



Conception, réalisation et modélisation de microcapteurs pour l'analyse biochimique Application à la détection de l'urée

Ahmed Benyahia

► To cite this version:

Ahmed Benyahia. Conception, réalisation et modélisation de microcapteurs pour l'analyse biochimique Application à la détection de l'urée. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2010. Français. NNT : . tel-00509159

HAL Id: tel-00509159

<https://theses.hal.science/tel-00509159>

Submitted on 10 Aug 2010

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.



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)

Discipline ou spécialité :

Micro et Nano Système

Présentée et soutenue par :

Ahmed BENYAHIA

le : mercredi 30 juin 2010

Titre :

Conception, réalisation et modélisation de
microcapteurs pour l'analyse biochimique
Application à la détection de l'urée

Ecole doctorale :

Génie Electrique, Electronique et Télécommunications (GEET)

Unité de recherche :

Laboratoires d'Analyse et d'Architecture des Systèmes- UPR 8001

Directeur(s) de Thèse :

Pierre TEMPLE-BOYER

Rapporteurs :

Professeur Abdelhamid ERRACHID

Professeur Tayeb MOHAMED BRAHIM

Autre(s) membre(s) du jury

Professeur Jean-Luc SEGUIN

Docteur William SANT

Professeur Alain CAZARRE

Professeur Augustin MARTINEZ

Examineur

Examineur

Examineur

Invité

Avant-propos

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été effectués au sein du groupe Microdispositifs et Microsystèmes de Détection (M2D) au Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (LAAS) du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) de Toulouse.

Je tiens tout d'abord à remercier Messieurs Malik GHALLAB et Raja CHATILLA, Directeurs successifs du LAAS pour m'avoir accueilli dans leur laboratoire.

Je suis très reconnaissant pour le temps et le travail accordés par l'ensemble des membres du jury de ma thèse :

- M. Abdelhamid ERRACHID, Professeur à l'Université de Lyon
- M. Tayeb MOHAMED BRAHIM, Professeur à l'Université de Rennes
- M. Jean-Luc SEGUIN, Professeur à l'Université Paul Cézanne Aix-Marseille III
- M. William SANT, Docteur de l'Université Paul Sabatier Toulouse III
- M. Alain CAZARRE, Professeur à l'Université Paul Sabatier, Toulouse III
- M. Augustin MARTINEZ, Professeur Émérite de l'INSA TOULOUSE

En particulier, je remercie M. Abdelhamid ERRACHID et M. Tayeb MOHAMED BRAHIM d'avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse. Je remercie beaucoup M. Alain CAZARRE d'avoir présidé les débats, de m'avoir ouvert les portes de la recherche en tant que responsable du MASTER CCMM et pour son soutien pour l'enseignement.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Mr Pierre TEMPLE-BOYER, qui a encadré et guidé mes recherches. Sa disponibilité (bien que très pris par ses activités de responsable du groupe M2D) et ses très larges compétences qui ont permis de mener à bien ces travaux. Merci beaucoup Pierre.

Je tiens à remercier aussi l'équipe microcapteur chimique : Jérôme LAUNAY, Marie-Laure POURCIEL-GOUZY, Céline CHISTOPHE, Iryna HUMENYUK, Benoit TORBIERO, William SANT, Arnaud CAZALE, Karim DIALO et mon successeur Lyes DJEGHAF (bon courage)...pour les échanges scientifiques et humains.

Je tiens à remercier M. Hugues GRANIER et toute l'équipe TEAM et 2I en particulier Laurent MAZENC, Sandrine ASSIE-SOULEILLE, Laurent BOUSCAYROL, Bernard ROUSSET,

Djaffar BELHARET, SALVAGNAC Ludovic, David COLIN, Thierry DO CONTO, Eric IMBERNON, Jean-Christophe MARROT et Denis LAGRANGE pour leur soutien et leur aide.

Je remercie aussi tous les collègues et amis avec une tendresse particulière pour les anciens du MASTER : Hamada (l'accidenté), Kostas (cousin européen) et Amine (K-sos), ceux aussi avec qui j'ai passé des bons moments Estelle (merci pour le dessin), Maeva, Jo, Stephane, Thomas et bien sur tous les artistes "Lamine, Hamida, Samir, Djef l'artiste, Sofiane, Hakim, Morad, les oranaises, Imène, Hamza et Hocine (dit François)". Je n'oublie pas Jamila pour son soutien.

Je voudrais adresser le plus grand des mercis à mes parents, mes soeurs Salima, Nadia, et mon petit frère Yacine, et le grand Abdesslem ainsi que toute ma famille (d'ici et de là bas) et surtout un immense merci à Chahinez.

Je finis par remercier tous ceux que je n'ai pas cités, MERCI à TOUS.

Table des matières

Introduction générale	9
Références bibliographiques	13
1 Etat de l'art	17
1.1 Introduction	17
1.2 Principe de fonctionnement du ChemFET	18
1.2.1 Le MOSFET	18
1.2.2 L'ISFET	20
1.3 Modélisation	24
1.3.1 Cas du MOSFET	25
1.3.2 Cas de l'ISFET	27
1.3.3 Cas de l'EnFET	30
Références bibliographiques	35
2 Intégration de l'électrode de grille	43
2.1 Conception du pH-ChemFET	44
2.1.1 Cahier des charges	44
2.1.2 Paramètres technologiques	45
2.1.3 Dessin des masques	46
2.1.4 Description du procédé de fabrication	47
2.2 Caractérisation du pH-ChemFET	59
2.2.1 Méthode de mesure :	60
2.2.2 Etude des transistors MOS sous pointes	63
2.2.3 Etude des fils métalliques utilisés pour polariser le milieu aqueux	64
2.2.3.1 Electrode de référence industrielle " FLEXREF "	64
2.2.3.2 Fil d'or	66
2.2.3.3 Fil Ag/AgCl	67
2.2.3.4 Etude de la dérive temporelle	67
2.2.3.5 Conclusion	70
2.2.4 Etude des ISFETs réalisés à partir du procédé de métallisation "standard"	71
2.2.4.1 Influence du Buffer HF sur le pH-ISFET	73
2.2.4.2 Influence du plasma oxygène	75

2.2.4.3	Influence plasma oxygène et buffer HF	79
2.2.4.4	Conclusion	81
2.2.5	Etude des ISFETs issus du procédé microélectrodes intégrées Ti/Au déposé par " lift-off "	81
2.2.5.1	Procédé de Dépôt de métal par lift-off	82
2.2.5.2	Caractérisation des composants	83
2.2.5.3	Conclusion	84
2.2.6	Etude des électrodes de référence en or intégrées	85
2.2.6.1	pH-ISFET issus du procédé Titane/Or standard	85
2.2.6.2	pH-ISFET issus du procédé Titane/Or déposé par " lift-off "	86
2.2.6.3	Conclusion	87
2.3	ISFET avec l'électrode intégrée en argent chloré	87
2.3.1	Procédé de dépôt	87
2.3.2	Résultats de caractérisation des composants avec électrodes argent pur	90
2.3.3	Chloration des électrodes argent	90
2.3.3.1	Chloration chimique au $FeCl_3$	90
2.3.3.2	Chloration électrochimique au KCl	91
2.3.4	Etude des pH-ISFETs avec électrode Ag/AgCl intégrée et déposée par " lift-off "	92
2.3.4.1	Electrode d'argent chlorée par la solution $FeCl_3$	92
2.3.4.2	Electrode d'argent chlorée par électrodéposition dans un bain de KCl	93
2.3.4.3	Etude de la dérive	94
2.3.4.4	Conclusion	95
2.4	Conclusion du chapitre	95
Références bibliographiques		97

3 Modélisation réalisation et caractérisation de ChemFET pour la détection enzymatique 101

3.1	Modélisation des microcapteurs EnFETs, application à la détection de la créatinine et de l'urée	102
3.1.1	Etude théorique	102
3.1.1.1	Détection d'un substrat à partir d'une enzyme	103
3.1.1.2	Détermination de l'équation de diffusion des espèces (bio)chimiques	104
3.1.1.3	Détermination de l'équation de diffusion des espèces (bio)chimiques modifiés prenant en compte le flux	106
3.1.1.4	Détermination de $C(x,t)$ et de $pH(x,t)$	108
3.1.1.5	Détermination de la réponse potentiométrique de l'EnFET	109
3.1.2	Etude du créatinine-EnFET	109
3.1.2.1	Equations chimiques	109
3.1.2.2	Calcul du pH	110

3.1.3	Etude de l'urée-EnFET	111
3.1.3.1	Equations chimiques	111
3.1.3.2	Calcul du pH	111
3.1.4	Résultat de simulation pour le créatinine-EnFET	112
3.1.4.1	Comportement du microcapteur créatinine-EnFET	113
3.1.4.2	Paramètres influents sur le microcapteur créatinine-EnFET . . .	114
3.1.5	Résultat de simulation pour l'urée-EnFET	117
3.1.5.1	Comportement du microcapteur urée-EnFET	118
3.1.5.2	Paramètres influents sur le microcapteur urée-EnFET	120
3.1.6	Conclusion	125
3.2	Etude des capteurs urée-EnFETs réalisés au LAAS	126
3.2.1	Réalisation et fonctionnalisation des capteurs	126
3.2.1.1	Préparation de la résine enzymatique	126
3.2.1.2	Dépôt de la membrane enzymatique	127
3.2.2	Présentation des résultats expérimentaux des EnFETs réalisée au sein du LAAS-CNRS et comparaison au modèle	127
3.2.2.1	Présentation des résultats expérimentaux des EnFETs réalisés au LAAS-CNRS	128
3.2.2.2	Adaptation du modèle au milieu d'analyse	129
3.2.2.3	Comparaison du modèle aux résultats expérimentaux	134
3.3	Etude des capteurs urée-EnFETs réalisés par la société HEMODIA	137
3.3.1	Réalisation et fonctionnalisation des capteurs par Hémodia	137
3.3.1.1	Présentation des résultats expérimentaux des EnFETs de la société HEMODIA	137
3.3.1.2	Adaptation du modèle au milieu d'analyse réel	138
3.3.1.3	Comparaison du modèle aux résultats expérimentaux	139
3.4	Conclusion	141
	Références bibliographiques	143
	Conclusion générale	147
	Annexe	v

Introduction générale

Les espèces vivantes, afin de survivre, ont besoin de connaître leur environnement, et ont ainsi développé des capteurs naturels suivant leurs besoins. Ces capteurs leur permettent de localiser des proies, des prédateurs ou tout autre danger. Pour l'homme par exemple, des informations en continu de son environnement lui sont données par ses cinq sens, la vue, l'ouïe, l'odorat, le goût et le toucher. La connaissance du monde qui nous entoure est primordiale. Ainsi l'homme a continuellement développé des capteurs lui permettant de recevoir des informations sur toutes sortes de choses lui étant utiles. Les premiers capteurs chimiques utilisés par l'homme sont le nez et la langue. Il s'agit de capteurs naturels ou innés, liés à son évolution, qu'il a cherché à copier au travers du développement de multitudes de capteurs "artificiels".

On définit le capteur comme étant "un dispositif qui fournit une sortie utilisable en réponse à une grandeur à mesurer donnée", cette sortie utilisable est le plus souvent électrique [Smith 00]. En fonction des besoins le capteur utilise différentes transductions.

En chimie, pour détecter ou quantifier la présence d'une espèce chimique, en milieu liquide, les transductions utilisées sont [Torbiero 06] [Janata 94] :

- la transduction électromagnétique et/ou optique ,
qui offre un large spectre de technique, est la plus utilisée dans les systèmes d'analyses, grâce notamment aux avancées technologiques dans les systèmes (émission, transport, réception) d'ondes électromagnétiques. Ces systèmes, en plus de leurs propriétés de qualité de mesure, ont bénéficié de la miniaturisation et de réduction des coûts, ce qui a permis leur industrialisation à assez grande échelle. En fonction des propriétés chimiques d'une solution, l'onde est modifiée. Cette modification permet de connaître le(s) paramètre(s) à analyser de la solution. Les techniques les plus courantes utilisées sont : la spectrométrie (Raman, colorimétrie, fluorescence) et l'interférométrie (adsorption, résonance de plasmon de surface). Néanmoins, les équipements pour ces techniques restent coûteux et difficiles à mettre en place, et l'environnement électromagnétique ambiant perturbe les mesures.

- la transduction mécanique [Drafts 01],
basée sur les détecteurs piézoélectriques, est une voie dans la détection chimique qui a été ouverte grâce aux développements récents des microsystèmes. L'adsorption d'une espèce chimique sur une couche sensible déposée sur un matériau piézoélectrique, provoque la variation de la fréquence (Bulk Acoustic Wave) ou de la vitesse (Surface Acoustic Wave) de

l'onde acoustique émise par ce dernier. Les espèces environnantes interfèrent et provoquent aussi des variations de masse. Une autre approche permet la détection biologique grâce à l'utilisation de BioMEMS, qui combinent un élément biologiquement sensible avec un transducteur physique. Ces structures permettent de détecter des cellules, des micro-organismes, des virus, des protéines, ADN, et autres petites molécules. Le principe de fonctionnement est basé sur les capteurs de type micropoutre. En général, deux poutres identiques sont fixées sur le même point d'ancrage, l'une d'elle est recouverte d'une membrane sélective à un élément. L'élément visé va produire la variation mécanique, en se fixant sur la poutre sensible. La différence de variation de cette grandeur entre les deux poutres permet la détection sélective et quantitative de l'élément [Bashir 04].

– la transduction électrochimique [Fabry 03],

est la technologie la plus prolifique. Les plus grandes avancées dans le domaine de la détection chimique utilisent cette transduction de par sa praticité. Cette transduction a permis le développement de trois familles de capteurs : les capteurs potentiométriques, les capteurs ampérométriques et les capteurs conductimétriques.

Une variation de concentration d'espèces en solution provoque une variation de conductivité de la solution. Ainsi les capteurs conductimétriques permettent de quantifier la concentration d'une espèce en mesurant cette variation de conductivité. Ces capteurs ont longtemps souffert de non-sélectivité en phase liquide, toutefois ils sont très utilisés industriellement pour faire des mesures donnant une concentration ionique totale, ou pour le suivi d'une mesure dans un système en continu. Néanmoins, des développements récents ont permis d'obtenir des capteurs assez sélectifs grâce à l'utilisation notamment de couches sensibles.

Chaque espèce possède son propre potentiel d'oxydation ou de réduction. Le courant traversant une cellule électrochimique composée d'une électrode et d'une contre électrode, est fonction de la concentration des corps électroactifs lors d'un balayage en tension. Ainsi le capteur ampérométrique, dans certaines conditions déterminées, permet de quantifier la concentration d'une espèce en solution. Cette méthode nécessite la connaissance des potentiels électrochimiques des espèces recherchées, et a donné naissance aux capteurs redox, à gaz dissous, enzymatiques,...

La troisième famille de capteur électrochimique est la famille des capteurs potentiométriques. Celle-ci regroupe les électrodes ionosensibles (ISEs) et les transistors chimiques à effet de champ (ChemFETs). Le principe de fonctionnement des électrodes ionosensibles est la mesure de la différence de potentiel entre deux électrodes séparées par une membrane conductrice. Cette différence de potentiel est liée à la concentration ionique de la solution. Ces électrodes apportent des résultats corrects et leur sélectivité couvre une large gamme d'ions. Cependant les limites restent leur fragilité, leur taille, leur prix et le conditionnement de ces électrodes.

En 1970, Bergveld invente l'ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor) [Bergveld 70], un microcapteur basé sur la technologie à effet de champ. Ce MOSFET (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor) modifié a permis la mesure du pH, puis, les développements ont étendu la gamme de mesure à d'autres ions, et des nombreux dérivés de ce capteur original ont vu le jour. Ces dérivés ne se limitent pas aux capteurs chimiques mais aussi à des capteurs biochimiques. L'un des plus populaires est l'EnFET (Enzymatic Field Effect Transistor), qui est un capteur enzymatique. Une couche enzymatique recouvre la zone sensible et permet la détection de molécules biochimiques comme l'urée [Caras 85], la créatinine [Sant 04b], glucose [Soldatkin 90], triglycéride [Vijayalakshmi 08], acide lactique [Kharitonov 01],...

Toujours basés sur la technologie FET, les BioFETs permettent la détection biologique [Schöning 02], comme l'ImmunoFET qui ouvre la voix de l'immunodétection [Schasfoort 90], ou encore le DNAFET qui permet l'analyse de structures ADN [Gu 01],...

Ces capteurs basés sur le transistor à effet de champ bénéficient des progrès de la technologie et en particulier les techniques de la microélectronique, ce qui permet la miniaturisation et la production de masse et de ce fait des composants à faible coût. De plus, ils ne nécessitent pas de conditionnement spécifique et ne sont pas fragiles comme le sont les électrodes en verre. Ainsi les défauts que l'on reproche à l'électrode ionosensible, sont affranchis par l'ISFET.

Le fonctionnement de l'ISFET est celui du transistor MOS classique, où la grille métallique est remplacée par l'électrolyte polarisé par une électrode de référence. De nos jours les verrous actuels de cette technologie restent :

- la passivation, car le milieu aqueux impose une imperméabilité totale entre le milieu et les contacts électriques.
- l'électrode intégrée, car l'intégration de l'électrode permettra une portabilité totale, une réduction des tailles et coûts du système de détection.
- la couche sensible, pour avoir des capteurs plus sélectifs, moins sensibles aux éléments interférents.
- le traitement de données, car il est nécessaire de développer une instrumentation pratiques et à faible coût.
- la modélisation, car pour tout composant, l'optimisation passe par l'établissement de modèles reflétant fidèlement la réalité. Ces modèles permettront la compréhension des phénomènes physiques et l'évaluation de leurs impacts sur la détection. Ainsi la reproductibilité et les paramètres de détection (sensibilité, gamme de détection,..) seront améliorés.

Au Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (LAAS), des capteurs potentiométriques "ChemFETs" sont développés au sein du groupe Microsystèmes et Microdispositifs de Détection (M2D), où des travaux de recherche ont permis l'optimisation des ISFETs et ENFETs [Amari 84] [Hajji 99] [Launay 99] [Sant 04a] [Pourciel-Gouzy 04] [Humenyuk 05] [Torbiero 06]. Ainsi nos travaux s'inscrivent dans ces améliorations, et

contribuent à ces développements. Nous verrons à travers cette thèse toutes les étapes de la fabrication du capteur biochimique ChemFET et nous traiterons ainsi de la conception, la modélisation, la réalisation technologique, et la caractérisation.

Dans le premier chapitre, nous présenterons le principe de fonctionnement du ChemFET, puis nous passerons en revue les travaux de modélisation des composants basés sur le principe de l'effet de champ. Ainsi, nous positionnerons nos travaux dans ce contexte par un état de l'art détaillé des études effectuées sur la modélisation des microcapteurs chimiques et biochimiques. Nous montrerons que des améliorations sont nécessaires avec une prise en compte plus large des phénomènes physiques agissant, afin de comprendre le comportement du biodétecteur dans son milieu.

Le deuxième chapitre portera sur la conception du pH-ChemFET, nous exposerons toutes les étapes technologiques qui conduisent à la fabrication du capteur chimique. Nous nous intéresserons principalement à l'intégration d'une microélectrode de grille sur la puce ChemFET pour aller vers un composant tout intégré. Nous verrons que le choix du matériau de polarisation est un point essentiel à la qualité de la mesure. Nous mettrons en lumière une procédure permettant de limiter fortement le courant de fuite, par une technique de décontamination de la surface de la couche de passivation. Nous verrons que les défauts de notre pH-ChemFET, engendrés vont nous pousser à développer une autre technique de dépôt de métaux. Enfin nous terminerons ce chapitre par les développements effectués pour le dépôt d'une électrode intégrée sur la puce en comparant les différentes techniques disponibles.

Le troisième chapitre sera consacré à la modélisation de la détection biochimique du capteur EnFET. Nous présenterons le principe de fonctionnement de la détection enzymatique, et les mécanismes physico-chimiques liés à la réaction enzymatique. Nous allons modéliser tous les phénomènes interagissant lors de la détection, pour réaliser un modèle des capteurs urée-EnFET et créatinine-EnFET. Nous analyserons les influences des différents paramètres liés à la membrane enzymatique et au milieu d'analyse. Nous ferons un descriptif de la technique de dépôt des membranes enzymatiques que nous avons utilisée pour réaliser nos biodétecteurs. A partir de résultats de caractérisation de capteur EnFET transmis par la société Hémodia, nous adapterons le modèle pour prendre en compte le milieu d'analyse. Nous ferons une comparaison des résultats obtenus entre le modèle et les mesures expérimentales du capteur biochimique réalisé à la centrale technologique du LAAS-CNRS. Enfin, nous finirons par une étude similaire en comparant les EnFETs fabriqués par la société HEMODIA et les résultats du modèle établi, en vue de valider sa robustesse.

Enfin, nous conclurons ce mémoire par un résumé de l'ensemble des résultats de nos travaux et nous ouvrirons une discussion sur les perspectives possibles de la modélisation des EnFETs et de ses apports.

Références bibliographiques

- [Amari 84] A. Amari. *Etude de la réponse au pH de structures microélectroniques à membranes de nitrure de silicium fabriqué par LPCVD*. Thèse de doctorat, UPS de Toulouse, 1984.
- [Bashir 04] R. Bashir. *BioMEMS : state-of-the-art in detection, opportunities and prospects*. Advanced drug delivery reviews, vol. 56, no. 11, pages 1565–1586, 2004.
- [Bergveld 70] P. Bergveld. *Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements*. IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering, vol. 17, no. 1, pages 70–71, 1970.
- [Caras 85] S. Caras & J. Janata. *pH based enzyme potentiometric sensors. Parts 1–3*. Anal. Chem, vol. 57, pages 1917–1925, 1985.
- [Drafts 01] B. Drafts. *Acoustic wave technology sensors*. IEEE Transactions on Microwave Theory and techniques, vol. 49, no. 4, pages 795–802, 2001.
- [Fabry 03] P. Fabry & J. Fouletier. *Microcapteurs chimiques et biologiques*. Lavoisier, 2003.
- [Gu 01] L. Gu, J.H. Han, H. Zhang & X. Chen. *DNA field effect transistor*. Dans Proceedings of SPIE, volume 4414, page 47, 2001.
- [Hajji 99] B. Hajji. *Réalisation technologique des capteurs chimiques ISFETs : Etude des oxynitrures de silicium en tant que grille ionosensible*. Thèse de doctorat, UPS de Toulouse, 1999.
- [Humenyuk 05] I. Humenyuk. *Développement des microcapteurs chimiques CHEMFETs pour l'analyse de l'eau*. Thèse de doctorat, INSA de TOULOUSE, 2005.
- [Janata 94] J. Janata, M. Josowicz & M. DeVaney. *Chemical Sensors*. Analytical Chemistry, vol. 66, no. 12, pages 207–228, 1994.

- [Kharitonov 01] A.B. Kharitonov, M. Zayats, L. Alfonta, E. Katz & I. Willner. *A novel ISFET-based NAD^+ -dependent enzyme sensor for lactate*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 76, no. 1-3, pages 203–210, 2001.
- [Launay 99] J. Launay. *Etude d'une structure amplificatrice pour le développement des capteurs. Applications à la détection en milieu aqueux*. Thèse de doctorat, INSA de Toulouse, 1999.
- [Pourciel-Gouzy 04] M.L. Pourciel-Gouzy. *Développement d'interfaces adaptées aux analyses biochimiques et biologiques - Application aux capteurs chimiques CHEMFETs*. Thèse de doctorat, INSA de Toulouse, 2004.
- [Sant 04a] W. Sant. *Développement des microcapteurs chimiques CHEMFETs pour des applications à l'hémodialyse*. Thèse de doctorat, UPS de Toulouse, 2004.
- [Sant 04b] W. Sant, ML Pourciel-Gouzy, J. Launay, T. Do Conto, R. Colin, A. Martinez & P. Temple-Boyer. *Development of a creatinine-sensitive sensor for medical analysis*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 103, no. 1-2, pages 260–264, 2004.
- [Schasfoort 90] RBM Schasfoort, R. Kooyman, P. Bergveld & J. Greve. *A New approach to immunofet operation*. Biosens. Bioelectron, vol. 5, pages 103–124, 1990.
- [Schöning 02] M.J. Schöning & A. Poghossian. *Recent advances in biologically sensitive field-effect transistors (BioFETs)*. The Analyst, vol. 127, no. 9, pages 1137–1151, 2002.
- [Smith 00] R.L. Smith. The electrical engineering handbook. Ed. Richard C. Dorf, 2000.
- [Soldatkin 90] A.P. Soldatkin, A.K. Sandrovskii, A.A. Shul'ga, N.F. Starodub, V.I. Strikha & A.V. El'Skaya. *Glucose biosensor based on pH-sensitive field-effect transistors : dependence of biosensor response on composition of analyte solution*. Journal of analytical chemistry of the USSR, vol. 45, no. 7, pages 1018–1021, 1990.
- [Torbiero 06] B. Torbiero. *Développement de microcapteurs électrochimiques pour l'analyse en phase liquide*. Thèse de doctorat, UPS de Toulouse, 2006.
- [Vijayalakshmi 08] A. Vijayalakshmi, Y. Tarunashree, B. Baruwati, SV Manorama, BL Narayana, REC Johnson & NM Rao. *Enzyme field effect transistor*

(ENFET) for estimation of triglycerides using magnetic nanoparticles.
Biosensors and Bioelectronics, vol. 23, no. 11, pages 1708–1714, 2008.

1

Etat de l'art

1.1 Introduction

Les avancées technologiques de ces dernières années ont été réalisées parallèlement au développement de logiciel de simulation. Ce sont ces super calculateurs qui ont permis de développer des connaissances et ont apporté des compréhensions dans tous les domaines de la science, de l'astronomie à la nanotechnologie en passant par les sciences du vivant. Des effets imperceptibles par l'homme ont pu être mis en lumière, ces nouvelles compréhensions permettent d'adapter ou d'améliorer les conceptions dans les laboratoires de recherche. Avec l'avènement du transistors et le développement de l'informatique, des logiciels spécialisés dans la simulation sont apparus. En électronique, on trouve une large gamme de logiciels dédiés à la simulation comportementale de circuit, ou à la simulation du procédé de fabrication technologique, ou encore des outils de conception assistés par ordinateur,... Aujourd'hui, on rencontre de plus en plus de développements technologiques combinant différentes grandeurs physiques, d'où l'arrivée de logiciels de simulation dit multiphysiques. Ils permettent de prendre en compte de plus en plus de facteurs influents et ainsi s'approchent de très près la réalité.

Les ChemFETs associant à la fois la chimie, l'électronique, et même la biologie, ont besoin de ces études pour permettre de comprendre, d'optimiser leur fonctionnement ou encore limiter les perturbations externes. Des modèles ont été élaborés mais reste incomplets. Ainsi l'objectif de ces travaux de recherche est de réaliser un modèle de simulation qui soit le plus fidèle possible au comportement du capteur enzymatique EnFET.

Dans ce premier chapitre, nous présenterons en premier lieu le principe de fonctionnement du pH-ChemFET. Nous ferons un état de l'art des modélisations des composants de la technologie FET en commençant par le plus connu, qui est à l'origine de la famille des transistors à effet de

champ : le MOSFET (metal oxide semiconductor). Puis nous verrons un panel des travaux liés à la modélisation des ISFETs. Enfin nous terminerons ce chapitre par la présentation des ébauches de travaux liés à la conception de modèle de l'EnFET, où nous verrons que très peu d'articles traitent du sujet, ce qui nous conduira à montrer que des développements sont encore nécessaires.

1.2 Principe de fonctionnement du ChemFET

Le principe de fonctionnement du ChemFET a été présenté par Piet BERGVELD en 1970 [Bergveld 70], où il est montré qu'il est possible de déterminer le pH d'une solution à partir d'un MOSFET modifié. La grille métallique où est appliquée la tension qui permet de commander le courant drain-source d'un MOSFET est remplacée par un électrolyte polarisé par une électrode de référence. Ainsi la réponse du transistor varie en fonction de la tension appliquée sur l'électrode de référence et de la concentration ionique. Il existe des développement aussi le ChemFET à grille suspendu qui permet d'atteindre des sensibilités supérieures à la sensibilité nernstienne

1.2.1 Le MOSFET

La description du fonctionnement de l'ISFET peut se faire en s'appuyant sur la théorie du MOSFET [Bergveld 03b]. Le MOSFET de type N est constitué de trois éléments : une grille métallique, un diélectrique et un semiconducteur. Le semiconducteur est composé de deux caissons (drain et source) fortement dopés en charges négatives (caissons N^+) dans un substrat dopé en charge positive (P). Le diélectrique assure l'isolation électrique entre le semiconducteur et la grille métallique de commande. La conduction de courant entre le drain et la source est commandée par la grille, la tension appliquée sur la grille va créer une inversion du substrat en surface (type $P \Rightarrow$ type N), ce qui aura comme effet : la création d'un canal conducteur de type N entre les caissons drain et source. Ce canal va permettre la conduction de courant entre drain et source en fonction de la tension drain-source appliquée.

Ainsi la condition nécessaire à la conduction de courant dans un transistor MOS, est que la tension appliquée à la grille V_G doit être suffisamment élevée pour garantir l'inversion de charge

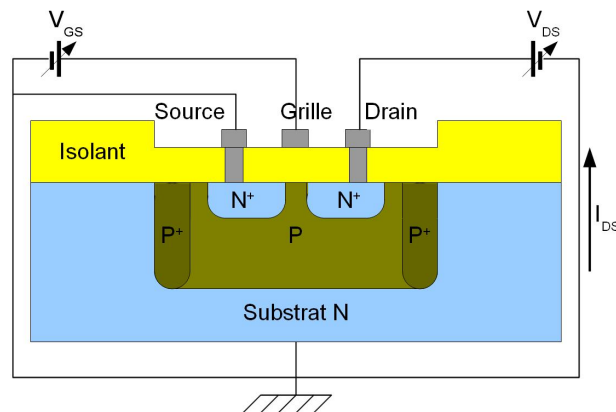


Figure 1.1: Description de la structure du MOSFET

sous l'isolant. La tension, à partir de laquelle il y a inversion, est appelée tension de seuil V_T et elle est fonction des paramètres technologiques du transistor (dopage, capacité,...). Le transistor possède trois régimes de fonctionnement, bloqué, linéaire et saturé. Lorsque la tension appliquée à la grille est inférieure à la tension seuil ($V_G < V_T$) le transistor est dit "bloqué", pas de passage de courant entre drain et source. Lorsqu'à la grille la tension est égale ou supérieure à la tension de seuil ($V_G \geq V_T$), le courant drain-source varie linéairement avec la tension drain-source V_{DS} , le transistor est dans le régime linéaire. A partir d'une certaine valeur de tension entre le drain et la source nommée V_{Dsat} , le courant ne varie plus et atteint une valeur de saturation I_{Dsat} , c'est le régime "saturé". Dans la suite nous nous plaçons en régime linéaire, ainsi d'un point de vue théorique le courant drain-source est donné par la relation 1.1 [Henry 01] [Tsividis 87] :

$$I_{DS} = \frac{W}{L} \mu C_{ox} (V_{GS} - V_T - \frac{1}{2} V_{DS}) V_{DS} \quad (1.1)$$

avec :

W : largeur du canal,

L : longueur du canal,

μ : mobilité des porteurs de charge (électrons) dans le canal,

C_{ox} : capacité de l'oxyde de grille,

V_{GS} : tension grille-source,

V_T : tension de seuil,

V_{DS} : tension drain-source.

La tension de seuil du transistor MOSFET est fonction des paramètres physiques et est donnée par la relation suivante 1.2 :

$$V_T = \frac{\Phi_M - \Phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{SS} + Q_{ox} + Q_B}{C_{ox}} + 2\phi_F \quad (1.2)$$

avec :

Φ_M : travail de sortie du métal,

Φ_{Si} : travail de sortie du silicium,

q : charge d'un électron,

Q_{SS} : charge à l'interface oxyde-silicium,

Q_{ox} : charge dans l'oxyde,

Q_B : charge dans la couche de déplétion du substrat,

ϕ_F : potentiel différentiel entre le niveau de Fermi de silicium dopé et intrinsèque,

les équations 1.1 et 1.2 montrent que le courant drain-source, est uniquement fonction de la tension appliquée sur la grille V_{GS} à tension drain-source V_{DS} constante, puisque la tension de seuil V_T est donnée par les paramètres technologiques du MOSFET.

1.2.2 L'ISFET

La figure 1.2 présente la structure de l'ISFET, qui est un MOSFET où la grille métallique a été remplacée par l'électrolyte polarisé par une électrode référence. Ainsi la tension de seuil sera, en plus des paramètres physiques, fonction des paramètres chimiques de la solution.

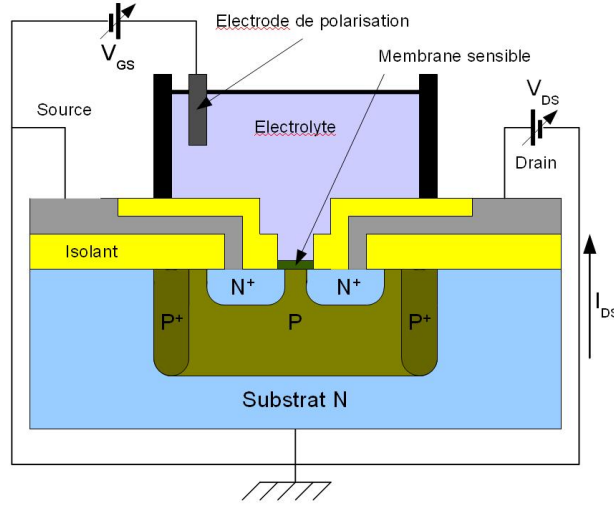


Figure 1.2: Description de la structure du ISFET

L'équation de la tension de seuil devient alors 1.3 :

$$V_T = E_{ref} - \Psi_0 + \chi^{sol} - \frac{\Phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{SS} + Q_{ox} + Q_B}{C_{ox}} + 2\phi_F \quad (1.3)$$

avec :

E_{ref} : potentiel d'électrode de référence,
 Ψ_0 : potentiel électrochimique de la solution,
 χ^{sol} : potentiel de surface du solvant.

Dans l'équation 1.3, tous les paramètres peuvent être fixés, excepté le terme Ψ_0 , qui dépend du pH de la solution, ainsi on peut ramener l'équation de la tension de seuil V_T à :

$$V_T = V_{T0} - \Psi_0 \quad (1.4)$$

avec :

$$V_{T0} = E_{ref} + \chi^{sol} - \frac{\Phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{SS} + Q_{ox} + Q_B}{C_{ox}} + 2\phi_F \quad (1.5)$$

Puisque la tension de seuil n'est fonction plus que de Ψ_0 , le courant drain-source sera influencé par les variations du potentiel Ψ_0 . Ce potentiel se développe dans l'électrolyte proche de la surface diélectrique (figure 1.3).

Pour déterminer le potentiel Ψ_0 , la présentation faite par I.HUMENYUK dans le cas de la mesure du pH décrit parfaitement les phénomènes physiques mis en jeu, ainsi nous reprenons ici

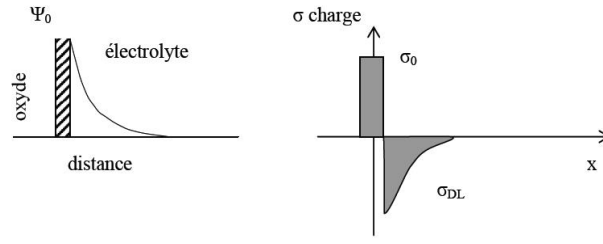


Figure 1.3: Redistribution du potentiel et de la charge à l'interface oxyde/électrolyte

sa présentation [Humenyuk 05].

La différence entre la concentration dans la solution et en surface du diélectrique crée un potentiel Ψ_0 dont l'expression est donnée par l'équation de Boltzmann :

$$a_{H_S^+} = a_{H_B^+} \exp \frac{-q\Psi_0}{kT} \quad (1.6)$$

$$pH_S = pH_B + \frac{q\Psi_0}{2,3kT} \quad (1.7)$$

avec :

a_{H^+} : activité des ions hydrogène en surface (S) et en solution (B) ;

q : charge d'un électron ;

k : constante de Boltzmann ;

T : température absolue.

Ainsi, si χ_{int} est "la capacité surfacique chimique" liée aux réactions de surface, les mécanismes d'adsorption de charges à la surface du matériau chimiquement sensible permettent d'écrire 1.8 :

$$\frac{\delta\sigma_0}{\delta pH_S} = -q \frac{\delta[B]}{\delta pH_S} = -q\chi_{int} \quad (1.8)$$

ou σ_0 est la charge par unité de surface et $[B]$ est le nombre de sites chargés ;

De plus, si C_{dif} est la capacité différentielle par unité de surface, due à la variation du potentiel électrochimique, nous avons :

$$\frac{\delta\sigma_{DL}}{\delta\Psi_0} = -\frac{\delta\sigma_0}{\delta\Psi_0} = -C_{dif} \quad (1.9)$$

où σ_{DL} est la charge de la double couche électrique.

On est donc en présence d'une double couche électrique qui apparaît quand l'électrode (solide) est plongée dans un électrolyte [Bergveld 03a]. La combinaison des équations 1.6, 1.7, 1.8, 1.9 nous donne l'expression 1.10 suivante :

$$\frac{\delta\Psi_0}{\delta(pH_B + \frac{q\Psi_0}{2,3kT})} = -\frac{q\chi_{int}}{C_{dif}} \quad (1.10)$$

qui donne après arrangement :

$$\frac{\delta\Psi_0}{\delta pH_B} = -2,3\frac{kT}{q}\alpha \quad (1.11) \quad \alpha = \frac{1}{\frac{2,3kTC_{dif}}{q^2\chi_{int}} + 1} \quad (1.12)$$

où α : coefficient de sélectivité qui varie entre 0 et 1.

D'après l'équation 1.12, on peut noter que pour avoir la sensibilité maximale aux ions hydrogène, la capacité surfacique chimique χ_{int} doit être la plus élevée possible pour que α tende vers un. Normalement, l'oxyde de silicium tout seul n'assure pas la valeur élevée de χ_{int} et se traduit par une faible sensibilité (30 mV/pH) de la couche SiO_2 aux ions hydrogène [Bergveld 03a]. En revanche, en déposant sur l'oxyde d'autres couches diélectriques comme Si_3N_4 , Al_2O_3 ou TaO_5 etc..., la sensibilité du capteur pH-ChemFET atteint des valeurs quasi nernstienne comprises entre 55 et 59 mV/pH [Bergveld 03b]. Cependant, Il y a des développements sur le ChemFET à grille suspendue, qui permet d'atteindre des sensibilités très supérieures à la sensibilité nernstienne [Bonnaud 09].

Pour décrire la double couche électrique, il existe plusieurs modèles :

- Le modèle de Helmholtz, qui est valable pour les concentrations importantes dans l'électrolyte [Bergveld 03a]
- Le modèle de Gouy-Chapman [Van Hal 95]
- Le modèle de Gouy-Chapman-Stern [Meixner 92]

Le modèle Gouy-Chapman-Stern a été proposé pour améliorer le modèle Gouy-Chapman. Il tient compte de la taille des ions solvatés et considère que ceux-ci ne peuvent s'approcher de la surface que jusqu'au plan interne d'Helmholtz (PIH) (figure 1.4). La couche interne contient des ions spécifiquement adsorbés et le PIH passe à travers le centre de ces ions.

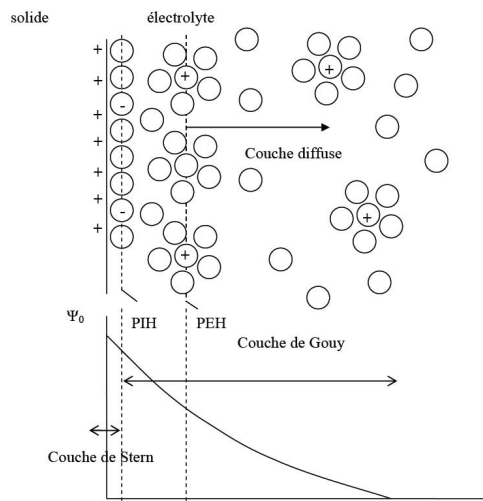


Figure 1.4: Redistribution du potentiel et de la charge à l'interface solide/électrolyte

La deuxième région est réservée aux ions solvatés. Cette région s'étend de la distance de contact entre des ions absorbés et les ions solvatés jusqu'au centre des ions solvatés. La ligne qui passe à travers le centre des ions solvatés est appelée plan externe de Helmholtz (PEH). Une troisième région s'étend de PEH jusqu'au volume de l'électrolyte et est appelée couche diffuse. Cette couche contient des ions non spécifiquement absorbés. L'épaisseur de la couche diffuse dépend de la force ionique de la solution.

En pratique, la sensibilité du pH-ChemFET est inférieure à la valeur prédite par la loi de Nernst. Pour comprendre le phénomène qui a lieu à l'interface diélectrique/électrolyte, beaucoup de mécanismes ont été proposés. Le travail original de Yates et al. décrit la double couche électrique à l'interface oxyde/eau à partir du modèle dit "site-binding model" [Yates 74]. Dans ce modèle, la surface d'oxyde est considérée comme amphotère c'est-à-dire, que les groupes hydroxyles de la surface peuvent être neutres, chargés positivement (protonisés) ou chargés négativement (déprotonisés) (figure 1.5).

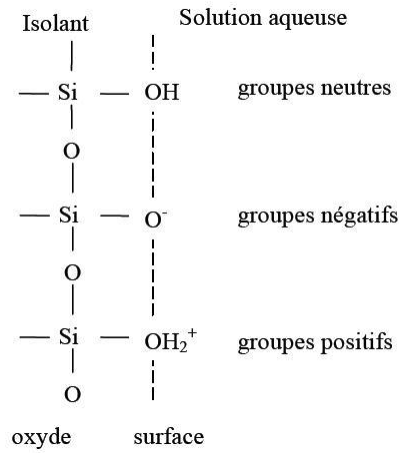
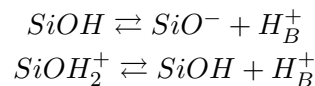


Figure 1.5: Présentation schématique du "site-binding" modèle

Le pH dépend de la charge en surface. Ce "site binding model" a été adapté par Bousse pour le pH-ChemFET avec la grille en SiO_2 [Bousse 83]. Bousse et al. ont également développé une théorie pour le pH-ChemFET dans laquelle interviennent les deux paramètres pH_{pcn} (pH au point de charge nulle) et β (terme correctif) dérivés des modèles des "site dissociation" et "double couche" [Bousse 82].

Les mécanismes d'accumulation de la charge en surface du diélectrique se présentent comme un équilibre thermodynamique entre les groupes $SiOH$ en surface et les ions H^+ en électrolyte. Les réactions en surface s'écrivent comme :



avec les constantes de dissociation :

$$K_a = \frac{N_{SiO^-} a_{H_S^+}}{N_{SiOH}} \quad (1.13)$$

$$K_b = \frac{N_{SiOH} a_{H_S^+}}{N_{SiOH_2^+}} \quad (1.14)$$

où N_i est la quantité des groupes par unité de surface et $a_{H_S^+}$ est l'activité des ions hydrogène.

En ce qui concerne $a_{H_S^+}$, la théorie du "site binding" modèle montre que :

$$a_{H_S^+} = \sqrt{K_a/K_b} \exp(-q\Psi_0/kT) F(\Psi_0) \quad (1.15)$$

En prenant le logarithme de l'expression 1.15 et ensuite la dérivée et en faisant quelques arrangements, on obtient [Bousse 82] :

$$\Psi_0 = 2,3 \frac{kT}{q} \frac{\beta}{\beta+1} (pH_{pcn} - pH) \quad \text{avec} \quad \beta = \frac{2q^2 N_S}{\sqrt{\frac{K_a}{K_b}} C_S kT} \quad (1.16)$$

où N_S : nombre de sites amphotères par unité de surface ;

pH_{pcn} : pH au point de charge nulle ;

C_S : capacité de la double couche électrique.

Le terme correctif β tient compte de la non idéalité du capteur pH-ChemFET. La sensibilité du capteur pH-ChemFET est donc finalement définie par la relation suivante :

$$S = \frac{d\Psi_0}{d(pH_{pcn} - pH)} = 2,3(kT/q) \frac{\beta}{\beta+1} \quad (1.17)$$

Par rapport aux équations 1.11 et 1.17, on peut écrire $\alpha = \beta/(\beta+1)$. Donc, pour que la sensibilité du capteur pH-ChemFET atteigne sa valeur maximale, le coefficient β doit être le plus grand possible.

En considérant l'équation 1.12, le terme correctif β s'écrit 1.18 :

$$\beta = \frac{q^2 \chi_{int}}{2,3kTC_{dif}} \quad (1.18)$$

1.3 Modélisation

La simulation d'un circuit électronique ou d'un composant nécessite la mise en place de modèle permettant de prévoir le comportement et les performances d'un système. Il est possible de simuler un circuit simple de quelques composants à un circuit comportant plusieurs millions de composants. Il existe de nombreux types de logiciels dédiés à la simulation, le choix de ce dernier est guidé par le type de composant, le type d'analyse, la taille du circuit...

Dans les années 1970, de nombreux simulateurs apparaissent, mais tous ne verront pas de développement, en raison de l'arrivée, de simulateurs performants. Ceux-ci sont encore largement utilisés aujourd'hui, dans la conception et la vérification de puces de technologie VLSI (Very Large Scale Integration), comme ASTAP (Advanced STatistical Analysis Program) de IBM ou SPICE (Simulation Program with Integrated Circuit Emphasis) introduit par l'Université de Californie à Berkeley. SPICE2 est de facto le standard de l'industrie et est utilisé dans de nombreuses universités partout dans le monde. La plupart des simulateurs de circuits qui sont disponibles dans le commerce sont dérivés de SPICE [Arora 07] [Fjeldly 98] [Lee 93].

1.3.1 Cas du MOSFET

Les modèles décrivent le comportement du composant, les caractéristiques courant-tension (I-V), les variations de la capacité en fonction de la tension (C-V), ainsi que les phénomènes de déplacement de porteurs de charge qui ont lieu dans le composant lors de la polarisation de la grille. Ces modèles décrivent le comportement en tout point du composant. Ces simulateurs se déclinent en deux catégories, il y a ceux qui permettent de définir les paramètres physiques du transistor (tension de seuil, courant de saturation,...), et les simulateurs de circuit électrique dit modèle "compact" [Prégaldiny 03] [Arora 07] [Tsividis 87].

A partir du procédé de fabrication, des propriétés des matériaux, de la géométrie, du profil des dopages, etc, et en se servant de la physique des semiconducteurs, les simulateurs dédiés aux paramètres physiques permettent de prévoir les phénomènes de déplacement de porteurs de charge et de déterminer les propriétés électriques du composant. En raison de la taille, de plus en plus petite, les modèles se doivent d'être plus complets et de prendre en compte fidèlement tous les paramètres, d'où le besoin de passer à des simulations à deux ou trois dimensions. Ce qui augmente tellement la complexité des modèles que leur résolution ne peut être faite qu'à l'aide de méthodes numériques. Ces simulateurs de composants numériques sont très répandus, et permettent de prévoir fidèlement les comportements de ces microcomposants. Les plus populaires dans les laboratoires universitaires sont MINIMOS [Selberherr 80], PISCES [Pinto 84], FIELDAY [Bulurla 75], CADDETH [Toyabe 85]. Ces simulateurs fournissent une compréhension détaillée de l'aspect physique du fonctionnement, mais la lourdeur des calculs et donc le temps de calcul élevé les rendent inadaptés pour les simulations de circuit intégrés. Ces simulateurs sont très employés pour étudier la physique et la conception de dispositifs [Arora 07].

En raison de la nature bidimensionnelle et tridimensionnelle des effets physiques régissant le comportement électrique du transistor, il est difficile d'obtenir une expression analytique valable dans tous les régimes de fonctionnement du composant. Cependant, il est possible d'avoir des formulations analytiques dans chacun des régimes. En dépit de ces limitations, ce sont ces simulateurs qui sont utilisés en raison de leur vitesse d'exécution et de leur simplicité. Ainsi les propriétés électriques sont décrites par des modèles de circuit équivalent, qui sont basés soit sur une approche empirique, soit sur des expressions analytiques. Ces modèles sont souvent utilisés par les simulateurs de circuit pour donner les caractéristiques du composant en raison de leur simplicité, le très populaire simulateur SPICE utilise ces modèles de circuit équivalent [Arora 07].

Ainsi, le transistor MOS a été sujet de nombreuses études de modélisation où quasiment tout a été étudié, l'aspect physique, l'aspect électrique. Nous présenterons le modèle le plus connu dans le domaine des simulations : le simulateur SPICE. Son succès vient en majeure partie du fait qu'il a été rendu public. Ainsi les industriels et les universitaires ont pu contribuer à son développement. SPICE est l'acronyme de "Simulation Program with Integrated Circuit Emphasis", qui a été développé à l'Université de Californie à Berkeley [Nagel 96]. Ainsi différents modèles du transistor MOS ont été développés.

Le premier ("*level 1*") date de 1967. Ce modèle simple, permettait de simuler assez fidèlement le fonctionnement du transistor MOS réalisé avec la technologie de l'époque [Shichman 68]. La réduction de la taille des composants rendait le modèle inadéquat car il ne tenait pas compte des effets de petites géométries et de réduction de la mobilité.

Un nouveau modèle a alors été développé, le "*level 2*" [Vladimirescu 80], celui-ci complète le "*level 1*" en prenant en compte ses négligences en terme d'intégration. Cependant, ce modèle est lourd en calcul : la volonté de prendre en compte tous les effets du canal court impose d'ajouter au modèle des équations très complexes.

Le dernier modèle de cette génération est le "*level 3*" [Liu 81], qui a été conçu pour alléger les calculs, par une approche semi-empirique. Il est optimisé pour les composants à canal court utilisés dans les circuits numériques [Massabrio 98].

Cependant, pour les composants à canal plus grand, utilisés en analogique, le "*level 3*" n'est pas précis. Ainsi sont apparus les modèles de deuxième génération. Ces modèles, le BSIM (Berkeley Short-channel IGFET Model) [Sheu 87], "*Level 28*" (de HSPICE) et BSIM2 [Duster 88] sont essentiellement portés sur les équations mathématiques au détriment des phénomènes physiques et de géométrie, ce qui en fait des modèles empiriques, efficaces et robustes. Le problème des modèles de cette génération est qu'ils ne prennent pas en compte la physique des procédés ainsi que ses effets. Alors pour pallier à ce problème une nouvelle génération (BSIM3 [Huang 94] [Cheng 95], BSIM4 [Liu 00], MM9 (MOS MODEL 9 de Philips Electronics)[Velghe 93]) est apparue qui prend en compte la physique, tout en maintenant une base mathématique. Cette génération est la plus utilisée actuellement : elle est appréciée pour sa validité pour toutes les géométries, pour son faible nombre de paramètres, pour ses fonctions de lissage, pour sa prise en compte des effets de petite géométrie et de parasites [Massabrio 98].

Le lissage est réalisé par traitement mathématique et donc ne reflète pas le comportement physique du transistor, ce qui est critique pour les régions d'inversion modérée. Cette limitation est devenue problématique avec les technologies récentes à faible dimension et à faible tension d'alimentation. Alors sont survenus d'autres modèles, dits de quatrième génération (EKV [Enz 95], MM11 de Philips Electronics [Van Langevelde 99], SP [Gildenblat 03]). Ces modèles utilisent une approche différente de celle utilisée par les modèles SPICE. Les modèles SPICE basent leur calculs sur la tension de seuil, et ainsi les différents régimes (inversion, accumulation et déplétion) sont traités séparément avec des équations différentes pour chacun des régimes. Les modèles de quatrième génération eux, sont basés sur le potentiel de surface ainsi les équations de ces modèles restent valables dans tous les régimes. Ce qui présente l'avantage de ne pas passer par des fonctions de lissage ou d'approximations physiques pour le régime de faible inversion, d'où une précision plus grande. L'autre particularité par rapport au modèle SPICE est que la référence n'est plus la source mais le substrat, ce qui permet une symétrie entre drain et source.

