interdisciplinaire en Instrumentation, Systèmes et microsytèmes pour la caractérisation, Vol 2*, pages 147–154, Conservatoire National des Arts et Métiers, Paris, 31 Janv.-1er Fév. 2001.

Publications : Brevet

- [1] C. BERGAUD, M. GUIARDEL, P. BELAUBRE, B. BELIER, et J.B. POURCIEL. Système de dépôt de solutions biologiques avec ou sans contact pour la fabrication de biopuces, Dépôt de brevet français FR2839662, publication le 21 nov. 2003, en cours d'extension internationale.

Conception, réalisation et caractérisation de biocapteurs micromécaniques résonnants en silicium avec actionnement piézoélectrique intégré : détection de l'adsorption de nanoparticules d'or

RÉSUMÉ :

Ce travail consiste en l'étude et la réalisation d'un micro-capteur destiné à la mesure de concentration d'un composé en solution. La méthode de détection est basée sur la variation de fréquence de résonance d'un micro-dispositif mécanique dont la surface est fonctionnalisée pour adsorber le composé à mesurer. Ces biocapteurs en silicium, sous forme de micromembranes piézoélectriques, sont remarquables par leur grande sensibilité et la possibilité d'explorer en parallèle de nombreux échantillons.

Après avoir exposé les différentes technologies de biocapteurs existantes, l'étude se concentre sur l'optimisation des conditions d'élaboration de couches minces piézoélectriques pour obtenir un procédé technologique parfaitement compatible avec la technologie silicium. Une caractérisation mécanique de ces membranes a été effectuée par interférométrie optique 3D pour extraire le coefficient piézoélectrique du matériau. Les premières membranes réalisées présentent des propriétés d'actionnement excellentes. Une deuxième génération de membranes a ensuite été réalisée en modifiant les géométries des différentes couches. La sensibilité obtenue est compatible avec les seuils de détection nécessaires pour la détection de molécules biologiques.

Des protocoles chimiques permettant la fonctionnalisation de la surface des micromembranes ont ensuite été développés. L'évaluation du comportement du microdispositif en situation, c'est-à-dire en milieu liquide, a enfin été effectuée. Pour cela, une cellule fluidique avec régulation de température a été mise au point. Les membranes piézoélectriques ont été positionnées à l'intérieur de cette cellule fluidique pour mesurer la cinétique d'adsorption de nanoparticules d'or en solution. Dans le cadre des biopuces, des microleviers permettant le dépôt de micro-gouttes de solutions ont aussi été développés. Ils permettent notamment de fonctionnaliser individuellement chaque membrane et présentent l'avantage de ne pas endommager les microstructures.

Design, fabrication and characterization of resonant silicon-based micromechanical biosensors with integrated piezoelectric actuation: gold nanoparticles detection

ABSTRACT:

This work consists in the study and development of a microsensor assigned to measure compound concentration in solution. Detection method is based on resonance frequency shift of a mechanical microdevice whose surface has been functionalized to adsorb the compound to be measured. These silicon-based biosensors that are piezoelectric micromembranes, are remarkable for their high sensitivity and their ability to explore in parallel many samples.

After a description of the various biosensor technologies, we focus our work on the optimisation of piezoelectric thin film deposition to obtain a silicon-compatible technology. A mechanical characterization of these membranes is then performed by optical 3D interferometry to extract the piezoelectric coefficient. The first manufactured membranes show excellent actuation properties. A second generation of membranes has been next developed with modified film geometries. The obtained sensitivity is compatible with detection threshold required to detect biomolecules.

Then, chemical protocols have been developed to functionalize the micromembrane surface. Finally, the evaluation of the microdevice behaviour in actual situation, i.e. in liquid, has been carried out. For this measurement, a temperature regulated fluidic cell has been adjusted. The piezoelectric membrane has been positioned inside this fluidic cell to measure the adsorption kinetic of gold nanoparticles in solution. For biochip applications, dedicated microcantilevers for depositing liquid micro-spot have been developed. They allow in particular functionalizing individually each membrane and offer the advantage not to damage the microdevices.