La figure 1.6 montre l'évolution de la modélisation, où il apparaît que les modèles SPICE les plus utilisés sont ceux pour lesquels le nombre de paramètres est le plus important [Prégaldiny 03].

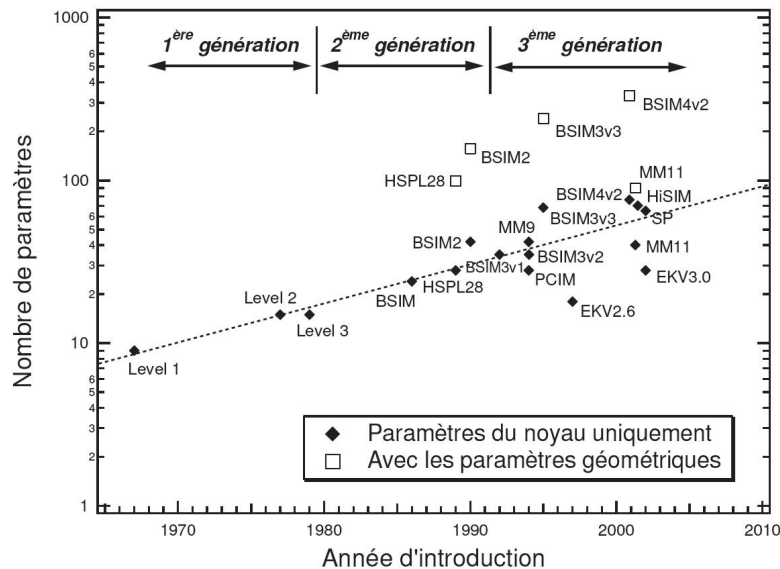


Figure 1.6: Nombre de paramètres des modèles compacts en fonction de leur année d'introduction.

1.3.2 Cas de l'ISFET

La difficulté dans la modélisation d'un ChemFET, ainsi que tout microsystème (MEMS, MOEMS,...) ou microcapteur alliant plus d'un domaine physique, est qu'en plus des équations liées à la partie électronique du composant, il faut prendre en compte, d'autres grandeurs qui peuvent être physiques, chimiques, biologiques,... Ceci a entraîné l'apparition de simulateurs dits "multiphysiques" (COMSOL, COVENTOR, ANSYS,...). Ces simulateurs possèdent des bibliothèques dédiées aux différents domaines physiques étudiés. Les MEMS en raison de leur large diffusion, ont les bibliothèques les plus développées. Dans la littérature, très peu de travaux traitent de la modélisation des ChemFETs. Il y a principalement deux modèles de pH-ISFET, l'un est un modèle SPICE basé sur le modèle du MOSFET, l'autre est un modèle utilisant le langage dédié à la multiphysique, le VHDL-AMS. Dans ces modèles, la réponse du capteur au pH est exprimé en utilisant la théorie du site-binding [Martinoia 00] [Daniel 02].

A partir du modèle SPICE "level 2" du transistor MOSFET, un modèle du pH-ISFET a été développé par le département de biophysique de l'université de Genes [Massobrio 90]. L'équation de la tension de seuil du transistor MOS utilisée par le modèle "level 2" a été remplacée par l'équation 1.3 exprimant la tension de seuil pour l'ISFET. Les termes de cette équation liés au silicium (potentiel de Fermi, densité de charge,...) sont maintenus puisque l'ISFET est réalisé aussi dans du silicium. La modification concerne les termes spécifiques au pH-ISFET, comme le potentiel de l'électrode de référence, le potentiel de surface du solvant, le potentiel

électrochimique de la solution. Le potentiel électrochimique de la solution lié à la concentration des ions H_S^+ à la surface de la couche sensible (Si_3N_4), est déterminé à partir de la théorie du site-binding, et du modèle de la double couche électrique de GOUY-CHAPMAN-STERN. Le modèle en fonctionnement est obtenu en considérant simplement la capacité de l'oxyde comme celle de l'association série de la capacité de la couche diélectrique et de la capacité de la couche de HELMHOLTZ. Les paramètres sensibles à la température sont définies pour étudier leurs influences.

Les équations du transistor MOS du programme MOSFET de SPICE sont modifiées par l'introduction des équations décrivant le fonctionnement du pH-ISFET. Dans SPICE, seul l'oxyde SiO_2 est définie. Pour simuler le fonctionnement du capteur chimique, d'autres isolants ont été définis : Si_3N_4 , Al_2O_3 , Ta_2O_3 . Les résultats de ces simulations sont comparables aux résultats expérimentaux et le modèle est ainsi validé. Le principal défaut de ce modèle réside dans l'exigence de connaissance approfondie en programmation pour son utilisation. Ainsi à partir de ce modèle, un macromodèle a été réalisé. Celui-ci est capable de s'intégrer dans les différentes versions commerciales de SPICE (HSPICE, PSPICE,...) [Martinoia 00]. Ce macromodèle considère l'ISFET comme deux étages séparés, un étage électrochimique (interface électrolyte-isolant) et un étage électronique (MOSFET). Ainsi le modèle donne un circuit électrique équivalent de l'ISFET (fig 1.7).

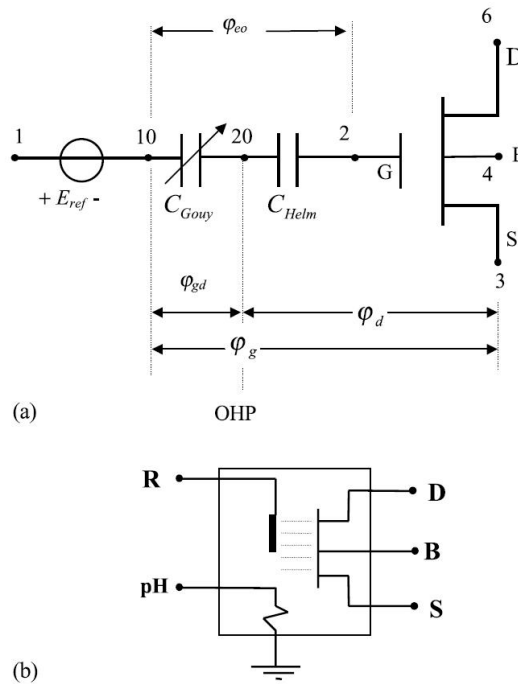


Figure 1.7: (a) Circuit électrique équivalent de l'ISFET. (b) Bloc de l'ISFET sous HSPICE avec ses connections drain, source, substrat, électrode de ref (R), pH de la solution considérée

Grâce à ce macromodèle, l'ISFET est considéré comme un composant électronique standard, l'utilisateur n'a plus qu'à déterminer les paramètres principaux et simuler l'ISFET dans

différentes configurations sans nécessité de connaissances développées de la programmation SPICE. A partir de ce modèle, des systèmes complets de détection avec étage d'amplification, filtre, correction d'offset,..., ont pu être simulés [Martinoia 05]. Ce modèle permet aussi de simuler le fonctionnement de circuits complexes basés sur des réseaux d'ISFET (exemple fig 1.8) pour mesurer la population cellulaire [Martinoia 01], ou encore l'activité électrique neuronale par enregistrement de signaux extracellulaires de l'ISFET [Massobrio 07]. Le modèle a permis aussi de réaliser des études sur la faisabilité de la mesure de l'activité neuronale électrophysiologique à partir de la modélisation d'une jonction neurone-nanotube de carbone-ISFET [Massobrio 08].

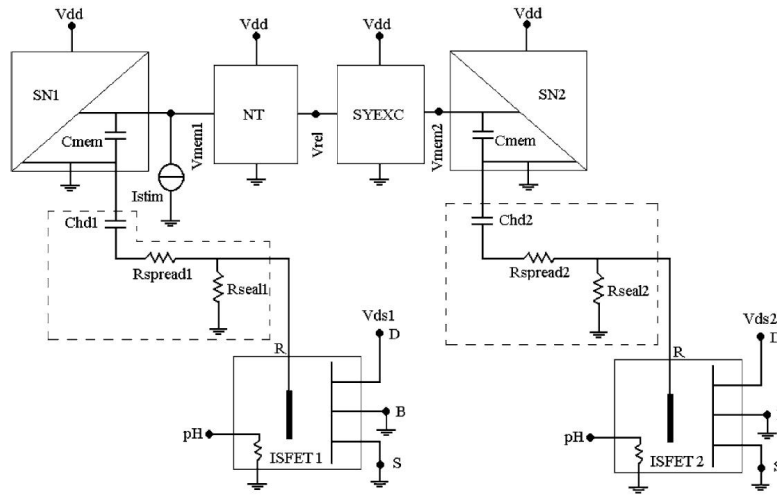


Figure 1.8: Exemple d'utilisation du macromodèle de l'ISFET pour la simulation d'un circuit complexe

Morgenshtein et al. présentent, à partir du modèle SPICE, les résultats de simulation d'un pH-biotélémetre réalisé par l'association d'un ISFET et d'un capteur d'image (APS) [Morgenshtein 03]. La figure 1.9 présente les blocs fonctionnels utilisés pour la simulation.

Dans la littérature nous trouvons aussi d'autres configurations de l'utilisation de l'ISFET pour différentes applications, utilisant l'outil de simulation Cadence, comme l'association d'un circuit de lecture ou d'un pont de wheatstone [Morgenshtein 02], [Morgenshtein 04].

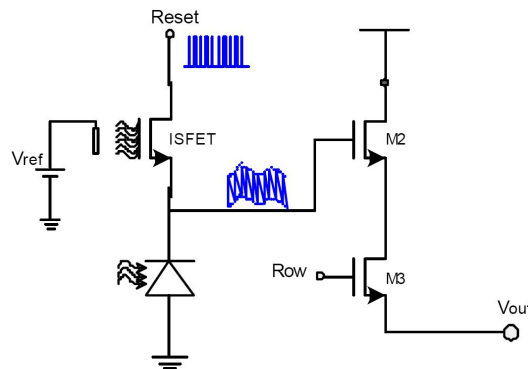


Figure 1.9: pH-biotélémetre réalisé à partir d'un ISFET

Néanmoins ces travaux se limitent à l'utilisation du modèle SPICE établi, ils ne travaillent pas sur le développement du modèle de l'ISFET en lui même.

Une autre publication, issu d'une collaboration entre l'université de Oujda (Maroc) et le LAAS présente la modélisation de l'influence de la température en utilisant PSPICE et MATLAB. Ce modèle prend en compte l'oxydation de la surface d'où une plus grande précision que les modèles précédents [Hajji 07].

Parallèlement aux modèles SPICE, Daniel et al. ont développé un modèle VHDL-AMS de l'ISFET [Daniel 02]. L'avantage du VHDL-AMS réside dans son caractère multi-physique qui permet une plus grande flexibilité. Le modèle s'appuie sur les mêmes équations et sur le modèle du transistor MOS de SPICE, il permet l'extraction de paramètres. Les résultats concordent avec les valeurs expérimentales et valident le modèle [Daniel 04a]. A partir de ce modèle VHDL-AMS, différentes configurations de l'ISFET ont été simulées, par exemple en l'associant à un convertisseur analogique-numérique (sigma-delta) [Janicki 04] ou la prise en compte d'ions différents de l'hydrogène dans la solution [Szermer 03], ou encore l'intégration d'ionophores pour la détection sélective [Daniel 04b].

D'autres modèles coexistent, comme le modèle d'ISFET à canal préformé [Kuhnhold 00], établit sous le logiciel de calcul Mathématica, qui voit une augmentation de la sensibilité (proche des valeurs nernstiennes) ou l'influence de l'oxydation de surface. Un autre modèle de l'ISFET à canal enterré a été développé où il est présenté dans une nouvelle configuration basée sur l'architecture du CMOS, en associant un ISFET type P et un ISFET de type N [Novitski 09]. On retrouve aussi un autre modèle accès sur le conditionnement du signal de sortie de l'ISFET (réduction de bruit,...) [Kal 07].

Enfin d'autres laboratoires de recherche se sont limités à étudier non pas l'ISFET dans son ensemble mais l'influence de différentes grandeurs sur la réponse du capteur comme le bruit basse fréquence ou la dérive temporelle [Jamasb 98b], [Jamasb 98a].

1.3.3 Cas de l'EnFET

La modélisation des mécanismes enzymatiques a été d'abord présentée par Michaelis et Menten [Michaelis 13] en 1913, qui décrivent la cinétique d'une réaction enzymatique en fonction de la concentration du substrat et de son affinité avec l'enzyme. Le premier modèle d'un biocapteur enzymatique a été publié par Racine and Mindt en 1971 [Racine 71]. Ce modèle décrit le fonctionnement d'une électrode ampérométrique, ne prend pas en compte les phénomènes de saturation, ainsi considère l'équation de Michaelis-Menten comme étant purement linéaire, et ne prend en compte que la diffusion du substrat.

Puis de nombreux modèles de capteurs ampérométriques plus complets apparaissent, dont

celui de Bartlett et al. qui prend en compte tous les mécanismes enzymatiques (Michaelis-Menten), l'activité enzymatique, les caractéristiques de la membrane, la diffusion du substrat et des espèces générées en intégrant que les effets du coefficient de diffusion [Bartlett 93]. D'autres modèles de capteurs ampérométriques apparaissent par la suite, souvent décrits pour une application donnée. Un ouvrage, paru récemment en 2009, a été consacré à ces modèles reprenant les derniers travaux concernant la modélisation de ce type de capteur [Baronas 09].

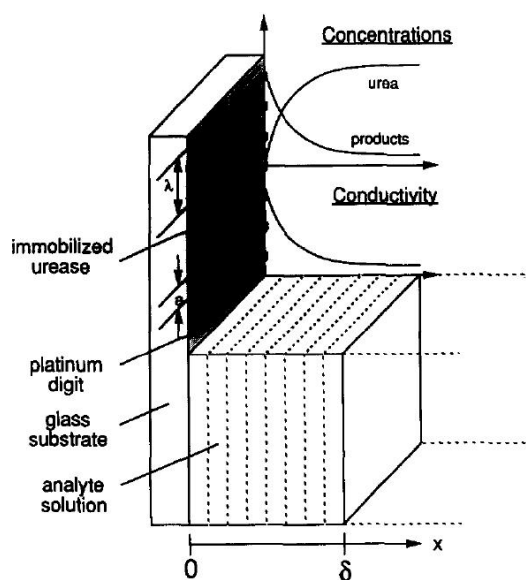


Figure 1.10: Schéma du modèle du capteur conductimétrique de l'urée

Toujours dans les détecteurs enzymatiques, des modèles ont été développés pour les capteurs conductimétriques, dont le modèle de référence est celui proposé par Sheppard et al. qui présente un modèle d'un capteur conductimétrique pour la détection de l'urée [Sheppard 96]. Ce modèle de capteur sensible à l'augmentation de la conductivité de la solution à la surface, due à l'hydrolyse de l'urée, est présenté figure 1.10, où est illustré le capteur en coupe ainsi que les variations spatiales de la concentration de l'urée et des produits issus de la réaction enzymatique. Le modèle prend en compte la réaction enzymatique et sa cinétique (Michaelis-Menten), les réactions chimiques afin de déterminer les ions participant à la conduction des charges, la diffusion des espèces dans la solution (loi de Fick), les phénomènes de transport de charges, la géométrie de l'électrode et les propriétés des matériaux utilisés.

Concernant les EnFETs, l'objet de notre étude, les premiers travaux de modélisation du capteur potentiométrique EnFET ont été réalisés par Caras et Al. en 1985, où ils présentent le modèle du Glucose-EnFET et du pénicilline-EnFET [Caras 85a] [Caras 85b]. Leur modèle (figure 1.11) très simplifié, considère que la réaction enzymatique ne produit qu'un seul acide. Il prend en compte la diffusion du substrat et du produit de la réaction enzymatique (l'acide), en considérant que leurs coefficients de diffusion sont égaux et négligeables devant la diffusion des protons H^+ . La concentration des couches enzymatiques est considérée en excès, le milieu n'est

pas pris en compte. Le pH est calculé en fonction seulement de la generation/consommation de la réaction enzymatique sans la prise en compte des réactions chimiques qui peuvent interagir dans la solution.

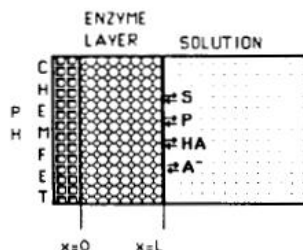


Figure 1.11: Schéma de l'EnFET de Caras

Ce modèle a été par la suite complété en prenant en compte les effets du tampon de la solution sur le glucose-oxydase qui diminuent la sensibilité [Eddowes 85]. Ainsi cela induit un décalage de la gamme de mesure vers des concentrations plus grandes de substrat, pour pouvoir apprécier une détection du glucose. Le modèle ainsi présenté n'apporte pas vraiment plus de précision excepté la prise en compte des effets tampons, et reste tout de même incomplet en comparaison aux modèles que l'on peut trouver pour les capteurs ampérométriques.

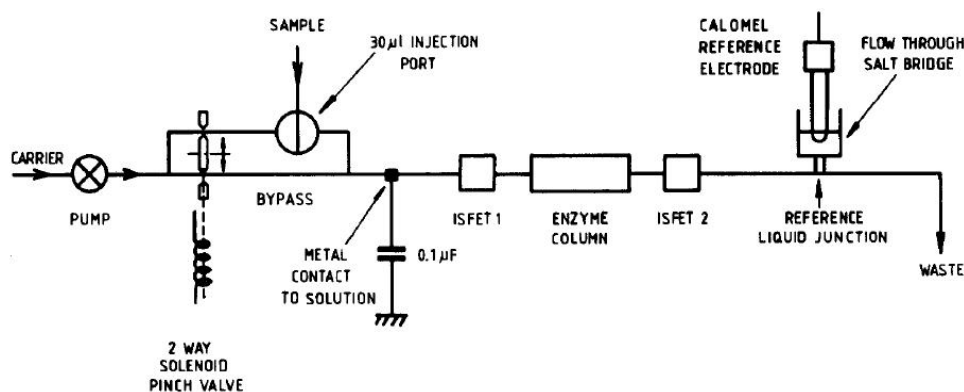


Figure 1.12: Diagramme du système FIA-ISFET

Une autre approche a été utilisée par Chandler et al. pour modéliser un EnFET [Chandler 90]. Plutôt que de modéliser l'EnFET dont les mécanismes restent complexes, un système de fonctionnement similaire a été réalisé. La technique utilisée est l'analyse par l'injection en flux continue (FIA : Flow Injection Analyse), le principe est d'injecter une solution échantillon dans un fluide en mouvement, le fluide permettra de transporter la solution échantillon vers un capteur, afin d'en analyser les effets. Ainsi Chandler et al. proposent un système où un fluide en mouvement (tampon), injecté de la solution échantillon (contenant de l'urée) passe par un ISFET qui en mesure le pH, puis traverse une colonne enzymatique où l'hydrolyse de l'urée aura lieu, et juste à la sortie de cette chambre un deuxième ISFET

sera placé et mesure le pH (figure 1.12). Par la mesure différentielle entre les deux capteurs pH-métrique, avant et après la dégradation de l'urée, la concentration de l'urée pourra être mesurée. Ces auteurs ont réalisé un modèle de ce système, le modèle proposé prend en compte les réactions acido-basiques et les mécanismes enzymatiques.

Un autre modèle a été développé, à partir de la modélisation de l'ISFET [Aouni 04]. Celui-ci très simpliste, partant de l'équation chimique générale de la réaction enzymatique suppose que la consommation d'une môle d'urée produit une môle d'ion ammonium (NH_4^+). De cette équation, ils estiment que la variation de la concentration locale à la surface du capteur, de proton est égale à la variation de la concentration d'urée. Ainsi ils en déduisent une relation simple entre la concentration en urée et le pH, ($pH = \alpha * pUrée$), où le coefficient α (inférieur à 1) représente les limitations dues à la diffusion de l'urée dans la solution et les effets du tampon.

Dans la littérature, peu de travaux dédiés à la modélisation des EnFETs ont été réalisés depuis. Ainsi le LAAS a entrepris de réaliser un modèle pour la créatinine-EnFET [Temple-Boyer 06] et l'urée EnFET [Pourciel-Gouzy 04] [Temple-Boyer 08]. Dans les travaux de thèse de Marie-Laure Pourciel-Gouzy un modèle de l'urée-EnFET qui prend en compte les mécanismes enzymatiques décrit par Michaelis-Menten et les réactions acido-basiques, a été proposé. Ce modèle permet d'étudier l'influence du pH initial de la solution et les différentes concentrations des espèces issues de la réaction enzymatique. Quelques hypothèses sont faites, pour s'affranchir de l'effet de la cinétique de réaction, la concentration du substrat est supposée très grande, permettant de dire que la vitesse de réaction en est indépendante. D'après l'équation de Michaelis-Menten, la vitesse de la réaction est ainsi supposée constante et toujours maximale. Ce modèle permet d'intégrer les réactions acido-basiques mais reste à compléter par la prise en compte de la diffusion. De plus, la supposition faite sur la cinétique de la réaction limite le modèle aux fortes concentrations de substrat mais nous verrons dans notre modèle que la cinétique a un rôle important pour la détection micromolaire.

Ainsi, cet état de l'art montre que l'on peut trouver quelques modèles fiables et assez complets pour les capteurs ampérométriques et conductimétriques, mais, concernant les EnFETs, on retrouve des travaux où les différents phénomènes physico-chimiques liés à la réaction enzymatique, la diffusion des espèces issues de cette réaction enzymatique ou les réactions acido-basiques ne sont jamais traitées simultanément. Ceci montre la nécessité de développer cette approche afin de pouvoir simuler le fonctionnement de l'EnFET, d'où ce travail où un modèle sera proposé [Temple-Boyer 08]. Ce modèle reprend les travaux de M.L Pourciel-Gouzy en les complétant par les prises en compte de la diffusion des espèces, des réactions acido-basiques, de la cinétique de la réaction enzymatique, de l'environnement du capteur comme la composition de la solution initiale et ses paramètres physico-chimiques. Un facteur ignoré jusqu'alors, sera aussi étudié : le débit d'écoulement dans la canalisation, le but étant d'intégrer le capteur dans un système automatisé où la solution à analyser sera en mouvement continu le long de la surface sensible.

Références bibliographiques

- [Aouni 04] F. Aouni, R. Mlika, C. Martelet, H.B. Ouada, N. Jaffrezic-Renault & A.P. Soldatkin. *Modelling of the Potentiometric Response of ENFETs Based on Enzymatic Multilayer Membranes*. *Electroanalysis*, vol. 16, no. 22, pages 1907–1911, 2004.
- [Arora 07] N. Arora. *Mosfet modeling for VLSI simulation : theory and practice*. World Scientific Pub Co Inc, 2007.
- [Baronas 09] R. Baronas, I. Feliksas & J. Kulys. *Mathematical Modeling of Biosensors : An Introduction for Chemists and Mathematicians*. Springer Verlag, 2009.
- [Bartlett 93] PN Bartlett & KFE Pratt. *Modelling of processes in enzyme electrodes*. *Biosensors & bioelectronics*, vol. 8, no. 9-10, pages 451–462, 1993.
- [Bergveld 70] P. Bergveld. *Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements*. *IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering*, vol. 17, no. 1, pages 70–71, 1970.
- [Bergveld 03a] P. Bergveld. *Isfet, theory and practice*. Dans *IEEE Sensor Conference Toronto*, volume 10, pages 1–26, 2003.
- [Bergveld 03b] P. Bergveld. *Thirty years of ISFETOLOGY What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years*. *Sensors & Actuators : B. Chemical*, vol. 88, no. 1, pages 1–20, 2003.
- [Bonnaud 09] O. Bonnaud & T. Mohammed-Brahim. *Improvement of electrical properties of silicon-based thin-film transistors by modifying technological fabrication processes*. *Applied Physics A : Materials Science & Processing*, vol. 96, no. 1, pages 259–269, 2009.
- [Bousse 82] L.J. Bousse. *The chemical sensitivity of electrolyte/insulator/silicon structures : fundamentals of ISFET operation*. Thèse de doctorat, Technische Hogeschool Twente, 1982.

- [Bousse 83] L. Bousse, NF De Rooij & P. Bergveld. *Operation of chemically sensitive field-effect sensors as a function of the insulator-electrolyte interface*. IEEE Transactions on Electron Devices, vol. 30, no. 10, pages 1263–1270, 1983.
- [Bulurla 75] EM Bulurla & PE Cottrell. *FIELDAY-Finite Element Device Analysis Program*. Rapport technique, IBM TR 19.0356, 1975.
- [Caras 85a] S. Caras & J. Janata. *pH based enzyme potentiometric sensors. Parts 1–3*. Anal. Chem, vol. 57, pages 1917–1925, 1985.
- [Caras 85b] S.D. Caras, D. Petelenz & J. Janata. *pH-based enzyme potentiometric sensors. Part 2. Glucose-sensitive field effect transistor*. Analytical chemistry, vol. 57, no. 9, pages 1920–1923, 1985.
- [Chandler 90] GK Chandler, JR Dodgson & MJ Eddowes. *An ISFET-based flow injection analysis system for determination of urea : Experiment and theory*. Sensors and Actuators B : Chemical, vol. 1, no. 1-6, pages 433–437, 1990.
- [Cheng 95] Y. Cheng, M. Chan, K. Hui, M. Jeng, Z. Liu, J. Huang, K. Chen, J. Chen, R. Tu, P.K. Ko *et al.* *BSIM3v3 manual*. University of California, Berkeley, vol. 1996, 1995.
- [Daniel 02] M. Daniel, M. Szermer, A. Napieralski & J.J. Charlot. *CHEMFET modelling for hardware description languages*. Dans Modern Problems of Radio Engineering, Telecommunications and Computer Science, 2002. Proceedings of the International Conference, pages 338–341, 2002.
- [Daniel 04a] M. Daniel, M. Janicki, W. Wroblewski, A. Dybko, Z. Brzozka & A. Napieralski. *Ion selective transistor modelling for behavioural simulations*. Automation in Water Quality Monitoring II, vol. 50, no. 11, pages 115–123, 2004.
- [Daniel 04b] M. Daniel, M. Szermer, M. Janicki, A. Napieralski & A. Politechniki. *Modeling and Practical Verification of the Ionophore Based Chemically Modified Field Effect Transistor*. Dans NSTI Nanotechnology Conference and Trade Show (NANOTECH 2004), pages 7–11, 2004.
- [Duster 88] JS Duster, MC Jeng, PK Ko & C. Hu. *User's Guide for the BSIM2 Parameter Extraction Program and the SPICE3 with BSIM*

Implementation. Electronic Research Laboratory, Berkeley : University of California, 1988.

- [Eddowes 85] MJ Eddowes. *Response of an enzyme-modified pH-sensitive ion selective device ; consideration of the influence of the buffering capacity of the analyte solution*. Sensors and Actuators, vol. 7, no. 2, pages 97–115, 1985.
- [Enz 95] C.C. Enz, F. Krummenacher & E.A. Vittoz. *An analytical MOS transistor model valid in all regions of operation and dedicated to low-voltage and low-current applications*. Analog Integrated Circuits and Signal Processing, vol. 8, no. 1, pages 83–114, 1995.
- [Fjeldly 98] T.A. Fjeldly, T. Ytterdal & M. Shur. Introduction to device modeling and circuit simulation. Wiley New York, 1998.
- [Gildenblat 03] G. Gildenblat, TL Chen, X. Gu, H. Wang & X. Cai. *SP : An Advanced Surface-Potential-Based Compact MOSFET Model (invited)*. Dans Proceedings of the IEEE Custom Integrated Circuits Conference, pages 233–240. Citeseer, 2003.
- [Hajji 07] B. Hajji, S.E. Naimi, I. Humenyuk, J. Launay & P. Temple-Boyer. *Behavioral Modeling of The pH-ISFET Temperature Influence*. Electronics, Circuits and Systems, 2007. ICECS 2007. 14th IEEE International Conference on, pages 419 –422, dec. 2007.
- [Henry 01] M. Henry. *Physique des semiconducteurs et des composants électroniques (édition Dunod)*. 2001.
- [Huang 94] JH Huang, ZH Liu, MC Jeng, K. Hui, M. Chan, PK Ko & C. Hu. *BSIM3 Manual (version 2.0)*. University of California, Berkeley, 1994.
- [Humenyuk 05] I. Humenyuk. *Développement des microcapteurs chimiques CHEMFETs pour l'analyse de l'eau*. Thèse de doctorat, INSA de TOULOUSE, 2005.
- [Jamasb 98a] S. Jamasb, JN Churchill, SD Collins, RL Smith & E. Commquest. *Accurate continuous monitoring using ISFET-based biosensors based on characterization and modeling of drift and low frequency noise*. Dans Engineering in Medicine and Biology Society, 1998. Proceedings of the 20th Annual International Conference of the IEEE, volume 6, 1998.

- [Jamab 98b] S. Jamab, S. Collins & R.L. Smith. *A physical model for drift in pH ISFETs*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 49, no. 1-2, pages 146–155, 1998.
- [Janicki 04] M. Janicki, M. Daniel, M. Szermer & A. Napieralski. *Ion sensitive field effect transistor modelling for multidomain simulation purposes*. Microelectronics Journal, vol. 35, no. 10, pages 831–840, 2004.
- [Kal 07] S. Kal & PV Bhanu. *Design and modeling of ISFET for pH sensing*. Dans TENCON 2007-2007 IEEE Region 10 Conference, pages 1–4, 2007.
- [Kuhnhold 00] R. Kuhnhold & H. Ryssel. *Modeling the pH response of silicon nitride ISFET devices*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 68, no. 1-3, pages 307–312, 2000.
- [Lee 93] Kwiro Lee, Michael Shur, Tor A. Fjeldly & Trond Ytterdal. *Semiconductor device modeling for vlsi*. Prentice-Hall, Inc., Upper Saddle River, NJ, USA, 1993.
- [Liu 81] S. Liu. *A unified CAD model for MOSFETs*. 1981.
- [Liu 00] W. Liu, X. Jin, K. Cao & C. Hu. *BSIM4. 1.0 MOSFET Model-User's Manual*. University of California/Berkeley, 2000.
- [Martinoia 00] S. Martinoia & G. Massobrio. *A behavioral macromodel of the ISFET in SPICE*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 62, no. 3, pages 182–189, 2000.
- [Martinoia 01] S. Martinoia, N. Rosso, M. Grattarola, L. Lorenzelli, B. Margesin & M. Zen. *Development of ISFET array-based microsystems for bioelectrochemical measurements of cell populations*. Biosensors and Bioelectronics, vol. 16, no. 9-12, pages 1043–1050, 2001.
- [Martinoia 05] S. Martinoia, G. Massobrio & L. Lorenzelli. *Modeling ISFET microsensor and ISFET-based microsystems : a review*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 105, no. 1, pages 14–27, 2005.
- [Massabrio 98] G. Massabrio & P. Antognetti. *Semiconductor device modeling with SPICE*. McGraw-Hill Professional, 1998.
- [Massobrio 90] G. Massobrio, M. Grattarola, G. Mattioli & F. Mattioli Jr. *ISFET-based biosensor modeling with SPICE*. Sensors and Actuators B : Chemical,

vol. 1, no. 1-6, pages 401–407, 1990.

- [Massobrio 07] G. Massobrio, P. Massobrio & S. Martinoia. *Modeling and simulation of silicon neuron-to-ISFET junction*. Journal of Computational Electronics, vol. 6, no. 4, pages 431–437, 2007.
- [Massobrio 08] G. Massobrio, P. Massobrio & S. Martinoia. *Modeling the Neuron-Carbon Nanotube-ISFET Junction to Investigate the Electrophysiological Neuronal Activity*. Nano Letters, vol. 8, no. 12, pages 4433–4440, 2008.
- [Meixner 92] LK Meixner & S. Koch. *Simulation of ISFET operation based on the site-binding model*. Sensors and Actuators B : Chemical, vol. 6, no. 1-3, pages 315–318, 1992.
- [Michaelis 13] L. Michaelis & ML Menten. *Kinetics of invertase action*. Biochem. Z, vol. 49, pages 333–369, 1913.
- [Morgenshtein 02] A. Morgenshtein, U. Dinnar, C.G. Jakobson & Y. Nemirovsky. *CMOS Readout Circuitry for Biomedical ISFET-Based Microsystems*. 2002.
- [Morgenshtein 03] A. Morgenshtein, U. Dinnar, C.G. Jakobson & Y. Nemirovsky. *Combined pH-Image Sensor based on Pass-Transistor Operation of ISFET*. 2003.
- [Morgenshtein 04] A. Morgenshtein, L. Sudakov-Boreysha, U. Dinnar, C.G. Jakobson & Y. Nemirovsky. *Wheatstone-Bridge readout interface for ISFET/REFET applications*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 98, no. 1, pages 18–27, 2004.
- [Nagel 96] L.W. Nagel & O. Enterprises. *The life of SPICE*. Dans 1996 Bipolar Circuits and Technology Meeting, 1996.
- [Novitski 09] R. Novitski, H. Einati & Y. Shacham-Diamand. *Temperature dependence of buried channel ion sensitive field effect transistors*. Journal of Applied Physics, vol. 106, page 094501, 2009.
- [Pinto 84] M.R. Pinto, C.S. Rafferty & R.W. Dutton. *PISCES-II user's manual*. Stanford University, Stanford, CA, vol. 9, pages 31–35, 1984.
- [Pourciel-Gouzy 04] M.L. Pourciel-Gouzy. *Développement d'interfaces adaptées aux analyses biochimiques et biologiques - Application aux capteurs chimiques CHEMFETs*. Thèse de doctorat, INSA de Toulouse, 2004.

- [Prégaldiny 03] F. Prégaldiny. *Etude et modélisation du comportement électrique des transistors MOS fortement submicroniques*. Thèse de doctorat, ULP de Strasbourg, 2003.
- [Racine 71] P. Racine & W. Mindt. *On the role of substrate diffusion in enzyme electrodes*. Experientia Suppl, vol. 18, pages 525–543, 1971.
- [Selberherr 80] S. Selberherr, A. Schutz & HW Potzl. *MINIMOS – A two-dimensional MOS transistor analyzer*. IEEE Transactions on Electron Devices, vol. 27, no. 8, pages 1540–1550, 1980.
- [Sheppard 96] N.F. Sheppard, D.J. Mears & A. Guiseppi-Elie. *Model of an immobilized enzyme conductimetric urea biosensor*. Biosensors and Bioelectronics, vol. 11, no. 10, pages 967–979, 1996.
- [Sheu 87] BJ Sheu, DL Scharfetter, P.K. Ko & M.C. Jeng. *BSIM : Berkeley short-channel IGFET model for MOS transistors*. IEEE Journal of Solid-State Circuits, vol. 22, no. 4, pages 558–566, 1987.
- [Shichman 68] H. Shichman & DA Hodges. *Modeling and simulation of insulated-gate field-effect transistor switching circuits*. IEEE Journal of Solid-State Circuits, vol. 3, no. 3, pages 285–289, 1968.
- [Szermer 03] M. Szermer, M. Daniel & A. Napieralski. *Design and modelling of smart sensor dedicated for water pollution monitoring*. Dans Proceedings of the 2003 Nanotechnology Conference NANOTECH 2003, pages 110–114, 2003.
- [Temple-Boyer 06] P. Temple-Boyer, J. Le Gal, ML Pourciel-Gouzy, W. Sant & A. Martinez. *Modelling of EnFETs for the creatinine detection*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 118, no. 1-2, pages 47–52, 2006.
- [Temple-Boyer 08] P. Temple-Boyer, A. Benyahia, W. Sant, ML Pourciel-Gouzy, J. Launay & A. Martinez. *Modelling of urea-EnFETs for haemodialysis applications*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 131, no. 2, pages 525–532, 2008.
- [Toyabe 85] T. Toyabe, H. Masuda, Y. Aoki, H. Shukuri & T. Hagiwara. *Three-dimensional device simulator CADDETH with highly convergent matrix solution algorithms*. IEEE Transactions on Computer-Aided Design of Integrated Circuits and Systems, vol. 4, no. 4, pages 482–488, 1985.

- [Tsividis 87] Y. Tsividis. Operation and Modeling of the MOS Transistor. McGraw-Hill, Inc. New York, NY, USA, 1987.
- [Van Hal 95] REG Van Hal, JCT Eijkel & P. Bergveld. *A novel description of ISFET sensitivity with the buffer capacity and double-layer capacitance as key parameters*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 24, no. 1-3, pages 201–205, 1995.
- [Van Langevelde 99] R. Van Langevelde. *A Compact MOSFET Model for Distortion Analysis in Analog Circuit Design*. TIJDSCHRIFT-NEDERLANDS ELEKTRONICA EN RADIOGENOOTSCHAP, vol. 64, no. 5, pages 237–237, 1999.
- [Velghe 93] R. Velghe, D. Klaassen & F. Klaassen. *Compact MOS modeling for analog circuit simulation*. Dans INTERNATIONAL ELECTRON DEVICES MEETING, pages 485–485. INSTITUTE OF ELECTRICAL & ELECTRONIC ENGINEERS, INC (IEEE), 1993.
- [Vladimirescu 80] A. Vladimirescu & S. Liu. *The simulation of MOS integrated circuits using SPICE2*. UCB/ERL M, vol. 80, 1980.
- [Yates 74] D.E. Yates, S. Levine & T.W. Healy. *Site-binding model of the electrical double layer at the oxide/water interface*. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1, vol. 70, pages 1807–1818, 1974.

2

Intégration de l'électrode de grille

Dans ce chapitre, nous allons présenter le pH-ChemFET, son procédé technologique de fabrication, ainsi que les premiers résultats de caractérisation des composants. Nous mettrons en valeur les défauts constatés et nous proposerons des solutions pour y remédier afin d'améliorer le procédé et obtenir des composants respectant le cahier des charges. Nous nous intéresserons principalement à l'intégration d'une électrode de grille de "pseudo-référence", nous verrons la problématique imposée par cette dernière, les différentes solutions envisagées et le choix de l'électrode de grille optimisée. Nous concluons ce chapitre en présentant un composant tout intégré ayant des propriétés de fonctionnalité optimisées.

Décrit par P. BERGVELD (1970), le ChemFET est basé sur la structure du transistor MOSFET (Metal-Oxyde Semiconductor Field Effect Transistor) [Bergveld 70], dont l'idée est de remplacer la grille de commande par une surface sensible aux ions H^+ . L'équipe de recherche qui travaille sur les microcapteurs de détection en phase liquide au sein de la centrale technologique du LAAS-CNRS a fait le choix de développer cette technologie. Ainsi deux filières de ChemFET ont été développées, le capteurs chimique ChemFET/ReFET développé par W.SANT [Sant 04] pour l'analyse médicale et la microélectrode tout solide pH-ChemFET pour l'analyse environnementale développée par I.HUMENYUK [Humenyuk 05]. Les composants obtenus ont donné des résultats satisfaisants, cependant, l'électrode de grille à toujours été une source de perturbation des mesures.

En vue de miniaturiser les systèmes de détection, nous voulons intégrer tout le système de mesure sur une même puce. Pour cela, nous intégrerons sur la puce l'électrode de polarisation du milieu liquide. Pour avoir des mesures fiables, nous allons faire une étude qui aura pour finalité de définir l'électrode la plus adaptée à notre environnement, et réalisable avec les techniques de

fabrication de la microélectronique.

2.1 Conception du pH-ChemFET

Nous ferons toutes les étapes réalisées en partant des simulations, les réalisations, et enfin les tests et caractérisations. Nous apporterons cependant au procédé initialement défini, quelques modifications pour l'adapter à notre application.

2.1.1 Cahier des charges

Les applications étant les mêmes, nous nous mettrons dans les conditions décrites par W.SANT, auxquelles nous ajouterons les contraintes en vue de notre étude sur la microélectrode intégrée [Sant 04]. Les détecteurs devront être, comme tous les microdispositifs intégrés développés ces dernières années, de faible coût de production, fabriqués collectivement, de faible consommation énergétique, de grande fiabilité, de longue durée de vie, simple d'utilisation,...

Spécifications liées à l'application :

- imperméabilité due au fonctionnement en milieu aqueux
- faible dérive
- faible sensibilité au bruit extérieur
- durée de vie de plusieurs mois
- mesure dans la gamme $\text{pH} = [2 \dots 12]$
- intégration de l'électrode de polarisation
- faible coût
- faible dimension
- compatible pour une utilisation avec l'interface de mesure ChemFETmètre développée au LAAS [Humenyuk 05].

Le respect de ces impératifs et les études précédentes, [Sant 04] [Humenyuk 05] ont mené aux spécifications technologiques et électriques suivantes :

- épaisseur d'isolant diélectrique $\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$: 50 nm chacune respectivement
- longueur de grille : $10\mu\text{m}$
- utilisation d'un caisson de type P (technologie Pwell)
- prises de contacts (drain, source, substrat, électrode de polarisation) sur la face avant (FSC-ChemFET).
- tension de seuil $V_t \sim 1\text{V}$.
- courant de fuite $I_{off} < 1\mu\text{A}$
- polarisation électrique $V_{gs} < 3\text{V}$
- courant en fonctionnement $I_{on} < 1\text{mA}$

2.1.2 Paramètres technologiques

Notre travail se focalisera sur l'électrode de grille. Cependant, avant de nous lancer dans la conception des ChemFETs, nous avons vérifié et validé chacun des paramètres technologiques définis antérieurement en simulation à l'aide de l'outil ATHENA™ et ATLAS™ de SILVACO™ pour les paramètres technologiques et électriques respectivement [sim 00] [sim 05].

Les résultats de ces simulations ont été conformes au cahier des charges. Ainsi nous respecterons pour la conception des composants ces paramètres à savoir :

➤ Choix du substrat :

Le substrat sera une plaquette de silicium de type N, dont la concentration des porteurs est de 10^{13} atm/cm^3 .

➤ Implantation du caisson P :

La dose d'implantation du caisson où sera constitué le transistor est un paramètre important qui va déterminer sa tension de seuil. Le calcul de cette dose devra prendre en compte la capacité de l'isolant de grille. Celui-ci est constitué d'une bicouche $\text{SiO}_2/\text{Si}_3\text{N}_4$ de 50 nm d'épaisseur chacune. Le nitrure de silicium a été choisi en raison de ses propriétés isolantes, de sa sensibilité au pH, et d'imperméabilité. Le calcul donne une concentration surfacique du caisson de $5 \cdot 10^{15} \text{ atm/cm}^2$. Pour obtenir cette concentration surfacique avec le substrat choisi et une profondeur de 5 μm , les simulations montrent qu'il faut implanter du Bore à une dose de 10^{13} atm/cm^2 avec une énergie de 50 KeV.

➤ Implantation des caissons source/drain et des "anneaux de garde" et temps de recuit de distribution :

L'intérêt de mettre des anneaux de garde (caisson dopé P^+ , technique employée dans la technologie CMOS), est de limiter la conduction de courants parasites volumiques. Ainsi, les seuls courants parasites pouvant intervenir sont les courants surfaciques passant sous l'oxyde de champ.

Les doses d'implantation de tous les caissons ainsi que les temps de recuit, ont été optimisés par simulation, pour obtenir les profondeurs de caisson voulues pour une concentration donnée, en prenant en compte tous les paramètres technologiques (oxyde de pré-implantation, température du four, ...). Ces paramètres seront détaillés par la suite.

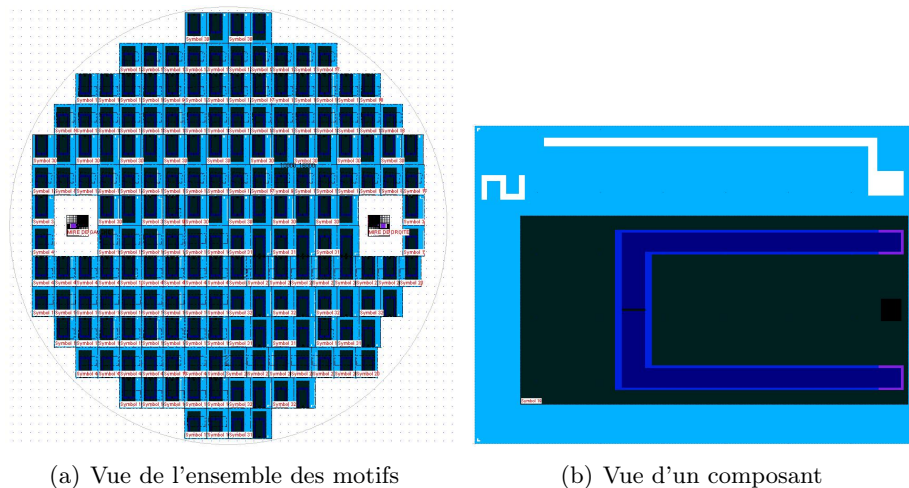
Pour récapituler, le tableau ci-après présente les points essentiels des paramètres technologiques :

Paramètres technologiques	Valeurs attendues
Concentration surfacique du substrat de départ	10^{13} atm/cm^2
Dose et énergie d'implantation du caisson P	10^{13} atm/cm^2 ; 50 keV
Dose et énergie d'implantation du caisson P^+	10^{16} atm/cm^2 ; 50 keV
Dose et énergie d'implantation du caisson source/drain	10^{16} atm/cm^2 ; 100 keV
Epaisseur de la couche de diélectrique SiO_2	50 nm
Epaisseur de la couche de diélectrique Si_3N_4	50 nm
Epaisseur de la couche de titane pour la métallisation	200 nm
Epaisseur de la couche d'or pour la métallisation	800 nm

Table 2.1: valeur des paramètres.

Les épaisseurs des couches de métaux déposées ont été choisies afin de pouvoir réaliser les microsoudures comme nous verrons par la suite.

2.1.3 Dessin des masques

**Figure 2.1:** Dessin de masque sur Clewin

Pour réaliser le procédé, nous avons revu les dessins des masques en vue d'intégrer l'électrode de grille et d'étudier son influence sur les mesures. Le jeu de masque a été dessiné à l'aide du logiciel dédié en l'occurrence *CLEWIN*, il comportera dans une première version sept niveaux de masques. Les masques ont été réalisés à la centrale technologique du *LAAS – CNRS*. Chaque substrat comportera des ISFETs bien évidemment, mais afin de tester le fonctionnement du transistor, nous y intégrerons des transistors MOS. Pour ce faire, nous recouvrirons simplement l'isolant de grille de l'ISFET, qui nous sert de couche sensible (Si_3N_4), d'un métal. Ainsi nous obtiendrons bien un transistor MOS (Metal/Oxide/Semiconductor). En plus de ces deux types de composants, nous insérerons les motifs permettant l'alignement des niveaux de masques et les chemins de découpe pour isoler les composants réalisés collectivement (figure 2.1).

2.1.4 Description du procédé de fabrication

Nous présentons ici toutes les étapes du procédé de fabrication des ChemFETs, du substrat vierge à l'encapsulation des puces que nous avons réalisées par la suite en respectant scrupuleusement le procédé, tel qu'il a été établi et décrit dans les thèses de W.SANT et I.HUMENYUK

Substrat de départ :

Pour une compatibilité avec les équipements disponibles à la centrale technologique, la taille des plaquettes sera de 4 *pouces* (100 *mm*). Ainsi nous partirons de plaquettes de silicium d'épaisseur 400 μm et d'une résistivité donnée par le constructeur inférieure à 1 $K\Omega.\text{cm}$. Pour une vérification du respect des paramètres définis précédemment, nous opterons pour l'utilisation de plaquettes témoins.

➤ ETAPE 1 : NETTOYAGE DE LA PLAQUETTE

Le nettoyage des plaquettes est une des étapes régulièrement répétée au long de la fabrication des composants ChemFETs. Cette procédure est destinée à enlever les impuretés en surface du silicium, en faisant croître une couche mince d'oxyde qui va piéger ces impuretés, cette couche d'oxyde contenant les impuretés sera éliminée par la suite par une attaque chimique. Cette méthode bien connue en microélectronique se nomme "attaque piranha", elle s'effectue de la manière suivante [Madou 02] :

- ◆ Nettoyage des plaquettes dans le bain H_2SO_4 (90%)/ H_2O_2 (10%) [1 :1] durant 30 *secondes*. Une couche d'oxyde de silicium nanométrique se forme ; cette couche piège les impuretés organiques en surface et les ions Na^+ ;
- ◆ Rinçage des plaquettes dans l'eau déionisée (EDI), avec contrôle du rinçage par une mesure de résistivité et séchage sous azote ;
- ◆ Attaque chimique dans un bain d'acide fluorhydrique tamponné (buffer HF) (10%) pendant 30 *secondes* ; cette attaque va permettre d'enlever la couche d'oxyde de silicium contenant les impuretés ;
- ◆ Rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote

➤ ETAPE 2 : OXYDATION DE MASQUAGE(800nm)



Figure 2.2: Oxydation de masquage

L'oxyde de masquage va servir à protéger les zones non traitées de la plaquette des différentes opérations (implantations, recuits,...) des étapes du procédé qui vont suivre. Pendant cette étape, une couche thermique de SiO_2 de 800 nm est formée (figure 2.2) par une oxydation humide à une température de 1150 °C durant trois heures. Le cycle thermique de l'oxydation de masquage, comme tous les autres cycles thermiques du procédé, a été optimisé à l'aide du logiciel de simulation *ATHENA*.

➤ ETAPE 3 : PHOTOGRAVURE DE L'OXYDE DE CHAMP

En utilisant les techniques de la photolithographie, nous reportons les formes géométriques des masques sur les substrats. Le principe est de déposer une fine couche de résine photosensible sur toute la plaquette, puis par une insolation U.V à travers le masque qui limitera l'insolation aux zones voulues et par une attaque chimique (AZ developer), la résine sera retirée des zones d'ouvertures définies par le masque d'exposition.

Cette étape est destinée à graver l'oxyde de masquage sur une face de la plaquette pour former le caisson "Pwell" et les zones actives du composant comme le montre la figure 2.3. Elle se déroule selon les séquences suivantes :

- ◆ préparation du substrat : déshydratation à l'étuve (100 °C) durant 30 minutes, puis pour assurer l'adhérence de la résine sur le substrat, passage au HMDS (HexaMéthylDiSilazane) durant 30 minutes.
- ◆ Etalement de la résine positive AZ 1529 de 2,7 μm d'épaisseur ;
- ◆ Alignement + exposition ;
- ◆ Développement (AZ developer) ;
- ◆ Rinçage et vérification au microscope suivi d'un post recuit 115 °C pendant 1 minute ;
- ◆ Gravure chimique de l'oxyde (buffer HF : 15 min.) ;
- ◆ Nettoyage de la résine à l'acétone et rinçage des plaquettes dans l'eau déionisée (EDI).

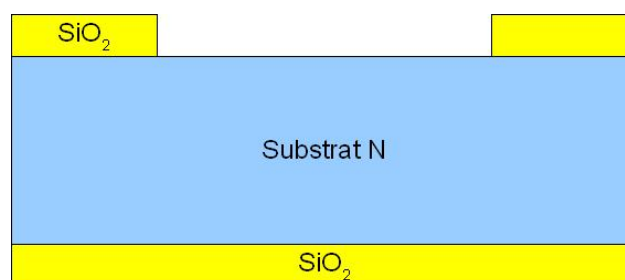


Figure 2.3: Photogravure de l'oxyde de masquage

➤ ETAPE 4 : OXYDATION DE PREIMPLANTATION (40 nm)

Pendant cette étape, une mince couche de 40 nm d'oxyde de silicium sera formée (figure 2.4) par une oxydation sèche à une température de 1000 °C durant 45 minutes. A travers cette

couche, nous allons implanter les dopants (bore et arsenic) pour créer les caissons profonds P^+ et les zones actives du composant (drain, source).

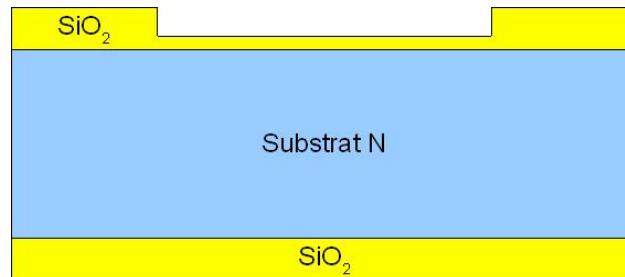


Figure 2.4: Oxydation de pré-implantation

➤ ETAPE 5 : IMPLANTATION DU CAISSON P

Le caisson d'isolation de type P (figure 2.5), analogue à un caisson "*Pwell*" dans les technologies CMOS, est réalisé par implantation ionique de bore. La concentration en surface (N_a), après les différents recuits thermiques déterminera la valeur de la tension de seuil (V_t). Ce caisson permet de limiter la conduction d'un courant de fuite surfacique grâce à la jonction PN ainsi créer.

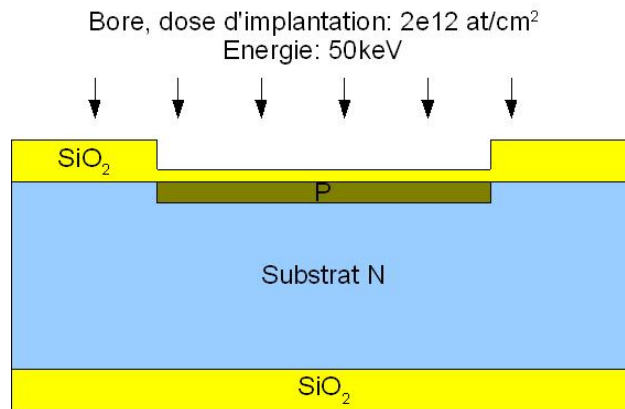


Figure 2.5: Implantation du caisson d'isolation

➤ ETAPE 6 : RECUIT DE DIFFUSION DU CAISSON P

L'implantation est suivie d'une étape thermique à 1150°C durant 90 minutes permettant non seulement de redistribuer profondément et d'activer électriquement les atomes de bore implantés dans le silicium mais aussi de réduire les défauts cristallins créés par l'implantation ionique. L'oxyde de pré-implantation est conservé et permet d'éviter une exodiffusion de bore.

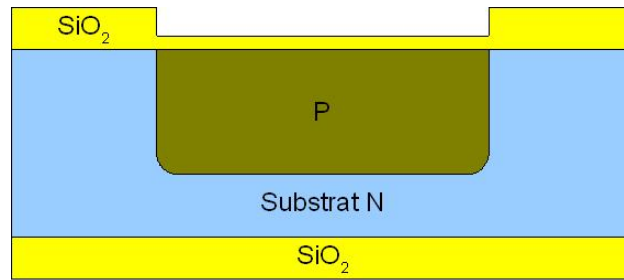


Figure 2.6: Recuit de diffusion du caisson Pwell

➤ **ETAPE 7 : PHOTOGRAVURE DE LA ZONE DE CONTACT P^+**

Par les techniques de photolithographie, nous allons définir les zones où nous voulons intégrer les anneaux de garde destinés à éviter les courants parasites en surface des composants (2.7).

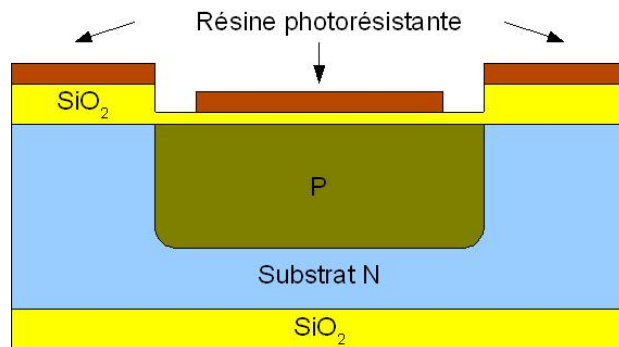


Figure 2.7: Photolithographie de la zone P^+

➤ **ETAPE 8 : IMPLANTATION DE LA ZONE DE CONTACT P^+**

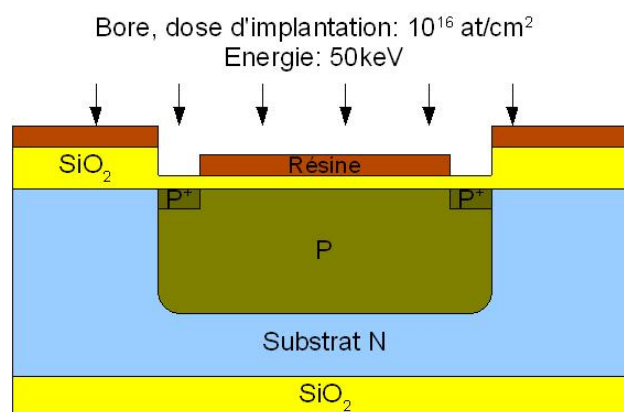


Figure 2.8: Implantation de la zone de contact P^+

La figure 2.8 montre l'implantation du bore pour réaliser les caissons P^+ servant d'anneau de garde à travers l'oxyde de pré-implantation.

Après l'implantation, la résine ayant été fortement échauffée durant cette étape, elle ne

se retire pas simplement par un rinçage à l'acétone mais nécessite un plasma oxygène. L'oxydation plasma conduit à la dissociation des composés volatils (CO , CO_2 , H_2O ...) de la résine, qui sont aspirés par les systèmes de pompage du réacteur.

➤ **ETAPE 9 : PHOTOGRAVURE DES CAISSONS SOURCE-DRAIN N^+**

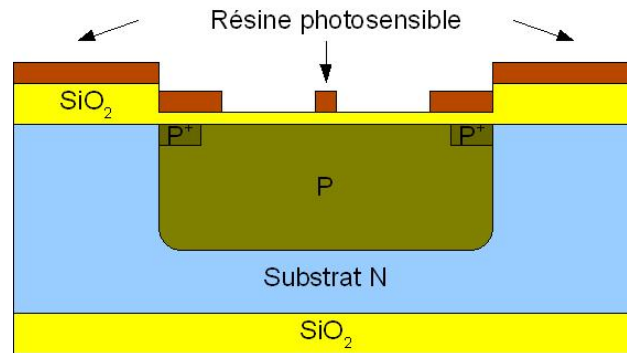


Figure 2.9: Photolithographie des caissons source-drain

Par la technique de photolithographie, nous allons matérialiser les zones actives de source et de drain des composants (figure 2.9).

➤ **ETAPE 10 : IMPLANTATION DES CAISSONS SOURCE-DRAIN N^+**

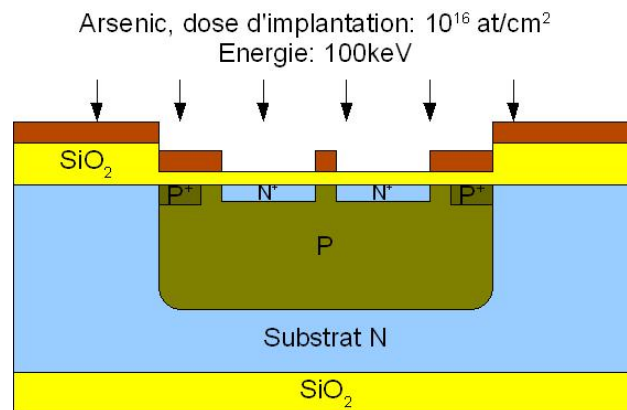


Figure 2.10: Implantation des caissons source-drain

Les zones actives des composants sont réalisées par l'implantation d'ions arsenic à travers l'oxyde de pré-implantation. L'implantation d'arsenic se fait avec une énergie de 100 keV et avec une dose de 10^{16} at/cm^2 . Notons que le positionnement de la source et du drain est symétrique par rapport à l'axe central du composant (figure 2.10).

La procédure se termine par le nettoyage de la résine après l'implantation au plasma oxygène.

➤ **ETAPE 11 : REDISTRIBUTION SOUS ATMOSPHERE OXYDANTE (600 nm)**

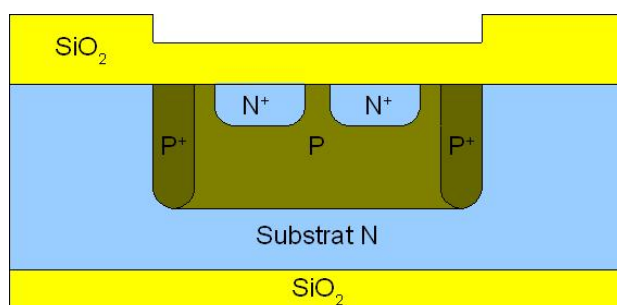


Figure 2.11: Recuit de redistribution sous ambiance oxydante

La redistribution des diffusions N^+ est commune avec la redistribution des diffusions P^+ (figure 2.11). Cette étape thermique permet de redistribuer profondément et d'activer électriquement les atomes de bore et d'arsenic implantés dans le silicium mais aussi de réduire les défauts cristallins créés par l'implantation ionique. Cette redistribution a lieu sous ambiance oxydante, faisant ainsi croître un oxyde protecteur de 600 nm. Le cycle thermique de la redistribution a été optimisé en tenant compte de la diffusion du caisson d'isolation durant le bilan thermique. Il est caractérisé par une oxydation humide à une température de 1150 °C pendant deux heures.

➤ **ETAPE 12 : PHOTOGRAVURE DE LA GRILLE**

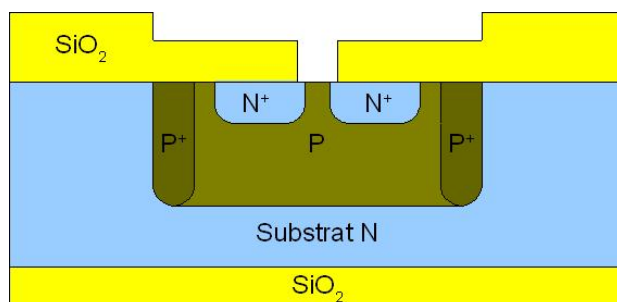


Figure 2.12: Photogravure de la grille

Cette étape est destinée à graver l'oxyde de silicium précédemment formé sur la face avant de la plaquette, pour créer ultérieurement l'oxyde de grille d'une épaisseur souhaitée. Après avoir effectué la photolithographie, nous réalisons une gravure chimique de l'oxyde de silicium et nous finissons cette étape en retirant la résine photosensible à l'acétone comme le montre la figure 2.12.

➤ ETAPE 13 : NETTOYAGE RCA

Avant d'effectuer l'oxydation de grille, la surface entre le silicium et l'oxyde de grille doit être extrêmement propre. La méthode de nettoyage RCA consiste à utiliser successivement plusieurs bains pour enlever les contaminations organiques, ioniques et liées aux métaux lourds, ce nettoyage se déroule selon les séquences suivantes [Kern 90] :

- ◆ bain A* : plonger les plaquettes dans HF (10%) pendant 30 *secondes* pour enlever l'oxyde superficiel, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote ;
- ◆ bain A : plonger les plaquettes dans l'acide nitrique HNO_3 à 80 °C pendant 10 *minutes* pour créer de nouveau un oxyde de silicium d'épaisseur nanométrique, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote ;
- ◆ bain A* : plonger des plaquettes dans le HF (10%) pendant 30 *secondes* pour enlever l'oxyde superficiel, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote ;
- ◆ bain B : plonger les plaquettes dans la solution composée de NH_4OH (28%), H_2O_2 (30%) et EDI [1 :1 :5] à 80 °C pendant 10 *minutes*, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote ;
- ◆ bain C : Plonger les plaquettes dans la solution composée de HCl (37%) H_2O_2 (30%) et EDI [1 :1 :6] à 80 °C pendant 5 minutes, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote ;
- ◆ bain A* : plonger les plaquettes dans le HF (10%) pendant 30 *secondes*. Pour enlever l'oxyde superficiel formé précédemment dans le bain C, puis rinçage des plaquettes dans l'EDI et séchage sous azote.

➤ ETAPE 14 : OXYDATION DE GRILLE (50 nm)

L'oxyde de grille des composants ChemFETs est une étape qui va influencer sur les propriétés électriques du transistor, il est important que l'épaisseur et la qualité de cet oxyde soient finement contrôlées. Elle est réalisée par oxydation thermique du silicium. C'est une oxydation sèche qui assure la croissance d'une mince couche d'oxyde de bonne qualité. Le profil thermique de cette étape a été optimisé pour obtenir une épaisseur d'oxyde de 50 nm. Il est caractérisé par une oxydation sèche à une température de 1000 °C pendant 45 minutes.(figure 2.13)

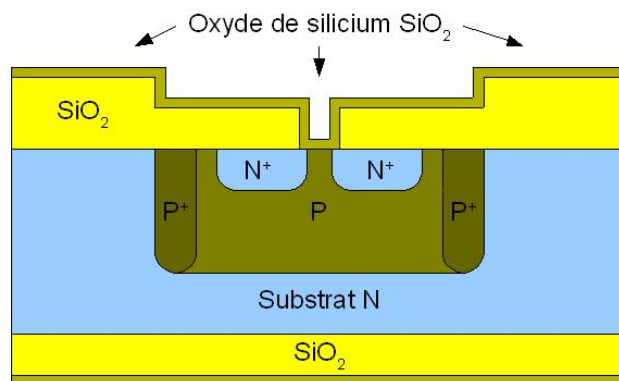


Figure 2.13: Oxydation de grille

➤ ETAPE 15 : DEPOT DE NITRURE Si_3N_4 par LPCVD (50 nm)

Pour avoir une grille de très bonne qualité et éviter que des impuretés provenant de l'atmosphère se déposent entre les couches d'oxyde de grille et la couche de nitrure de silicium, nous déposons le nitrure de silicium immédiatement après l'oxydation. Nous avons déposé une couche de nitrure de silicium de 50 nm d'épaisseur par dépôt chimique en phase vapeur sous basse pression (LPCVD). La technique de ce dépôt est de réaliser une pyrolyse d'un mélange gazeux de dichlorosilane ($Si_2H_2Cl_2$) et d'ammoniac (NH_3) dans un réacteur de type tubulaire horizontal à parois chaudes (750 °C) fonctionnant à basse pression (330 mTorr). Cette couche assure une bonne qualité diélectrique et sera utilisée en tant que membrane sensible aux ions hydrogène et constitue une barrière à la diffusion des molécules aqueuses (H_2O , H_3O^+ , OH^-) (figure 2.14).

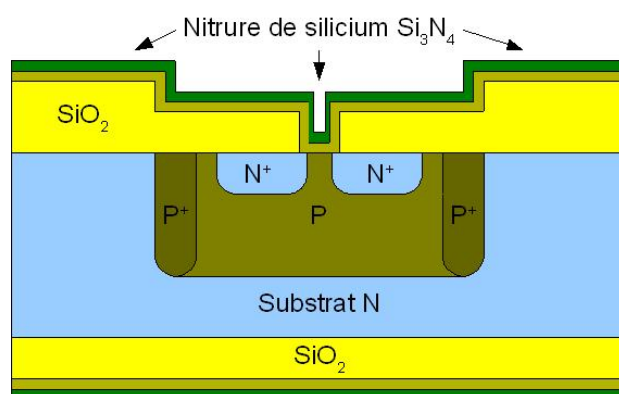


Figure 2.14: Dépôt du nitrure de silicium

➤ ETAPE 16 : PHOTOGRAVURE POUR L'OUVERTURE DES CONTACTS

Après avoir fait la photolithographie avec le masque adéquat, nous attaquons le nitrure de silicium par gravure plasma (RIE : Reactive Ion Etching) et l'oxyde de silicium par gravure humide (buffer HF) pour réaliser les ouvertures de contacts avant le dépôt de métal.

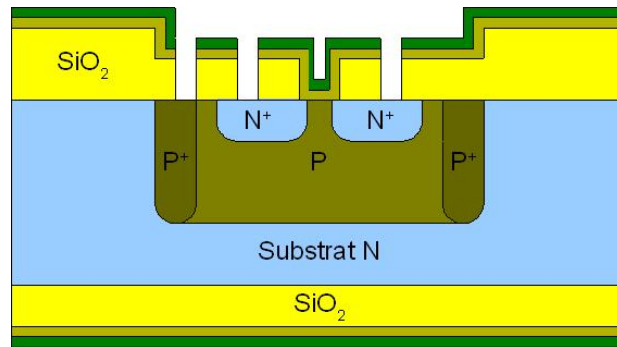


Figure 2.15: Ouverture des contacts

➤ **ETAPE 17 : METALLISATION TITANE/OR** (200nm/800nm)

Dans le composant, cette étape sert à former les contacts des zones actives, et réaliser la microélectrode de polarisation. Le matériau de fabrication de la microélectrode permettant la polarisation de l'électrolyte choisi dans le cahier des charges est l'or. L'or est connu pour ses difficultés d'accroche sur un substrat de silicium d'où l'utilisation d'une couche de titane pour parer à cela. D'autres part en technologie VLSI, la métallisation est une étape primordiale car un mauvais contact peut engendrer des résistances parasites en série. Or, il est bien connu que l'utilisation du titane/or apporte un bon contact ohmique [Sze 08]. Ainsi L'utilisation du même matériau pour les contacts et l'électrode de polarisation a l'avantage de ne pas alourdir le procédé de fabrication.

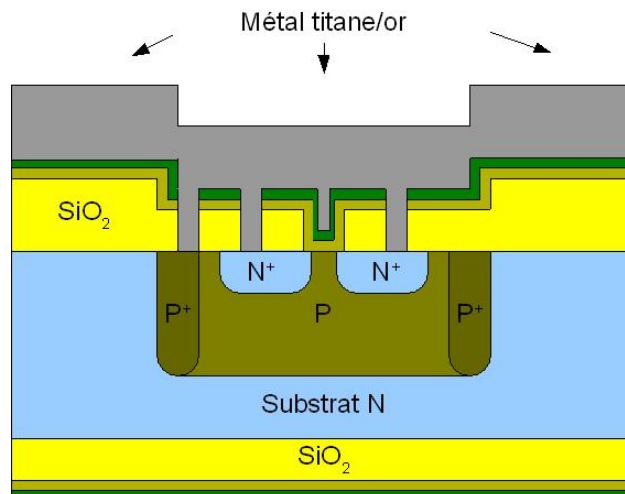


Figure 2.16: Dépôt pleine plaque Ti/Or

La méthode de dépôt disponible au LAAS est le dépôt par évaporation. L'épaisseur de 800 nm a été choisie pour permettre la microsoudure des contacts du composant sur un support PCB (Printed Circuit Board).

Nous avons deux possibilités pour la technique de dépôt des métaux : soit utiliser la technique

standard qui consiste à déposer les métaux et faire une gravure chimique après une étape de photolithographie, soit utiliser la technique du lift-off qui consiste à commencer par une étape de photolithographie, puis le dépôt de métal et le retrait de la résine par un solvant. Les deux techniques seront utilisées à des fins de comparaison. La technique "standard" qui est la plus simple est présentée sur la figure 2.16, la lumière sur la technique "lift-off" sera faite en 2.2.5.1 avec les résultats de caractérisation.

➤ ETAPE 18 : PHOTOGRAVURE DES METALLISATIONS

Cette étape sert à protéger les régions du composant où nous souhaitons conserver le dépôt des métaux (électrode de polarisation et les prises de contacts : source, drain et substrat). Les zones non protégées par la résine vont être enlevées par gravure humide, l'or par une solution chimique de $KI + I_2$ et le titane par une solution de buffer HF (figure 2.17).

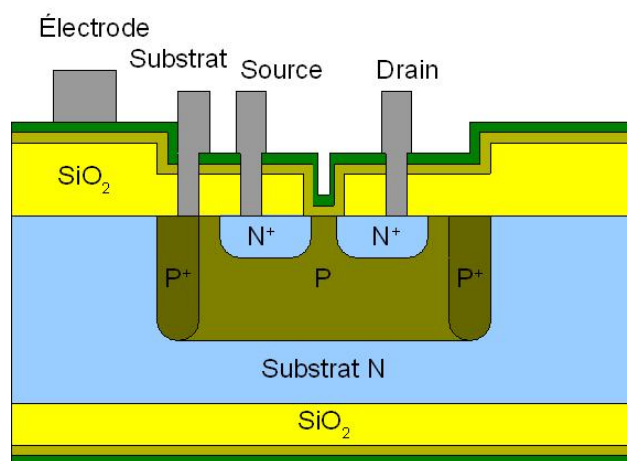


Figure 2.17: Photogravure des contacts

➤ ETAPE 19 : RECUIT DE METALLISATION

Après le retrait de la résine protectrice, nous avons effectué un recuit des plaquettes de 20 minutes sous azote hydrogéné à 250 °C. Ceci diminue les contraintes dans les zones métallisées et améliore les propriétés d'accroche de la couche métallique.

Durant toutes ces étapes, nous avons vérifié tout au long du procédé de fabrication sur les plaquettes témoins le bon déroulement de celles-ci. Nous présentons ici le résultat des mesures (tableau 2.3) :

	Paramètres	Valeurs attendues	Valeurs mesurées
Etape 1	Epaisseur des plaques vierges (mesure au micromètre)	400 μm	408 μm
Etape 1	Résistivité des wafers (mesure quatre pointes)	1 $K\Omega.cm$	1,2 $K\Omega.cm \pm 4\%$
Etape 2	Epaisseur de l'oxyde de masquage (mesure à l'ellipsomètre)	800 nm	797 nm
Etape 3	Epaisseur de l'oxyde de masquage gravé (mesure au profilomètre)	800 nm	784 $nm \pm 2,8\%$
Etape 4	Epaisseur de l'oxyde de pré-implantation (mesure à l'ellipsomètre)	40 nm	41 $nm \pm 0,44\%$
Etape 11	Epaisseur de l'oxyde (mesure à l'ellipsomètre)	600 nm	560 $nm \pm 4,41\%$
Etape 12	Epaisseur de l'oxyde gravé sur la grille (mesure au profilomètre)	600 nm	600 $nm \pm 1,66\%$
Etape 14	Epaisseur de l'oxyde de grille (mesure à l'ellipsomètre)	50 nm	55,2 $nm \pm 5,6\%$
Etape 15	Epaisseur de la couche de Si_3N_4 (mesure à l'ellipsomètre)	50 nm	53,75 $nm \pm 6,31\%$
Etape 16	Epaisseur de l'oxyde et le nitrure gravé sur les contacts (mesure au profilomètre)	600 nm	570,2 $nm \pm 3,6\%$
Etape 18	Epaisseur du metal (Ti/Au) déposé (mesure au profilomètre)	1000 nm	1103 $nm \pm 12,7\%$

Table 2.3: Tableaux de mesures des paramètres technologiques

Ainsi les résultats des mesures technologiques sont conformes à nos attentes. Les étapes les plus critiques sont l'implantation du caisson et le dépôt de grille car ces paramètres influent directement sur la valeur de la tension de seuil. Ainsi la concentration et la profondeur du caisson et les épaisseurs des couches diélectriques doivent être similaires aux simulations. Les mesures des épaisseurs de la bicouche de SiO_2/Si_3N_4 ont donné un résultat convenable. Pour vérifier la concentration et la profondeur du caisson, il faut faire des mesures " SIMS ". L'instrumentation n'étant pas disponible à la centrale technologique du LAAS, nous avons la possibilité d'effectuer ces mesures à l'INSA de Toulouse, cependant le temps d'attente étant trop long, nous pouvons, connaissant la capacité de l'oxyde de grille et en mesurant la tension de seuil, déterminer la concentration du caisson P. Nous avons opté pour cette solution sachant que les réalisations effectuées auparavant n'ont pas révélé de problème lié à l'implantation.

Les composants ayant été réalisés de façon collective sur substrat silicium comme le montre la figure 2.18, nous avons vérifié les propriétés électriques des transistors MOS sous pointes afin de valider le procédé. Nous présenterons les résultats de ces mesures dans la partie qui

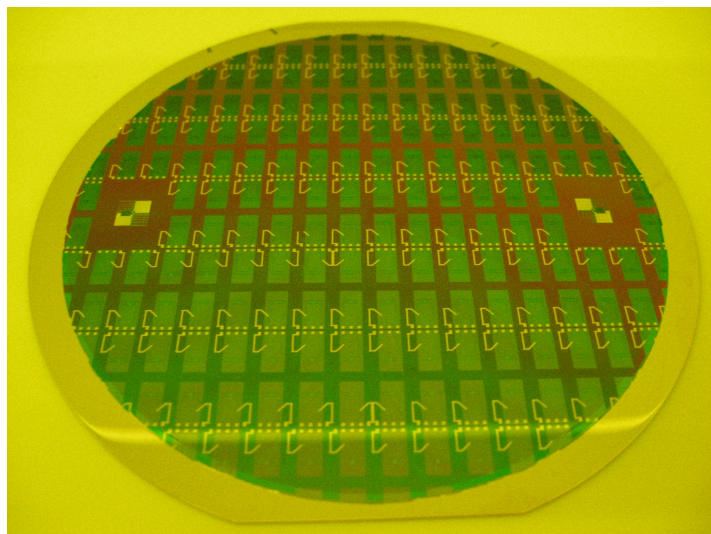


Figure 2.18: Plaquette de composants ChemFETs

traitera de la caractérisation électrique un peu plus loin (paragraphe 2.2.2). Une fois ces mesures effectuées, nous sommes passés à la découpe et au montage des composants que nous présentons dès à présent.

➤ ETAPE 20 : MONTAGE DES COMPOSANTS

Le montage des composants se fait en quatre étapes, la première est la découpe, puis le report sur un circuit imprimé, la connexion électrique entre le composant et son support, et l'encapsulation des contacts pour les isoler et assurer l'étanchéité et la résistance en milieu aqueux.

Après un dépôt de la résine de protection, la plaquette va être découpée à l'aide d'une scie diamantée (figure 2.19). L'utilisation d'une commande numérique permet d'individualiser les puces sélectionnées en vue de leur montage.

Ensuite, les puces vont être collées avec un époxy (H70E) par face arrière sur des circuits imprimés (PCB). La polymérisation de la colle est réalisée après le report des puces sur les PCB dans une étuve. Cette colle a été choisie pour ses propriétés de tenue dans un milieu aqueux et ses faibles propriétés de dégazage. La connexion électrique des puces sur le circuit se fait par microsoudure, la technique utilisée est le "wedge-bonding" (le fil assurant la connexion est un fil d'or de $25\ \mu m$ de diamètre).

L'encapsulation se fait par un enrobage de type "glob-top de silicone" (Loctite 5248), et nous finirons le montage des composants par un séchage dans une étuve (figure 2.20).

Toutes ces étapes ont conduit à la conception des ChemFETs montés sur bâtonnet (figure

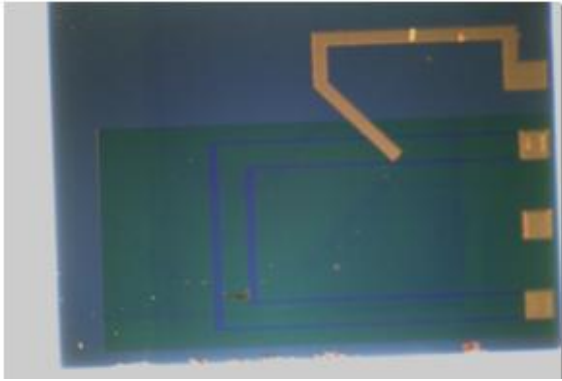


Figure 2.19: Composant après découpe

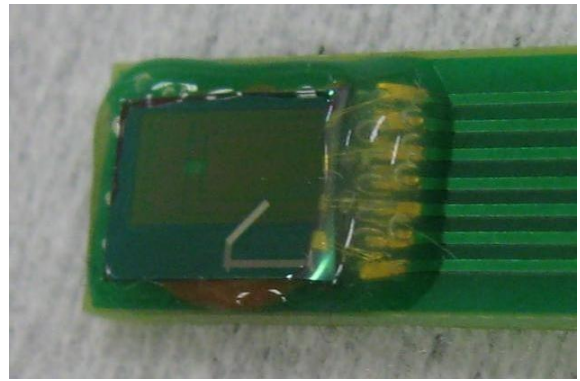


Figure 2.20: Après le report, le bonding et l'enrobage



Figure 2.21: Bâtonnet de caractérisation en milieu aqueux

2.21). Elles ont toutes été réalisées à la centrale technologique du LAAS, et ont été scrupuleusement suivies pour s'assurer de l'obtention de composants de bonne qualité.

Nous venons de voir la conception et la réalisation du ChemFET en partant du cahier des charges, nous avons montré chacune des étapes de fabrication jusqu'au montage sur bâtonnet, les mesures faites au cours du procédé montrent que les paramètres technologiques ont été respectés, ce qui nous donne l'espoir que les composants fonctionnent tel qu'en simulation. Il faut à présent vérifier que tous les paramètres électriques sont respectés et faire une caractérisation complète des composants.

2.2 Caractérisation du pH-ChemFET

Dans cette nouvelle partie, nous allons vérifier le bon fonctionnement de nos composants réalisés pour valider le procédé. Nous verrons que les composants présentent des défauts à améliorer et nous proposerons des solutions technologiques à apporter au procédé de fabrication pour aller vers un capteur tout intégré fiable et de bonne qualité.

Avant de passer à la caractérisation de tous les paramètres qui définissent nos capteurs, le fonctionnement des transistors a été vérifié sous pointes avant les étapes de montage sur bâtonnet.

2.2.1 Méthode de mesure :

➤ banc de mesure I(V) :

Le principe de mesure est de fixer la tension drain-source (V_{ds}), de faire varier la tension grille-source (V_{gs}) et mesurer le courant drain-source (I_{ds}). Ainsi, ces mesures nous livreront différents paramètres en particulier la tension de seuil, le courant de fonctionnement I_{on} et le courant de fuite I_{off} .

Pour ce faire, nous disposons d'un pico-Ampèremètre HP4140B connecté à un ordinateur et d'un banc de test " sous pointes " (figure 2.22). Conformément à nos simulations, nous connecterons la source et le substrat ensemble à la masse, la tension drain-source V_{ds} sera fixée à 1,5V, et une rampe de tension de vitesse dV/dt constante sera appliquée à la grille V_{gs} (entre 0 et 3V). Un logiciel dédié a été conçu pour commander le pico-Ampèremètre, et récupérer les mesures, tracer les courbes, et commander les moteurs qui ajustent la position du substrat sous les pointes.

Les capteurs montés sur bâtonnet, seront plongés dans une solution à pH connue. Les composants non montés sur bâtonnet, seront caractérisés " sous-pointes ". Pour constituer la grille électrolytique, une goutte de solution à pH choisie sera déposée à l'aide d'une seringue sur toute la surface sensible.

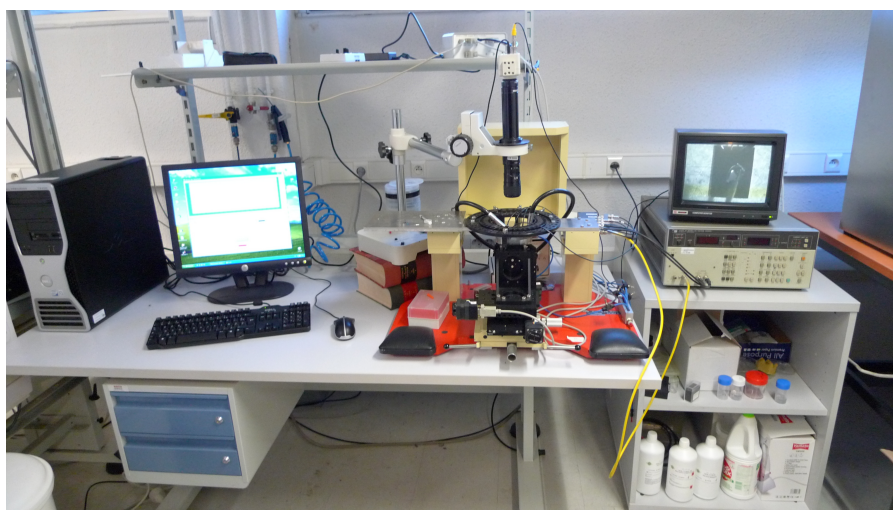


Figure 2.22: Banc de mesure I(V)

➤ Banc de mesure des ISFETs en continu

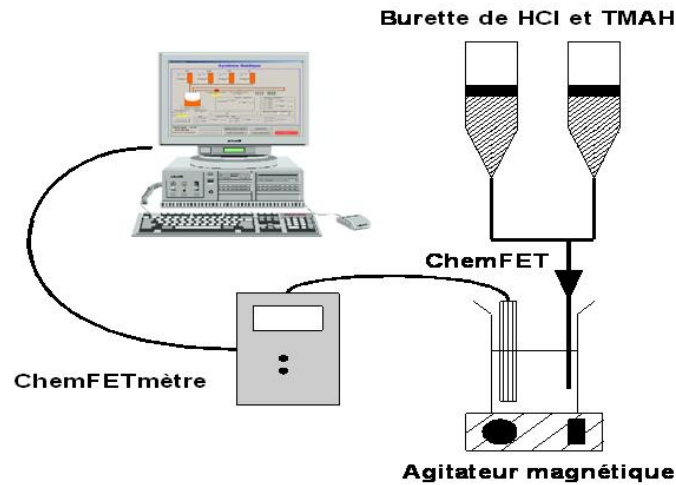


Figure 2.23: Banc de caractérisation en continu

Pour caractériser les ISFETs, un autre banc de caractérisation sera utilisé, ce banc permettra de faire des mesures de sensibilité et de dérive précise (figure 2.23 et 2.24). Pour évaluer ces grandeurs, nous utiliserons le ChemFETmètre développé par I.HUMENYUK et le service 2I du LAAS-CNRS. Le bâtonnet connecté au ChemFETmètre sera plongé dans un bain contenant la solution à pH contrôlée par une électrode pH commerciale. L'homogénéité du pH de la solution sera assurée par un agitateur magnétique. Ce banc dispose de burettes automatiques (DOSIMAT) contenant un acide fort HCl [10^{-1} mol/L] ou une base forte TMAH (Tetramethylammonium hydroxide) [10^{-1} mol/L], permettant d'injecter de l'acide ou de la base afin de faire varier le pH de la solution du bain.



Figure 2.24: Photographie du banc de caractérisation

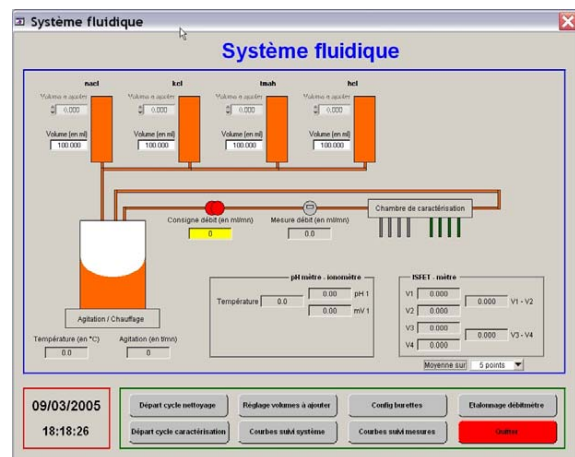


Figure 2.25: Capture de l'écran de pilotage du logiciel dédié

Le système est piloté totalement par un ordinateur, qui commande les ChemFETmètres et les burettes, et qui réceptionne les données des ChemFETmètres et de la sonde pH. Un logiciel a été créé par le service 2I à cet effet, il permet en plus de visualiser en temps réel les

mesures [Assie-Souleille 04](figure 2.25). Pour aller plus loin dans le traitement des données et l'automatisation, nous avons développé, avec l'outil informatique MATLAB, un programme qui va tracer les courbes utiles, donner les sensibilités et comparer les différentes mesures.

➤ Principe de fonctionnement du ChemFETmètre :

Le principe de fonctionnement est simple : une variation de pH entraîne une variation de la tension de seuil (V_t) qui engendre à son tour une variation opposée sur la tension appliquée à la source V_s , lorsque la grille est connectée à la masse. Pour l'expliquer nous considérons le fonctionnement générale du ChemFET :

L'équation du courant de drain est :

$$I_{ds} = K(V_{gs} - V_t - \frac{V_{ds}}{2})V_{ds} \quad (2.1)$$

Donc, pour deux mesures avec le même composant à pH différents nous avons :

$$I_{ds1} = K(V_{gs1} - V_{t1} - \frac{V_{ds1}}{2})V_{ds1} \quad (2.2)$$

et

$$I_{ds2} = K(V_{gs2} - V_{t2} - \frac{V_{ds2}}{2})V_{ds2} \quad (2.3)$$

Or, nous avons fixé I_{ds} et V_{ds} donc :

$$I_{ds1} = I_{ds2} \quad (2.4)$$

$$V_{ds1} = V_{ds2} \quad (2.5)$$

$$V_{gs1} - V_{t1} = V_{gs2} - V_{t2} \quad (2.6)$$

$$V_{t1} - V_{t2} = V_{gs1} - V_{gs2} \quad (2.7)$$

Nous rappelons que la grille est connectée au même référentiel (la masse) donc :

$$V_{gs1} - V_{gs2} = V_{s2} - V_{s1} \quad (2.8)$$

Ainsi nous arrivons à :

$$\Delta V_s = -\Delta V_t \quad (2.9)$$

Nous constatons donc que la mesure avec le ChemFETmètre de la tension V_s de la source permet de déterminer la variation de la tension de seuil.

2.2.2 Etude des transistors MOS sous pointes

Les composants étant ainsi réalisés, nous allons procéder à leur caractérisation. Sur un même substrat, nous disposons d'ISFETs et de MOSFETs. Nous rappelons que les MOSFETs servent à valider le procédé et permettent de vérifier les propriétés des transistors. En effet, les implantations, les temps de recuits, la qualité de l'oxyde de grille vont être vérifiés. Lors de la conception, nous avons prévu ces transistors MOSFET pour nous affranchir d'éventuels problèmes provenant de la couche de Si_3N_4 et du milieu d'analyse, et cerner d'éventuels défauts. Technologiquement, la différence avec les ISFETs est liée au dépôt d'un métal sur l'oxyde de grille, ce qui en fait un MOSFET.

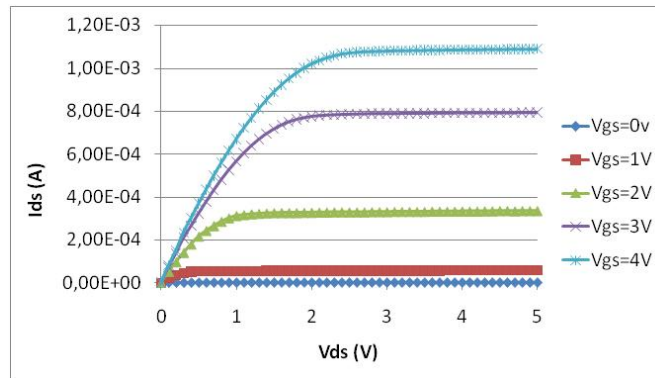


Figure 2.26: Tracé de la caractéristique $I_{ds} = f(V_{ds})$

A la vue de la figure 2.26, nous reconnaissons bien le fonctionnement caractéristique des transistors MOSFET à enrichissement. Nous remarquons que le transistor commence à conduire pour les tensions grille-source de l'ordre de 1 volt. Nous souhaiterons, par la suite, fonctionner en régime de fonctionnement saturé pour évaluer les variations de la tension de seuil uniquement. Ainsi, pour être dans cette configuration, il faudra appliquer une tension drain-source supérieure à 1,5 V pour être certain de travailler en régime saturé.

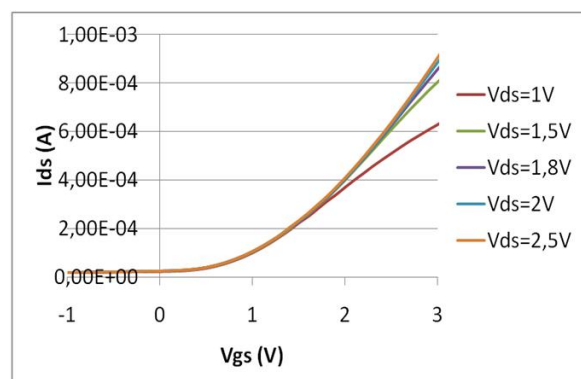


Figure 2.27: Tracé de la caractéristique $I_{ds} = f(V_{gs})$ pour différentes tensions appliquées au drain

Nous avons réalisé des mesures de courant en fixant une tension drain-source et en appliquant une rampe de tension à la grille métallique du transistor (figure 2.27). Nous relevons

ici que la tension de seuil est légèrement décalée par rapport à nos prévisions, elle se situe autour de $0,7\text{ V}$ en moyenne sur les différents transistors du substrat. D'autre part, nous notons l'influence de la tension drain-source (V_{ds}) sur le régime de fonctionnement. Pour travailler en régime saturé, dans la gamme de mesure ($0\text{ V} < V_{gs} < 3\text{ V}$), la tension optimale doit être de $1,5\text{ V}$ minimum. En régime bloqué, nous mesurons un courant de fuite de $25\text{ }\mu\text{A}$, ce qui est évidemment bien au dessus des exigences de notre cahier des charges ($I_{off} < 1\text{ }\mu\text{A}$).

Ces mesures montrent le bon fonctionnement des transistors MOSFETs, mais font apparaître la conduction d'un courant de fuite important entre drain et source. Après ces constatations, nous allons caractériser les ISFETs, l'objet de notre étude.

2.2.3 Etude des fils métalliques utilisés pour polariser le milieu aqueux

La caractérisation des ISFETs se fera avec les deux bancs de mesure, afin de déterminer tous les paramètres des capteurs. Nous ferons une étude sur l'influence de l'électrode de polarisation de la grille en utilisant différentes électrodes. Dans un premier temps, nous ferons les mesures avec une électrode commerciale considérée comme référence et nous comparerons les résultats obtenus avec d'autres électrodes telles que des fils métalliques. Les résultats de ces caractérisations permettront de sélectionner la meilleure électrode de référence, pour ensuite qualifier la qualité des composants indépendamment de l'influence de l'électrode. Avec la mise en valeur de défauts, nous proposerons des modifications à apporter au procédé de fabrication, afin d'améliorer la qualité des réalisations. Nous finirons par l'étude de l'électrode de " pseudo-référence " intégrée et proposerons ainsi une puce tout intégrée.

Le but est de résoudre les problèmes liés à l'instabilité des mesures provenant de l'électrode de référence. Pour cela, nous ferons des mesures avec des électrodes non-intégrées et nous comparerons les réponses en fonction de différents types d'électrodes. L'électrode de référence agit sur deux paramètres importants du système de détection, qui sont la sensibilité et la dérive. Une électrode doit être stable en tension, c'est-à-dire qu'elle doit appliquer toujours le même potentiel au milieu, sinon nous verrons apparaître des dérives et des différences de sensibilité. Ainsi, cette étude de comparaison permettra de quantifier les dérives et les sensibilités de chacun des matériaux utilisés pour polariser le milieu.

2.2.3.1 Electrode de référence industrielle " FLEXREF "

Nous avons choisi d'utiliser l'électrode de chez " World Precision Instruments " pour ses propriétés connues, réalisées à partir de polymère conducteur avec un revêtement en téflon. Décrit par le constructeur comme étant une électrode de très grande fiabilité, mais possède pour notre application deux défauts importants : son prix (108 €) et sa non-biocompatibilité. D'autre part, l'application visée de nos composants est le biomédical, donc l'idée d'utiliser ce genre d'électrode est à abandonner. Cependant l'utilisation de cette électrode comme référence va être une excellente base pour nos mesures.

Pour mesurer la sensibilité, nous avons utilisé le banc de caractérisation des ISFETs en continu, nous partons de 50 mL d'une solution de HCl de concentration de 10^{-2} mol/L, nous injecterons 10 mL de TMAH d'une concentration de 10^{-1} mol/L pour passer d'un pH de 2 à un pH supérieur à 12 (12,6), puis nous injecterons 10 mL d'une solution de HCl à 10^{-1} mol/L de concentration pour revenir à un pH acide ($pH = 2$). Le courant de drain-source commandé par le ChemFETmètre sera de 100 μA et la tension drain-source sera fixée à 1,5 V, l'électrode FLEXREF sera connectée à la masse. Nous disposons aussi d'une sonde pH pour contrôler le pH de la solution. La mesure va se faire en cinq phases :

- ◆ Phase 1 : pas d'injection, pH constant ($pH = 2$) durant 20 minutes
- ◆ Phase 2 : injection de 0,13 mL/min de TMAH à 10^{-1} mol/L pendant 1 h, soit 8 mL de TMAH injecté, le pH va passer de 2 à environ 12,6.
- ◆ Phase 3 : pas d'injection, le pH reste constant ($\approx 12,6$) pendant 20 minutes
- ◆ Phase 4 : injection de 0,13 mL/min de HCl à 10^{-1} mol/L pendant 75 minutes, soit 10 mL de HCl injecté, le pH va passer de 12,6 à environ 2.
- ◆ Phase 5 : pas d'injection, pH constant (≈ 2).

Ce protocole de mesure sera celui que nous utiliserons pour toutes les mesures de sensibilité à venir.

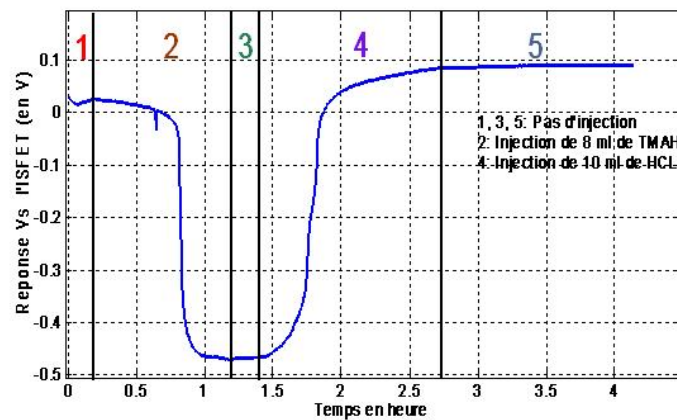


Figure 2.28: Evolution de la réponse Vs de l'ISFET aux variations de la concentration hydrogène en continu

La figure 2.28 montre la réponse du capteur pendant l'expérience de titrage acido-basique, il y a peu de bruit sur le signal de sortie, la mesure est correcte, il n'y a pas d'instabilité, le signal est " propre ". A présent, nous voulons évaluer la sensibilité du capteur, pour ce faire nous traçons la réponse du capteur ISFET en fonction du pH relevé par la sonde pH-métrique (figure 2.29).

La sensibilité donnée par NERNST, qui est la sensibilité maximum que nous cherchons à approcher est de 59,6 mV/pH. Dans la figure 2.29, nous voyons, en premier lieu, que la variation

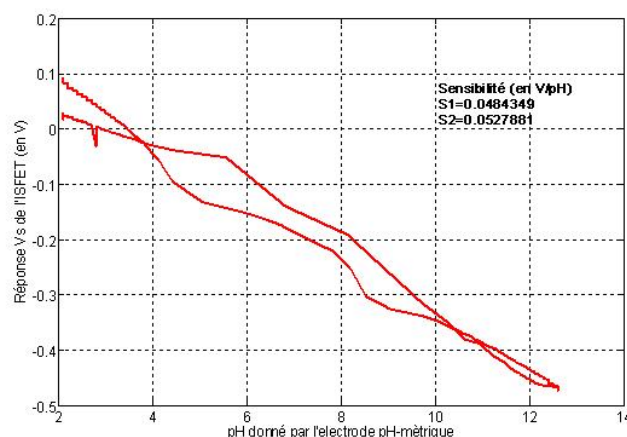
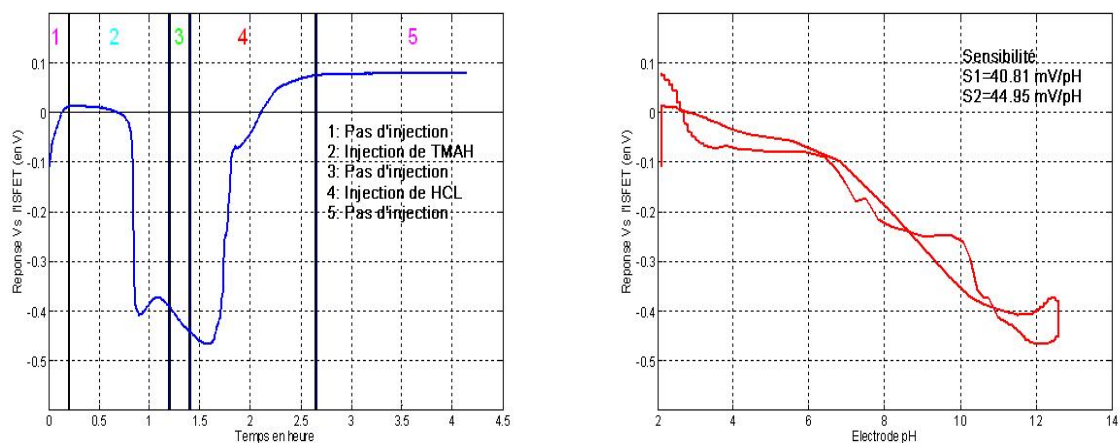


Figure 2.29: Sensibilité avec l'électrode FLEXREF

est quasi-linéaire en fonction du pH, que l'hystérésis reste acceptable. Lorsque nous passons d'un pH acide fort à pH basique fort, la sensibilité de l'ISFET est de $48,4 \text{ mV/pH}$, et dans le sens inverse nous obtenons une sensibilité de $52,7 \text{ mV/pH}$. Ces résultats sont encourageants et valident le procédé de fabrication de nos capteurs, la sensibilité est proche de la théorie.

2.2.3.2 Fil d'or

Le fil d'or est l'électrode qui a été utilisée par I.HUMENYUK et W.SANT au cours de leur travaux de thèse. Lors de ces mesures, les résultats ont été corrects, mais présentant des instabilités et des dérives pour de longues durées. Nous avons repris ces études, en suivant la même démarche qu'avec l'électrode FLEXREF pour comparaison.



(a) évolution de la tension Vs lors de la manipulation

(b) Tension Vs en fonction du pH du milieu

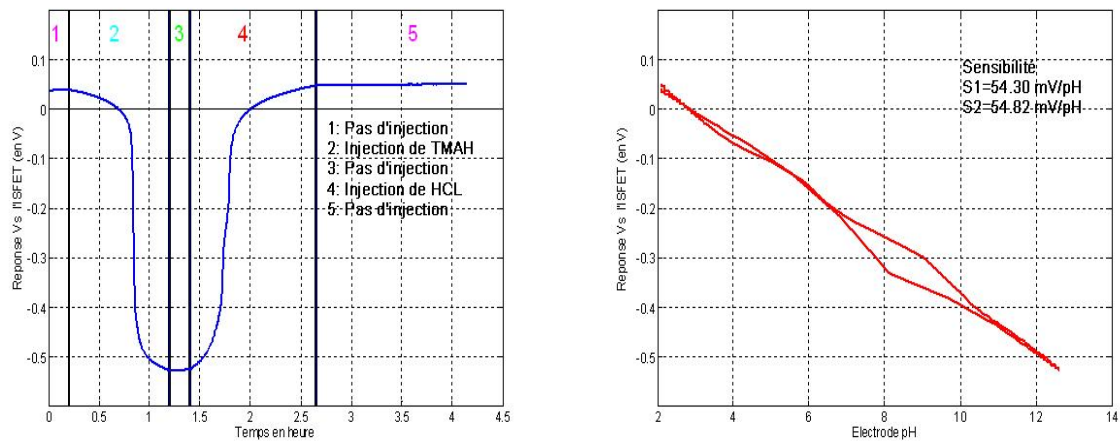
Figure 2.30: Sensibilité de l'ISFET avec un fil d'or utilisé en électrode de polarisation

Lors de la mesure de sensibilité du capteur polarisé par un fil d'or (figure 2.30), nous observons de fortes instabilités pour les acides et les bases fortes. Durant la première phase, à $\text{pH}=2$ où

aucune action n'est réalisée, nous observons que le temps nécessaire à stabiliser la mesure est très long. Nous observons aussi deux pics alors que le pH est stable à 12,6 environ. Nous avons vérifié un tel phénomène sur plusieurs capteurs issus de différents procédés de fabrication. Cependant dans la gamme de pH (4-10) les résultats restent corrects, la sensibilité est de plus de 40 mV/pH, pour des applications dans cette gamme l'utilisation de l'or pour polariser le milieu est suffisante.

2.2.3.3 Fil Ag/AgCl

Les électrodes Ag/AgCl sont bien connues en électrochimie pour leur grande stabilité et qualité d'une part, et pour leur faible coût $\approx 20-30\text{€}$ au lieu de 100€ pour l'électrode FLEXREF d'autre part [Janz 53]. En plus de ces qualités, elles nous semblent réalisables de façon collective [Sun 06].



(a) évolution de la tension V_s lors de la manipulation

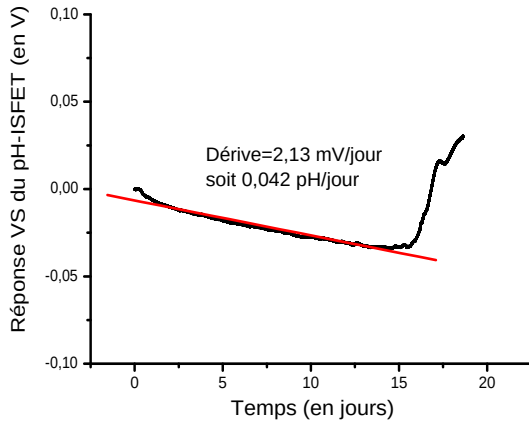
(b) Tension V_s en fonction du pH du milieu

Figure 2.31: Sensibilité de l'ISFET avec un fil d'Ag/AgCl utilisé en électrode de polarisation

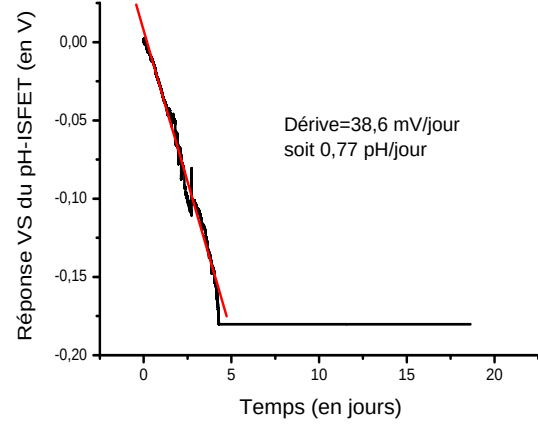
La figure 2.31 montre qu'en utilisant l'électrode Ag/AgCl avec les mêmes composants que précédemment avec le fil d'or ou l'électrode FLEXREF, nous observons une variation de la réponse linéaire en fonction du pH, une faible hystérésis, une sensibilité de l'ordre de 55 mV/pH, très proche de la sensibilité maximum, et de faibles perturbations de mesure.

2.2.3.4 Etude de la dérive temporelle

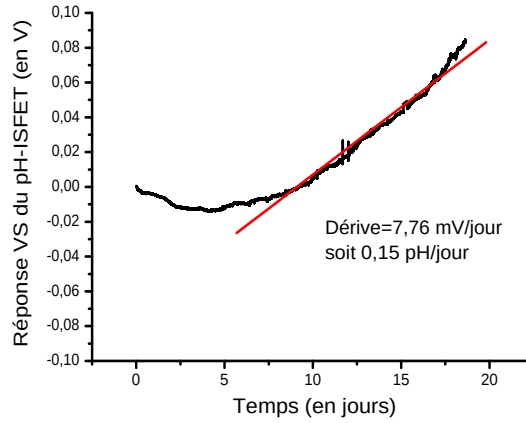
Pour toutes les mesures de dérive, nous utiliserons le banc de mesure en continu, en gardant les mêmes paramètres que pour la mesure de sensibilité, cependant nous travaillerons à pH fixe. Nous veillerons à garder une luminosité et une température constante pour éviter toutes perturbations extérieures. Les mesures sur plusieurs jours se feront en parallèles, trois capteurs issus du même procédé ayant donc les mêmes propriétés, sont plongés dans trois solutions tampon à pH=7, chaque solution sera polarisée par une électrode différente : Flexref, fil d'or et fil d'AgCl pour comparaison.



(a) Electrode Flexref



(b) Fil d'or



(c) Fil d'Ag/AgCl

Figure 2.32: Dérive du pH-ISFET polarisé en continue par les différentes électrodes

A des fin de comparaison, la valeur de tension initiale à $t=0$, est amené de manière arithmétique à $V_s = 0V$ par la relation :

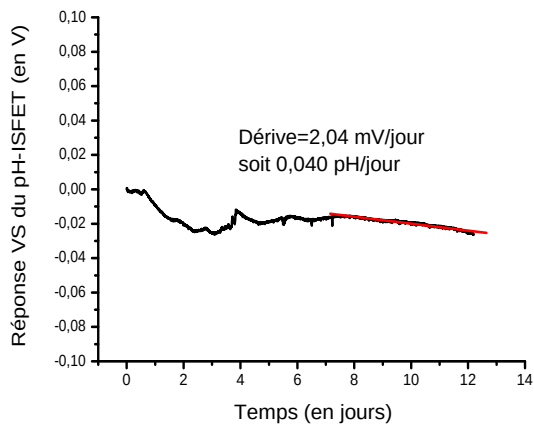
$$V_s(t) = V_s(t) - V_s(0); \quad (2.10)$$

Cela ne reflète pas la tension réelle mesurée, chacune des électrodes impose naturellement un potentiel différent dans une solution, mais cela permet une lecture et une comparaison rapide.

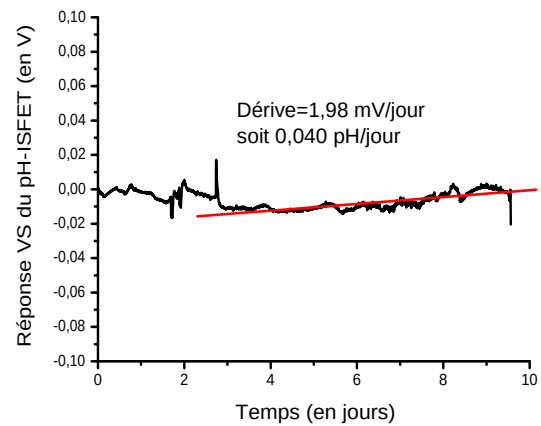
Les figures 2.32(a) 2.32(b) 2.32(c) montrent les dérives induites par les différents matériaux utilisés pour polariser une solution. La première remarque concerne le fil d'or où la dérive est la plus importante avec au bout de 5 jours, une mise en saturation automatique du lecteur, mais ces résultats suffisent à montrer qu'on atteint une dérive de près de $0,77 \text{ pH/jour}$. Pour l'électrode commerciale de référence, la dérive est relativement faible ($0,042 \text{ pH/jour}$), ce qui montre la possibilité de réaliser des mesures pour de longues durées avec nos pH-ISFETs. Le fil d'Ag/AgCl

utilisé pour polariser la solution impose une dérive de $0,15 \text{ pH/jour}$, ce qui est assurément un bon résultat et montre la stabilité de l'électrode et confirme les avantages de l'utilisation d'une telle électrode sur le fil d'or. Cependant, ces mesures ne montrent pas les limites de la polarisation continue des électrodes, car au bout de cette longue période d'utilisation permanente (une quinzaine de jours pour l'électrode Flexref, une vingtaine pour l'électrode Ag/AgCl), les électrodes ont été fortement dégradées, en fait seul le fil d'or a résisté. Nous avons alors changé la méthode de mesure : pour pouvoir proposer une utilisation des pH-ISFETs sur le long termes, il est préférable de polariser de manière "discontinue", afin d'augmenter la durée de vie.

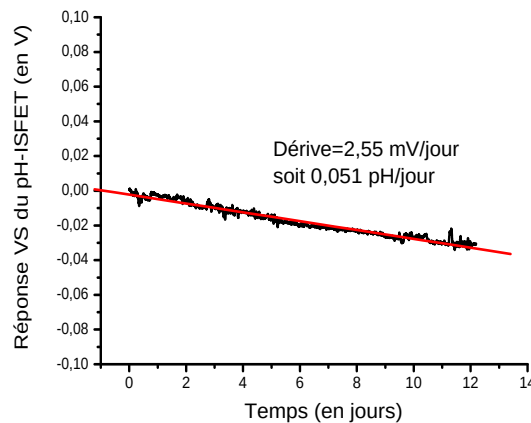
La méthode de mesure "discontinue" est de polariser durant $100 \text{ millisecondes}$ avant d'effectuer la mesure, puis la polarisation est coupée durant 5 minutes , ces opérations se répètent pendant plusieurs jours.



(a) Electrode Flexref



(b) Fil d'or



(c) Fil d'Ag/AgCl

Figure 2.33: Dérive du pH-ISFET polarisé en discret par les différentes électrodes

Avec la discrétisation des mesures, les mêmes phénomènes se produisent pour les trois électrodes, les trois électrodes n'ont pas été détériorées, et sont tout à fait fonctionnelles, de

plus les dérives sont moins importantes comme le montre les figures 2.33(a) 2.33(b) 2.33(c). Nous remarquons que la dérive pour les trois types d'électrodes est du même ordre ($0,05 \text{ pH/jour}$). Cette méthode de mesure permet des mesures plus fiables et surtout une durée de vie des électrodes plus grande.

2.2.3.5 Conclusion

La figure 2.34 montre les résultats théoriques et ceux obtenus avec les différentes électrodes utilisées, et permet une comparaison directe entre la courbe théorique et les courbes expérimentales. La courbe théorique est obtenue à partir de l'équation de NERNST et des équations acido-basiques du système HCl/TMAH. Le premier point à noter est la différence entre la courbe théorique et le paquet de courbes expérimentales. Nous l'expliquons cet effet par les incertitudes de mesures, en effet nous avons l'incertitude sur le pH initial des solutions (dans le bain et dans les burettes), l'incertitude sur les volumes de solution initiale et injectés,.... Toutes ces incertitudes combinées sont la raison de ce décalage. En deuxième lieu, nous voyons que la comparaison des trois types d'électrodes montre que l'or qui a été utilisé jusqu'à ce jour donne des résultats corrects dans la gamme de pH (4-10). Cependant les meilleurs résultats sont ceux obtenus avec l'électrode FLEXREF et le fil d'Ag/AgCl.

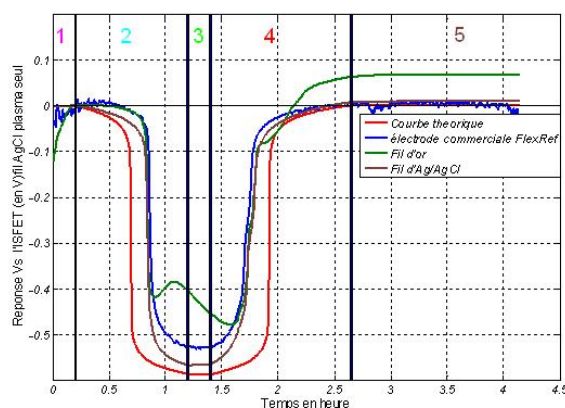


Figure 2.34: Réponse du pH-ISFET en fonction du pH et de l'électrode utilisée

Nous avons d'abord montré qu'avec une électrode commerciale de qualité reconnue, nous obtenons de très bons résultats : sensibilité linéaire au pH et peu de dérive. Les mesures de sensibilité avec le fil d'or se sont avérées limitées en gamme de pH et l'idéal a été obtenu avec le fil d'Ag/AgCl. Cette électrode donne d'excellents résultats, tant en sensibilité qu'en dérive, et est comparable à la courbe théorique. Avec ces résultats, nous pouvons conclure que cette dernière électrode peut nous servir de référence pour caractériser les composants réalisés en salle blanche, ainsi toutes les mesures vont être réalisées avec le fil d'Ag/AgCl par la suite.

2.2.4 Etude des ISFETs réalisés à partir du procédé de métallisation "standard"

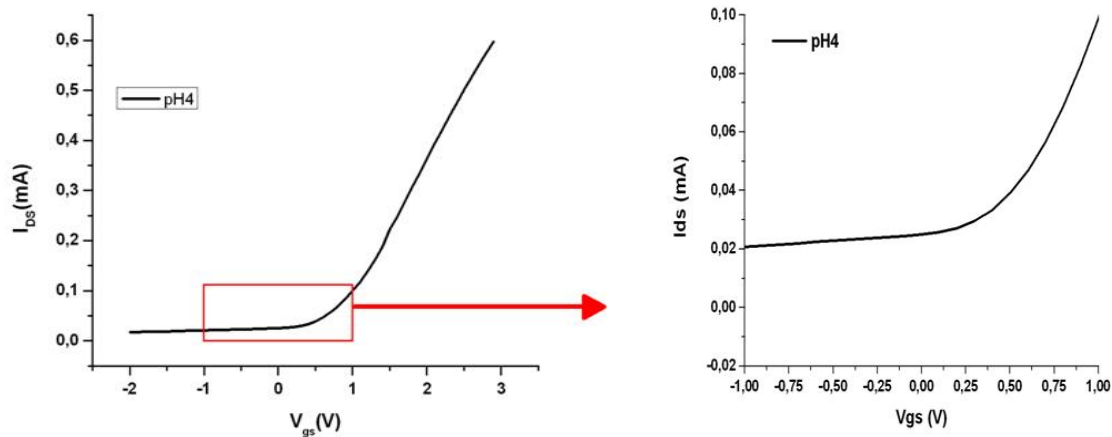
Dans cette partie, nous nous intéresserons aux composants pH-ISFETs réalisés. Nous allons étudier les différentes grandeurs nécessaires pour le caractériser. Le but étant d'avoir un composant respectant le cahier des charges, des mesures seront réalisées afin de vérifier les différents paramètres. Dans cette étude nous avons réalisé des composants avec la métallisation "standard", dont le procédé technologique a été présenté précédemment, et des composants avec la métallisation "lift-off" pour comparer les procédés technologiques de métallisation afin de définir le meilleur. Le procédé de fabrication des composants ainsi que les résultats de leurs caractérisations seront présentés en 2.2.5.

Sensibilité

La sensibilité du composant est celle que nous avons déjà présenté dans l'étude de l'électrode, et nous obtenions une sensibilité linéaire de 55 mV/pH en moyenne avec l'électrode Ag/AgCl avec une hystérésis plutôt faible (figure 2.31).

Courant de fuite et tension de seuil

Pour déterminer le courant de fuite et la tension de seuil, nous avons utilisé le banc de caractérisation I(V). En utilisant les paramètres décrits plus tôt en 2.2.1 ($V_{ds} = 2V$; $0V < V_{gs} < 3V$, V_s et $V_{substrat}$ connecté à la masse). Le bâtonnet sera plongé dans une solution à pH fixe (pH4).



(a) $I_{ds} = f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement $|-2 : 3V|$ (b) $I_{ds} = f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement $|-1 : 1V|$

Figure 2.35: Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée

Sur la figure 2.35, nous observons que la tension de seuil, qui dépend du pH, est inférieure à nos prévisions (0,6 - 0,7 V au lieu de 1 V). En technologie FET, la valeur de la tension de seuil est difficile à contrôler avec précision. En ce qui nous concerne cette valeur nous satisfait, nous ne sommes pas loin des simulations.

Par contre, comme pour le MOSFET standard (cf. 2.2.2) le courant de fuite est bien plus important que celui attendu ($\approx 20 \mu A$ au lieu de $1 \mu A$), ce qui nous donne un très mauvais rapport signal sur bruit. En effet lors des mesures de sensibilité avec un ChemFETmètre, nous fixons le courant de fonctionnement à $100 \mu A$, ainsi le rapport signal sur bruit est de 5 environ au lieu de 100, ce qui pose d'importants problèmes de fiabilité des mesures. A présent, nous allons étudier la source de ce courant parasite, pour le réduire.

Etant donné la structure du composant, le courant drain-source indésirable peut provenir, soit :

- hypothèse 1 : d'une mauvaise isolation de grille comme le montre la figure 2.36(a)
- hypothèse 2 : d'une mauvaise passivation surfacique entre les contacts comme le montre la figure 2.36(b).

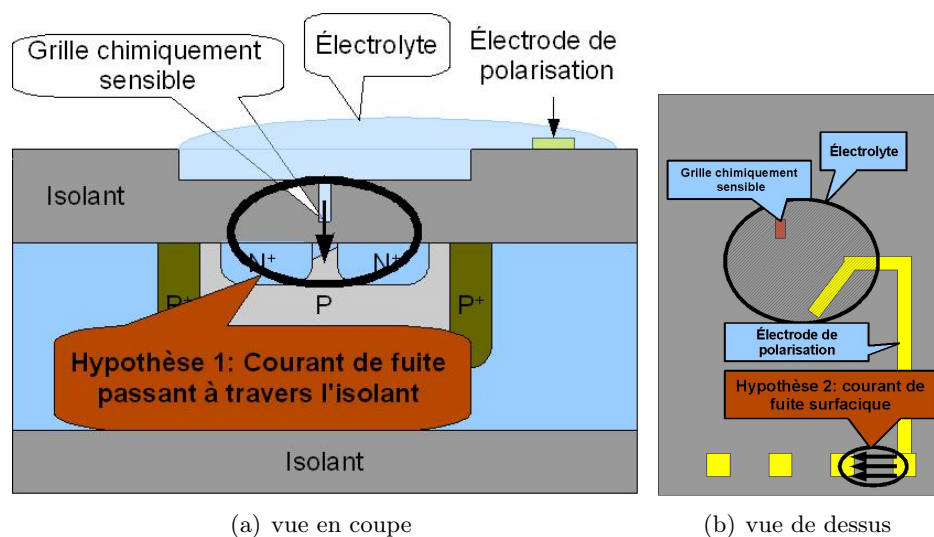


Figure 2.36: Passage du courant de fuite possible selon les hypothèses 1 et 2

Dans le cas de l'hypothèse 1, l'isolant de grille serait de mauvaise qualité, ainsi un courant passe de la grille électrolytique polarisée par l'électrode, au travers de l'isolant pour se retrouver dans le composant (figure 2.36(a)). Dans ce cas, il n'y a pas de solution simple pour réduire ce courant, il faut refaire d'autres composants.

Dans le cas de l'hypothèse 2 : des impuretés non-isolantes (résine, métaux,...) en surface laissent passer un faible courant d'une vingtaine de micro-ampères entre les plots de contact (figure 2.36(b)). Dans ce cas, nous pouvons réduire le courant de fuite en retirant ces impuretés.

Pour trouver d'où vient le défaut, nous allons faire la même mesure que précédemment, mais cette fois sans l'électrolyte. L'absence de l'électrolyte isolera l'électrode de polarisation de la grille chimiquement sensible, ainsi seul le courant surfacique peut circuler. Donc d'après les hypothèses, à la mesure si le courant de fuite s'annule, c'est l'oxyde de grille qui est de mauvaise qualité, et si le courant est le même ($\approx 20 \mu A$) c'est que nous sommes en présence d'une conduction surfacique.

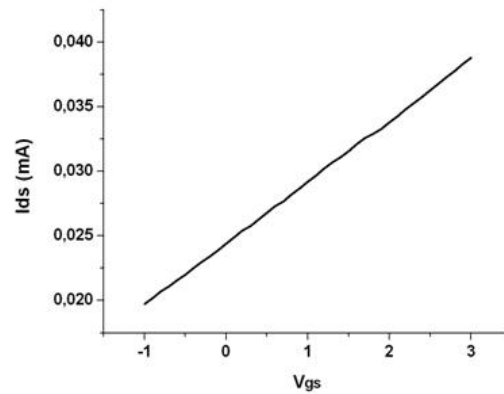


Figure 2.37: Courant drain-source I_{ds} en fonction de la tension appliquée à l'électrode isolée de la grille du composant

A $V_{ds} = 2V$, le courant de drain I_{ds} vaut 20 à 40 μA pour une tension sur l'électrode de grille $V_{\text{électrode}}$ allant de -1 à $3 V$ (figure 2.37), le courant de fuite est toujours aussi important. L'isolation de la grille de l'électrode n'a pas réduit le courant de fuite. Pourtant excepté le substrat recouvert d'une couche de passivation, il n'y a pas de conducteur physique entre l'électrode et la grille de commande du transistor. Donc d'après les hypothèses émises précédemment, ce courant n'a pas d'autres choix que de passer par la surface, dû à la présence d'impuretés conductrices sur la couche de passivation.

Ces impuretés conductrices sont soit des résidus d'une résine assez conductrice qui n'auraient pas été éliminés par les bains successifs d'acétone, soit des résidus métalliques (titane par exemple) qui n'ont pas été gravés dans la solution d'attaque (solution de HF tamponné)(étape 18). Pour corriger ce défaut, il est nécessaire de déterminer l'origine de ces impuretés et adapter en conséquence le procédé de fabrication. Pour cela nous allons émettre deux nouvelles hypothèses, les impuretés sont soit des résidus de résine (hypothèse 1) soit les impuretés sont des résidus métalliques (hypothèse 2).

Nous allons à présent, voir la démarche scientifique qui nous a permis d'éliminer ce courant de fuite surfacique.

2.2.4.1 Influence du Buffer HF sur le pH-ISFET

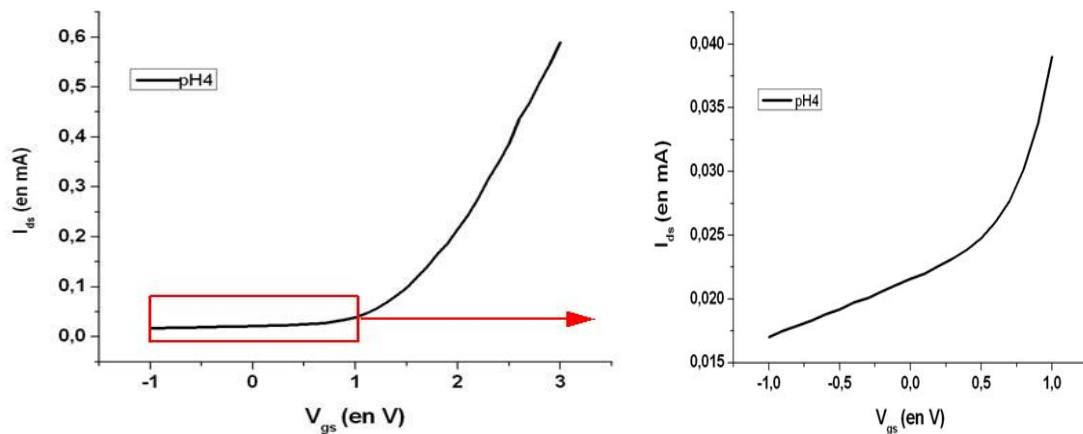
Le Buffer (tampon) d'acide fluorhydrique est une solution qui sert d'attaque pour les oxydes de silicium, le titane, le nitrure de silicium [Kremer 82] [Williams 96]. L'idée ici est de graver une mince couche de nitrure de silicium pour retrouver une surface " propre ". Le tampon d'acide fluorhydrique (buffer HF) a une vitesse d'attaque faible du nitrure de silicium de 1,3 nm/min , les composants sont trempés 10 secondes dans le buffer HF ainsi 0,2 nm d'épaisseur de Si_3N_4 aura été gravé, sur une couche de 50 nm , cette gravure aura une influence négligeable sur la capacité de grille et donc sur la tension de seuil.

Courant de fuite

La figure 2.38 montre que le bain d'acide fluorhydrique n'a pas eu d'effet sur le courant de fuite ($\simeq 20 \mu A$), les impuretés conductrices en surface résistent à l'attaque chimique.

Dans le cas de l'hypothèse 1, la résine sert de masquage pour les attaques au HF, ainsi le bain est sans effet, et les résidus de résine sont toujours présents.

Dans le cas de l'hypothèse 2, le titane est gravé par le buffer HF en quelques secondes, ce fait est visible à l'oeil car lors de l'attaque, la réaction produit une effervescence, des bulles visibles dans la solution, qui est le signe d'une gravure du titane. Cependant le titane s'oxyde très rapidement à l'air libre et se transforme en Ti_xO_y qui est difficilement attaquable [Birch 00]. La couche de passivation est une couche de nitrure de silicium, avec le titane déposé par évaporation, il se forme alors des siliciures de titane Ti_xSi_y et/ou un nitrure de titane Ti_xN_y qui ne sont pas attaqués par le bain de buffer HF, une autre solution est donc à envisager.



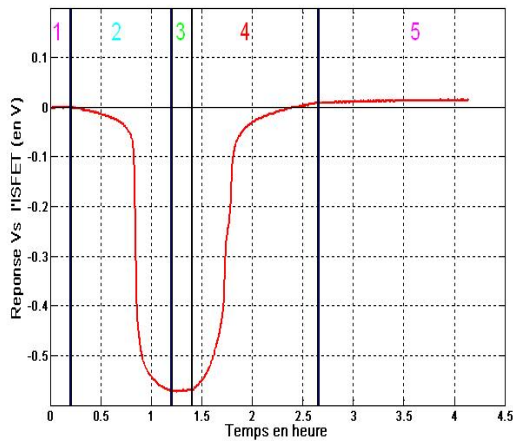
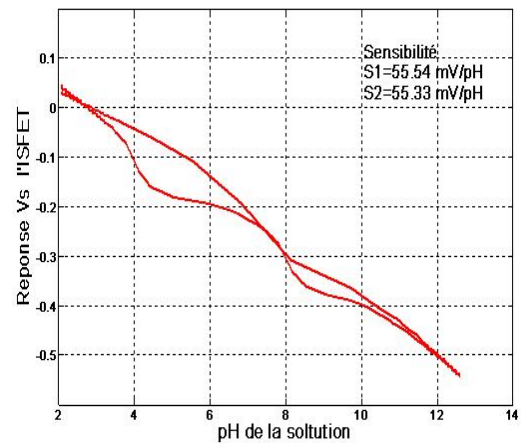
(a) $I_{ds} = f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement $|0 : 3V|$ (b) $I_{ds} = f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement $|-1 : 1V|$

Figure 2.38: Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée après le bain d'acide fluorhydrique tamponné

Sensibilité

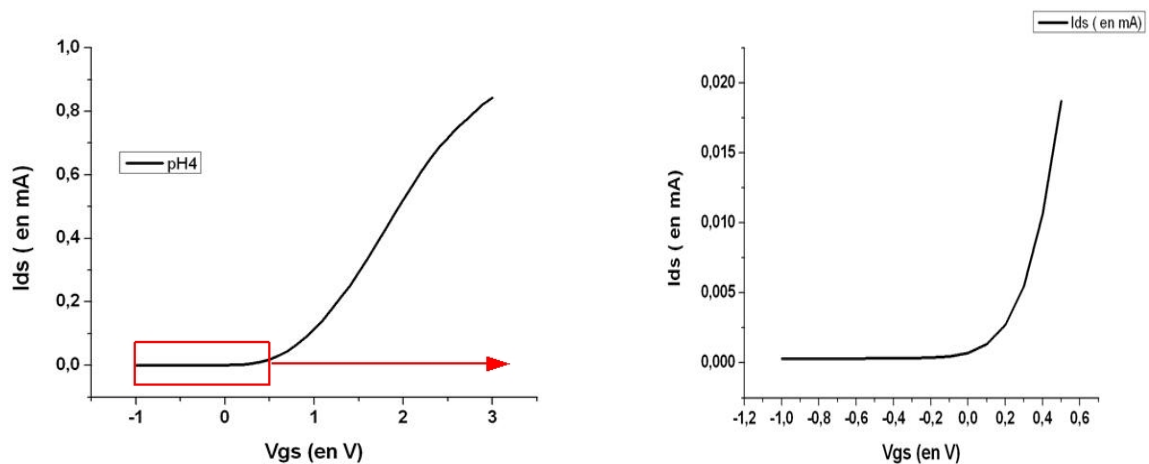
Cette attaque a permis tout de même de nettoyer la surface, comme le montre la figure 2.39, où nous pouvons noter une légère augmentation de la sensibilité.

Ce traitement HF n'a pas eu les conséquences attendues, les impuretés conductrices de surface n'ont pas été éliminées. Nous avons simplement quelque peu amélioré la sensibilité, mais cette amélioration reste éphémère car après quelques heures le composant retrouve la sensibilité initiale. Des solutions inefficaces comme celle-ci ont été nombreuses, que nous ne présenterons pas mais une voie forte intéressante s'est ouverte avec l'utilisation d'un nettoyage "plasma oxygène".

(a) évolution de la tension V_s lors de la manipulation(b) Tension V_s en fonction du pH du milieu**Figure 2.39:** Sensibilité de l'ISFET après un bain de buffer HF, avec le milieu polarisé par un fil d'Ag/AgCl

2.2.4.2 Influence du plasma oxygène

Le plasma oxygène est utilisé en général en microélectronique pour le délaquage de résines fortement contraintes et épaisses, lorsque les solutions chimiques simples ne le permettent pas [Hartney 89]. Le principe est de bombarder la surface par des molécules d'oxygène, ce qui va modifier la surface en cassant les liaisons entre le nitrure de silicium et les impuretés, ensuite ce traitement va créer de nouvelles liaisons oxygène-impureté. Le composé obtenu oxygène-impureté est volatile, et est aspiré par un système de pompage. Ainsi, nous aurons en principe une surface nettoyée de toute impureté.

(a) $I_{ds} = f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement $[0 : 3V]$ (b) $I_{ds} = f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement $[-1 : 0.5V]$ **Figure 2.40:** Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée après traitement plasma oxygène

Courant de fuite

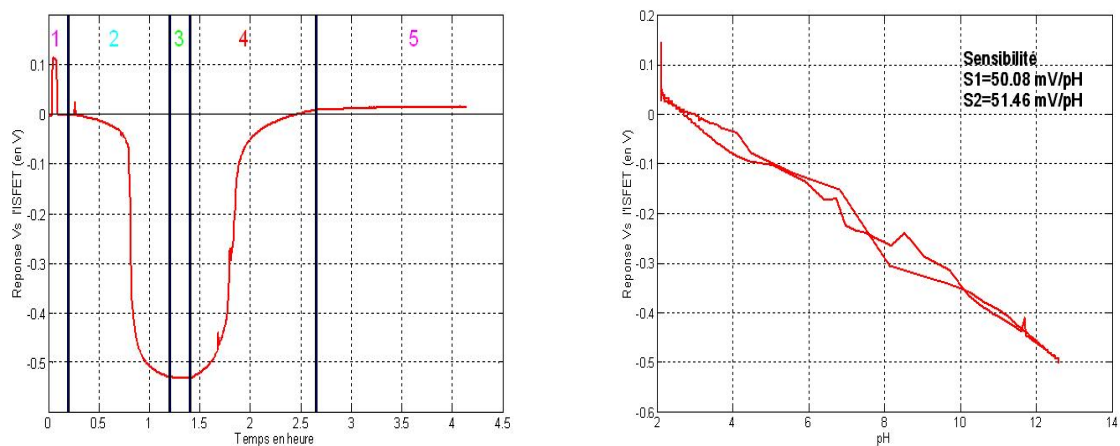
La figure 2.40 montre que le courant de fuite a été fortement réduit ($\simeq 0,3 \mu A$), ce qui est en accord avec le cahier des charges ($\leq 1 \mu A$). Ce traitement a permis de retirer les éléments indésirables. Néanmoins, nous pouvons remarquer que le traitement plasma a modifié la tension de seuil, en ajoutant des charges à l'isolant de grille.

De plus, après le traitement, la couche de nitrure de silicium, qui avant le traitement plasma est hydrophobe, est devenue hydrophile. Pour évaluer ce changement de l'état de surface, des mesures de mouillabilité ont été réalisées. Ces mesures permettent de définir le caractère hydrophile ou hydrophobe d'un substrat, en mesurant l'angle que fait une goutte de liquide sur le substrat, (plus l'angle est petit plus la surface est hydrophile). L'angle de contact mesuré montre le changement de l'état de surface qui est devenu complètement hydrophile (angle de contact $\approx 5^\circ$) après le traitement plasma.

Pour que le composant garde les propriétés définies dans le cahier des charges (tension de seuil ($\approx 1V$, hydrophobie, courant de fuite ($\leq 5\mu A$), une optimisation des paramètres du plasma (temps, puissance) est nécessaire.

Sensibilité

Le traitement plasma a modifié la tension de seuil, et l'état de surface du capteur, nous vérifions ici (figure 2.41) que la sensibilité n'est pas affectée.



(a) évolution de la tension V_s lors de la manipulation

(b) Tension V_s en fonction du pH du milieu

Figure 2.41: Sensibilité de l'ISFET après un traitement plasma O_2 , avec le milieu polarisé par un fil d'Ag/AgCl

Les mesures de sensibilité (figure 2.41) montrent que la sensibilité reste la même après le traitement plasma, ce qui est appréciable. Avec cette sensibilité et ce courant de fuite, notre capteur entre presque dans le cahier des charges, cependant il reste à optimiser le traitement plasma pour limiter les variations de tension de seuil et la dégradation l'état de surface.

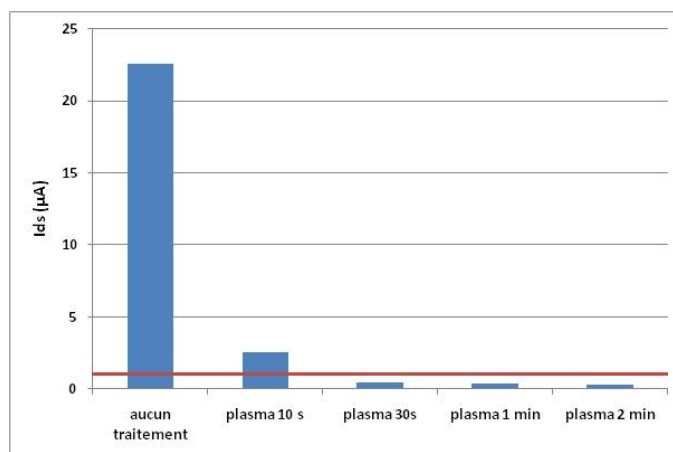


Figure 2.42: Evolution de courant de fuite en fonction du temps de traitement plasma

Evolution du courant de fuite en fonction du temps de traitement plasma oxygène :

Ces résultats (figure 2.42) montrent qu'il n'est pas nécessaire de bombarder les composants trop longtemps, au bout de quelques secondes les impuretés conductrices se sont volatilisées. Ce point est intéressant car en réduisant le temps de plasma, les variations de la tension de seuil et la dégradation de l'état de surface seront moins importantes.

Ces résultats amènent à penser que ces impuretés conductrices sont des résidus de résine que les bains d'acétone n'ont pu retirer, nous serions donc dans le cas de l'hypothèse 1. Le plasma aurait donc tout simplement retiré la résine résiduelle et donc le courant de fuite a naturellement diminué.

Pour autant l'hypothèse 2 (résidus métalliques) ne peut pas être directement écartée car il est possible que le plasma puisse casser les liaisons de siliciures de titane et/ou les liaisons de nitrure de titane en créant des liaisons Ti_xO_y . Soit le composé obtenu est volatil et a pu être aspiré durant le nettoyage, soit l'oxydation du titane l'a rendu isolant ce qui permet dans les deux cas d'obtenir une diminution du courant de fuite [Sandwick 90].

Evolution de la tension de seuil en fonction du temps de traitement plasma oxygène :

L'un des paramètres importants à contrôler est la tension de seuil, nous allons voir comment évolue la tension de seuil en fonction du temps de traitement plasma.

La figure 2.43 montre que la tension de seuil est fortement modifiée par le traitement. Pour avoir une tension de seuil de l'ordre du volt, et un courant de fuite inférieur à $1\mu A$, un plasma de 30secondes est suffisant.

La variation de tension de seuil d'un transistor MOSFET après un plasma est un phénomène qui a été décrit par de nombreux auteurs [Hashimoto 94] [Salah 96]. Généralement, on trouve une variation positive de la tension de seuil, cet effet est nommé "effet antenne". Des charges négatives provenant du plasma chargé sont piégées par l'oxyde de grille ou à l'interface, d'où une variation de la tension de seuil positive. Cependant Brozek a montré et expliqué qu'il est possible

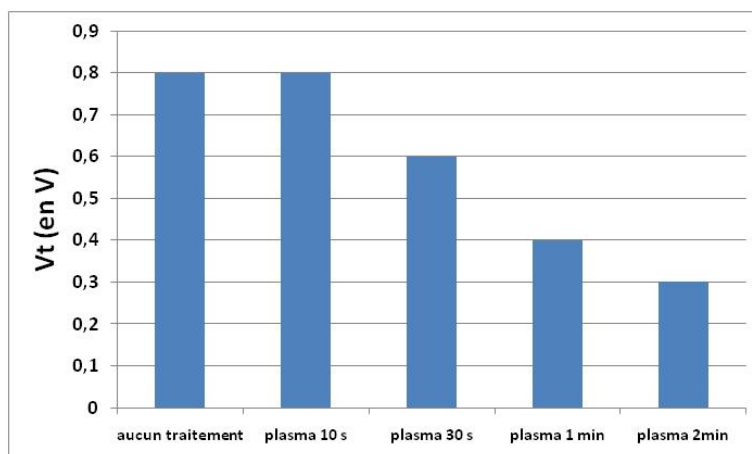


Figure 2.43: Evolution de la tension de seuil en fonction du temps de traitement plasma

dans certaines conditions d'avoir un piégeage de trous d'où une variation dans le sens inverse, cet effet est nommé "effet antenne inverse" [Brozek 96]. Nous nous placerons dans ces mêmes conditions car nous observons aussi une variation négative de la tension de seuil.

Table 1 Material Damage		
Material	Damage source	Damage
semiconductor	energetic particles	creation of traps and g-r centers creation of defects impurity incorporation dopant deactivation
	chemical reaction	creation of traps and g-r centers defect generation and propagation addition or removal of hydrogen
gate oxide	charging damage uv ionization damage	creation of traps charging up of traps creation of fixed charges
	chemical reaction	addition or removal of hydrogen creation of traps
oxide-semiconductor interface	energetic particles charging damage	roughening of the interface creation and charging up of interface states
metal	energetic particles	topology changes

Table 2.4: synthèse des effets du plasma

Viswanathan présente une synthèse des effets du plasma dont le tableau 2.4 est issu [Viswanathan 99].

Evolution de l'angle de contact en fonction du temps de traitement plasma oxygène :

La figure 2.44 montre que quelques secondes suffisent à rendre la surface hydrophile, or le

nitru de silicium est de nature hydrophobe. D'autre part, notons qu'avec le temps, il devient moins hydrophile. Ce changement de l'état de surface nous pose un problème pour les mesures sous pointes. En effet, lorsque nous déposons une goutte de solution sur la zone sensible, celle-ci s'étend sur tout le composant jusqu'aux contacts et de fait provoque un court-circuit entre les pointes. Pour pouvoir réaliser des mesures, cette surface doit être hydrophobe.

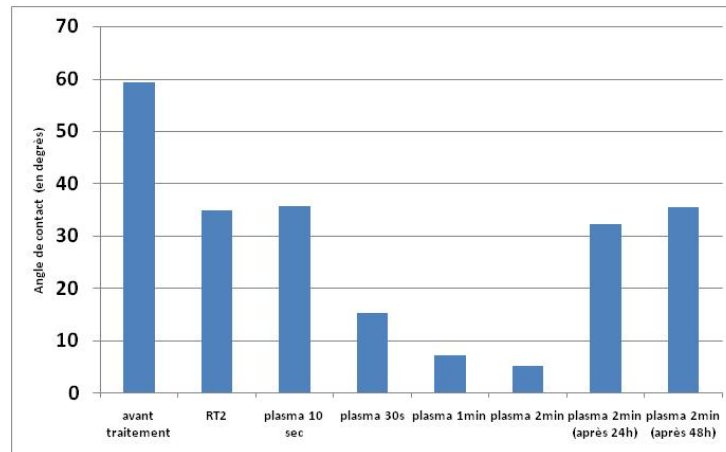


Figure 2.44: Evolution de l'angle de contact en fonction du temps de traitement plasma

Ce changement de l'état de surface est le fruit d'un bombardement, ce bombardement modifie quelque peu la polarité du nitrure de silicium en surface d'où ce passage de hydrophobe à hydrophile. Ce procédé est souvent utilisé pour la fonctionnalisation de surface et crée des liaisons chimiques avec d'autres surfaces polaires [Chu 02].

Au final, ces résultats montrent que le traitement plasma a été bénéfique pour le composant, il a permis de réduire le courant de fuite sans affecter la sensibilité du composant, tout en gardant le même ordre de grandeur de la tension de seuil, le traitement optimisé pour arriver à ce résultat est un traitement de 30 *secondes* à une puissance de 500W. Néanmoins l'hydrophilie de la couche de nitrure de silicium reste un problème, nous souhaitons rendre la couche hydrophobe telle qu'elle l'était avant le traitement.

2.2.4.3 Influence plasma oxygène et buffer HF

Puisque le traitement plasma change la polarité de la surface de la couche de nitrure de silicium, et afin de retrouver une couche hydrophobe, nous avons eu l'idée de passer les composants dans un bain de buffer HF. Ce bain a permis de retirer la couche en surface modifiée par le plasma (quelques nanomètres) pour retrouver un nitrure de silicium hydrophobe en surface. Après, la mesure de l'angle de contact passe d'un angle de 5° à plus de 60° en moyenne comme nous pouvons le constater sur la figure 2.45.

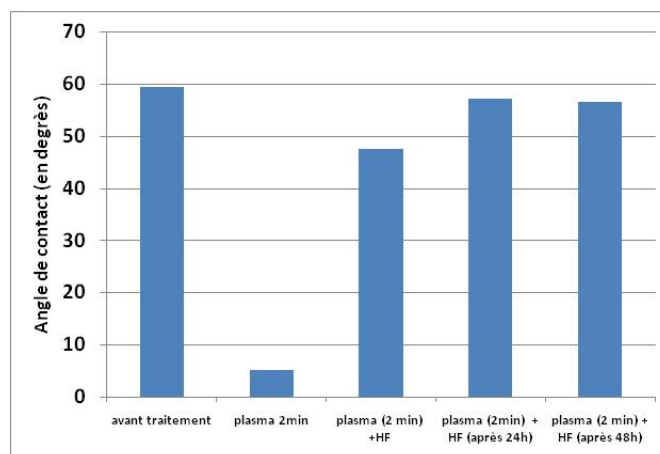
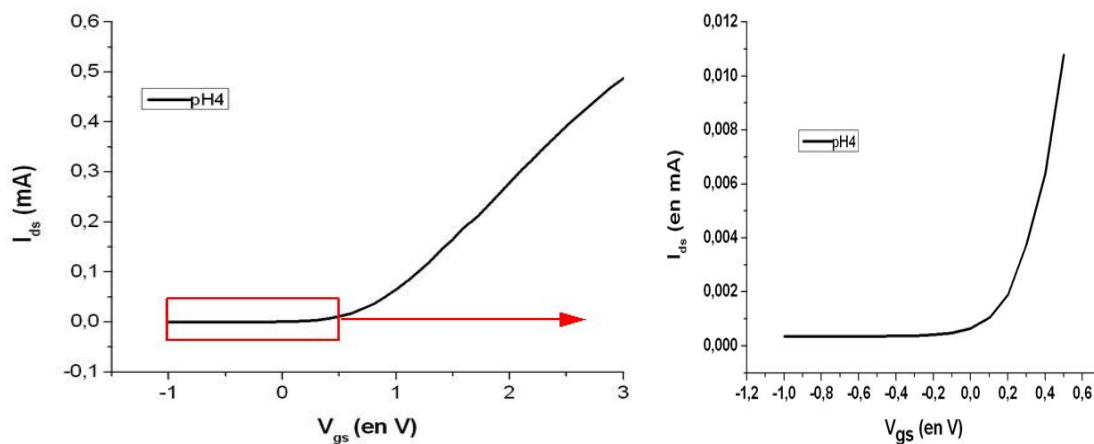


Figure 2.45: Evolution de l'angle de contact en fonction du temps de traitement plasma

A présent nous allons vérifier que ce bain n'a pas été préjudiciable pour le composant.

Mesure I(V)

La courbe (figure 2.46) montre que le courant de fuite est bien inférieur à $1\mu A$ ($\simeq 0,3\mu A$), la tension de seuil est de l'ordre de $0,7V$.



(a) $I_{ds} = f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement $[0 : 3V]$ (b) $I_{ds} = f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement $[-1 : 0,5V]$

Figure 2.46: Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée après traitement plasma oxygène et un bain de buffer HF

Mesure de sensibilité

Nous voyons sur la figure 2.47 que la sensibilité a été légèrement améliorée, le bain de buffer HF n'a pas été dommageable, il a même été bénéfique pour notre capteur. En plus de retrouver un état de surface hydrophobe, nous gagnons en sensibilité.

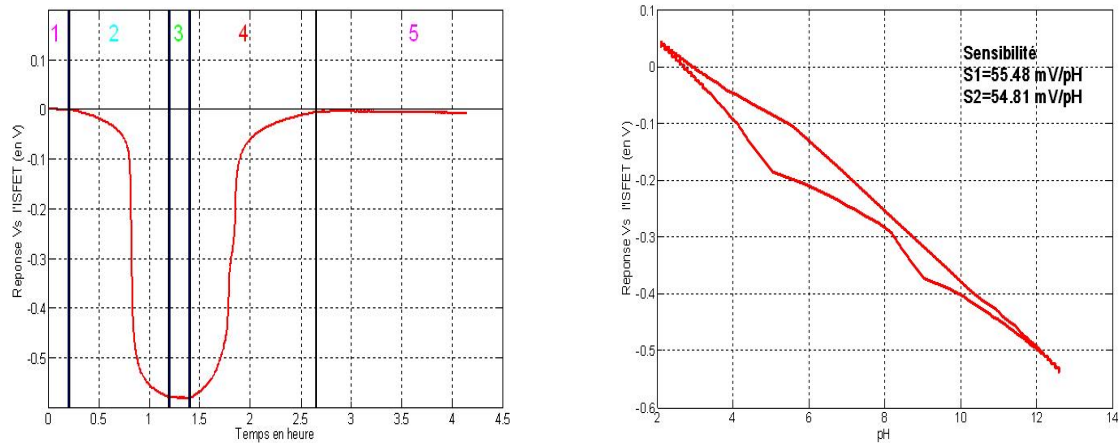
(a) évolution de la tension V_s lors de la manipulation(b) Tension V_s en fonction du pH du milieu

Figure 2.47: Sensibilité de l'ISFET après un traitement plasma O_2 et un bain HF, avec le milieu polarisé par un fil d'Ag/AgCl

2.2.4.4 Conclusion

Lors des caractérisations, nous avons montré que les capteurs ainsi réalisés sont fonctionnels avec des propriétés relativement bonnes (sensibilité, tension de seuil,...). Cependant les composants ont présenté un fort courant de fuite, pour lequel une procédure a été mise en place pour diminuer ce courant indésirable et retrouver des composants ayant les caractéristiques attendues. L'origine de ce courant de fuite n'a pu être clairement définie, les deux hypothèses restent valables (résine ou métaux). Pour vérifier que ce fort courant de fuite n'est pas une mauvaise manœuvre de notre part, où un non respect d'une étape de fabrication, nous avons refait le procédé et nous arrivons aux mêmes observations. Devant ces problèmes de courant de fuite, il est nécessaire d'adapter le procédé. Une réponse peut être obtenue en changeant le procédé de métallisation. En utilisant la technique bien maîtrisée au LAAS-CNRS du lift-off, nous nous affranchirons de l'étape de gravure des métaux, donc pas de métaux résiduels. Ainsi nous saurons clairement la nature des résidus provoquant ces courants de fuite.

2.2.5 Etude des ISFETs issus du procédé microélectrodes intégrées Ti/Au déposé par " lift-off "

La technique utilisée jusqu'à là pour le dépôt des métaux (définie dans le procédé de fabrication que nous avons présenté) est de déposer la bicouche de Ti/Au sur toute la surface du substrat, de faire la photolithographie donc le dépôt de la résine protectrice, et par une attaque chimique graver les métaux sur toutes les surfaces non protégées du substrat. Cette méthode a montré ses limites, liées à des impuretés conductrices de surface nécessitant une étape de nettoyage supplémentaire qui n'est pas complètement sans effet néfaste. Ainsi pour éviter cela, nous allons essayer une autre technique de dépôt des métaux : le " lift-off " [Franssila 04]. Le principe du lift-off est de déposer la résine protectrice en amont, puis déposer le métal, de passer dans un bain

d'acétone pour le retrait de la résine et de la couche de métal déposée de manière non conforme. Ce procédé permet d'éviter l'étape de la gravure chimique. En effet le métal est déposé partout sur la couche de nitrure, celle-ci est protégée par la résine, de ce fait il n'y a pas la possibilité d'avoir du titane résistant à l'attaque chimique sur l'isolant. Donc dans le cas, où le titane serait l'origine du courant de fuite (hypothèse 2), cette technique permet de limiter ce courant de fuite tout en évitant le traitement plasma et ses effets sur la surface et les variations de la tension de seuil. Dans le cas où des résidus de résines seraient à l'origine du courant de fuite (hypothèse 1), le rapport signal sur bruit ne serait pas amélioré mais au moins nous aurons identifié la source de cette imperfection.

2.2.5.1 Procédé de Dépôt de métal par lift-off

Nous allons présenter ici les différentes étapes du dépôt " lift-off " en repartant de l'étape 16 donc après l'ouverture des contacts, jusqu'à cette étape le procédé reste inchangé et à partir de celle-ci nous allons suivre les étapes décrites ci-après :

➤ ETAPE 17 : Métallisation par lift-off TITANE/OR (200nm/800nm)

Avant de faire le dépôt des métaux par évaporation, nous réalisons la photolithographie par lift-off . Nous utiliserons pour le masquage la résine réversible AZ 5214. étant donné que la polarité est différente, nous réaliserons un masque adapté à la technologie lift-off.

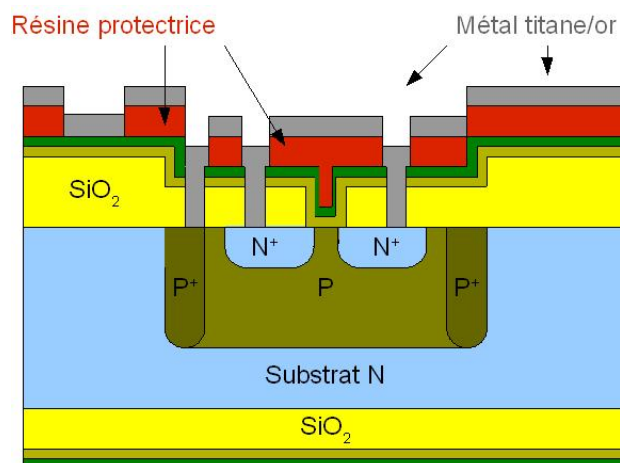


Figure 2.48: Photolithographie lift-off et dépôt des métaux Titane/or

Le dépôt de la résine par le lift-off se fait en suivant les séquences suivantes :

- ◆ Préparation du substrat (nettoyage, déshydratation, promoteur d'adhérence)
- ◆ Enduction à la tournette de la résine AZ 5214 (pré-recuit, détournage),
- ◆ Insolation U.V. à travers le masque
- ◆ Recuit d'inversion
- ◆ Insolation pleine plaque
- ◆ Développement

◆ Post-recuit

Après l'étape de photolithographie, nous déposons le titane et l'or par évaporation (figure 2.48). La dernière étape est le retrait de la résine, nous passerons le substrat dans un bain d'acétone, ainsi le métal déposé sur la résine va s'enlever avec celle-ci (figure 2.49).

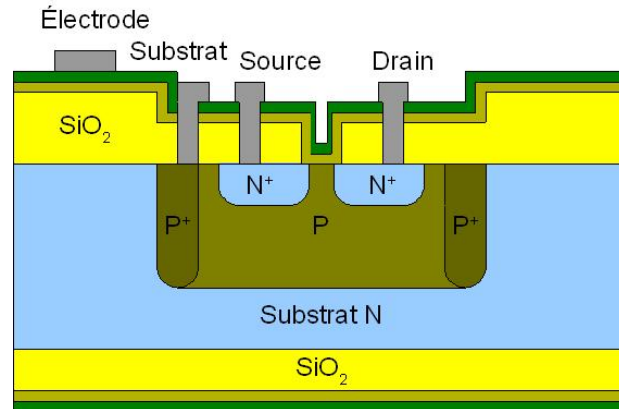


Figure 2.49: Métallisation lift-off Titane-or

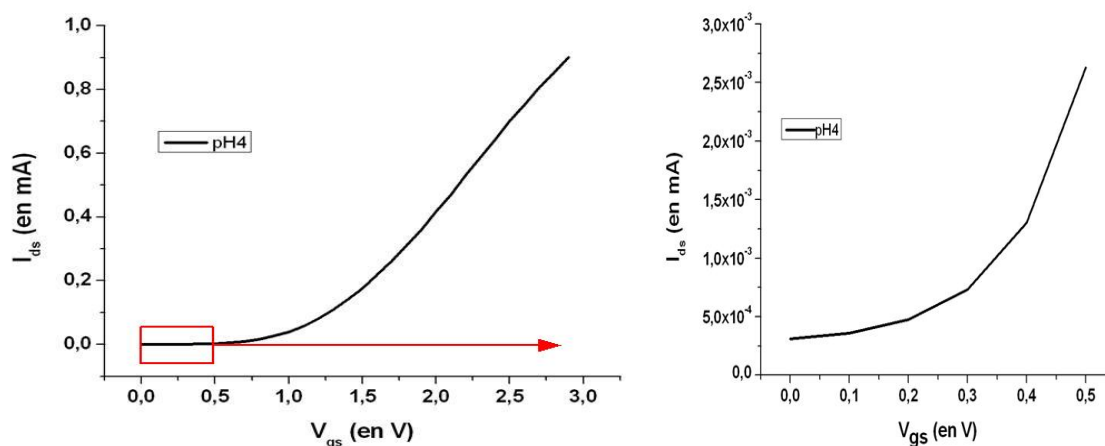
Après cette étape, nous reprendrons le procédé tel qu'il a été déjà décrit à partir de l'étape de recuit des métallisations (étape 19) et nous le suivrons jusqu'à l'étape de montage sur bâtonnet.

2.2.5.2 Caractérisation des composants

Après les étapes de réalisation, nous passons à la caractérisation de ces pH-ISFETs réalisés avec la technologie lift-off. Rappelons que nous utilisons toujours, pour polariser le milieu liquide, le fil d'argent chloré. Comme précédemment, dans un premier temps nous ferons des mesures $I(V)$ avant de passer au banc de caractérisation en continue.

Tension de Seuil et Courant de fuite

Les mesures (figure 2.50) montrent que la tension de seuil est de $\approx 0,7V$ ce qui entre dans la gamme admise. Elles montrent surtout que le courant de fuite correspond au résultat attendu, soit inférieur à $1\mu A$ ($\approx 0,3\mu A$). Conformément à nos hypothèses ces résultats montrent bien que c'est bien le titane résiduel qui est la source du courant de fuite observée auparavant. Nous pouvons dire aussi que cette méthode de dépôt permet d'obtenir d'excellents résultats sans nécessiter les nettoyages plasma et buffer HF.

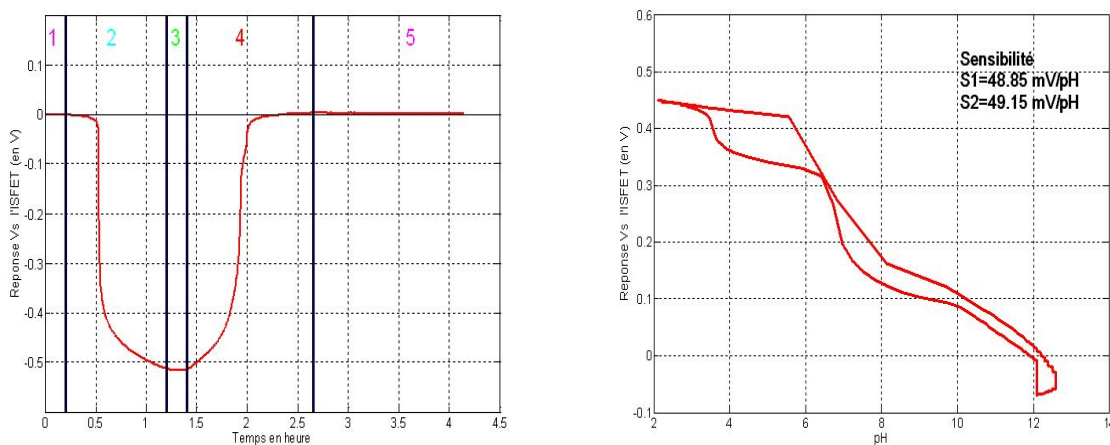


(a) $I_{ds}=f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement (0-3V) (b) $I_{ds}=f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement $[-1 : 0.5V]$

Figure 2.50: Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée, procédé Titane/or déposé par technique de lift-off, avec le milieu polarisé par un fil d'Ag/AgCl

Sensibilité

Les résultats (figure 2.51) donnent une sensibilité proche de celle attendue et obtenue avec la technologie de dépôt pleine plaque des métaux, à savoir $\approx 50 \text{ mV/pH}$.



(a) évolution de la tension V_s lors de la manipulation (b) Tension V_s en fonction du pH du milieu

Figure 2.51: Sensibilité de l'ISFET issu du procédé Titane/Or "lift-off", avec le milieu polarisé par un fil d'Ag/AgCl

2.2.5.3 Conclusion

Nos réalisations en partant du procédé initial ont montré une anomalie, dont l'origine exacte a pu être déterminée, le titane indésirable qui n'a pas pu être gravé avec le procédé standard. Un moyen a été trouvé pour graver le titane résistant mais celui-ci impose un traitement par

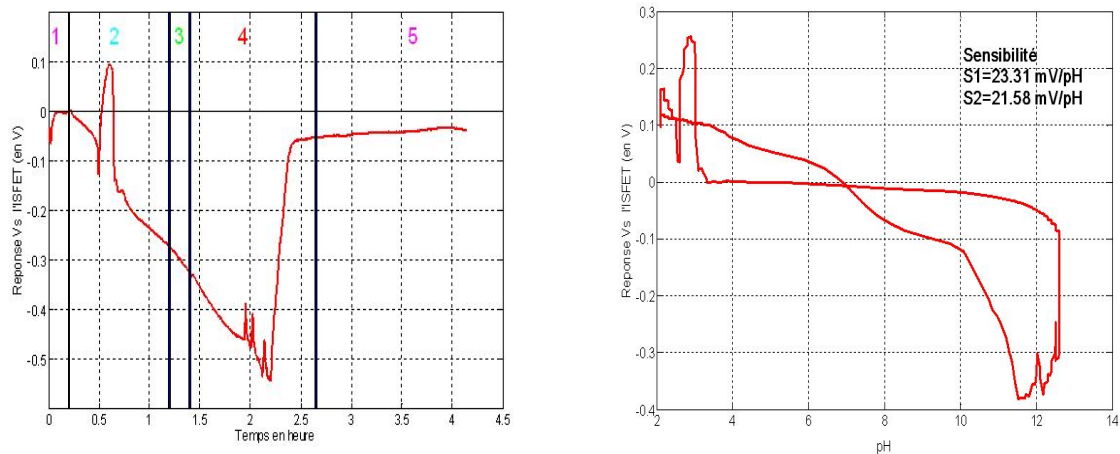
plasma oxygène ayant une influence indésirable. De ce fait, en utilisant une technique différente de dépôt des métaux (le lift-off), le courant de fuite a pu être fortement diminué sans passer par le plasma oxygène qui impose des contraintes. Ainsi cette technique permet d'obtenir un composant respectant tous les paramètres du cahier des charges avec des résultats très satisfaisants. Finalement, en passant par la technologie " lift-off ", le procédé de fabrication a été amélioré et d'autre part ces résultats montrent aussi que le composant couplé à une électrode de polarisation commerciale est un excellent capteur chimique pour la mesure de pH.

2.2.6 Etude des électrodes de référence en or intégrées

Dans les caractérisations précédentes, nous avons toujours utilisé le fil d'Ag/AgCl pour polariser la solution, et nous avons montré que les résultats avec cette électrode sont corrects. A présent, nous allons utiliser l'électrode or intégrée.

2.2.6.1 pH-ISFET issus du procédé Titane/Or standard

Dans ces mesures, nous utilisons l'électrode en or que nous avons déposée par évaporation pleine plaque, soit le procédé initial avec le traitement plasma et le bain d'acide fluorhydrique (première technologie). Les paramètres comme la tension de seuil et le courant de fuite ont été déterminés dans l'étude précédente, nous nous intéresserons ici uniquement à la sensibilité par l'utilisation de l'électrode de polarisation Ti/Au intégrée sur la puce.



(a) évolution de la tension Vs lors de la manipulation

(b) Tension Vs en fonction du pH du milieu

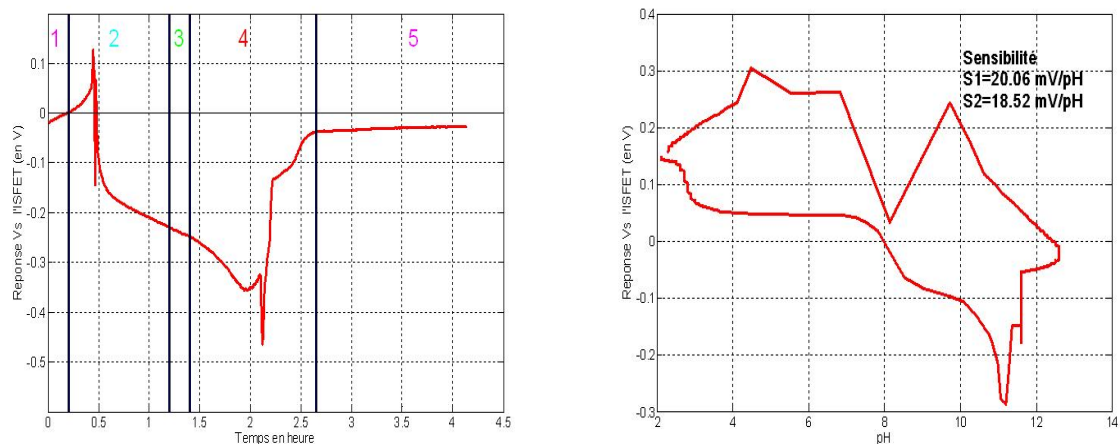
Figure 2.52: Sensibilité du pH-ISFET issu du procédé Titane/Or "pleine plaque", avec le milieu polarisé par l'électrode intégrée en or

Cette courbe (figure 2.52) montre clairement une grande différence avec la mesure avec le fil d'Ag/AgCl, l'utilisation de cette électrode perturbe énormément les mesures, il est quasiment impossible de mesurer un pH avec une telle électrode. Des travaux ont montré que l'utilisation de l'or induisait des artefacts lors des mesures [McAdams 06]. Cependant dans l'étude des électrodes

filaires où l'utilisation d'un fil d'or est présentée (§2.2.3.2), des mesures correctes ont été relevées pour des valeurs de pH comprises dans la gamme [4-10], de même que les composants réalisés lors de la thèse de W.SANT, entre autres, présentent des résultats satisfaisants dans la gamme d'utilisation. L'or intégré, nous pose ici problème : nous obtenons de mauvais résultats quel que soit le pH. Nous savons que le fil d'or utilisé n'est pas un fil d'or pur, il est composé d'autres métaux, les électrodes déposés par SANT ont été réalisées dans l'ancienne salle blanche du LAAS, les dépôts effectués étaient entachés de plus d'impuretés. Aujourd'hui le LAAS possède une nouvelle salle blanche, les dépôts métalliques sont devenus d'excellente qualité, cependant les résultats obtenus avec cet or de meilleure qualité sont devenus très mauvais. Ces phénomènes concordent avec la théorie des électrochimistes, l'or n'est pas un métal adapté pour polariser un milieu aqueux, plus cet or est de bonne qualité plus les résultats sont mauvais. Pour confirmer cette observation nous allons caractériser les composants avec l'électrode Ti/Au intégrée déposés par les techniques lift-off.

2.2.6.2 pH-ISFET issu du procédé Titane/Or déposé par " lift-off "

Nous réalisons les mêmes mesures avec les composants issus de la deuxième technologie, la technologie lift-off.



(a) évolution de la tension Vs lors de la manipulation

(b) Tension Vs en fonction du pH du milieu

Figure 2.53: Sensibilité de l'ISFET issu du procédé Titane/Or "lift-off", avec le milieu polarisé par l'électrode intégrée en or

La figure 2.53 donne des résultats qui restent mauvais. Cela confirme que l'or déposé en salle blanche quelle que soit la technique utilisée n'est pas adéquat. Or cet or est d'une qualité supérieure au fil utilisé ou aux dépôts effectués avant le déménagement de la salle blanche, qui ont donné des résultats assez corrects. Ainsi cela confirme que l'électrode intégrée en or est un mauvais matériau de référence.

2.2.6.3 Conclusion

Les résultats de ces caractérisations montrent les défauts de l'or en tant que matériau de référence. Devant ce constat, nous avons entrepris ces travaux de comparaison de matériaux de polarisation. Cette étude a permis de mettre en valeur l'effet de la qualité de l'or et de son utilisation sur les mesures et fixe un nouvel objectif qui est de réaliser une nouvelle technologie permettant d'approcher les résultats obtenus avec le fil d'Ag/AgCl.

2.3 ISFET avec l'électrode intégrée en argent chloré

Au vue des résultats obtenus avec le fil d'Ag/AgCl, nous nous sommes fixés pour objectif de réaliser des microélectrodes intégrées en Ag/AgCl. C'est non sans mal que nous avons réussi à réaliser le dépôt de cette électrode Ag/AgCl. Le procédé se fait en deux étapes, d'abord nous déposons l'argent puis la deuxième étape consiste à chlorer en surface l'argent et ainsi obtenir de l'Ag/AgCl. Nous décrivons ici le procédé optimisé de la microélectrode Ag/AgCl.

2.3.1 Procédé de dépôt

Nous reprenons le procédé de fabrication à partir de l'étape de l'ouverture des contacts (étape 16). Les contacts source, substrat et drain seront toujours réalisés avec l'or pour permettre les soudures du composant sur le bâtonnet, mais cette fois l'électrode sera réalisée séparément en argent, que nous chlorerons par la suite par des moyens électrochimiques ou chimiques.

Le but est de réaliser des composants ayant l'électrode de polarisation en argent et les contacts en or, ce qui va compliquer le procédé, au lieu de faire la métallisation en une seule étape, celle-ci va devoir se faire en plusieurs étapes, soit trois étapes de photolithographie avec trois masques différents, trois dépôts de métaux (titane/platine, or et argent). L'argent est le métal qui supporte le moins les différents traitements, c'est pourquoi nous le déposons qu'en dernier. L'argent comme l'or nécessite une couche d'accroche pour être fixé sur le substrat, nous avons vu que pour l'or que nous utilisons le titane, pour l'argent nous devons plutôt utiliser le platine comme couche d'accroche, et le platine nécessite lui-même une couche d'accroche qui sera du titane pour être fixé sur le substrat. Donc il faut déposer une couche de titane, une couche de platine, ensuite pour l'électrode une couche d'argent et pour les contacts une couche d'or qui seront déposées sur le platine. Après tous ces dépôts, nous déposerons une couche de passivation SU8 pour assurer l'isolation et éviter qu'un autre métal que l'argent soit en contact avec le milieu à analyser.

➤ ETAPE 17 : METALLISATION TITANE/PLATINE (20nm/150nm)

Sur la figure 2.54, nous avons la vue en coupe à gauche (2.54(a)) et la vue de dessus à sa droite (2.54(b)). Sur la vue en coupe (2.54(a)), nous observons que les métaux titane et platine sont déposés dans l'ouverture que nous avons réalisé à l'étape précédente (cf 2.1.4). Le dépôt titane/platine est réalisé après la photolithographie " lift-off ". Sur la vue de dessus (2.54(b)),

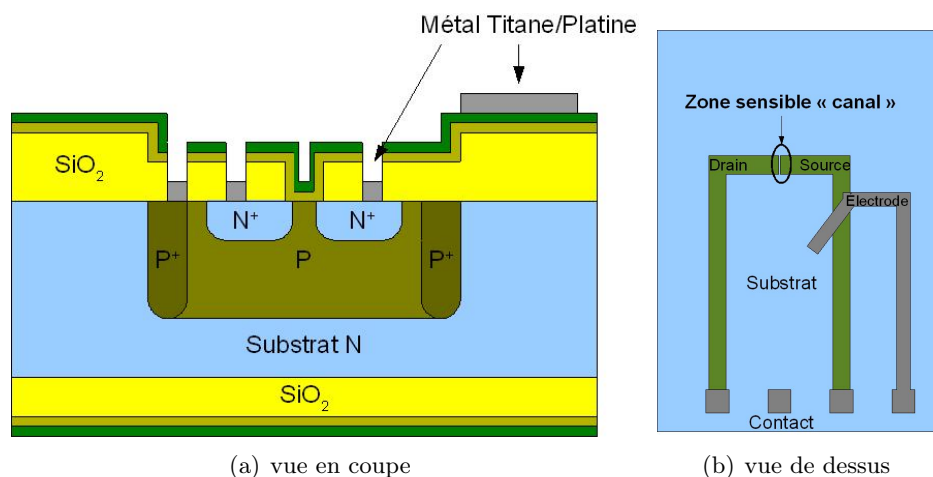


Figure 2.54: Dépôt de la couche de titane platine sur les prises de contacts et sur l'électrode

nous apercevons les quatre prises de contact en bas, avec respectivement en partant de la gauche le contact du drain, du substrat, de la source et de l'électrode, puis à l'extrémité à droite, l'électrode de polarisation, et au milieu de la figure, la zone sensible du capteur, et bien entendu le reste de la surface est recouvert d'une couche épaisse de passivation Si_3N_4 . Ces figures montrent bien que le titane et le platine sont déposés seulement dans les ouvertures contact et sur l'électrode que nous avons fait courir le long du composant.

➤ ETAPE 18 : METALLISATION OR (800nm)

Dans cette étape, nous déposons de l'or sur les prises de contact. Donc, après une étape de photolithographie " lift-off ", nous déposons l'or par évaporation et le résultat obtenu est schématisé sur la figure 2.55.

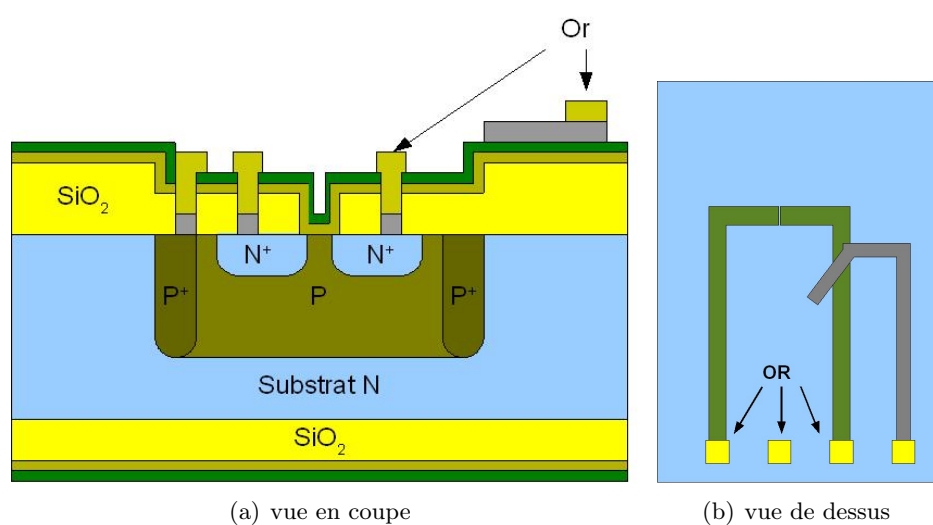
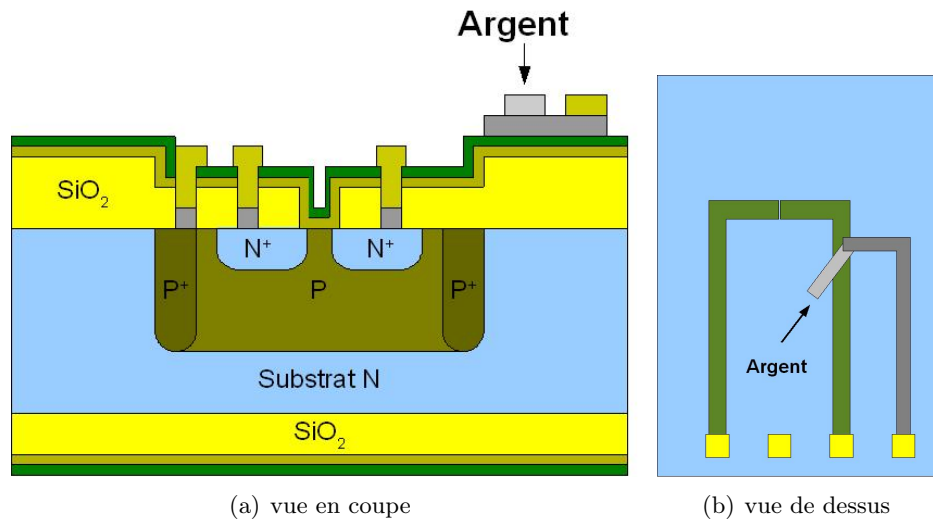
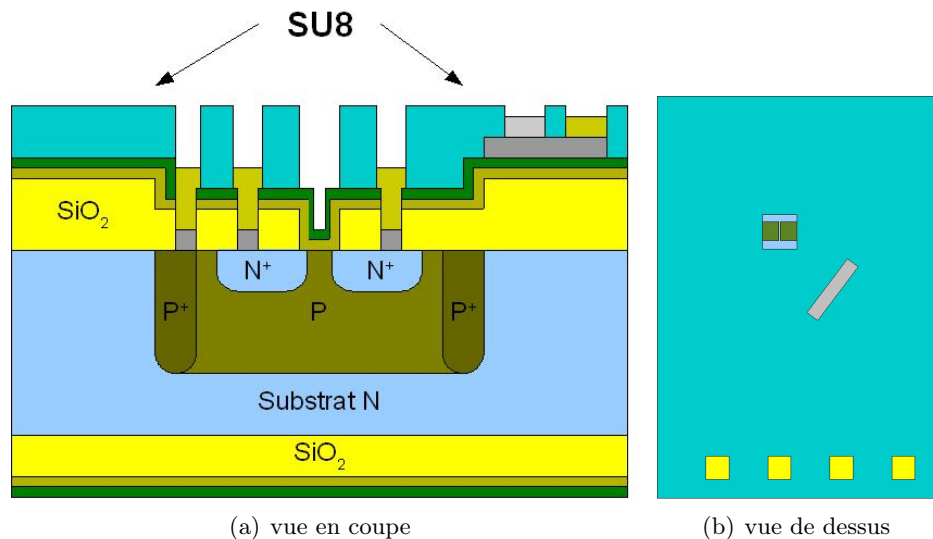


Figure 2.55: Dépôt d'or sur les prises de contacts

➤ ETAPE 19 : METALLISATION ARGENT (400nm)

**Figure 2.56:** Dépôt d'argent sur l'électrode

Durant cette étape nous déposons de l'argent sur le bout de l'électrode (figure 2.56), seule cette partie sera en contact avec le milieu aqueux. Le dépôt sera aussi réalisé par les techniques du lift-off.

➤ ETAPE 20 : PASSIVATION SU8 du composant (10 μm)**Figure 2.57:** Dépôt de la couche de passivation SU8

Cette dernière étape avant la découpe du substrat a pour but d'éviter tout contact entre la platine et le milieu, pour ce faire nous allons recouvrir tout le composant d'une résine épaisse, la SU8. Cette résine possède d'autres intérêts tel que l'isolation électrique, une passivation vis à vis de la solution (imperméabilisation) et peut aussi permettre une intégration minifluidique. Pour le fonctionnement, nous laisserons bien évidemment des ouvertures, une au niveau de la

zone sensible, une seconde dans la partie argentée de l'électrode, et des fenêtres au niveau des quatre prises de contact.

La figure 2.57 montre la couche de passivation déposée sur toute la surface avec des ouvertures pour les prises de contact, le canal et la partie argentée de l'électrode. Après cette étape nous passons à la découpe du substrat, et au montage sur bâtonnet.

2.3.2 Résultats de caractérisation des composants avec électrodes argent pur

Avant de chlorer les électrodes argent pour obtenir une couche en surface d'AgCl, nous avons réalisé des mesures avec une électrode d'argent non chlorée. L'argent est bien connu pour s'oxyder rapidement. La réponse du capteur a été correcte dans un premier temps, puis l'argent s'est oxydé et le capteur devient incapable de répondre correctement. la figure 2.59 montre l'électrode argent oxydée.

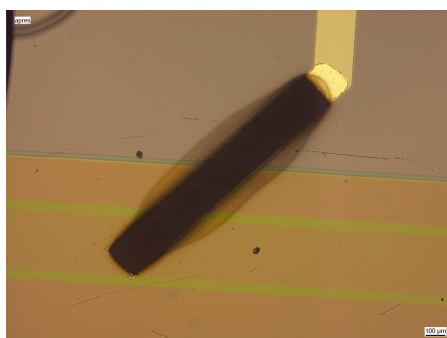


Figure 2.58: Oxydation de l'électrode d'argent intégrée

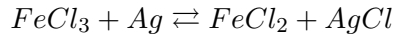
Comme nous pouvons le constater sur la figure 2.59, l'argent est devenu complètement noir, due à son oxydation en Ag_2O . Ainsi nous pouvons affirmer qu'il est impossible d'utiliser une telle électrode, et qu'il faut aller nécessairement vers la technologie Ag/AgCl.

2.3.3 Chloration des électrodes argent

Après avoir réalisé les microélectrodes en argent, il nous faut les chlorer pour obtenir des électrodes Ag/AgCl intégrées. Après une recherche bibliographique, nous avons relevé deux méthodes de chloration qui nous semblent efficaces et facilement réalisables. Une des méthodes est chimique, il suffit de tremper l'argent dans une solution de $FeCl_3$ et l'autre méthode consiste à chlorer l'argent par une méthode électrochimique dans une solution de KCl [Polk 06].

2.3.3.1 Chloration chimique au $FeCl_3$

Cette méthode est celle qui nous paraît la plus simple, le principe est de tremper le dépôt d'argent dans une solution à base de $FeCl_3$ sur l'argent. La réaction électrochimique entre les couples oxydo-réducteurs Fe_3^+/Fe_2^+ et Ag^+/Ag est spontanée et s'écrit sous la forme :



Afin de réaliser la couche, il faut que la surface de l'argent soit nettoyée de toutes impuretés, de plus l'argent s'oxydant rapidement au contact de l'air, il est nécessaire de passer par une étape de désoxydation. Pour le nettoyage et la désoxydation, nous ferons un cycle de voltammétrie de l'argent dans une solution d'acide sulfurique (0,1 M). Nous ferons 5 cycles, avec une variation de tension appliquée entre l'électrode de référence (au calomel saturé) et l'électrode de travail (argent) allant de 0,3 à 1,2V, et le courant circulant de l'électrode de travail à une électrode de platine connectée à la masse sera relevé, permettant de vérifier le bon déroulement du nettoyage (pic d'oxydation et de réduction).

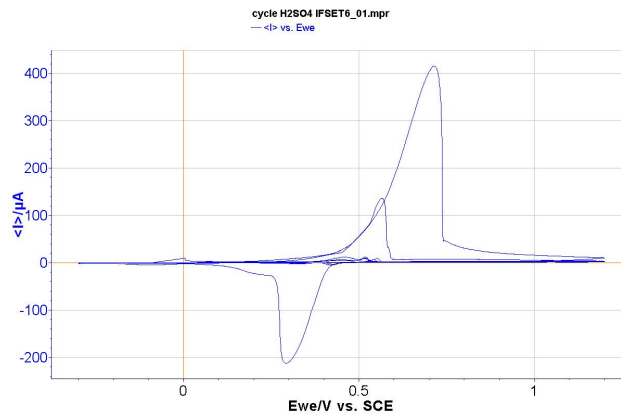
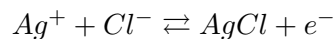


Figure 2.59: Voltammogramme du cycle de nettoyage de l'argent

Puis une goutte de $FeCl_3$ (0,1M) est déposée sur la partie argentée de l'électrode durant cinq minutes, ainsi une couche d'AgCl se forme à la surface et nous obtenons une électrode Ag/AgCl.

2.3.3.2 Chloration électrochimique au KCl

Dans la solution de KCl, il est nécessaire d'appliquer un potentiel positif (par rapport à la référence au calomel) afin d'oxyder l'argent. En milieu chlorure, cette oxydation entraîne la production de chlorure d'argent selon l'équation :



De la même manière qu'avec le $FeCl_3$, l'argent doit être propre avant d'être chloré, donc nous ferons cycloiser l'argent dans une solution d'acide sulfurique (0,1 M) comme décrit en § 2.3.3.1. Après la phase de nettoyage, nous ferons une chloration par voie électrochimique, l'argent est plongé dans une solution de KCl (0,1M), et nous appliquerons une tension variable entre l'électrode de référence et l'électrode d'argent allant de 0 à 300 mV, ainsi une couche d'AgCl se forme sur la surface de l'argent. Le figure 2.60 montre le voltammogramme obtenu lors de la chloration où l'on constate le pic d'oxydation.

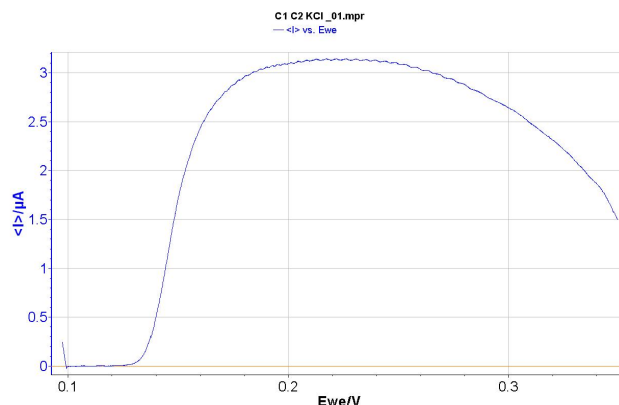


Figure 2.60: Voltammogramme de la chloration de l'argent

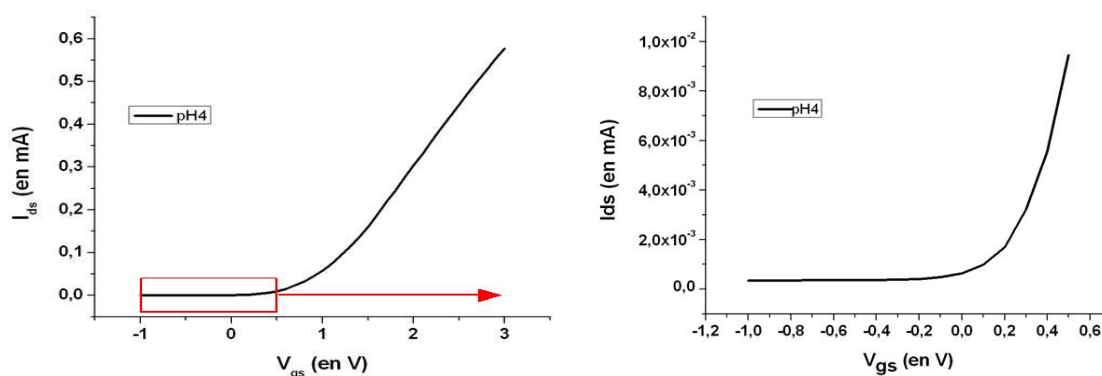
2.3.4 Etude des pH-ISFETs avec électrode Ag/AgCl intégrée et déposée par " lift-off ".

Nous allons dans ce qui suit, utiliser nos capteurs ayant une électrode Ag/AgCl intégrée. Nous allons réaliser les mêmes tests (sensibilité, tension de seuil, courant de fuite, dérive), ainsi en fonction des résultats nous pourrons comparer les résultats obtenus en fonction de la technique de chloration des électrodes.

2.3.4.1 Electrode d'argent chlorée par la solution $FeCl_3$

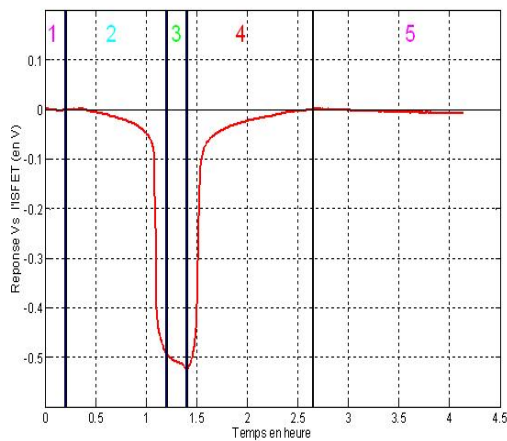
Tension de seuil et courant de fuite

La figure 2.61 donne les résultats de la caractérisation $I(V)$. Les mesures donnent un courant de fuite d'environ $0,3 \mu A$, ce qui est inférieur à la limite fixée par le cahier des charges ($1 \mu A$) d'une part, et d'autre part, montre le fonctionnement du transistor FET avec une tension de seuil de l'ordre de $0,7 V$. Ces paramètres sont conformes à nos attentes.

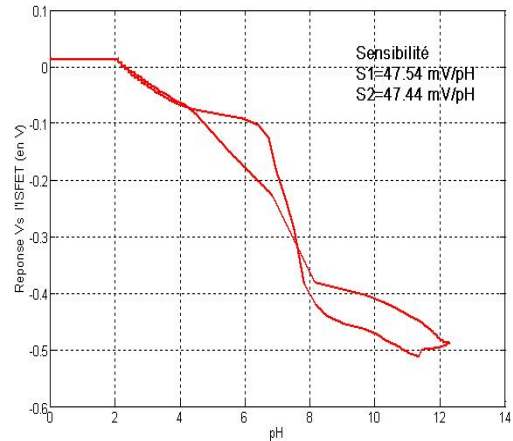


(a) $I_{ds} = f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement (b) $I_{ds} = f(V_{ds})$ dans la gamme de fonctionnement $[-1 : 0,5 V]$

Figure 2.61: Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée, procédé argent déposé par technique de lift-off



(a) évolution de la tension Vs lors de la manipulation



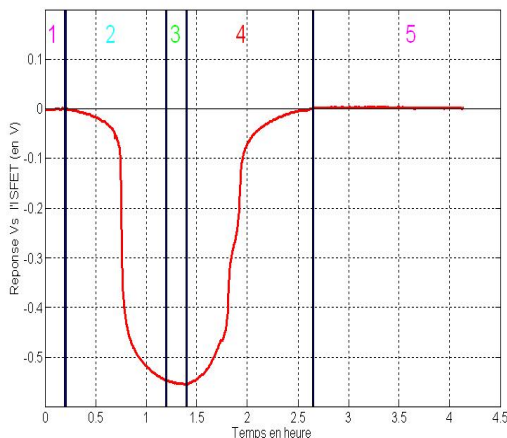
(b) Tension Vs en fonction du pH du milieu

Figure 2.62: Sensibilité de l'ISFET issu du procédé argent "lift-off" chloré par le $FeCl_3$, avec le milieu polarisé par l'électrode intégrée Ag/AgCl

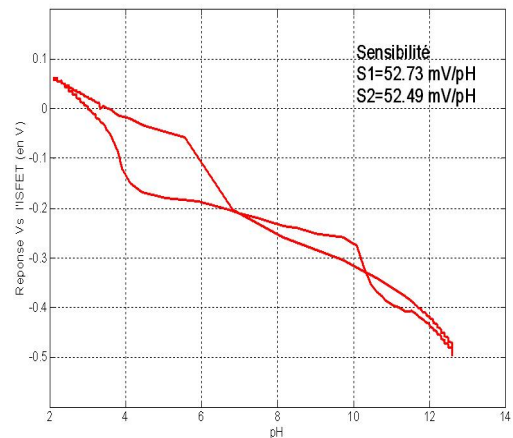
Sensibilité

Les figures 2.62 montrent des résultats bien meilleurs qu'avec les électrodes en or intégrées, la courbe suit bien l'évolution du pH, la sensibilité est linéaire et il n'y pas d'instabilité au cours de la mesure. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus avec l'électrode commerciale ou le fil d'Ag/AgCl. La sensibilité de l'ordre de 50mV/pH . Ces résultats sont exactement ceux auxquels nous voulions arriver quand nous avons entrepris de réaliser cette étude.

2.3.4.2 Electrode d'argent chlorée par électrodéposition dans un bain de KCl



(a) Evolution de la tension Vs lors de la manipulation



(b) Tension Vs en fonction du pH du milieu

Figure 2.63: Sensibilité du pH-ISFET issu du procédé argent "lift-off" chloré par électrodéposition, avec le milieu polarisé par l'électrode intégrée Ag/AgCl

Les caractérisations $I(V)$ donnent les mêmes résultats que précédemment, faible courant de

fuite et tension de seuil de $0,7V$, ce qui est attendu, puisque ces composants sont issus du même procédé, seul la méthode de chloration change. La figure 2.63 présente les mesures de sensibilité.

2.3.4.3 Etude de la dérive

Les résultats sont similaires à ceux obtenus avec les composants ayant l'électrode d'argent chlorée chimiquement. Il faut à présent voir sur la durée si l'une ou l'autre des méthodes de chloration donne de meilleurs résultats d'où cette étude de dérive. De la même façon que pour les électrodes filaires, les composants sont placés dans une solution tamponnée à pH 7 et nous avons réalisé des mesures en continu durant une dizaine de jours puis une mesure "discrète" sur la même période.

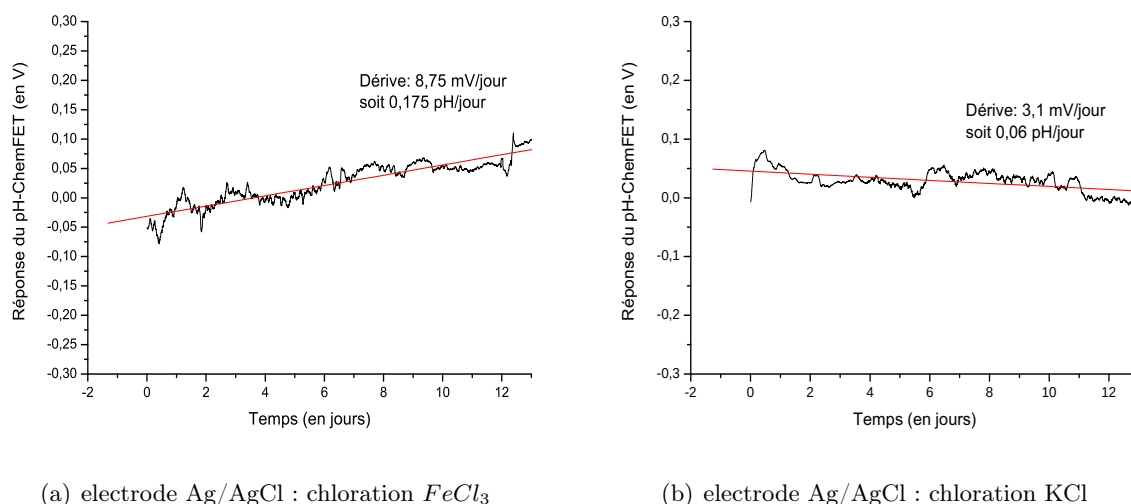
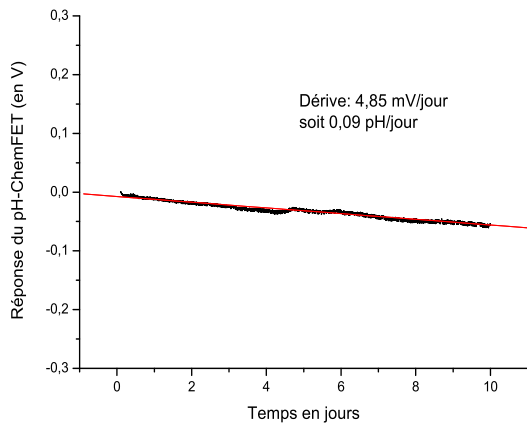
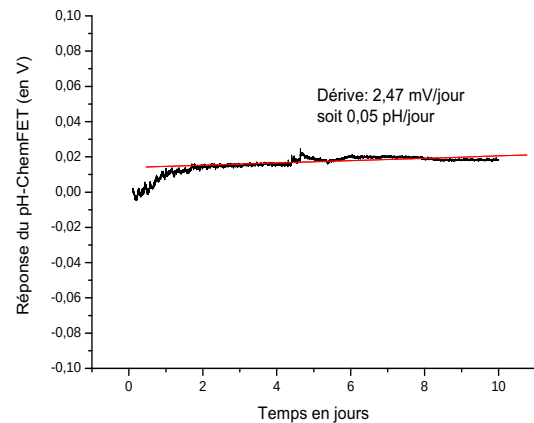


Figure 2.64: Dérive du pH-ISFET polarisé en continu par une microélectrodes Ag/AgCl issus des deux procédés

La figure 2.64 montre une faible dérive pour les microélectrodes réalisées en utilisant les deux procédés de chloration. Les résultats sont légèrement meilleurs avec une chloration électrochimique KCl, qui donne un résultat proche de celui de l'électrode filaire Ag/AgCl (§2.2.3.4). Ces mesures montrent aussi une grande durée de vie de ces électrodes, car après ces mesures de dérive, les composants sont toujours opérationnels.

La figure 2.65 présente les résultats de mesures de dérive en polarisation discrète (toutes les cinq minutes : application de la polarisation durant 100 ms pour la mesure). Les résultats entre les différents modes de chloration sont aussi similaires et meilleurs que les mesures en polarisation continue. Ainsi, les deux procédés de chloration peuvent être utilisés. Ils apportent des mesures stables avec une dérive faible ce qui montre la grande qualité de la couche d'AgCl sur l'argent.

Enfin, pour conclure sur cette étude, le but était de déterminer le procédé de chloration apportant les meilleurs résultats tant en sensibilité qu'en dérive. Les résultats montrent une grande similarité des résultats bien que le procédé KCl a été légèrement plus satisfaisant en termes de sensibilité et de dérive. Cependant, par rapport au procédé $FeCl_3$ est moins bien adapté à

(a) électrode Ag/AgCl : chloration $FeCl_3$ 

(b) électrode Ag/AgCl : chloration KCl

Figure 2.65: Dérive du pH-ISFET polarisé en discret par une microélectrodes Ag/AgCl issus des deux procédés

la fabrication collective puisqu'il nécessite la mise en œuvre d'une polarisation électrochimique (§2.3.3). Ainsi, en vue de réaliser des composants à faible coût, le procédé $FeCl_3$ est pour notre application celui vers lequel il faut se tourner.

2.3.4.4 Conclusion

L'utilisation de fil d'Ag/AgCl pour polariser le milieu a donné d'excellents résultats, d'où la volonté de réaliser des microélectrodes intégrés en Ag/AgCl et à avoir des résultats similaires. Un procédé fonctionnel a été mis en place pour réaliser ces électrodes par les techniques de la microélectronique. Les caractérisations de ces composants ont donné des sensibilités de 55 mv/pH en moyenne, des courants de fuite inférieurs à 0,4 μA , une tension de seuil de 0,7 V et une dérive inférieure à 0,1 pH/jour. Ces excellents résultats montrent que l'objectif et les attentes ont été atteints, et que la microélectrode Ag/AgCl ayant été chlorée par $FeCl_3$ est la plus adaptée.

2.4 Conclusion du chapitre

En vue d'optimisation du procédé technologique en particulier sur la partie métallisation, nous avons entrepris cette étude ayant pour but d'obtenir des composants fonctionnels et respectant le cahier des charges, et aussi permettant de lever le voile sur certaines interrogations. L'étude a débuté par la comparaison de différents matériaux pour polariser un milieu d'analyse, ce qui a montré déjà que l'or n'est pas le matériau le plus adapté et surtout que les électrodes Ag/AgCl donnent des résultats très satisfaisants. Dans cette étude d'optimisation, nous avons aussi fait la lumière sur la technique de dépôt et avons montré le défaut de la technique "standard", le dépôt pleine plaque, lié aux courants de fuite induit. Puis nous avons présenté le nettoyage permettant de réduire ce courant de fuite qui a été mis en place dans un premier

temps, puis la technique du "lift-off", ses avantages et ses intérêts. Cette technique est celle vers laquelle il faut se tourner dans le but est d'avoir le meilleur rapport I_{on}/I_{off} .

Dans la dernière partie de cette étude, nous avons comparé l'utilisation de différentes électrodes intégrées. Les électrodes en or, quelle que soit la technique de dépôt, ont montré que l'or n'est pas un matériau de référence et qu'il induit d'important artéfacts de mesure. De plus, nous avons constaté, que plus l'or est pur et moins les résultats sont bons, ce qui nous met en accord avec la théorie. Connaissant les qualités de l'électrode Ag/AgCl et avec les conclusions obtenues lors de l'étude sur les électrodes filaires présentées dans ce chapitre, nous avons entrepris de pouvoir l'intégrer à la puce pH-ISFET. Nous avons défini un procédé de dépôt et de chloration de l'argent ce qui nous a amené à un composant ISFET avec une électrode Ag/AgCl intégrée. Les résultats donnés par ce nouveau composant (faible dérive et une sensibilité quasi-nernstienne) ont été très satisfaisants et nous pouvons dire que nous avons atteint notre objectif de départ, à savoir réaliser un pH-ChemFET fiable, stable, surtout réalisable avec les techniques de la microélectronique, et donc à faible coût.

Références bibliographiques

- [Assie-Souleille 04] S. Assie-Souleille, B. Franc, X. Dollat, I. Humenyuk, B. Torbiero & P. Temple-Boyer. *Notice d'utilisation du système fluidique*. 2004.
- [Bergveld 70] P. Bergveld. *Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements*. IEEE Trans. Biomed. Eng., vol. BME-17, no. 12, pages 70–71, 1970.
- [Birch 00] JR Birch & TD Burleigh. *Oxides formed on titanium by polishing, etching, anodizing, or thermal oxidizing*. Corrosion, vol. 56, no. 12, 2000.
- [Brozek 96] T. Brozek, Y. David Chan & C.R. Viswanathani. *Threshold voltage degradation in plasma-damaged CMOS transistors—Role of electron and hole traps related to charging damage*. Microelectronics Reliability, vol. 36, no. 11-12, pages 1627–1630, 1996.
- [Chu 02] PK Chu, JY Chen, LP Wang & N. Huang. *Plasma-surface modification of biomaterials*. Materials Science & Engineering R, vol. 36, no. 5-6, pages 143–206, 2002.
- [Franssila 04] S. Franssila. *Introduction to microfabrication*. Wiley, 2004.
- [Hartney 89] MA Hartney, DW Hess & DS Soane. *Oxygen plasma etching for resist stripping and multilayer lithography*. Journal of Vacuum Science & Technology B : Microelectronics and Nanometer Structures, vol. 7, page 1, 1989.
- [Hashimoto 94] K. Hashimoto. *Charge damage caused by electron shading effect*. Jpn. J. Appl. Phys. Vol, vol. 33, no. 10 Pt 1, pages 6013–6018, 1994.
- [Humenyuk 05] I. Humenyuk. *Développement des microcapteurs chimiques CHEMFETs pour l'analyse de l'eau*. Thèse de doctorat, INSA de TOULOUSE, 2005.

- [Janz 53] G.J. Janz & H. Taniguchi. *The Silver-Silver Halide Electrodes. Preparation, Stability, and Standard Potentials in Aqueous and non-Aqueous Media*. Chemical Reviews, vol. 53, no. 3, pages 397–437, 1953.
- [Kern 90] W. Kern. *The evolution of silicon wafer cleaning technology*. J. Electrochem. Soc, vol. 137, no. 6, pages 1887–1892, 1990.
- [Kremer 82] L.N. Kremer & M.A. Boehmer. *Titanium etching solution*, 1982. US Patent 4,314,876.
- [Madou 02] M.J. Madou. *Fundamentals of microfabrication : the science of miniaturization*. CRC, 2002.
- [McAdams 06] ET McAdams, J. Jossinet, R. Subramanian & RG McCauley. *Characterization of gold electrodes in phosphate buffered saline solution by impedance and noise measurements for biological applications*. volume 1, page 4594, 2006.
- [Polk 06] B.J. Polk, A. Stelzenmuller, G. Mijares, W. MacCrehan & M. Gaitan. *Ag/AgCl microelectrodes with improved stability for microfluidics*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 114, no. 1, pages 239–247, 2006.
- [Salah 96] A. Salah, OO Awadelkarim, F. Preuninger & YD Chan. *Observation of a new type of plasma etching damage : Damage to N-channel transistors arising from inductive metal loops*. Applied Physics Letters, vol. 68, page 1690, 1996.
- [Sandwick 90] T. Sandwick & K. Rajan. *The oxidation of titanium silicide*. Journal of Electronic Materials, vol. 19, no. 11, pages 1193–1199, 1990.
- [Sant 04] W. Sant. *Développement des microcapteurs chimiques CHEMFETs pour des applications à l'hémodialyse*. Thèse de doctorat, UPS de Toulouse, 2004.
- [sim 00] *Athena User's Manual*. Silvaco International, 2000.
- [sim 05] *Atlas User's Manual*. Silvaco International, 2005.
- [Sun 06] X. Sun & M. Wang. *Fabrication and characterization of planar reference electrode for on-chip electroanalysis*. Electrochimica Acta, vol. 52, no. 2, pages 427–433, 2006.

- [Sze 08] SM Sze & K.K. Ng. Physics of semiconductor devices. Wiley India Pvt. Ltd., 2008.
- [Viswanathan 99] CR Viswanathan. *Plasma-induced damage*. Microelectronic engineering, vol. 49, no. 1-2, pages 65–81, 1999.
- [Williams 96] K.R. Williams & R.S. Muller. *Etch rates for micromachining processing*. Journal of Microelectromechanical Systems, vol. 5, no. 4, pages 256–269, 1996.

3

Modélisation réalisation et caractérisation de ChemFET pour la détection enzymatique

L'invention du premier détecteur chimique sur silicium par P.BERGVELD en 1970, l'ISFET, a donné naissance à une famille de capteurs : les ChemFETs [Bergveld 70]. Le terme ChemFET englobe aujourd'hui les capteurs chimiques, biochimiques ou biologiques dont le principe de fonctionnement est basé sur l'ISFET. Dans cette famille nous avons en premier lieu le pH-ISFET, qui grâce à l'utilisation d'un matériau sensible à la concentration ionique (H^+) comme le Si_3N_4 (Al_2O_3 , ou encore le Ta_2O_5) a permis la mesure du pH [Bergveld 03]. Ensuite, la possibilité de rendre les ISFETs chimiquement sélectifs, grâce à une modification de la grille sensible en y déposant notamment des membranes à base d'ionophores, a contribué à étoffer cette famille de composants [Van den Berg 88]. De nombreux ChemFETs ont ainsi vu le jour, permettant par exemple la détermination de la concentration en ions potassium, en ions calcium [Jaffrezic-Renault 91] ou encore en ions sodium ou ammonium [Oesch 81], etc, ... L'ISFET n'est pas seulement la structure de base de capteur chimique, il est aussi à l'origine de capteurs biochimiques et biologiques tels que les capteurs enzymatiques EnFETs et les BioFETs [Janata 94]. Dans les BioFETs, nous retrouvons les capteurs immunologiques ImmunoFETs, les capteur génétiques : DNA-FETs ou GenFETs, les détecteurs de métabolisme cellulaire et la mesure de potentiel extra cellulaire : les Cell-based BioFETs, et même des capteurs utilisant une antenne d'insectes vivants, les "Beetle/chip"-FET, servant à mesurer leur sensibilité à des odeurs par exemple.

Au LAAS, le groupe de microcapteurs chimiques en phase liquide en partenariat avec une société HEMODIA/CAPTOMED a développé dans le cadre du projet MICROMEDIA des capteurs destinés à l'hémodialyse rénale. Des EnFETs permettant de détecter l'urée et la

créatinine ont été réalisés à cet effet [Sant 03] [Soldatkin 02].

Afin de comprendre les phénomènes mis en jeu, de prévoir ou d'optimiser le fonctionnement, ou encore d'adapter des composants à leur milieu de fonctionnement, il est important de mettre en place des modèles. Ces modèles doivent prendre en compte le composant et son environnement pour être le plus fidèle possible à la réalité. Il existe des modèles pour les composants FETs, ainsi que pour les ChemFETs. Cependant la complexité du milieu d'analyse, fait qu'il n'existe pas de modèle complet établi pour les EnFETs. D'où la nécessité de développer un modèle générique pour la simulation de fonctionnement des EnFETs (Enzymatic Field Effect Transistor). De plus ce modèle doit pouvoir être adapté spécifiquement à l'hémodialyse rénale, dans le cadre du projet CAPTOMED.

Dans une première partie, ce chapitre présente le modèle des capteurs urée-EnFETs et créatinine-EnFETs dans leur environnement, ce qui va permettre de définir les paramètres influents et les adapter à nos mesures pour avoir des capteurs aussi efficaces que possible. Puis dans une deuxième partie, nous étudierons les microcapteurs réalisés au LAAS-CNRS et par la société HEMODIA, puis par les caractérisations nous montrerons la justesse de notre modèle présenté en vue de validation.

3.1 Modélisation des microcapteurs EnFETs, application à la détection de la créatinine et de l'urée

Dans cette première partie, nous allons d'abord établir les équations générales des capteurs enzymatiques à effet de champ (EnFETs), puis nous nous intéresserons aux réactions enzymatiques pour l'urée-EnFET et le créatinine-EnFET pour arriver à créer pour chacun des deux détecteurs un modèle de simulation. Une fois les modèles établis, nous étudierons le système de détection et nous verrons les influences de chacune des grandeurs en simulation, dans le but de montrer que celles-ci doivent être contrôlées ou non pour une détection dans la gamme de l'hémodialyse.

3.1.1 Etude théorique

La technologie EnFET basée sur la mesure de pH est plus particulièrement adaptée à la famille enzymatique des hydrolases. Ce type d'enzyme est en effet responsable de l'hydrolyse de la fonction amine NH_2 et ainsi de la production d'ammoniaque NH_4OH en phase aqueuse. Le fonctionnement de l'hydrolase-EnFET est figuré figure 3.1, où nous voyons les phénomènes à la surface du capteur. La première étape est la consommation du substrat par la réaction enzymatique pour produire des molécules NH_3 . En présence d'eau, ces molécules vont se transformer en ions ammonium NH_4^+ afin d'équilibrer les réactions acido-basiques du couple NH_4^+/NH_3 . Le phénomène est connu pour être responsable d'une augmentation de pH. Ainsi nous avons un aperçu des phénomènes physico-chimiques agissant au sein d'une structure enzymatique qui vont être explicités pour le créatinine-EnFET et l'urée-EnFET.

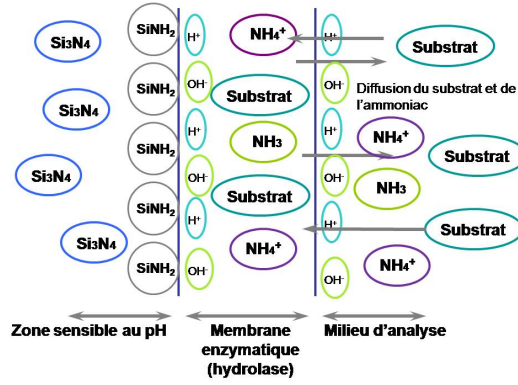


Figure 3.1: Principe de fonctionnement de l'EnFET

3.1.1.1 Détection d'un substrat à partir d'une enzyme

Les enzymes sont des protéines capables de catalyser des réactions chimiques (biocatalyseurs) de manière spécifique [Monsan 09]. La particularité d'une enzyme est de posséder un site actif. Ce site actif est une petite zone privilégiée de la protéine enzymatique dont la géométrie a une importance considérable sur la spécificité. Il a deux fonctions principales liées à la fixation du substrat et à sa transformation.

Pour exprimer l'activité des enzymes, E.L. Michaelis, M. Menten et V. Henri [Michaelis 13], ont proposé un schéma réactionnel selon lequel un substrat S est transformé en un produit P en passant par l'intermédiaire d'une phase transitoire de création d'un complexe Enzyme-Substrat spécifique (figure 3.2).

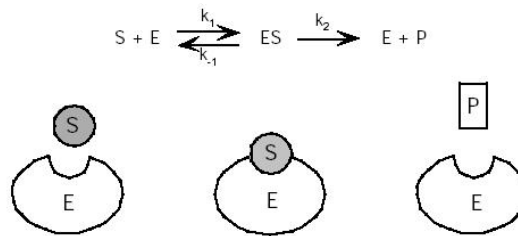


Figure 3.2: Catalyse d'une réaction chimique par une enzyme

La cinétique de la réaction est donnée par l'équation de Michaelis-Menten (figure 3.3) :

$$v = v_{max} * \frac{[S]}{[S] + K_M} \quad (3.1)$$

où v est la vitesse de la réaction chimique et v_{max} est sa valeur maximale, $[S]$ est la concentration du substrat en solution et K_M est la constante de Michaelis :

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_{-2}}{k_1} \quad (3.2)$$

En fait, v_{max} est appelé activité enzymatique. Une unité d'activité enzymatique est la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation de $1 \mu\text{mol}$ de substrat par minute, soit $a_M = 16,67 \cdot 10^{-9} \text{ mol/s}$.

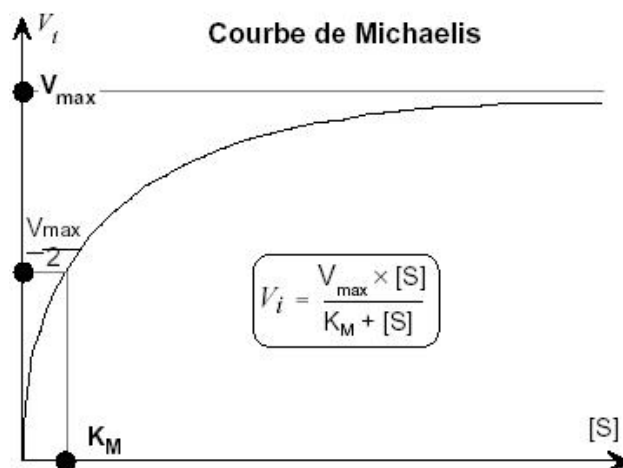


Figure 3.3: Courbe de Michaelis Menten

Les enzymes sont piégées dans une couche d'alcool polyvinylique (PVA) qui sert de matrice d'immobilisation [Pourciel 03]. Le terme de production/consommation des espèces (bio)chimiques g exprimé en moles par unité de volume et unité de temps dépend donc du nombre d'unités d'activité enzymatique par unité de volume N_{enz} contenu dans la couche PVA du capteur. Il s'écrit :

$$g = a_M * N_{enz} * \frac{[S]}{[S] + K_M} \quad (3.3)$$

3.1.1.2 Détermination de l'équation de diffusion des espèces (bio)chimiques

Les phénomènes de diffusion ont été étudiés selon un modèle unidimensionnel. Dans ce cadre, trois zones ont été distinguées [Temple-Boyer 06](figure 3.4) :

- la première zone, constituée de la couche solide en nitrure de silicium Si_3N_4 , est considérée comme une barrière à la diffusion des espèces en solution
- la seconde zone, constituée de la couche enzymatique en PVA, est caractérisée par un terme de production/consommation des espèces (bio)chimiques g non nul.
- La troisième zone, constituée par l'électrolyte (l'eau), est caractérisée par un terme de production/consommation des espèces (bio)chimiques g nul.

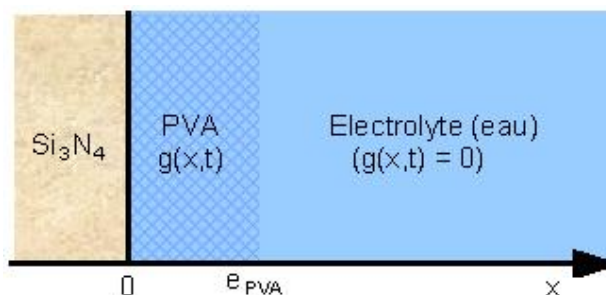


Figure 3.4: Description de la structure Si_3N_4 /PVA/électrolyte

On considère un volume élémentaire $V=S \cdot dx$ d'une canalisation, Soit le nombre $n(t)$ de molécules dans ce volume élémentaire , on a ainsi :

$$n(t + dt) = n(t) + F(x) \cdot S \cdot dt - F(x + dx) \cdot S \cdot dt \quad (3.4)$$

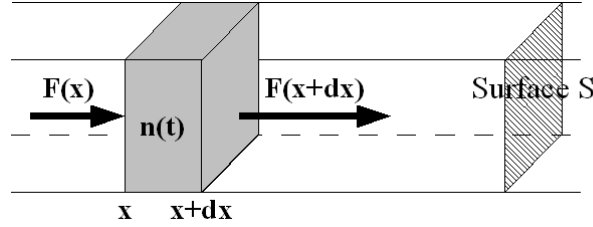


Figure 3.5: Schéma de la canalisation considérée

L'équation 3.4 est une traduction de la conservation de la matière, avec :

- $n(t+dt)$: quantité de molécules comprises dans le volume V au temps $t+dt$
- $n(t)$: quantité de molécules comprises dans le volume V au temps t
- $F(x)$: Flux de diffusion à la distance x
- $F(x+dx)$: Flux de diffusion à la distance $x+dx$

ainsi :

$$n(t + dt) - n(t) = S \cdot dt (F(x) - F(x + dx)) \quad (3.5)$$

par application des accroissement finis on obtient :

$$dn(x, t) = S \cdot dt (-dF(x, t)) \quad (3.6)$$

et

$$dn(x, t) = S \cdot dx \cdot dt \left(-\frac{\delta F(x, t)}{\delta x} \right) \quad (3.7)$$

$$dn(x, t) = V \cdot dt \left(-\frac{\delta F(x, t)}{\delta x} \right) \quad (3.8)$$

$$\frac{dn(x, t)}{V} = dt \left(-\frac{\delta F(x, t)}{\delta x} \right) \quad (3.9)$$

$$\frac{\delta C(x, t)}{\delta t} = -\frac{\delta F(x, t)}{\delta x} \quad (3.10)$$

car :

$$C(x, t) = \frac{n(x, t)}{V} \quad (3.11)$$

où $C(x, t)$ est la concentration de l'espèce (bio)chimique étudiée.

Les mécanismes de diffusion ont alors été étudiés en appliquant la loi de Fick dans le milieu d'analyse (zones 2 et 3) et en tenant compte des conditions aux limites dues à la zone 1 :

$$F(x) = -D \cdot \overrightarrow{\text{grad}} C(x, t) = -D * \frac{\delta C(x, t)}{\delta x} \quad (3.12)$$

où D est le coefficient de diffusion de l'espèce (bio)chimique étudiée.

ainsi :

$$\boxed{\frac{\delta C(x, t)}{\delta t} = D \frac{\delta^2 C(x, t)}{\delta x^2}} \quad (3.13)$$

l'équation 3.13 n'est vrai que dans l'électrolyte. Dans le PVA, les réactions enzymatiques génèrent de nouvelles espèces. L'équation dans la zone du PVA est :

$$\frac{\delta C(x, t)}{\delta t} = D * \frac{\delta^2 C(x, t)}{\delta x^2} + \varepsilon g(x, t) \quad (3.14)$$

$g(x, t)$ représente le terme de consommation ($\varepsilon = -1$) ou de production ($\varepsilon = +1$) relatif à l'équation enzymatique étudiée (équation 3.3).

Les coefficients de diffusion en solution aqueuse D des différentes espèces (bio)chimiques ont été estimés à partir de la bibliographie [Frank 96] [Sorell 82] et ont été calculés à partir de la relation d'Einstein :

$$D = \frac{1}{6\pi\eta} \left(\frac{4\pi\rho N_A}{\sqrt[3]{3M}} kT \right) = A * \frac{kT}{\sqrt[3]{M}} \quad (3.15)$$

où A est un paramètre ne dépendant que des propriétés fluidiques de l'électrolyte et M est la masse molaire de la molécule étudiée.

3.1.1.3 Détermination de l'équation de diffusion des espèces (bio)chimiques modifiés prenant en compte le flux

L'équation obtenue (§3.1.1.2) n'est pas complète, en effet le capteur doit être intégré au système de dialyse qui fonctionne à flux constant. Il est donc nécessaire pour avoir un modèle proche de la réalité de prendre en compte ce flux.

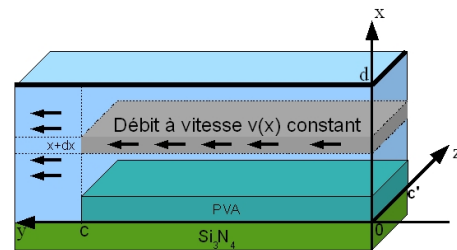
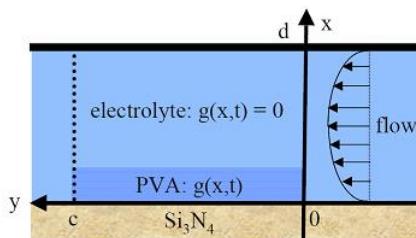


Figure 3.6: Description du système fluide de l'EnFET

Figure 3.7: Description du modèle pseudo-bidimensionnel

Ainsi le fluide est maintenant en mouvement, ce qui va induire des modifications dans

l'équation de diffusion que nous allons décrire. Nous avons pris un modèle à deux dimensions pour cette étude (figure 3.7). Le fluide se déplace à une vitesse V qui n'est pas uniforme sur toute la section comme nous pouvons le voir sur la figure 3.6. En effet cette vitesse sera fonction de la position sur l'axe des x car le fluide se déplace de façon parabolique et la vitesse est nulle au contact des parois et maximale au centre du canal.

l'expression de cette vitesse est donnée par la relation 3.16 :

$$V(x) = \frac{32D}{\pi d^4} \pi(d-x) \quad (3.16)$$

avec :

- D : débit du dialysat
- d : diamètre de la canalisation
- x : position dans le canal

Ainsi l'équation de Fick devient :

$$\begin{aligned} n(x, t + dt) &= n(x, t) + C_0 v(x) dt dx c' - C(x, t) v(x) dt dx c' \\ C(x, t + dt) &= \frac{n(x, t + dt)}{dx * c * c'} = C(x, t) + \frac{C_0 v(x)}{c} dt - \frac{C(x, t) v(x)}{c} dt \\ \frac{\delta C(x, t)}{dt} &= \frac{v(x)}{c} (C_0 - C(x, t)) \end{aligned}$$

$$\frac{\delta C(x, t)}{dt} = \frac{v(x)}{c} (C_0 - C(x, t))$$

(3.17)

Au final l'équation de Fick deviendra :

$$\frac{\delta C(x, t)}{\delta t} = D * \frac{\delta^2 C(x, t)}{\delta x^2} + \varepsilon g(x, t) + \frac{v(x)}{c} (C_0 - C(x, t))$$

(3.18)

Pour le substrat S et le produit P, on a :

$$\frac{\delta S(x, t)}{\delta t} = D * \frac{\delta^2 S(x, t)}{\delta x^2} - g(x, t) + \frac{v(x)}{c} (S_0 - S(x, t)) \quad (3.19)$$

$$\frac{\delta P(x, t)}{\delta t} = D * \frac{\delta^2 P(x, t)}{\delta x^2} + g(x, t) + \frac{v(x)}{c} (P_0 - P(x, t)) \quad (3.20)$$

La résolution de l'équation de Fick a finalement été effectuée en utilisant une méthode implicite de simulation développée sous le logiciel Matlab™. Nous devons pour cela la mettre sous forme matricielle.

$$C(i, j) = -KC(i+1, j+1) + (1+2K)C(i, j+1) - KC(i-1, j+1) - G_i \Delta t - \frac{v_i}{c} (C_0 - C(i, j+1) \Delta t)$$

$$C(i, j) = -KC(i+1, j+1) + (1+2K + \frac{v_i \Delta t}{c})C(i, j+1) - KC(i-1, j+1) - (G_i + \frac{v_i C_0}{c}) \Delta t$$

La matrice devient alors

$$\begin{pmatrix} \vdots \\ \vdots \\ \vdots \\ C_{i,j} \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} (1+K) + \frac{v_1 \Delta t}{c} & -K & 0 & \dots & \dots & \dots & 0 \\ -K & (1+2K) + \frac{v_2 \Delta t}{c} & -K & 0 & \dots & \dots & 0 \\ 0 & -K & (1+2K) + \frac{v_3 \Delta t}{c} & -K & 0 & \dots & 0 \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \ddots & 0 & 0 \\ \vdots & \ddots & \ddots & \ddots & \ddots & \ddots & 0 \\ 0 & \dots & \dots & 0 & -K & (1+2K) + \frac{v_{n-1} \Delta t}{c} & -K \\ 0 & \dots & \dots & \dots & 0 & -K & (1+K) + \frac{v_n \Delta t}{c} \end{pmatrix} \\
 * \begin{pmatrix} \vdots \\ \vdots \\ \vdots \\ C_{i,j+1} \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \end{pmatrix} - \varepsilon \begin{pmatrix} G_i + \frac{v_i \Delta t}{c} \\ \vdots \\ \vdots \\ 0 \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \\ \vdots \end{pmatrix}$$

3.1.1.4 Détermination de C(x,t) et de pH(x,t)

L'acidité ou la basicité d'une solution est donnée par le potentiel d'hydrogène. Ce potentiel, définie par Sørensen au début du XX^e siècle comme étant le cologarithme décimal de la concentration en ions hydrogène [Boeglin 09].

$$pH = -\log(h^+) \quad (3.21)$$

En milieu aqueux, l'ion hydrogène est solvaté par des molécules d'eau et se retrouve sous la forme d'un ion hydronium H_3O^+ , ainsi le pH est en fait une mesure de la concentration de l'ion hydronium.

$$h^+ = [H_3O^+] \quad (3.22)$$

Un acide dans l'eau se dissocie en une base et un ion hydronium. La force d'un acide est donnée par la constante d'acidité Ka, appelée aussi la constante de dissociation, et s'écrit 3.23 :

$$Ka = \frac{[base][h^+]}{[acide]} \quad (3.23)$$

Ainsi plus la constante d'acidité est grande, plus l'acide se dissocie dans l'eau, et donc plus l'acide est fort. Usuellement, dans la littérature c'est le cologarithme de la constante d'acidité qui est utilisé.

$$pKa = -\log(Ka) \quad (3.24)$$

Un composé chimique étant électriquement neutre, les charges positives présentes dans une solution sont compensées par la présence de charges négatives. Ainsi le nombre d'anions est égal au nombre de cations, l'eau pure se dissocie selon la réaction 3.25 :



et la constante de dissociation est donc 3.26 :

$$K_e = [OH^-] * [H_3O^+] \quad (3.26)$$

La constante de dissociation K_e , appelée aussi produit ionique de l'eau, est donnée dans les conditions normales de pression et de température égale à 10^{-14} , ainsi $pK_e = 14$.

Au final, la connaissance des concentrations chimiques de toutes les espèces acido-basiques consommées ou produites lors de la réaction enzymatique ainsi que les réactions chimiques correspondantes, et les différentes constantes d'acidité permettra d'établir l'équation d'électroneutralité. La résolution de celle-ci permettra de déterminer la fonction $pH(x,t)$ de la solution en tout instant et en tout point.

3.1.1.5 Détermination de la réponse potentiométrique de l'EnFET

La description du principe de fonctionnement de l'ISFET (chapitre 1), lie de manière simplifiée la tension de seuil V_T au pH par la relation 3.27 [Bousse 82] :

$$V_T = V_{T0} + S * (pH - pH_{pzc}) \quad (3.27)$$

avec :

- S : sensibilité du capteur en mV/pH
- V_{T0} : tension de seuil du capteur dépendant que des paramètres technologiques (chapitre 1 et 2).
- pH_{pzc} : pH au point de charge nulle

Le sensibilité S du capteur est donnée par Nernst :

$$S = \frac{\ln(10)kT}{q} \approx 59mV/pH \quad (3.28)$$

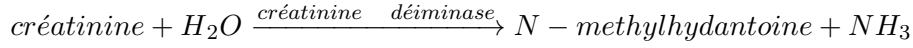
Ainsi, le microcapteur EnFET mesure la valeur du pH sur sa surface sensible ($x = 0$) et sa valeur nominale doit être obtenue après stabilisation dans le temps ($t = +\infty$).

$$V_T = V_{T0} + S * (pH(0, +\infty) - pH_{pzc}) \quad (3.29)$$

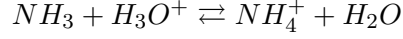
3.1.2 Etude du créatinine-EnFET

3.1.2.1 Equations chimiques

La créatinine déiminase catalyse l'hydrolyse de la créatinine selon la réaction suivante :



La N-méthylhydantoïne n'ayant aucune propriété acido-basique, cette réaction enzymatique est responsable d'une variation de pH due à la formation d'ammoniac NH_3 en solution aqueuse :



3.1.2.2 Calcul du pH

Le modèle créé se base sur les équations d'équilibre chimique, de conservation des espèces chimiques et d'électroneutralité. Grâce à ces équations, nous allons établir une équation qui va nous permettre de déterminer le pH de la solution en fonction de la production enzymatique.

On pose : $[H_3O^+] = h^+$

En considérant les concentrations des différentes espèces chimiques présentes en solution aqueuse, les équations caractéristiques du système chimique NH_4^+/NH_3 donnent :

$$\frac{[NH_3]h^+}{[NH_4^+]} = K_1 \quad (3.30)$$

$$h^+[OH^-] = K_e \quad (3.31)$$

$$[NH_3] + [NH_4^+] = C_p \quad (3.32)$$

$$h^+ + [NH_4^+] = [OH^-] + C_t \quad (3.33)$$

où

- K_1 est la constante de dissociation du couple NH_4^+/NH_3 ($K_1 = 5,62 \cdot 10^{-10}$) mol/L,
- K_e est le produit ionique de l'eau ($K_e = 10^{-14}$; $pK_e = 14$),
- C_p est la concentration d'ammoniac produit par la réaction enzymatique
- C_t est une constante assurant l'électroneutralité de la solution (pour une solution initiale de potentiel hydrogène pH_0 , $C_t = 10^{-pH_0} - 10^{(-pK_e + pH_0)}$).

A partir des équations (3.30) à (3.33), on obtient :

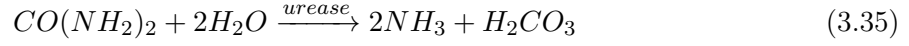
$$h^{+3} + (K_1 + C_p - C_t)h^{+2} - (K_e + K_1 C_t)h^+ - K_e K_1 = 0 \quad (3.34)$$

Ce polynôme du troisième degré va permettre de déterminer la concentration d'ions H_3O^+ et ainsi la valeur du potentiel hydrogène ($pH = -\log[H_3O^+]$).

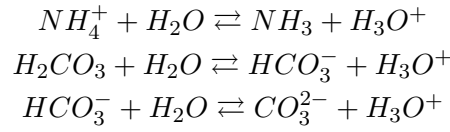
3.1.3 Etude de l'urée-EnFET

3.1.3.1 Equations chimiques

L'uréase catalyse l'hydrolyse de l'urée $CO(NH_2)_2$ selon la réaction suivante :



Cette réaction enzymatique est responsable de la production d'une base sous la forme de l'ammoniac et d'un diacide sous la forme de l'acide carbonique H_2CO_3 . Les variations de pH en solution aqueuse vont ainsi être reliées aux couples acide/base correspondants :



3.1.3.2 Calcul du pH

Le modèle créé se base sur les équations d'équilibres chimiques, de conservation des espèces chimiques et d'électroneutralité. Grâce à ces équations, nous allons établir une équation qui va nous permettre de déterminer le pH de la solution en fonction de la production enzymatique.

On pose : $[H_3O^+] = h^+$

En considérant les concentrations des différentes espèces chimiques présentes en solution aqueuse, les équations caractéristiques du système chimique formé par $H_2CO_3/HCO_3^-/CO_3^{2-}$ et NH_4^+/NH_3 donnent :

$$\frac{[NH_3]h^+}{[NH_4^+]} = K_1 \quad (3.36)$$

$$\frac{[HCO_3^-]h^+}{[H_2CO_3]} = K_2 \quad (3.37)$$

$$\frac{[CO_3^{2-}]h^+}{[HCO_3^-]} = K_3 \quad (3.38)$$

$$h^+[OH^-] = K_e \quad (3.39)$$

$$[NH_3] + [NH_4^+] = C_1 \quad (3.40)$$

$$[H_2CO_3] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}] = C_2 + C_0 \quad (3.41)$$

$$h^+ + [NH_4^+] = [OH^-] + C_t + [HCO_3^-] + 2[CO_3^{2-}] \quad (3.42)$$

où K_1 , K_2 et K_3 sont les constantes de dissociation des couples NH_4^+/NH_3 , H_2CO_3/HCO_3^-

et HCO_3^-/CO_3^{2-} ($K_1 = 5,62.10^{-10} \text{ mol/L}$, $K_2 = 4,30.10^{-7} \text{ mol/L}$, $K_3 = 5,61.10^{-11} \text{ mol/L}$), K_e est le produit ionique de l'eau ($K_e = 10^{-14}$), C_1 et C_2 sont les concentrations en ammoniac et acide carbonique produites par la réaction enzymatique, C_0 est la concentration en espèces dérivées de l'acide carbonique de la solution initiale, et C_t est une constante assurant l'électroneutralité de la solution et tenant compte des espèces interférentes et du pH de la solution initiale.

La prise en compte du potentiel hydrogène pH_0 (concentration h_0^+) de la solution initiale ainsi que des espèces dérivées de l'acide carbonique H_2CO_3 , va finalement être obtenue par l'intermédiaire de la concentration C_t :

$$C_t = h_0^+ - \frac{K_e}{h_0^+} + C_0 K_2 \frac{2K_3 + h_0^+}{h_0^{+2} + K_2 h_0^+ + K_2 K_3} \quad (3.43)$$

A partir des équations (3.36) à (3.42), on obtient :

$$a_5 h^{+5} + a_4 h^{+4} + a_3 h^{+3} + a_2 h^{+2} + a_1 h^+ + a_0 = 0 \quad (3.44)$$

avec :

$$\begin{cases} a_5 = 1 \\ a_4 = C_1 + K_1 + K_2 - C_t \\ a_3 = C_1 K_2 + K_1 K_2 + K_2 K_3 - K_e - C_t K_1 - C_t K_2 - C_2 K_2 \\ a_2 = C_1 K_2 K_3 + K_1 K_2 K_3 - K_e K_1 - K_e K_2 - C_t K_1 K_2 - C_t K_2 K_3 - C_2 K_1 K_2 - C_2 K_2 (K_1 + 2K_3) \\ a_1 = -K_e K_1 K_2 - K_e K_2 K_3 - C_t K_1 K_2 K_3 - 2C_2 K_1 K_2 K_3 \\ a_0 = -K_e K_1 K_2 K_3 \end{cases}$$

Ce polynôme du cinquième degré va permettre de déterminer la concentration d'ions H_3O^+ et ainsi, la valeur du potentiel hydrogène ($pH = -\log[H_3O^+]$).

3.1.4 Résultat de simulation pour le créatinine-EnFET

La modélisation du créatinine-EnFET s'appuie sur les conditions de réalisation de ce même capteur décrites dans les thèses de William Sant [Sant 04] et Marie-Laure Pourciel-Gouzy [Pourciel-Gouzy 04]. De plus, nous nous sommes placés dans les mêmes conditions que la pratique, c'est-à-dire :

- épaisseur du film de PVA : $e = 1\mu m$
- constante de Michaelis : $K_M = 3,5.10^{-3} \text{ mol/L}$ pour la créatinine déiminase (Sigma-Aldrich)
- nombre d'unités enzymatiques par unité de volume : $N_{enz} = 10 \text{ unités/cm}^{-3}$
- pH de la solution initiale : $pH_0 = 7,5$

Les constantes de diffusion de la créatinine et de l'ammoniac ont été choisies égales à $D_{creatinine} = 1,31.10^{-5} \text{ cm}^2/s$ et $D_{NH_3} = 2,54.10^{-5} \text{ cm}^2/s$, à partir de la relation 3.15, ces

valeurs sont dans l'ordre des valeurs pouvant être trouvées dans la littérature [Frank 96].

Finalement, le créatinine-EnFET a été étudié dans la gamme de concentration de créatinine en solution [10^{-7} ; 10^{-2} mol/L], sachant que la gamme pathologique de concentration de créatinine dans le sang chez l'homme est de [90.10^{-6} ; $900.10^{-6} \text{ mol/L}$] [Michel 92].

3.1.4.1 Comportement du microcapteur créatinine-EnFET

Nous allons étudier l'évolution du pH en fonction du temps, ainsi que la variation des concentrations de créatinine et d'ammoniac en fonction de la distance à la surface du capteur.

La figure 3.8 représente la diffusion de la créatinine en fonction de la distance à l'interface pour différents temps. L'effet de la production de la créatinine dans la couche de PVA est clairement mis en évidence et fait apparaître la production et la diffusion de l'ammoniac dans l'électrolyte (figure 3.9).

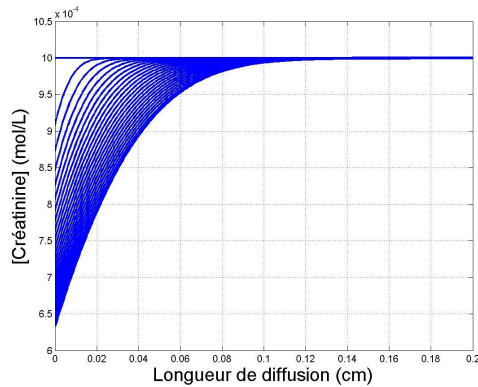


Figure 3.8: Diffusion de la créatinine

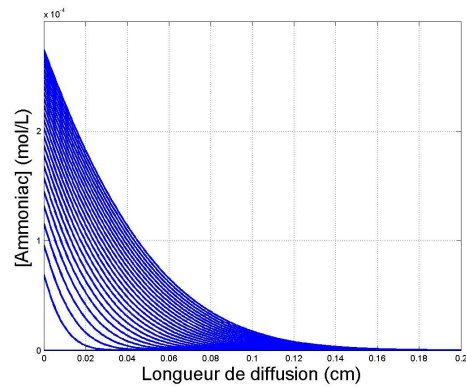


Figure 3.9: Diffusion de l'ammoniac

Finalement la production et la diffusion de l'ammoniac sont responsables d'une modification locale du pH qui croît en fonction du temps (figure 3.10). Il apparaît que les dimensions de cette modification atteignent des valeurs millimétriques (à comparer avec l'épaisseur micrométrique de la couche de PVA où a lieu la réaction enzymatique...).

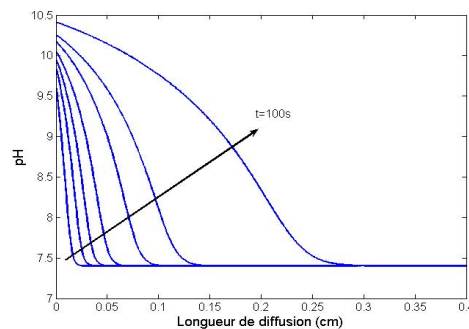


Figure 3.10: pH en fonction de la longueur de diffusion

Enfin, la figure 3.11 représente l'évolution du pH à la surface du capteur en fonction du temps. Il apparaît clairement que la dissociation de la créatinine, produisant une base (l'ammoniac), en présence de créatinine déiminase est responsable d'une augmentation du pH. Cette augmentation atteint une valeur limite, qui est la valeur d'équilibre entre l'ammoniac produit et l'ammoniac diffusé hors de la zone de détection (ne participant plus à la variation du pH local).

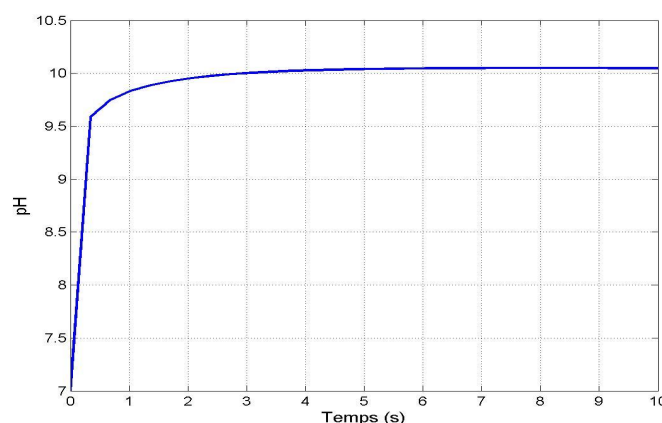


Figure 3.11: pH en fonction du temps

Pour des temps inférieurs à une dizaine de secondes, le pH se stabilise autour de cette valeur garante du bon fonctionnement du microcapteur. C'est en effet à partir de cette valeur limite que seront déterminées les potentialités de détection du créatinine-EnFET.

3.1.4.2 Paramètres influents sur le microcapteur créatinine-EnFET

A partir du modèle précédemment décrit, il est possible de définir cinq paramètres influents : l'épaisseur e du film de PVA, la constante de Michaelis K_M , le nombre d'unités enzymatiques par unité de volume N_{enz} , le potentiel hydrogène initial de la solution pH_0 et le débit d'écoulement D .

En fait, il s'est avéré que l'épaisseur e de PVA n'avait aucune influence dans la gamme $[0, 5; 10 \mu m]$ compatible avec le procédé de fabrication des couches enzymatiques si bien que notre étude se limitera aux quatre autres paramètres.

Influence du potentiel d'hydrogène initial pH_0

La figure 3.12 représente les différentes réponses potentiométriques du créatinine-EnFET pour différentes valeurs du potentiel hydrogène de la solution initiale pH_0 (pour $K_M = 3,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$, $N_{enz} = 10 \text{ unités/cm}^3$, $D = 0 \text{ mL/s}$). Etant donné que le principe de détection choisi est basé sur la mesure du pH, l'influence du potentiel hydrogène initial pH_0 est une évidence.

La réaction enzymatique va consommer la créatinine pour produire l'ammoniac responsable de l'augmentation de la basicité. Plus la consommation de créatinine est importante, plus le

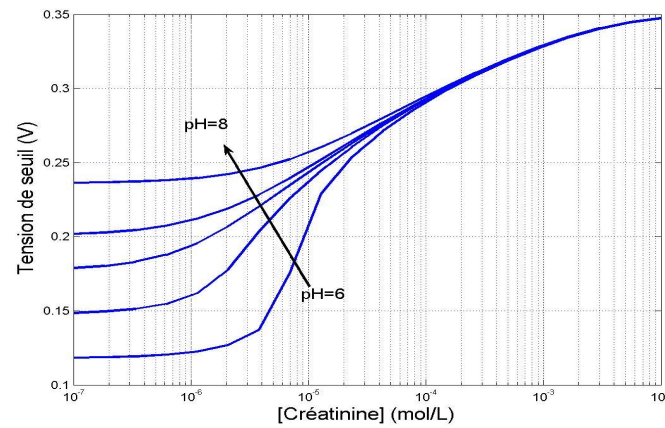


Figure 3.12: Evolution de la tension de seuil du créatinine-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs du potentiel hydrogène initial pH_0

pH va augmenter. De même plus le milieu est acide, plus la quantité d'ammoniac nécessaire à cette variation doit être grande, et donc plus la quantité de créatinine à consommer doit être importante.

Influence de la constante de Michaelis

La figure 3.13 représente les différentes réponses potentiométriques du créatinine-EnFET pour différentes valeurs de la constante de Michaelis de la créatinine déiminase K_M ($N_{enz} = 10 \text{ unités/cm}^{-3}$, $pH_0 = 7,5$, $D = 0 \text{ mL/s}$).

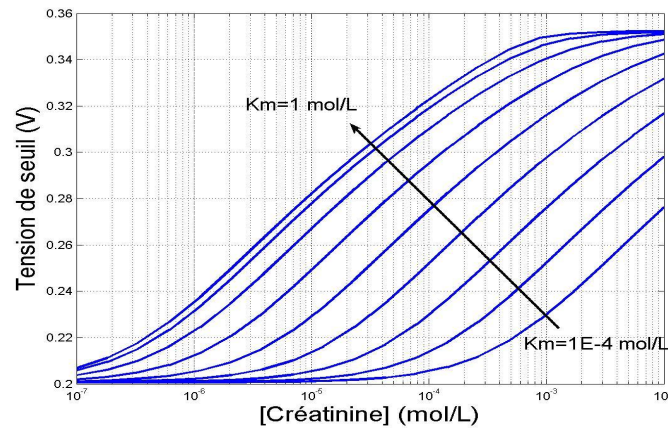


Figure 3.13: Evolution de la tension de seuil du créatinine-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs de la constante de Michaelis (K_M)

Quelle que soit la valeur de K_M , les courbes de réponses du créatinine-EnFET sont caractérisées par des phénomènes d'insensibilité et de saturation respectivement pour les plus faibles et les plus fortes concentrations. Dans la zone intermédiaire, il existe une réponse linéaire entre tension de seuil V_T et le logarithme de la concentration en créatinine. Il apparaît ainsi que la constante de Michaelis K_M permet de déterminer la gamme de concentration relative au

fonctionnement linéaire du créatinine-EnFET (avec un effet de saturation pour les fortes valeurs), mais n'a que peu d'influence sur sa sensibilité.

La constante de Michaelis, est une donnée d'une enzyme, elle traduit son affinité avec son substrat. En fait, elle caractérise la vitesse de la réaction. Plus la valeur est faible, plus la réaction est rapide. Dans le modèle la constante de Michaelis intervient dans la fonction de génération/consommation d'espèces par la réaction enzymatique $g(x)$ (3.3).

$$g = a_M * N_{enz} * \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

Cette équation explique bien les observations de la courbe. Lorsque la valeur de la constante de Michaelis est négligeable devant la concentration du substrat, le terme de génération g est maximal. Il faut donc que la concentration de créatinine soit très grande devant la valeur de K_M pour obtenir la variation de pH. En conséquence, plus le K_M augmente plus la concentration de créatinine doit être importante, d'où le décalage en gamme de concentration en fonction de la valeur de K_M .

Influence de la quantité d'enzyme

Ensuite, la figure 3.14 représente les différentes réponses potentiométriques du créatinine-EnFET pour différentes valeurs du concentration enzymatiques N_{enz} ($K_M = 3,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$, $pH_0 = 7,5$). Il apparaît clairement que le nombre d'unités enzymatiques par unité de volume N_{enz} influence la sensibilité du créatinine-EnFET. Très logiquement, celle-ci augmente avec le nombre d'unités enzymatiques par unité de volume et arrive à saturation pour $N_{enz} \approx 1000 \text{ unités/cm}^3$.

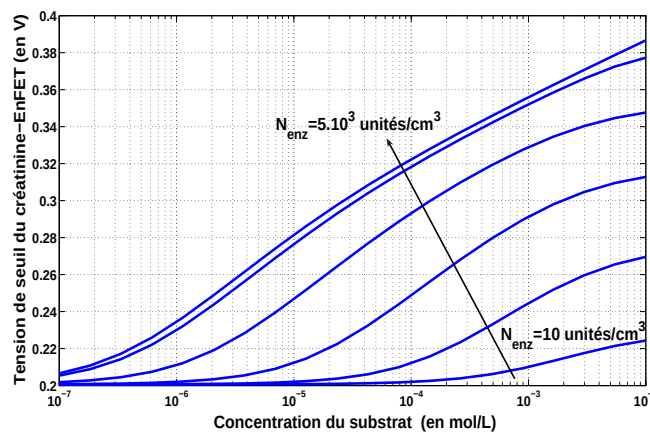


Figure 3.14: Evolution de la tension de seuil du créatinine-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs de nombre d'unités enzymatiques par unité de volume de PVA (N_{enz})

Algébriquement la quantité d'enzyme (N_{enz}) intervient aussi dans la génération/consommation d'espèces de la réaction enzymatique décrite par l'équation (3.3), comme pour la constante de Michaelis. Ainsi plus N_{enz} est faible plus la production d'ammoniac est faible donc la variation de pH est plus faible et la sensibilité diminue.

Lorsque la valeur de N_{enz} est très grande, supérieure à $100 \text{ unités/cm}^{-3}$, la diffusion du substrat vient limiter la sensibilité. En clair, la variation de pH est contrôlée par la quantité d'enzyme contenue dans la membrane, jusqu'à une limite fixée par la diffusion du substrat.

Influence du flux

La figure 3.15 montre les effets du flux, nous pouvons noter que pour des débits allant jusqu'à 10 mL/s , la sensibilité du détecteur n'est pas modifiée. En revanche à partir de cette valeur, la sensibilité diminue légèrement (de 7% pour un débit de 100 mL/s et de 17% pour un débit de 1000 mL/s).

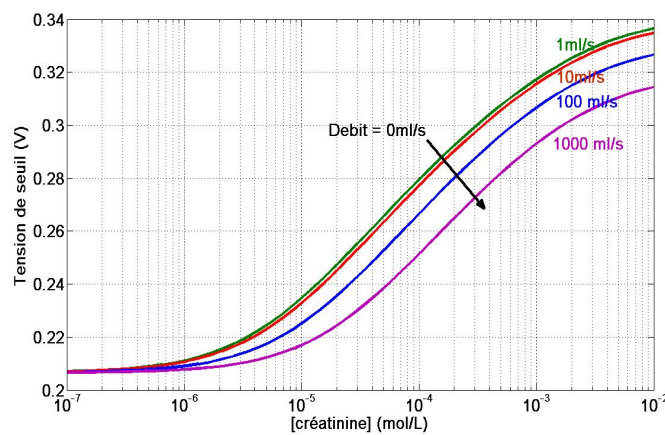


Figure 3.15: Evolution de la tension de seuil du créatinine-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs de débit d'écoulement

Le flux va apporter du substrat (créatinine) en continu et va balayer le produit de la réaction enzymatique (l'ammoniac). Tant que la quantité de l'ammoniac à la surface du capteur permet la variation locale du pH, la sensibilité n'est pas affectée. Pour des débits très grands ($\geq 10 \text{ mL/s}$), cette quantité n'a pas le temps de s'accumuler à peine produit l'ammoniac est emporté par le débit, d'où une baisse de la sensibilité.

Rappelons que le débit usuel en hémodialyse est de l'ordre de 500 mL/min soit 8 mL/s au maximum pour une dialyse chronique et de 200 mL/min soit $3,3 \text{ mL/s}$ au maximum pour une dialyse en continu, au vue des résultats obtenus nous pouvons affirmer que les mesures ne seront pas perturbées par le système fluide de l'hémodialyse [Michel 92].

3.1.5 Résultat de simulation pour l'urée-EnFET

Comme précédemment, la modélisation de l'urée-EnFET s'appuie sur les conditions de réalisation décrites dans les thèses de William Sant [Sant 04] et Marie-Laure Pourciel-Gouzy [Pourciel-Gouzy 04]. Nous nous sommes aussi placés dans les mêmes conditions que la pratique, c'est-à-dire :

- épaisseur du film de PVA : $e = 1 \mu\text{m}$
- constante de Michaelis : $K_M = 0,19 \text{ mol/L}$ (HEMODIA)

- nombre d'unités enzymatiques par unité de volume : $N_{enz} = 1,2 \cdot 10^3 \text{ unités/cm}^3$
- pH de la solution initiale : $pH_0 = 7,5$
- concentration acide carbonique initiale $C_0 = 32 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$

Les constantes de diffusion de l'urée, de l'ammoniac et de l'acide carbonique ont été respectivement choisies égales à $D_{urée} = 1,67 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$, $D_{NH_3} = 2,54 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ et $D_{H_2CO_3} = 1,63 \cdot 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{s}$ (cf. équation 3.15), ces valeurs sont dans l'ordre des valeurs pouvant être trouvées dans la littérature [Sorell 82] [Frank 96].

Finalement, l'urée-EnFET a été étudié dans la gamme de concentration d'urée en solution $[10^{-6}; 10^0 \text{ mol/L}]$, sachant que la gamme pathologique de concentration d'urée dans le sang chez l'homme est de $[5 \cdot 10^{-3}; 50 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}]$ [Michel 92].

3.1.5.1 Comportement du microcapteur urée-EnFET

Nous allons étudier l'évolution du pH en fonction du temps, ainsi que la variation des concentrations de l'urée, de l'ammoniac et de l'acide carbonique en fonction de la distance à la surface du capteur.

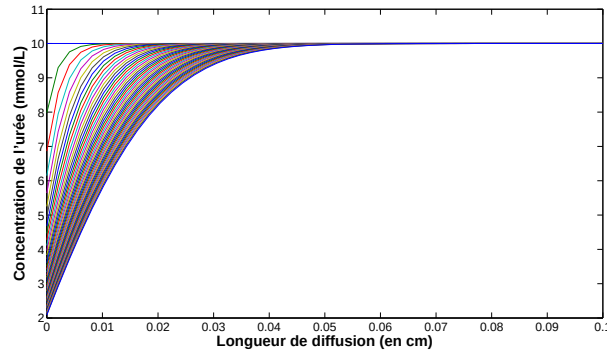


Figure 3.16: Diffusion des molécules d'urée

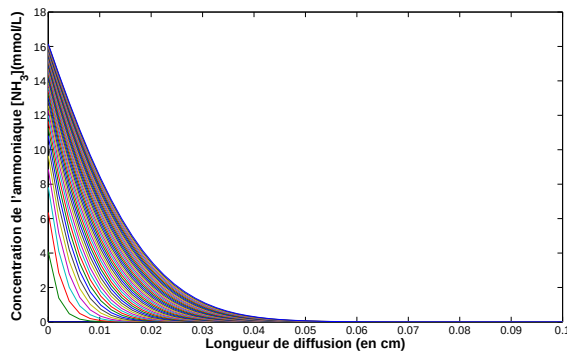


Figure 3.17: Diffusion des molécules d'ammoniac

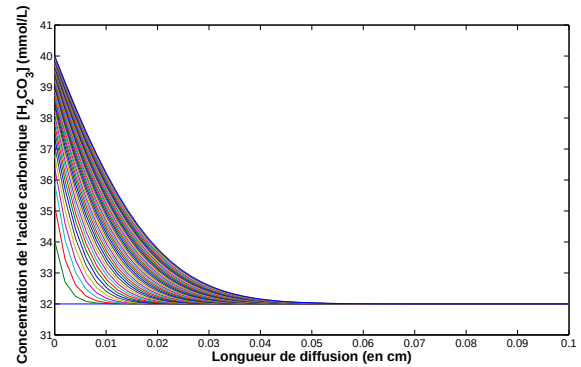


Figure 3.18: Diffusion de l'acide carbonique

La figure 3.16 représente la diffusion de l'urée en fonction de la distance à l'interface pour

différents temps. Comme précédemment, l'effet de la consommation d'urée dans la couche de PVA est clairement mis en évidence et fait apparaître la production et la diffusion de l'ammoniac et de l'acide carbonique dans l'électrolyte (figures 3.17 et 3.18).

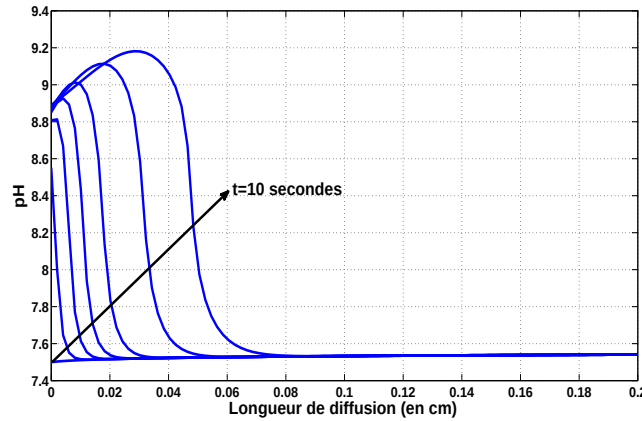


Figure 3.19: pH en fonction de la longueur de diffusion

La production d'ammoniac et d'acide carbonique entraîne globalement une augmentation de pH au sein de l'électrolyte (figure 3.19). L'obtention d'une "onde" de pH en fonction du temps est liée à la différence des coefficients de diffusion D_{NH_3} et $D_{H_2CO_3}$, et plus précisément par l'avance du front de diffusion de l'ammoniac et de ses propriétés basiques par rapport à celui de l'acide carbonique et de ses propriétés acides.

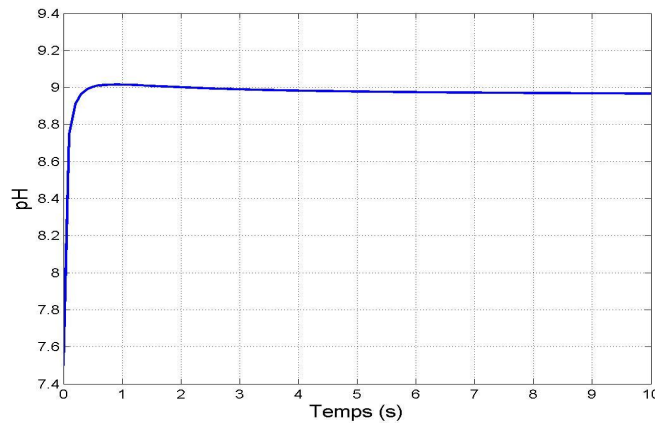
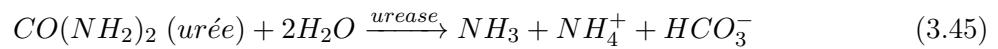


Figure 3.20: pH en fonction du temps

Les figures 3.20 représentent finalement l'évolution du pH à l'interface PVA-électrolyte en fonction du temps. L'hydrolyse de l'urée est responsable d'une augmentation de la basicité, qui est principalement due au couple HCO_3^-/CO_3^{2+} et NH_4^+/NH_3 , dont les constantes d'acidité sont $pK=10,25$ et $9,25$ respectivement. L'équation chimique est alors sous la forme suivante :



La valeur finale tend vers la valeur du pK_a du couple NH_4^+/NH_3 , en raison de l'égalité des

concentrations de ces deux espèces. La différence dans la réaction enzymatique de l'urée par rapport à celle de la créatinine est qu'en plus de la production d'ammoniac, il y a la production de l'ion bicarbonate. Cet ion HCO_3^- chargé négativement, en raison de l'électroneutralité électrique d'une solution à l'équilibre, va conduire à avoir l'ion ammonium NH_4^+ en même concentration que le NH_3 .

Ainsi, on peut écrire :

$$\frac{[NH_3]h^+}{[NH_4^+]} = K_1$$

$$[NH_3] = [NH_4^+]$$

Donc :

$$h^+ = K_1$$

$$pH = pK_1 = 9,25$$

D'où la saturation du pH vers la valeur de la constante d'acidité (pKa) du couples NH_4^+/NH_3 . En fait, la présence du bicarbonate HCO_3^- fait que le pH ne sera pas exactement la valeur du pKa, et va le modifier un peu. Cette valeur sera garante du bon fonctionnement du microcapteur. C'est en effet à partir de cette valeur limite que seront déterminées les potentialités de détection de l'urée-EnFET.

3.1.5.2 Paramètres influents sur le microcapteur urée-EnFET

A partir du modèle précédemment décrit, il est possible de définir six paramètres influents :

- l'épaisseur e du film de PVA
- le potentiel hydrogène initial de la solution pH_0
- la concentration initiale de la solution en ions carbonates C_0
- la constante de Michaelis K_M
- le nombre d'unités enzymatiques par unité de volume N_{enz}
- le débit de la canalisation D

Comme précédemment, il s'est avéré que l'épaisseur de PVA n'avait aucune influence dans la gamme $[0, 5; 10 \mu m]$ compatible avec le procédé de fabrication des couches enzymatiques. Au final, nous nous sommes limités à l'étude des autres paramètres influents ($pH_0, C_0, K_M, N_{enz}, D$)

Influence du potentiel d'hydrogène initial pH_0

Les simulations (figure 3.21) montrent l'évolution du pH en fonction de la concentration du substrat pour des valeurs de potentiel d'hydrogène initial (pH_0) différentes. Ce pH initial pH_0 , peut être modifié en ajustant la concentration C_t ajoutée à l'équation d'électroneutralité pour assurer l'équilibre.

Pour de faibles valeurs de concentration d'urée, le pH de la zone sensible où se trouve l'enzyme n'est pas modifié, à mesure que cette concentration augmente, la réaction enzymatique

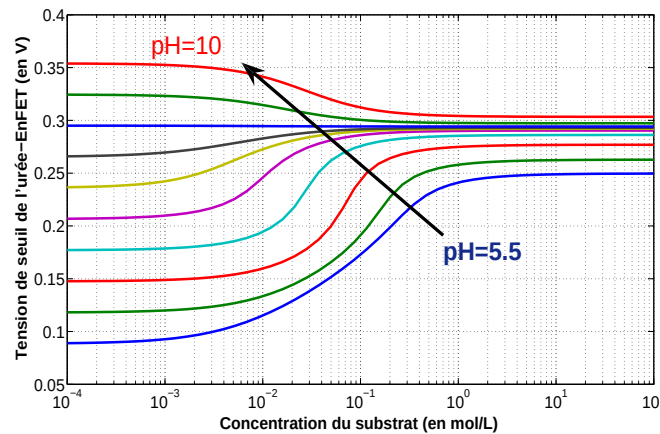


Figure 3.21: Evolution de la tension de seuil de l'urée-EnFET en fonction de la concentration en substrat pour différentes valeurs de pH initial

va produire de l'ammoniac qui va faire augmenter ou diminuer le pH jusqu'à ce qu'il atteigne la valeur limite de 9,25 (pKa du couple NH_4^+/NH_3).

Quel que soit le pH initial, après la réaction enzymatique et la production d'ammoniac le système acido-basique s'équilibre toujours à la même valeur (9,25). C'est le couple NH_4^+/NH_3 qui fixe le pH lorsque sa concentration devient assez importante. Plus le pH initial de la solution s'éloigne de la valeur d'équilibre, plus la quantité d'urée à consommer donc d'ammoniac à produire devient importante. Pour les valeurs dont le pH initial est très éloigné de la valeur d'équilibre (9,25), la valeur finale peut être modifiée car ce n'est plus seulement le couple NH_4^+/NH_3 qui entre en jeu, d'autres couples acido-basiques d'espèces interférentes vont contribuer à cette modification de la valeur finale (la base NH_3 est connue pour être faible).

Dans les systèmes de détection, le but est d'avoir une grandeur à mesurer directement proportionnelle à la grandeur mesurée, la réponse idéale recherchée d'un capteur est la réponse linéaire. Lorsque le pH initial est ici aux alentours de 7,5, la réponse est linéaire en fonction de la concentration du substrat dans une gamme limitée. Avec ces paramètres, l'urée-EnFET est conditionné pour une application dans l'hémodialyse car le fonctionnement est linéaire pour un pH proche de celui du sang ($\approx 7,4$).

Pour les simulations suivantes, nous adopterons la valeur de 7.5 pour le pH initial.

Influence d'acide carbonique initiale

Avec l'intervention des couples acide/base H_2CO_3/HCO_3^- et HCO_3^-/CO_3^{2-} , la concentration initiale de la solution en ions carbonates CO_3^{2-} est devenue un élément influent majeur pour le fonctionnement de l'urée-EnFET (cf. concentration C_0). Cette influence a été étudiée pour différentes valeurs :

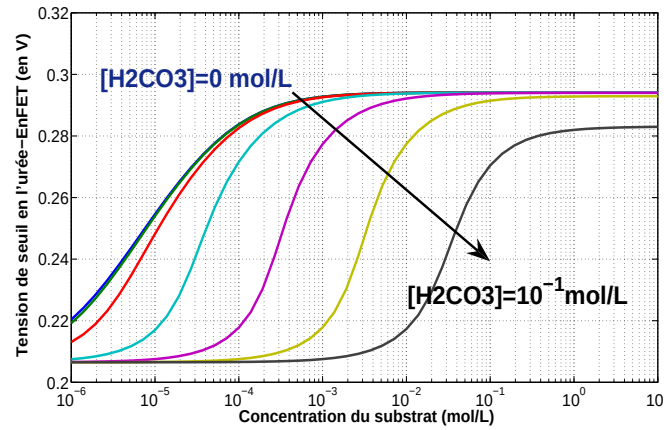


Figure 3.22: Evolution de la tension de seuil de l'urée-EnFET en fonction de la concentration en substrat pour différentes valeurs d'acide carbonique initiale

En augmentant la quantité d'acide, il est logique que la quantité nécessaire de base NH_3 doit être augmentée pour garantir le pH attendu. Ce fait est montré sur la courbe 3.22 où un décalage dans la gamme de mesure est visible lorsque la concentration de H_2CO_3 initiale croît. En augmentant la quantité C_0 il faut donc plus d'urée, pour atteindre un pH donné, d'où le décalage de la gamme de mesure vers les valeurs plus grandes.

En clair, l'acide carbonique neutralise l'ammoniaque, ainsi sa présence va induire une dérive de la gamme de détection vers des concentrations en urée plus importantes. Pour les concentrations très faibles en acide carbonique, on observe une sensibilité plus faible du capteur urée-EnFET ($\simeq 30 \text{ mV/decade}$ au lieu de $\approx 60 \text{ mV/decade}$). Cette faible sensibilité est le fruit de phénomènes d'équivalence du système acido-basique NH_4^+/NH_3 et $H_2CO_3/HCO_3^-/CO_3^{2-}$.

Pour les grandes valeurs de concentration en acide carbonique $[H_2CO_3] = 10^{-1} \text{ mol/L}$, on constate sur la courbe une baisse de la valeur finale, ce fait est dû simplement au temps de simulation choisie.

D'après les données des fabricants de dialysat et les mesures expérimentales faites par William SANT en milieu hospitalier, la valeur moyenne d'acide carbonique initiale dans les dialysats est d'environ $32 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L}$, ainsi pour les simulations futures, nous fixons la valeur de la concentration d'acide carbonique initiale à cette valeur.

Influence de la constante de Michaelis

La figure 3.23 représente la réponse potentiométrique de l'urée-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs de la constante de Michaelis K_M .

Ainsi, comme pour le créatinine-EnFET (cf. §3.1.4.2), la constante de Michaelis K_M permet encore une fois de déterminer la gamme de concentration relative au fonctionnement linéaire de l'urée-EnFET (avec un effet de saturation pour les fortes valeurs), mais n'a que peu d'influence sur sa sensibilité.

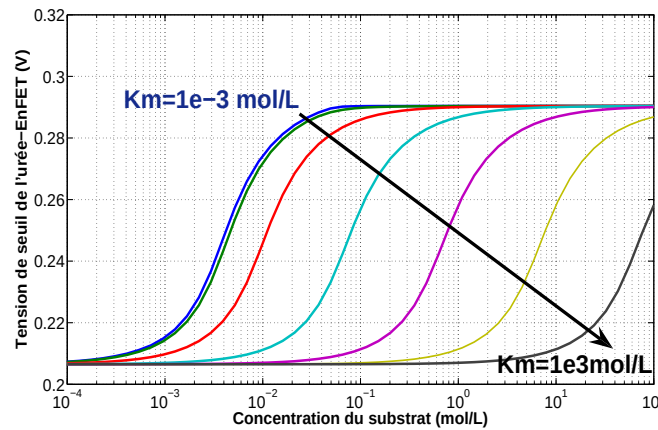


Figure 3.23: Evolution de la tension de seuil de l'urée-EnFET en fonction de la concentration en substrat pour différentes valeurs de la constante de Michaelis

La constante de Michaelis, est une donnée d'une enzyme, elle traduit son affinité avec son substrat. En fait elle caractérise la vitesse de la réaction plus la valeur est faible plus la réaction est rapide. Dans le modèle la constante de Michaelis intervient dans la fonction de génération/consommation d'espèces par la réaction enzymatique $g(x)$ (3.3).

$$g = a_M * N_{enz} * \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

Cette équation explique bien les observations de la courbe. Lorsque la valeur de la constante de Michaelis est négligeable devant la concentration du substrat, le terme de génération g est maximal. Il faut donc que la concentration d'urée soit très grande devant la valeur de K_M pour obtenir la variation de pH. En conséquence, plus le K_M augmente plus la concentration d'urée doit être importante, d'où le décalage en gamme de concentration en fonction de la valeur de K_M .

Influence de la quantité d'enzyme

La quantité d'enzyme est un des paramètres les plus importants car si les autres paramètres nous sont imposés par le milieu, celui-ci dépend de la préparation de l'enzyme et nous pouvons travailler sur cette grandeur, nous avons la possibilité de la contrôler. Ainsi la figure 3.24 montre l'influence de la quantité d'enzyme dans les conditions fixées par le milieu (pH_0 , concentration d'acide carbonique initiale, ...).

Cette courbe (figure 3.24) nous montre que la quantité d'enzyme agit sur la sensibilité, nous voyons que celle-ci diminue si la couche enzymatique est faiblement concentrée en uréase, et qu'à partir d'une certaine valeur, la réaction sature nous obtenons alors la sensibilité maximale. Le but est de déterminer cette valeur à partir de laquelle il n'y a plus d'augmentation de sensibilité ($N_{enz} \approx 5.10^3 \text{ unités/cm}^{-3}$).

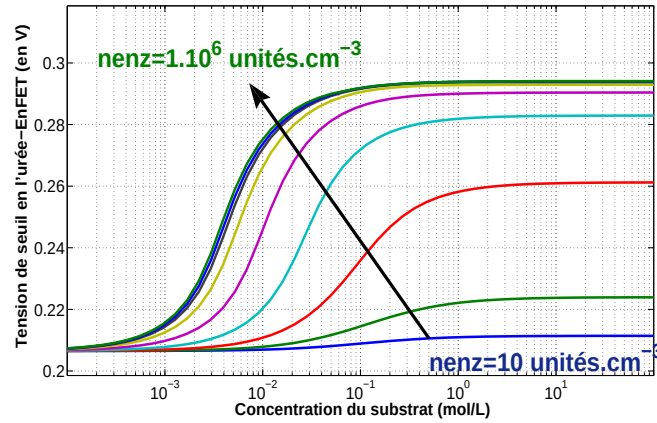


Figure 3.24: Evolution de la tension de seuil de l'urée-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs de nombres d'unités enzymatiques par unité de volume de PVA

Algébriquement la quantité d'enzyme (N_{enz}) intervient aussi dans la génération/consommation d'espèces de la réaction enzymatique décrite par l'équation (3.3), comme pour la constante de Michaelis. Ainsi plus le nombre d'unité enzymatique N_{enz} est grand plus la cinétique enzymatique augmente, donc la sensibilité augmente.

Lorsque la valeur de N_{enz} est très grande, supérieure à $5.10^3 \text{ unités/cm}^{-3}$, la diffusion du substrat vient comme pour le créatinine-EnFET limiter la sensibilité. La détection n'est plus contrôlée par la réaction enzymatique mais par la diffusion des espèces. Enfin, lorsque la valeur de N_{enz} est suffisante, supérieure à $5.10^3 \text{ unités/cm}^{-3}$, on observe une limite à la variation de pH pour les concentrations en substrat importantes ($\simeq 1.10^{-1} \text{ mol/L}$). Le pH arrive à une valeur finale proche de la valeur de la constante d'acidité de l'ammoniac $pK_a=9,25$. En fait lorsque l'ammoniaque est produit en quantité suffisante, il fixe le pH à la valeur de 9.25, valeur du pK_a du couple NH_4^+/NH_3 .

Influence du flux

Le système de pompage lors d'une séance de dialyse fonctionne à débit constant. Cette simulation (figure 3.25) montre comment réagit le capteur en fonction du débit d'écoulement avec et sans la présence de H_2CO_3 .

Nous observons sur la figure 3.25(a) que lorsque le débit est supérieur à 1 mL/s , la sensibilité diminue pouvant aller jusqu'à avoir un capteur totalement insensible (pour des valeurs de débit très importantes qui ne seront jamais atteintes dans notre application). Le flux va apporter du substrat (urée et acide carbonique initiale) en continu et va balayer le produit de la réaction enzymatique (l'ammoniac et l'acide carbonique). Dans l'étude de l'influence de l'acide carbonique initiale, pour une concentration de $[H_2CO_3]_0$, une quantité d'ammoniac produite est nécessaire pour augmenter le pH. En intégrant le flux, l'ammoniac produit va être balayé, et pour des

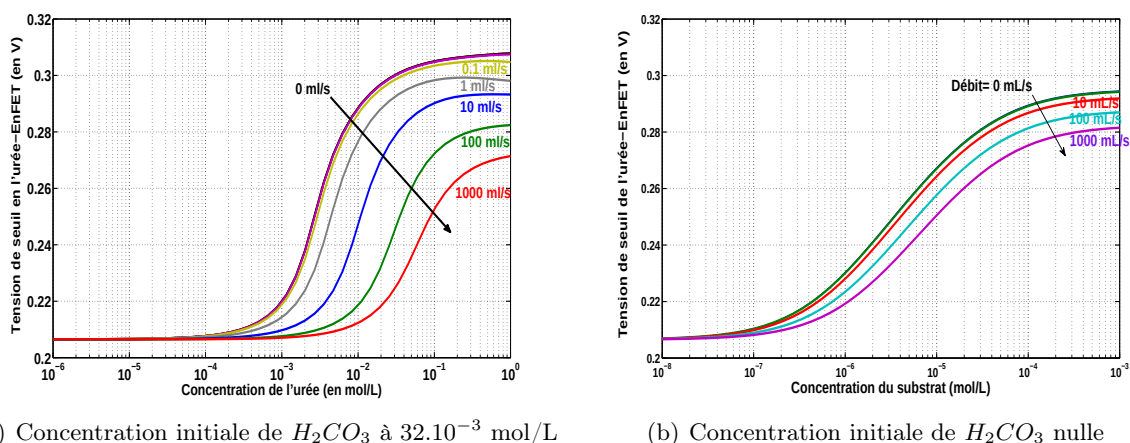


Figure 3.25: Evolution de la tension de seuil de l'urée-EnFET en fonction de la concentration pour $[H_2CO_3]_0 = 0$ et $[H_2CO_3]_0 = 36.10^{-3} \text{ mol/L}$

valeurs de débit inférieures à 1 mL/s la quantité de NH_3 accumulée permet l'augmentation du pH. Pour des débits supérieurs, la quantité ne suffit pas d'où une baisse de la sensibilité.

Ainsi nous expliquons cette diminution de sensibilité par le fait que si le débit est trop important, la quantité du produit de la réaction enzymatique (NH_3) qui fait varier le pH vers les valeurs basiques n'a pas le temps de s'accumuler, d'où une variation moindre du pH.

Dans le cas où il n'y a pas de $[H_2CO_3]_0$ (figure 3.25(b)), nous retrouvons la même configuration que pour la créatinine. Il n'y pas d'acide carbonique, il n'y a pas besoin de produire une grande quantité d'ammoniac pour faire augmenter le pH. Pour observer une baisse de la sensibilité, il faut aller vers des débits extrêmement grands.

La vitesse de pompage du sang usuelle est comprise entre 100 et 500 mL/min , dans cette configuration le débit influera nos mesures, nous pouvons avoir au maximum une diminution de 15% , ce qui reste une valeur acceptable sachant que nous la franchirons jamais. Ainsi, nous pouvons affirmer que le capteur étudié peut être dédié à un système continu d'hémodialyse.

3.1.6 Conclusion

Nous avons présenté ici le modèle pour les capteurs enzymatiques qui a été élaboré à partir des équations physico-chimiques, la prise en compte de la réaction enzymatique, les équations acido-basiques, les équations de diffusion et la réponse potentiométrique du capteur. Ce modèle a permis d'étudier la compréhension des phénomènes mis en jeu et a permis d'étudier l'influence de différents paramètres, et de prévoir le comportement du capteur. A présent, il reste à valider le modèle par une comparaison avec des résultats expérimentaux.

3.2 Etude des capteurs urée-EnFETs réalisés au LAAS

Dans un premier temps, les capteurs EnFETs réalisés dans la cadre de cette thèse, seront étudiés et comparés à notre modèle. Puis les EnFETs réalisés par la société HEMODIA seront aussi étudiés et comparés de la même manière. Ces études permettront de valider la robustesse du modèle de l'urée EnFETs.

3.2.1 Réalisation et fonctionnalisation des capteurs

Les EnFETs, comme nous l'avons vu précédemment, sont des pH-ChemFETs modifiés. Ainsi nous reprenons les ISFETs réalisés (cf. chapitre 2) et nous ferons les différentes étapes qui permettront de réaliser les EnFETs. Ce procédé de réalisation des couches enzymatiques a été développé dans le cadre des thèses de M.L. Pourciel-Gouzy et W.SANT [Pourciel-Gouzy 04] [Sant 04].

3.2.1.1 Préparation de la résine enzymatique

Le principe de détection de l'urée est de réaliser une réaction enzymatique dont le produit de la réaction modifie le pH. Pour réaliser cette réaction, il faut déposer cet enzyme sur la surface sensible au pH de l'ISFET. Le cahier des charges impose d'intégrer les enzymes à l'aide d'une matrice hydrophile et biocompatible [Pourciel 03]. Pour réaliser cette matrice, il a été utilisé l'alcool polyvinylique standard contenant des groupes styrylpyridinium qui confèrent une photosensibilité négative à la résine (PVA/SbQ). Lors de la réticulation, sa structure en réseau présente des cavités d'une taille assez importante pour pouvoir contenir des éléments biologiques comme les enzymes. De plus, sa grande affinité pour l'eau permet de conserver un taux d'humidité résiduel dans le réseau assez important pour assurer une durée de vie du matériel biologique conséquente.

La résine enzymatique est composée de PVA (Alcool polyvinylique) dilué à 25% en masse avec une solution de tampon phosphate contenant de l'acide éthylène diamine tetra acétique (EDTA). L'utilisation d'un tampon phosphate permet une meilleure sensibilité [Pourciel-Gouzy 04]. L'EDTA contenue dans la membrane permet d'augmenter la durée de vie des composants [Soldatkin 00]. La solution est homogénéisée durant 12 heures sous agitation magnétique à l'abri de la chaleur et de la lumière, pour éviter toute polymérisation, tout en veillant à dégazer la solution. Des tests d'accroche ont été effectués pour la membrane PVA/tampon phosphate sur le nitrure de silicium et la SU-8 recouvrant le biocapteur. Les tests montrent que la membrane a tenu sur les biocapteurs plongés dans une solution aqueuse durant plus de 24 heures. Cette validation nous permet d'intégrer l'enzyme dans la membrane, à partir d'un mélange homogénéisé à 5% en masse. Puis, par des dilutions successives de ce premier mélange dans du PVA/ solution tampon, nous réaliserons quatre autres mélanges homogénéisés à des concentrations de 3%, 1%, 0,5%, et 0,1% en masse afin de vérifier l'influence de la quantité d'enzyme contenue dans la membrane.

3.2.1.2 Dépôt de la membrane enzymatique

Les dépôts seront réalisés avec une microseringue. Nous veillerons à réaliser des plots de même volume ($0,1\mu L$) sur le composant. Puis la membrane sera photopolymérisée par une insolation aux ultraviolets durant 30 minutes. Les EnFETs ainsi fonctionnalisés (figure 3.26) seront conservés à une température de $3^{\circ}C$ dans une solution contenant de l'EDTA servant à maintenir l'activité enzymatique de l'uréase.

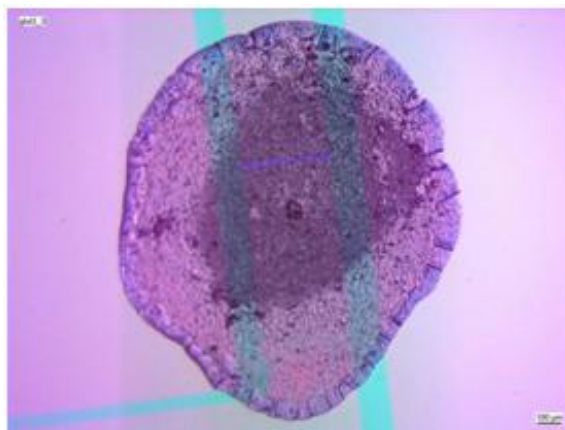


Figure 3.26: Photographie de la membrane enzymatique du capteur urée-EnFET

3.2.2 Présentation des résultats expérimentaux des EnFETs réalisée au sein du LAAS-CNRS et comparaison au modèle

Lors des dépôts, nous avons réalisé cinq séries de urée-EnFET ayant différentes concentrations enzymatiques dans la matrice d'immobilisation (PVA), afin de vérifier les observations du modèle (cf 3.1.5.2). Pour caractériser les EnFETs issus de notre procédé de fabrication, nous utiliserons le banc de mesure en continu. Les capteurs seront plongés dans des solutions tampons à pH constant ($pH=6,8$) ayant des concentrations en urée différentes. Nous effectuerons des mesures en utilisant un pH-ISFET et un urée-EnFET afin de vérifier que le pH reste constant loin de la zone où la membrane enzymatique réalise l'hydrolyse de l'urée. Nous avons réalisé un support qui maintient le pH-ISFET et l'EnFET à distance fixe de l'électrode de polarisation Flexref (figure 3.27).

Le milieu utilisé pour l'analyse de nos capteurs est le même que celui utilisé par la société HEMODIA pour la caractérisation de leurs détecteurs, ceci à des fins de comparaison. La solution utilisée est un tampon phosphate comportant de l'EDTA. Cet acide sert à restaurer l'activité d'une enzyme, cela permet de réutiliser les biocapteurs avec une bonne reproductibilité [Soldatkin 00].

Le protocole de mesure se compose de plusieurs étapes, le système (ISFET-EnFET-électrode de polarisation) est plongé dans plusieurs bains successifs contenant différentes concentrations d'urée en faisant des cycles allez-retour complets (bain 1 à 6 puis 5 à 1).

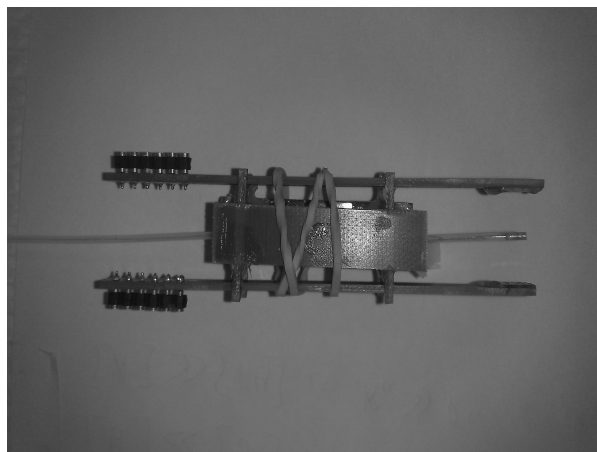


Figure 3.27: Structure de maintien des capteurs pH-ChemFET, urée-EnFET et de l'électrode de référence Flexref

- bain 1 : solution tampon (Tris-EDTA) ne contenant pas d'urée durant 15 minutes
- bain 2 : solution tampon (Tris-EDTA) contenant 1 $mmol/L$ d'urée durant 15 minutes
- bain 3 : solution tampon (Tris-EDTA) contenant 5 $mmol/L$ d'urée durant 15 minutes
- bain 4 : solution tampon (Tris-EDTA) contenant 10 $mmol/L$ d'urée durant 15 minutes
- bain 5 : solution tampon (Tris-EDTA) contenant 25 $mmol/L$ d'urée durant 15 minutes
- bain 6 : solution tampon (Tris-EDTA) contenant 50 $mmol/L$ d'urée durant 15 minutes

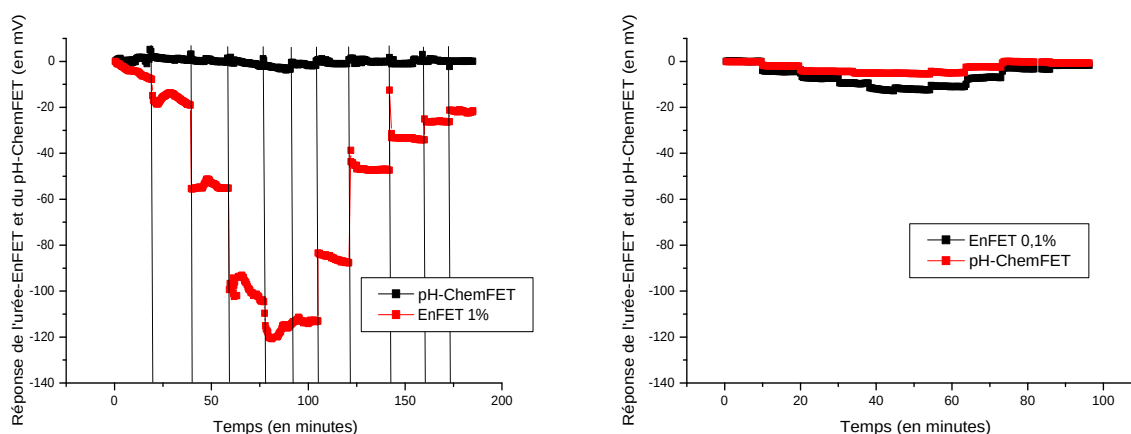
les résultats sauvegardés par le logiciel dédié aux ChemFETs, et les courbes sont traitées sur le logiciel de traitement de données Origin.

3.2.2.1 Présentation des résultats expérimentaux des EnFETs réalisés au LAAS-CNRS

Les mesures expérimentales ont été effectuées pour des capteurs ayant des concentrations en enzyme différentes (0,1% 0,5% 1% 3% et 5%). La figure 3.28 présente les résultats de caractérisation des capteurs à 0,1% et 1%.

La figure ?? présente la sensibilité à la concentration d'urée présente dans le milieu d'analyse de l'urée-EnFET à 1% massique de concentration enzymatique dans la membrane. Il est à noter dans un premier temps que le capteur urée-EnFET est sensible aux différents bains et que le pH-ISFET reste plus ou moins constant, ce qui valide le procédé de dépôt de la membrane enzymatique. La réaction d'hydrolyse de l'urée est produite et provoque bien une variation locale de pH, qui se traduit par la variation de la tension de seuil du capteur enzymatique. Les solutions tamponnées ont le même pH, nous le constatons sur la réponse du pH-ChemFET qui reste constante quelle que soit la concentration en urée. Cela démontre que la variation de pH reste localisée près de la membrane, ailleurs, les effets du tampon assurent un pH fixe.

La figure 3.28(b) présente les résultats de caractérisation du capteur urée-EnFET à 0,1% massique. Il apparaît clairement que la sensibilité de ce capteur est beaucoup plus faible à la concentration en urée des différents bains. Cela montre l'influence de la concentration enzymatique de la membrane sur la sensibilité.



(a) EnFET à 1% de concentration enzymatique

(b) EnFET à 0,1% de concentration enzymatique

Figure 3.28: Réponse temporelle des capteur urée-EnFET à 0.1% et 1% pour des concentrations en urée de 0 ; 1 ; 5 ; 10 ; 25 ; 50 mmol/L

D'autre part, il est à noter que pour les deux mesures, il y a des phénomènes d'hystérésis, les valeurs pour une même concentration diffèrent selon le bain précédent. Pour la suite de l'étude, en vue de comparaison avec le modèle qui ne prend pas en compte ces phénomènes, nous nous limiterons à prendre en considération seulement la phase ascendante en concentration (de 0 à 50 mmol/L d'urée) afin de nous affranchir des problèmes de dilution éventuels. Afin d'avoir une seule valeur de mesure pour chaque bain à concentration en urée différente, nous prendrons une valeur moyenne de chacun des paliers de mesure.

La figure 3.29 regroupe les résultats des mesures effectués sur les capteurs aux différentes concentrations enzymatiques de la membrane en fonction de la concentration des bains en urée.

La figure 3.29, montre l'influence de la concentration enzymatique dans la couche. Tout d'abord, nous constatons une augmentation de la sensibilité avec la concentration en enzyme de la membrane. Puis à partir d'une concentration de 1% en enzyme de la membrane, il apparaît une saturation de la détection. Cela sous-entend que pour des concentrations supérieures au pourcent, la réaction est contrôlée par la diffusion. Nous considérons que les légères variations des réponses entre les capteurs à 1, 3 et 5 (environ 10 mV) à la saturation proviennent d'erreurs de mesure. Ainsi nous avons estimé la précision de mesure à $\pm 10\%$. Cette imprécision peut être reliée à la sensibilité du capteur, à la reproductibilité des phases de fonctionnalisation des capteurs (variation de la concentration enzymatique) à l'influence de l'électrode de référence Flexref,...

3.2.2.2 Adaptation du modèle au milieu d'analyse

La constante de Michaelis de l'enzyme utilisée donnée par le fabricant est de 1,3 mmol/L, et son activité enzymatique est donnée dans une fourchette de 15 à 50 unités par mg, nous

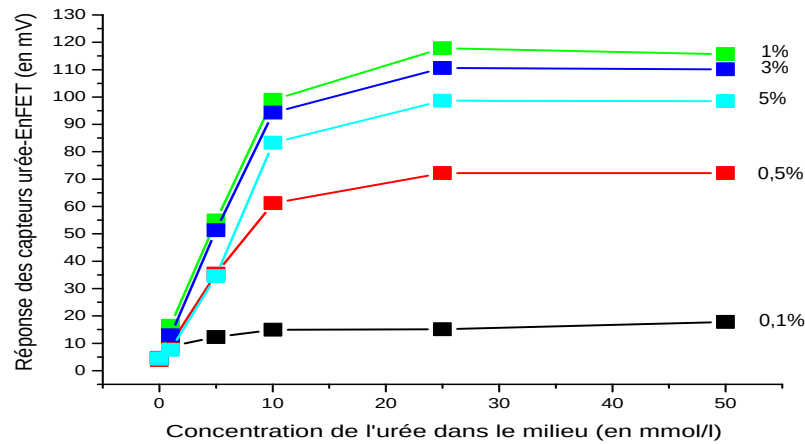


Figure 3.29: Réponse des capteurs urée-EnFETs en fonction de la concentration en urée, pour des membranes à concentrations enzymatiques différentes

considérons dans la suite que l'activité enzymatique est de 30 ± 15 unités par mg.

Caractéristique de la couche enzymatique :

- constante de Michaelis K_M de l'enzyme : $1,3 \text{ mmol/L}$
- concentration de l'uréase dans le PVA : 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 3 ; 5% en masse
- activité de l'enzyme : 30 ± 15 unités/mg

Caractéristique du milieu :

- tampon phosphate contenant 1 mmol/L d'EDTA
- gamme de concentration de l'urée $[0 : 50] \text{ mmol/L}$

Caractéristique de l'ISFET :

- sensibilité : 50 mV/pH

Dans le programme, nous avons défini N_{enz} comme étant le nombre d'unités enzymatiques par unité de volume contenu dans la couche PVA du capteur. Sa valeur est ainsi définie à partir des paramètres de la membrane de couche enzymatique.

L'alcool polyvinylique (PVA) est composé de 87% d'eau, sa masse volumique est de $1,32 \text{ g/cm}^3$ [Nakanishi 60] et il a été dilué à 25% en masse avec un tampon phosphate ayant sa masse volumique égale à celle de l'eau [Schiel 05]. La faible quantité d'uréase et d'EDTA contenue dans le composé PVA/tampon phosphate (EDTA)/enzyme ne contribue pas à faire changer la masse volumique. Ainsi, on définit la masse volumique du composé comme étant :

$$\rho_c = 0,25 * \rho_{PVA} + 0,75 * \rho_{TP} = 0,25 * 1,32 + 0,75 * 1 = 1,08 \text{ g/cm}^3$$

On considère un volume $V=1 \text{ mL}$, la masse du composé PVA/tampon phosphate (EDTA)/enzyme est alors :

$$N_{enz} = A * m_{enz} / volume$$

avec A : l'activité enzymatique (30 *unité/mg*)

m_{enz} la masse de l'enzyme contenue dans le volume de PVA/tampon phosphate (EDTA) pour le capteur à 1% massique d'enzyme.

La masse de l'enzyme est :

$$m_{enz} = m_c * 1\% = 10,8 \text{ mg}$$

avec m_c la masse de PVA/tampon phosphate (EDTA)/enzyme

$$m_c = V * \rho_c = 1,08 \text{ g}$$

ainsi :

$$N_{enz} = 324 \text{ unité/cm}^3$$

Ainsi, à partir des concentrations massiques des capteurs à 0,1 ; 0,5 ; 1 ; 3 et 5%, les nombres d'unités enzymatiques par unité de volume sont calculés et reportés dans le tableau suivant :

concentration massique	N_{enz} expérience (en <i>unités/cm</i> ⁻³)
0,1%	32,4 ± 16,2
0,5%	162 ± 81
1%	324 ± 162
3%	972 ± 486
5%	1620 ± 810

Table 3.1: N_{enz} donné par le fabricant en fonction de la concentration enzymatique de la membrane

Les constantes de diffusion utilisés dans le programme seront celles calculées avec l'équation d'Einstein (équation 3.15). Et comme pour les simulations déjà effectuées, les temps de simulation sont considérés à l'infini et la détection se fait à la surface du capteur ($x=0$).

Connaissant la composition chimique exacte du milieu d'analyse et de la couche enzymatique, nous allons intégrer ces caractéristiques dans notre modèle. La composition chimique du tampon phosphate/EDTA est :

- $NaCl$: 138 *mM/L*
- KCl : 3 *mM/L*
- Na_2HPO_4 : 6 *mM/L*
- KH_2PO_4 : 4 *mM/L*
- EDTA ou $C_{10}H_{16}N_2O_8$ qui est un tétra-acide noté AH_4 : 1 *mM/L*

Après hydrolyse de l'urée, il faut prendre en compte en plus de ces éléments chimiques l'ammoniaque et l'acide carbonique. Ainsi, les constantes d'acidité de ces composés chimiques sont :

- pour le NH_3 : $K_1 = 5,6.10^{-10} \text{ mol/L}$
- pour le H_2CO_3 : $K_2 = 4,3.10^{-7} \text{ mol/L}$ et $K_3 = 5,6.10^{-11} \text{ mol/L}$
- pour l'EDTA : $K_4 = 1.10^{-2}$; $K_5 = 2.10^{-3}$; $K_6 = 6,3.10^{-7} \text{ mol/L}$ et $K_7 = 6,3.10^{-11} \text{ mol/L}$
- pour le tampon phosphate (KH_2PO_4 et Na_2HPO_4) : $K_8 = 7,6.10^{-3} \text{ mol/L}$; $K_9 = 6,2.10^{-8} \text{ mol/L}$ et $K_{10} = 2,2.10^{-13} \text{ mol/L}$

Les équations chimiques décrivant ce système acido-basique sont donc :

$$\frac{[NH_3]h^+}{[NH_4^+]} = K_1 \quad (3.46)$$

$$\frac{[HCO_3^-]h^+}{[H_2CO_3]} = K_2 \quad (3.47)$$

$$\frac{[CO_3^{2-}]h^+}{[HCO_3^-]} = K_3 \quad (3.48)$$

$$\frac{[AH_3^-]h^+}{[AH_4]} = K_4 \quad (3.49)$$

$$\frac{[AH_2^{2-}]h^+}{[AH_3^-]} = K_5 \quad (3.50)$$

$$\frac{[AH^{3-}]h^+}{[AH_2^{2-}]} = K_6 \quad (3.51)$$

$$\frac{[A^{4-}]h^+}{[AH^{3-}]} = K_7 \quad (3.52)$$

$$\frac{[H_2PO_4^-]h^+}{[H_3PO_4]} = K_8 \quad (3.53)$$

$$\frac{[HPO_4^{2-}]h^+}{[H_2PO_4^-]} = K_9 \quad (3.54)$$

$$\frac{[PO_4^{3-}]h^+}{[HPO_4^{2-}]} = K_{10} \quad (3.55)$$

$$h^+[OH^-] = K_e \quad (3.56)$$

Les équations de conservation des composés acido-basiques sont données par :

$$[NH_3] + [NH_4^+] = C_1(t) \quad (3.57)$$

$$[H_2CO_3] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}] = C_2(t) \quad (3.58)$$

$$[AH_4] + [AH_3^-] + [AH_2^{2-}] + [AH^{3-}] + [A^{4-}] = C_A(t) \quad (3.59)$$

$$[H_3PO_4] + [H_2PO_4^-] + [HPO_4^{2-}] + [PO_4^{3-}] = C_P(t) \quad (3.60)$$

$$[Na^+] = [NaCl] + 2[Na_2HPO_4] = 138 + 2 * 6 = 150mM/L \quad (3.61)$$

$$[Cl^-] = [NaCl] + [KCl] = 138 + 3 = 141mM/L \quad (3.62)$$

$$[K^+] = [KCl] + [KH_2PO_4] = 3 + 4 = 7mM/L \quad (3.63)$$

Alors, l'équation d'électroneutralité est :

$$\begin{aligned} h^+ + [Na^+] + [K^+] + [NH_4^+] = & [OH^-] + [Cl^-] + [HCO_3^-] + 2[CO_3^{2-}] + [AH_3^-] + 2[AH_2^{2-}] \\ & + 3[AH^{3-}] + 4[A^{4-}] + [H_2PO_4^-] + 2[HPO_4^{2-}] + 3[PO_4^{3-}] \end{aligned} \quad (3.64)$$

La résolution des équations 3.46 à 3.64 est extrêmement lourde et il convient de faire les approximations simplificatrices liées aux équilibres acido-basiques en présence.

La constante de dissolution K_a est donnée par la relation 3.65 :

$$K_a = \frac{[A^-]h^+}{[AH]} \Longleftrightarrow \frac{K_a}{h^+} = \frac{[A^-]}{[AH]} \quad (3.65)$$

Ainsi on supposera dans la suite que :

$$[A^-] \ll [AH] \Longleftrightarrow K_a \ll h^+ \Longleftrightarrow pK_a \geq pH + 2$$

$$[A^-] \gg [AH] \Longleftrightarrow K_a \gg h^+ \Longleftrightarrow pK_a \leq pH - 2$$

Les études précédentes ont montré que le pH est compris entre 7 et 10, ainsi nous pouvons supposer que :

$$- [A^{4-}] \ll [AH_3^-] \ll [AH_2^{2-}]$$

$$- [H_3PO_4] \ll [H_2PO_4^-]$$

$$- [PO_4^{3-}] \ll [HPO_4^{2-}]$$

Ainsi, on arrive à :

$$h^+ + C_E + \frac{C_1 h^+}{h^+ + K_1} = \frac{K_e}{h^+} + C_2 \frac{K_2 h^+ + 2K_2 K_3}{h^{+2} + K_2 h^+ + K_2 K_3} + C_A \frac{h^{+2} + 2K_6 h^+ + 3K_6 K_7}{h^{+2} + K_6 h^+ + K_6 K_7} + C_P \frac{K_9}{h^+ + K_9} \quad (3.66)$$

les constantes $K_1, K_2, K_3, K_6, K_7, K_9, K_e, C_A, C_P$ et C_E étant connues. La résolution de cette équation permettant de définir le pH en tout point et à chaque instant de la solution est fonction seulement des concentrations des produits de la réaction enzymatique. Soit l'ammoniac et l'acide carbonique et leurs dérivés : C_1, C_2 , qui sont données par la résolution de Fick et de la cinétique de la réaction enzymatique.

Ainsi, avec cette nouvelle équation qui prend en compte le milieu d'analyse réel, le pH initial est connu ainsi que toutes les espèces participant à la variation du pH. Ce qui permet de s'affranchir dans le modèle de la variable C_t , qui servait à assurer l'électroneutralité de la solution, en tenant compte de son pH initial et des espèces interférentes (équation 3.42).

Cette équation est intégrée au programme *MATLAB*® ainsi que les paramètres de la couche enzymatique.

3.2.2.3 Comparaison du modèle aux résultats expérimentaux

Les résultats expérimentaux ont montré que pour la membrane de 1%, 3% et 5% de concentration massique en enzyme, nous nous trouvons en saturation. Ainsi, il est impossible de dire si la valeur N_{enz} calculée en fonction de la masse d'enzyme ajoutée au mélange PVA/solution tampon/EDTA correspond à la valeur calculée par le modèle. Pour ce faire, il est préférable de comparer les résultats de l'expérience réalisée avec le capteur contenant 0,5% en masse de concentration enzymatique.

La prise en compte du milieu, avec la résolution de l'équation d'électroneutralité en fonction des différents composés acido-basiques donne un pH initial égal à 6,8, ce qui concorde avec la valeur réelle du tampon utilisé pour les mesures expérimentales. Cette valeur de 6,8 a d'ailleurs été choisie comme référence de potentiel pour les courbes de réponse des capteurs urée-EnFETs.

La figure 3.30 montre les réponses issues du modèle et la réponse issue des mesures expérimentales pour le capteur urée EnFET à 0,5% massique de concentration enzymatique en fonction de la concentration en urée du milieu d'analyse. L'activité enzymatique étant donnée dans une fourchette de valeurs (15 à 45 unités/mg), ces valeurs extrêmes sont représentées (réponse pour $N_{enz}=81$ et $243 \text{ unités/cm}^{-3}$ cf. tableau 3.1). Il apparaît dans un premier temps que la courbe expérimentale est bien comprise dans la fourchette de valeurs. D'autre part, grâce au modèle, nous avons pu déterminer, aux erreurs de mesure près, la valeur de la quantité enzymatique volumique interagissant au sein de la membrane qui est d'environ $145 \text{ unités/cm}^{-3}$. Par la suite, cette valeur sera prise pour référence dans les comparaisons des

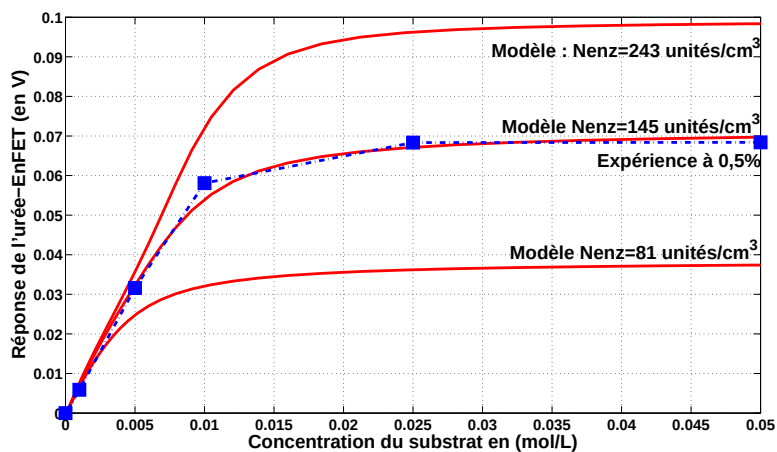


Figure 3.30: Comparaison modèle-expérience de la réponse de l'urée-EnFET à 0,5%

différents capteurs utilisés dans notre étude, les valeurs ainsi définies pour chacun des capteurs sont reportées dans le tableau suivant :

concentration massique	N_{enz} expérience (en $unités/cm^{-3}$)
0,1%	29
0,5%	145
1%	290
3%	870
5%	1540

Table 3.2: N_{enz} déterminé à partir du modèle et en fonction de la concentration enzymatique de la membrane

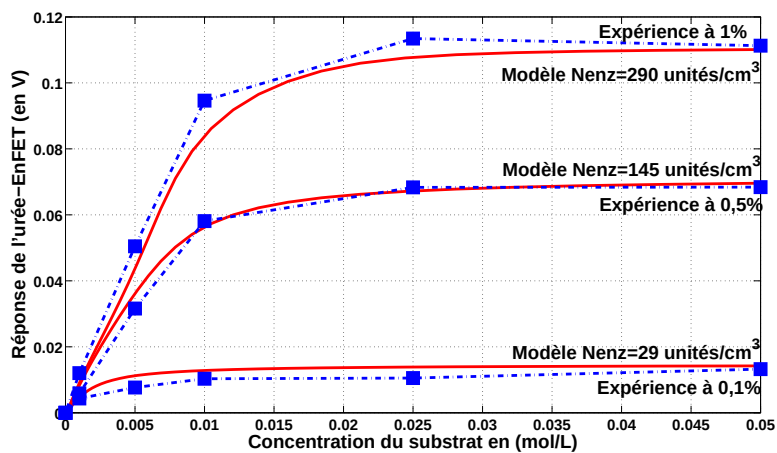


Figure 3.31: Comparaison modèle-expérience de la réponse de l'urée-EnFET à 0,1 ; 0,5 et 1%

La figure 3.31 montre la comparaison entre les réponses expérimentales des capteurs à 0,1% ; 0,5% ; 1% et les réponses du modèle pour $N_{enz}=29 ; 145 ; 290 \text{ unités/cm}^{-3}$. Nous constatons que les prévisions du modèle sont en accord avec les réponses expérimentales ce qui montre encore la robustesse du modèle. Pour les capteurs à 3% et 5% la réponse de ces capteurs est contrôlée par le diffusion et non pas par la réaction enzymatique. De ce fait, toutes les valeurs de quantité d'enzyme N_{enz} supérieures à la valeur de saturation peuvent coller aux courbes expérimentales. On considère qu'une concentration massique de 1% d'enzyme dans la membrane est à la limite avant la saturation.

Nous avons estimé que les légères variations entre les courbes à 1% ; 3% et 5% provenaient d'erreurs de mesure liées peut être à la sensibilité propre à chacun des capteurs. L'étude des pH-ISFETs (chapitre 2) montrait que la sensibilité au pH des ISFETs fabriqués au LAAS est de l'ordre de 50 mV/pH, lorsque la solution est polarisée par une électrode Flexref. La figure 3.32 présente la comparaison des courbes expérimentales au courbes de simulation ayant des sensibilités différentes (47 ; 49 et 52 mV/pH) autour de la valeur moyenne.

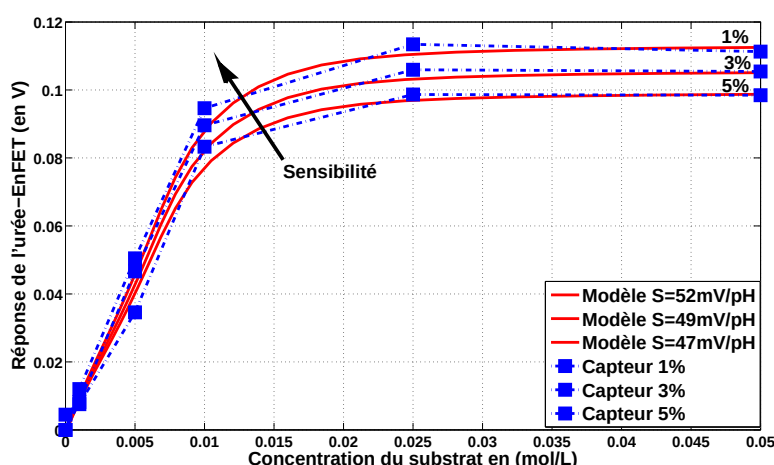


Figure 3.32: Comparaison modèle-expérience de la réponse de l'urée-EnFET à 1% ; 3% et 5%

Cette figure montre que les variations entre les différentes réponses des capteurs sont principalement reliées à la disparité de sensibilité entre les différents capteurs issus d'un même procédé de fabrication.

Ainsi, toute cette étude de comparaison entre l'expérience et le modèle a d'abord montré la justesse et la robustesse du modèle. Puis nous avons montré l'influence de la quantité d'enzyme de la membrane par le modèle et par des mesures expérimentales. La comparaison des deux a permis de déterminer la quantité d'enzyme active dans la membrane par une approche novatrice grâce au modèle établi, ces résultats montrent l'intérêt de la modélisation. Enfin tous ces résultats permettent de valider notre modèle.

3.3 Etude des capteurs urée-EnFETs réalisés par la société HEMODIA

3.3.1 Réalisation et fonctionnalisation des capteurs par Hémodia

Pour des raisons de confidentialité : le procédé de réalisation et de fonctionnalisation des capteurs urée-EnFETs HEMODIA ne sera pas détaillé. Nous nous bornerons simplement à comparer les procédés LAAS et HEMODIA en fonction de nos connaissances.

Procédé LAAS :

- pH-ChemFET SiO_2/Si_3N_4 (50 mV/pH)
- électrode de grille Flexref
- intégration des couches enzymatiques à la microseringue
- mesure directe de l'urée-EnFET
- volume d'analyse $\simeq 50 \text{ cm}^3$

Procédé HEMODIA (figure 3.33) :

- pH-ChemFET SiO_2/Si_3N_4 (50 mV/pH)
- électrode de référence en or
- intégration des couches enzymatiques par jet d'encre
- mesure différentielle urée-EnFET/pH-ChemFET
- volume d'analyse $\simeq 50 \text{ mm}^3$

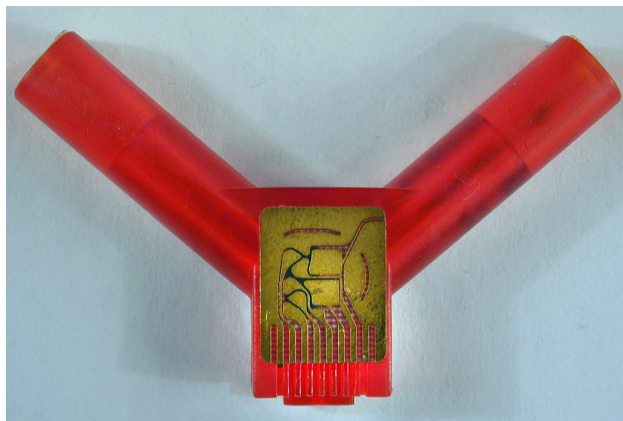


Figure 3.33: Photographie de la cellule urée-EnFET d'analyse HEMODIA

3.3.1.1 Présentation des résultats expérimentaux des EnFETs de la société HEMODIA

Les résultats expérimentaux ont été fournis par la société HEMODIA, suivant le protocole suivant :

- bain 1 : solution tampon ne contenant pas d'urée durant 15 minutes
- bain 2 : solution tampon contenant 1 mmol/L d'urée durant 15 minutes
- bain 3 : solution tampon contenant 5 mmol/L d'urée durant 15 minutes

- bain 4 : solution tampon contenant 10 *mmol/L* d'urée durant 15 minutes
- bain 5 : solution tampon contenant 25 *mmol/L* d'urée durant 15 minutes

Les mesures issues de l'urée-EnFET et du pH-ISFET sont relevées, seule la mesure différentielle qui permet de s'affranchir de toutes variations de pH et tout autre perturbation extérieure (luminosité, température,...) est ici présentée.

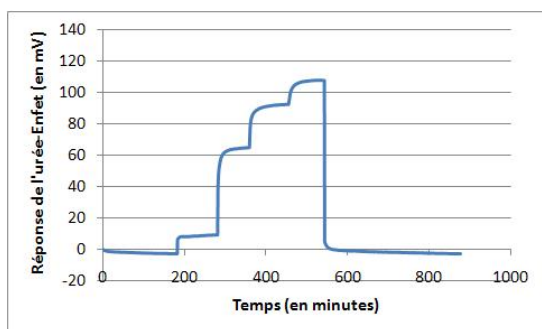


Figure 3.34: Réponse temporelle des EnFETs

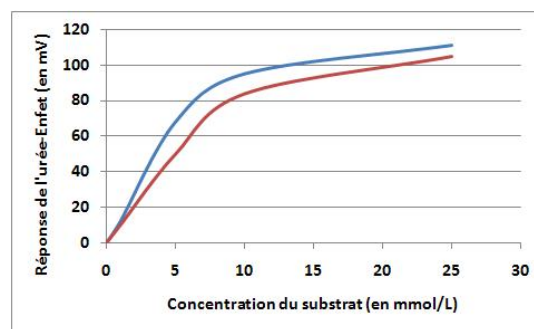


Figure 3.35: Réponse de l'EnFET en fonction de la concentration de la solution en urée

Les résultats de caractérisation des EnFETs de HEMODIA (figure 3.34 et 3.35) montrent la réponse de l'urée-EnFET. Nous constatons une excellente sensibilité à la concentration de l'urée, avec une stabilité du biocapteur de la réponse à concentration constante.

3.3.1.2 Adaptation du modèle au milieu d'analyse réel

Le milieu d'analyse étant le même que celui utilisé pour l'étude des biodétecteurs réalisés au LAAS, les équations acido-basiques restent les mêmes. Ainsi pour comparer le modèle aux courbes expérimentales, les valeurs des coefficients de diffusion sont celles calculées avec l'équation d'Einstein (équation 3.15). L'enzyme utilisé par la société HEMODIA n'étant pas le même, la valeur de la constante de Michaelis et le nombre d'unité volumique sont non connus pour des raisons de confidentialité. Cependant la quantité d'unité enzymatique volumique sera considérée en excès : nous nous trouvons donc en saturation ($N_{enz} > 290 \text{ unités/cm}^{-3}$) et le K_M sera défini par le modèle en fonction de la gamme de détection.

Le K_M intervient dans la relation de consommation/production 3.67 :

$$g = K * \frac{[S]}{[S] + K_M} \quad (3.67)$$

La constante de Michaelis est définie comme étant la concentration en substrat pour laquelle la vitesse initiale de la réaction correspond à la moitié de la vitesse maximale [Michaelis 13]. Les mesures ont montré que la variation en tension sature à 110 mV ($g = g_{sat}$), ainsi on définit K_M comme étant égale à la concentration du substrat lorsque la variation de tension est de 55 mV, ce qui correspond à $\simeq 4 \text{ mmol/L}$ sur la figure 3.35. Ainsi les paramètres pris en compte dans la

modélisation sont :

Caractéristique de la couche enzymatique :

- constante de Michaelis K_M de l'enzyme : 4 mmol/L
nombre d'unité enzymatique par unité de volume : $300 \text{ unités/cm}^{-3}$

Caractéristique du milieu :

- tampon phosphate contenant 1 mmol/L d'EDTA
- gamme de concentration de l'urée $[0 : 25] \text{ mmol/L}$

Caractéristique de l'ISFET :

- sensibilité : 50 mV/pH

3.3.1.3 Comparaison du modèle aux résultats expérimentaux

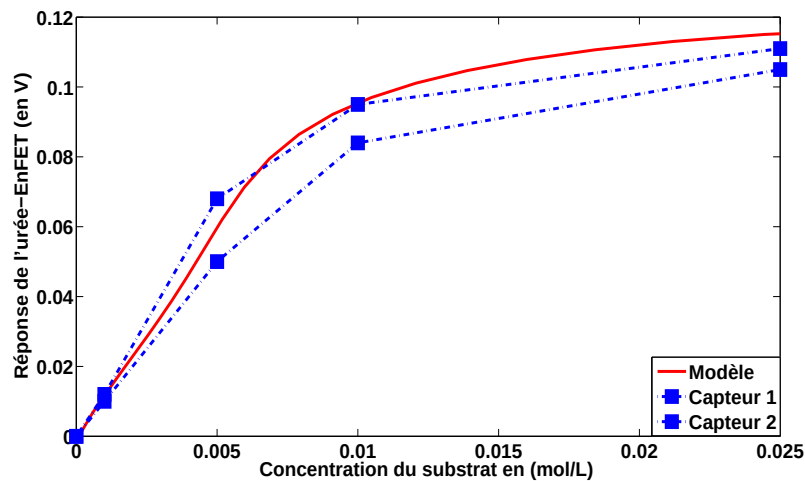


Figure 3.36: Réponse de deux capteurs HEMODIA et du modèle dans la gamme 0-25 mmol/L

Tout d'abord, nous notons sur la figure 3.36 que le modèle est très proche des valeurs expérimentales. Ces résultats montrent la concordance entre les valeurs simulées et les valeurs expérimentales, ce qui permet de valider le modèle établi. Pour expliquer le petit écart entre les réponses expérimentales des deux capteurs, nous avons entrepris d'étudier l'influence de chaque paramètre du modèle, pour déterminer lesquels sont différents des valeurs théoriques. Les paramètres étudiés sont, la constante de Michaelis K_M , la concentration initiale en EDTA dans le tampon, la concentration de l'enzyme dans la couche de PVA N_{enz} , et la sensibilité du capteur.

- Pour la concentration d'EDTA : Celle-ci influe sur le pH initial du milieu d'analyse or nous avons retrouvé le pH attendu (6,8), ce qui écarte ce paramètre de notre étude.
- Pour la constante de Michaelis K_M : Nous avons montré que cette valeur permet de faire varier la gamme d'analyse. Nous ne sommes pas parvenu à mieux approcher la courbe expérimentale, en raison de la limitation au faible concentration due à la diffusion, ce qui

écarte ce paramètre de notre étude.

Ainsi, nous considérons que ces valeurs sont justes, et que l'écart provient soit de la quantité d'enzyme N_{enz} contenue dans la membrane soit de la sensibilité au pH du capteur. Le N_{enz} fait varier la sensibilité du biocapteur comme nous avons pu le voir dans l'étude précédente. Nous avons affirmé au départ que la quantité d'enzyme est supérieure à la valeur de saturation ($300 \text{ unités/cm}^{-3}$). Or, nous ne connaissons pas les caractéristiques de ces capteurs, nous avons seulement à partir des valeurs expérimentales déterminé le K_m et une valeur de N_{enz} . Les simulations montrent qu'à partir d'environ $250 \text{ unités/cm}^{-3}$, c'est la diffusion qui contrôle la réaction et nous atteignons la saturation.

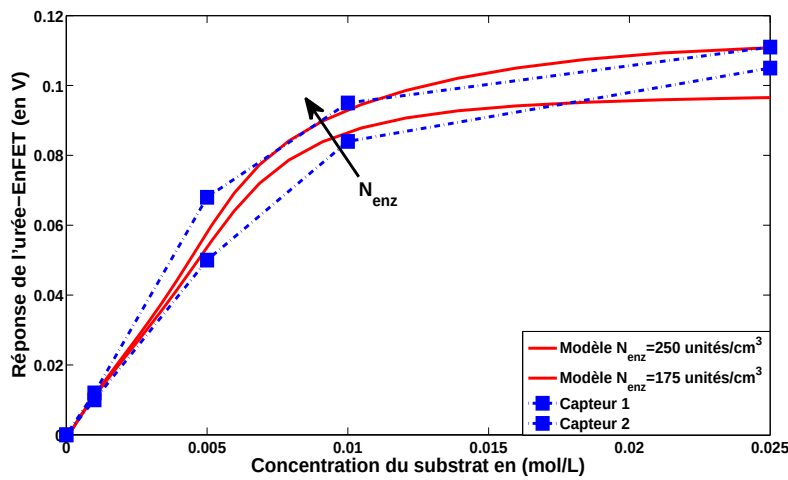


Figure 3.37: Réponse du capteur HEMODIA et du modèle pour $N_{enz} = 250 ; 175 \text{ unités/cm}^{-3}$

La figure 3.37 montre la variation de la réponse du capteur calculée par le modèle en fonction de la valeur de la quantité d'enzymes contenue dans la membrane. Nous savons que la quantité d'enzymes actives dans la membrane peut varier en fonction du temps liée au vieillissement de l'enzyme. A la vue de ces résultats, il est possible d'expliquer que les variations de réponse entre les deux capteurs proviennent du vieillissement de l'enzyme. En effet, si l'on considère que le capteur le plus sensible (capteur 1) a une quantité d'enzyme de $250 \text{ unités/cm}^{-3}$, et que le capteur 2 soit un capteur qui aurait perdu 30% de la quantité d'enzyme active suite à un vieillissement, il est possible d'avoir ces écarts entre les réponses expérimentales. Ceci n'est qu'une hypothèse qui ne pourra être vérifiée puisque nous ne possédons pas les détails sur les conditions de mesures expérimentales.

Ces écarts peuvent encore provenir d'un autre paramètre : la sensibilité. En effet, nous avons considéré que les capteurs ont une sensibilité de 50 mV/pH , ce qui avait été obtenu lors des caractérisations de capteurs LAAS avec une électrode de polarisation Flexref. Or, nous avons montré dans le chapitre 2 que la sensibilité dépend du matériau de polarisation, et que chaque capteur d'un même procédé de fabrication peut avoir des sensibilités légèrement différentes.

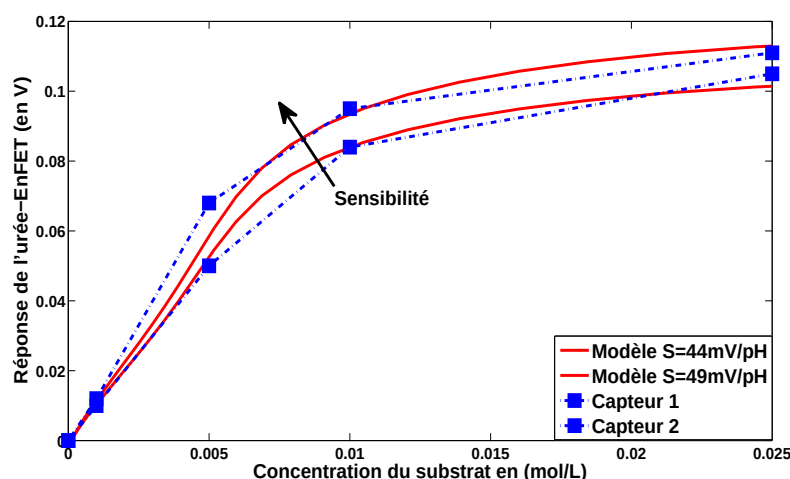


Figure 3.38: Réponse du capteur HEMODIA et du modèle pour des sensibilités au pH $S=44$; 49 mV/pH .

La figure montre l'influence de la variation de la sensibilité sur la réponse du capteur et les réponses expérimentales. Cela démontre qu'une faible variation de la sensibilité peut expliquer aussi les variations sur les réponses expérimentales. Lors des mesures, l'électrode de polarisation utilisée est une microélectrode en or, ce qui peut expliquer les plus faibles sensibilités obtenues.

Finalement les deux pistes : variation de la quantité d'enzyme N_{enz} , ou variation de la sensibilité du capteur peuvent expliquer les écarts entre les courbes. Ainsi cela montre que le modèle permet d'expliquer certains phénomènes observés sur les réponses expérimentales.

Cette étude de comparaison de mesures expérimentales des capteurs de la société HEMODIA avec le modèle établi, montre dans un premier temps la robustesse du modèle. De plus cela montre qu'il peut s'appliquer à tout capteur urée-EnFET dont le milieu d'analyse est connu. Nous avons montré que même si tous les paramètres ne sont pas connus, il est possible d'en déterminer une approximation grâce au modèle. Enfin, le modèle peut apporter des explications sur des phénomènes observés sur la réponse du capteur, et permet de cibler le(s) défaut(s).

3.4 Conclusion

L'état de l'art a montré le manque de modèles disponibles pour le capteur enzymatique EnFET, et la nécessité de développer des modèles qui soient complets et robustes. Notre travail a consisté à établir les équations du système physico-chimique de la structure ChemFET/membrane enzymatique/milieu d'analyse et de les intégrer dans un programme informatique. Ce dernier est un véritable outil pour la compréhension des mécanismes physico-chimiques et la prédiction des comportements des capteurs enzymatiques créatinine-EnFET et urée-EnFET et est adaptable à tout type d'hydrolase-EnFET (ou EnFET assimilés). Nous avons ainsi mis en évidence le fonctionnement et réalisé une étude des facteurs influents sur la réponse potentiométrique des biodétecteurs.

Une étude de comparaison entre des mesures expérimentales et le modèle a permis de vérifier la robustesse du modèle. Aussi, cette étude a permis de montrer l'influence de la concentration enzymatique d'une membrane sur la sensibilité, et de déterminer la valeur de cette concentration enzymatique. De plus, il est adaptable à tout capteur dont les conditions de mesure sont connues (équations acido-basiques). Il peut même déterminer les paramètres enzymatiques d'une membrane simplement à partir des mesures expérimentales. Enfin le modèle peut aussi aider à la compréhension de phénomènes observés lors des caractérisations de ces biodétecteurs.

Références bibliographiques

- [Bergveld 70] P. Bergveld. *Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements*. IEEE Transactions on Bio-Medical Engineering, vol. 17, no. 1, pages 70–71, 1970.
- [Bergveld 03] P. Bergveld. *Thirty years of ISFETOLOGY What happened in the past 30 years and what may happen in the next 30 years*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 88, no. 1, pages 1–20, 2003.
- [Boeglin 09] J-C. Boeglin. *Contrôle des eaux douces et de consommation humaine*. Techniques de l'ingénieur, 2009.
- [Bousse 82] L.J. Bousse. *The chemical sensitivity of electrolyte/insulator/silicon structures : fundamentals of ISFET operation*. Thèse de doctorat, Technische Hogeschool Twente, 1982.
- [Frank 96] M.J.W. Frank, J.A.M. Kuipers & W.P.M. van Swaaij. *Diffusion coefficients and viscosities of CO_2^+ H_2O , CO_2^+ CH_3OH , NH_3^+ H_2O , and NH_3^+ CH_3OH liquid mixtures*. J. Chem. Eng. Data, vol. 41, no. 2, pages 297–302, 1996.
- [Jaffrezic-Renault 91] N. Jaffrezic-Renault, JM Chovelon, H. Perrot, P. Le Perchec & Y. Chevalier. *Ion-sensitive field-effect transistor sensors with a covalently bound monolayer membrane : example of calcium detection*. Sensors and Actuators B, vol. 5, pages 67–70, 1991.
- [Janata 94] J. Janata, M. Josowicz & M. DeVaney. *Chemical Sensors*. Analytical Chemistry, vol. 66, no. 12, pages 207–228, 1994.
- [Michaelis 13] L. Michaelis & ML Menten. *Kinetics of invertase action*. Biochem. Z, vol. 49, pages 333–369, 1913.
- [Michel 92] P. Michel. *Physiologie renale et desordres hydroelectrolytiques*. Hermann, ed. des sciences et des arts Paris, 1992.

- [Monsan 09] P. Monsan & D. Combes. *Biocatalyse ou catalyse enzymatique*. Techniques de l'ingénieur, 2009.
- [Nakanishi 60] K. Nakanishi & M. Kurata. *Density Measurement in Dilute Aqueous Solution of Polyvinyl Alcohol*. Bulletin of the Chemical Society of Japan, vol. 33, no. 2, pages 152–157, 1960.
- [Oesch 81] U. Oesch, S. Caras & J. Janata. *Field effect transistors sensitive to sodium and ammonium ions*. Analytical Chemistry, vol. 53, no. 13, pages 1983–1986, 1981.
- [Pourciel-Gouzy 04] M.L. Pourciel-Gouzy. *Développement d'interfaces adaptées aux analyses biochimiques et biologiques - Application aux capteurs chimiques CHEMFETs*. Thèse de doctorat, INSA de Toulouse, 2004.
- [Pourciel 03] ML Pourciel, J. Launay, W. Sant, V. Conédéra, A. Martinez & P. Temple-Boyer. *Development of photo-polymerisable polyvinyl alcohol for biotechnological applications*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 94, no. 3, pages 330–336, 2003.
- [Sant 03] W. Sant, ML Pourciel, J. Launay, T. Do Conto, A. Martinez & P. Temple-Boyer. *Development of chemical field effect transistors for the detection of urea*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 95, no. 1-3, pages 309–314, 2003.
- [Sant 04] W. Sant. *Développement des microcapteurs chimiques CHEMFETs pour des applications à l'hémodialyse*. Thèse de doctorat, UPS de Toulouse, 2004.
- [Schiel 05] J.E. Schiel & D.S. Hage. *Density measurements of potassium phosphate buffer from 4 to 45 C*. Talanta, vol. 65, no. 2, pages 495–500, 2005.
- [Soldatkin 00] AP Soldatkin, V. Volotovskiy, AV Elšskaya, N. Jaffrezic-Renault & C. Martelet. *Improvement of urease based biosensor characteristics using additional layers of charged polymers*. Analytica Chimica Acta, vol. 403, no. 1-2, pages 25–29, 2000.
- [Soldatkin 02] AP Soldatkin, J. Montoriol, W. Sant, C. Martelet & N. Jaffrezic-Renault. *Development of potentiometric creatinine-sensitive biosensor based on ISFET and creatinine deiminase immobilised in PVA/SbQ photopolymeric membrane*. Materials Science & Engineering C, vol. 21, no. 1-2, pages 75–79, 2002.

- [Sorell 82] LS Sorell & AS Myerson. *Diffusivity of urea in concentrated, saturated and supersaturated solutions*. AIChE Journal, vol. 28, no. 5, pages 772–779, 1982.
- [Temple-Boyer 06] P. Temple-Boyer, J. Le Gal, ML Pourciel-Gouzy, W. Sant & A. Martinez. *Modelling of EnFETs for the creatinine detection*. Sensors & Actuators : B. Chemical, vol. 118, no. 1-2, pages 47–52, 2006.
- [Van den Berg 88] A. Van den Berg. *Ion sensors based on ISFETs with synthetic ionophores*. University of Twente, The Netherlands, 1988.

Conclusion générale

Les travaux présentés dans ce mémoire ont consisté au développement de capteurs électrochimiques ChemFETs et à la réalisation d'un modèle de simulation de ces derniers dans leur environnement. L'objectif de la thèse était de comprendre les phénomènes mis en jeu, lors de la détection enzymatique afin de l'optimiser pour la gamme de l'hémodialyse dans le cadre du projet CAPTOMED avec la collaboration de la société Hémodia.

L'état de l'art des modélisations de cette famille de composants a montré les disparités de travaux disponibles, entre le MOSFET, l'ISFET et l'EnFET. Pour le MOSFET énormément de travaux ont permis de modéliser avec une prise en compte presque totale de tous les paramètres influents et leurs effets. Pour l'ISFET, nous avons montré que des modèles robustes et fiables ont permis d'intégrer les paramètres influents qu'ils soient chimiques ou électroniques. Et pour l'EnFET, ce sont principalement des modèles de l'ISFET qui ont été adaptés, où souvent les réactions acido-basiques et/ou la diffusion des espèces ne sont pas prises en compte. Ces carences montrent la nécessité de développer un modèle de l'EnFET permettant une prise en compte de tous les phénomènes interagissant lors de la mesure.

L'un des principaux soucis en électrochimie est la stabilité de la tension de polarisation d'une solution. D'excellentes électrodes de référence sont disponibles sur le marché mais leurs principaux défauts restent le prix et la taille. Nous avons montré par des comparaisons de différents matériaux que l'utilisation d'une électrode Ag/AgCl permet d'obtenir des réponses stables dans le temps, avec à l'esprit la possibilité de les intégrer sur une puce ChemFET.

Nous avons présenté le procédé de fabrication développé au sein de la centrale technologique du LAAS-CNRS, et ses limites. Les premières caractérisations ont mis en évidence un important courant de fuite. Ainsi une étude a été réalisée afin de déterminer son origine et afin de développer une procédure permettant de le réduire. De ce fait, nous avons développé une technique de décontamination de la surface (plasma oxygène), qui a permis de limiter fortement le courant de fuite provoqué par des résidus métalliques. Nous avons mis au point un nouveau procédé de fabrication utilisant une autre technique de métallisation dans le but d'éviter ces contaminations et les traitements nécessaires. En effet, ces procédures de nettoyage ont pour effet de modifier la tension de seuil et l'état de surface du nitrure de silicium. Grâce à la technique du lift-off, le courant de fuite s'en trouve nettement réduit et le plasma oxygène a pu être évité.

Les résultats obtenues avec ces pH-ChemFETs combinés à l'utilisation d'une électrode filaire en Ag/AgCl pour la polarisation de l'électrolyte, ont donné satisfaction. Le but étant d'intégrer la microélectrode, lors de la fabrication des ChemFETs une électrode en or a été déposée sur la puce. Les résultats ont montré d'importants artefacts quelle que soit la méthode de dépôt utilisée. Les bons résultats obtenus avec l'électrode filaire Ag/AgCl et les mauvais obtenus avec les microélectrodes en or, nous ont conduit à développer une technique de fabrication de microélectrode Ag/AgCl. Le procédé de dépôt d'argent ayant été validé, nous avons utilisé deux techniques de chloration de l'argent, l'une simple par une réaction chimique instantanée du $FeCl_3$, l'autre par voie électrochimique. Après comparaison, ces deux procédés de chloration ont donné une grande satisfaction et des résultats de mesure comparables. Ainsi une puce tout intégrée offrant d'excellents résultats de mesure a été développée. Celle-ci nécessite le passage à l'Ag/AgCl pour l'électrode intégrée en utilisant la voie chimique pour chlorer l'électrode. Cette technique de chloration est préférée pour sa simplicité et surtout en vue de réaliser des électrodes Ag/AgCl collectivement, ce qui réduira fortement les coûts.

Néanmoins au vue de ces résultats encourageants, des développements futurs sont nécessaires pour mettre en place une procédure de réalisation d'électrode Ag/AgCl collective. La technologie développée nécessite le dépôt de quatre métaux, le titane, l'or, le platine et l'argent, ce qui ajoute des étapes de fabrication supplémentaires et donc des risques croissants de contamination. Il doit être envisagé de réduire le nombre de couches de métaux, en particulier au niveau de la prise de contact où nous avons avec ce procédé trois métaux superposés titane/platine/or. L'argent étant nécessaire et ayant besoin de couches d'accroche, il serait judicieux d'utiliser cette couche d'accroche pour servir de prise de contact. Celle-ci doit impérativement permettre la soudure pour l'encapsulation sur un support PCB.

L'objectif principal de la thèse était de réaliser un modèle de l'EnFET qui prend en compte tous les paramètres physico-chimiques influent à savoir la réaction enzymatique, la diffusion, les réactions acido-basiques, la réponse potentiométrique du composant à effet de champs, et en plus d'intégrer le déplacement du fluide en régime dynamique. Ainsi nous avons créé un modèle de l'urée-EnFET et du créatinine-EnFET, qui prend en compte tous ces effets. L'étude des deux modèles a permis d'expliquer les mécanismes agissant lors de la détection, de mettre en lumière les principaux paramètres influents sur la réponse du biocapteur. Les modèles ont permis de comprendre les effets de ces grandeurs au sein de la zone de détection de l'EnFET. Cette étude montre qu'il est impérativement nécessaire de contrôler ces paramètres pour la détection de ces deux protéines dans la gamme de l'hémodialyse.

Nous avons fini cette étude par une comparaison du modèle avec des résultats expérimentaux issus de caractérisation de biodétecteurs urée-EnFETs que nous avons réalisé au LAAS dans le cadre de la thèse et des biodétecteurs fabriqués au sein de la société HEMODIA. Nous avons adapté le modèle pour prendre en compte le milieu d'analyse, ce qui le rend plus complexe. Les

résultats de ces comparaisons ont permis de valider le modèle établi. Le modèle développé est générique, il est possible de l'adapter afin de simuler le fonctionnement d'EnFET dédié à la détection d'autres protéines. Parallèlement à ces travaux de thèse des études sont en cours pour créer un modèle d'EnFET dédié à la détection du glutamate.

Néanmoins, nous nous sommes limités à étudier le capteur urée-EnFET dans un milieu d'analyse contenant beaucoup moins d'espèces interférentes que le dialysat où les capteurs sont destinés à être placés. Il faut pour une simulation en situation réelle de la réponse du capteur urée-EnFET prendre en compte le dialysat. Nous avons démontré la complexité de mettre en place les équations acido-basiques pour un tampon, mais cette complexité sera d'autant plus grande pour le dialysat car possédant plus d'espèces interférentes. Il est aussi intéressant de faire la même étude de comparaison entre le modèle du capteur créatinine-EnFET et des résultats expérimentaux, et de comparer les effets d'autres facteurs influents comme le flux.

Ainsi, il est maintenant possible d'envisager le développement de plate-formes génériques de modélisation, de conception et de réalisation des composants EnFETs afin d'ouvrir le champ de leurs applications dans le cadre d'applications liées au domaine de la santé, de l'environnement et de l'agro-alimentaire.

Liste des figures

1.1	Description de la structure du MOSFET	18
1.2	Description de la structure du ISFET	20
1.3	Redistribution du potentiel et de la charge à l'interface oxyde/électrolyte	21
1.4	Redistribution du potentiel et de la charge à l'interface solide/électrolyte	22
1.5	Présentation schématique du "site-binding" modèle	23
1.6	Nombre de paramètres des modèles compacts en fonction de leur année d'introduction.	27
1.7	(a) Circuit électrique équivalent de l'ISFET. (b) Bloc de l'ISFET sous HSPICE avec ses connections drain, source, substrat, électrode de ref (R), pH de la solution considérée	28
1.8	Exemple d'utilisation du macromodèle de l'ISFET pour la simulation d'un circuit complexe	29
1.9	pH-biotélémetre réalisé à partir d'un ISFET	29
1.10	Schéma du modèle du capteur conductimétrique de l'urée	31
1.11	Schéma de l'EnFET de Caras	32
1.12	Diagramme du systeme FIA-ISFET	32
2.1	Dessin de masque sur Clewin	46
2.2	Oxydation de masquage	47
2.3	Photogravure de l'oxyde de masquage	48
2.4	Oxydation de pré-implantation	49
2.5	Implantation du caisson d'isolation	49
2.6	Recuit de diffusion du caisson Pwell	50
2.7	Photolithographie de la zone P^+	50
2.8	Implantation de la zone de contact P^+	50
2.9	Photolithographie des caissons source-drain	51
2.10	Implantation des caissons source-drain	51
2.11	Recuit de redistribution sous ambiance oxydante	52
2.12	Photogravure de la grille	52
2.13	Oxydation de grille	54
2.14	Dépôt du nitrure de silicium	54
2.15	Ouverture des contacts	55
2.16	Dépôt pleine plaque Ti/Or	55

2.17	Photogravure des contacts	56
2.18	Plaquette de composants ChemFETs	58
2.19	Composant après découpe	59
2.20	Après le report, le bonding et l'enrobage	59
2.21	Bâtonnet de caractérisation en milieu aqueux	59
2.22	Banc de mesure $I(V)$	60
2.23	Banc de caractérisation en continue	61
2.24	Photographie du banc de caractérisation	61
2.25	Capture de l'écran de pilotage du logiciel dédié	61
2.26	Tracé de la caractéristique $I_{ds} = f(V_{ds})$	63
2.27	Tracé de la caractéristique $I_{ds} = f(V_{gs})$ pour différentes tensions appliquées au drain	63
2.28	Evolution de la réponse Vs de l'ISFET aux variations de la concentration hydrogène en continu	65
2.29	Sensibilité avec l'électrode FLEXREF	66
2.30	Sensibilité de l'ISFET avec un fil d'or utilisé en électrode de polarisation	66
2.31	Sensibilité de l'ISFET avec un fil d'Ag/AgCl utilisé en électrode de polarisation	67
2.32	Dérive du pH-ISFET polarisé en continue par les différentes électrodes	68
2.33	Dérive du pH-ISFET polarisé en discret par les différentes électrodes	69
2.34	Réponse du pH-ISFET en fonction du pH et de l'électrode utilisée	70
2.35	Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée	71
2.36	Passage du courant du fuite possible selon les hypothèses 1 et 2	72
2.37	Courant drain-source I_{ds} en fonction de la tension appliquée à l'électrode isolée de la grille du composant	73
2.38	Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée après le bain d'acide fluorhydrique tamponné	74
2.39	Sensibilité de l'ISFET après un bain de buffer HF, avec le milieu polarisé par un fil d'Ag/AgCl	75
2.40	Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée après traitement plasma oxygène	75
2.41	Sensibilité de l'ISFET après un traitement plasma O_2 , avec le milieu polarisé par un fil d'Ag/AgCl	76
2.42	Evolution de courant de fuite en fonction du temps de traitement plasma	77
2.43	Evolution de la tension de seuil en fonction du temps de traitement plasma	78
2.44	Evolution de l'angle de contact en fonction du temps de traitement plasma	79
2.45	Evolution de l'angle de contact en fonction du temps de traitement plasma	80
2.46	Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée après traitement plasma oxygène et un bain de buffer HF	80
2.47	Sensibilité de l'ISFET après un traitement plasma O_2 et un bain HF, avec le milieu polarisé par un fil d'Ag/AgCl	81
2.48	Photolithographie lift-off et dépôt des métaux Titane/or	82

2.49	Métallisation lift-off Titane-or	83
2.50	Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée, procédé Titane/or déposé par technique de lift-off, avec le milieu polarisé par un fil d'Ag/AgCl	84
2.51	Sensibilité de l'ISFET issus du procédé Titane/Or "lift-off", avec le milieu polarisé par un fil d'Ag/AgCl	84
2.52	Sensibilité du pH-ISFET issus du procédé Titane/Or "pleine plaque", avec le milieu polarisé par l'électrode intégrée en or	85
2.53	Sensibilité de l'ISFET issus du procédé Titane/Or "lift-off", avec le milieu polarisé par l'électrode intégrée en or	86
2.54	Dépôt de la couche de titane platine sur les prises de contacts et sur l'électrode .	88
2.55	Dépôt d'or sur les prises de contacts	88
2.56	Dépôt d'argent sur l'électrode	89
2.57	Dépôt de la couche de passivation SU8	89
2.58	Oxydation de l'électrode d'argent intégrée	90
2.59	Voltammogramme du cycle de nettoyage de l'argent	91
2.60	Voltammogramme de la chloration de l'argent	92
2.61	Courant drain-source en fonction de la tension grille-source appliquée, procédé argent déposé par technique de lift-off	92
2.62	Sensibilité de l'ISFET issus du procédé argent "lift-off" chloré par le $FeCl_3$, avec le milieu polarisé par l'électrode intégrée Ag/AgCl	93
2.63	Sensibilité du pH-ISFET issus du procédé argent "lift-off" chloré par électrodéposition, avec le milieu polarisé par l'électrode intégrée Ag/AgCl	93
2.64	Dérive du pH-ISFET polarisé en continu par une microélectrodes Ag/AgCL issus des deux procédés	94
2.65	Dérive du pH-ISFET polarisé en discret par une microélectrodes Ag/AgCL issus des deux procédés	95
3.1	Principe de fonctionnement de l'EnFET	103
3.2	Catalyse d'une réaction chimique par une enzyme	103
3.3	Courbe de Michaelis Menten	104
3.4	Description de la structure Si_3N_4 /PVA/électrolyte	104
3.5	Schéma de la canalisation considérée	105
3.6	Description du système fluide de l'EnFET	106
3.7	Description du modèle pseudo-bidimensionnel	106
3.8	Diffusion de la créatinine	113
3.9	Diffusion de l'ammoniac	113
3.10	pH en fonction de la longueur de diffusion	113
3.11	pH en fonction du temps	114
3.12	Evolution de la tension de seuil du créatinine-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs du potentiel hydrogène initial pH_0	115

3.13	Evolution de la tension de seuil du créatinine-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs de la constante de Michaelis (K_M)	115
3.14	Evolution de la tension de seuil du créatinine-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs de nombre d'unités enzymatiques par unité de volume de PVA (N_{enz})	116
3.15	Evolution de la tension de seuil du créatinine-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs de débit d'écoulement	117
3.16	Diffusion des molécules d'urée	118
3.17	Diffusion des molécules d'ammoniac	118
3.18	Diffusion de l'acide carbonique	118
3.19	pH en fonction de la longueur de diffusion	119
3.20	pH en fonction du temps	119
3.21	Evolution de la tension de seuil de l'urée-EnFET en fonction de la concentration en substrat pour différentes valeurs de pH initial	121
3.22	Evolution de la tension de seuil de l'urée-EnFET en fonction de la concentration en substrat pour différentes valeurs d'acide carbonique initiale	122
3.23	Evolution de la tension de seuil de l'urée-EnFET en fonction de la concentration en substrat pour différentes valeurs de la constante de Michaelis	123
3.24	Evolution de la tension de seuil de l'urée-EnFET en fonction de la concentration du substrat pour différentes valeurs de nombres d'unités enzymatiques par unité de volume de PVA	124
3.25	Evolution de la tension de seuil de l'urée-EnFET en fonction de la concentration pour $[H_2CO_3]_0 = 0$ et $[H_2CO_3]_0 = 36.10^{-3} mol/L$	125
3.26	Photographie de la membrane enzymatique du capteur urée-EnFET	127
3.27	Structure de maintien des capteurs pH-ChemFET, urée-EnFET et de l'électrode de référence Flexref	128
3.28	Réponse temporelle des capteur urée-EnFET à 0.1% et 1% pour des concentrations en urée de 0 ; 1 ; 5 ; 10 ; 25 ; 50 mmol/L	129
3.29	Réponse des capteurs urée-EnFETs en fonction de la concentration en urée, pour des membranes à concentrations enzymatiques différentes	130
3.30	Comparaison modèle-expérience de la réponse de l'urée-EnFET à 0,5%	135
3.31	Comparaison modèle-expérience de la réponse de l'urée-EnFET à 0,1 ; 0,5 et 1%	135
3.32	Comparaison modèle-expérience de la réponse de l'urée-EnFET à 1% ; 3% et 5%	136
3.33	Photographie de la cellule urée-EnFET d'analyse HEMODIA	137
3.34	Réponse temporelle des EnFETs	138
3.35	Réponse de l'EnFET en fonction de la concentration de la solution en urée	138
3.36	Réponse de deux capteurs HEMODIA et du modèle dans la gamme 0-25 mmol/L	139
3.37	Réponse du capteur HEMODIA et du modèle pour $N_{enz}=250 ; 175 unités/cm^{-3}$	140
3.38	Réponse du capteur HEMODIA et du modèle pour des sensibilités au pH S=44 ; 49 mV/pH.	141

Annexe

Programme Matlab du Modèle de l'urée-EnFET

```

clear all
close all
format long %ferme tous les documents ouverts et format des données

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%% Parametres modifiables
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
%%%variable=input('C20(1) ou nenz(2) ou Km(3) ou xmax(4) ou Ca(5) ou D(6) ou
%%%      tmax(7) ou Se(8)=') variable

variable=2;          %variable étudié
Se=[0.0596];          %sensibilité au pH du capteur (en V)
tmax=[10];            % temps de simulation
xmax=0.25e-1;         %en dm
N=50;                 %taille de la matrice
S0=logspace(-4,-1,50); %Concentration du substrat

nenz=[10000 135*0.5 135*5/3]*1e3; %Concentration de la couche enzymatique en uréase
en unité.dm^-3
%coefficient de diffusion
D_lit=1.91e-5;         %ref godfrey en cm^2/s
D2_lit=1.97e-5;        %ref Frank en cm^2/s
Ds_lit=1.40171e-5;     %ref Sorell and Myerson en cm^2/s

% Calcul des coefficient de diffusion par l'équation d'Einstein
NA=6.0221415e23;       %Nombre d'avogadro
ro=997.13;             %masse volumique de l'eau
nu=0.000891;           %viscosité de l'eau

A1=((4*pi*ro*NA/3)^(1/3))/(6*pi*nu);
T=298.15;              %température
kb=1.3806503e-23;      %constante de Boltzman

M=35.0458e-3;          %masse molaire de l'amoniaque
Ms=60.0553e-3;         %masse molaire de l'urée
M2=62.0248e-3;         %masse molaire de l'acide carbonique
D1=1e4*A1*kb*T/(M^(1/3)); %calcul des coefficient de diffusion
Ds_1=1e4*A1*kb*T/(Ms^(1/3));
D2_1=1e4*A1*kb*T/(M2^(1/3)); %en cm^2/s

D=D_lit*1e-2;          % coeficient de diffusion utilisé par le programme (valeur calculé ou de la
littérature) en (dm^2/s)
D2=D2_lit*1e-2;
Ds=Ds_lit*1e-2;

e=1e-4;                %épaisseur de la couche de PVA (en dm)
%Km=0.19;              %constante de Michaelis(0.19) pour l'enzyme Hémodia

```

Km=1.3e-3; %constante de Michaelis(0.19) pour l'enzyme sigma (en mol/L)
 A=16.67e-9; %Activité urease (mol/s) 120 mol/min

C20=[0]; % concentration initiale d'acide carbonique

```
for p=1:length(tmax)      %calcul de l'intervalle de temps
deltat=tmax(p)/(N-1);
t=0:deltat:tmax(p);
for l=1:length(xmax)      %calcul de l'intervalle de distance
deltax=xmax(l)/(N-1);
x=0:deltax:xmax(l);
for di=1:length(Ds)      %calcul des coefficient de la matrice K pour l'urée, l'acide carbonique
et l'ammoniaque
K=D*deltat/(deltax)^2;
Kh=D2*deltat/(deltax)^2;
Ks=Ds(di)*deltat/(deltax)^2;
```

%%%%%%%%%%%%matrice NH3

%1ere ligne de la matrice
 y=[1+K -K zeros(1,N-2)];

%corps de la matrice
 a=diag(-K*ones(1,N-1),-1)+diag((1+2*K)*ones(1,N))+diag(-K*ones(1,N-1),1);

%derniere ligne de la matrice
 b=[zeros(1,N-2) -K 1+K];

%matrice finale concernant le NH3
 f=[y;a(2:N-1,:);b];

%inversion de la matrice
 d=inv(f);

%%%%%%%%%%%%matrice H2CO3

%corps de la matrice
 a2=diag(-Kh*ones(1,N-1),-1)+diag((1+2*Kh)*ones(1,N))+diag(-Kh*ones(1,N-1),1);

%matrice finale concernant le substrat
 f2=[1+Kh -Kh zeros(1,N-2);a2(2:N-1,:);zeros(1,N-2) -Kh 1+Kh];

dh=inv(f2);

%%%%%%%%%%%%matrice du substrat

%corps de la matrice
 a1=diag(-Ks*ones(1,N-1),-1)+diag((1+2*Ks)*ones(1,N))+diag(-Ks*ones(1,N-1),1);

```

%matrice finale concernant le substrat
s=[1+Ks -Ks zeros(1,N-2);a1(2:N-1,:);zeros(1,N-2) -Ks 1+Ks];

%inversion de la matrice
ds= inv(s);

% diffusion des especes pour differentes
% valeurs de concentration de substrat initiale

for sE=1:length(Se)          %boucle qui gere les differentes valeur de sensibilité du capteur au
    pH
    for n=1:length(nenz)      %boucle qui gere les differentes valeur de concentration
        enzymatique
        for kmi=1:length(Km)  %boucle qui gere les differentes valeur de Km
            for m=1:length(C20) %boucle qui gere les differentes concentrations initiales d'acide
                carbonique
                for g=1:length(S0) %boucle qui gere les differentes concentrations initiales d'urée
                    for i =1:N,
                        C(i,1)=0;      %concentration initiale d'ammoniac
                        C2(i,1)=C20(m); %concentration initiale de H2CO3
                        S(i,1)=S0(g);   %concentration initiale du substrat

                        %-----on gère ici la matrice "generation" des especes-----

                        if i==1

                            G(i,1)=A*nenz(n)*S(i,1)/(S(i,1)+Km(kmi));      %calcul de la génération

                            if G(i,1)<0
                                G(i,1)=0;
                            end

                        elseif i*deltax<=e

                            G(i,1)=A*nenz(n)*S(i,1)/(S(i,1)+Km(kmi));

                            if G(i,1)<0
                                G(i,1)=0;
                            end

                        else

                            G(i,1)=0;

                        end
                    end
                end
            end
        end
    end
end

%%%on gere ici la matrice des especes que ce soit le NH3 comme le substrat
%%%avec la prise en compte de la consommation/génération
%%%

```

for j=2:N

```
C(:,j)=d*(C(:,j-1)+2*G(:,j-1)*deltat);
C2(:,j)=dh*(C2(:,j-1)+G(:,j-1)*deltat);
S(:,j)=ds*(S(:,j-1)-G(:,j-1)*deltat);
```

for i =1:N

if S(i,j)<0

```
C(i,j)=C(i,j)+2*C(i,j);
C2(i,j)=C2(i,j)+C(i,j);
S(i,j)=0;
```

end

end

for i =1:N

if i==1

```
G(i,j)=A*nenz(n)*S(i,j)/(S(i,j)+Km(kmi));
```

elseif i*deltax<=e

```
G(i,j)=A*nenz(n)*S(i,j)/(S(i,j)+Km(kmi));
```

else

```
G(i,j)=0;
```

end

end

end

% valeur des parametres initiaux

%A CHANGER en fonction des équation acido-basique

```
Ca=[1e-3]; % concentration de l'EDTA en mol/L
Cp=10e-3; % concentration du tampon phosphate en mol/L
Ct=16e-3;
```

```
Ke=1e-14;
K1=5.6e-10; % constante de l'ammoniac
K2=4.3e-7; % 1ere constante de l'acide carbonique H2CO3
K3=5.6e-11; % 2eme constante de l'acide carbonique H2CO3
K6=6.3e-7; % 3eme constante de l'edta
K7=6.3e-11; % 4eme constante de l'edta
K9=6.2e-8; % 4eme constante du tampon phosphate
```

%equation

A=solve('h+ce+C_1*h/(h+K1)=Ke/h+C_2*(h*K2+K2*K3)/(h^2+K2*h+K2*K3)+Ca*(h^2+2*K6*h+3*K6*K7)/(h^2+K6*h+K6*K7)+Cp*K9/(h+K9)', 'h');

for det=1:length(Ca)
for i=1:N

ce=Ct-Cp-Ca(det);

R_8=1;

R_7(i)=(C(1,i) - Ca(det) + K1 + K2 + K6 + K9 + ce);

R_6(i)=(K1*ce - Ke + K2*ce + K6*ce + K9*ce + C(1,i)*K2 - C2(1,i)*K2 - Ca(det)*K1 - Ca(det)*K2 + C(1,i)*K6 - 2*Ca(det)*K6 + C(1,i)*K9 - Ca(det)*K9 - Cp*K9 + K1*K2 + K2*K3 + K1*K6 + K2*K6 + K1*K9 + K2*K9 + K6*K7 + K6*K9);

R_5(i)=(C(1,i)*K2*K3 - K2*Ke - K6*Ke - K9*Ke - C2(1,i)*K1*K2 - Ca(det)*K1*K2 - K1*Ke - 2*C2(1,i)*K2*K3 - Ca(det)*K2*K3 + C(1,i)*K2*K6 - C2(1,i)*K2*K6 - 2*Ca(det)*K1*K6 - 2*Ca(det)*K2*K6 + C(1,i)*K2*K9 - C2(1,i)*K2*K9 - Ca(det)*K1*K9 - Ca(det)*K2*K9 + C(1,i)*K6*K7 - 3*Ca(det)*K6*K7 + C(1,i)*K6*K9 - 2*Ca(det)*K6*K9 - Cp*K1*K9 - Cp*K2*K9 - Cp*K6*K9 + K1*K2*K3 + K1*K2*K6 + K2*K3*K6 + K1*K2*K9 + K1*K6*K7 + K2*K3*K9 + K2*K6*K7 + K1*K6*K9 + K2*K6*K9 + K6*K7*K9 + K1*K2*ce + K2*K3*ce + K1*K6*ce + K2*K6*ce + K1*K9*ce + K2*K9*ce + K6*K7*ce + K6*K9*ce);

R_4(i)=-(K1*K2*Ke + K2*K3*Ke + K1*K6*Ke + K2*K6*Ke + K1*K9*Ke + K2*K9*Ke + K6*K7*Ke + K6*K9*Ke + 2*C2(1,i)*K1*K2*K3 + Ca(det)*K1*K2*K3 + C2(1,i)*K1*K2*K6 + 2*Ca(det)*K1*K2*K6 - C(1,i)*K2*K3*K6 + 2*C2(1,i)*K2*K3*K6 + C2(1,i)*K1*K2*K9 + 2*Ca(det)*K2*K3*K6 + Ca(det)*K1*K2*K9 - C(1,i)*K2*K3*K9 + 2*C2(1,i)*K2*K3*K9 - C(1,i)*K2*K6*K7 + C2(1,i)*K2*K6*K7 + 3*Ca(det)*K1*K6*K7 + Ca(det)*K2*K3*K9 + 3*Ca(det)*K2*K6*K7 - C(1,i)*K2*K6*K9 + C2(1,i)*K2*K6*K9 + 2*Ca(det)*K1*K6*K9 + 2*Ca(det)*K2*K6*K9 - C(1,i)*K6*K7*K9 + 3*Ca(det)*K6*K7*K9 + Cp*K1*K2*K9 + Cp*K2*K3*K9 + Cp*K1*K6*K9 + Cp*K2*K6*K9 + Cp*K6*K7*K9 - K1*K2*K3*K6 - K1*K2*K3*K9 - K1*K2*K6*K7 - K1*K2*K6*K9 - K2*K3*K6*K7 - K2*K3*K6*K9 - K1*K6*K7*K9 - K2*K6*K7*K9 - K1*K2*K3*ce - K1*K2*K6*ce - K2*K3*K6*ce - K1*K2*K9*ce - K1*K6*K7*ce - K2*K3*K9*ce - K2*K6*K7*ce - K1*K6*K9*ce - K2*K6*K9*ce - K6*K7*K9*ce);

R_3(i)=-(K1*K2*K3*Ke + K1*K2*K6*Ke + K2*K3*K6*Ke + K1*K2*K9*Ke + K1*K6*K7*Ke + K2*K3*K9*Ke + K2*K6*K7*Ke + K1*K6*K9*Ke + K2*K6*K9*Ke + K6*K7*K9*Ke + 2*C2(1,i)*K1*K2*K3*K6 + 2*Ca(det)*K1*K2*K3*K6 + 2*C2(1,i)*K1*K2*K3*K9 + C(1,i)*K1*K2*K6*K7 + Ca(det)*K1*K2*K3*K9 + 3*Ca(det)*K1*K2*K6*K7 - C(1,i)*K2*K3*K6*K7 + C2(1,i)*K1*K2*K6*K9 + 2*C2(1,i)*K2*K3*K6*K7 + 2*Ca(det)*K1*K2*K6*K9 + 3*Ca(det)*K2*K3*K6*K7 - C(1,i)*K2*K3*K6*K9 + 2*C2(1,i)*K2*K3*K6*K9 + 2*Ca(det)*K2*K3*K6*K9 - C(1,i)*K2*K6*K7*K9 + C2(1,i)*K2*K6*K7*K9 + 3*Ca(det)*K1*K6*K7*K9 + 3*Ca(det)*K2*K6*K7*K9 + Cp*K1*K2*K3*K9 + Cp*K1*K2*K6*K9 + Cp*K2*K3*K6*K9 + Cp*K1*K6*K7*K9 + Cp*K2*K6*K7*K9 - K1*K2*K3*K6*K7 - K1*K2*K3*K6*K9 - K1*K2*K6*K7*K9 - K2*K3*K6*K7*K9 - K1*K2*K3*K6*ce - K1*K2*K3*K9*ce - K1*K2*K6*K7*ce - K1*K2*K6*K9*ce - K2*K3*K6*K7*ce - K2*K3*K6*K9*ce - K1*K6*K7*K9*ce - K2*K6*K7*K9*ce);

R_2(i)=(K1*K2*K3*K6*Ke + K1*K2*K3*K9*Ke + K1*K2*K6*K7*Ke + K1*K2*K6*K9*Ke + K2*K3*K6*K7*Ke + K2*K3*K6*K9*Ke + K1*K6*K7*K9*Ke + K2*K6*K7*K9*Ke + 2*C2(1,i)*K1*K2*K3*K6*K7 + 3*Ca(det)*K1*K2*K3*K6*K7 + 2*C2(1,i)*K1*K2*K3*K6*K9 + 2*Ca(det)*K1*K2*K3*K6*K9 + C2(1,i)*K1*K2*K6*K7*K9 + 3*Ca(det)*K1*K2*K6*K7*K9 - C(1,i)*K2*K3*K6*K7*K9 + 2*C2(1,i)*K2*K3*K6*K7*K9 + 3*Ca(det)*K2*K3*K6*K7*K9 +

```

Cp*K1*K2*K3*K6*K9 + Cp*K1*K2*K6*K7*K9 + Cp*K2*K3*K6*K7*K9 - K1*K2*K3*K6*K7*K9 -
K1*K2*K3*K6*K7*ce - K1*K2*K3*K6*K9*ce - K1*K2*K6*K7*K9*ce - K2*K3*K6*K7*K9*ce);
R_1(i)= -(K1*K2*K3*K6*K7*Ke + K1*K2*K3*K6*K9*Ke + K1*K2*K6*K7*K9*Ke +
K2*K3*K6*K7*K9*Ke + 2*C(1,i)*K1*K2*K3*K6*K7*K9 + 3*Ca(det)*K1*K2*K3*K6*K7*K9 +
Cp*K1*K2*K3*K6*K7*K9 - K1*K2*K3*K6*K7*K9*ce);
R_0=- (K1*K2*K3*K6*K7*K9*Ke);

```

```

pol8=[R_8 R_7(i) R_6(i) R_5(i) R_4(i) R_3(i) R_2(i) R_1(i) R_0];

```

```

r8=roots(pol8);

```

```

for j=1:8

```

```

    k8(j)=imag(r8(j));

```

```

    if k8(j)==0

```

```

        b8=r8(j);

```

```

        if b8>0

```

```

            h8(i)=b8;

```

```

        end

```

```

    end

```

```

end

```

```

pH1=-log10(h8);

```

```

end

```

```

% A GARDER pour vous donnez le pH en fonction de la variable étudié (nenz,Km,...)

```

```

    if variable==1

```

```

        pH2(g,m)=pH1(N); %C0

```

```

        v1s(g,m)=Se(sE)*pH2(g,m);

```

```

        vart=C20;

```

```

    elseif variable==3

```

```

        pH2(g,kmi)=pH1(N); %Km

```

```

        G2(kmi)=G(1,1);

```

```

        vart=Km;

```

```

        v1s(g,kmi)=Se(sE)*pH2(g,kmi);

```

```

    elseif variable==2

```

```

        pH2(g,n)=pH1(N); %nenz

```

```

        vart=nenz;

```

```

        v1s(g,n)=Se(sE)*pH2(g,n);

```

```

    elseif variable==4

```

```

        pH2(g,l)=pH1(N);

```

```

        v1s(g,l)=Se(sE)*pH2(g,l);

```

```

    vart=xmax;
    elseif variable==5
    pH2(g,det)=pH1(N);
    v1s(g,det)=Se*pH2(g,det);
    vart=Ca;
    elseif variable==6
    pH2(g,di)=pH1(N);
    v1s(g,di)=Se(sE)*pH2(g,di);
    vart=Ds;
    elseif variable==7
    pH2(g,p)=pH1(N);
    v1s(g,p)=Se(sE)*pH2(g,p);
    vart=tmax;
    elseif variable==8
    pH2(g,sE)=pH1(N);
    v1s(g,sE)=Se(sE)*pH2(g,sE);
    vart=Se;
    end

end
end
end
end
end
end
end
end

for tu=1:length(vart)
v1s_0=v1s(1,:);
v1ss(:,tu)=v1s(:,tu)-v1s_0(tu);
end

for ki=1:length(xmax)
pH3(ki)=pH2(50,ki);
end

% A ne pas garder, pour exemple de comparaison modele-expérimentale
% mesure expérimentale de william
concwill=[0 1e-3 5e-3 10e-3 25e-3];
Vswill1=[0 12e-3 68e-3 95e-3 111e-3];
Vswill2=[0 10 50 84 105]*1e-3;
Vswill3=[0 14 71 96 110]*1e-3;
Vswill4=[0 13 48 85 113]*1e-3;

%mesure experimentale à moi
concmoi=[0 1e-3 5e-3 10e-3 25e-3 50e-3];
Vs_moi_01=[0 8.93333-4.61 12.26667-4.61 14.92333-4.61 15.14-4.61 17.84333-4.61]*1e-3;
Vs_moi_05=[0 9.71667-3.84333 35.43-3.84333 61.93333-3.84333 72.16667-3.84333 72.23667-3.84333]*1e-3;

```



```
Vs_moi_1=[0 16.36911-4.35667 54.82796-4.35667 98.98871-4.35667 117.78376-4.35667
115.64667-4.35667]*1e-3;
Vs_moi_3=[0 12.86667-4.69 51.3-4.69 94.3-4.69 110.63333-4.69 110.13333-4.69]*1e-3;
Vs_moi_5=[4.48233 7.56333 34.56667 83.3 98.66667 98.46667]*1e-3;
```

%Mes figures que j'ai eu besoin (données à titre d'exemple)

```
figure(1)
semilogx(S0,v1ss)
xlabel(' Substrate concentration (M)')
ylabel('Interface voltage (V)')
grid
hold on
```

```
figure(2)
plot(S0,v1ss,'r')
xlabel(' Substrate concentration (M)')
ylabel('Interface voltage (V)')
grid
hold on
```

```
figure(2)
plot(concwill,Vswill1)
plot(concwill,Vswill2)
%plot(concwill,Vswill3)
%plot(concwill,Vswill4)
%plot(concwill,Vs_moi_5)
xlabel('Concentration du substrat en (mol/L)')
xlim([0 25e-3])
ylabel('Réponse de l''urée-EnFET (en V)')
Title(['Capteur à william pour N_e_n_z=',num2str(nenz,'%1.2e\t')])
grid
hold on
```

```
figure(4)
plot(S0,v1ss,'r')
hold on
```

```
%plot(concmoi,Vs_moi_01)
plot(concmoi,Vs_moi_05,'b')
%plot(concmoi,Vs_moi_3,'b')
%plot(concmoi,Vs_moi_1,'b')
%plot(concmoi,Vs_moi_5,'b')
xlabel('Concentration du substrat en (mol/L)')
xlim([0 50e-3])
ylabel('Réponse de l''urée-EnFET (en V)')
Title(['Capteur à moi pour N_e_n_z=',num2str(nenz,'%1.1e\t')])
grid
```